

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**NONFERMENTATİF GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE
METALLO-BETA-LAKTAMAZ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Dr. Zeynep ERDİL

**Tez Yöneticisi
Doç. Dr. M. Hamidullah UYANIK**

**Uzmanlık Tezi
ERZURUM - 2014**

İÇİNDEKİLER

ONAY	III
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT	VII
TABLolar DİZİNİ	IX
RESİMLER DİZİNİ	X
KISALTMALAR DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Nonfermentatif Gram Negatif Bakteriler.....	3
2.1.1. Pseudomonas aeruginosa	3
2.1.2. Acinetobacter baumannii	5
2.2. Beta-laktam Antibiyotikler	6
2.2.1. Penisilinler	7
2.2.2. Sefalosporinler	7
2.2.3. Monobaktamlar	8
2.2.4. Karbapenemler	8
2.2.5. Beta-laktamaz İnhibitörleri	9
2.3. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları	9
2.3.1. Beta-Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları	10
2.3.2. Beta-laktamazların Sınıflandırılması	11
2.3.3. Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları	19
2.3.4. MBL Tayini	20
2.3.4.1. Fenotipik MBL tespit yöntemleri	20
2.3.4.1.1. Kombine disk testi	20
2.3.4.1.2. Çift disk sinerji testi	21
2.3.4.1.3. MBL E-Test yöntemi	21
2.3.4.1.4. Modifiye Hodge testi	21
2.3.4.1.5. Mikrodilüsyon yöntemi.....	22
2.3.4.2. Genotipik MBL tespit yöntemleri	22

2.3.4.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	22
2.3.4.2.2. DNA prob yöntemi	22
2.3.4.2.3. Klonlama ve sekanslama yöntemi	22
3. MATERYAL ve METOD	23
3.1. Bakterilerin İdentifikasyonu ve Antibiyotiklere Direnç Durumlarının Araştırılması.....	23
3.2. Metallo-beta-laktamaz (MBL) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	23
3.2.1. Çift Disk Sinerji Testi	24
3.2.2. Kombine Disk Testi	24
3.2.3. MBL E-test	24
3.2.4. Modifiye Hodge Testi	25
4. BULGULAR.....	26
5. TARTIŞMA	31
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR	42

ONAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalının 21.01.2013 tarihli 1/1 no'lu kararı ile "Nonfermentatif Gram Negatif Bakterilerde Metallo-Beta-Laktamaz Varlığının Araştırılması" adlı tez konusunun araştırma görevlisi Dr. Zeynep Erdil tarafından çalışılması uygun görülmüş, seçilen konu incelenmek üzere etik kurula gönderilmiştir.

Temel Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığının 21.01.2013 tarihli toplantısının 1/1 no'lu kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir ve karar Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na iletilmiştir.

Etik kurulun 28.02.2013 tarihli toplantısının 8 no'lu kararı ile araştırmanın etik kurula uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimine başladığım günden itibaren anlayışını, desteğini ve bilgilerini benden esirgemeyen Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Ahmet Ayyıldız'a, tezimin hazırlanmasının her aşamasında bilgi ve deneyiminden faydalandığım, çalışmalarımın büyük bir titizlikle yürütülmesini sağlayan değerli danışman hocam Doç. Dr. M. Hamidullah UYANIK'a, yine uzmanlık eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen, yetişmemde emeği geçen tüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

İhtisasım süresince birlikte olduğum ve pek çok şeyi paylaştığım asistan, teknisyen ve personel arkadaşlarıma ve emeği geçen herkese teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca her zaman yanımda olan, maddi manevi her türlü desteği sağlayan anneme, babama, ablama; sabrıyla, yardımlarıyla, tecrübeleriyle beni destekleyen eşime ve varlığıyla hayatıma renk katan biricik kızıma sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Zeynep ERDİL

Erzurum -2014

ÖZET

Nonfermentatif Gram Negatif Bakterilerde Metallo-Beta-laktamaz Varlığının Araştırılması

Nonfermentatif Gram negatif bakteriler (NFGNB) son yıllarda hastane infeksiyonlarından sıklıkla izole edilmektedirler. *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* türlerine ait suşlarda hızla yayılan ve geniş antibakteriyel direnç spektrumuna neden olan metallo enzimler infeksiyonların tedavisi için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Metallo-beta-laktamaz (MBL) enzim üretimini saptamak için moleküler ve çeşitli fenotipik yöntemler kullanılmaktadır. Bu çalışmada, imipeneme dirençli *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında MBL enzim üretiminin dört farklı fenotipik yöntem kullanılarak saptanması ve bu testlerin birbirleri arasındaki uyumun araştırılması amaçlanmıştır.

Eylül 2012–Ekim 2013 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi'nde çeşitli klinik örneklerden izole edilen farklı hastalara ait 111 *A. baumannii*, 140 *P. aeruginosa* suşundan karbapeneme direnç tespit edilen 94 *A. baumannii* ve 48 *P. aeruginosa* suşu çalışma kapsamında incelenmiştir. Tür düzeyinde tanımlanma ve bakterilerin antimikrobiyal duyarlılıkları VITEK-2 compact (bioMerieux-France) otomatize sistem ile yapılmıştır. MBL varlığı çift disk sinerji testi, kombine disk testi, E-test yöntemi ve modifiye Hodge testi kullanılarak araştırılmıştır.

A. baumannii suşlarında MBL pozitifliği E-test yöntemi, kombine disk testi, çift disk sinerji testi ve modifiye Hodge testi ile sırasıyla %97.9, %98.9, %98.9, ve %95.7 oranında saptanırken; bu oranlar *P. aeruginosa* suşlarında ise %100, %93.7, %89.6 ve %41.7 olarak saptanmıştır.

A. baumannii suşlarında E-test ile kombine disk testi, çift disk sinerji testi ve modifiye Hodge testi arasındaki uyum sırasıyla %94.7, %94.7 ve %91.5 oranında saptanmışken; *P. aeruginosa* suşlarında E-test ile diğer testler arasındaki bu uyum oranları sırasıyla %93.7, %89.6 ve %41.7 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* suşlarında yüksek oranda karbapenem direnci ve MBL üretimi saptanmıştır. Tedavide kullanılabilecek bir MBL inhibitörünün bulunmaması bu durumu ciddi bir problem haline getirmektedir. MBL

enzim varlığının saptanması, hastane infeksiyonlarının önlenmesinde epidemiyolojik verilerin elde edilmesine ve uygun antimikrobiyal ajan seçimine yardımcı olacaktır. Fenotipik testler genel olarak birbiriyle uyumlu gözükse de moleküler yöntemlerle MBL enzim varlığının saptanması testlerin gerçek özgüllük ve duyarlılığını göstermesi açısından gerekli görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Nonfermentatif Gram negatif bakteriler, karbapenem, metallo-beta-laktamaz

ABSTRACT

Investigation of Metallo-Beta-lactamases Enzyme in Nonfermentative Gram-Negative Bacteria

In recent years, Nonfermentative Gram Negative bacteria (NFGNB) are frequently isolated from nosocomial infections. Metallo-enzymes that spread quickly and cause a wide spectrum of antibacterial resistance in *Acinetobacter* and *Pseudomonas* strains cause serious problem in the treatment of infections. Molecular and various phenotypic methods are used to determine the metallo beta-lactamases (MBLs) enzyme production. In this study, it was aimed to determine the production of MBLs enzyme by using four different phenotypic methods in imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* strains and it was also aimed to compare these methods with each other.

This study was performed in Ataturk University, Research Hospital between September 2012 and October 2013. Carbapenem-resistant 94 *A.baumannii* and 48 *P.aeruginosa* strains which were obtained from 111 *A. baumannii* and 140 *P. aeruginosa* strains isolated from various clinical samples of different patients were used in this study. VITEK-2 Compact (bioMerieux-France) automated systems were used to identify the species and to determine antimicrobial susceptibility of the isolates. The MBL production of carbapenem resistant strains was tested phenotypically by using double-disk synergy test, combined disc test, E- test method and modified Hodge test.

MBL positivity of *A. baumannii* strains by E-test method, combined disk test, double-disk synergy test, and modified Hodge test were detected 97.9%, 98.9%, 98.9%, and 95.7% respectively; these rates were 100%, 93.7%, 89.6% and 41.7%, respectively for *P. aeruginosa* strains.

The concordance of E-test between combined disk test, double-disk synergy test, modified Hodge test were determined 94.7%, 94.7% and 91.5% respectively in *A. baumannii* strains; these concordance rates of E-test between other tests were found 93.7%, 89.6% and 41.7% respectively in *P. aeruginosa* strains.

In our study, high carbapenem resistance and MBLs production rates were found in *A. baumannii* and *P. aeruginosa* strains. Absence of an inhibitor of MBLs for mentioned agent in the treatment causes a serious problem. Detection of MBLs enzyme production helps collection of epidemiological data for the prevention of nosocomial

infections and selection of appropriate antimicrobial agents in the treatment. Although phenotypic tests that used to determine MBLs production are generally seem compatible with each other, molecular methods was necessary to determine the real sensitivity and specificity of certain tests.

Key words: Nonfermentative Gram negative bacteria, carbapenem, Metallo-beta-lactamases

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Beta-laktamazların Sınıflandırılması	12
Tablo 2. Karbapeneme Dirençli <i>A. baumannii</i> Suşlarının Servislere Göre Dağılımı, n(%).....	26
Tablo 3. Karbapeneme Dirençli <i>P. aeruginosa</i> Suşlarının Servislere Göre Dağılımı, n(%).....	27
Tablo 4. Karbapeneme Dirençli <i>A. baumannii</i> Suşlarının Antibiyotik Direnç Durumları, n(%)	27
Tablo 5. Karbapeneme Dirençli <i>P. aeruginosa</i> Suşlarının Antibiyotik Direnç Durumları, n(%)	28
Tablo 6. Test Yöntemine Göre MBL Pozitifliği, n(%)	29
Tablo 7. E Test Yöntemi ile Diğer Fenotipik Testlerin Uyumu	30

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. MBLPozitifliği Saptanan Örnek; a) E-test, b) Kombine Disk Testi, c) Çift Disk Sinerji Testi.....	29
Şekil 2. Modifiye Hodge Testi Pozitif Örnek.....	30

KISALTMALAR DİZİNİ

NFGNB	: Nonfermentatif Gram Negatif Bakteriler
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz
İBL	: İndüklenebilir Beta-laktamaz
PCR	: Polimeraze chain reaction
MBL	: Metallo-Beta-Laktamaz
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetikasit
SMA	: Sodyum Merkapto Asetikasit
MPA	: Merkapto Propionikasit
PBP	: Penisilin Bağlayan Protein
KNS	: Koagülaz negatif stafilokoklar
OMP	: Outer Membrane Protein
GN	: Gram negatif
GP	: Gram pozitif
VIM	: Veronese İmipenemaz
SPM	: Sao Paulo Metallo-Beta-laktamaz
GIM	: German imipenemase
SIM	: Seul imipenemase
IRT	: İnhibitörlere Dirençli TEM
ATCC	: American Type Culture Collection
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
MIK	: Minimal İnhibitör Konsantrasyon
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi
SXT	: Trimetoprim Sulfametoksazol

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, hastanede yatarak tedavi gören yaklaşık her on hastadan birinde hastane infeksiyonu ortaya çıkmaktadır. Hastane infeksiyonları, hastanede yatış süresini uzatmakta, ek maliyet getirmekte ve ölümlere neden olmaktadır.⁽¹⁾

Nonfermentatif Gram-negatif bakteriler (NFGNB) son yıllarda özellikle başta yoğun bakım üniteleri olmak üzere hastanede yatan hastalardan infeksiyon etkeni olarak sıklıkla izole edilmektedir.⁽²⁾ Özellikle yanık ünitesi, yoğun bakım, kemoterapi ünitelerinde yatmakta olan hastalarda geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve immunsupresyona bağlı olarak daha fazla kolonize olmaktadır. Bu durum invaziv infeksiyonlara yatkınlık oluşturmaktadır.^(3, 4)

Bu bakterilerin yol açtığı infeksiyonlarda karbapenemler geniş antibakteriyel spektrumları, bakteri membranlarından hızlı geçebilmeleri, AmpC ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) enzimlerine dayanıklı olmaları gibi özellikleri nedeniyle ilk tercih edilen antibiyotik grubudur.⁽⁵⁻⁷⁾ Karbapenemlerin klinik kullanıma girmesi çoklu dirençli bakterilerin neden olduğu ciddi hastane infeksiyonlarında önemli bir avantaj sağlamış, ancak özellikle ampirik tedavide yaygın kullanılmaları nedeniyle *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* gibi NFGNB'de karbapenem direnci ile de sıklıkla karşılaşılır hale gelmiştir.⁽⁸⁾

P. aeruginosa ve *A. baumannii*, birçok antibiyotiğe karşı direnç geliştirebilmektedir. Bu direnç mekanizmalarının başında antibiyotiği hücre dışına pompalayan eflüks sistemleri ve antibiyotikler için giriş kapısı olabilecek por proteinlerinin sentezinin azaltılması veya tamamen durdurulması bulunmaktadır. Klinikte en fazla karşılaşılan direnç beta-laktamaz enzimlerinin yol açtığı dirençtir. Bu iki nonfermentatif bakteri türüne ait suşlarda hızla yayılan ve geniş antibakteriyel direnç spektrumuna neden olan metallo enzimler infeksiyonların tedavisi için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır.^(9, 10)

Metallo-beta-laktamazlar (MBL) Ambler tarafından 1980 yılında B sınıfı içinde sınıflandırılmış, daha sonra 1989 yılında Bush'un beta-laktamazları fonksiyonel olarak değerlendirdiği sınıflandırmada 3. sınıf içine alınmıştır. MBL'ler serin beta-laktamaz inhibitörleri olan klavulanat, tazobaktam ve sulbaktamdan etkilenmezler. Bu tür beta-

laktamazların substrat profilleri çok geniş olup, geniş spektrumlu sefalosporinleri ve karbapenemleride kapsamaktadır.^(11, 12) MBL'ler diğer beta-laktamazlardan farklı olarak aktif bölgelerinde çinko bulduran enzimlerdir. Bu enzimler klasik beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmezken, etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) veya merkaptobileşikler gibi metal şelatörleriyle inaktive olurlar.⁽¹³⁾

NFGNB'de MBL enzim varlığını saptamak için, moleküler ve fenotipik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında çift disk sinerji testi, kombine disk testi, MBL E-test ve modifiye Hodge testi gibi fenotipik testler bulunmaktadır. Ancak Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) bu amaçla kullanılan fenotipik yöntemlerin hiçbirini altın standart olarak kabul etmemektedir.⁽¹⁴⁾

Bu çalışmada, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında izole edilen imipeneme dirençli *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* suşlarında MBL enzim üretiminin kombine disk testi, çift disk sinerji testi, modifiye Hodge testi ve MBL E-test fenotipik yöntemleri kullanılarak saptanması ve bu amaçla kullanılan dört farklı fenotipik yöntemin birbirleri arasındaki uyumun araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nonfermentatif Gram Negatif Bakteriler

Nonfermentatif Gram negatif bakteriler (NFGNB) son yıllarda özellikle immün sistemi baskılanmış ve ilaç tedavisi alan hastalarda ciddi infeksiyonlara sebep olmaktadır. Bu bakteriler çevresel olarak toprakta, suda, hastane ortamında, kısaca doğada yaygın olarak; insanlarda ise deri, solunum yolu ve oral florada bulunabilmektedir. Genellikle fırsatçı patojen olarak ifade edilirler. Son zamanlarda hastanede yatan hastalarda septisemi, pnömoni, yara infeksiyonları, endokardit, menenjit, ürogenital sistem ve cerrahi alan infeksiyonu gibi birçok hastane kaynaklı infeksiyonlara neden oldukları bildirilmektedir. Hastanede yatan hastalarda fırsatçı olmalarına rağmen, toplumdan kazanılmış infeksiyonlara da sebep olurlar.^(3, 15)

NFGNB'den özellikle dört türü, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Burkholderia cepacia* hastanede yatan hastalarda önemli hastane infeksiyonlarına neden olmaktadır.⁽¹⁶⁾ *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türleri özellikle savunma mekanizmalarının zayıfladığı immün yetmezlik durumlarında, malign ve metabolik hastalığı bulunanlarda, uzun süreli kemoterapi ve radyoterapi alanlarda, yaşlılarda ve ağır yanık durumlarında infeksiyonlara neden olan NFGNB'dir.^(17, 18)

2.1.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonadaceae ailesi içindeki en patojen tür olan *P. aeruginosa* Gram negatif (GN), sporsuz, düz veya hafif kıvrık, 1.5-3 µm boyunda, 0.5-0.8 µm genişliğinde kirpikli ve hareketli, zorunlu aerob bir mikroorganizmadır.⁽¹⁹⁾ Karbonhidratları fermente etmez. Glikoz, ksiloz gibi şekerlere oksidatif etki gösterirken maltoza etkisizdir. İndol testi negatiftir, H₂S oluşturmazlar. Oksidaz ve katalaz reaksiyonları pozitifdir. 2-aminosetofenon içermesi nedeniyle kültürlerde kendine has aromatik meyve kokusuna sahiptir. Kanlı agarda genellikle beta hemolitik koloniler oluştururlar. En önemli özelliklerinden biri kültürlerde piyosiyanın ve piyoverdin pigmentlerini üretmesidir. Bu pigmentler kolonilerin mavi veya yeşilimsi mavi görülmesine neden olurken, bu pigmentlerden dolayı *aeruginosa* tür adı verilmiştir. Ayrıca bakteri kırmızı görülmesine

neden olan piyorubin, siyah renk veren piyomelanin veya yeşil-kahverengi renk veren piyoverdin pigmenti içerebilir.^(19, 20, 21)

P.aeruginosa infeksiyonu kolonizasyon, invazyon ve sistemik yayılım olmak üzere üç aşamada gelişir. Cilt ve mukoza yüzeylerine kolonize olan bakterilerin yayılımında virülans faktörleri, konağın immun direnci ve fiziksel savunma mekanizmaları önemli yer tutar. İnfeksiyon, kolonizasyon aşamasında kalabilir ya da sistemik infeksiyona ilerleyebilir. *P. aeruginosa*'nın epitel hücrelerine tutunmayı sağlayan piluslar ve tutunucu hücre yüzeyi yapıları olmak üzere iki protein adezini vardır. İki çeşit hemolizin yapar; biri ısıya duyarlı, fosfolipaz C olarak adlandırılan bir protein ve diğeri ısıya dayanıklı bir glikolipittir. Lipit A endotoksini organizmanın biyolojik etkisini düzenler. Ekzotoksin A ise hücre dışı bir enzim olup, elongasyon faktör 2'yi (EF2) inaktive ederek protein sentezini inhibe eder.^(19, 21, 22)

Pseudomonas spp. saprofit olarak doğada ve sağlıklı insanların normal florasında bulunur. Sağlıklı insanlarda deride %0-2, burun mukozasında %0-3.3, boğazda %0-6.6, dışkıda %2.6-24 oranlarında taşıyıcılık mevcuttur. Hastanede yatan hastalarda ise bu oranlar çok daha yüksek olup kolonizasyon oranı %50'ye kadar artabilmektedir.⁽²³⁾

P. aeruginosa 'nın nemli ortamları sevmesi, üreyebilmek için oldukça az besine ihtiyaç duyması, antiseptiklerden birçoğuna ve antibiyotiklere dirençli olması, distile suda dahi üreyebilmesi hastane ortamında yaşamasını kolaylaştırır. *P. aeruginosa* 'nın çok çeşitli bulaşma kaynakları vardır. Kullanılan sabunlar, göz damlaları, diyaliz sıvıları, solunum cihazları, ilaçlar, uygun koşullarda bekletilmeyen ağız açık dezenfektanlar, kullanılan temizlik bezleri ve fırçalar, havalandırma cihazları, lavabolar, duş başlıkları, hasta odalarındaki çiçekler önemli bulaş kaynaklarıdır.^(19, 21)

Pseudomonas 'lara karşı etkili beta-laktam antibiyotikler; piperasilin, seftazidim, sefepim, sefpirom, imipenem, meropenem ve aztreonamdır. Kinolonlar içinde siprofloksasin en etkili olanıdır. En yaygın olarak kullanılan kombinasyonlar ise beta-laktam ve aminoglikozid kombinasyonudur. Son yıllarda ise beta-laktam ve florokinolon kombinasyonu sıkça kullanılmaktadır. Ayrıca piperasilin-tazobaktam+aminoglikozid kombinasyonları *Pseudomonas* için kullanılan etkin kombinasyonlardır.⁽²⁴⁾

2.1.2. *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter türleri nonfermentatif, aerobik, hareketsiz, oksidaz negatif, GN basillerdir. 1-1.5 µm X 1.5-2.5 µm boyutlarında ve genellikle çift olarak bulunmaktadır. Pozitif kan kültür tüpünden hazırlanan preparatlarda Gram pozitif (GP) kok olarak da görülebilmektedir. İlk izolasyonda ve taze kültürlerinde kokobasil formunda olup, subkültürlerinde veya penisilinli ortamda ürediklerinde basil şeklinde görülmektedir. Koloniler düzgün, opak, bazen mukoid ve *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer üyelerine göre daha küçüktür. MacConkey agarda renksiz veya hafif pembemsi koloniler oluşturmaktadır.⁽²⁵⁾ *Acinetobacter*'ler düşük virülanslı bakteriler olmasına rağmen polisakkarit kapsül, fimbria, hücre duvarının lipopolisakkarit içeriği, lipit A varlığı ve doku lipit hasarı yapabilen enzim üretimi bu bakterilerin virülansını arttırmaktadır. Mikst infeksiyonlarda tek başına oluşturduğu infeksiyonlardan daha virülan davranmaktadır.⁽²⁶⁾

Acinetobacter türleri *Pseudomonas* türleri gibi saprofit olarak doğada, toprak, su ve yiyeceklerde serbest yaşayabilmektedir.⁽¹⁵⁾ Sağlıklı bireylerin yaklaşık %25'inde derinin normal florasında özellikle koltuk altı, kasık, tırnak gibi nemli bölgelerde bulunmaktadır.⁽⁴⁾ Salgın dönemlerinde yapılan çeşitli çalışmalarda hastanede yatan hastalarda *Acinetobacter* türleri ile kolonizasyon %75 gibi yüksek bir orana sahiptir.⁽²⁷⁾ Ağız boşluğu ve solunum yollarında deriden sonra taşıyıcılığın sık görüldüğü bölgelerdir.⁽²⁸⁾ Hastanede yatan hastalarda boğaz taşıyıcılığı %7-18 olup trakeostomi sürüntü örneklerinde ise bu oran %45'e kadar çıkmaktadır.⁽⁴⁾ Yetişkin hastalarda *A. baumannii* en yaygın *Acinetobacter* türü olarak görülmektedir.⁽²⁹⁾ Hastane personelinin derisinde sürekli taşınan en yaygın GN mikroorganizma *Acinetobacter* türleri olup hastane havası, musluklar, yataklar, tansiyon aletleri gibi cansız materyaller hastalar arasında yayılıma neden olmaktadır. Özellikle endotrakeal tüp takılması, intravasküler, ventriküler veya üriner kateter uygulaması gibi invaziv işlemler yapılması, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, *Acinetobacter* kolonizasyonuna neden olmaktadır. Hastalarda kolonizasyon varlığı *Acinetobacter* infeksiyonlarına zemin hazırlamaktadır.^(4, 30, 31)

Hastane kaynaklı *Acinetobacter* infeksiyonları her bölgeyi tutabilmektedir. En sık solunum sistemi, cilt ve yaralarda görülmektedir. Cilt ve solunum yollarından izole

edilenlerin büyük kısmı kolonizasyon olarak değerlendirilmektedir. Prognoz infeksiyon tipi ile ilişkili görülmektedir ve diğer etkenlere bağlı hastane infeksiyonlarından daha kötü seyretmektedir. *Acinetobacter* kaynaklı pnömonilerde mortalite oranı %30-75 olarak bildirilmiştir. En yüksek mortalite oranı ventilatör bağımlı hastalarda gelişen pnömonilerde görülmektedir.^(4, 32, 33) *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* türleri hastane kökenli pnömonilerde %10-30 oranında etken olarak görülmektedir. Hastane kökenli pnömonilerde *P. aeruginosa* daha sık görülür ancak mekanik ventilasyonlu hastalarda *Acinetobacter* türlerinin izolasyon sıklığı daha fazladır.⁽³³⁾

Özellikle çoğul ilaç dirençli *Acinetobacter* türlerinde alışılmış tedavi tek başına veya tobramisın ve amikasin gibi bir aminoglikozidle birlikte başka bir etkin antimikrobiyal ajanın kullanılmasıdır. Karbapenemler ilk sırada tercih edilen antibiyotiklerdendir. Antibiyotik kombinasyonları özellikle yoğun bakım ünitelerindeki hastaların ampirik tedavisinde tercih edilmektedir. Ancak çoğul ilaç dirençli suşların izole edilme oranlarındaki artış *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde önemli problem olmakta ve tedavide kullanılacak antibiyotik seçenekleri azalmaktadır. İmipenem sulbaktam kombinasyonları kullanılabilir. Bunun yanında kolistin çoğul dirençli *A. baumannii* infeksiyonlarında kullanılacak tek seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır. Kolistinin rifampin, imipenem veya azitromisinle; rifampin+azitromisin; sulbaktam+rifampin, azitromisin veya bir kinolon ile kombinasyonunun tek başına kullanımına göre etkiyi değiştirdiği gösterilmiştir.⁽³⁴⁾

2.2. Beta-laktam Antibiyotikler

Beta-laktam antibiyotiklerin esas hedefi hücre duvarındaki çapraz bağlanmış peptidoglikan yapılarıdır. Hücre duvar sentezinin transpeptidasyon basamağında görev alan transpeptidaz ve karboksipeptidazlar penisilin bağlayan proteinler (PBP) olarak da adlandırılmakta olup beta-laktam halkası bu enzimlerden özellikle transpeptidaza bağlanarak polisakkarit zincirlerin oluşmasını engelleyerek duvar yapısını bozarlar.^(35, 36)

Beta-laktam antibiyotikler; Penisilinler, Sefalosporinler, Monobaktamlar, Karbapenemler ve beta-laktamaz inhibitörleri (klavulanat, sulbaktam, tazobaktam) olmak üzere başlıca 5 grupta toplanırlar.

2.2.1. Penisilinler

Penisilinler kendilerine duyarlı olan bakterilerin genel olarak PBP 1a,1b, 2 ve 3'lerine bağlanarak transpeptidasyonu engelleyen ve bakteriyolize yol açan bakterisid etkili antibiyotiklerdir. Antibakteriyel aktiviteleri baz alınarak aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır;

1- Doğal penisilinler: Penisilin G ve penisilin V

2- Penisilinaza dirençli penisilinler: Metisilin, nafsilin, izaksazolil penisilinler

3- Aminopenisilinler: Ampisilin, amoksisilin, bakampisilin, siklasilin, episilin, hetasilin, pıvampisilin

4- Antipseudomonal penisilinler: Karbenisilin, tikarsilin, karindasilin

5- Geniş spektrumlu antipseudomonal penisilinler (Üreidopenisilinler): Azlosilin, mezlosilin, piperasilin

6- Amidinopenisilinler: Andinosilin, pıvamminosilin

7- Beta-laktamaz inhibitörleriyle kombine edilmiş penisilinler: Ampisilin-sulbaktam, amoksisilin-klavulonat, tikarsilin-klavulonat, piperasilin-tazobaktam.⁽³⁷⁾

2.2.2. Sefalosporinler

Penisilinlere temel yapı ve etkinlik yönünden büyük benzerliği olan sefalosporinlerin beta-laktam halkası yanında penisilindeki 5 üyeli tiazolidin halkası yerine 6 üyeli bir dihidrotiazin halkası bulunur. Sefalosporinler farmakolojik, metabolik ve mikrobiyolojik özelliklerine göre sınıflandırılmalarına karşın günümüzde en çok kabul gören mikrobiyal spektruma göre yapılan sınıflamadır. Bu sınıflamaya göre sefalosporinler beş kuşakta incelenmektedir.

1. kuşak sefalosporinler: Sefalotin, sefazolin, sefaloridin, sefalekssin, sefapirin, sefradin, sefadroksil, sefasetril, seftezol.

2. kuşak sefalosporinler: Sefuroksim, sefoksitin, sefamandol, sefonisid, sefonarid, sefaklor, sefotiam, sefmetazol, sefotetan.

3. kuşak sefalosporinler: Sefotaksim, seftizoksim, sefoperazon, seftriakson, moksolaktam, seftazidim, sefsulodin, sefmenoksim, sefpiramid.

4. kuşak sefalosporinler: Sefepim, sefpirom.

5. kuşak sefalosporinler: Seftobiprol, seftarolin.

Birinci kuşak sefalosporinlerin ilk üyesi sefalotindir. Herhangi birisi in-vitro antibiyotik duyarlılık testinde diğerlerinin yerine kullanılabilir. Bu kuşak sefalosporinler enterokoklar dışında tüm GP koklara etkilidirler. *Enterobacteriaceae* üyelerine etkinlikleri ise çok azdır.

İkinci kuşak sefalosporinler, 1. kuşağa göre stafilokok ve streptokoklara daha az, GN basillere ve anaeroblara daha fazla etkilidir. Sefoksitin, GN basillerin ürettiği bazı beta-laktamazlara dirençlidir ve bazı *Enterobacteriaceae*'lar tarafından üretilen beta-laktamazların oldukça etkili indükleyicisidir.

Üçüncü kuşak sefalosporinlerin GP etkinlikleri 1. ve 2. kuşağa oranla çok zayıfken GN basillere karşı daha fazla etkilidir. *P. aeruginosa* kökenlerine de etkili olmaları ikinci kuşak sefalosporinlerden en önemli farklarıdır. BOS'a geçişleri 1. kuşağa göre daha iyidir.

Dördüncü kuşak sefalosporinlerin diğerlerinden en önemli farkı indüklenebilir beta-laktamaz (İBL) ve bazı genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) salgılayan bakterilere etkili olmasıdır.

Beşinci kuşak sefalosporinler metisiline dirençli *S. aureus*'a etkili sefalosporinlerdir.^(35, 37, 38)

2.2.3. Monobaktamlar

Bu grup içinde antibakteriyel tedavi amacıyla kullanılan ilk ve tek ilaç aztreonamdır. GN bakterilerdeki PBP3'e afinitesi vardır. GP ve anaerob bakterilerin PBP'lere afinitesi ise son derece düşüktür. Bu yüzden etki alanı GN aerob bakteriler ile sınırlıdır. Tüm vücut sıvı ve dokularına dağılır.⁽³⁷⁾

2.2.4. Karbapenemler

Klinik kullanıma giren ilk karbapenem türevi olan ve beta-laktamlar içinde en geniş spektrumlu antibiyotik imipenemdir. İmipenem, PBP1, PBP2, PBP4, PBP5 ve PBP6'ya bağlanabilmekte; bunlardan PBP2'ye diğerlerinden daha güçlü bağlanmaktadır.

1996 yılından sonra bu grubun ikinci üyesi olan meropenem, 2001 yılında ise ertapenem kullanıma girmiştir. Hücre duvarı olmayan organizmalar, bazı nonfermentatifler ve *Aeromonas* dışında birçok bakteriye etkilidirler. Karbapenemler; antibakteriyel spektrumlarının genişliği, amfilik özelliklerinden dolayı bakteriyel membranlardan hızla geçebilmeleri, AmpC ve GSBL enzimlerine dayanıklı olmaları gibi özellikleri nedeniyle özellikle çoklu dirençli GN bakteri infeksiyonlarında ilk sırada kullanılan antibiyotik grubudur. Ancak, karbapenemlerin ampirik tedavide yaygın olarak kullanılması, bunlara karşı direnç oranlarının artmasına neden olmuştur. Sınıf B MBL ve karbapenemazlar bu antibiyotikleri hidroliz edebilmektedir.^(5, 39)

2.2.5. Beta-laktamaz inhibitörleri

Klinik kullanımda olan beta-laktamaz inhibitörleri klavulanat, sulbaktam ve tazobaktamdır. Bu moleküller beta-laktam yapısında olup tek başına etkisi olmayan veya az olan bileşiklerdir. Beta-laktamaz enzimlerinin inaktive edilmesi için geliştirilmiş beta-laktam antibiyotiklerle kombine edilmiştir.⁽⁴⁰⁾

2.3. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

Bakterinin antimikrobiyal bir ajanın öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme yeteneğine direnç denir. Antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı, yoğun bakım ünitelerinde yatan hasta sayısının artması, gıda endüstrisinde antibiyotik kullanımı ve bakterilerin olumsuz çevre koşullarında yaşamlarını sürdürmek için kullandığı savunma mekanizmaları gibi nedenlerle mikroorganizmalardaki antibiyotik direnci giderek artmaktadır. Antibiyotik kullanımının daha yoğun olduğu hastanelerde direnç sorununun boyutları giderek büyümektedir. Ülkemizde hastanelerde en sık direnç sorunu yaşanan mikroorganizmalar; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Koagülaz negatif stafilokoklar* (KNS), *Enterobacter spp*, *Enterokoklar*, *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter spp* dir.^(41, 42)

Bir bakterinin genetik özelliğine bağlı olarak bazı antibiyotiklere olan doğal direncine intrinsek direnç, genetik özelliklerindeki değişimler nedeniyle oluşan dirence ise kazanılmış direnç denir. Kazanılmış direnç kromozom, transpozon veya plazmid DNA'sındaki mutasyonlarla oluşabileceği gibi direnç geni taşıyan DNA dizilerinin başka bakterilerden transformasyon, transdüksiyon veya konjugasyon yoluyla alınması

sonucuda ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca dokudaki pH ve oksijen basıncı değişiklikleri, antibiyotiğin infeksiyon bölgesine ulaşamaması gibi nedenlerle in-vitro etkili olan antibiyotik in-vivo koşullarda etki göstermeyebilir.^(43, 44)

2.3.1. Beta-Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

Bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç 3 yolla gelişebilmektedir.

a. İlacın hedef bölgesindeki değişiklikler: Beta-laktam antibiyotiklerin hedef bölgesi olan PBP'lerdeki 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.⁽⁴⁵⁾

b. Dış membran geçirgenliğinin bozulması: Beta-laktam antibiyotikler, GN bakterilerde dış membrandaki outer membran protein (OMP) adı verilen porlar aracılığıyla hücre içine girmektedir. Bu grup antibiyotikler dış membrandan porin F ve porin C adı verilen başlıca 2 kanal aracılığı ile geçerler. İmipenem diğerlerinden farklı olarak ayrıca D2 proteini adı verilen özel bir porini kullanarak da geçer. Dolayısıyla porin F ve porin C proteinleri mutasyona uğrarsa tüm beta-laktamlara direnç gelişirken, imipeneme gelişmez. Öte yandan, özellikle *P.aeruginosa* ve *Enterobacter* suşlarında dış membrandan Opr D porin kaybı karbapenem direncini gösterir.⁽⁴⁶⁾ *P. aeruginosa* tedavisinde ilk haftanın sonunda Opr D kaybı ile yaklaşık olarak %50 oranında karbapenem direnci saptandığı gösterilmiştir.^(47, 48) Porinlerin özellikleri ve sayıları ile antibiyotiğin özellikleri (yük, çözünürlük, büyüklük) antimikrobiyal ajanın hücre içine giriş hızını belirlemektedir.⁽⁴⁹⁾ Birçok sefalosporin ve penisilinler yapılarındaki uzun yan zincirler nedeniyle porinlerden nispeten yavaş geçerken, imipenem daha düşük moleküler ağırlıkta olduğundan porinlerden daha hızlı bir geçiş göstermektedir.⁽⁵⁰⁾

c. Beta-laktamaz enzimleri ile ilacın inaktive edilmesi: Beta-laktam antibiyotiklere karşı klinikte en sık gözlenen direnç tipidir. Beta-laktamazlar yapısal olarak PBP'lere benzerler ve beta-laktam antibiyotikleri hidroliz ederek direnç gelişimine neden olurlar. Beta-laktamaz genleri bakteri kromozomunda veya plazmid, transpozon, integron gibi hareketli genetik elemanlar üzerinde bulunabilmektedirler. GP bakterilerde beta-laktamazlar doğrudan dış ortama salınırken GN bakterilerde, dış membran ile

sitoplazmik membran arasındaki periplazmik boşlukta bulunmaktadır. Bu nedenle GN bakterilerde beta-laktamazlara bağlı dirençte sıklıkla ilaç geçirgenliği ile ilgili mekanizmalar da rol oynamaktadır. Bakteride beta-laktamaz enzimi indüklenebilir veya yapısal olabilir. GP bakterilerde enzim genellikle indüklenebilir iken, GN bakterilerde bir kısmı indüklenebilir, bir kısmı da yapısal özelliğindedir.⁽⁵¹⁻⁵³⁾

2.3.2. Beta-laktamazların Sınıflandırılması

Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasındaki karbonil grubu ile bir ester köprüsü kurup siklik amid bağını parçalayarak bir açıl-enzim türevidir. Daha sonra enzim açıl molekülünden ayrılarak rejenere olur.⁽⁵²⁾

1940 yılında Abraham ve Chain'in penisilinazı ortaya koymalarından bugüne kadar 400'e yakın beta-laktamaz enzimi tanımlanmıştır.⁽⁵⁴⁾ Beta-laktamazların sınıflandırılmasında en çok substrat profilleri ve inhibitörlere duyarlılık gibi işlevsel özelliklerinin değerlendirildiği Bush-Jacoby-Medeiros veya moleküler yapılarına göre değerlendirmenin yapıldığı Ambler sınıflandırılmaları kullanılmaktadır. Moleküler yapılarına göre beta-laktamazlar, aktif bölgelerinde serin aminoasiti veya çinko (Zn^{+2}) iyonu bulundurmalarına göre iki geniş gruba ayrılırlar. Bu iki grubun üyeleri, Ambler sınıflamasına göre dört moleküler sınıfta yer alırlar.⁽¹¹⁾

Sınıf A: Aktif bölgelerinde bir serin aminoasiti bulunan, öncelikle penisilinleri hidroliz eden beta-laktamazlardır. GN bakterilerde yaygın bulunan TEM-1 enzimi bu grupta yer alır ve bu enzimlerin çoğu plazmidlerle taşınmaktadır.

Sınıf B: Aktivite gösterebilmeleri için çinkoya bağlı tiyol grupları gerektiren metallo enzimlerdir ve çoğu karbapenamaz aktivitesi taşımaktadır.

Sınıf C: Kromozomal AmpC geni tarafından kodlandığı için AmpC enzimleri olarak da adlandırılan enzimlerdir. Aktif bölgelerinde bir serin aminoasiti bulunur ve esas olarak sefalosporinleri hidroliz etmektedir.

Sınıf D: Oksasilini hidroliz eden serin beta-laktamazlardır.^(11, 55)

1995 yılında Bush-Jacoby-Medeiros tarafından biyokimyasal özellikleri ve substrat profillerine göre beta-laktamazların sınıflandırılması klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında antibiyogram ile ilişki kurulabilmesini sağlamıştır. Ancak tek bir nokta

mutasyonu ile substrat özgülüğünün değişebilmesi dezavantajdır.⁽⁵⁶⁻⁵⁹⁾ Günümüzde en yaygın olarak kullanılan bu sınıflamada Bush ve arkadaşları beta-laktamazları 4 gruba ayırarak sınıflandırmışlardır. Grup 1’de beta-laktamlara dirençli klavulanik asit ile inhibe olmayan sefalosporinazlar, Grup 2’de beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı, moleküler sınıf A ve D içinde yer alan enzimler, Grup 3’te beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olmayan EDTA gibi bir metal şelatörü ile inhibe olan MBL’ler, Grup 4’te ise klavulanik asit ile inhibe olmayan penisilinazlar bulunmaktadır. Beta-laktamazların sınıflaması Tablo 1’de gösterilmiştir.⁽¹¹⁾

Tablo 1. Beta-laktamazların Sınıflandırılması

Bush-Jacoby-Medeiros sınıflaması	Temel alt gruplar	Ambler sınıflaması	Temel Özellikler
Grup 1 sefalosporinazlar		C(sefalosporinazlar)	Genellikle kromozomal. Karbapenem hariç tüm beta-laktamlara dirençli. Klavulanik asit ile inhibe olmaz.
Grup 2 Penisilinazlar	2a	A (serin beta-laktamazlar)	Stafilokok ve enterokoklardaki penisilinazlar. Klavulanik asit ile inhibe olur.
Grup 2	2b	A	Çoğunlukla GN bakterilerdeki geniş spektrumlu beta-laktamazlar (TEM-1, TEM-2, SHV-1)
Grup 2	2be	A	Oksiiminosefalosporin ve monobaktamlara direnç oluşturan genişlemiş spektrumlu betalaktamazlar (GSBL)
Grup 2	2br	A	İnhibitörlere dirençli TEM (IRT) beta-laktamazlar, bir tane SHV türevi
Grup 2	2c	A	Karbenisilini hidrolize eden enzimler
Grup 2	2d	D	Oksasilin hidrolize eden enzimler
Grup 2	2e	A	Klavulanik asit ile inhibe olan sefalosporinazlar
Grup 2	2f	A	Karbapenemleri hidroliz eden, aktif bölgede serin içeren ve klavulanik asit ile inhibe olan enzimler
Grup 3 metallo-betalaktamazlar	3a,3b,3c	B	Çinko-bağımlı karbapenemazlar (MBL) Klavulanik asit ile inhibe olmaz. EDTA ile inhibe olur.
Grup 4		Sınıflanmamış	Dizileri bilinmeyen çeşitli enzimler

a. Grup 1 (AmpC) beta-laktamazlar

Birçoğu kromozomal enzimlerdir ve beta-laktamaz inhibitörleri olan klavulanik asit, sulbaktam, tazobaktam ile inhibe olmazlar. Moleküler sınıflamada sınıf C’de yer alan AmpC beta-laktamaz genlerinin plazmidlere transferi ile oluşan beta-laktamazlar da bu grupta yer almaktadır. Bu gruptaki enzimler 1., 2., 3. kuşak sefalosporinleri, penisilinleri ve monobaktamları hidroliz edebilirler. Bu enzimlerin aşırı üretimi dış membran porin değişiklikleri gibi bir diğer mekanizma ile birleştiğinde karbapenem direncine yol açabilmekle birlikte karbapenemler üzerine etkileri azdır. *Salmonella* ve *Klebsiella* dışında hemen tüm GN bakterilerde kromozomal grup 1 beta-laktamazlar bulunabilmektedir.^(11, 60, 61)

Bu enzimler indüklenebilir özellikte olup normalde bakteriler tarafından düşük düzeyde sentezlenirler. Ancak ortama bir beta-laktam antibiyotik eklendiğinde yüksek oranda beta-laktamaz sentezlenebilmektedir. Bu durumda beta-laktam antibiyotik ortadan kalktığında bakteriler önceki bazal enzim sentezine geri dönerler. Bu mekanizma nedeniyle kalıcı direnç söz konusu olmaz. Ancak bazı dereprese mutantların indüksiyona gerek olmaksızın doğal olarak yüksek oranda beta-laktamaz üretmesi esas problemi oluşturmaktadır. İndüklenebilir kromozomal beta-laktamaz taşıyan bu GN bakterilerde normalde 10^5-10^7 arasında bir sıklıkla dereprese mutantlar bulunur. İnfeksiyon yeri, bakteri sayısı, kullanılan antibiyotik ve antibiyotiğin dağılımı dereprese mutantların ortaya çıkmasında etkili faktörlerdir. Tedavi sırasında kullanılan antibiyotikler, duyarlı bakterilere etki ederken antibiyotiğe dirençli doğal mutantların ortamda çoğalmasına neden olmaktadır. Böylece tedavi başarısızlıkları ve dirençli hastane infeksiyonlarıyla karşı karşıya kalınmaktadır. Her bir beta-laktam antibiyotik grup 1 beta-laktamaz sentezini değişik oranlarda artırabilmektedir. Karbapenemler diğerlerinden farklı olarak hem indüklenen beta-laktamazlara hem de dereprese mutantlara etkilidir. Bu nedenle dereprese mutantların seleksiyonuna neden olmazlar.^(62, 63)

Kromozom kontrolündeki AmpC enzimlerinin plazmid kontrolündeki türleri ortaya çıkmıştır. Plazmidlerle taşınan bu AmpC sefalosporinazlar 4 genel gruba ayrılmaktadır ve dünyanın her yerinde birçok GN bakteride tanımlanmıştır. Plazmid kontrolünde AmpC enzimleri içeren klinik izolatlarda porin proteinlerinin kaybedilmesi karbapenemlerde dirence neden olabilmektedir.⁽⁶¹⁾

b. Grup 2 beta-laktamazlar:

Substrat profilindeki değişikliklerden dolayı alt gruplara ayrılan grup 2 beta-laktamazlar moleküller sınıfı olarak A ve D’de yer almaktadır. En geniş kategoriyi oluşturan bu grup penisilinleri, sefalosporinleri, kloksasilini, karbenisilini, karbapenemleri ve monobaktamları hidroliz etmelerine göre 6 alt gruba ayrılırlar.⁽⁶⁴⁾

Grup 2a: Bu grup klavulanik asitle inhibe olan penisilinazları içermektedir. Penisilini sefalosporinlerden daha hızlı hidroliz ederler ve özellikle GP bakterilerde bulunan penisilinazların birçoğu bu grupta yer almaktadır.^(11, 62)

Grup 2b: Penisilin ve sefalosporinleri hidroliz eden, klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı beta-laktamazları içerirler.⁽⁶⁵⁾ *Enterobacteriaceae* ailesinde yaygın olarak bulunan ve plazmid kontrolünde olan“geniş spektrumlu” TEM–1, TEM–2 ve SHV–1 enzimleri bu grupta yer almaktadır. Bu enzimlere ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, sefalotin gibi beta-laktam antibiyotiklere direnç oluşturmaları nedeniyle geniş spektrumlu denilmiştir. TEM-1 beta-laktamazı özellikle *E. coli* suşlarında ampisilin ve amoksisilin direncine neden olan mekanizmalar arasında en sık görülenidir.^(66, 67)

Grup 2be: Penisilinleri, sefalosporinleri ve aztreonamı hidroliz eden, beta-laktam inhibitörlerine duyarlı, sayısı 150’yi aşmış TEM türü, 70’i aşmış SHV türü olan beta-laktamaz enzimleridir. GSBL’i içerirler. TEM–1, TEM–2 ve SHV–1 gibi ana enzimlerden nokta mutasyonu sonucu 1–4 aminoasit değişikliği ile geniş spektrumlu beta-laktamlara da etki eden yeni enzimler ortaya çıkmıştır. Karbapenemler ve sefamisinler bunlara dayanıklıdır.^(66, 68, 69) GSBL’ler klavulanik asit, tazobaktam ve daha az oranda sulbaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine ve sefoksitin, sefotetana duyarlıdırlar. Bu grupta yer alan PER–1 enzimi ilk kez Türkiye’de saptanmıştır.⁽⁷⁰⁾

Grup 2br: TEM ve SHV enzimlerinin beta-laktam inhibitörlerine dirençli mutantları bulunmaktadır. İnhibitör rezistan TEM beta-laktamazlar (IRT) olarak adlandırılan bu enzimler, ilk olarak amoksisilin-klavulanik aside dirençli *E. coli*’de bildirilmiştir. Bu gruptan enzime sahip bakterilerin piperasilin–tazobaktam kombinasyonuna karşı duyarlı olabileceği saptanmıştır. SHV grubu enzimler ilk olarak *K. pneumoniae*’da kromozomal olarak saptanmıştır. TEM-30’dan TEM-36’ya kadar olan TEM enzimleri ve TRC-1 enzimi bu gruptadır.^(11, 44, 71)

Grup 2c: Karbenisilini hidroliz eden, klavulanik asit gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olan enzimler bu grup içinde yer almaktadır.⁽¹¹⁾

Grup 2d: Oksasilini hızlı hidroliz eden, klavulanik asit ve sulbaktama dirençli beta-laktamazları içermektedir. Daha çok *P. aeruginosa* 'da bulunan OXA grubu enzimler bu gruptadırlar. OXA-1'den OXA-10'a kadar olanları dar spektrumlu enzimlerdir. OXA-11 geniş spektrumlu OXA enzimlerinden ilkidir. Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde yatan bir hastadan izole edilen bir *Pseudomonas* suşunda bulunmuştur. Bu grupta 30'dan fazla OXA enzimi tespit edilmiştir. OXA-11, 14, 15, 16 seftazidim direncine yol açarken, OXA-17 seftoksime direnç oluşturmaktadır. OXA-31 seftopime dirençli, seftazidime ise duyarlıdır. OXA tipi enzimlerden özellikle iki alt sınıfı önem taşımaktadır.

1. Plazmid veya integron kaynaklı, seftazidim veya seftoksime, seftopim, aztreonamı inaktive edebilen OXA tipi genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlardır. Özellikle ülkemiz kökenli *P. aeruginosa* suşlarında bulunmaktadırlar.

2. Moleküler sınıflandırmada sınıf D'de bulunan karbapenemleri hidroliz eden karbapenemazlardır. Modifiye Hodge testi ile karbapenemaz aktiviteleri gösterilebilir. MBL enzimlerinden EDTA ile inhibe olmamaları, klavulanik asit ve tazobaktama kısmen duyarlı olmalarıyla ayrılabilirler. Özellikle *A. baumannii* izolatlarında bulunurlar.^(63, 72, 73)

Grup 2e: Bu gruptaki enzimler sefalosporinaz olup Grup 1'deki enzimlerden farklı olarak klavulanik asitle inhibe olurlar.⁽¹¹⁾

Grup 2f: Non metallo-beta-laktamaz olarak adlandırılabilirler. Metallo enzim olmayan serin beta-laktamazları bu grup içindedir. Karbapenem direncinin yanında penisilin ve aztreonam direnci de mevcuttur. En fazla tazobaktam olmak üzere diğer beta-laktam inhibitörlerine duyarlıdırlar. Meropenemden ziyade imipenem direnci daha belirgindir. Bu direnci taşıyan suşlar karbapenemazların yanı sıra AmpC tip beta-laktamazları ve TEM-1 tipi beta-laktamazları birlikte sentezleyebilmelerinden dolayı geniş spektrumlu bir beta-laktam antibiyotik direnci oluşturabilirler. 3. kuşak sefalosporinleri hidroliz edemezler.^(11, 74-77)

c. Grup 3 beta-laktamazlar:

Diğer beta-laktamazlardan farklı olarak aktif bölgelerinde serin yerine bir Zn⁺² iyonu bulunan enzimlerdir. Moleküler sınıf B'de yer alan ve MBL olarak sınıflandırılan

bu grup 1960 yılında ilk olarak *Bacillus cereus*'ta, 1980'li yılların başında ise *S. maltophilia*'da tanımlanmıştır. Kısa süre sonra imipenem hidrolizine yol açan MBL'ler *Bacteroides fragilis* ve *Aeromonas hydrophilia* türlerinde gösterilmiştir. MBL'ler, 1980'de ilk olarak Ambler'in sınıflandırmasına göre sınıf B de gösterilmiştir. 1989'da Bush bu enzimleri fonksiyonel özelliklerine göre grup 3 içerisinde sınıflandırmıştır. Bu sınıflama 1995 yılında güncellenmiş ve 1997 yılında modifiye edilmiştir.^(11, 61, 75, 78, 79)

Diğer beta-laktamazlardan farklı olarak serin beta-laktamaz inhibitörlerinden (klavulanat, tazobaktam ve sulbaktam gibi) etkilenmezken EDTA gibi bir metal şelatörü ile inaktive olurlar. Bu enzimler monobaktamlar hariç tüm beta-laktamları ve karbapenemleri hidroliz edebilirler. MBL'leri kodlayan genler genelde integronlarla taşınıp, sonra transpozonların içine yerleştirilip yüksek derecede aktarılabilir bir genetik araç elde edilir. Genellikle MBL enzimini kodlayan gen kasetleri ayrıca kanamisin, neomisin, amikasin ve streptomisin gibi aminoglikozid grubu antibiyotiklerin hepsine direnç gelişimine neden olan gen kasetlerini de taşırlar ve bu antibiyotiklerin alternatif tedavide kullanımını engellerler. Aminoglikozid ve beta-laktam direnç genlerini taşıyan gen kasetleri bir integrondan diğerine serbestçe dolaşabilirler.

MBL'lerin en önemli özelliği karbapenemleri hidroliz edebilmeleridir. Bazıları aynı zamanda çoğu beta-laktam grubunu da hidroliz edebilir. Dolayısıyla, MBL üreten organizmalar söz konusu olduğunda beta-laktam antibiyotiklerin kullanılabilirliği ciddi olarak sınırlanmış olur. Tüm MBL'ler imipenemi hidroliz edebilirler; ancak bu özellikleri oldukça değişkendir. Buna uygun olarak bu enzimlerin imipenem ve diğer beta-laktamları hidrolizi temel alınarak 3a, 3b ve 3c olmak üzere alt gruplara ayrılmıştır.⁽⁷⁸⁻⁸¹⁾

Alt grup 3a'da penisilinler güçlü, imipenem ve sefalosporinler zayıf hidroliz olur. Bu grup içerisinde *B. fragilis*'in CerA enzimleri, *S. maltophilia*'nın Ll enzimleri ve *P. aeruginosa*'nın VIM 1-3 enzimleri de yer almaktadır.

Alt grup 3b enzimleri gerçek karbapenemazlardır. Çünkü grup 3a enzimlerinin aksine penisilin ve sefalosporin üzerinde hiç hidrolitik etkileri yoktur. Karbapenem hidrolizi spesifiktir. Varlıkları nitrosefin hidrolizine dayanan testlerle gösterilemez. Büyük ölçüde *A. hydrophilia*'da bulunurlar.

Alt grup 3c enzimleri ise tek bir enzimden oluşur ve *Legionella gormanni*'de bulunur. Geniş spektrumlu sefalosporinler ve sefamisinler de dahil sefalosporinleri çok

yüksek oranda hidroliz ederler ve diğer beta-laktam antibiyotiklere göre karbapenemler üzerine daha zayıf etki gösterirler.^(61, 73, 75, 77, 80, 82)

Bu beta-laktamazlar fonksiyonel sınıflamadan başka aminoasit dizilim homolojisine görede sınıflandırılmıştır. Bunlar IMP, VIM, SPM, GIM ve SIM tipi MBL'lerdir.

IMP Tipi MBL'ler

Konjugatif bir plazmidle taşınan MBL geni ilk olarak 1988'de Japonya'da *P. aeruginosa* suşunda bulunmuştur.⁽⁸³⁾ Yine Japonya'da *Shigella flexneri*, *Serratia marcescens*, *P. aeruginosa* ve *Alcaligenes spp.* izolatlarında MBL varlığı araştırılırken IMP-1'in 3 minör varyantı IMP-3, IMP-6 ve IMP-10 bulunmuştur. IMP-3 *S. flexneri*'de gösterilmiştir ve IMP-1' den sadece 2 aminoasit farklılığı vardır. IMP-3'ün 196. pozisyonunda glisin yerine serin eklenmesi, penisiline karşı aktivitede azalmaya neden olmuştur. Aynı aminoasit değişikliği IMP-6'da da gözlenmesine karşın burada sadece penisilin G ve piperasiline karşı düşük aktivite ile kalmamış imipenemle kıyaslandığında daha yüksek seviyede meropenem hidrolizi göstermiştir.⁽⁸⁴⁾

Japonya'dan sonra Asya ve Avrupa'da da IMP tipi karbapenemazlar bildirilmiştir.^(82, 85, 86) IMP-2, IMP-3 ve takiben *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* izolatlarında IMP-13'e kadar IMP tipi MBL'ler saptanmıştır.^(87, 88)

VIM Tipi MBL'ler

Kazanılmış MBL'lerin ikinci ailesi olan VIM tipi enzimler ilk olarak İtalya'nın Verona şehrinde *P. aeruginosa* izolatında tanımlanmıştır. 1997'de elde edilen bu klinik izolat VIM-1 (Veronese imipenemaz) olarak isimlendirilmiş ve yapılan çalışmalarda piperasilin, seftazidim, imipenem ve aztreonam gibi beta-laktamlara dirençli bulunmuştur. Biyokimyasal analizlerde EDTA ile inhibe olan ve Zn^{+2} eklenmesiyle yeniden kazanılan karbapenem hidrolizi gözlenmiş ve bu durum bir metallo enzim üretimini düşündürmüştür.⁽⁸⁹⁾ IMP genlerinde olduğu gibi VIM geni de klas 1 integron içindeki bir gen kasetinde bulunmaktadır. Bu integron, *blaVIM* gen kasedine ek olarak *aacA4* gen kasedinide taşımaktadır. Bu gen kasedi aminoglikozid direncini kodlar.⁽⁸⁴⁾

SPM-1(Sao Paulo MBL) Tipi MBL'ler

Bu karbapenemaz 1997 yılında Brezilya Sao Paulo'da SENTRY surveyans çalışması programı dahilinde dört yaşındaki bir lösemi hastasının kanından izole edilen *P. aeruginosa* suşunda tanımlanmıştır. Bu izolat GN'lerin tedavisinde kullanılan bütün antibiyotiklere dirençli iken kolistine duyarlı bulunmuştur.⁽⁹⁰⁾ SPM-1, beta-laktamlardan penisilin, ampisilin, piperasilin, karbenisilin, azlosilin ve sefalotini hızlı hidroliz etme yeteneğine sahiptir. Enzim sefalosporinlere penisilinlerden daha sıkı bağlanır. blaSPM'nin genetik içeriği tektir, transpozonlarla yada integronlarla ilişkili değildir. IMP-1 ve VIM-1'deki gibi SPM-1 de klavulanik asit ya da aztreonamı hidroliz etmez.⁽⁹¹⁾

GIM-1(German imipenemaz) Tipi MBL'ler

Dusseldorf Almanya'da 2002 yılında 5 farklı hastadan elde edilen *P. aeruginosa* izolatlarında sadece polimiksine duyarlı GIM-1 diye adlandırılan yeni bir sınıf B beta-laktamaz bulunmuştur.⁽⁸²⁾

SIM-1(Seul imipenemaz) Tipi MBL'ler

Yakın tarihte yeni bir MBL olan SIM-1 tanımlanmıştır. Kore'de bir *A. baumannii* izolatında tespit edilen bu enzim IMP-12 ile %69,IMP-9 ile %64 benzerliğe sahip geniş spektrumlu MBL'dir.⁽⁹²⁾

Grup 4: Klavulanik asitle inhibe olmayan, yapıları henüz saptanamamış ve molekül sınıfı belirlenememiş penisilinazlar bu grubu oluşturmaktadır. Tek bir istisna dışında hepsi kromozomal kaynaklıdır. *Enterococcus faecalis*, *B. fragilis*, *Campylobacter jejuni*'den izole edilen enzimler, *Clostridium butyricum*'un indüklenebilen enzimi, *E. coli*'nin plazmid kontrolündeki SAR-2 beta-laktamazı ve *Pseudomonas cepacia*'daki beta-laktamazlar da bu gruba dahildir.^(11, 61)

Tüm bu gruplar beta-laktamaz enzim çeşitliliğini göstermektedir. Bazı bakterilerde birden çok beta-laktamaz tipi aynı anda görülebilmektedir. Grup 1'deki kromozomal beta-laktamazlar, Grup 2'deki GSBL enzimler ve Grup 3'teki MBL'ler hastane infeksiyonlarında sorun olarak en sık karşımıza çıkan enzimlerdir. Plazmidlerce taşınmaları dirençli infeksiyonların oluşması açısından önemli bir problemdir.^(61, 63)

2.3.3. Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları

Karbapenemlere karşı çeşitli mekanizmalar ile direnç geliştirebilmektedir.

1. İlacın hücre içinde etkin konsantrasyona ulaşamaması:

a. Porin değişimleri: Dış membran GN bakteriler için oldukça önemli olan porin proteinleri adı verilen beta-laktam antibiyotiklerin hücre içine girmesini sağlayan proteinlere sahiptir. Özellikle *P. aeruginosa* suşlarındaki OprD porin kaybı karbapenem direncine sebep olur. Aslında dış membranındaki asıl porin proteini OprF dir. OprB, OprC, OprD, OprE yardımcı porin proteinleridir.^(47, 48, 73)

b. Aktif dışa pompalama sistemleri: Beta-laktamazlardan sonra *Pseudomonas* türlerinde en önemli direnç mekanizması aktif dışa pompalama sistemleridir. Aktif dışa pompalama sistemleri yapısal olup düzenleyici genler ile kontrol altındadır. Bu genlerdeki mutasyonlar aktif dışa pompalama sistemlerinin aşırı çalışmasına ve antimikrobiklerin de dışarı atılmasına neden olurlar.⁽⁴⁷⁾

2. İlacı inaktive eden beta-laktamazların üretimi(Karbapenamazlar)

a. İntrinsik (kromozomal) karbapenamazlar: Bu karbapenamazlar Bush sınıflandırmasında grup 3'te, moleküler sınıf B'de yer alırlar. Bu grupta, *Bacillus cereus* II, *B. fragilis*'in CcrA, *B. cepacia*'nın PCM-1, *S. maltophilia*'nın L1 enzimleri sayılabilir.⁽⁷³⁾

b. Ekstrinsik (kazanılmış) karbapenamazlar: Ambler moleküler sınıflamasına göre A, B veya D moleküler sınıflarına ait olabilirler.

Sınıf A'da yer alan kazanılmış karbapenamazlar *Enterobacteriaceae* ailesinde sık görülen KPC, SME, IMI gibi karbapenem hidroliz eden enzimlerdir. Bunlar karbapenemler, penisilinler, geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama direnç gelişmesine neden olurken beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlıdırlar.

Sınıf B'de yer alan *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter spp* ve *P. aeruginosa*'da görülen IMP, VIM, SPM, GIM, IND, NDM-1 gibi metallo enzimlerde bu grupta yer alırlar. *K. pneumonia*'ların *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer üyeleri arasında MBL yayılımına katkısı olduğu bilinmektedir.

Sınıf D karbapenamazlar oksasilinaz aktiviteleri nedeniyle OXA tipleri olarak sınıflandırılırlar. *Acinetobacter spp* türlerinde görülen kazanılmış karbapenamazlardandır. Karbapenemleri hidroliz ederken 3. kuşak sefalosporinlere ve aztreonama etkileri yoktur.^(73, 93)

3. Hedef PBP değişimleri:

Karbapenem direncinde nadir görülen bir mekanizmadır, genellikle diğerleri ile birlikte görülür.⁽³⁷⁾

2.3.4. MBL Tayini

Bugüne kadar MBL direnç geni varlığını tespit eden standart fenotipik yöntem ve test kriterleri ortaya konulamamış olmasına rağmen klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında MBL varlığının tanımlanmasında çeşitli fenotipik yöntemler kullanılmaktadır. Bunların özgülük ve duyarlılıkları bakteri türüne ve belirlenecek enzime göre değişiklik göstermekte olup bu konuda çalışmalar devam etmektedir.^(13, 94) Örneğin; *Enterobacteriaceae*'ların çoğu ve bazı *Acinetobacter spp.* türleri MBL enzimi taşıdığı halde 1–2 µg/ml imipenem MİK değerleri ile duyarlı görünebilirler. Bu nedenle MBL tespitinde tarama plağı uygulamasında bakteri türü dikkate alınmalıdır. *Pseudomonas* 'lar *Enterobacteriaceae* 'lardan daha yüksek karbapenem MİK değerlerine sahiptir. MBL enzimleri aktif bölgelerinde serin yerine Zn⁺² iyonu bulundurduklarından metal şelatörü olan EDTA ile inhibe olurlar. Uygulanan fenotipik yöntemlerin temeli de EDTA'nın MBL enzimini inhibe etme özelliğine dayanmaktadır.^(95, 96)

2.3.4.1. Fenotipik MBL tespit yöntemleri

2.3.4.1.1. Kombine disk testi

İnhibisyon zon çapı farkına bakılarak MBL varlığının araştırıldığı bir yöntemdir. Aynı plak yüzeyine 2 imipenem diski yerleştirilerek bir tanesinin üzerine EDTA solüsyonu eklenir. EDTA'lı imipenem diskinin inhibisyon zon çapı tek başına imipenem diski zon çapından ≥ 7 mm ise test pozitif kabul edilir. Bu testin avantajı, uygulanması ve yorumlanmasının kolay olmasıdır. Ancak yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlarda bildirilmiştir.⁽⁹⁷⁾

2.3.4.1.2. Çift disk sinerji testi

Arakawa ve ark.⁽⁹⁸⁾ 2000 yılında seftazidim dirençli suşlarda seftazidim-MPA (merkaptopropionik asit), seftazidim-SMA (Sodyum merkaptopropionik asit), imipenem-EDTA+SMA diskleriyle bu testi uygulamışlardır. İki disk arasındaki inhibisyon zonunun artmasını pozitif olarak yorumlamışlardır. Lee ve ark.⁽⁷⁾ 2001 yılında imipenem dirençli suşlarla imipenem ve EDTA diski kullanarak bu testi yapmışlar ve iki disk arasındaki inhibisyon zonunun EDTA eklenmiş boş diske doğru genişlemesi sinerjistik inhibisyon zonu olarak değerlendirilmiş bu durumda test pozitif olarak yorumlanmıştır. Yan ve ark.⁽⁹⁶⁾ tarafından 2004 yılında seftazidim ve seftazidim+klavulanik asit, sefepim ve sefepim+klavulanik asit diskleri Mueller-Hinton agar plağının kenarlarına yerleştirildikten sonra plağın ortasına MPA, EDTA ve SMA diskleri yerleştirilerek bu testi yapmışlardır. Şelatör madde içeren diskler ile herhangi bir disk arasındaki inhibisyon zonunun artması pozitif sonuç olarak yorumlanmıştır. Bu yöntemle imipenem duyarlı suşlarda da MBL taranabilmiştir.

2.3.4.1.3. MBL E-Test yöntemi

Bir tarafında imipenem diğer tarafında ise imipenem ve EDTA bulunan test stribinin kullanılarak yapıldığı testtir. EDTA'nın olduğu taraftaki MİK değerinin imipenem MİK değerinden ≥ 8 olması MBL pozitifliği olarak değerlendirilir.^(96, 99) Bakteriyoloji laboratuvarlarında fenotipik yöntemlerden kolay uygulanabilir olmasından dolayı MBL E-test şeritleri kullanılabilir. Bu yöntemin dezavantajı ise düşük düzeydeki dirence bağlı olarak yanlış negatif sonuç verebilmesidir.⁽⁹²⁾

2.3.4.1.4. Modifiye Hodge testi

Bu test penisilinaz üreten *Neisseria gonorrhoeae* tespitinde kullanılan Hodge testinin modifiye edilmesiyle oluşturulmuştur. Hodge testinde kullanılan *S. aureus* (ATCC 25923) yerine *E. coli* (ATCC 25922) ve penisilin diski yerinede imipenem diski kullanılarak yapılmaktadır. İmipenem duyarlı *E. coli* suşu MBL üreten bir bakteri ile bir arada bulunduğu imipenem rağmen üreyebilir. Bu durumda test pozitif kabul edilir.⁽¹⁰⁰⁾

2.3.4.1.5. Mikrodilüsyon yöntemi

Migliavacca ve ark.⁽¹⁰¹⁾ tarafından 2002 yılında geliştirilmiştir. Test edilen suşun imipenem MİK değeri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendikten sonra metal şelatörlerden EDTA ile tekrar MİK değerlerine bakılır. MİK değerleri arasında sekiz kat azalma pozitif olarak yorumlanır. Bakteriden saflaştırılan enzimin spektrofotometrik olarak imipenem ve meropenem hidrolizinin gösterilmesi fenotipik yöntemlerden “altın standart” olarak tanımlanan duyarlılığı en yüksek olan testtir.⁽¹⁰²⁾

2.3.4.2. Genotipik MBL tespit yöntemleri

MBL'lerin tespitinde genotipik yöntemlerin duyarlılığı fenotipik yöntemlerden daha yüksektir. Bu yöntemler aşağıdaki gibi sıralanır;

1. Polimeraze chain Reaction (PCR)
2. DNA prob yöntemi
3. Klonlama ve sekanslama yöntemi (Altın standart)

Polimerane chain Reaction (PCR):

Belirli primerler kullanılarak bir izolatta MBL geni olup olmadığı PZR uygulanarak belirlenebildiği gibi, her enzime özgül primerler kullanılarak enzim tipini saptamak da mümkündür.⁽⁸⁴⁾

3. MATERYAL ve METOD

Eylül 2012–Ekim 2013 tarihleri arasındaki bir yıllık süre içerisinde Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden toplam 111 *A.baumannii*, 140 *P. aeruginosa* suşu izole edildi. Bu suşlardan karbapeneme direnç tespit edilen 94 *A.baumannii* ve 48 *P.aeruginosa* suşu çalışma kapsamına alındı.

3.1. Bakterilerin İdentifikasyonu ve Antibiyotiklere Direnç Durumlarının Araştırılması

Üreme olan plaklardan mikroorganizmaların tanımlanması amacıyla konvansiyonel yöntemler kullanıldı. *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* olduğu düşünülen mikroorganizmaların tür düzeyinde tanımlanması üretici firmanın önerileri doğrultusunda GN identifikasyon kartı kullanılarak VITEK-2 compact (bioMerieux-France) otomatize sistem ile yapıldı. Bu bakterilerin duyarlılıklarını saptamak amacıyla ise 16-18 saatlik taze kültür pasajlarında tek düşmüş saf kolonilerden 0.5 McFarland bulanıklığa eşdeğer bakteri süspansiyonu hazırlandı. AST-N262 test kartları kullanılarak aygıt sisteminin okuyucu bölümüne yerleştirildi. İnkübasyon sonrası otomatize sistem algoritmasına göre saptanan MİK değerleri kaydedildi. Bu suşlar çalışma gününe kadar -80°C’de stok besiyerinde saklandı.

3.2. Metallo-beta-laktamaz (MBL) Aktivitesinin Belirlenmesi

Öncelikle 0.5 M EDTA stok solüsyonu hazırlandı. Bu amaçla, ticari olarak hazır elde edilen toz haldeki EDTA’nın 18.61 g’ı 100 ml steril distile suyla karıştırıldı. Karışıma NaOH eklenerek pH 8.0’e ayarlandı ve solüsyonun homojenize olması sağlandı. Çalışma gününe kadar -80°C’de stok besiyerinde saklanan suşlar test edileceği gün kanlı ve EMB agar besiyerlerine pasajlanarak tekrar canlandırma işlemi yapıldı. Pasaj sonrası üreyen bakteriler kontaminasyon problemleride göz önünde bulundurularak konvansiyonel biyokimyasal testler kullanılarak tekrar tanımlandı. Daha sonra fenotipik testlerden çift disk sinerji testi, kombine disk testi, MBL E-test ve modifiye Hodge testi kullanılarak MBL varlığı açısından incelendi.

3.2.1. Çift Disk Sinerji Testi

Bu test için imipenem dirençli *A.baumannii* ve *P.aeruginosa* suşlarının taze kültür pasajlarından saf olarak elde edilen kolonilerinden 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyon hazırlandı. Steril eküvyon kullanılarak Mueller-Hinton agar plağının yüzeyine yayıldı. Daha sonra imipenem diski (10 µg) besiyeri yüzeyine yerleştirildi. İmipenem diskinin merkezinden cetvelle 10 mm mesafe ölçülerek işaretlenip boş birkaçı disk yerleştirildi. Boş kağıt diskin üzerine 0.5M EDTA solüsyonundan pipetle 10 µl eklendi. Plaklar 35-37°C lik etüvde 18-20 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası imipeneme karşı oluşan inhibisyon zon çapının EDTA içeren diske doğru genişlemesi MBL varlığı açısından pozitif olarak değerlendirildi.^(96, 103)

3.2.2. Kombine Disk Testi

Kombine disk testini uygularken Mueller-Hinton agar besiyeri yüzeyine test edilecek mikroorganizmaların taze kültür pasajlarından elde edilen kolonileri McFarland 0.5 bulanıklığında steril eküvyon yardımıyla yayıldı. Plak içerisine aralarındaki mesafe 22 mm olacak şekilde iki adet imipenem diski yerleştirildi. İmipenem disklerinden birinin üzerine daha önce hazırlamış olduğumuz 0.5 M EDTA solüsyonundan 10 µl eklendi. Plaklar 35-37°C lik etüvde 18-20 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası EDTA'lı ve EDTA'sız imipenem disklerinin zon çapları cetvel yardımıyla milimetrik olarak ölçülüp kaydedildi. İmipenem-EDTA'lı diskin zon çapı tek başına imipenem diski zon çapından ≥ 7 mm olduğunda MBL pozitif olarak değerlendirildi.^(96, 104, 105)

3.2.3. MBL E-test

Bakteri suşlarının yoğunluğu 0.5 McFarland olacak şekilde süspanse edildi. Mueller-Hinton agar besiyeri yüzeyine steril eküvyon yardımıyla yayıldı. Ticari olarak hazır elde edilen bir tarafında 4–256 µg/ml imipenem, diğer tarafında ise sabit konsantrasyonda EDTA ile birlikte 1–64 µg/ml imipenem içeren E test MBL stripleri (Liofilchem s.r.l, Italy) steril penset yardımıyla plak üzerine yerleştirildi. Plaklar 35-37°C lik etüvde 18-20 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası birbirine zıt yönde oluşan iki elipsin şeritle kesiştiği noktalardaki MİK değerleri kaydedildi. İmipenem MİK değeri İmipenem-EDTA MİK değerine oranlandığında 8 ve üzerinde bir değer bulunması durumunda MBL pozitif olarak değerlendirildi.⁽¹⁰⁶⁾

3.2.4. Modifiye Hodge Testi

Modifiye Hodge testi için imipeneme duyarlı *E. coli* ATCC 25922 standart suşu kullanıldı. Test edilecek bakterinin McFarland 0.5'in 1/10 bulanıklığına eşdeğer süspansiyonu hazırlanarak Mueller-Hinton agar besiyerinin yüzeyine yayıldı. Plağın merkezine IPM (10 µg) diski yerleştirildi. Test suşları, bu diskin dört bir tarafına merkezden periferine doğru çizgi ekimi şeklinde steril eküvyon ile yayıldı. 35°C'de 18-20 saatlik inkübasyondan sonra diskin etrafındaki inhibisyon zonunda çizgi ekimi yapılan bakteri kısımlarında yonca yaprağı şeklinde görüntü oluşması ve bu bölgede *E. coli* üremesi pozitif test sonucu olarak kabul edildi.^(7, 105)

4. BULGULAR

Eylül 2012–Ekim 2013 tarihleri arasında Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden toplam 111 *A. baumannii*, 140 *P. aeruginosa* suşu izole edildi. Bu suşlardan karbapeneme direnç tespit edilen 94 *A. baumannii* ve 48 *P. aeruginosa* suşu çalışma kapsamına alındı.

Karbapeneme dirençli *A. baumannii* suşlarının 36'sı (%38.4) kan, 27'si (%28.8) yara, 16'sı (%17) trakeal aspirat, 7'si (%7.4) balgam, 2'si (%2.1) beyin omurilik sıvısı, 2'si (%2.1) dren ucu, 2'si (%2.1) katater ve 2'si (%2.1) idrar örneklerinden izole edildi. Bu suşların 56'sı (%59.6) yoğun bakım kliniklerinden, 22'si (%23.4) cerrahi kliniklerden, 16'sı (%17) dahili kliniklerden izole edildi. (Tablo 2.)

Tablo 2. Karbapeneme Dirençli *A. baumannii* Suşlarının Servislere Göre Dağılımı, n(%)

Servis	Kan	Yara	Trakeal Aspirat	Balgam	Dren ucu	Katater	BOS	İdrar	Toplam
Yoğun bakım	25(26.6)	7(7.4)	16(17.0)	7(7.4)	-	-	-	1(1.1)	56(59.6)
Dahiliye	4(4.3)	3(3.2)	-	-	-	1(1.1)	-	-	8(8.5)
Pediyatri	4(4.3)	-	-	-	-	-	-	-	4(4.3)
Nöroloji	-	-	-	-	-	-	-	1(1.1)	1(1.1)
Kardiyoloji	1(1.1)	-	-	-	-	-	-	-	1(1.1)
İntaniye	-	2(2.1)	-	-	-	-	-	-	2(2.1)
Genel cerrahi	-	2(2.1)	-	-	-	-	-	-	2(2.1)
Ortopedi	-	1(1.1)	-	-	-	-	-	-	1(1.1)
Plastik cerrahi	-	4(4.3)	-	-	-	-	-	-	4(4.3)
Organ nakli	-	1(1.1)	-	-	2(2.1)	1(1.1)	-	-	4(4.3)
Beyin cerrahi	2(2.1)	4(4.3)	-	-	-	-	2(2.1)	-	8(8.5)
Yanık ünitesi	-	2(2.1)	-	-	-	-	-	-	2(2.1)
Kadın doğum	-	1(1.1)	-	-	-	-	-	-	1(1.1)
Toplam	36(38.4)	27(28.8)	16(17.0)	7(7.4)	2(2.1)	2(2.1)	2(2.1)	2(2.1)	

n: izolat sayısı

Karbapeneme dirençli *P.aeruginosa* suşlarının 18'i (%37.4) yara, 13'ü (%27.1) kan, 7'si (%14.6) kulak, 4'ü (%8.3) idrar, 3'ü (%6.2) trakeal aspirat ve 3'ü (%6.2) ise balgam örneklerinden izole edildi. Bu suşların 21'i(%43.7) cerrahi kliniklerden, 14'ü (%29.2) dahili kliniklerden, 13'ü (%27.0) ise yoğun bakım kliniklerinden gönderilen örneklerden elde edildi. (Tablo 3).

Karbapeneme dirençli *P. aeruginosa* suşları yoğun bakım kliniklerinde özellikle kan ve solunum yolu örneklerinden, cerrahi kliniklerde ise yara yeri örneklerinden daha baskın olarak izole edildi.

Tablo 3. Karbapeneme Dirençli *P. aeruginosa* Suşlarının Servislere Göre Dağılımı, n(%)

Servis	Kan	Yara	Trakeal Aspirat	Balgam	Kulak	İdrar	Toplam
Yoğun bakım	5(10.4)	3(6.2)	2(4.2)	3(6.2)	-	-	13(27.0)
Dahiliye	4(8.3)	2(4.2)	-	-	-	1(2.1)	7(14.6)
Pediyatri	3(6.2)	-	-	-	-	1(2.1)	4(8.3)
Nöroloji	-	2(4.2)	-	-	-	1(2.1)	3(6.2)
Ortopedi	-	3(6.2)	-	-	-	-	3(6.2)
Plastik cerrahi	-	3(6.2)	1(2.1)	-	-	-	4(8.3)
Organ nakli	1(2.1)	3(6.2)	-	-	-	-	4(8.3)
Üroloji	-	-	-	-	-	1(2.1)	1(2.1)
KBB	-	2(4.2)	-	-	7(14.6)	-	9(18.8)
Toplam	13(27.0)	18(37.4)	3(6.2)	3(6.2)	7(14.6)	4(8.3)	-

n: izolat sayısı

Karbapeneme dirençli *A. baumannii* suşlarının hepsi seftazidim, sefepim, piperasilin, piperasilin-tazobaktam ve ampisilin-sulbaktam da dirençli olarak bulundu. Bu suşlar siprofloksasine %98.9, tetrasikline %94.7, levofloksasine %92.5, gentamisine %91.5, amikasin %87.2 ve SXT'ye %40.4 oranında dirençli olarak saptandı. Kolistin ise tüm suşların duyarlı olduğu tek antimikrobiyal olarak tespit edildi. (Tablo 4)

Tablo 4. Karbapeneme Dirençli *A. baumannii* Suşlarının Antibiyotik Direnç Durumları n(%)

Antibiyotikler	Dirençli	Orta duyarlı	Duyarlı
Amikasin	82(87.2)	-	12(12.8)
Gentamisin	86(91.5)	-	8(8.5)
Seftazidim	94(100)	-	-
Sefepim	94(100)	-	-
Piperasilin	94(100)	-	-
Levofloksasin	87(92.5)	7(7.6)	-
Siprofloksasin	93(98.9)	1(1.1)	-
Tetrasiklin	89(94.7)	-	5(5.3)
Piperasilin-tazobaktam	94(100)	-	-
Ampisilin sulbaktam	94(100)	-	-
Kolistin	-	-	94(100)
Trimetoprim sulfametaksazol	38(40.4)	-	56(59.6)

n: izolat sayısı

Aynı süre içerisinde izole edilen karbapeneme duyarlı 17 (%84.7) *A. baumannii* suşunun ise 12'sinde (%70.6) piperasiline, 11'inde (%64.7) seftazidim ve sefepime, 5'inde (%29.4) tetrasiklin ve levofloksasine, 4'ünde (%23.5) ampisilin-sulbaktam, SXT, siprofloksasin ve gentamisine, 3'ünde (%17.6) piperasilin-tazobaktam ve amikasine karşı direnç tespit edildi. Kolistine karşı direnç tespit edilmedi.

Karbapeneme dirençli *P. aeruginosa* suşları sefepim ve piperasiline %81.2, levofloksasine %68.7, siprofloksasine %66.7, piperasilin-tazobaktama %64.6, gentamisin ve seftazidime %60.4, amikasine %58.3 oranında dirençli olarak bulundu. *A. baumannii* suşlarında olduğu gibi *P. aeruginosa* suşlarında da kolistin direnci tespit edilmedi. (Tablo 5)

Tablo 5. Karbapeneme Dirençli *P. aeruginosa* Suşlarının Antibiyotik Direnç Durumları n(%)

Antibiyotikler	Dirençli	Orta duyarlı	Duyarlı
Amikasin	28(58.3)	3(6.3)	17(35.4)
Gentamisin	29(60.4)	3(6.3)	16(33.3)
Seftazidim	29(60.4)	10(20.8)	9(18.8)
Sefepim	39(81.2)	6(12.6)	3(6.2)
Piperasilin	39(81.2)	5(10.4)	4(8.4)
Levofloksasin	33(68.7)	3(6.3)	12(25)
Siprofloksasin	32(66.7)	2(4.1)	14(29.2)
Piperasilin-tazobaktam	31(64.6)	8(16.7)	9(18.7)
Kolitsin	-	-	48(100)

n: izolat sayısı

Karbapeneme duyarlı 92 (%65.7) *P. aeruginosa* suşunun 71'inde (%77.2) sefepime, 55'inde (%59.8) seftazidime, 42'sinde (%45.7) piperasiline, 36'sında (%39.1) levofloksasine, 34'ünde (%36.9) siprofloksasine, 19'unda (%20.6) gentamisine, 13'ünde (%14.1) piperasilin-tazobaktama, 9'unda (%9.8) amikasine karşı direnç saptandı. Kolistine karşı hiçbir suşta direnç saptanmadı.

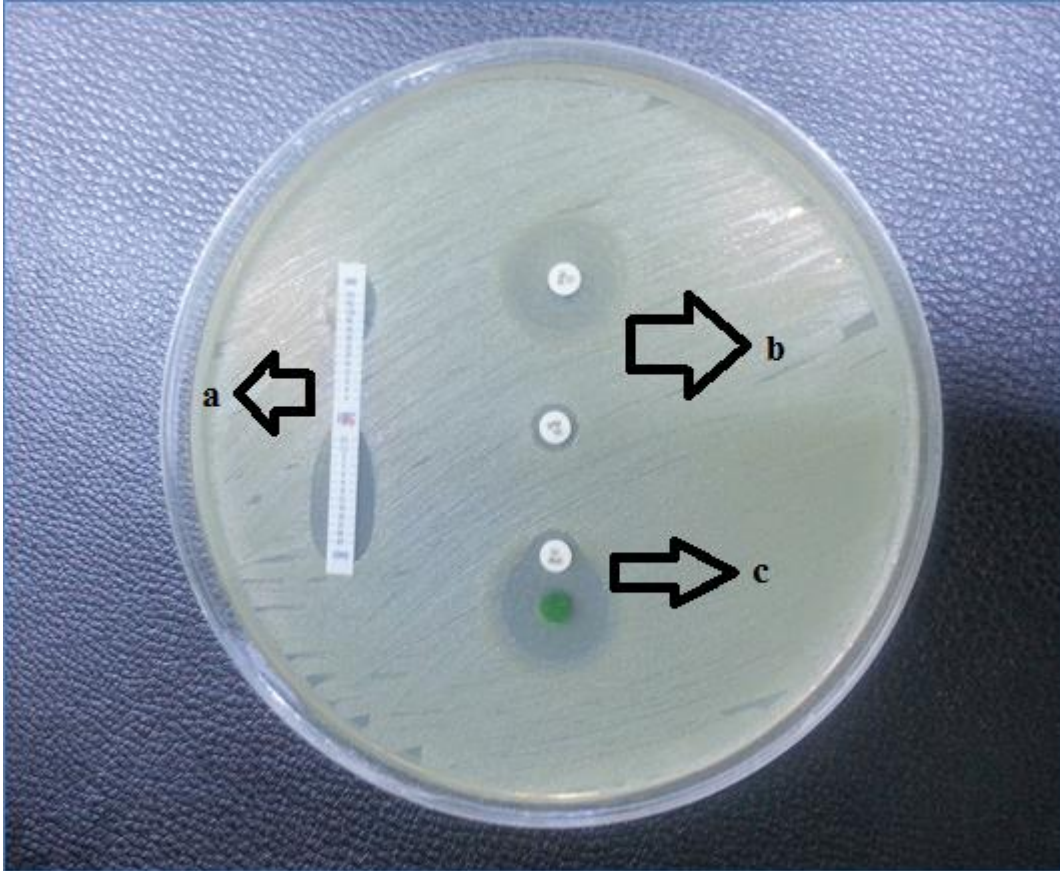
A. baumannii suşlarında MBL pozitifliği en çok %98.9 oranı ile kombine disk testi ve çift disk sinerji testi ile saptanırken bunu %97.9 oranı ile E-test yöntemi ve %95.7 oranı ile modifiye Hodge testi takip etmiştir.

P. aeruginosa suşlarında MBL pozitifliği en yüksek oranda (%100) E-test yöntemi ile tespit edildi. Ayrıca kombine disk testi ile %93.7 oranında, çift disk sinerji testi ile %89.6 ve modifiye Hodge testi ile %41.7 oranında MBL pozitifliği saptandı. Kullanılan dört fenotipik yöntemin tamamında MBL pozitifliği saptama oranı *A. baumannii* suşları için %88.3 iken *P. aeruginosa* suşları için %31.2 dir. (Tablo 6)

Tablo 6. Test Yöntemine Göre MBL Pozitifliği n(%)

Fenotipik yöntem	<i>A.baumannii</i>	<i>P.aeruginosa</i>
MBL E-test	92(97.9)	48(100)
Kombine disk testi	93(98.9)	45(93.7)
Çift disk sinerji testi	93(98.9)	43(89.6)
Modifiye Hodge testi	90(95.7)	20(41.7)

n: izolat sayısı



Şekil 1. MBL Pozitifliği Saptanan Örnek; a) E-test, b) Kombine Disk Testi, c) Çift Disk Sinerji Testi



Şekil 2. Modifiye Hodge Testi Pozitif Örnek

MBL varlığının tespiti için uygulanan testler arasındaki uyum her bir testin E-test yöntemiyle karşılaştırılarak her iki testle pozitif ve her iki testle negatif bulunan suş sayısının toplam çalışılan suş sayısına bölünmesiyle saptanmıştır. *A. baumannii* suşlarında E-test ile kombine disk testi arasındaki uyum %94.7, çift disk sinerji testi ile aynı şekilde %94.7, modifiye Hodge testi ile %91.5 oranında bulunmuştur. *P. aeruginosa* suşlarında E-test ile kombine disk testi arasındaki uyum %93.7, çift disk sinerji testi ile %89.6, modifiye Hodge testi ile %41.7 oranında bulunmuştur. (Tablo 7)

Tablo 7. E Test Yöntemi ile Diğer Fenotipik Testlerin Uyumu

	<i>P.aeruginosa</i>			<i>A.baumannii</i>		
	E test			E test		
	Pozitif	Negatif	Uyum	Pozitif	Negatif	Uyum
Kombine disk testi	45	-	%93.7	89	-	%94.7
Çift disk sinerji testi	43	-	%89.6	89	-	%94.7
Modifiye Hodge testi	20	-	%41.7	86	-	%91.5

5. TARTIŞMA

Doğada yaygın olarak bulunan *Acinetobacter* türleri, özellikle nemli ortamlarda uzun süre canlı kalarak hastane ekipmanında ve çalışanların ellerinde kolonize olarak yayılmaktadır.⁽¹⁰⁷⁾

Amerikan Ulusal Nazokomiyal İnfeksiyon Sürveyans Sistemi (NNIS) verilerine göre *Acinetobacter* türleri ile gelişen hastane infeksiyonu insidansında önemli artış olduğu görülmektedir. 1975 yılında *Acinetobacter* türleri GN hastane infeksiyonlarının %1.4'ünü oluştururken, 2003'te bu oran %6.2'ye çıkmıştır.⁽¹⁰⁸⁾

Ventilatör tüpü, solunum cihazı, tansiyon aletigibi tıbbi ekipman; ayrıca yatak çarşafı, yastıklar, perdeler, televizyon, telefon gibi çevresel kaynakların *A. baumannii* ile kontamine olup salgın boyunca rezervuar görevi gördüğü bilinmektedir.⁽¹⁰⁹⁾ Allen ve Gren havadan yayılımı ilk kez bir geçiş yolu olarak bildirmişlerdir.⁽¹¹⁰⁾

Yapılan çeşitli çalışmalarda *A. baumannii* suşlarının en fazla YBÜ'nde ve özellikle de Anestezi ve Göğüs Hastalıkları YBÜ'nde infeksiyon etkeni olduğu rapor edilmektedir.⁽¹¹¹⁻¹¹³⁾

Villers ve ark. *Acinetobacter* suşlarının en sık solunum sistemi, üriner sistem, kan dolaşımı, yara yeri ve santral sinir sistemi infeksiyonlarına neden olduğunu bildirmişlerdir. Ülkemizde yapılan birçok çalışmada da *Acinetobacter* suşları en çok solunum sistemi, kan kültürü, yara ve idrar örneklerinden izole edilmiştir.⁽¹¹⁴⁻¹¹⁶⁾

Gözütok ve ark.⁽¹¹⁷⁾ da *A. baumannii* suşlarının %59'u Anestezi YBÜ olmak üzere %84.4'ünü YBÜ'nden izole etmişlerdir. Bu suşların %39'u kan, %30'u endotrakeal aspirat, %17'si idrar, %13'ü ise yara örneklerinden izole edilmiştir.

Bizim çalışmamızda da *A. baumannii* suşları %59.6 oranı ile en çok YBÜ'den izole edilmiştir. Bu oranı cerrahi klinikler ve dahili klinikler takip etmektedir. Yine yapılan diğer çalışmalara paralel olarak bakteri suşları en çok kan, yara ve solunum sistemi örneklerinden izole edilmiştir. Görüldüğü gibi hastane infeksiyonlarında önemli bir problem olan dirençli *A. baumannii*, invaziv işlemlerin sıklıkla yapıldığı, komplike hastaların olduğu, yoğun antibiyotik kullanım gerekliliği olan kliniklerde daha sık etken olmaktadır.

NFGNB'den *P. aeruginosa* hastane ortamında ve çevrede yaygın olarak bulunabilmektedir. Yapılan çalışmalarda %8-25 oranında hastane infeksiyonlarına neden olduğu tespit edilmiştir. *Pseudomonas* türlerinin neden olduğu infeksiyonlar özellikle yoğun bakım üniteleri olmak üzere; yanık üniteleri, kanser kemoterapisi uygulanan veya geniş spektrumlu antibiyotik kullanılan birimlerde daha sık görülmektedir.⁽¹¹⁸⁾

Albayrak⁽¹¹⁹⁾ 2008 yılında yaptığı çalışmada hastane infeksiyon etkeni olan 100 *P. aeruginosa* suşunun %53'ünün YBÜ, %26'sının cerrahi klinikler, %9'unun dahiliye ve %12'sinin diğer kliniklerden gönderilen örneklerden izole edildiğini bildirmiştir. Bu suşların %54'ü trakeal aspirat, %19'u yara ve %11'i idrar kültürlerinden izole edilmiştir.

Şenbayrak Akçay ve ark.⁽¹²⁰⁾'nin yaptıkları çalışmada *P. aeruginosa* suşları sıklık sırasına göre trakeal aspirat, idrar, kan, BAL, kateter ve yara örneklerinden izole edilmiştir.

Öztürk ve ark.⁽¹²¹⁾'nin 100 *P. aeruginosa* suşuyla yaptıkları çalışmada %37'si trakeal aspirat, %25'i yara, %14'ü balgam, %10'u idrar, %7'si kan ve %7'si diğer örneklerden izole edilmiştir.

Bizim çalışmamızda *P. aeruginosa* suşları en çok %37.4 oranı ile yara ve %27.1 oranı ile kan kültürlerinden izole edilmiştir. Bunları sırasıyla %14.6 oranı ile kulak sürüntü örnekleri, %12.4 oranı ile solunum sistemi ve %8.3 oranı ile idrar örnekleri izlemiştir. Bu suşların izole edildiği servisler %43.7 oranı ile cerrahi klinikler, %29.2 oranı ile dahili klinikler, %27.0 oranı ile yoğun bakım üniteleridir. Bu suşların çoğunluğu cerrahi kliniklerden gelen yara örneklerinden izole edilmiştir. Yapılan diğer çalışmalardan farklı olarak hastanemizde *P. aeruginosa* suşları, *A. baumannii* suşlarına göre YBÜ'nden daha az izole edilmiştir. Yine solunum sistemi örneklerinden izole edilen *P. aeruginosa* suş sayısında diğerlerine oranla daha azdır. Tüm bu veriler ışığında hastanemiz YBÜ'nde dirençli *A. baumannii* infeksiyonlarının önemli bir problem haline geldiği görülmektedir. Bu durum hastane infeksiyonlarının önlenmesi amacıyla uygulanan tedbirlerin ve antibiyotik kullanım politikalarının yeniden gözden geçirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Acinetobacter infeksiyonlarının tedavisinde karbapenem, sulbaktam ve kolistin ilk tercih edilen antibiyotiklerdir. Ancak, karbapenemlerin ampirik tedavide yaygın olarak kullanılması, bunlara karşı direnç oranlarının artmasına neden olmaktadır. Dirençli

Acinetobacter infeksiyonlarında aminoglikozidler başka bir aktif antimikrobiyal ajanla kombine olarak kullanılabilir. (122)

Çoğul ilaç dirençli suşların izole edilme oranlarındaki artış *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde önemli problem olmakla birlikte tedavide kullanılacak antibiyotik seçeneklerinin de azaltılmaktadır. Son zamanlarda panrezistan kökenlerle ilişkili infeksiyonlarda bildirilmektedir. Antimikrobiyal direnç oranları merkezden merkeze farklılık gösterse de çoğul dirençli kökenlerin giderek artması endişe vericidir. (123)

Haziran 2004-Ocak 2005 tarihleri arasında ülkemizde altı merkezin katıldığı bir çalışmada, *Acinetobacter* suşlarında imipenem direncinin %33 ile %62 arasında değiştiği bildirilmiştir. (124)

Özer ve ark. (125) 2006 yılındaki çalışmalarında *Acinetobacter* suşlarındaki imipenem direncini %56, Bayram ve Balcı (126) %64, Ardıç ve ark. (127) %77, Gülhan ve ark. (128) ise %56 oranında saptamışlardır. Iraz ve ark. (112) 2011–2012 yıllarını kapsayan çalışmalarında imipenem direncini %92 gibi çok yüksek oranlarda tespit etmişlerdir. Ulusal Hastane İnfeksiyonları Sürveyans Ağı 2011 raporunda hastane infeksiyonlarından izole edilen *A. baumannii* suşlarındaki karbapenem direnci %74 olarak bildirilmiştir. (129)

Bizim çalışmamızda bir yıllık süre içerisinde izole edilen *Acinetobacter* suşlarında imipenem direnci %84.7 oranında saptanmıştır. Karbapenemlerin ampirik tedavide sıkça kullanılması son yıllarda pek çok ülkede olduğu gibi ülkemizde de karbapenem direncinin artmasına neden olmuştur. Hastanemizde izole edilen *Acinetobacter* suşlarındaki imipenem direnci de diğer merkezlere benzer şekilde yüksek oranda saptanmıştır.

Aral ve ark. (111) tarafından 2010 yılında yapılan çalışmada *A. baumannii* suşlarında gentamisine %85, amikasine ise %81 oranında direnç bildirilmiştir.

Bayram ve Balcı (126) cerrahi YBÜ’nde yaptıkları bir çalışmada *A. baumannii* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranlarını; imipenem için %63.5, amikasin için %71.6, siprofloksasin için %56.7, seftazidim ve piperasilin için ise %100 olarak tespit etmişlerdir. 2000-2004 yıllarında Hacettepe Üniversitesi’nde MYSTIC antimikrobiyal sürveyans programı dahilindeki çalışma sonuçlarına göre *A. baumannii* suşlarında sefepime %63, siprofloksasine %71, piperasilin-tazobaktama %74 ve seftazidime %78 oranında direnç bildirilmiştir. (130)

Çaylan⁽¹³¹⁾ 1995-2002 yılları arasında yaptığı araştırmada *Acinetobacter* türlerindeki ilaç duyarlılıklarının giderek azaldığı bildirilmektedir. İmipenem duyarlılığının %92'den %62'ye, amikasin duyarlılığının %56'dan %42'ye, siprofloksasin duyarlılığının ise %45'ten %25'e düştüğü rapor edilmiştir.

2006 yılında Alp ve ark.⁽¹³²⁾'nin yaptıkları çalışmada, *A. baumannii* suşlarında piperasilin-tazobaktama %98 ve ampisilin-sulbaktama %63 oranında direnç saptanmıştır.

Gözütok ve ark.⁽¹¹⁷⁾'nin 161 *A. baumannii* suşunu test ettikleri bir çalışmada gentamisine %54, amikasine %59, piperasilin-tazobaktama %97, sefepime %95, siprofloksasine %92 ve levofloksasine %94 oranında direnç saptamışken kolistine karşı direnç tespit etmemişlerdir. Ergin ve ark.⁽¹³³⁾ 2004–2010 yılları arasında kan kültüründen izole ettikleri 100 *A. baumannii* suşunda kolistine %2 oranında direnç bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda imipeneme dirençli olan 94 *A. baumannii* suşunun tamamı seftazidim, sefepim, piperasilin, piperasilin-tazobaktam ve ampisilin-sulbaktama dirençli olarak bulunmuştur. Bu suşlar siprofloksasine %98.9, tetrasikline %94.7, levofloksasine %92.5, gentamisine %91.5, amikasine %87.2 ve SXT'ye %40.4 oranında dirençli bulunmuştur. Aynı süre içerisinde izole edilen imipeneme duyarlı *A. baumannii* suşlarında ise %70.6 oranı ile en yüksek direnç piperasiline karşı tespit edilmiştir. Seftazidim ve sefepime %64.7, tetrasiklin ve levofloksasine %29.4, ampisilin-sulbaktam, SXT, siprofloksasin ve gentamisine %23.5 oranında direnç bulunmuştur. %17.6 oranı ile en düşük direnç piperasilin-tazobaktam ve amikasine karşı saptanmıştır. Kolistin ise tüm suşların duyarlı olduğu tek antimikrobiyal ajan olarak tespit edilmiştir. Karbapeneme duyarlı suşlarla dirençli suşlar arasında diğer tüm antibiyotiklere karşı belirgin duyarlılık farkı olduğu görülmektedir.

Karbapeneme dirençli suşlarda penisilin, kinolon, aminoglikozid ve sefalosporinlere yüksek direnç oranları kolistini önemli bir tedavi seçeneği haline getirmektedir. Hastanemizdeki *A. baumannii* suşlarındaki yüksek direnç oranları nedeniyle bu mikroorganizmanın neden olduğu infeksiyonların tedavisinde kolistin neredeyse etkin olarak kullanılabilir tek silah haline gelmiştir. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda kolistin mutlaka başka bir antibiyotik ile birlikte kullanılması gerektiği, tek başına kullanılamayacağı belirtilmektedir.⁽¹³⁴⁾

A. baumannii suşlarında olduğu gibi *P. aeruginosa* suşlarındaki antibiyotik direnç oranlarıyla ilgili birçok çalışma mevcuttur. 2010 yılında 100 *P. aeruginosa* suşunda yapılan bir çalışmada amikasin %7 ve piperasilin-tazobaktam %8 direnç oranlarıyla en etkin antimikrobiyaller olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada imipeneme %18, seftazidime %45, sefepime %60 oranında direnç saptanmıştır.⁽¹²¹⁾ Yine ülkemizde 2008 ve 2007 yıllarında yapılan iki çalışmada *P. aeruginosa*'da imipenem direnci sırasıyla %49 ve %32 oranında bildirilmiştir.^(135, 136)

Demirdağ ve ark.⁽¹⁰⁵⁾'nin imipeneme dirençli 43 *Pseudomonas* suşuyla yaptığı bir çalışmada %65 seftazidim, %62 siprofloksasin, %69 gentamisin, %83 amikasin, %76 sefepim, %86 piperasilin-tazobaktam direnci saptanmıştır.

Hacettepe Üniversitesi'nde MYSTIC antimikrobiyal sürveyans programı dahilinde 2000–2004 yıllarında arasında yapılan çalışma sonuçlarına göre *P. aeruginosa* suşlarında piperasilin-tazobaktama %45, siprofloksasine %47, imipeneme %51, seftazidime %52, sefepime %59 ve tobramisine %65 oranında direnç saptanmıştır.⁽¹³⁰⁾

MYSTIC 2006'da Avrupa'dan 40 merkezin katıldığı çalışmanın verilerine göre 1012 *P. aeruginosa* suşunda piperasilin-tazobaktama %15, imipeneme %32, meropeneme %22, amikasine %23, seftazidime %25, gentamisine %29, siprofloksasine %33 ve tobramisine %35 direnç bildirilmiştir.⁽¹³⁷⁾

Ülkemizde yapılan bir çalışmada cerrahi YBÜ'nden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında imipeneme %26.1, seftazidime %71.3, sefotaksime %96.2, amikasine %29.9, siprofloksasine %59.2, piperasilineise %69.4 oranında direnç tespit edilmiştir.⁽¹²⁶⁾

Avrupa ve Latin Amerika ülkelerini kapsayan SENTRY antimikrobiyal surveyans programının 1997-2007 yılları arasındaki verileri ile ülkemizde yapılan HİTİT-2 antimikrobiyal surveyans programının 2007 verilerinde piperasilin-tazobaktam en etkili antipsödomonal ilaç olarak rapor edilmiştir.^(138, 139) Yine ülkemizde yapılan bir çalışmada 2011 yılında kan kültürlerinde üreyen *P. aeruginosa* suşlarında piperasilin-tazobaktam en etkili antibiyotiklerden biri olarak gözlenmiştir. Aynı çalışmada amikasine %12, imipeneme %18, gentamisine %23 direnç saptanmış olup kolistin direnci tespit edilmemiştir.⁽¹⁴⁰⁾ Solunum yoluna ait klinik örneklerden izole edilen 20 *P. aeruginosa* suşunun değerlendirildiği bir başka çalışmada da kolistin direnci saptanmamıştır.⁽¹⁴¹⁾

Bizim çalışmamızda imipeneme dirençli 48 (%34.3) *P. aeruginosa* suşu sefepim ve piperasiline %81.2, levofloksasine %68.7, siprofloksasine %66.7, piperasilin-tazobaktama %64.6, gentamisin ve seftazidime %60.4, amikasine %58.3 oranında dirençli bulunmuştur. İmipeneme duyarlı 92 (%65.7) *P. aeruginosa* suşunda ise sefepime %77.2, seftazidime %59.8, piperasiline %45.7, levofloksasine %39.1, siprofloksasine %36.9, gentamisine %20.6, piperasilin-tazobaktama %14.1, amikasine %9.8 oranında direnç saptanmıştır. Çalışmamızda *P. aeruginosa* suşlarının hiçbirinde kolistin direnci saptanmamıştır. *A. baumannii* suşlarında olduğu gibi *P. aeruginosa* suşlarında da antibiyotik direnç oranları yüksek seviyelerde bulunmuştur. Üniversite hastanemizin tüm bölge illerine hizmet veren son sağlık merkezi olup, hasta popülasyonunun genellikle invaziv girişimlere maruz kalmış komplike hastalar olması tedavilerinde yüksek doz ve agresif antibiyotik kullanımını beraberinde getirmektedir. Yoğun antibiyotik kullanımı ise direnç gelişimini artırmaktadır.⁽¹⁴²⁾

İmipenem dirençli suşlarla duyarlı suşlar karşılaştırıldığında karbapenem dirençli suşların antibiyotik direnç oranlarının çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Bilindiği gibi karbapenem direnci birçok antibiyotik direncini de beraberinde getirmektedir.⁽¹²⁾ İmipeneme duyarlı suşlarda diğer çalışmalara paralel olarak en etkin antibiyotikler amikasin ve piperasilin-tazobaktam olarak tespit edilmiştir. İmipeneme dirençli suşlarda ise amikasin ve seftazidim en duyarlı antibiyotiklerdir ancak bunlarında direnç oranları %58.3 ve %60.4 gibi çok yüksek oranlarda saptanmıştır. *A. baumannii* suşlarında olduğu gibi imipeneme dirençli *P. aeruginosa* suşlarındada direncin tespit edilmediği tek antibiyotiğin kolistin olduğu görülmektedir.

P. aeruginosa ve *A. baumannii* suşları gerek hastane ortamında cansız materyaller üzerinde kolaylıkla üreyebilmesi, gerekse kolonizasyona neden olan bakteriler olması nedeniyle hastalar ve hastane personeli arasında da rahatlıkla yayılabilmektedir. Hastanemizde özellikle yoğun bakım kliniklerinde olmak üzere infeksiyon kontrol önlemlerine en üst düzeyde önem verilmesi ve ampirik olarak başlanan antibiyotiklerin kültür antibiyogramla duyarlılığının mutlaka kontrol edilmesi gerekmektedir.

GN bakteriler arasında MBL üretimi giderek artmaktadır. Hızla yayılan ve geniş antibakteriyel direnç spektrumuna neden olan metallo enzimler infeksiyonların tedavisi için ciddi bir sorun oluşturmaktadır.^(143, 144) Metallo enzimlerin en önemli özelliği

karbapenemleri hidroliz edebilmeleridir. Bazıları aynı zamanda çoğu beta-laktam grubunu da hidroliz edebilir. Dolayısıyla, MBL üreten organizmalar söz konusu olduğunda beta-laktam antibiyotiklerin kullanılabilirliği ciddi olarak sınırlanmış olur.⁽¹²⁾ Çoğul dirençli türlerin yayılımının önlenmesi ve bu türlerin neden olduğu infeksiyonların başarılı şekilde tedavisi için MBL enzim varlığı basit ve güvenilir bir laboratuvar metoduyla araştırılmalıdır. Ancak CLSI kriterlerine göre MBL üretimini tespit etmede geçerli bir fenotipik yöntem henüz önerilmemektedir. Bununla birlikte MBL E-test, çift disk sinerji testi, kombine disk testi ve modifiye Hodge testi gibi çeşitli yöntemlerin kullanıldığı çalışmalar yapılmakta ve bu çalışmaların bir kısmında sonuçlar PCR yöntemiyle karşılaştırılmaktadır.⁽¹⁰⁴⁾

MBL enzim varlığının tespiti için kullanılan fenotipik testler içinde en yüksek duyarlılık ve özgüllük E-test yöntemi için bildirilmiştir. Kore'de 2004 yılında yapılan karşılaştırmalı MBL enzim tayininde bla IMP-1 geni pozitif bulunan *A. baumannii* izolatlarının hepsi, blaIMP-2 geni pozitif *A. baumannii* izolatlarının ise %95'i E-test ile MBL pozitif olarak tespit edilmiştir. OXA-23 pozitif MBL negatif izolatların bir tanesi E-test ile yanlış pozitif sonuç vermiştir.⁽¹⁴⁵⁾ Walsh ve ark.⁽¹⁰⁶⁾ E-testin MBL enzim tayinindeki duyarlılığını %94 ve özgüllüğünü %95 olarak bildirmişlerdir.

Tetik ve ark.⁽¹⁴⁾ 61 *A. baumannii* suşunda MBL enzim üretimini kombine disk testi ile %75, çift disk sinerji testi ile %84, modifiye Hodge testi ile %74 ve MBL E-test ile %80 oranında saptamışlardır. Çetin ve ark.⁽¹⁴⁶⁾ *A. baumannii* için MBL üretimini MBL E-test ile %80 oranında bulmuşlardır. Aynı şekilde Aktaş ve ark.⁽¹⁴⁷⁾ da *A. baumannii* için MBL üretimini E-test yöntemi ile %80 olarak tespit etmişlerdir.

Jesudason ve ark.⁽¹⁴⁸⁾ karbapenemaz ve MBL üretiminin tespitinde çift disk sinerji testini modifiye Hodge testine göre daha duyarlı bulmuşlardır. Lee ve ark.⁽¹⁰⁰⁾ da *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşlarında çift disk sinerji testinin özgüllük ve duyarlılığını %100, modifiye Hodge testinin duyarlılığını %100, özgüllüğünü ise %88 olarak saptamışlardır.

Ülkemizde imipenem dirençli 79 *Acinetobacter* izolatıyla yapılan bir çalışmada MBL üretimi E-test ile %51.9, kombine disk testi ile %58.2, çift disk sinerji testi ile %55.7, modifiye Hodge Testi ile %69.6 oranında saptanmış, PCR yöntemiyle blaIMP-1

geni araştırılmış, ancak pozitiflik bulunamamıştır. Bu suşlardaki MBL üretiminden blaIMP-1 dışı genlerin sorumlu olduğu düşünülmüştür.⁽¹⁴⁹⁾

Altoparlak ve ark.⁽¹⁵⁰⁾ karbapenemlere dirençli 40 *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* suşunda MBL pozitifliğini kombine disk yöntemi ile %55 oranında saptamışlardır. Bayraktar ve ark.⁽¹⁵¹⁾ *P. aeruginosa* suşlarında E-test yöntemi ile %66.6 oranında MBL pozitifliği belirlemişlerdir.

Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada 45 NFGNB izolatının %89'u modifiye Hodge testi ile, %96'sı imipenem-EDTA disk yöntemi ile MBL pozitif saptanmıştır. *Pseudomonas* dışı NFGNB'lerdeki pozitiflik oranı *Pseudomonas* suşlarına göre daha yüksek oranda saptanmıştır. Yine bu çalışmada *Pseudomonas* suşlarının %12'sinde modifiye Hodge testi ile, %52'sinde imipenem-EDTA disk testi ile pozitiflik tespit edilmiştir.⁽⁹³⁾

Aşık⁽¹⁵²⁾'ın 2006 yılında yaptığı çalışmada *Acinetobacter* suşlarında modifiye Hodge testi ile %27 oranında MBL üretimi saptanmış, ancak *Pseudomonas* suşlarının hiçbirinde bu yöntem ile pozitiflik belirlenememiştir.

Bizim çalışmamızda tümü imipeneme dirençli olan *A. baumannii* suşlarında MBL varlığı en çok %98.9 oranı ile kombine disk testi ve çift disk sinerji testi ile saptanırken, bunu %97.9 oranı ile E-test yöntemi ve %95.7 oranı ile modifiye Hodge testi takip etmiştir. *P. aeruginosa* suşlarında tespit edilen en yüksek MBL pozitiflik oranı %100 ile E-test yönteminden elde edilmiştir. Kombine disk testi ile %93.7 oranında, çift disk sinerji testi ile %89.6 oranında ve modifiye Hodge testi ile %41.7 oranında MBL pozitifliği saptanmıştır. *A. baumannii* suşlarında dört fenotipik yöntemin tamamında MBL pozitifliği tespit edilme oranı %88.3 iken *P. aeruginosa* suşlarında bu oran %31.2 olarak bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda E-test yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olması nedeniyle *A. baumannii* suşlarında diğer testlerle E-test arasındaki uyumluluğu hesapladığımızda kombine disk testi ile %94.7, çift disk sinerji testi ile %94.7, modifiye Hodge testi ile %91.5 oranında bulunmuştur. *P. aeruginosa* suşlarında ise kombine disk testi ile %93.7, çift disk sinerji testi ile %89.6, modifiye Hodge testi ile %41.7 oranında E-test ile uyumluluk tespit edilmiştir.

E-test yöntemi MBL üretimi tayininde kullanımı ve yorumlaması kolay bir test olarak öne çıkmaktadır. MİK değeri tespitine dayanması daha rasyonel bir sonuç vermektedir. Yapılan çalışmalarda yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip bir fenotipik test olduğu bildirilmektedir.⁽¹⁴⁵⁾

Modifiye Hodge testi ise MBL tespitinde diğer fenotipik yöntemlerden farklı olarak enzim inhibisyonu temeline dayanmaz. MBL enzimi üreten bakteri varlığında aslında imipenem duyarlı olan bir bakteriye imipenemin etkisiz hale gelmesi sonucu diskin etrafında üremenin görülmesi ile test pozitif kabul edilir. OXA ve MBL gibi enzimlerin varlığını birlikte tespit edebilmesi ve uygulaması kolay bir test olması nedeniyle kullanışlı bir yöntem olduğu düşünülmektedir. Ancak bu enzimlerin ayırımını ortaya koyamaması nedeniyle epidemiyolojik olarak kullanışlı bir test olarak görülmemekle birlikte AmpC üreten suşlarla azalmış ya da kaybolmuş porin salınımı yalancı pozitif sonuçlara neden olabilmektedir.⁽¹⁵³⁻¹⁵⁶⁾ Yine modifiye Hodge testinin değerlendirilmesinin diğer testlere göre subjektif olması testin sonuçlarını etkilemektedir. Bizim çalışmamızda modifiye Hodge testi *A. baumannii* suşlarında diğer testlerle paralellik gösterirken, *P. aeruginosa* suşlarında pozitiflik oranının düşük olması yorum farkı kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir.

Çift disk sinerji testinde yapılan çalışmalarda duyarlılığı yüksek bir test olmasına karşın bu testin en önemli problemi diskler arasındaki mesafe imipenem disk çapının yarısı kadar uzatıldığında sonuçların negatif olarak değerlendirilebilmesine neden olmasıdır. Bu nedenle bir çok çalışmada kombine disk yöntemi çift disk sinerji testine tercih edilmektedir.⁽¹⁵⁷⁾

MBL tayini için yapılan tüm çalışmalar dikkate alındığında fenotipik yöntemlerin uygulanması sırasındaki küçük detayların sonuçları etkilediği görülmektedir. Moleküler testler MBL tayini için en güvenilir yöntem olmakla birlikte bu testlerin rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılması iş gücü ve maddi olanaklar açısından her zaman mümkün değildir. Uyguladığımız fenotipik yöntemler arasında farklar olmasına rağmen hepsinde pozitiflik oranı yüksek bulunmuştur. Hastanemizde *A. baumannii* ve *P.aeruginosa* suşlarında yüksek oranda karbapenem direnci ve MBL üretimi mevcuttur. MBL enzimlerinin aztreonam hariç tüm beta-laktam antibiyotiklere yüksek düzeyde dirence neden olması yanında beraberinde taşınabilen diğer direnç genleriyle

aminoglikozidlere ve florokinolonlara karşı da çoklu direnç oluşturması bu enzimi taşıyan bakterilerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde önemli bir problemdir. Bu direnç genleri sıklıkla hareketli elemanlar üzerinde taşındıklarından farklı suşlar arasında horizontal olarak yayılabilmektedir.⁽¹⁵⁸⁾

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İmipenem dirençli 94 *A. baumannii* ve 48 *P. aeruginosa* suşunu kullanarak MBL varlığını araştırdığımız çalışmada;

1. Hastanemizde *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* suşlarında yüksek oranda karbapenem direnci ve MBL üretimi saptanmış olup bu suşların tamamında etkili olan tek antimikrobiyalin kolistin olduğu tespit edilmiştir.

2. *A. baumannii* suşlarında MBL varlığı en çok %98.9 oranı ile kombine disk testi ve çift disk sinerji testi ile saptanırken, bunu %97.9 oranı ile E-test yöntemi ve %95.7 oranı ile modifiye Hodge testi takip etmiştir. *P. aeruginosa* suşlarının tamamında E-test yöntemi ile MBL varlığı tespit edilirken, kombine disk testi ile %93.7 oranında, çift disk sinerji testi ile %89.6 oranında ve modifiye Hodge testi ile %41.7 oranında tespit edilmiştir. *A. baumannii* suşlarında dört fenotipik yöntemin tamamında MBL pozitifliği tespit edilme oranı %88.3 iken *P. aeruginosa* suşlarında bu oran %31.2'dir.

3. *A. baumannii* suşlarında E-test ile kombine disk testi arasındaki uyum %94.7, çift disk sinerji testi ile %94.7, modifiye Hodge testi ile %91.5 oranında bulunurken; *P. aeruginosa* suşlarında kombine disk testi ile arasındaki uyum %93.7, çift disk sinerji testi ile %89.6, modifiye Hodge testi ile %41.7 oranında bulunmuştur.

4. MBL tayini için yapılan tüm çalışmalar dikkate alındığında fenotipik testlerin uygulanması sırasında diskler arası mesafenin doğru ayarlanması, test sonucunun yorumlanması gibi küçük detayların sonuçları etkilediği görülmektedir.

Bu bilgiler ışığında; MBL enziminin GN bakteriler arasında hızla yayılması ve tedavide kullanılabilecek bir MBL inhibitörünün bulunmaması nedeniyle uygun antimikrobiyal ajan seçimine yardımcı olması ve hastane infeksiyonlarının önlenmesinde epidemiyolojik veriler sağlaması amacıyla MBL varlığının saptanması oldukça önemlidir. Hastane infeksiyonlarının önlenmesi amacıyla hasta bakımı ve tedavisinde ortak kullanılan alet ve cihazların uygun dezenfeksiyon ve sterilizasyon işlemleri sonrası kullanılması, el hijyenine dikkat edilmesi ve hastane infeksiyonu kontrol önlemlerinin taviz verilmeksizin uygulanması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Çalangu S. Hastane infeksiyonlarının önemi. İçinde: Günaydın M, Esen Ş, Saniç A, Leblebicioğlu H. (Editörler). Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane İnfeksiyonları. Samsun: Kaya Basım, 2002: 189-94.
2. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global Challenge of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2007; 51: 3471-83.
3. Akalın H. Dirençli bakterilerin neden olduğu nazokomiyal infeksiyonlar ve infeksiyon kontrolü, *Türk Klin Mikrobiyol Derg* 2003; 2(2): 104-7.
4. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter spp.* as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features, *Clin Microbiol Rev* 1996; 9(2): 148-65.
5. Bonfiglio G, Russo G, Nicoletti G. Recent developments in carbapenems. *Expert Opin Invest Drugs* 2002; 11: 529-44
6. Behera B, Mathur P, Das A, Kapil A, Sharma V. An evaluation of four different phenotypic techniques for detection of metallo-beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian J Med Microbiol* 2008; 26: 233-7.
7. Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase producing isolates of *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.* *J Clin Microbiol* 2003; 41: 4623-9.
8. Hemalatha V, Sekar U, Kamat V. Detection of metallo beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in hospitalized patients. *Indian J Med Res* 2005; 122: 148-52.
9. Toraman ZA, Yakupoğulları Y, Kızırgil A. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşlarında metallo-beta-laktamaz araştırılması. *İnfek Derg* 2005; 19: 101-5.
10. Gayyurhan E, Zer Y, Mehli M, Akgün S. Yoğun bakım ünitesi hastalarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve metallo-beta-laktamaz oranlarının belirlenmesi. *İnfek Derg* 2008; 22: 49-52.

11. Bush KG, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structures. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39(6): 1211-33.
12. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1980; 289(1036): 321-31.
13. Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8(6): 321-31.
14. Tetik T. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde İzole Edilen Gram Negatif Nonfermenter Bakterilerde Metallo-Beta-laktamaz Enzim Aktivitesinin Araştırılması, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Isparta, 2008.
15. Allen DM, Hartman BJ. *Acinetobacter* species. In: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010; 7: 2881-84.
16. Enoch DA, Birkett CI, Ludlam HA. Non-Fermentative Gram-negative bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2007; (3): 33-41.
17. Nordmann P, Guibert M. Extended spectrum-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42(2): 128-32.
18. Lortholary O, Fagon JY, Hoi AB et al. Nosocomial acquisition of multiresistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors and prognosis. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 790-6.
19. Erdem B. *Pseudomonas*' lar. İçinde: Ustaçelebi Ş (editör). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 551-58.
20. Koneman E, Stephan DA, William MJ, Schreckenberger PC, Winn CW Jr. The nonfermentative Gram-negative bacilli. *Konoman's Colour Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* 6th Ed. Philadelphia: Lippincott 2006: 303-91.
21. Bilgehan H. Fermentasyon yapmayan gram olumsuz bakteriler. İçinde: Bilgehan H (editör). *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonlar*. İzmir: Fakülteler Kitabevi, 2000: 422

22. Pier GB, Ramphal R. *Pseudomonas aeruginosa*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases, Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005: 2587-614.
23. Vahapoğlu H, Akhan SÇ. *Pseudomonas aeruginosa* ve diğer *Pseudomonas* türleri. İçinde: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Editörler). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2002: 1608-18
24. Bouza E, Munoz P. Monotherapy versus combination therapy for bacterial infections. Med Clin North Am 2000; 84(6): 1357-89.
25. Schreckenberger PC, Daneshvar MI, Weyant RS, Hollis DG. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and other nonfermentative Gram-negative rods. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds). Manual of clinical microbiology. Washington DC: ASM Press, 2007: 770-802.
26. Obana Y. Pathogenic significance of *Acinetobacter calcoaceticus*: Analysis of experimental infection in mice. Microbiology and Immunology 1986; 30: 645-57
27. Seifert H, Dijkshoorn L, Gerner-Smidt P, Pelzer N, Tjernberg I, Vaneechoutte M. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. Journal of Clinical Microbiology 1997; 35: 2819-25
28. Mulin B, Talon D, Viel JF et al. Risk factors for nosocomial colonization with multiresistant *Acinetobacter baumannii*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995; 14: 569-76
29. Joly-Guillou ML. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. Clin Microbiol Infect Dis 2005; 11: 868-73
30. D'Agata EMC, Thayer V, Schaffner W. An outbreak of *Acinetobacter baumannii*: The importance of cross-transmission. Infection Control and Hospital Epidemiology 2000; 21: 588-91
31. Das I, Lambert P, Hill D, Noy M, Bion J, Elliot T. Carbapenem-resistant *Acinetobacter* and role of curtains in an outbreak in intensive care units. Journal of Hospital Infection 2002; 50: 110-114

32. Gulati S, Kapil A, Das B, Dwivedi SN, Mahapatra AK. Nosocomial infections due to *Acinetobacter baumannii* in a neurosurgery ICU. *Neurol India* 2000; 49: 134-37
33. Chastre J. Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine* 2003; 24(1): 69-77.
34. Saltođlu N. *Acinetobacter baumannii* infeksiyonları ve tedavisi. XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 14-18 Mart 2007, Antalya kitabında. İstanbul: KLİMİK Derneđi, 2007: 204-7.
35. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi kitabı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2008: 266-87.
36. Ghuyesen JM. Molecular structures of penicillin binding proteins and beta-lactamases. *Trends Microbiol* 1994; 2: 372-80.
37. Gülay Z. Hücre duvar sentezini etkileyen antibakteriyeller. *ANKEM derg* 2003; 17(3): 192-204.
38. Erdinç FŞ. Sefalotinden, Seftobiprole, Seftaroline. *ANKEM derg* 2013; 27(Ek 2): 124-26.
39. Hancock REW. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clin Infect Disease* 1989; 27(Suppl 1): 93-9.
40. Sili U, Mert A. 1986' dan 2010' a Beta-Laktamaz İnhibitörleri. *ANKEM derg* 2010; 24(Ek 2): 28-32.
41. Usluer G. Çoklu dirençli patojenler: Epidemiyoloji ve kontrol. *Flora dergisi* 2002; 7: 135-41.
42. Yücesoy M, Yulug N, Kocagöz S, Unal S, Çetin S, Çalangu S. Antimicrobial resistance of gram negative isolates from intensive care units in Turkey: comparison to previous three years. *J Chemother* 2000; 12: 294-98.
43. Cunha BA. Antibiotic resistance. *Medical Clinics of North America* 2000; 84(6): 1407- 29.
44. Opal SM, Medeiros AA. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious*

- Diseases. Sixth edition, Pennsylvania: Elsevier Churchill Livingstone Inc, 2005: 253-70.
45. Gülay Z. Antimikrobiyal ilaçlara direnç. İçinde: Ustaçelebi Ş (editör). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitapevi, 1999: 91-101.
 46. Sanders CC. Beta-lactamases of gram-negative bacteria: New challenges for new drugs. Clin Infect Dis 1992; 14: 1089-99.
 47. Nikaido H. Antibiotik resistance caused by Gram-negative multidrug efflux pumps. Clinical Infectious Diseases 1998; 27(Suppl 1): 32-41.
 48. Rice LB, Bonomo RA. The Red Menace: Emerging Issues in Antimicrobial Resistance in Gram-Negative Bacilli. Curr Infect Dis Rep. 1999; 1(4): 338-46.
 49. Livermore DM. Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics. Scand J Infect Dis 1991; (Suppl 78): 7-16.
 50. Sanders CC, Sanders WE. Beta-lactam resistance in gram-negative bacteria: Global trends and clinical impact. Clin Infect Dis 1992; 15: 824-39.
 51. Nakae T, Nakajima A, Ono T, Saito K, Yoneyama H. Resistance to beta-lactam antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* due to interplay between the MexAB-OprM efflux pump and beta-lactamase. Antimicrob Agents Chemother, 1999; 43: 1301-03.
 52. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21 st century: Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. Clin Microbial Rev 2001; 14: 933-51.
 53. Cornaglia G, Mazzariol A, Fontana R. The astonishing complexity of antibiotics resistance. Clin Microbial Infect, 2000; 6(Suppl 3): 93-4.
 54. Gür D. Beta-laktamazların sınıflandırılması. Flora Dergisi 1996; 1: 80-6.
 55. O'Callaghan CH, Morris A, Kirby SM. Novel method for detection of β -lactamases by using a chromogenic cephalosporin substrate. Antimicrob Agents Chemother 1972; 1: 283-88.
 56. Boschi L, Mercuri PS, Riccio ML et al. The *Legionella (Fluoribacter) gormanii* metallo- β -lactamase: a new member of the highly divergent lineage of molecular-subclass B3 (3-lactamases). Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 1538-43.

57. Rossolini GM, Condemi MA, Pantanella F, Docquier JD, Amicosante G, Thaller MC. Metallo- β -lactamase producers in environmental microbiota: new molecular class B enzyme in *Janthinobacterium lividum*. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 837-44.
58. Saavedra MJ, Peixe L, Sousa JC, Henriques I, Alves A, Correia A. Sfh-1, a subclass B2 metallo- β -lactamase from a *Serratia fonticola* environmental isolate. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 2330-33.
59. Thompson JS, Malamy MH. Sequencing the gene for an imipenem cefoxitin-hydrolyzing enzyme (CfiA) from *Bacteroides fragilis* TAL2480 reveals strong similarity between CfiA and *Bacillus cereus* β -lactamase II. J Bacteriol 1990; 172: 2584-93.
60. Medeiros AA. β -lactamases: Quality and resistance. Clin Microbiol Infect 1997; 3(14): 2-9.
61. Rice LB, Bonomo RA. Antibakteriyel İlaçlara Direnç Mekanizmaları. İçinde: Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M (Çeviri editörleri). Manual of Clinical Microbiology, Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Landry ML, Jorgensen JH. 9. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009: 1114-71.
62. Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995; 8: 557-84.
63. Gür D. Antibiyotiklere direnç mekanizmaları. İçinde: Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S (editörler). Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi, 2003: 31-42.
64. Medeiros AA. Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. Clin Infect Dis 1997; 24: 19-45.
65. Gür D. Hastane infeksiyonlarında önem kazanan gram-negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 1997; 1: 38-45.
66. Yuluğ N. Beta-laktamazlar ve klinik açıdan önemi. ANKEM Derg 1997; 11: 205-7.

67. Livermore DM. Beta-lactamase mediated resistance and opportunities for its control. J Antimicrob Chemother 1998; 41(Suppl D): 24-41.
68. Gür D. ESBL ve plazmid kaynaklı AmpC β -laktamazlar. XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2005: 147-151.
69. Quan Ke Thai, Fabian Bös, Jürgen Pleiss. The Lactamase Engineering Database: a critical survey of TEM sequences in public databases. BMC Genomics 2009; 10: 390.
70. Vahapoğlu H, Hall LM, Mülazımoğlu L. Resistance to extended spectrum cephalosporins, caused by PER-1 beta-lactamase in *Salmonella typhimurium* from İstanbul, Turkey. J Med Microbiol 1995; 43: 294-99.
71. Bush K. Characterization of β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1989: 259-63.
72. Donald HM, Scaife W, Amyes SG, Young HK. Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA beta-lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44(1): 196-9.
73. Gülay Z. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları ve Çözüm Önerileri: Beta-Laktamlara ve Karbapenemlere Direnç. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2001; 5: 210-29
74. Quiroga MI, Franceshini N, Rossolini GM et al. Interaction of cefotetan and the metallo-beta-lactamases produced in *Aeromonas spp* and in vitro activity. Chemotherapy 2000; 46: 177-83.
75. Poirel L, Nordmann P. Acquired carbapenem-hydrolyzing β -lactamases and their genetic support. Current Pharmaceutical Biotechnology 2002; 3: 117-27.
76. Livermore DM, Woodford N. Carbapenemases: A problem in waiting? Current Opinion Microbiology 2000; 3: 489-95.
77. Poirel L, Magalhaes M, Lopes M, Nordmann P. Molecular analysis of metallo- β -lactamases gene bla(spm-1) surrounding sequences from disseminated *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Recife, Brazil. Antimicrob Agents Chemother 2004: 1406-09.

78. Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 223–32.
79. Massidda O, Rossolini GM, Satta G. The *Aeromonas hydrophila* cphA gene: molecular heterogeneity among class B metallo- β -lactamases. *J. Bacteriol* 1991; 173: 4611–17.
80. Bush K. Metallo-beta-lactamases: A Class apart. *Clin Infect Dis* 1998; (Suppl 1): 48-53.
81. Bennett PM. Integrons and gene cassettes: a genetic construction kit for bacteria. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43: 1–4.
82. Castanheira M, Toleman M, Jones RN, Schmidt FJ, Walsh TR. Molecular characterization of a β -lactamase gene, bla-GIM-1 encoding a new subclass of metallo- β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 2004: 4654-61.
83. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 147–51.
84. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rew* 2005; 18(2): 306-325.
85. Gales A, Menezes C, Silbert S, Sader S. Dissemination in distinct Brazilian regions of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo- β -lactamases. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 699-702.
86. Shibata N, Doi Y, Yamane K et al. PCR typing of genetic determinants for metallo- β -lactamases and integrases carried by gram negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. *J Clin Microbiol* 2003: 5407-13.
87. Iyobe S, Kusadokoro H, Takahashi A, Okubo T. Detection of variant metallo- β -lactamase, IMP-10, from two unrelated strains of *Pseudomonas aeruginosa* and an *Alcaligenes xylosoxidans* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2002: 2014-16.
88. Ho ES, Subramaniam G, Palasubramaniam S, Navaratnam P. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Malaysia producing IMP-7 β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 2002: 3286-87.

89. Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A et al. Cloning and characterization of blaVIM, a new integron borne metallo- β -lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1584-90.
90. Toleman MA, Simm AM, Murphy TA et al. Molecular characterizaion of SPM1, a novel metallo- β -lactamase isolated in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50: 673-9.
91. Murphy TA, Simm AM, Toleman MA, Jones RN and Walsh TR. Biochemical characterization of the acquired metallo- β -lactamase SPM-1 from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 582-87.
92. Lee K, Yum JH, Yong D, Lee HM, Kim HD, Docquier JD, Rossolini GM, Chong Y. Novel Acquired Metallo-Beta-Lactamase Gene blaSIM-1 in a Class 1 Integron from *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates from Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 4485-91.
93. Sarı H. Karbapenemlere dirençli gram negatif basil izolatlarında İmipenem-EDTA/Meropenem EDTA disk yöntemi ve Modifiye Hodge testi ile Metallo-Beta-Laktamaz (MBL) varlığının araştırılması. Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2005.
94. Livermore DM, Brown DF. Detection of beta-lactamase mediated resistance. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48(Suppl 1): 59-64.
95. Payne DJ, Hueso-Rodriguez JA, Boyd H, Concha NO et al. Identification of a series of tricyclic natural products as potent broad-spectrum inhibitors of metallo- β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1880-86.
96. Yan JJ, Wu JJ, Tsai SH, Chuang CL. Comparison of the double-disk, combined disk and test methods for detecting metallo-beta-lactamases in gram-negative bacilli. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004; 49(1): 5-11.
97. Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM, Chong Y. Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo- β -lactamase producing clinical isolates of *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.* *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3798-801.

98. Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K et al. Convenient test for screening β -lactamase producing Gram-negative bacteria by using thiol compounds. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 40-43.
99. Payne DJ, Cramp R, Bateson JH, Neale J and Knowles D. Rapid identification of metallo and serine β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 991-96.
100. Lee K, Chong Y, Shin HB et al. Modified hodge test and EDTA disk synergy test to screen metallo-beta-lactamase producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 88-91.
101. Migliavacca R, Docquier JD, Mugnaioli C et al. Simple microdilution test for detection of metallo-beta-lactamase production in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4388-90.
102. Urban C, Segal-Maurer S and Rahal JJ. Considerations in control and treatment of nosocomial infections due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 1268-74.
103. Franklin C, Liolios L and Peleg AY. Phenotypic Detection of Carbapenem-Susceptible Metallo- β -lactamase producing Gram-negative bacilli in the Clinical Laboratory. *J Clin Microbiol* 2006; 44(9): 3139-44.
104. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty Second Informational Supplement M100-S22, CLSI, Wayne, PA (2012).
105. Demirdağ K, Cabalak M, Özgüler M. Yoğun bakımda izole edilen *Pseudomonas spp.* suşlarında metallo-beta-laktamaz sıklığının araştırılması. *ANKEM Derg* 2011; 25(3): 150-56.
106. Walsh TR, Bolmström A, Qvarnström A, Gales A. Evaluation of new E-test for detecting metallo- β -lactamases in routine clinical testing. *J Clin Microbiol* 2002; 40(8): 2755-59.
107. Javad A, Seifert H, Snelling AM, Heritage J, Hawkey PM. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1938-41

108. Seifert H, Dolzani L, Bressan R et al. Standardization and interlaboratory reproducibility assessment of pulsed-field gel electrophoresis-generated fingerprints of *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol 2005; 43: 4328-35
109. Başustaoğlu A, Özyurt M. Nazokomiyal patojen olarak *Acinetobacter*' lerin mikrobiyolojik, klinik ve epidemiyolojik özellikleri. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 1998; 2: 88-93.
110. Allen K. D, Gren H. T. Hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter anitratus*: an airborne mode of spread? J Hospital Infect 1987; 9: 110-19.
111. Aral M, Doğan S, Paköz N. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinotebacter baumannii* suşlarının antibiyotiklere direnç oranlarının araştırılması. ANKEM Derg 2010; 24(4): 215-19.
112. Iraz M, Ceylan A, Akkoyunlu Y. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde antibiyotik direnç oranlarının incelenmesi. ANKEM Derg 2012; 26(2): 80-5.
113. Özdemir M, Erayman İ, Gündem NS, Baykan M, Baysal B. Hastane infeksiyonu etkeni *Acinetobacter baumannii* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. ANKEM Derg 2009; 23(3): 127-32.
114. Çetin ES, Kaya S, Tetik T ve ark. Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının örneklere göre dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg 2006; 20(4): 202-5.
115. Gülhan B, Nergiz Ş, Meşe S, Özekinci T, Atmaca S. *Acinetobacter baumannii* suşlarında tigesiklin için disk difüzyon yöntemiyle elde edilen zon çaplarının iki farklı kritere göre değerlendirilmesi. ANKEM Derg 2009; 23(2): 78-81.
116. Özdem B, Gürelık FÇ, Çelıkbılek N, Balıkçı H, Açıkgöz ZC. Çeşitli klinik örneklerden 2007-2010 yıllarında izole edilen *Acinetobacter* türlerinin antibiyotik direnç profili. Mikrobiyol Bul 2011; 45(3): 526-34.
117. Gözütok F, Mutlu Sarıgüzel F, Çelik İ, Berk E, Aydın B, Güzel D. Hastane infeksiyonu etkeni *Acinetobacter baumannii* suşlarının antimikrobiyal direnç oranlarının araştırılması. ANKEM Derg 2013; 27(1): 7-12.

118. Behiye YD. Hastane İnfeksiyonu Etkeni Olan *Pseudomonas Aeruginosa* Şuşlarının Beta-Laktamaz Yapımı ve Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılıkları. Haydar Paşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2006.
119. Albayrak Topçu G. Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olan *Pseudomonas aeruginosa* Kökenlerinde Çift Disk Sinerji Testi ve Kombine Çift Disk Sinerji ile Metallo-beta-laktamaz Varlığının Araştırılması. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2008.
120. Şenbayrak Akçay S, Topkaya A, Oğuzoğlu N, Küçükercan M, Akın Ertem S, Göktaş P. Hastane infeksiyonu etkeni *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında imipenem ve meropenem duyarlılığı. İnfek Derg 2003; 17(4): 465-9.
121. Öztürk CE, Çalışkan E, Şahin İ. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci ve Metallo-beta-laktamaz sıklığı. ANKEM Derg 2011; 25(1): 42-47.
122. Maragakis LL, Perl TM. *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. Clin Infect Dis 2008; 46(8): 1254-63.
123. Souli M, Galani I, Giamarellou H. Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. Euro Surveill 2008; 13(47).
124. Gür D, Gülay Z, Akan OA, et al. Resistance to newer beta-lactams and related ESBL types in gram-negative nosocomial isolates in Turkish hospitals: results of the multicentre HITIT study. Mikrobiyol Bult 2008; 42: 537-44.
125. Özer M, Tatman Otkun M, Memiş D, Otkun M. Yoğun bakım ünitesinde hastane infeksiyonu etkenleri, antibiyotik duyarlılıkları ve antibiyotik kullanımı. İnfek Derg 2006; 20(3): 165-70.
126. Bayram A, Balcı I Patterns of antimicrobial resistance in a surgical intensive care unit of a university hospital in Turkey. BMC Infect Dis 2006; 6: 155.
127. Ardıç N, Özyurt M, İlga U, Erdemoğlu A, Haznedaroğlu T. Yatan hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarının karbapenemlere ve bazı antibiyotiklere duyarlılıkları. ANKEM Derg 2004; 18(3): 145-8.

128. Gülhan B, Nergiz Ş, Meşe S, Özekinci T, Atmaca S. *Acinetobacter baumannii* suşlarında tigesiklin için disk difüzyon yöntemiyle elde edilen zon çaplarının iki farklı kritere göre değerlendirilmesi. ANKEM Derg 2009; 23(2): 78-81.
129. Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı. Antimikrobiyal Direnç Oranları 2011 Raporu.
130. Zarakolu P, Hascelik G, Unal S. Antimicrobial susceptibility pattern of nosocomial gram negative pathogens: results from MYSTIC study in Hacettepe University Adult Hospital (2000-2004) Mikrobiyoloji Bülteni 2006; 40: 147-154
131. Çaylan R. Çok ilaca dirençli hastane kökenli Gram negatif nonfermentatif bakteriler: Ülkemizdeki durum, tedavi ve kontrol politikaları. Klimik Dergisi 2003; 16 (Özel sayı): 18-20
132. Alp E, Esel D, Yıldız O, Voss A, Melchers W, Doganay M. Genotypic analysis of *Acinetobacter* bloodstream infection isolates in a Turkish university hospital. Scand J Infect Dis 2006; 38(5): 335-40.
133. Ergin A, Hascelik G, Eser OK. Molecular characterization of oxacillinases and genotyping of invasive *Acinetobacter baumannii* isolates using repetitive extragenic palindromic sequence-based polymerase chain reaction in Ankara between 2004 and 2010. Scand J Infect Dis 2012; 45(1): 26-31.
134. Timurkaynak F, Can F, Azap OK, Demirbilek M, Arslan H, Karaman SO. In vitro activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multidrug- resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units. Int J Antimicrob Agents 2006; 27(3): 224-8.
135. Alışkan H, Çolakoğlu Ş, Turunç T. Yoğun bakım ve servis hastalarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik duyarlılık oranlarının dört yıllık izlemi. Mikrobiyol Bul 2008; 42(2): 321-9.
136. Çetin ES, Kaya S, Pakbaş İ, Demirci M. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. İnönü Üniv Tıp Fak Derg 2007; 14(2): 69-73.

137. Turner PJ. Meropenem activity against European isolates: report on the MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) 2006 results. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 60: 185- 92.
138. Gür D, Hascelik G, Aydın N et al. Antimicrobial resistance in gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007. *J Chemother* 2009; 21(4): 383-9.
139. Jones RN, Stilwell MG, Rhomberg PR, Sader HS. Antipseudomonal activity of piperacillin/tazobactam: more than a decade of experience from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2007). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 65(3): 331-4.
140. Uzun B, Güngör S, Yurtsever SG, Afşar İ, Demirci M. Yoğun bakım hastalarının kan kültürlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç durumları. *ANKEM Derg* 2012; 26(2): 55-60
141. Sobieszczyk ME, Furuya EY, Hay CM et al. Combination therapy with polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant Gram-negative respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54(2): 566-9.
142. Starnes MJ, Brown CV, Morales IR et al. Evolving pathogens in the surgical intensive care unit: A 6-year experience. *J Crit Care* 2008; 23(4): 507-12.
143. Aşçı-Toraman Z, Yakupoğulları Y, Kızırgil A. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşlarında metallo-beta-laktamaz araştırılması. *İnfek Derg* 2005; 19: 101-5.
144. Gayyurhan E, Zer Y, Mehli M, Akgün S. Yoğun bakım ünitesi hastalarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve metallo-beta-laktamaz oranlarının belirlenmesi. *İnfek Derg* 2008; 22: 49-52.
145. Lee K, Yong D, Yum JH et al. Evaluation of E test MBL for detection of blaIMP-1 and blaVIM-2 allele-positive clinical isolates of *Pseudomonas* species and *Acinetobacter spp.* *J Clin Microbiol* 2005; 43(2): 942-4.
146. Çetin ES, Tetik T, Kaya S, Arıdoğan BC. *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında metallo-beta-laktamaz üretiminin dört farklı fenotipik yöntemle araştırılması. *İnfek Derg* 2009; 23: 51-55.

147. Aktaş AE, Yiğit N, Kayserili F, Ayyıldız A. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve metallo-beta-laktamaz üretiminin araştırılması. *İnfek Derg* 2009; 23: 57-62.
148. Jesudason MV, Kandathil AJ, Balaji V. Comparison of two methods to detect carbapenemase and metallo-beta-lactamase production in clinical isolates. *Indian J Med Res* 2005; 121: 780-83.
149. Ulusoy Al M, Mumcuoğlu İ, Aksu N ve ark. İmipenem dirençli *Acinetobacter* suşlarında metallo-beta-laktamaz üretiminin fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2011; 41(1): 29-36.
150. Altoparlak U, Aktas F, Celebi D, Özkurt Z, Akcay MN. Prevalence of metallo-beta-lactamases among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from burn wounds and in vitro activities of antibiotic combinations against these isolates. *Burns* 2005; 31: 707-10.
151. Bayraktar B, Yıldız D, Bulut E. Yoğun bakım ünitesinden izole edilen karbapenem dirençli *P. aeruginosa* suşlarında metallo-beta-laktamaz üretiminin araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cem Derg.* 2004 34: 248.
152. Aşık L. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* klinik izolatlarında metallo-beta-laktamaz üretiminin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilimdalı, Uzmanlık tezi, İstanbul, 2006.
153. Patel JB, Rasheed JK, Kitchel B. Carbapenemases in Enterobacteriaceae: activity, epidemiology, and laboratory detection. *Clinical Microbiology Newsletter* 2009; 31: 55-62.
154. Yigit H, Queenan AM, Rasheed JK, Biddle JW, *et al.* Carbapenem-resistant strain of *Klebsiella oxytoca* harboring carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC-2. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3881-9.
155. Anderson KF, Lonsway DR, Rasheed JK, Biddle J *et al.* Evaluation of methods to identify the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase in *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 2723-5.

156. Cohen Stuart J, Leverstein-Van Hall MA. Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in *Enterobacteriaceae*. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36: 205-10.
157. Mkerrem A. Rutin Laboratuvarımızda Etken Olarak İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Kökenlerinde, Metallo-Beta-Laktamaz Varlığının Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Saptanması ve Elde Edilen Sonuçların Karşılaştırılması. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2005.
158. Luzzaro F, Endimiani A, Docquier JD, et al. Prevalance and characterization of metallo-beta-lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Diag Microbiol Infect Dis* 2004; 48(2): 131-5.

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

NONFERMENTATİF GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE METALLO-
BETA-LAKTAMAZ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI


Dr. Zeynep ERDİL


Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi :28.06.2010

Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi :06.06.2014


Uzmanlık Sınavı Tarihi :06.06.2014

Tez Danışmanı : Doç.Dr.M.Hamidullah UYANIK 

Jüri üyesi : Prof. Dr. Ahmet AYYILDIZ 

Jüri üyesi : Prof.Dr. Selahattin ÇELEBİ 

Jüri üyesi : Prof.Dr. Osman AKTAŞ 

Jüri Üyesi :Doç.Dr. M.Hamidullah UYANIK 

Jüri üyesi : Doç.Dr.Ayşe ALBAYRAK 

Prof. Dr. Ahmet AYYILDIZ
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

