



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg.
2013; 27 (3): 135 - 140
http://www.fusabil.org

Yasemin BULUT
Hatice ÇAĞLAR

Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Elazığ, TÜRKİYE

Gram Negatif Non-fermantatif Bakterilerde Metallo-Beta Laktamaz Enziminin Farklı Yöntemlerle Gösterilmesi*

Amaç: Bu çalışmada, meropeneme (MP) dirençli klinik izolatlarda metallo-beta-laktamaz (MBL) üretiminin varlığını araştırmak ve bu enzimlerin varlığını ortaya koyabilecek fenotipik yöntemleri karşılaştırmak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya alınan bakterilerin bakterilerin *in-vitro* koşullarda antibiyotiklere direnç durumları Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (The Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI) önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiş ve BD Phoenix tam otomatize identifikasyon cihazı ile doğrulanmıştır. MBL üretimi kombine disk yöntemi, çift disk sinerji testi, modifiye Hodge testi ve E test yöntemleri ile araştırılmıştır.

Bulgular: Meropeneme dirençli *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) kökenlerinde MBL üretimi kombine disk metodu ile %95, MP-EDTA çift disk sinerji testi ile % 67.5, modifiye Hodge testi ile %72.5, E test ile %97.5 olarak tespit edildi. Meropeneme dirençli *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) kökenlerinde ise MBL üretimi kombine disk metodu ile %80, MP-EDTA çift disk sinerji testi ile %100, modifiye Hodge testi ile %60 ve E test ile %60 oranında bulundu.

Sonuç: Bu çalışma sonunda, MBL üreten suşların belirlenmesinde ve kontrolünde tek metodun yetersiz olduğu ve konu ile ilgili sekanslama gibi ileri araştırmaların yapılması gerektiği ortaya çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: Metallo-beta-laktamaz, MBL, *pseudomonas aeruginosa*, *acinetobacter baumannii*, fenotipik yöntemler

Detection of Metallo-Beta-Lactamase Enzyme in Gram Negative Non-Fermentative Bacteria by Different Methods

Objective: In this study, we aimed to investigate the production of metallo-beta-lactamase (MBL) at clinical isolates resistant to meropenem and to compare phenotypic methods used for detection of these enzymes.

Material and Methods: The identification of bacteria was made with standard clinical microbiological methods and confirmed in the BD Phoenix fully automated identification system. In vitro bacterial resistance to antibiotics was determined by using disc diffusion method in accordance with the recommendations of The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and confirmed with the BD Phoenix fully automated identification device. Production of MBL were detected by combined disc diffusion method, double-disc synergy test, modified Hodge test and E test methods.

Results: The MBL production within the meropenem resistant *Acinetobacter* strains were found to be 95% with the combined disc method, 67.5% with MP-EDTA double-disc synergy test, 72.5% with the modified Hodge test and 97.5% with E test. MBL production within meropenem resistant *Pseudomonas* strains were 80% with the combined disc method, 100% with MP-EDTA double-disc synergy test, 60% with the modified Hodge test and 60% with the E test.

Conclusion: The results of this study suggests that a single phenotypic tests is inadequate for the identification of MBL. Furthermore, more extensive studies such as sequencing are required for the identification and control of MBL producing strains.

Key Words: Metallo-beta-lactamase, MBL, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, phenotype methods.

Geliş Tarihi : 03.12.2013
Kabul Tarihi : 02.01.2014

Yazışma Adresi Correspondence

Yasemin BULUT
Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı,
Elazığ-TÜRKİYE

ybulut@firat.edu.tr

Giriş

Bakterilerin ürettiği beta laktamaz enzimleri antibiyotiklere karşı direnç gelişmesinden sorumlu mekanizmalardan birisidir (1, 2). Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (ESBL) ve plazmitlerle taşınan beta laktamazlar bu direnç mekanizmalarından sorumlu tutulmaktadır. Hidrolize karşı stabil olmaları sebebiyle, karbapenemler dirençli Gram negatif (GN) bakterilerin yol açtığı infeksiyonların

* Bu çalışma Dr. Hatice Çağlar'ın aynı başlıklı Tıpta Uzmanlık Tezinden (YÖK Tez No: 326471) özetlenmiş olup, TF-1210 nolu proje ile Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP) tarafından desteklenmiştir.

tedavisinde iyi bir seçenektir (3). Ancak, son yıllarda karbapenemlere karşı, özellikle nonfermantatif Gram negatif (NFGN) basiller arasında, artan bir direnç sorunu ortaya çıkmaya başlamış ve bu direnç sorunu önemli boyutlara ulaşmıştır (4, 5).

İmmun sistemi baskılanmış ve hastanede yatan hastalarda ciddi infeksiyonlara neden olan NFGN bakteriler, genellikle doğada saprofit olarak bulunan bakterilerdir. İnsanda hastalık etkeni olarak en sık izole edilenleri ise *P. aeruginosa* ve *A.baumannii*'dir. Bu bakterilerin yaptığı infeksiyonlarda kullanılan antibiyotiklere karşı oluşan yüksek direnç nedeniyle tedavide güçlüklerle karşılaşmaktadır (1-3).

Gram negatif basillerin karbapenem direncinden beta laktamaz salgınmasına bağlı dirence ilave olarak; porin proteinlerinde değişikliğin sebep olduğu dış membran geçirgenliğinin azalması ile kazanılan direnç diğer önemli direnç mekanizmasıdır (1, 6). *P. aeruginosa* dış membranındaki asıl porin proteini OprF'dir. OprB, OprC, OprD ve OprE ise diğer porin proteinleridir. Özellikle OprD porin kaybı karbapenem dirence neden olur (1, 2, 7). Yukarıda ifade edilen mekanizmalara ilave diğer bir direnç mekanizması da aktif dış pompalama sistemi ile antibiyotiğin dışarı atılmasıdır (1, 2). Normal süreçte dış pompalama sistemleri yapısal olup düzenleyici genlerin kontrolü altındadır. Bu genlerdeki mutasyonlar aktif dış pompalama sistemlerinin aşırı çalışmasını ve antibiyotiklerin de dışarı atılmasına yol açar (3-5).

Metallo-beta-laktamazlar (MBL) ilk olarak 1991'de Japonya'da MBL üreten bir *P. aeruginosa*'nın bildirilmesiyle tanımlanmıştır (1). Daha sonra bu bölge başta olmak üzere çeşitli Asya ve Avrupa ülkelerinden GN basillerde, özellikle *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* suşlarında, yeni MBL'ler bildirilmiştir ve son yıllarda hızla artarak dünya çapında yayılma göstermektedir (3, 4). Karbapenem direncine yol açan bu MBL'lerdeki hızlı artış hem endişe vermekte hem de bu enzimlerin varlığını ortaya koyacak testlerin geliştirilmesi konusunda ilgi uyandırmıştır. Özellikle, MBL aktivitesinin etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve 2-merkaptopropionik asit (MPA) gibi metal şelatörler ile inhibe olma özelliklerinden yararlanılarak bu enzimleri erken tanıyabilecek tarama amaçlı basit fenotipik yöntemler geliştirilmiştir. Bu amaçla en yaygın olarak kullanılan imipenemli, meropenemli veya seftazidim diskleri ile EDTA veya MPA ilave edilerek kullanılarak uygulanan çift-disk sinerji testi, modifiye Hodge testi, seftazidim veya imipenem-meropenem EDTA kombine disk sinerji testi, MBL E test ve imipenemli EDTA kullanan mikrodilüzyon testleridir (5).

Bu çalışmanın amacı; meropenem dirençli klinik izolatlarda MBL üretimini tespit etmek ve ayrıca bu enzimlerin varlığını ortaya koyabilecek fenotipik yöntemleri karşılaştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Klinik Örnekler: Çalışmaya Ağustos 2011 ile Ağustos 2012 tarihleri arasında, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarına gelen rutin

örneklerden meropenem dirençli 50 adet Gram negatif non-fermantatif örnek dahil edilmiştir. Çalışma için gerekli izinler Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi Etik Kurulundan alınmıştır.

Kliniklerden gelen örnekler konvansiyonel biyokimyasal testler kullanılarak tiplendirilmiştir. Tiplendirilen örnekler BD Phoenix Tam Otomatize İdentifikasyon Cihazı ile doğrulanmıştır. Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılan duyarlılık testleri için ticari olarak elde edilen meropenem (10µg) (Oxoid) diskleri kullanılmıştır.

Antibiyotik Duyarlılık Testleri: Antibiyotik duyarlılık testleri Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (The Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI) kriterlerine göre Mueller Hinton agar plaklarla Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar BD Phoenix Tam Otomatize İdentifikasyon cihazı ile doğrulanmıştır.

Kontrol suşu olarak meropenem duyarlı *E. coli* (American Type Culture Collection; ATCC-25922) ve *P. aeruginosa* (ATCC-27853) kullanılmıştır.

Kombine Disk Testi (KDT): Taze kültür pasajlarından saf olarak elde edilen bakterilerin 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyonu steril eküvyon ile önceden hazırlanan Mueller Hinton agar plak üzerine yayılmıştır. Plak içerisine 2 tane meropenem (10 µg) diski yerleştirilmiştir. Plak 35- 37°C'lik etüvde 18-20 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda inhibisyon zonu çapları ölçülmüştür. EDTA solüsyonunun eklendiği meropenem/EDTA diskinin inhibisyon zonu tek başına meropenem diski zonu çapından ≥ 7 mm büyük ise MBL pozitif bakteri izolatu olarak kaydedilmiştir (6, 7).

Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST): Çift disk sinerji testinde amaç meropenem inhibisyon zonunun EDTA varlığında genişleyip genişlemediğini tespit ederek MBL pozitif bakteri izolatlarını tanımlamaktır. Bunun için taze kültür pasajlarından saf olarak elde edilen bakterilerin 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyonu steril eküvyon ile önceden hazırlanan Mueller Hinton agar plaklarına yayılmıştır. Plak üzerine meropenem (10 µg) diski yerleştirilmiştir. Meropenem diskinin merkezinden 10 mm uzağına daha önce hazırlanan boş disk yerleştirilmiştir. Boş disk üzerine 0.5 M EDTA solüsyonundan 10 µL eklenmiştir. Test sonuçları plaklar 35°C-37°C lik etüvde 18-20 saat inkübe edildikten sonra değerlendirmeye alınmıştır. İnkübasyon sonrasında meropenem diski inhibisyon zonunun EDTA eklenmiş boş diske doğru genişlemesi sinerjistik inhibisyon zonu olarak değerlendirilmiştir. Bu genişlemenin görüldüğü bakteri izolatları MBL üreten pozitif suş olarak kaydedilmiştir (6, 7).

Modifiye Hodge Testi (MHT): Modifiye Hodge testinde meropenem duyarlı olan *E. coli* ATCC 25922 standart suşu taze pasajlarından elde edildikten sonra 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonlar Mueller Hinton agar plaklarına yayılmıştır. Plağın ortasına meropenem (10µg) diski yerleştirilmiştir. Test sonuçları meropenem duyarlı olan *E. coli* ATCC 25922 suşunun

duyarlılık zon çapının çizgi ekimi yapılan bakteri taraflarında yonca yaprağı şeklinde bozulması ve bu bölgede *E. coli* üremesi metallo-beta-laktamaz üretimi yönünde pozitif test sonucu olarak değerlendirilmiştir (6, 7).

MBL E Test: Test edilecek bakteri izolatlarının 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonu steril eküvyon ile önceden hazırlanan Mueller Hinton agar plaklarına yayılmıştır. Üretici firmanın önerisi doğrultusunda MP/MP-EDTA MİK değerleri oranlandığında 8 ve üzerinde bir değer elde edilmesi MBL üreten bakteri izolatı olarak değerlendirilmiştir (6, 7).

İstatistiksel Metot: Veriler sayı ve yüzde olarak özetlendi. Meropenem dirençli klinik izolatlarda MBL üretiminin fenotipik yöntemleri tespit oranları arasındaki ilişki Pearson ki-kare (χ^2) testine göre istatistiksel olarak yorumlandı (8). $P < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi.

Bulgular

Yapılan çalışma neticesinde klinik örneklerde izole edilen *A. baumannii* ve *P. aeruginosa*'nın çeşitli antibiyotiklere direnç oranları Tablo 1 ve Şekil 1'de özetlenmiştir. Tablo-1'de görüleceği gibi *A. baumannii*

ve *P. aeruginosa*'nın meropenem ile birlikte birçok antibiyotiğe de yüksek direnç gösterdiği kaydedilmiştir. Ancak, çalışmanın bundan sonraki kısmında bu bakteriler meropeneme dirençli olarak isimlendirilmektedir.

Meropeneme dirençli *A. baumannii* kökenlerinde MBL üretimi KDT ile % 95, ÇDST ile % 67.5, modifiye Hodge testi ile %72.5, E test ile %97.5; meropeneme dirençli *P. aeruginosa* kökenlerinde MBL üretimi ise KDT ile %80, ÇDST ile %100, MHT ile %60 ve E test ile %60 oranında bulunmuştur (Tablo 2).

Kökenlerine göre bakterilerdeki MBL üretiminde kullanılan fenotipik testler ki kare (χ^2) testine göre istatistiksel olarak yorumlandığında; *P. aeruginosa* türündeki bakterilerde MBL üretiminin tespitinde en etkili yöntemin ÇDST ($P < 0.001$) olduğu belirlenirken diğer testler arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($P > 0.05$).

A. baumannii türündeki bakterilerde MBL üretiminin tespitinde en etkili yöntem MBL E testi olmasına rağmen E test ile KDT arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir ($P > 0.05$). MBL üretiminin tespitinde MHT ile ÇDST arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($P > 0.05$).

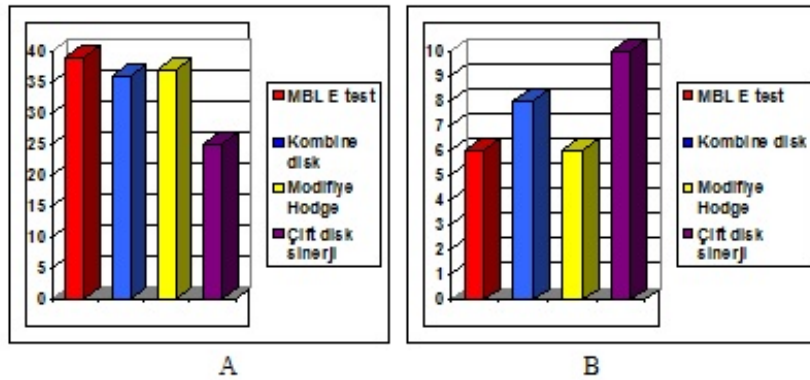
Tablo 1. *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın bazı antibiyotiklere direnç oranları

Patojen n(%)	CAZ	FEP	MP	CİP	AK	TZP	ATM	CO
<i>A. baumannii</i> n=40 (%)	40 (%100)	40 (%100)	40 (%100)	40 (%100)	39 (%97)	40 (%100)	40 (%100)	0 (%0)
<i>P.aeruginosa</i> n=10 (%)	10 (%100)	8 (%80)	10 (%100)	9 (%90)	7 (%70)	10 (%100)	9 (%90)	1 (%10)

CAZ: Seftazidim, FEP: Sefepim, MP: Meropenem, CİP: Siprofloksasin, AK: Amikasin, TZP: Piperasilin/tazobaktam, ATM: Aztreonam, CO: Colistin.

Tablo 2. Fenotipik tespit yöntemleri sonucunda *A. baumannii* ve *P. aeruginosa*'daki MBL pozitifliği (%)

Fenotipik yöntem	<i>A. baumannii</i> (n=40)		<i>P. aeruginosa</i> (n=10)	
	MBL (+)	(%)	MBL (+)	(%)
Kombine disk sinerji	38	(% 95)	8	(% 80)
Çift disk sinerji testi	27	(% 67.5)	10	(% 100)
Modifiye Hodge testi	29	(% 72.5)	6	(% 60)
MBL E Test	39	(% 97.5)	6	(% 60)



Şekil 1. Fenotipik tespit yöntemleri sonucunda *A. baumannii* (A) ve *P.aeruginosa*'daki (B) MBL pozitifliği

Tartışma

Antibiyotiklere direncin son yıllarda hızla artması nedeniyle bakterilerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde güçlüklerle karşılaşmaktadır. Amfilik özellikleri nedeniyle bakteriyel membranlardan hızla geçebilmeleri, AmpC ve beta laktamazlara dayanıklı olmaları gibi özellikleri nedeniyle karbapenemler; özellikle çoklu dirençli GN bakteri infeksiyonlarında etkin kullanılırlar (1, 5).

Karbapenem grubu antibiyotiklerin tedavi için tercih edildiği infeksiyonlarda, etkeni izole etmek kadar etkenin karbapenemaz ve MBL üretimini basit ve güvenilir bir laboratuvar metoduyla tespit etmek de önem kazanmaktadır (1-7).

Karbapenem grubu antibiyotikler son seçenek durumunda olduğu için, özellikle yaşamı tehdit eden çoklu ilaç direnci gösteren GN bakterilerin yol açtığı ciddi infeksiyonlarda karbapenem direncinin ayrı bir önemi vardır (2, 4). Bu nedenle, son yıllarda karbapenem direncinin artışı ciddi kaygılara neden olmaktadır. Örneğin, Japonya'da karbapenem direnci 1998'de %19.3'den 2002'de %38'e çıkmıştır (4).

Dünyadaki karbapenem grubu direnç oranlarını incelediğimizde *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* türü bakterilerde giderek artan miktarlarda antibiyotik direnci görülmektedir. *Pseudomonas* için %6 ile %70 arasında değişen oranlarda imipenem direnci kaydedilirken *Acinetobacter*lerde bu oran %13 ile %58 arasında değişmektedir (6, 7, 9, 10).

Pseudomonas ve *Acinetobacter* türü bakterilere karşı ülkemizdeki imipenem direnci coğrafik bölgelere ve klinik numune çeşitlerine göre farklılık göstermekte. Direnç oranı *Pseudomonas*larda yaklaşık %4 ile %85, *Acinetobacter*lerde ise %8 ile %70 arasında değişmektedir (11-17).

Yan ve ark. (6), 2004 yılında yaptıkları çalışmada kombine disk yöntemi ile imipenem dirençli *Pseudomonas*larda %86.7 oranında MBL pozitifliği saptamışlar ve testin duyarlılığının %70 olduğunu belirtmişlerdir. Altıparlak ve ark. (18), Erzurum'da karbapenemlere dirençli 40 tane *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* suşunun imipenem-EDTA kombine disk yöntemi ile 22 (%55)'sinde pozitiflik bulmuşlardır. Oh ve ark. (19), KDST'nin Verona imipenemase (VIM) benzeri enzim üreten izolatların fenotipik tanısındaki duyarlılığının %93.9 olduğunu belirtirken, imipenem (IMP) benzeri enzim üreten izolatların fenotipik tanısında başarısız olduğunu bildirmişlerdir. Pitout ve ark. (20), MBL üreten *P. aeruginosa* izolatlarını tespit etmek için bir EDTA disk tarama testi geliştirmişlerdir. İmipenem ve meropenem diskleri içeren testin MBL E test ile kıyaslanabilir olduğu görülmüştür. Mevcut çalışmada; meropenem-EDTA kombine disk testi ile 40 tane *A. baumannii* izolatının 38 (%95)'inde, 10 tane *P. aeruginosa*'nın 8 (%80) 'inde MBL pozitifliği saptanmıştır.

Çift disk sinerji testi ile ilgili bir çok çalışma yapılmış ve MBL tespitinde kolay uygulanabilir, duyarlı bir yöntem olduğu konusunda veriler elde edilmiştir. Lee ve ark.

(21), 2003 yılında yaptıkları bir çalışmada imipenem dirençli ve orta derecede dirençli olan, ceftazidime dirençli olan *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* türlerinde imipenem-EDTA ve ceftazidim-2-MPA kombinasyonlarını denemişler ve EDTA'nın metal şelatörü olarak daha etkin olduğu konusunda veriler elde etmişlerdir. Lee ve ark. (22), başka bir çalışmada ise MBL enzimi saptanmış olan 530 *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* türünde imipenem hidrolizi açısından spektrofotometrik olarak bakıldığında, bu suşların hepsinin imipenemi hidrolize ettiğini saptamış ve testin duyarlılığının %100 olduğunu bildirmişlerdir. Jesudasan ve ark. (23), imipenem-EDTA çift disk sinerji testinin modifiye Hodge testine göre daha duyarlı olduğu yönünde bulgulara rastlamışlardır. Arakawa ve ark. (24), 1999 yılında Japonya'da yaptıkları bir çalışmada IMP-1 tipi MBL üreten GN bakterilere biri seftazidim (CAZ) diğeri ise bir MBL inhibitörü içeren iki disk kullanarak çift disk sinerji testi uygulamışlardır. Yapılan çalışma sonucunda bu testin özgüllük ve duyarlılığı PCR analizleri ile kıyaslanabilir nitelikte bulunmuştur. Mevcut çalışmada ise çift disk sinerji testi ile 40 tane *A. baumannii* izolatının 27 (%67.5) 'sinde, 10 tane *P. aeruginosa* izolatının 10 (%100)'unda MBL pozitifliği saptanmıştır. ÇDST ile *P. aeruginosa*'da diğer fenotipik yöntemlerden daha yüksek oranlarda MBL pozitifliği tespit edilmiştir.

Modifiye Hodge testi ise MBL tespitinde kullanılan diğer bir fenotipik yöntemdir. Lee ve ark. (22) yaptığı bir çalışmada imipenem dirençli olduğu saptanan *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter spp.* izolatlarında modifiye Hodge testi ile MBL tespit edildikten sonra bu izolatlara doğrulama için PCR analizi yapılmış ve testin duyarlılığı %100, özgüllüğü ise %88 oranında bulunmuştur. Jesudasan ve ark., ise imipenem dirençli gram negatif non fermentatif bakterilerde MBL pozitifliğini %56 oranında bulduklarını bildirmiş, modifiye Hodge testi ile karşılaştırdıklarında ise imipenem-EDTA çift disk sinerji testinin modifiye Hodge testine göre daha duyarlı olduğunu belirtmişlerdir (23). Ulusoy ve ark. (25), yaptığı bir çalışmada ise çalışmaya alınan 79 *Acinetobacter* izolatının MHT ile 55 (%69.6)'i MBL pozitif, 24'ü (%30.4) ise negatif olarak bulunmuştur. Noyal ve ark. (26), 2009 yılında yaptığı bir çalışmada meropenem dirençli 32 *P. aeruginosa* izolatının 9 (%28.1)'unda MHT ile MBL üretimi tespit edilirken 46 *A. baumannii* izolatının sadece 2 (%2.2)'sinde MBL üretimi tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada modifiye Hodge testi ile meropenem dirençli 40 *A. baumannii* izolatının 29 (%72.5)'unda, 10 *P. aeruginosa* izolatının 6 (%60)'sında MBL pozitifliği saptanmıştır.

MBL tayininde sık kullanılan fenotipik testlerden biri de MBL E test yöntemidir. Yan ve ark., imipenem dirençli izolatlarda E test uygulamışlar ve E test sonuçlarına göre MBL negatif olan suşları PCR yöntemi ile de negatif veya tanımlanamaz değerde bulduklarını belirterek MBL saptanması için E testin kullanışlı olduğunu savunmuşlardır (6). Walsh ve ark. (27), 2005 yılında yaptıkları başka bir çalışmada da E test yöntemi ile MBL saptanan 31 *Pseudomonas* suşunun ancak 25 tanesinde PCR yöntemi ile MBL enzimi bulunduğu saptanmıştır. Toraman ve ark. (28), 2004 yılında

yaptıkları çalışmada MBL varlığını E test yöntemi ile tespit etmişler ve *P. aeruginosa*'da %29, *A. Baumannii*'de ise % 21 pozitiflik saptamışlardır. Mevcut çalışmada ise MBL E test yöntemi ile 40 *A. baumannii* izolatının 39'unda (%97.5), 10 *P. aeruginosa* izolatının 6'sında (%60) MBL pozitif bulunmuştur. Elde edilen verilere göre özellikle *A. baumannii* suşlarındaki yüksek pozitiflik dikkat çekici bulunmuştur.

Kaynaklar

- Kohler T, Michea-Hamzeshpour M, Epp SF, Pechere JC. Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: respective contributions of OprD and efflux systems. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 424-427.
- Pai H, Kim JW, Kim J. Carbapenem resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 480-484.
- Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 321-333.
- Fritsche TR, Sader HS, Toleman MA, et al. Emerging metallo-beta-lactamase mediated resistances: A summary report from the worldwide SENTRY antimicrobial surveillance program. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 276-278.
- Towner KJ. Clinical importance and antibiotic resistance of *Acinetobacter* spp. *J Med Microbiol* 1997; 46: 721-746.
- Yan JJ, Wub JJ, Tsaia TS, Chuang LC. Comparison of the double-disk, combined disc, and E-test methods for detecting metallo-B-lactamases in Gram-negative bacilli. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004; 49: 5-11.
- Payne DJ, Cramp R, Bateson JH, et al. Rapid identification of metallo- and serine beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 991-996.
- Kalaycı Ş. SPSS Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistik Teknikleri. 2. Baskı, Ankara: Asil Yayın, 2006.
- Enoch DA, Birkett CI, Ludlam HA. Non-fermentative Gram-negative bacteria. *Inter J Antimicrob Agents* 2007; 3: 33-41.
- Bush K, Jacoby G. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 969-976.
- Bayraktar B, Yıldız D, Bulut E. Yoğun bakım ünitesinden izole edilen karbapenem dirençli *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında metallobetalaktamaz üretiminin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2004; 34: 248-252.
- Gülay Z. Gram Negatif Çomaklarda Antibiyotik Direnci: 2003-2004 Türkiye Haritası. *ANKEM Derg* 2005; 19: 66-77.
- Cesur S, Albayrak F, Birengel S, Kolcu Z, Tekeli E. Çeşitli Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının karbapenem ve diğer antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2002; 33: 203-206
- Akan OA. Antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii* isolates from İbni Sina Hospital for the year 2002. *Microbiol Bul* 2003; 37: 241-246
- Tatman MO, Gurcan S, Ozer B, Shakkrylanbaran N. Annual trends in antibiotic resistance of nosocomial *Acinetobacter baumannii* strains and the effect of synergistic antibiotic combinations. *New Microbiol* 2004; 27: 1-8.
- Yücel M, Gündüz E, Yağcı S, et al. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türlerinde antibiyotik direnç oranlarının belirlenmesi. Türkiye Mikrobiyoloji Cemiyeti Kongresi 2002; 280.
- Toraman ZA, Çelik A. Investigation of antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* isolated from clinical specimens. *Fırat Tıp Derg* 2003; 2: 8-13.
- Altöparlak U, Aktas F, Celebi D, Ozkurt Z, Akcay MN. Prevalence of metallo-beta-lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from burn wounds and in vitro activities of antibiotic combinations against these isolates. *Burns* 2005; 31: 707-710.
- Oh EJ, Lee S, Park YJ. Prevalence of metallo-beta-lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in a Korean university hospital and comparison of screening methods for detecting metallo-beta-lactamase. *J Microbiol Methods* 2003; 54: 411-418.
- Pitout JD, Gregson DB, Poirel L. Detecting of *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo-beta-lactamases in a large centralized laboratory. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 3129-3135.
- Lee K, Lim Y S, Yong D, et al. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disc-synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase producing isolates of *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.* *J Clin Microbiol* 2003; 41: 4623-4629.
- Lee K, Chong Y, Shin H B. Modified Hodge test and EDTA-disk synergy tests to screen metallo-B-lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 88-91.
- 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: 780-784.
- Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K. Convenient test for screening metallo-beta-lactamase-producing Gram-negative bacteria by using thiol compounds. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 40-43.
- Ulusoy M, Mumcuoğlu İ, Aksu N, Dolapçı İ. İmipenem dirençli *Acinetobacter* suşlarında metallo-beta-laktamaz üretiminin fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2011; 41: 29-36.

26. Noyal MJC, Menezes GA, Harish BN, et al. Simple screening tests for detection of carbapenemases in clinical isolates of nonfermentative Gram-negative bacteria. *Indian J Med Res* 2009; 129: 707-712.
27. Walsh TR, Balmström A, Owarnström A, Gales A. Evaluation of a new E-test for detecting metallo-beta-lactamases in routine clinical testing. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2755-2759.
28. Toraman ZA, Yakupogulları Y, Kizirgil A. Detection of metallo-beta-lactamase production and antibiotic resistance with E-test method in *Pseudomonas*, *Acinetobacter* and *Klebsiella* strains in Turkey. *J Infect Chemother* 2004; 10: 257-261.