

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *ACINETOBACTER*
KÖKENLERİNDE METALLO BETA LAKTAMAZ VARLIĞININ
FENOTİPİK VE GENOTİPİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Saadet Merve OCAK

Danışman

Doç.Dr. Burçin ÖZER

HATAY-2013

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *ACINETOBACTER*
KÖKENLERİNDE METALLO BETA LAKTAMAZ VARLIĞININ
FENOTİPİK VE GENOTİPİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Saadet Merve OCAK

Danışman

Doç.Dr. Burçin ÖZER

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
1101 Y 0120 nolu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY – 2013

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *ACINETOBACTER*
KÖKENLERİNDE METALLO BETA LAKTAMAZ VARLIĞININ
FENOTİPİK VE GENOTİPİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Saadet Merve Ocak

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 01/11/ 2013 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Doç. Dr. Nizami DURAN
Üye: Doç. Dr. Burçin ÖZER (Danışman)
Üye: Doç. Dr. Gülnaz Çulha

Bu tez, Enstitümüz (Tıp) Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

.../ .../ ...

Doç. Dr. Yaşar ERGÜN
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda bana yol gösteren, hem tez konumun belirlenmesi hem de tezimle ilgili laboratuvar çalışmalarımın yürütülmesi ve tezimin yazım aşamasında benden bilgi, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, tecrübelerinden yararlandığım danışman hocam Doç. Dr. Burçin ÖZER'e,

Eğitimim boyunca her zaman desteğini gördüğüm Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Nizami DURAN'a, Anabilim Dalımız öğretim üyeleri Doç. Dr. Meryem ÇETİN, Doç. Dr. Melek İNCİ ve Doç. Dr. Erkan YULA hocalarıma çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamda kullanılmak üzere pozitif kontrol kökenlerini gönderen Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Hatice TÜRK DAĞI'na teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımda bana yardımcı olan ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Arş. Gör. Dr. Şeyda ÖZARSLAN KURTGÖZ'e, değerli arkadaşlarımla Naciye ERYILMAZ'a, Süreyya EZER'e ve Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına, manevi desteklerini benden esirgemeyen arkadaşlarımla Burcu GÜLKAN ve Arş. Gör. Dr. Gülcan ERKASLAN ALAGÖZ'e teşekkür ederim.

Hayatım boyunca benden maddi manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, sevgileriyle daima yanımda olan canım annem, babam ve kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Acinetobacter</i> Türleri	3
2.1.1. Sınıflandırma	3
2.1.2. Doğal Ortamlar ve Klinik Önem	4
2.1.3. Patogenez ve Virülans	4
2.1.4. Antibiyotik Duyarlılığı	5
2.1.5. Tedavi	5
2.1.6. <i>Acinetobacter</i> 'lerde Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları	6
2.1.6.1. Çoğul İlaça Direnç (MDR)	7
2.1.5.2. Aminoglikozit Direnci	7
2.1.5.3. Florokinolon Direnci	8
2.1.5.4. Tetrasiklin ve Tigesiklin Direnci	8
2.1.5.5. Polimiksin Direnci	8
2.1.5.6. OXA Karbapenemazlar	9
2.1.5.7. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL)	9
2.2. Metallo-Beta Laktamazlar (MBL)	9
2.2.1. Metallo-Beta Laktamazların Sınıflandırılması	11
2.2.1.1. Kromozomal Kodlanan MBL' ler	11
2.2.1.2. Transfer Edilebilir MBL' lerin Genetik Düzeni	12
2.2.1.2.1. IMP Tipi MBL' ler	14
2.2.1.2.2. VIM Tipi MBL' ler	15
2.2.1.2.3. SPM-1 Tipi MBL' ler	16
2.2.1.2.4. GIM-1 Tipi MBL' ler	17
2.2.1.2.5. SIM-1 Tipi MBL' ler	17
2.2.2. MBL' lerin Biyokimyası	17
2.2.3. Metallo-Beta Laktamazı Saptama Yöntemleri	18
2.2.3.1. Fenotipik Saptama Yöntemleri	19
2.2.3.1.1. Kombine Disk Testi	19
2.2.3.1.2. Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)	20
2.2.3.1.3. Modifiye Hodge Testi	20
2.2.3.1.4. Enzim Ekstraksiyonu Uygulaması	21
2.2.3.1.5. E Test Yöntemi	21
2.2.3.1.6. Kombine Disk Diffüzyon Yöntemi	22
2.2.3.1.7. Mikrodilüsyon Yöntemi	22

2.2.3.2. Genotipik MBL Saptama Yöntemleri	22
2.2.4. MBL (+) Olan Gram (-) Bakteri İnfeksiyonlarının Tedavisi	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Bakteri Kökenleri	25
3.2. Bakterilerin Klinik Örneklerden İzolasyonu, Tanımlanması ve Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi	25
3.3. Çalışmada Kullanılan Gereçler	26
3.3.1. EMB Agar	26
3.3.2. Mueller Hinton Agar	26
3.3.3. Mueller Hinton Broth	26
3.3.4. Tryptic Soy Broth	26
3.3.5. Triple Sugar Iron Agar	26
3.3.6. Fosfat Tamponlu Su (FTS)	27
3.3.7. Agaroz Jel	27
3.4. MBL Varlığını E Test Yöntemiyle Saptanması	27
3.5. PZR Yöntemiyle MBL Genlerinin Varlığının Araştırılması	29
3.5.1. DNA İzolasyonu	29
3.5.2. IMP ve VIM Tipi Genlerin Amplifiye Edilmesi	30
3.5.2.1. IMP-1 Genlerinin Amplifiye Edilmesi	30
3.5.2.2. IMP-2 Genlerinin Amplifiye Edilmesi	31
3.5.2.3. VIM-1 Genlerinin Amplifiye Edilmesi	31
3.5.2.4. VIM-2 Genlerinin Amplifiye Edilmesi	32
3.5.3. Amplifiye Edilen Gen Ürünlerinin Gösterilmesi	32
3.5.6. İstatistiksel Analiz	35
4. BULGULAR	36
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ	62
7. KAYNAKLAR	64
ÖZGEÇMİŞ	70

Şekiller Dizini

	Sayfa No
Şekil 2.1. Farklı MBL tiplerinin Dünyadaki dağılımı	13
Şekil 3.1. E test yöntemiyle MBL pozitif bulunan bir köken	28
Şekil 3.2. E test yöntemiyle MBL negatif bulunan bir köken	28
Şekil 3.3. IMP-1 geninin PZR yöntemiyle incelenmesi	33
Şekil 3.4. IMP-2 geninin PZR yöntemiyle incelenmesi	34
Şekil 3.5. VIM-1 geninin PZR yöntemiyle incelenmesi	34
Şekil 3.6. VIM-2 geninin PZR yöntemiyle incelenmesi	35
Şekil 4.1. <i>Acinetobacter</i> kökenlerinin izole edildiği örnekler	37
Şekil 4.2. Kökenlerin antibiyotiklere direnç ve duyarlılık oranları	38

Çizelgeler Dizini

	Sayfa No
Çizelge 2.1. Beta laktamazların sınıflandırılması.....	10
Çizelge 2.2. Metallo beta laktamazların saptanmasında kullanılan moleküler yöntemler .	23
Çizelge 3.1. IMP-1 geni için pcr yönteminde kullanılan primer dizisi.....	30
Çizelge 3.2. IMP-2 geni için pcr yönteminde kullanılan primer dizisi	31
Çizelge 3.3. VIM-1 geni için pcr yönteminde kullanılan primer dizisi	31
Çizelge 3.4. VIM-2 geni için pcr yönteminde kullanılan primer dizisi	32
Çizelge 4.1. Kökenlerin izole edildiği örneklerin gönderildiği klinikler.....	36
Çizelge 4.2. Otomatize sistem ile <i>Acinetobacter</i> spp. kökenlerine karşı bazı antibiyotiklerin MİK değerleri	39
Çizelge 4.3. Çalışmaya dahil edilen <i>Acinetobacter</i> kökenlerinin tür dağılımı	40
Çizelge 4.4. MBL pozitif ve negatif kökenlerin izole edildikleri hasta örneklerinin gönderildiği servisler	41
Çizelge 4.5. MBL (+) ve (-) kökenlerin izole edildikleri klinik örneklerin dağılımı	42
Çizelge 4.6. E test ile saptanan MBL varlığı ile antibiyotiklere karşı duyarlılık arasındaki ilişki	43
Çizelge 4.7. Çalışılan kökenlerin özellikleri, metallo beta laktamaz varlığı ve antibiyotik duyarlılıkları.....	46

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

ATCC	: American Type Culture Collection
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
bç	: Baz Çifti
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksiribonükleotidtrifosfat
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EMB	: Eosin Methylene Blue
FTS	: Fosfat Tamponlu Su
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz
MATE	: Çoklu İlaç ve Toksik Bileşik Atımı
MBL	: Metallo Beta Laktamaz
MDR	: Çoklu İlaç Direnç
MFS	: Major Kolaylaştırıcı Süper Aile
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
HXHXD	: Histidin-X-histidin-X-aspartik asit
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHB	: Mueller Hinton Broth
MHT	: Modifiye Hodge Tasti
MİK	: Minimal İnhibitör Konsantrasyonu
PDR	: Bütün Antibiyotiklere Dirençli, pandrug-resistant
PER	: <i>Pseudomonas</i> Genişlemiş Direnç
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RND	: Direnç Nodül Hücresi Üst Ailesi
SMA	: Sodyum Merkuptoasetik Asit
TBE	: Tris/Borat/EDTA
TSB	: Triptik Soy Broth
TSI	: Üç Şekerli Demirli Besiyeri

ÖZET

Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter* spp. Kökenlerinde Metallo Beta Laktamaz Varlığının Fenotipik ve Genotipik Olarak Araştırılması

*Acinetobacter*lerin oluşturdukları infeksiyonlarda antibiyotiklere olan dirençleri önemli bir sorun haline gelmiştir. Karbapenemlere dirençli olan *Acinetobacter* kökenlerinin diğer antimikrobiyallere karşı da oldukça dirençli olmaları infeksiyon hastalıklarının tedavisini güçleştirmektedir.

Bu çalışmada klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* kökenlerinde metallo beta laktamaz (MBL) varlığının fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması amaçlandı. Çalışmaya 150 *Acinetobacter* spp. kökeni dahil edildi. Kökenlerin antimikrobiyal duyarlılıkları otomatize sistemle, metallo beta laktamaz üretimi E-test yöntemiyle araştırıldı. IMP ve VIM genlerinin saptanması için polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi kullanıldı.

Çalışmamızdaki kökenlerin %94'ünün *Acinetaobacter baumannii* %6'sının *A. Iwoffi* olduğu tespit edildi. Kökenlerin en duyarlı olduğu antibiyotiklerin sırasıyla gentamisin (%41,3), amikasin (%36,7), imipenem (%25,3) olduğu saptandı. Seftriakson (%92), levofloksasin (%84,7), seftazidim (%84), piperasilin/tazobaktam (%84) ise en dirençli oldukları antibiyotiklerdi. Kökenlerin 67 (%44,7) 'si E-test yöntemiyle MBL pozitif olarak bulundu. MBL pozitif bulunan kökenlerin imipeneme, meropeneme, seftazidime, seftriaksona, gentamisine, pipeasilin/tazobaktama daha dirençli olduğu saptandı. PZR yöntemiyle araştırılan *bla*_{IMP-1}, *bla*_{IMP-2}, *bla*_{VIM-1} ve *bla*_{VIM-2} genleri hiçbir kökende tespit edilmedi.

MBL genlerinin ortaya çıkması ve bakteriyel patojenler arasındaki yayılımları antimikrobiyal tedavilerin etkisini azaltmaktadır. Bu nedenle MBL'lerin ve onları kodlayan genleri taşıyan kökenlerin saptanması tedavide kullanılacak antibiyotik seçiminde faydalı, daha etkili tedavi yöntemleri için de yol gösterici olacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter*, metallo beta laktamaz, IMP, VIM

ABSTRACT

Phenotypic and Genotypic Investigation of Metallo Beta Lactamase in *Acinetobacter* Strains Isolated From Clinical Samples

The resistance of *Acinetobacter* strains to antibiotics has become major problem in infections caused by them. *Acinetobacter* strains which are resistant to carbapenems, also have higher resistance to the other antimicrobials. So this condition impedes the treatment of infectious diseases.

In this study it was aimed to investigate the presence of metallo beta lactamase (MBL) in *Acinetobacter* strains isolated from clinical samples with fenotypic and genotypic methods. 150 *Acinetobacter* strains were included into the study. The antimicrobial susceptibilities of the strains were determined with automated system, production of metallo beta lactamase were investigated with E test method. Polimerase chain reaction (PCR) method was used for determining the *bla*_{IMP} and *bla*_{VIM} genes

In our study, it was determined that 94% of strains were *Acinetaobacter baumannii*, 6% of strains were *A. Iwofii*. The antibiotics which the strains were mostly susceptible to, were detected as gentamicin (41,3%), amikacin (36,7%), and imipenem (25,3%). Ceftriaxone (92%), levofloxacin (84,7%), ceftazidime (84%), piperacillin/tazobactam (84%), were the antibiotics to which the strains were the most resistant. 67 (44,7%) of the strains were found MBL positive with E test nethod. And thsesse strains were detected more resistant to imipenem, meropenem, ceftazidime, ceftriaxone. *bla*_{IMP-1}, *bla*_{IMP-2}, *bla*_{VIM-1} and *bla*_{VIM-2} genes were detected in no strain with PCR method.

The emergence of MBL genes and spread among the bacterial pathogens reduces the effect of antimicrobial treatments. Therefore detecting MBLs and the strains that carry the genes encoding MBLs will be helpful in the selection of antibiotics that can be used in treatment, and also will be a guide for more effective treatments.

Key Words: *Acinetobacter*, metallo beta laktamase, IMP, VIM

1.GİRİŞ

Ciddi seyirli bakteriyel infeksiyonların tedavisinde 1980'lerden bu yana kullanılan ve son seçenek olarak büyük değer taşıyan karbapenem grubu antibiyotiklere karşı *Acinetobacter*'lerde direncin yayılmaya başladığı görülmektedir (Walsh ve ark. 2005). Karbapenemlere dirençli olan *Acinetobacter* kökenlerinin diğer antimikrobiallere karşı da oldukça dirençli olduğu gözlenmiştir.

Hastanelerde özellikle yoğun bakım ünitelerinde *Acinetobacter baumannii* salgınlara yol açabilen fırsatçı bir patojendir (Bergogne-Be're'zin ve Towner, 1996). Hastaneye yatan hastalarda septisemi, pnömoni ve üriner sistem infeksiyonlarına sebep olur. Son yıllarda yoğun antibiyotik kullanımına bağlı olarak çoğul ilaca dirençli *A. baumannii* kökenlerinin izolasyonu artmıştır (Coelho ve ark. 2004).

Acinetobacter cinsinde karbapenem direnci dünyada artmaktadır. Karbapenem direnci, bakteri dış membran proteinlerinde değişiklik sonucu karbapeneme geçirgenliğin azalması, karbapenemin dışarı pompalanması, AmpC tipindeki beta laktamazların aşırı üretimiyle karbapenemin dolaylı yoldan inaktivasyonu ve karbapenem hidrolizleyen enzimlerle (karbapenemaz) doğrudan inaktivasyonu şeklinde olabilir (Walsh ve ark. 2005).

Karbapenemazların metallo beta laktamaz (MBL) alt grubu kromozomal veya plazmidik olabilen enzimler içerir (Walsh ve ark. 2005). Plazmidik metallo beta laktamazlar uzun yıllar seyrek rastlanan enzimler olarak kaldıktan sonra, son birkaç yılda göreceli olarak hızlanan yayılmaları ile gündemde yer tutmaktadırlar. Yayılma, hem MBL saptanma sıklığında artışı hem MBL bildirimlerinin coğrafik konum açısından birbirinden bağlantısız ülkelerden olduğunu, hem de önceleri *Pseudomonas*'larda görülürken MBL'lerin artık enterik bakterilerde de saptandıklarını ifade etmektedir. Bu grupta *Bacteroides*'te bulunan CfiA'ya (veya CcrA) ek olarak IMP, VIM, SPM ve GIM enzimleri yer alır. EDTA (etilen diamin tetra asetik asit) ile inhibisyon özellikleri vardır ve bu özellikten MBL tanımlanmasında yararlanılır (Walsh 2005).

Metallo beta laktamazlar kromozomal olarak kodlanır ya da genlerle taşınarak geçer. Taşınabilen MBL'ler bla genleri ile kodlanır. Bla genleri class 1 integronlar üzerindedir ve plazmidler ve transpozonlar ile organizmalar arasında hareket ederler. Günümüze kadar beş tip kazanılmış MBL tanımlanmıştır: IMP, VIM, SIM, SPM ve GIM. Bunlardan ilk üç tanesi *Acinetobacter baumannii*'de tanımlanmıştır.

IMP ve VIM taşıyan *A. baumannii* kökenleri aztreonam hariç tüm beta laktamlara dirençlidir. IMP ve VIM enzimlerini üreten kökenlerin karbapenem direncinde MBL üretiminin rolü E test tekniği ile kolayca saptanabilir. (Walsh ve ark. 2005).

Bu çalışmada Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* spp. kökenlerinde metallo beta laktamaz varlığının fenotipik ve genotipik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Acinetobacter* Türleri

Acinetobacter türleri klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında üretilen nonfermentatif mikroorganizmalar arasında *Pseudomonas aeruginosa*'dan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Oluşturdukları infeksiyonlarda antibiyotiklere olan dirençleri önemli bir sorun yaratmaktadır (Topçu ve ark 2008).

Acinetobacter cinsi zorunlu aerob, Gram-negatif kokobasil görünümünde, oksidaz negatif, katalaz pozitif, indol negatif, hareketsiz, genellikle nitrat negatif ve nonfermentatif basillerden oluşur (Murray ve ark 2002, Topçu ve ark 2008). Gram boyamada dekolazasyon zorluğu nedeniyle Gram pozitif olarak değerlendirilebilir. S tipi koloniler oluştururlar (Topçu ve ark 2008). Koloniler düzgün, opak ve *Enterobacteriaceae* ailesinin üyelerine göre daha küçüktür. Birçok suş MacConkey agarda renksiz veya hafif pembe renkte koloniler oluşturur (Murray ve ark 2002). Üremenin logaritmik fazında 1-1.5x 1.5-2.5 mm boyutlarında basil, duraklama fazında ise kok şeklinde, genellikle kokobasil ve diplokok olarak görüldüğünden Gram boyalı preparatların incelenmesinde *Haemophilus* ve *Neisseria* türleri ile karıştırılabilir (Topçu ve ark 2008). İlk izolasyonda ve bir günlük taze kültürlerinde kokobasil formunda olup, subkültürlerinde veya penisilinli ortamda ürediklerinde çomak şeklinde görülürler. Tüm suşlar 30-35°C'de ürerler (Ustaçelebi 1999).

2.1.1. Sınıflandırma

Bu cins ilk olarak *Neisseriaceae* ailesinde iken günümüzde *Moraxellaceae* ailesinde yer almaktadır. *Acinetobacter* cinsi içinde DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarına göre 25 adet DNA homoloji grubu (genom tür) bulunmaktadır. Bunlardan sadece 11'i isimlendirilmiştir (Murray ve ark 2002). *A. calcoaceticus* (genomik tür 1), *A. baumannii* (genomik tür 2), *A. haemolyticus* (genomik tür 4), *A. junii* (genomik tür 5), *A. johnsonii* (genomik tür 7), *A. Iwoffii* (genomik tür 8) ve *A. radioresistens* (genomik tür 12) dışında numaralandırılmış 14'ten fazla genomik tür belirlenmiştir (Topçu ve ark 2008). Bu türlerden 1, 2, 3 ve 13 genom türleri, klinik laboratuvarlarda zor ayırt edildikleri için

A. calcoaceticus-*A. baumannii* kompleks olarak tanımlanmışlardır. Glikozu okside eden, hemolitik olmayan suşların birçoğu *A. baumannii*, hemolitik olmayanlar *A. lwoffii*, hemolitik olanlar ise *A. haemolyticus* olarak tanımlanmıştır (Murray ve ark 2002). *A. johnsonii* diğer türlerden 37 °C’de üreyememesi ile ayırt edilebilir. *Enterobacteriaceae*’lerden anaerobik şartlarda ürememesi ve nitratları redükte etmemesi, *Neisseria* ve *Moreaxella*’dan ise oksidaz negatif olmaları ile ayırt edilirler (Topçu ve ark 2008).

2.1.2. Doğal Ortamlar ve Klinik Önem

Doğada yaygın bulunurlar. İnsanda deri florasında yer aldıklarından klinik örneklerden izole edilebilirler (Ustaçelebi 1999). Nemli ve kuru ortamda yaşayabilir, gıdalarda bulunabilirler (Murray ve ark 2002). Zaman zaman fırsatçı patojen bakteriler olarak infeksiyon yaparlar. Katater uygulamasına bağlı sistit ve piyelonefrit gibi genitoüriner sistem infeksiyonları, entübasyon ve trakeostomi sonrası oluşan solunum sistemi infeksiyonları, cerrahi girişimlerden sonra görülen menenjit gibi intrakraniyel infeksiyonlar, yumuşak doku infeksiyonları sayılabilen fırsatçı infeksiyonlardır (Ustaçelebi 1999). İnsanlarda en sık izole edilen tür, *A. baumannii*’dir. Bu mikroorganizmanın antimikrobiyal çoğul direnç kazanma yeteneği, dış ortamda birçok yüzeyde canlı kalma kapasitesi, hastane infeksiyonları açısından önemini arttırmaktadır (Murray ve ark 2002).

2.1.3. Patogenez ve Virülans

Çeşitli faktörlerin *A. baumannii*’nin virülans potansiyeline katkıda bulunduğu düşünülürken özellikle dış membran proteinlerinin bir parçası olan OmpA’nın bu patojenin hastalığa sebep olma potansiyeline önemli ölçüde katkıda bulunduğu saptanmıştır. *A. baumannii* OmpA konak hücrenin mitokondrisine bağlanır bağlanmaz mitokondrinin şişmesine neden olarak mitokondiyal işlev bozukluğuna neden olur. Bu reaksiyon hücrenin apoptoizisine neden olur. Patojen üzerinde en bol bulunan yüzey proteini olan OmpA kompleman direnci ve hem hücre içinde hem de hücre dışında bakteriyal yaşamın devam etmesini sağlayan virülans faktör biyofilm oluşumu ile ilgilidir. *A. baumannii*’nin bu biyofilm oluşturma yeteneği olumsuz şartlar ve ortamlarda sürekli büyümesine olanak sağlar. *A. baumannii*’nin cam ve yoğun bakım ünitelerinde kullanılan ekipmanlar gibi cansız yüzeylerde ve/veya epitelyum hücreleri gibi canlı yüzeylerde biyofilm oluşturduğu

gösterilmiştir. Biyofilm oluşumunu kontrol eden en yaygın faktörler pili ve dış zar proteinlerinin varlığı ve makromoleküler salgılardır. *A. baumannii* belirli yüzeylere tutunduktan sonra pili montajı ve biyofilm-ilişkili protein (BAP) üretiminin her ikisinde biyofilm oluşumun başlamasını ve devam etmesini sağlar. Pili cansız yüzeylere tutunduğunda biyofilm yapılarının gelişmesini takip ederek mikrokolonilerin oluşumunu başlatır. BAP bakteri hücrelerinin yüzeyinde mevcuttur ve cansız veya canlı yüzeylerde olgun biyofilmi dengeleyerek biyofilmin büyümesine ve olgunlaşmasına katkıda bulunur. Metal katyonlar gibi çevresel etkenler biyofilm oluşumunu kontrol etmede rol oynar, *A. baumannii*'nin belirli yüzeylere tutunma yeteneğini artırır.

Virülansa katlı sağladığı gösterilen diğer protenler fosfolipaz D ve C içerir. Fosfolipaz D insan serumuna dirençli olduğu için önemli iken fosfolipaz C epitelyum hücrelerinde toksisiteyi artırır (Howard ve ark 2012).

2.1.4. Antibiyotik Duyarlılığı

A. baumannii ampisilin, amoksisilin, 1. kuşak sefalosporinlere doğal dirençlidir (Gür 2009).

Acinetobacter spp.'nin birçok suşuna karşı trimetoprim-sulfametoksazol, imipenem, imipenem-silastatin, ampisilin-sulbaktam, tikarsilin-klavulanat, doksisisiklin ve kinolonlar etkili iken sefalotine etkisizdir, buna rağmen her klinik izolat için duyarlılık testinin yapılması gereklidir. *Acinetobacter* türlerine karşı karbapenemler hala en etkili antimikrobiyaller olarak bilinmekle birlikte, karbapenem direnci giderek yaygınlaşmaktadır (Murray ve ark 2002).

Acinetobacter'ler pek çok antibiyotiğe dirençlidir. Kinolonlar, piperasilin, seftazidim, imipenem ve amikasin kombinasyonlarının kullanımı tedaviye cevap vermektedir (Ustaçelebi 1999).

2.1.5. Tedavi

Karbapenemler, bazı florokinolonlar ve doksisisiklin aktivitesini kaybettiği için *Acinetobacter* infeksiyonlarının tedavisi duyarlılık testlerine göre kişiye özel olmalıdır. İmipenem-aminoglikozid ve beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü-aminoglikozid in vivo

olarak sinerjik bulunmuştur. Ayrıca kinolon ve amikasinde de sinerji gözlenmiştir. Ciddi *Acinetobacter* infesiyonlarının tedavisinde laboratuvar antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarına göre kombine tedavi kullanılabilir. Çoğu antimikrobiyal dirençli gram negatif infesiyonlar için kemoterapötik yaklaşım kapbapenem (imipenem ve meropenem) kullanımını içermektedir fakat karbapenem dirençli *Acinetobacter* giderek artan oranlarda bildirilmektedir. Kolistin ve polimiksin B'ye dirençli *Acinetobacter* izolatları bildirilmiştir. (Dougharı ve ark 2011).

Aminoglikozid ve tikarsilin veya piperasilin kombine tedavisi sinerjik olup ciddi infesiyonlarda etkili olabilmektedir. Çoklu dirençli *Acinetobacter* infesiyonlarında etkili olduğu gösterilen diğer bir antibiyotik kolistindir (Murray ve ark 2002).

2.1.6. *Acinetobacter* spp.'de Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları

Porinlerin kaybı, beta-laktamaz üretimi, dışa atım pompalarının artmış ekspresyonu, antibiyotikleri değiştiren enzimler, hedef bölge mutasyonları, ribozomal mutasyonlar veya değişiklikler, metabolik bypass mekanizmaları ve lipopolisakkaritteki mutasyon, Gram negatif bakterilerde bilinen antibiyotik direnç mekanizmalarıdır (Lee ve ark 2011).

Acinetobacter türleri antimikrobiyal ajanlara intrinsik olarak *Enterobacteriaceae* türlerinden daha az duyarlıdır. *A.baumannii*'de porinlerin sayısı ve büyüklüğü daha az olduğu için diğer Gram negatif basillerle karşılaştırıldığında dış membran permeabilitesi %5 daha azdır (Lee ve ark 2011).

Bütün bakteriler dışa atım sistemlerine sahiptir. Dışa atım pompaları yapısal olarak farklı sınıfta antimikrobiyalleri bakteri hücresi dışına atar. Dışa atım pompalarıyla atılan en yaygın antimikrobiyaller makrolidler, tetrasiklinler ve kinolonlardır. Dışa atım pompalarının aşırı yapımı direnç düzeyini artırır. Altı adet dışa atım sistem ailesi arasında, Major Kolaylaştırıcı Süper Aile (Major Facilitator Superfamily, MFS) ve Direnç Nodül Hücresi Üst Ailesi (Resistance-Nodulation-Cell Division, RND) *A. baumannii*'deki antimikrobiyal direnç ile ilgilidir. MFS'ye ait tet(A) tetrasiklin, tet(B) ise tetrasiklin ve minoksiklin her ikisine dirençten sorumludur. AdeM pompası çoğul ilaç ve Çoklu İlaç ve Toksik Bileşik Atımı (Multidrug and Toxic Compound Extrusion, MATE) ailesindedir ve

norfloksasin, ofloksasin, siprofloksasin ve gentamisin direncinden sorumludur. AdeABC 3-komponent dışa atım pompasında AdeA membran füzyon proteini, AdeB çoğul ilaç taşıyıcısı ve AdeC dış membran proteindir. AdeABC pompası RND ailesine aittir ve aminoglikozidler, beta-laktamlar, kloramfenikol, eritromisin ve tetrasiklin direncinden ve azalmış florokinolon duyarlılığından sorumludur (Lee ve ark. 2011).

A. baumannii Gram negatif bakterilerin diğer birçok türünde bulunan sefoksitine karşı doğal direnci sağlayan sefalosporinazı kodlayan intrinsik *bla*_{AmpC} geni taşır. İndüklenebilen AmpC ekspresyonu *A.baumannii*'de görülmez (Lee ve ark. 2011).

2.1.6.1. Çoğul İlaça Direnç (MDR)

Acinetobacter infeksiyonlarının tedavisinde en ciddi güncel problem kazanılmış MDR'dir. MDR birden fazla sınıf antimikrobiyal ajana karşı direnci sağlayan direnç determinantının bakteriyel aktarımına bağlı olarak ortaya çıkabilir. MDR pompası bunlardan bir tanesidir. MDR çoklu direnç determinantlarının aktarımına da bağlı olabilir. *Acinetobacter* hızlı gelişen antibiyotik direncinin görüldüğü bir organizmadır (Lee ve ark. 2011).

Çalışmaların birçoğunda, MDR en az 3 farklı sınıftaki antimikrobiyal ajana karşı dirençli olarak tanımlanmıştır. Bu antibiyotikler aminoglikozidler, antipseudomonal penisilinler, karbapenemler, sefalosporinler ve kinolonlardır. Nadir olarak kolistin, ampisilin-sulbaktam veya tetrasiklinler (doksisisiklin veya minosiklin) bu antibiyotiklerdendir. Bütün antibiyotiklere dirençli (pandrug-resistant, PDR) *Acinetobacter*'ler ise yukarıda bahsedilen antimikrobiyallere ek olarak sulbaktam, minosiklin veya doksisisiklin ve tigesikline de dirençlidir (Lee ve ark. 2011).

2.1.6.2. Aminoglikozid Direnci

Aminoglikozidler aerobik Gram negatif bakterilerde gelişen ciddi bakteriyel infeksiyonların tedavisinde kullanılan önemli antibiyotiklerdir. Bununla birlikte bakteriler plazmid kaynaklı aminoglikozid değiştirilen enzimleri (N-asetiltransferaz, O-nükleotidiltransferaz, O-fosfotransferaz), kodlayan genleri kazanarak aminoglikozidlere dirençli hale gelirler. Aminoglikozid değiştirilen enzimleri kodlayan genlerin birçoğu farklı türler arasında direnç geninin hızlı yayılımını sağlayan transpozonlarla ilgilidir. Transpozonlar çoğul dirence yol açan diğer direnç determinantlarını da taşıyabilir.

Kanamisin, gentamisin ve tobramisin direncini sağlayan plazmidde kodlanan enzimlerin başlıcaları ile amikasin değişime uğramaz (Lee ve ark. 2011).

2.1.6.3. Florokinolon Direnci

Florokinolonlar çok kullanılan geniş spektrumlu antimikrobiyal ajanlardır. Bu sınıf antimikrobisaller bakteriyel DNA replikasyonu için gereken enzimler olan bakteriyel DNA giraz ve DNA topoizomerazı inhibe eder. Kinolon direnci için primer mekanizma hedef enzimler; GryA ve ParC'deki değişimlerdir (Lee ve ark. 2011).

Plazmid aracılıklı kinolon direnci birçok *Enterobacteriaceae* türünde saptanmıştır (Martnez-Martnez ve ark. 1998), fakat *qnrA* 2008'de Cezayir'de evre *A. baumannii* izolatlarında ilk kez bildirilmiştir (Touati ve ark. 2008). *qnr* genleri florokinolona duyarlı olmayan vahşi tipi açıklamaz, fakat florokinolona dirençli *Enterobacteriaceae* mutantlarının seçimi ile gerçekleşen düşük düzey direnci sağlar (Lee ve ark. 2011).

2.1.6.4. Tetrasiklin ve Tigesiklin Direnci

Tetrasiklin ve diğer derivelerine karşı direnç dışa atım veya ribozomal koruma ile sağlanabilir. *tet(A)*'dan *tet(E)*'ye kadar olan genler tetrasikline spesifik dışa atım pompalarını kodlarlar ve Gram negatif basillerde sıklıkla saptanırlar. Bununla birlikte *tet(A)* ve *tet(B)* determinantları *A. baumannii*'de de saptanmıştır (Peleg ve ark. 2008). *Tet(A)* tetrasikline karşı direnci sağlar ama minosikline direnç sağlamaz. Tigesiklin yeni bir glisilsiklidir ve minosiklinin türevidir, MDR *A. baumannii* için tedavi seçeneğidir (Lee ve ark. 2011).

2.1.6.5. Polimiksin Direnci

Polimiksinler (kolistin ve polimiksin B) hemen hemen tüm Gram negatif basillere etkili polipeptit antimikrobiyal ajanlardır. Gram negatif basillerin hücre membranlarına bağlanır ve membranı çok geçirgen yaparak bakterinin ölümüne yol açarlar. Kolistin 1940'larda bulunmuştur fakat nefrotoksisite ve nrotoksisitesinden dolayı sistemik olarak kullanılmamıştır. Bununla birlikte son zamanlarda MDR *Acinetobacter* infeksiyonlarının

tedavisinde artan oranlarda kullanılmaktadır. *Enterobacteriaceae*'deki polimiksin direncinin mekanizması polimiksinlerin bağlanmasını azaltan lipid A'nın modifikasyonudur. Kolistin direncine yol açan lipid A'nın kaybı kolistin dirençli klinik *A. baumannii* izolatlarında da gözlenmiştir (Lee ve ark. 2011).

2.1.6.6. OXA Karbapenemazlar

OXA tip beta-laktamazlar moleküler sınıf D enzimlerdir (Bush ve Jacoby 2010). İlk OXA tip karbapenemaz OXA-23 1985'te İskoçya'da izole edilen *A. baumannii*'de saptanmıştır (Brown ve Amyes 2006). *bla*_{OXA-23} geni taşınabilir plazmid üzerinde bulunmaktadır. 4 ana grup OXA karbapenemazlar OXA-23 benzeri, OXA-40 benzeri, OXA-51 benzeri ve OXA-58 enzimleridir (Brown ve Amyes 2006). OXA-23 içeren *A. baumannii* salgını ilk kez 2003 yılında Kore'den bildirilmiştir (Jeon ve ark. 2005).

2.1.6.7. Genişletilmiş Spektrumlu Beta-laktamaz (GSBL)

A. baumannii'deki GSBL'ler ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır. İtalya'daki TEM-92, Çin'deki SHV-12, Hollanda'daki TEM-116 ve SHV-12 içeren *A. baumannii* suşlarının yayılımı bildirilmiştir (Peleg ve ark 2008). CTX-M tipi GSBL *Enterobacteriaceae* arasında yaygındır. CTX-M-2, CTX-M-43, CTX-M-15 içeren çok az sayıda *Acinetobacter* suşu sırasıyla Japonya'dan, Bolivya'dan ve Hindistan'dan bildirilmiştir (Peleg ve ark 2008). Vietnam genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (VEB-1) ilk kez Vietnam'lı bir çocuktan izole edilen *E. coli*'de saptanmıştır (Peleg ve ark 2008). VEB-1 üreten *A. baumannii*'nin yayılımı Fransa'dan sonra Belçika ve Arjantin'den bildirilmiştir (Peleg ve ark 2008). *Pseudomonas* genişlemiş direnç (PER) tip GSBL 1991'de Fransa'da saptanmıştır. *Acinetobacter* izolatlarında birçok ülkede saptanmıştır (Peleg ve ark. 2008).

2.2. Metallo-beta-laktamazlar (MBL)

MBL bakteriler tarafından ekstrasellüler veya periplazmik enzimler olarak üretilirler. Metal bağlama bölgelerine sahiptir ve enzimatik kofaktör olarak çinko iyonlarına gereksinim duyarlar (Sacha ve ark. 2008).

MBL monobaktam, aztreonam dışındaki tüm beta-laktamazları hidrolize edebilen moleküler sınıf B ve fonksiyonel sınıf grup 3 beta-laktamazlardır (Bush ve Jacoby 2010) (Çizelge 2.1).

Çizelge2.1. Beta-laktamazların sınıflandırılması (Sacha ve ark. 2008)

Fonksiyonel Mekanizma	Ambler sınıflandırması	Bush (Gruplar)	Örnekler	Substratlar
Serin beta laktamazlar	Sınıf A penisilinaz	2a, 2b, 2c	Geniş spektrumlu beta laktamazlar: TEM-1, TEM-2, SHV-1	Benzilpenisilin (penisilin), aminopenisilinler (amoksisilin, ampisilin), karboksipenisilinler (karboksipenisilin, tikarsilin), dar spektrumlu sefalosporinler (sefzolin, seforoksim ve diğerleri)
		2be	Genişletilmiş spektrumlu beta laktamazlar (ESBL): TEM ve SHV sınıfı	Geniş spektrumlu beta laktamazların substratları, kloksasilin, metisilin ve oksasilinin substratları
			Diğer: BES-1, GES/IBC ailesi, PER-1, PER-2, SFO-1, TLA-1, VEB-1/2	TEM ve SHV ailesinin substratları ile aynı
		2br	TEM ailesi (TEM-30, TEM-31) IRT	TEM ve SHV ailesi ile aynı
		2e	CTX ailesi	Genişletilmiş spektrumlu beta laktamazların substratları, bazı enzimler için sefepim
		2f	Karbapenemazlar: (KPC-1, KPC-2 ve KPC-3; GES-1, GES-2)	Genişletilmiş spektrumlu beta laktamazların substratları, sefamisinler ve karbapenemler (ertapenem, meropenem, imipenem)
Metallo beta laktamazlar	Sınıf B metallo beta laktamazlar	3a, 3b, 3c	Karbapenemazlar: IMP ailesi, VIM ailesi, SPM-1, SPM-2, GIM-1, ve L1, CcrA	Karbapenemaz sınıf A'nın substratları ile aynı
Serin beta laktamazlar	Sınıf C sefalosporinazlar	1	AmpC-tip: AAC-1, ACT-1, CFE-1, CMY ailesi, DHA-1, DHA-2, FOX ailesi, LAT ailesi, MIR-1, MOX-1 ve MOX-2	Genişletilmiş spektrumlu beta laktamazların substratları, sefamisinler
Serin beta laktamazlar	Sınıf D-kloksasilin hidrolize eden enzimler (OXA)	2d	OXA ailesinin çoğunluğu	Dar spektrumlu grup substratları, kloksasilin, metisilin ve oksasilin
			Diğer OXA: OXA-23, OXA-27 ve OXA-40, OXA-48	IMP ailesi, VIM ailesi, SPM-1, SPM-2 ve GIM-1 'in substratları ile aynı
Bilinmeyen		4	AVS-1	Herhangi bir fonksiyona veya moleküler gruba uymayan karışık veya tanımlanmamış enzimler

2.2.1. Metallo-beta-laktamazların Sınıflandırılması

MBL'ler ilk kez 1980 yılında Ambler tarafından saptanan sınıflandırma şemasındaki serin beta laktamazlardan kategorize edilmiştir (Ambler 1982). Bush 1989'da MBL'leri fonksiyonel özelliklerine göre üç gruba ayırmıştır (Bush 1989). Bu şema öncelik olarak substrat profillerine (özellikle imipenem hidrolizi), EDTA duyarlılıklarına ve serin beta laktamaz inhibitörleri ile inhibe olup olmamalarına göre belirlenmiştir. Bu şema 1995'te tekrar gözden geçirilmiş ve 1997'de modifiye edilerek sınıflandırılmıştır (Bush ve ark. 1995, Rasmussen ve Bush 1997).

Bütün MBL'ler imipenemi hidrolize eder, ama bakterinin karbapenemlere karşı hidroliz direnç düzeyi ile ilişkili olabilir veya olmayabilir (Massidda ve ark. 1991). Bu sınıflama bu enzimleri imipenem ve diğer beta-laktam hidrolizine dayanarak alt gruplara ayırmıştır (Rasmussen ve Bush 1997). Grup 3a enzimleri geniş spektrumlu aktivite gösterir, grup 3b enzimleri karbapenemler için öncelikli aktivite gösterir ve grup 3c enzimleri diğer beta-laktamlarla karşılaştırıldığında karbapenemleri zayıf olarak hidrolize eder. Bununla birlikte bu enzimler divalen katyonları şelate eden diğer ajanlar gibi EDTA tarafından inhibe edilir (Rasmussen ve Bush 1997).

MBL'lerin standardizasyonunun sınıf A beta laktamazların sınıflandırılmasında kullanılan bir numaralandırma şemasına dayanarak yapılması önerilmiştir. Bununla birlikte sınıf B enzimlerinin sınıflandırılması aminoasit sayılarındaki çeşitlilikten doğan farklı yapıları sebebiyle problemlidir (Galleni ve ark. 2001). Bu numaralandırma şeması çinkoyu koordine eden kalıntıların uyumuna dayanır. Bu şema yeni bulunan MBL'leri de içerecek şekilde güncellenmiştir (Walsh ve ark. 2005).

2.2.1.1. Kromozomal Kodlanan MBL'ler

Genellikle çevrede bulunan bazı bakteriler MBL taşır. Bir görüşe göre bakteriler zaman içinde beta-laktamlara veya beta-laktam benzeri bileşiklere maruz kalırlar ve bu genleri ve ürünlerini kazanır ve devam ettirirler. Başka bir fikre göre ise bu enzimler tamamen açıklanmış normal hücresel fonksiyonu gerçekleştirirler. Bu MBL genlerinin birçoğu indüklenebilir ve bunları taşıyan bakterilerin büyük çoğunluğu beta-laktamlara yüksek dirençlidir veya dirençli hale gelebilirler. Bu organizmalar fırsatçı patojenlerdir ve *S. maltophilia* ve *Bacillus anthracis* dışındakiler nadiren ciddi enfeksiyonlara sebep

olurlar. Kromozomal olarak kodlanan MBL bakterileri; *B. cereus* (BC II) (Lim ve ark. 1988), *Bacillus anthracis* (Chen ve ark. 2003), *S. maltophilia* (L1) (Walsh ve ark. 1994), *Aeromonas hydrophila* (ChpA) (Massidda ve ark. 1991), *Chryseobacterium meningosepticum* (BlaB veya GOB-1) (Rossolini ve ark. 1999), *Chryseobacterium indologenes* (IND-1) (Bellais ve ark. 2000), *Legionella gormannii* (FEZ-1) (Boschi ve ark. 2000), *Caulobacter crescentus* (Mbl1b) (Simm ve ark. 2001), *Myroides* spp. (TUS-1, MUS-1) (Mammeri ve ark. 2002), ve *Janthinobacterium lividium* (THIN-B) (Rossolini ve ark. 2001) *Flavobacterium johnsoniae* (JOHN-1) (Naas ve ark. 2003) ve *S. fonticola* (SFH-1)'dir (Saavedra ve ark. 2003).

Kromozomal enzimler sıklıkla serin beta laktamazlarla birlikte düzenlenir. Örneğin; *A. hydrophila* ve *Aeromonas veronii* bv. sobia her ikisi de penisilinaz, sefalosporinaz ve MBL üretir. Benzer durum diğer bakterilerde de bulunmuştur (Walsh ve ark. 2005).

2.2.1.2. Tranfer Edilebilir MBL'lerin Genetik Düzeni

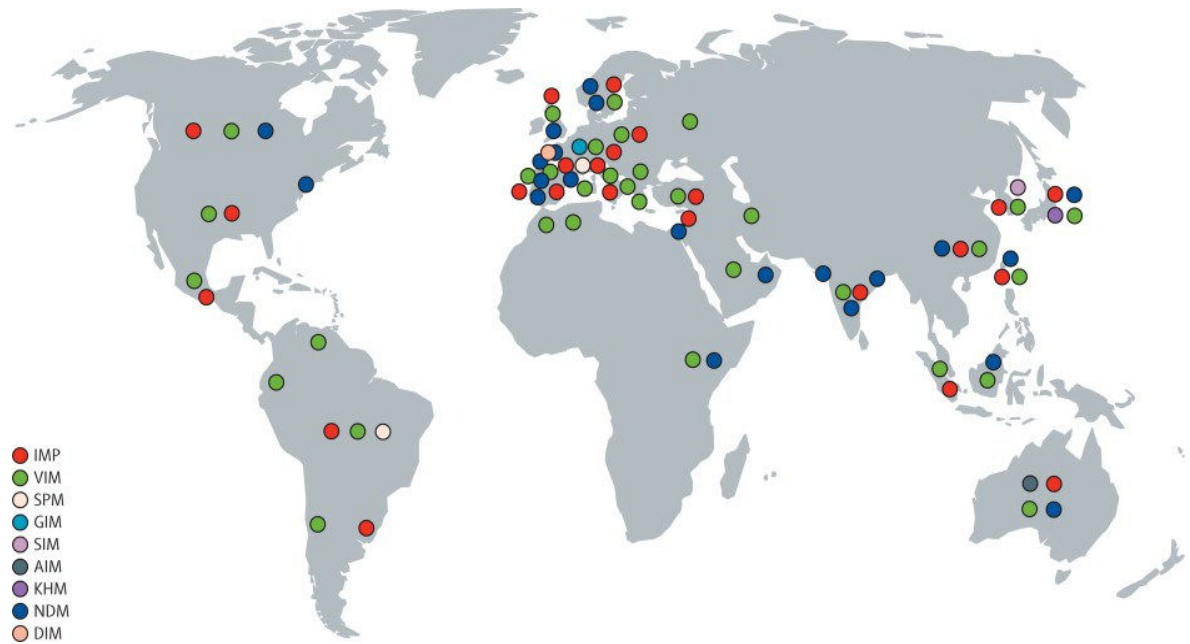
MBL genlerinin yayılımı geniş spektrumlu sefalosporinler veya karbapenemlerin bölgesel tüketimi ile belirlendiği düşünülmektedir (Lee ve ark. 2003, Lombardi ve ark. 2002). GIM-1 gibi IMP ve VIM tipini kodlayan genlerin hepsi değil ama birçoğu sınıf 1 integronlardaki gen kasetleri şeklinde bulunur (Castanheira ve ark. 2004, Lauretti ve ark. 1999, Poirel ve ark. 2001, Poirel ve ark. 2000, Senda ve ark. 1996, Yamazoe ve ark. 1999). IMP MBL genleri de sınıf 3 integronlar üzerinde bulunmuştur (Arakawa ve ark. 1995, Collis ve ark. 2002).

Aminoglikozid ve beta-laktam direnç genlerini taşıyan gen kasetleri bir integrondan diğerine serbestçe hareket edebilirken tek başlarına bir organizmadan diğerine hareket edemezler, plazmid ve transpozonlar gibi diğer genetik elementlerin yardımına ihtiyaç duyarlar (Bennett 1999). MBL genlerinin büyük bir kısmı genellikle 120 ve 180 kb büyüklüğündeki plazmidler üzerinde bulunurlar (Walsh ve ark. 2005).

Bütün MBL'ler integronlar veya transpozonlarla ilgili değildir. *bla_{spm-1}*'in genetik içeriğinin tek olduğu ve *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ile yakından ilgili olan genler ile bağlantılı olduğu ve bir integron veya transpozon ile ilgili olmadığı gösterilmiştir (Toleman ve ark. 2002). İlginç olarak *bla_{spm-1}* ve etrafındaki genler hareketli genomik patojenite adasının bir parçasıdır ve yaklaşık olarak 180 kb'lık bir plazmid üzerindedir. *Salmonella* patojenite adaları SXT bölgeleri olarak adlandırılan diğer hareketli

elementler ile de ilgili olan hareketli yaygın bölgelerle ilgilidir. Bu bölgeler SXT'ye bağlı direnç elementlerini 300 kat arttırdığında bakteriler filorokinolonlara maruz kaldığında gösterilen bakteriyel stres altında hareket edebilir (Beaber ve ark. 2004, Iwanaga ve ark. 2004).

MBL'nin karbapenem hidrolize etme aktivitesi çok güçlüdür. Klinikte imipenem kullanılmaya başladıktan sonra IMP-tipi ve VIM-tipi MBL üreten Gram negatif basiller sırasıyla Japonya'da ve İtalya'da görülmüştür (Peleg ve ark 2008). İlk kez saptanan MBL, Kore'de *P. aeruginosa*'da 1995 yılında saptanan VIM-2'dir ve sonra 1998'de yılında VIM-2 ve IMP-1 *Acinetobacter* türlerinde saptanmıştır (Lee ve ark. 2002, Yum ve ark. 2002). Birçok MBL içinde sadece IMP, VIM ve SIM tipleri *Acinetobacter* türlerinde saptanmıştır (Lee ve ark. 2011). Değişik MBL tiplerinin dünyadaki dağılımı şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Farklı metallo-beta-laktamaz tiplerinin Dünya'daki dağılımı (Cornaglia ve ark. 2011).

2.2.1.2.1. IMP Tipi MBL'ler

İlk hareketli MBL'ler Japonya'da 1988 yılında GN 17203 *P. aeruginosa* suşunun tespitiyle belirlenmiştir. Bu direnç genleri diğer *Pseudomonas* suşlarına kolaylıkla hareket edebilen aktarılabılır bir konjugatif plazmid üzerinde bulunmuştur. Aynı gen üç yıl sonra Japonya'da Okazaki'de Aichi Hastanesinde bir idrar yolu infeksiyonundan izole edilen *Serratia marcescens* Tn9106 suşunda bulunmuştur. Aynı gen 2 yıl sonra Okazaki şehrine yakın bulunan Anjyo şehrindeki bir hastaneden *S. marcescens* AK9373 suşundan karakterize edilmiştir. Bu IMP-1 geni (bla_{IMP-1}) *aac(6')Ib*-benzeri gene komşu olan sınıf 3 integron içindedir ve büyük bir plazmid (120 kb) üzerinde bulunmuştur (Walsh ve ark. 2005).

Daha sonraki yıllarda farklı coğrafik bölgelerde yapılan çalışmalar IMP-1 geninin farklı kökenlerde görüldüğünü bildirmiştir (Ito ve ark 1995, Senda ve ark 1996). bla_{IMP-1} geni taşıyan bu izolatların imipenem minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri test edildiğinde sonuçların 2 µg/ ml'den 128 µg/ ml'e kadar çeşitlilik gösterdiği tespit edilmiştir (Walsh ve ark. 2005).

Japonya'da MBL pozitif olan *Shigella flexneri*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* ve *Alcaligenes* spp. kökenlerinde IMP-1' in üç minör varyantları olan IMP-3, IMP-6 ve IMP-10 tespit edilmiştir. IMP-3'te iki amino asit IMP-1'den farklıdır ve *S. flexneri* izolatında tespit edilmiştir. Bu aynı amino asit farklılığı IMP-1'den farklı olarak sadece penisilin G ve piperasiline karşı değil aynı zamanda imipeneme benzeyen yüksek meropenem hidrolizini de azaltan IMP-6'da da gözlenmiştir (Yano ve ark 2001, Walsh ve ark. 2005).

bla_{IMP-10} geni bir *P. aeruginosa* izolatında plazmid aracılı bulunurken bir diğer *P. aeruginosa* ve bir *Achromobacter xylosoxidans* izolatında kromozomal aracılı olarak bulunmuştur. bla_{IMP-10} geni 49. pozisyonda bulunan valin yerine fenilalaninin gelmesinden sorumlu olan tek bir baz değişikliği nedeniyle bla_{IMP-1} geninden farklıdır (Walsh ve ark. 2005).

bla_{IMP-2} 1997'de İtalya'da, bla_{IMP-5} 1998'de Portekiz'de görülmüştür. bla_{IMP-2} geni IMP-1 ile ilgili olarak 36 amino asit, bla_{IMP-5} geni ise 17 amino asit farklılığına sahiptir ve her ikisi de genetik bağlanma açısından farklıdır (Walsh ve ark. 2005).

IMP-12 *P. putida* klinik izolatında 2000 yılında Varesse'de (İtalya) görülmüştür ve *bla*_{IMP-12} 50 kb büyüklüğünde aktarılamayan plazmid üzerinde bulunmuştur. IMP-12 IMP-1'den farklı 36 amino asite sahiptir ve penisiline karşı zayıf aktivite gösterir. *bla*_{IMP-13} Roma'da bir *P. aeruginosa* izolatında bulunmuştur ve IMP-1'den farklı 19 amino aside sahiptir ve kromozomal olarak kodlanır (Walsh ve ark. 2005).

IMP-1 son zamanlarda İngiltere'de *A. junnii* ve *A. baumannii* izolatlarında bulunmuştur (Towner ve ark 2002, Tysall ve ark 2002). IMP-1 Kanada'da *P. aeruginosa* izolatında (Gibb ve ark 2002), IMP-4 Hong Kong'ta *Acinetobacter* spp.'de bulunmuştur (Chu ve ark 2001). IMP-4 IMP-1'den 10 farklı, IMP-2'den 27 farklı amino asit taşır (Walsh ve ark. 2005).

IMP-7 Kanada'daki iki hastanede *P. aeruginosa* salgınına sebep olmuştur. Daha sonra IMP-7 geni 1999'da Malaysia'da karbapenem dirençli *P. aeruginosa* izolatında bulunmuştur (Walsh ve ark. 2005).

2.2.1.2.2. VIM Tipi MBL'ler

Kazanılmış MBL'lerin ikinci dominant gurubu VIM tipi enzimlerdir. VIM-1 ilk olarak İtalya'daki Verona şehrinde bir *P. aeruginosa* izolatında tanımlanmıştır. Bu klinik izolat 1997 yılında bulunmuştur ve piperasilin, seftazidim, imipenem ve aztreonam içeren beta laktamlara dirençlidir. *bla*_{VIM-1} geni sınıf 1 integron içinde bir gen kasedi olarak tamamlanmıştır. Bu integron sınıf 1 integronlara özgü bir gen ve *bla*_{VIM-1} gen kasedinin yanı sıra aminoglikozid direncini kodlayan *aacA4* gen kasedini taşır (Walsh ve ark. 2005).

Daha sonra *bla*_{VIM-1} geni Verona'da *Achromobacter xylosoxidans* izolatında bulunmuştur (Riccio ve ark 2001). Bu izolat karbapenem içeren tüm beta-laktamlara dirençli ve sınıf 1 integronları taşıyan 30 kb'lık konjugatif olmayan plazmid taşıdığı muştur (Walsh ve ark. 2005).

VIM-1 İtalya'da *P. putida* izolatında, Yunanistan'da *E. coli* ve bazı *K. Pneumoniae* izolatlarında bulunmuştur. Benzer bir VIM-1 pozitif *K. Pneumoniae* izolatı Fransa'da tespit edilmiştir. Bu enterobakteriler arasındaki karbapenem direnç düzeyi değişken bulunmuştur (Walsh ve ark. 2005).

*bla*_{VIM-2} ilk olarak 1996'da bir hastanın kan kültüründeki *P. aeruginosa* izolatında bulunmuştur (Poirel ve ark 2000). Bu izolat seftazidim, sefepim ve imipenem içeren çoğu beta laktamlara dirençli fakat aztreonama duyarlı olarak tespit edilmiştir (Walsh ve ark. 2005).

VIM-2 üreten *P. aeruginosa* izolatları İtalya ve Yunanistan'da bulunan iki üniversite hastanesindeki salgının kaynağı olarak bulunmuştur. VIM-2 üreten *P. aeruginosa* izolatları ayrıca Japonya, Güney Kore, Portekiz, İspanya, Polonya, Hırvatistan, Şili, Venezuela, Arjantin, Belçika ve son zamanlarda ABD'de görülmüştür. Ayrıca VIM-2 Taiwan'da *Citrobacter freundii*, Güney Kore'de *S. marcescens* ve *Enterbacter cloacae* izolatlarında belirlenmiştir. Son zamanlarda VIM-2 ve VIM tipinin çeşitli varyantları olan VIM-3 Taiwan'da *P. aeruginosa* izolatında bulunmuştur (Walsh ve ark. 2005).

VIM-4 Larissa (Yunanistan)'da *P. aeruginosa* izolatında tespit edilmiştir. Daha sonra karbapenem dirençli VIM-4-üreten *P. aeruginosa* izolatı İsveç'te bulunmuştur.

VIM-5 beş amino asit farklılığı ile VIM-1'den farklıdır ve Türkiye'de *P. aeruginosa*'da tespit edilmiş, VIM-6 ise Singapur'da 2 *P. putida*'da gösterilmiştir (Walsh ve ark. 2005).

En son VIM tipi beta laktamaz VIM-7'dir ve karbapenem dirençli *P. aeruginosa*'da Texas'ta gösterilmiştir (Toleman ve ark 2004).

2.2.1.2.3. SPM-1 Tipi MBL'ler

Bu enzim ilk olarak 1997 yılında Sao Paulo (Brezilya)'da *P. aeruginosa* 48-1997A izolatında bulunmuştur. Bu izolat kolistin hariç bütün standart anti-gram-negatif antimikrobiyallere son derece dirençli bulunmuştur (Walsh ve ark. 2005).

*bla*_{SPM-1}'in genetik içeriği benzersizdir şöle ki; yaygın bölgesel elementlerle doğrudan ilişkilidir ve transpozon veya integronlarla ilgili değildir. İlginç şekilde *bla*_{SPM} genleri özdeş olmalarına rağmen bu yaygın elementler Brezilya'nın farklı bölgelerinden toplanan *P. aeruginosa* suşlarında farklı bulunmuştur (Toleman ve ark. 2002, Walsh ve ark. 2005).

IMP-1 ve VIM-1 gibi SPM-1'de özellikle klavulanik asit veya aztreonamı etkili bir şekilde hidrolize edemez (Walsh ve ark 2005).

2.2.1.2.4. GIM-1 Tipi MBL'ler

Bu enzim 2002 yılında Almanya'da bir bölgedeki beş farklı hastada *P. aeruginosa* izolatında bulunmuş ve GIM-1 (Alman imipenemaz) olarak adlandırılarak yeni bir sınıf B beta laktamaz olduğu bildirilmiştir. Bu beş izolat sadece polimiksin B'ye duyarlı bulunmuştur (Walsh ve ark. 2005).

GIM-1'in amino asit dizilimi IMP varyantları olan IMP-6 ile %43,5, IMP-1 ve IMP-4 ile %43, VIM varyantlarından VIM-7 ile %31,2, VIM-1, VIM-4 ve VIM-5 ile %28,8 ve SPM-1 ile sadece %28 benzerlik göstermektedir. GIM-1 temel çinko bağlama motifi; histidin-X-histidin-X-aspartik asit'e (HXHXD) sahiptir ve aktif bölgesinde iki çinko atomu içerdiği gösterilmiştir (Walsh ve ark 2005).

2.2.1.2.5. SIM-1 Tipi MBL'ler

SIM-1 2003-2004 yıllarında Güney Kore'nin Seul şehrindeki bir hastanenin çeşitli bölümlerindeki ayaktan hastalardan izole edilen yedi *A. baumannii* izolatında tespit edilmiştir. Bunların üçü bir küme oluştururken geri kalanları arada sırada görülen (sporadik) vakalarla ilişkilendirilmiştir. SIM-1 içeren izolatlar imipenem ve meropenem için nispeten düşük MİK (8–16 µg/mL) değerleri göstermiş ve bu kökenlerin bir MDR fenotipine sahip oldukları saptanmıştır. SIM-1-ve IMP tipi MBL'ler arasında %64-69 arasında bir amino asit benzerliği bulunmuştur. 2003-2004 yıllarında aynı hastaneden toplanan %17'si MBL üreticisi olan 1234 karbapenem dirençli *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* klinik izolatlarının tümü ya *bla*_{IMP-1} ya da *bla*_{VIM-2} taşıyıcısı olarak bulunmuştur (Maltezou 2009).

2.2.2. MBL'lerin Biyokimyası

MBL'ler ve serin beta laktamazların her ikisinde beta-laktam halkasındaki amid bağını keserek beta-laktamlara karşı direnç sağlarlar (Frere 1995). MBL'ler çinko iyonlarını koordine eden aktif bölgelerin mimari yapısını belirleyen farklı amino asit seti sergiler. Çinko iyonları genellikle hidroliz için gerekli iki su molekülünü koordine eder (Wang ve ark 1999). Çinko bağlayan motifin prensibi birçok MBL'de yaygın olan sınıf B2 enzimlerinden farklı olarak HXHXD'dir. İstisnalar hariç tercih edilen metal çinkodur ve birçok MBL aktif bölgesinde iki çinko iyonunu düzenlerken sınıf B2 enzimleri tek çinko

iyonu takımındır (Rasmussen ve Bush 1997). Hidrolizin mekanizması aktif bölgeye yönelir ve çinko-bağlı su/hidroksitler tarafından beta-laktam bağı polarize eder (McManus-Munoz ve Crowder 1999, Spencer ve ark 2001, Wang ve ark 1998).

MBL'nin hidroliz mekanizması komplekstir ve bir MBL'den diğerine değişir (Spencer ve ark 2001). MBL'nin kristal yapısının açıklaması katalitik mekanizmalarını daha anlaşılır kılmıştır. MBL'ler bir diğeri ile %25'den daha az aynı amino asit taşır. Birçok MBL değişken olan ve bağlanmayı ve beta-laktam substratların hidrolizini kolaylaştırdığı düşünülen bir halkaya sahiptir. Beta-laktamaların aksine MBL'ler çok geniş spektrumlu aktivitelerine yardımcı olan ve birçok beta-laktam substratına uyabilen geniş aktif bölge girintisi oluştururlar (Walsh ve ark 2005).

Zayıf substrat olarak sıklıkla kullanılan klavulanik asit ve sulbaktam gibi serin inhibitörlerin etkilerini engellemezler (Page 1999, Page 2002). İlginç olarak MBL'lerin hiç biri aztreonamı hidrolize etmez. MBL inhibitörü olarak düşünülebileceği tartışılmaktadır. Substrat için enzimin afinitesi K_m olarak bilinir. K_m katalitik etkinliğini gösteren değerdir (Walsh ve ark 2005). Bu enzimler aynı özellikleri ve aktif bölge yapısı göstermesine rağmen beta-laktamları bağlama ve hidroliz etme yetenekleri farklıdır. Bunun en iyi örneği yapısal olarak çok benzeyen VIM-1 ve VIM-2 arasındaki farklılıktır. VIM-2 beta-laktamları VIM-1'den daha sıkı bağlar ve benzil penisilin, ampisilin, piperasilin, mezlosilin, tikarsilin, sefalotin, sefoksitin, sefotaksim, seftazidim, sefpirom, moksalaktam ve meropenem için düşük K_m değerleri gösterirler. En belirgin istisna imipenemdir. VIM-1 1,5 mM, VIM-2 10 mM K_m değerine sahiptir (Docquier ve ark 2003). Bununla birlikte VIM-1 birçok beta-laktamı (piperasilin, azlosilin, tikarsilin, sefaloridin, sefalotin, sefuroksim, sefotaksim, seftazidim, sefpirom ve meropenem) VIM-2'den daha fazla hidrolize eder (Walsh ve ark 2005).

2.2.3. Metallo-beta-laktamazı Saptama Yöntemleri

Karbapenemaz üreten bakterilerin hızlı ve doğru tespiti, uygun antimikrobiyal tedavi seçimi infeksiyon kontrol önlemleri için çok önemlidir. Bazı direnç genlerini taşıyan suşlarda karbapenem MİK değerleri dirençli kabul edilen sınırın altında olabilir. Bu nedenle, karbapenem duyarlılığında azalmanın belirlenmesi karbapenem direncinin tespitinde klinik olarak önemlidir.

Karbapenemaz üreten mikroorganizmaların karbapenem MİK değerleri karbapenemaz enzim tipine, düzeyine ve bakterinin türüne göre değişiklik gösterebilir. Ayrıca GSBL ve AmpC gibi beta-laktamazların üretimi, azalmış permeabilite ve atım pompası gibi diğer direnç mekanizmalarının varlığına bağlı olarak çeşitlilik gösterebilir.

Karbapeneme dirençli suşların tespitinde broth mikrodilüsyon ve agar dilüsyon yöntemleri, disk difüzyon, E-test ve otomatize yöntemlerden çok daha yüksek duyarlılık göstermektedir (Budak ve ark 2012).

2.2.3.1. Fenotipik MBL Saptama Yöntemleri

2.2.3.1.1. Kombine Disk Testi

Karbapenemazlara özgün inhibitörlerin ilavesiyle karbapenemaz aktivitesinin in vitro olarak belirlenmesi tanıda yardımcı bir yöntemdir (Budak ve ark. 2012). Sınıf A karbapenemazlar için boronik asit (3 aminofenil boronik asit), sınıf B metallobeta-laktamazlar için EDTA ya da dipikolinik asidin karbapenemaz aktivite inhibitörü olarak kullanılması birçok çalışmada önerilmiştir (Patel ve ark. 2009, Cohen Stuart ve ark. 2010). Bununla beraber ticari, hazır elde edilebilir olmaması ve sonuçların açıklanması için bir güne daha ihtiyaç duyulması nedeniyle rutin olarak kullanılmamaktadır.

EDTA ve boronik asit gibi karbapenemaz aktivite inhibitörlü kombine diskler ile karbapenemaz aktivitesini belirlemek için çeşitli çalışmalarda farklı konsantrasyonlarda inhibitör kullanılmıştır. Temelde test için 0,5 McFarland bulanıklığında standardize edilmiş bakteri süspansiyonundan MHA plağına ekilerek, inhibitör uygun çözücüsü içerisinde hazırlanır. Hazırlanan çözeltiden test edilmek istenen karbapenem disklerine ilave edilerek kombine diskler oluşturulur. On altı-on sekiz saatlik inkübasyondan sonra kombine olan karbapenem diski ile kombine olmayan disk inhibisyon zon çapları karşılaştırılır. İnhibisyon zon çaplarında 5 mm ve daha fazla artış olması karbapenemaz üretimi açısından anlamlı kabul edilir (Budak ve ark. 2012).

Enterik bakterilerde EDTA kombine disk yöntemi, MBL E-test uygulaması, karbapenemlere düşük MİK değerleri söz konusu ise yorumlamada güçlükler neden olabilir. Sadece MBL E-test, EDTA kombine disk yöntemi gibi fenotipik yöntemlerle

metallo-beta-laktamaz aktivitesi varlığının belirlenememekte, kesin olarak tanımlamak için moleküler yöntemlerle doğrulamak gerekmektedir (Budak ve ark 2012).

2.2.3.1.2. Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)

MBL saptanması çalışmalarında imipenem ve seftazidim disklerinin etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), 2-merkaptopropionik asit (2-MPA), sodyum merkaptasetik asit (SMA) emdirilmiş disklerle yapılan çift disk sinerji testleri kullanılmaktadır. Bunlar; imipenem (IMP)-EDTA, IMP-MPA, seftazidim (CAZ)-MPA, CAZ-SMA ve IMP-EDTA-SMA çift disk sinerji testleridir (Albayrak 2008).

Amaç imipenem inhibisyon zonunun EDTA varlığında genişleyip genişlemediğini tesbit edip MBL pozitif bakteriyi tanımlamaktır. İmipenem diski ve merkezinden 10 mm uzağa daha önce hazırlanan boş disk yerleştirilerek yapılan testtir. Boş disk üzerine EDTA eklendikten sonra imipenem diski inhibisyon zonunun EDTA eklenmiş boş diske doğru genişlemesi sinerjistik inhibisyon zonu olarak değerlendirilir (Tetik 2008).

2.2.3.1.3. Modifiye Hodge Testi

Karbapenemaz aktivitesini gösteren uygulanması kolay fenotipik yöntemlerden bir diğeri Modifiye Hodge testi (MHT)'dir. Bu test Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından en az bir geniş spektrumlu sefalosporin alt grubundaki antibiyotiklerden (örn. sefoperazon, sefotaksim, seftazidim, seftizoksim ve seftriakson) birine direnç veya karbapenem MİK değerlerinde yükselme ve inhibisyon zon çaplarında azalma olması halinde önerilmekteydi. Son güncelleme ile karbapenem inhibisyon zon çapları ve MİK değerlerinin belirlenmesi yeterli kabul edilmektedir. Ancak rutin olarak dilüsyon yöntemlerinin çalışılmadığı laboratuvarlarda KPC, OXA ve MBL gibi enzimlerin hepsini birden tespit edebilmesi ve uygulaması kolay bir test olduğu için kullanışlı bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (Budak ve ark 2012).

0,5 McFarland standardına uygun olarak hazırlanan *E. coli* ATCC 25922 süspansiyonları 1/10 oranında Mueller Hinton buyyonda seyreltikten sonra Mueller Hinton Agar (MHA) plağına ekilir. Ertapenem (10 µg), meropenem (10 µg) disklerinden

biri plak merkezine yerleştirilir. 10 µL'lik bir öze ile 18-24 saatlik kültürlerden üretilmiş olan test bakterisi alınarak diskin kenarından dışarı doğru 20-25 mm uzunluğunda düz bir çizgi şeklinde ekilir ve plaklar etüvde 18-20 saat inkübe edildikten sonra değerlendirilir. İnkübasyon sonrasında inhibisyon zonunda yonca yaprağı şeklinde bozulmanın olması MBL pozitif olarak kabul edilir (CLSI, 2012). MHT CLSI kılavuzuna göre %95-100 oranında duyarlıdır. Ancak KPC, MBL ve OXA enzimlerinin ayırımını ortaya koyamaması nedeniyle epidemiyolojik olarak kullanışlı bir test değildir ve özgüllüğü düşüktür. GSBL ya da AmpC üreten suşlarla azalmış ya da kaybolmuş porin salınımı yalancı pozitif sonuçlara neden olabilir. Rutin olarak dilüsyon yöntemlerinin çalışılmadığı laboratuvarlarda KPC, OXA ve MBL gibi enzimlerin hepsini birden tespit edebilmesi ve uygulaması kolay bir test olması nedeniyle kullanışlı bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (Budak ve ark 2012).

2.2.3.1.4. Enzim Ekstraksiyonu Uygulaması

Karbapenemaz aktivitesini belirlemede bir diğer fenotipik yöntem enzim ekstraksiyonu uygulamasıdır. Bakteriden sonikasyon yöntemiyle elde edilen enzim karbapenem diski üzerine eklenerek enzim içeren kombine diskler oluşturulur. 0,5 McFarland standardına uygun hazırlanan *E. coli* ATCC 25922 süspansiyonları hazırlanan MHA plağına üzerine enzim içeren kombine karbapenem diski ve kombine olmayan karbapenem diski yerleştirilir. 35°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra enzim içeren diskin inhibisyon zon çapında enzim içermeyen diskin inhibisyon zon çapına göre 2 mm ve daha fazla azalma olması karbapenemaz üretimi açısından anlamlı kabul edilir (Budak ve ark 2012).

Karbapenem direncinden şüphe edildiğinde çeşitli fenotipik yöntemler önerilmekle birlikte bu direncin karbapenemaz aracılı olup olmadığı her zaman ayırt edilemeyebilir. Eş zamanlı diğer direnç mekanizmalarıyla karbapenem MİK değerleri yükselebilir. Bu nedenle sadece fenotipik yöntemlerle karbapenemaz aktivitesi belirlenmeye çalışıldığında yalancı pozitif sonuçlar elde edilebilir (Budak ve ark 2012).

2.2.3.1.5. E Test Yöntemi

Test edilecek bakterinin 0,5 McFarland bulanıklığındaki süspansiyonu MHA plaklarına yayıldıktan sonra MBL E Test stripleri plak üzerine yerleştirilerek etüvde 18-20

saatlik inkübasyona bırakılır. Bu süre sonundaki imipenem-EDTA MİK değeri ile imipenem MİK değerine bakılır. IPM/IPM-EDTA MİK değerinin 8 ve üzerinde olması MBL üreten bakteri suşu olarak değerlendirilir (Sesli-Çetin ve ark 2009, Behera ve ark 2008, Walsh ve ark 2002).

2.2.3.1.6. Kombine Disk Diffüzyon Yöntemi

Taze kültür pasajlarından saf olarak elde edilen bakterilerin 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonu MHA plaklarına yayıldıktan sonra plak içerisine iki tane imipenem (10 µg) diski diskler arası uzaklık 22 mm olacak şekilde yerleştirilir. İmipenem disklerinden birinin üzerine daha önceden hazırlanmış olan 0,5 M EDTA solüsyonundan 10 µl eklendikten sonra 35°C’de 18–20 saat inkübasyon sonunda inhibisyon zon çapları ölçülerek değerlendirilir. EDTA solüsyonunun eklendiği imipenem/EDTA diskinin inhibisyon zonu tek başına imipenem diski zon çapından ≥ 7 mm ise MBL pozitif olarak kaydedilir (Sesli-Çetin ve ark 2009, Yong ve ark 2002).

2.2.3.1.7. Mikrodilüsyon Yöntemi

İmipenem MİK değeri standart mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenir. Daha sonra MİK değeri EDTA ya da fenantrolin eklenerek tekrar belirlenir. Bu iki değer karşılaştırıldığında MİK değerleri arasındaki 8 kat azalmanın varlığı MBL pozitif olarak değerlendirilir (Migliavacca ve ark 2002).

2.2.3.2. Genotipik MBL Saptama Yöntemleri

Karbapenemazların tesbit edilmesinde genotipik yöntemler de kullanılmaktadır. Genotipik yöntemlerin fenotipik yöntemlere göre duyarlılığı daha yüksektir. Bakterinin karbapenemaz geni taşıyıp taşımadığını, enzimi ve tipini polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile saptamak olasıdır. DNA problemleri kullanılarak da bu direnç genleri tesbit edilebilir. Moleküler yöntemlerin altın standardı ise dizi analizi, protein analizi ve klonlama yöntemleridir (Aktaş 2012). Bu yöntemlerin avantaj ve dezavantajları çizelge 2.2’de gösterilmiştir (Walsh ve ark 2005).

Çizelge 2.2. Metallo beta laktamazların saptanmasında kullanılan moleküler yöntemler (Walsh ve ark 2005)

Test	Avantajlar	Dezavantajlar
IMP, VIM, vs genleri için PZR	Yapılması kolay, gen için özgül	Türevleri ayırt edemez, yeni türevler saptayamaz
DNA problemleri	Özgül, emek-yoğun	Her gen ailesi için prob gerektirir, türevleri ayırt edemez
Klonlama ve dizi analizi	Moleküler altın standart	Emek-yoğun, verilerin yorumu deneyim gerektirir

Genotipik doğrulama, PZR ile karbapenem direnç genlerinin belirlenmesinden oluşur. Yeni varyantların artmış sayıları ile genlerin yüksek çeşitliliği nedeniyle, negatif genotipik sonuç alınan suşların da referans laboratuvarlarına gönderilerek ileri genotipik doğrulama yapılması önerilmektedir (Budak ve ark. 2012).

2.2.4. MBL Pozitif Olan Gram Negatif Bakterilerin İnfeksiyonlarının Tedavisi

Klinik olarak birçoğu belirgin MBL üretenler *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp. ve daha az olarak *Enterobacteriaceae* üyeleridir. *S. maltophilia* da klinik olarak önemli iken MBL taşıyıcılığı saptanabilir. Böylece geniş spektrumlu beta-laktamazlar birçok antibiyotik sınıfına doğal dirence sahip bakteri türlerinde tanımlanır. Bu türler sefalosporinaz eksprese eder, etkili dışa atım pompalarına sahiptir ve birçok hidrofilik moleküllere karşı düşük dış membran permeabilitesine sahiptirler. Böylece direnç mekanizmalarının bir arada bulunması sonucunda MDR kolaylıkla bu türlerde gözlenebilir. MBL'ler ile tek sorun geniş spektrumlu direnç profili sergilemeleridir. Ayrıca MBL genleri aminoglikozid direnç genleri gibi diğer antibiyotik direnç determinantlarını kodlayan genler ile birlikte plazmidler üzerinde bulunabilir. Bu MBL pozitif suşlar genellikle beta-laktamlara, aminoglikozidlere ve florokinolonlara dirençlidir. Buna ek olarak genellikle polimiksinlere duyarlı kalırlar (Walsh ve ark 2005).

MBL pozitif izolatlar ile insan infeksiyonlarının sürveyansı yapılmamıştır. Bundan dolayı bu infeksiyonlarının uygun tedavisi hala bilinmemektedir. VIM-2 pozitif *P. aeruginosa* izolatı ile oluşturulan pnömoni infeksiyonu hayvan modeli kullanarak yüksek dozda aztreonamın bakteriyel yükü azalttığı ve faydalı bir ilaç olabileceği gösterilmiştir. Metalloenzim inhibitörleri invitro kullanılabilmelerine rağmen, hastaları tedavi etmek için herhangi MBL inhibitörü yoktur. Aminoglikozidler gibi diğer antibiyotik moleküllerinin etkisi sınırlıdır (Walsh ve ark. 2005).

Tek terapötik alternatif polimiksinlerin uygulanması olabilir. Polimiksinler daha önceden dşnldkleri gibi toksik değildir (Markou ve ark. 2003). Bu moleküller monoterapide kullanılmamalıdır ve MİK metodları ile aminoglikozidlerin MİK'lerini hızlı saptanması aminoglikozid molekülü seçmede yardımcı olabilir. Ayrıca rifampin çoğul ilaca dirençli *P.aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde bir seçenek olabilir (Walsh ve ark. 2005).

MBL üreticilerinin yayılımı terapötik ölümün sonlanmasına neden olabilir. Hastalardan MBL üreten gram negatif bakteriler izole edildiğinde bu hastalar yoğun bakım ve onkoloji üniteleri gibi klinik servislere alındığında o servisteki diğer hastalar da MBL üreten bakteriler ile kolonizasyon açısından takibe alınmalıdır. Erken saptama bu MDR izolatların yayılmasını önleyecek ve tedavide yardımcı olacaktır (Walsh ve ark. 2005).

Hastanede MBL pozitif izolatların varlığı sadece terapötik bir sorun değildir, infeksiyon kontrol çalışmaları için de önemlidir. MBL pozitif izolat bulunan hastalar yüksek riskli olarak belirlenmeli ve uygun izolasyon önlemleri alınmalıdır. Gerekirse hasta ile temas halinde olan klinisyenler ve diğer sağlık çalışanları tıbbi hasta formları doldurularak uyarılmalıdır (Walsh ve ark. 2005).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bakteri Kökenleri

Mart 2009-Haziran 2012 tarihleri arasında Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarı Bakteriyoloji bölümüne gönderilen klinik örneklerden izole edilen 150 *Acinetobacter* spp. kökeni çalışmaya dahil edildi.

Kontrol suşları olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *A. baumannii* ATCC 19606 kullanıldı. PZR yöntemi için daha önce başka bir çalışmada kullanılan IMP-1 ve VIM-2 içeren pozitif kökenler kullanıldı (Türkdağı 2012).

Antibiyotik duyarlılıkları Vitek 2 otomatize sistem (bioMérieux, Fransa) ile saptanmış olan bu *Acinetobacter* kökenleri saf koloniler şeklinde izole edildikten sonra %20 gliserin içeren Triptik Soy Buyyon (TSB) besiyerine ekilerek derin dondurucuda (-70°C'de) saklandı. Çalışılacağı zaman kökenlerin Eosin Methylene Blue (EMB) (BioMérieux, Fransa) agar besiyerine ardışık günlerde pasajları yapıldı.

3.2. Bakterilerin Klinik Örneklerden İzolasyonu, Tanımlanması ve Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Acinetobacter spp. kökenlerinin tanımlanmasında EMB agarda karakteristik koloni görünümü, oksidaz enziminin olmaması, TSI agar besiyerinde glukozu, laktoz ve sukrozu fermente etmemesi özellikleri araştırıldı. Tüm kökenlerin tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıkları Vitek 2 (BioMérieux, Fransa) otomatize sistem ile yapıldı.

3.3. Çalışmada Kullanılan Gereçler

3.3.1. EMB Agar

Satıcı firmadan hazır olarak temin edilen toz halindeki besiyerinden (BioMérieux, Fransa) 36 g tartılıp 1000 ml distile suda eritildikten sonra, 121°C’de 15 dakika sterilize edildi. Yaklaşık 50 °C’ye kadar soğutulduktan sonra besiyeri dokuz cm çapındaki steril petrilere her petride 20 ml besiyeri olacak şekilde dağıtıldı.

3.3.2. Mueller-Hinton Agar Besiyeri

Satıcı firmadan hazır olarak temin edilen toz halindeki besiyerinden (Merck, Almanya) 34 g tartılıp, 1000 ml distile suda eritildikten sonra, 121 °C’de 15 dakika sterilize edildi. Yaklaşık 50 °C’ye kadar soğutulduktan sonra besiyeri dokuz cm çapındaki steril petrilere her petride 20 ml besiyeri olacak şekilde dağıtıldı.

3.3.3. Mueller-Hinton Broth Besiyeri

Satıcı firmadan hazır olarak temin edilen toz halindeki besiyerinden (Merck, Almanya) 21 g tartılıp 1000 ml distile suda eritildikten sonra, 121 °C’de 15 dakika sterilize edildi. Yaklaşık 50 °C’ye kadar soğutulduktan sonra steril cam tüplere 10-12 ml dağıtıldı.

3.3.4. Triptik Soy Buyyon

Satıcı firmadan hazır olarak temin edilen toz halindeki besiyerinden (Merck, Almanya) 30 g tartılıp 1000 ml distile suda eritildikten sonra, 121 °C’de 15 dakika sterilize edildi. Yaklaşık 50 °C’ye kadar soğutulduktan sonra 200 ml gliserin eklendi. Steril ependorf tüplere her tüpte bir ml olacak şekilde dağıtıldı.

3.3.5. Triple Sugar Iron Agar

Satıcı firmadan hazır olarak temin edilen toz halindeki besiyerinden (Merck, Almanya) 32 g tartılıp 1000 ml distile suda eritildikten sonra, 121 °C’de 15 dakika sterilize edildi. Yaklaşık 50 °C’ye kadar soğutulduktan sonra steril cam tüplere 10-12 ml dağıtıldı. Yatık olarak katılaştırıldı.

3.3.6. Fosfat Tamponlu Su (FTS)

8 g NaCl (Merck, Almanya), 0.2 g KCl (Merck, Almanya), 0.24 g KH₂P0₄ (Merck, Almanya) ve 1.44 g Na₂HP0₄ (Merck, Almanya) tartılıp bir balon jöjeye konuldu ve solüsyon 1000 ml'ye tamamlanacak şekilde üzerine distile su eklendi. Kimyasal maddeler distile su içinde çözüldükten sonra pH 7.4'e ayarlandı. Solüsyon 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi ve kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı.

3.3.7. Agaroz Jel

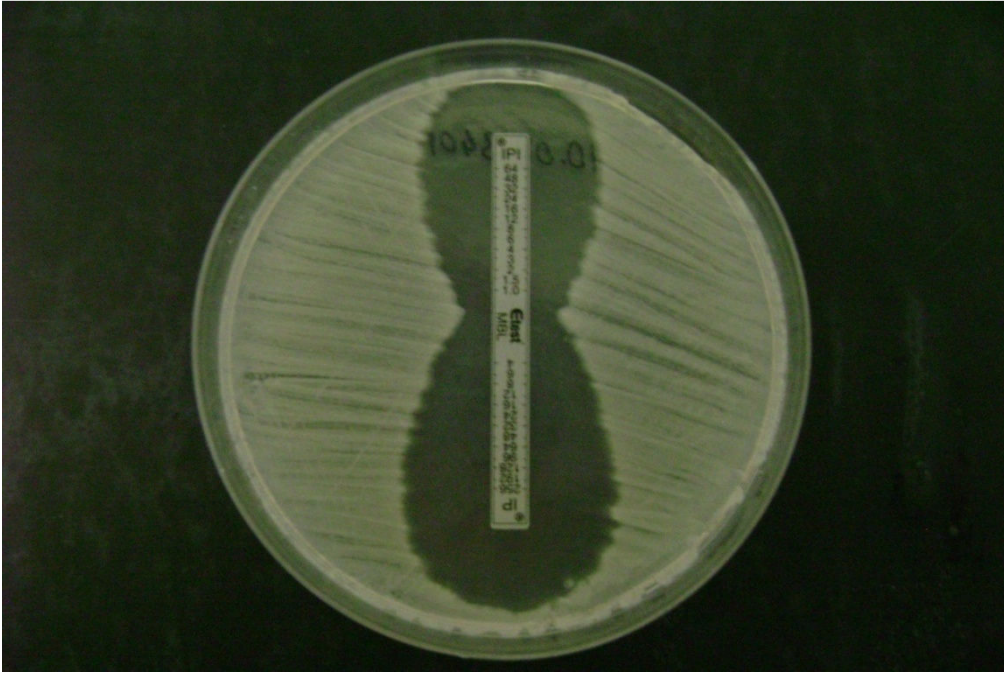
Agaroz jelin hazırlanmasında TBE (Tris/Borate/EDTA) tamponu kullanıldı. TBE (10X) (Fermentas, ABD) solüsyonundan 0.5X TBE olacak şekilde distile su ile dilüe edildi. 2 g agaroz (Sigma, ABD) tartılarak 100 ml'lik bir erlenmayere konuldu, 100 ml 0.5X TBE tamponu eklendi (% 2'lik agaroz). Mikrodalga fırında 3-5 dk kaynatıldı. 10 mg/ml'ik etüdyum bromid (Merck, Almanya)'den 10 µl ilave edildi. Elektroforez tarakları jel dökme kabına, tabandan boşluk kalacak şekilde ayarlanarak yerleştirildi. Yaklaşık 60 °C'ye kadar soğutulan agaroz jeli, jel kabına dökülüp donması için oda sıcaklığında 30 dk bekletildi. Taraklar dikkatlice çıkartılarak jel kullanıma hazır hale getirildi.

3.4. MBL Varlığının E-Test Yöntemiyle Saptanması

Acinetobacter spp. kökenlerinde metallo-beta-laktamaz varlığının araştırılması için E-test yöntemi üreticisinin tarifine uygun olarak yapıldı. Kökenlerin EMB agar besiyerindeki 24 saatlik kolonilerinden 4-5 koloni alınıp Mueller Hinton Broth (MHB) besiyerine ekilerek 37 °C'de 1-1,5 saat inkübe edildi. Bakteri süspansiyonları 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlandı ve MHA besiyerine steril eküvyon yardımıyla her tarafa eşit olacak şekilde yayıldı. Besiyeri yüzeyi kuruduktan sonra petrilerin ortasına bir tarafına imipenem (IP) (4-256 µg/ml) diğer tarafına imipenem (1-64 µg/ml)-EDTA (IPI) emdirilmiş E-test stripleri (BioMerieux, Fransa) steril bir şekilde yerleştirilerek 37 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. IP/IPI zonlarının oranı ≥ 8 olan kökenler MBL pozitif olarak değerlendirildi. MBL pozitif bulunan bir köken ile negatif bulunan bir köken sırasıyla Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. E test yöntemiyle MBL pozitif bulunan bir köken.



Şekil 3.2. E test yöntemiyle MBL negatif bulunan bir köken.

3.5. PZR Yöntemi ile MBL Genlerinin Varlığının Araştırılması

3.5.1. DNA İzolasyonu

Bakterilerin DNA izolasyonu ticari DNA ekstraksiyon kiti (High Pure PCR Template Preparation Kit) (Roche, Almanya) ile üreticisinin tarifine uygun olarak yapıldı.

DNA Ekstraksiyon Kit İçeriği:

1. Doku Lizis Tamponu, 20 ml
2. Bağlama Tamponu, 20 ml
3. Proteinaz K
4. İnhibitör Uzaklaştırıcı Tampon, 33 ml
5. Yıkama Tamponu, 20 ml
6. Elüsyon Tamponu, 40 ml
7. Filtreli Tüpler (100 adet)
8. Toplama Tüpleri (2 ml'lik 400 adet)

Proteinaz K: distile flakon su ile 4,5 ml ekleme yapılarak çözüldü.

İnhibitör: Uzaklaştırıcı Tampon: 20 ml %95'lik etanol ile çözüldü.

Yıkama Tamponu: 80 ml %95'lik etanol ile çözüldü.

Elüsyon Tamponu: 70 °C' ye ısıtıldı.

Her tüpe 200 µl FTS koyuldu. Bunun içine 7-8 bakteri kolonisi eklendi. 3000 devirde 5 dk santrifüj edildikten sonra üstteki süpernatant kısım döküldü. Tüpün dibinde kalan pelletin üzerine önce pipetaj yaparak 200 µl FTS daha sonra 5 µl lizozim (Merck, Almanya) eklendi ve önceden 37 °C'ye ayarlanan ısı bloğunda 15 dakika inkübe edildi. Daha sonra öncelikle 200 µl bağlama tamponu sonrasında pipetaj yaparak 40 µl proteinaz K eklendi. 70°C'ye ayarlanan ısı bloğunda 10 dakika inkübe edildi. Süre sonunda 100 µl

isopropanol (Sigma, ABD) eklendi ve süspansiyon filtreli toplama tüplerine aktarıldı ve 8000 devirde 1 dk santrifüj edildikten sonra toplama tüpleri değiştirildi. Yeni tüplere 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklendi ve 8000 devirde 1 dk santrifüj edildikten sonra toplama tüpleri değiştirildi. Bu toplama tüplere 500 µl yıkama tamponu eklendi ve 8000 devirde 1 dk santrifüj edildi. Toplama tüpleri değiştirildi ve bu değişen tüplere tekrar 500 µl yıkama tamponu eklenerek 8000 devirde 1 dk santrifüj edildikten sonra tekrar toplama tüpleri değiştirilerek 13000 devirde 10 sn santrifüj edildi. Toplama tüpleri temiz kapaklı ependorflara alındıktan sonra önceden ısı bloğunda 70°C’de 5-10 dk ısıtılmış olan elüsyon tamponundan 200 µl eklendi, 8000 devirde 1 dk santrifüj edildi. Böylece toplama tüplerindeki sıvı ependorfa alındı ve toplama tüpleri atıldı. Ependorflarda süspansiyon halde bulunan DNA’lar ise -20°C’de kullanılmaya kadar saklandı.

3.5.2. IMP ve VIM Tipi Genlerin Amplifiye Edilmesi

3.5.2.1. IMP-1 Genlerinin Amplifiye Edilmesi

IMP-1 geninin amplifikasyonu Shita ve ark (2003)’nın belirttiği primerler kullanılarak tarif ettikleri PZR yöntemiyle yapıldı (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 IMP-1 geni için pcr yönteminde kullanılan primer dizisi

Gen	Primer (5'→3')	Ürün (Baz çifti) (bç)
<i>bla_{IMP-1}</i>	F1 (5'-ACC GCA GCA GAG TCT TTG CC-3') R1 (5'-ACA ACC AGT TTT GCC TTA CC-3')	587

PZR karışımı 25 µl total hacimde 16,5 µl distile su, 2,5 µl PZR tamponu (10X), 1,5µl MgCl₂ (25 mM) (Fermantas, ABD), 1 µl dNTP (10 mM) (Fermantas, ABD), her bir primerden 1 µl (25 pmol), 0.5 µl Taq polimeraz (5U/µl) (Fermantas, ABD) ve 1 µl kalıp DNA olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon programı 95 °C’de 5 dakika, toplam 40 siklus olacak şekilde 95 °C’de 1 dakika denatürasyon, 53 °C’de 1 dakika bağlanma, 68 °C’de 1 dakika uzama, son siklusu takiben 68 °C’de 5 dakika son uzama işlemi yapıldı.

3.5.2.2. IMP-2 Genlerinin Amplifiye Edilmesi

IMP-2 geninin amplifikasyonu Shita ve ark (2003)'nın belirttiği primerler kullanılarak tarif ettikleri PZR yöntemiyle yapıldı (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 IMP-2 geni için PZR yönteminde kullanılan primer dizisi ve büyüklüğü

Gen	Primer (5'→3')	Ürünün büyüklüğü (bç)
<i>bla_{IMP-2}</i>	F2 (5'-GTT TTA TGT GTA TGC TTC C-3') R2 (5'-AGC CTG TTC CCA TGT AC-3')	678

PZR karışımı 25 µl total hacimde 18,25 µl distile su, 2,5 µl PZR tamponu (10X), 1,5µl MgCl₂ (25 mM) (Fermantas, ABD), 0,5 µl dNTP (10 mM) (Fermantas, ABD), her bir primerden 0,5 µl (25 pmol), 0.25 µl Taq polimeraz (5U/µl) (Fermantas, ABD) ve 1 µl kalıp DNA olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon programı 95 °C'de 5 dakika, toplam 40 siklus olacak şekilde 95 °C'de 1 dakika denatürasyon, 50 °C'de 1 dakika bağlanma, 68 °C'de 1 dakika uzama, son siklusu takiben 68 °C'de 5 dakika son uzama işlemi yapıldı.

3.5.2.3. VIM-1 Genlerinin Amplifiye Edilmesi

VIM-1 geninin amplifikasyonu Tsakris ve ark. (2000)'nın belirttiği primerler kullanılarak tarif ettikleri PZR yöntemiyle yapıldı (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3 VIM-1 geni için PZR yönteminde kullanılan primer dizisi ve büyüklüğü

Gen	Primer (5'→3')	Ürünün büyüklüğü (bç)
<i>bla_{VIM-1}</i>	F3 (5'-AGT GGT GAG TAT CCG ACA G-3') R3 (5'-ATG AAA GTG CGT GGA GAC-3')	261

PZR karışımı 25 µl total hacimde 17,5 µl distile su, 2,5 µl PZR tamponu (10X), 2µl MgCl₂ (25 mM) (Fermantas, ABD), 0,5 µl dNTP (10 mM) (Fermantas, ABD), her bir primerden 0,5 µl (25 pmol), 0.5 µl Taq polimeraz (5U/µl) (Fermantas, ABD) ve 1 µl kalıp DNA olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon programı 95 °C’de 5 dakika, toplam 40 siklus olacak şekilde 95 °C’de 1 dakika denatürasyon, 50 °C’de 1 dakika bağlanma, 72 °C’de 1 dakika uzama, son siklusu takiben 72 °C’de 5 dakika son uzama işlemi yapıldı.

3.5.2.4. VIM-2 Genlerinin Amplifiye Edilmesi

VIM-2 geninin amplifikasyonu Poirel ve ark. (2000)’nın belirttiği primerler kullanılarak tarif ettikleri PZR yöntemiyle yapıldı (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. VIM-2 geni için PZR yönteminde kullanılan primer dizisi ve büyüklüğü

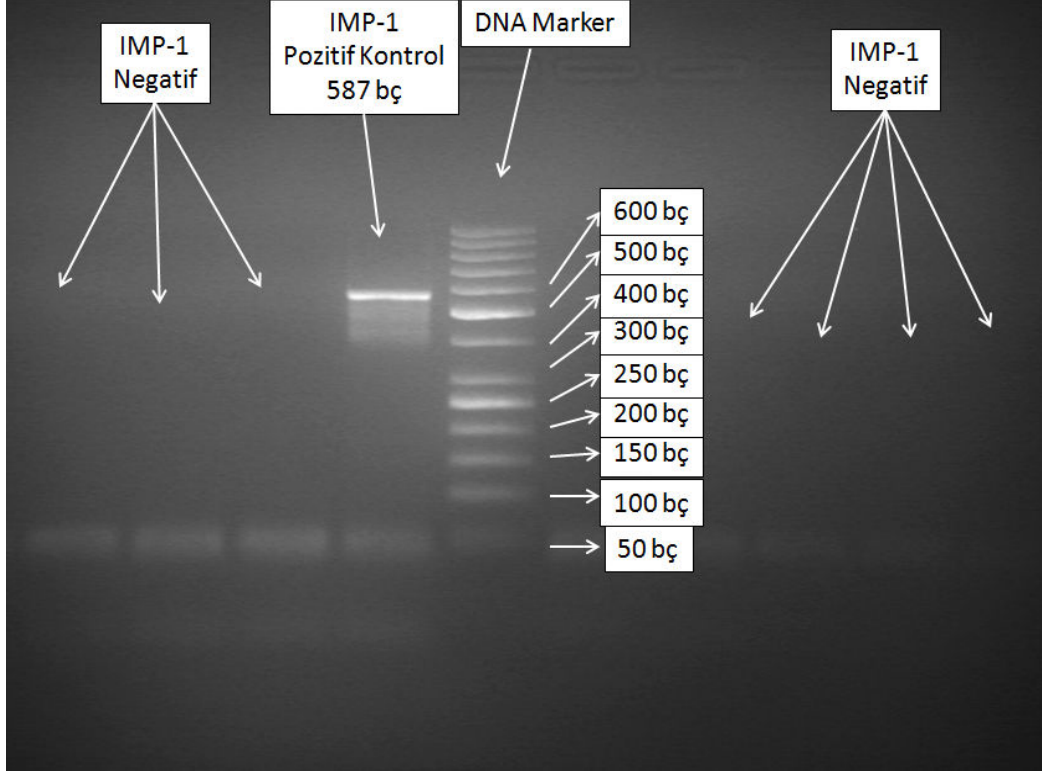
Gen	Primer (5'→3')	Ürünün büyüklüğü (bç)
<i>bla</i> _{VIM-2}	F4 (5'-ATG TTC AAA CTT TTG AGT AAG-3') R4 (5'-CTA CTC AAC GAC TGA GCG-3')	801

PZR karışımı 25 µl total hacimde 16,5 µl distile su, 2,5 µl PZR tamponu (10X), 1,5µl MgCl₂ (25 mM) (Fermantas, ABD), 1 µl dNTP (10 mM) (Fermantas, ABD), her bir primerden 1µl (25 pmol), 0.5 µl Taq polimeraz (5U/µl) (Fermantas, ABD) ve 1 µl kalıp DNA olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon programı 95 °C’de 5 dakika, toplam 40 siklus olacak şekilde 95 °C’de 1 dakika denatürasyon, 53°C’de 1 dakika bağlanma, 68°C’de 1 dakika uzama, son siklusu takiben 68 °C’de 5 dakika son uzama işlemi yapıldı.

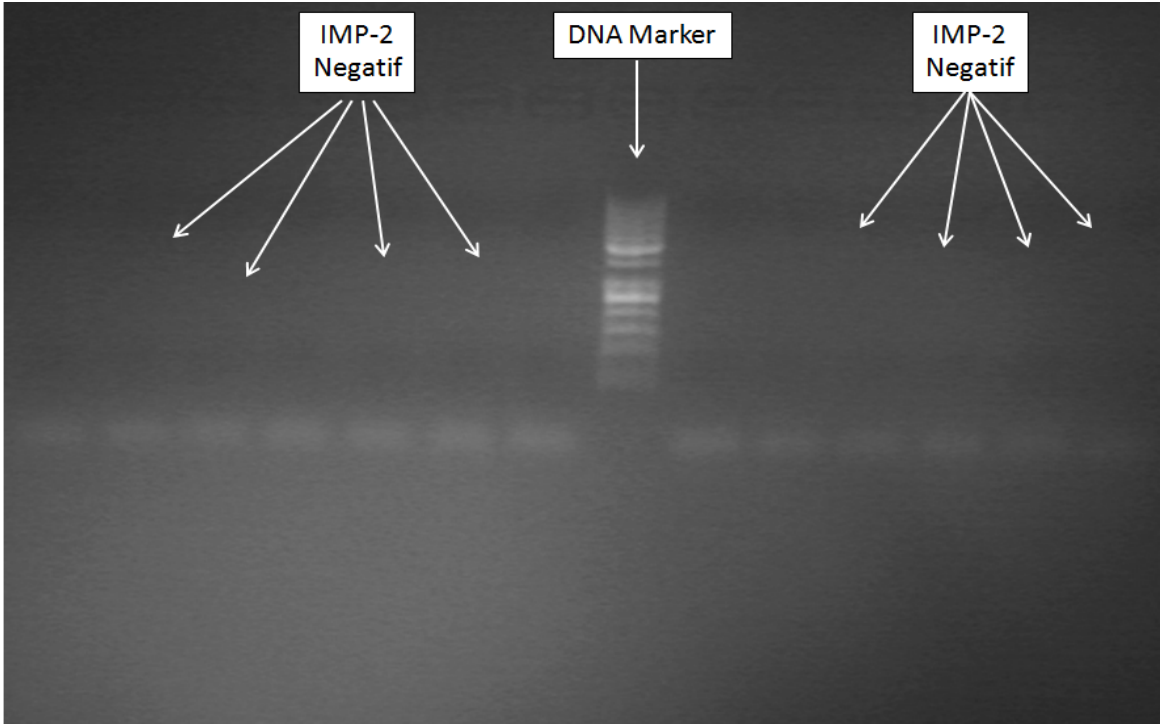
3.5.3. Amplifiye Edilen Gen Ürününün Gösterilmesi

Amplifiye edilen PZR ürünleri DNA marker (50-1000 bç) (Fermantas, ABD) ile birlikte, elektroforez tankında (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD) bulunan 0.5X TBE

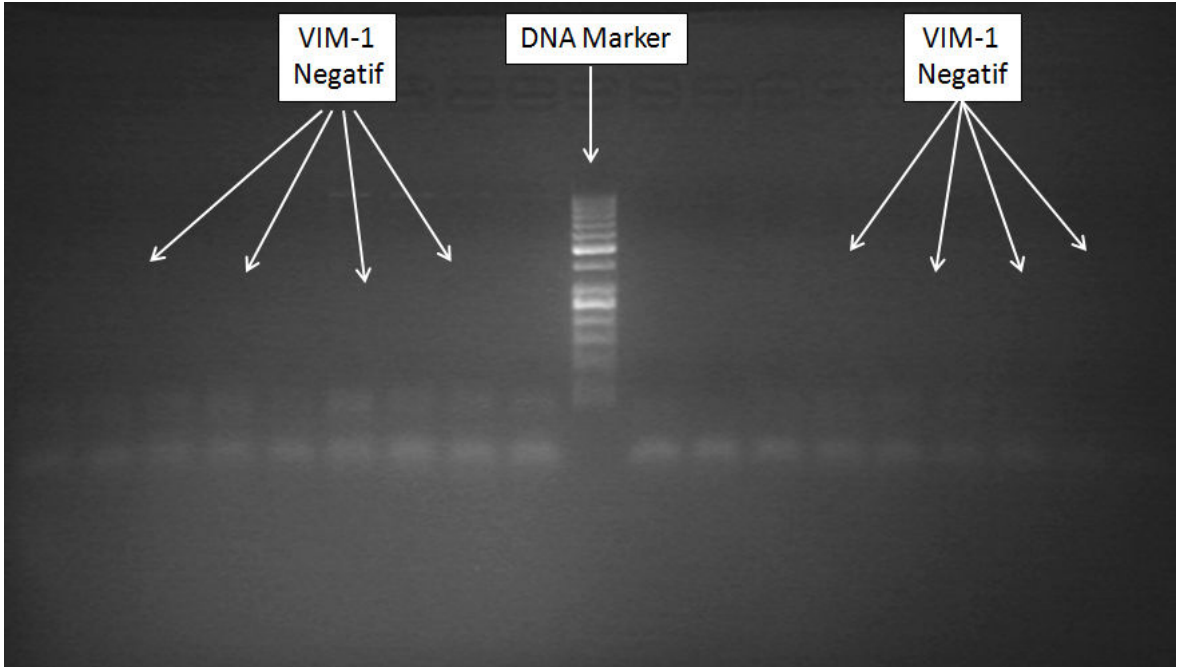
(Fermentas, ABD) tamponu içindeki %2'lik agoroz jele 10 µl PZR ürünü, 3µl yükleme boyası (6X) (Fermantas, ABD) ile karıştırılarak yüklendi. 200 Volt'da 18 dakikalık elektroforez işleminden sonra görüntüleme cihazında (WealtecDolphin-View, ABD) incelendi. IMP-1, IMP-2, VIM-1, VIM-2 genleri için sırasıyla 587, 678, 261, 801 bç'lik gen ürünlerinin varlığı yönünden değerlendirildi (Şekil 3.3, 3.4, 3.5, 3.6).



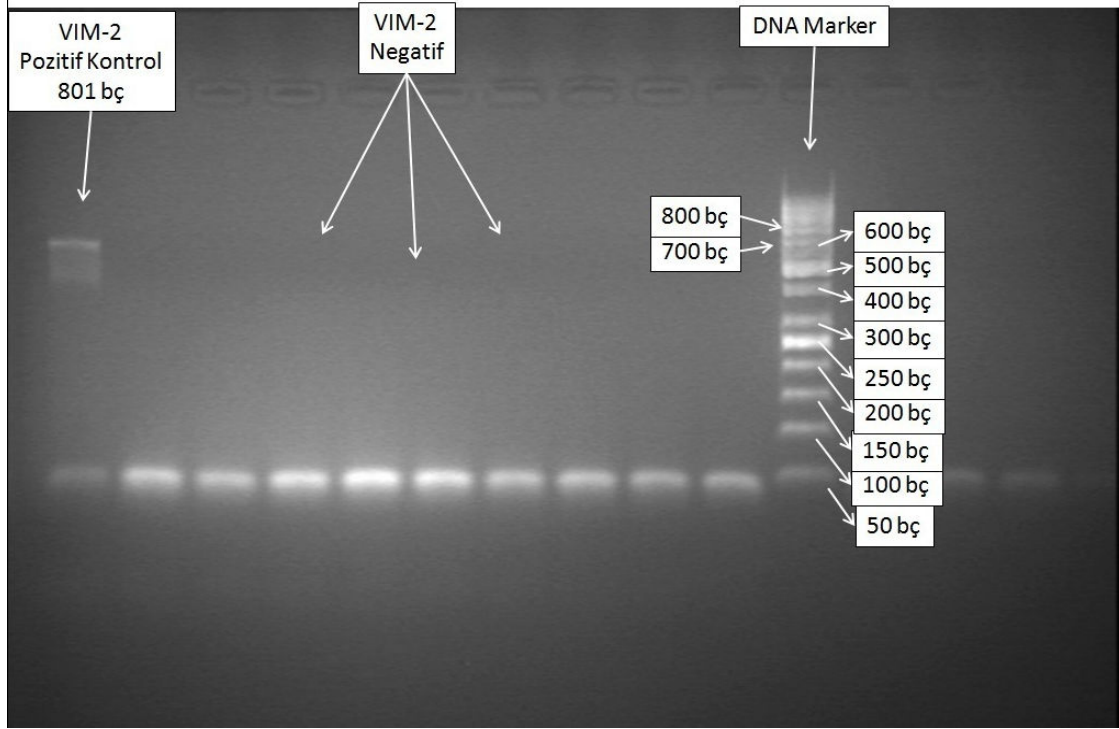
Şekil 3.3. IMP-1 geninin PZR yöntemiyle incelenmesi



Şekil 3.4. IMP-2 geninin PZR yöntemiyle incelenmesi



Şekil 3.5. VIM-1 geninin PZR yöntemiyle incelenmesi



Şekil 3.6. VIM-2 geninin PZR yöntemiyle incelenmesi

3.6. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 13 paket programında analiz edildi. Sürekli değişkenler normal dağılım ve varyansların eşitliği yönünden incelendi. Gruplar arası karşılaştırmalarda sürekli değişkenler için Mann-Whitney U testi, isimsel değişkenler için ki-kare testi kullanıldı. Anlamlılık sınırı olarak 0,05 kabul edildi.

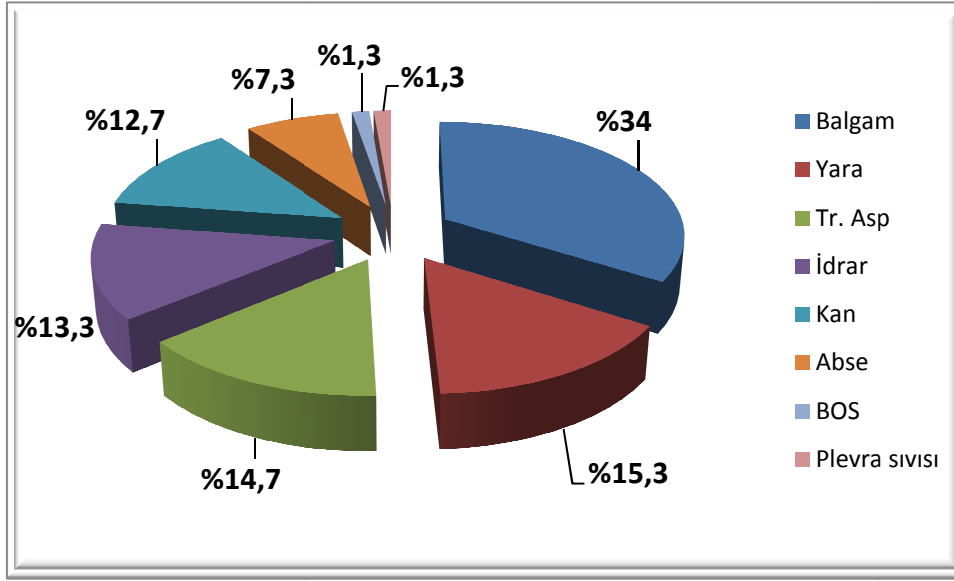
4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen *Acinetobacter* spp. kökenlerinin izole edildiği örneklerin çoğunlukla Dahili Yoğun Bakım (%32,7), Cerrahi Yoğun Bakım (%22), Ortopedi ve Travmatoloji (%10), Dahiliye (%6,7) ve Beyin Cerrahi (%6) kliniklerinden gönderildiği tespit edildi. Kökenlerin izole edildiği örneklerin gönderildiği klinikler Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Kökenlerin izole edildiği örneklerin gönderildiği klinikler

KLİNİKLER	N	%
Dahili Yoğun Bakım	49	32,7
Cerrahi Yoğun Bakım	33	22
Ortopedi ve Travmatoloji	15	10
Dahiliye	10	6,7
Beyin Cerrahi	9	6
Göğüs Hastalıkları	8	5,3
Dermatoloji	7	4,7
Genel Cerrahi	4	2,7
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	3	2
Çocuk cerrahisi	2	1,3
Kardiyoloji	2	1,3
Enfeksiyon Hastalıkları	2	1,3
Plastik ve Rekonstruktif Cerrahi	2	1,3
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon	1	0,7
Kadın Hastalıkları ve Doğum	1	0,7
Nöroloji	1	0,7
Üroloji	1	0,7
Toplam	150	100

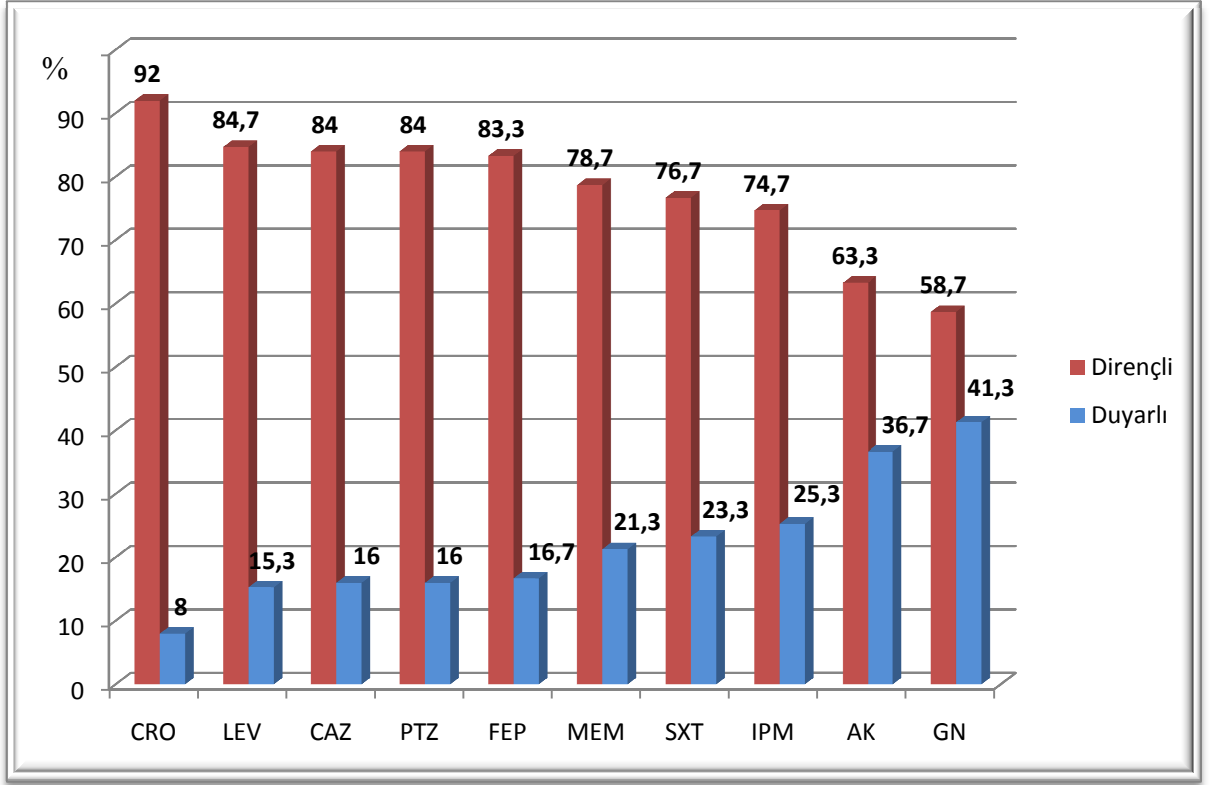
Kökenlerin 51'inin (%34) balgam, 23'ünün (%15,3) yara, 22'sinin (%14,7) trakeal aspirat, 20'sinin (%13,3) idrar, 19'unun (%12,7) kan, 11'inin (%7,3) abse, 2'sinin (%1,3) plevra sıvısı ve 2'sinin (%1,3) beyin omirilik sıvısı (BOS) örneklerinden izole edildiği tespit edildi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *Acinetobacter* kökenlerinin izole edildiği örnekler

Çalışmaya dahil edilen *Acinetobacter* spp. kökenlerinin 141'inin (%94) *A. baumannii* 9'unun (%6) *A. lwoffii*, olduğu tespit edildi.

Çalışılan *Acinetobacter* spp. kökenlerinin en duyarlı oldukları antibiyotikler gentamisin (%41,3), amikasin (%36,7), imipenem (%25,3), trimetoprim/sulfametaksazol (%23,3), meropenem (%21,3), sefepim (%16,7), piperasilin/tazobaktam (%16), seftazidim (%16), levofloksasin (%15,3) ve seftriakson (%8) olarak belirlendi. Orta duyarlı olan kökenler dirençli kabul edildiğinde elde edilen duyarlılık ve direnç oranları Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Kökenlerin antibiyotiklere direnç ve duyarlılık oranları

CRO: Seftriakson, LEV: Levofloksasin, CAZ: Seftazidim, PTZ: Piperasilin/tazobaktam, FEP: Sefepim, MEM: Meropenem, SXT: Trimetoprim/sulfametaksazol, IMP: İmipenem, AK: Amikasin, GN: Gentamisin

Acinetobacter spp. kökenlerine karşı bazı antibiyotiklerin otomatize sistem ile belirlenen MİK değerleri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre gentamisin MİK₅₀ değerleri (bakterilerin en az %50’sine etkili olabilmek için gereken MİK değerleri) ve MİK₉₀ değerleri (bakterilerin en az %90’ına etkili solabilmek için gereken MİK değerleri) duyarlılık sınırı içinde kalan hiçbir antibiyotik saptanmadı (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Otomatize sistem ile *Acinetobacter* spp. kökenlerine karşı bazı antibiyotiklerin MİK değerleri

Antibiyotik	Sınır değerler	MİK ₅₀ µg/ml	MİK ₉₀ µg/ml	*MİK Aralığı µg/ml
İmipenem	≤ 4- ≥ 16	≥ 16	≥ 16	≤ 1- ≥ 16
Meropenem	≤ 4- ≥ 16	≥ 16	≥ 16	≤ 0,25- ≥ 16
Amikasin	≤ 16- ≥ 64	≥ 64	≥ 64	≤ 2- ≥ 64
Seftazidim	≤ 8- ≥ 32	≥ 64	≥ 64	≤ 1- ≥ 64
Seftriakson	≤ 8- ≥ 64	≥ 64	≥ 64	≤ 1- ≥ 64
Sefepim	≤ 8- ≥ 32	≥ 64	≥ 64	≤ 1- ≥ 64
Gentamisin	≤ 4- ≥ 16	8	≥ 16	≤ 1- ≥ 16
Levofloksasin	≤ 2- ≥ 8	≥ 8	≥ 8	≤ 0,12- ≥ 64
Trimetoprim/ sulfometaksazol	≤ 2/38- ≥ 4/76	≥ 16/304	≥ 16/304	≤ 1/19- ≥ 16/304
Piperasilin/ tazobaktam	≤ 16/4- ≥ 128/4	≥ 128/4	≥ 128/4	≤ 4/4- ≥ 128/4

*MİK aralığı: Bizim çalışmamızdaki kökenlerin MİK aralığı

Çalışmaya dahil edilen 150 *Acinetobacter* spp. kökeninin 67'sinde (%44,7) E test yöntemiyle MBL üretiminin olduğu, 83'ünde (%55,3) MBL üretiminin olmadığı tespit edildi. Çalışmaya dahil edilen *A. baumannii* kökenlerinin 64 (%45,4)'ünde, *A. Iwoffii* kökenlerinin ise 3 (%33,3)'ünde MBL üretimi saptandı. Kökenlerin tür dağılımı Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Çalışmaya dahil edilen *Acinetobacter* kökenlerinin tür dağılımı.

Tür	Metallo-beta-laktamaz				Toplam (%)
	Negatif		Pozitif		
	n	%	n	%	
<i>A. baumannii</i>	77	54,6	64	45,4	141 (100)
<i>A. Iwoffii</i>	6	66,7	3	33,3	9 (100)
Toplam	83	55,3	67	44,7	150 (100)

MBL pozitiflik oranı en fazla Dahili Yoğun Bakım (%63,2) ve Cerrahi Yoğun Bakım (%48,5) servislerinden gönderilen örneklerden izole edilen kökenlerde tespit edildi. MBL pozitif ve negatif kökenlerin izole edildikleri hasta örneklerinin gönderildiği servisler Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. MBL pozitif ve negatif kökenlerin izole edildikleri hasta örneklerinin gönderildiği servisler

Klinikler	Metallo-beta-laktamaz				Toplam (%)
	Negatif		Pozitif		
	n	%	n	%	
Beyin Cerrahi	6	66,7	3	33,3	9 (100)
Cerrahi Yoğun Bakım	17	51,5	16	48,5	33 (100)
Çocuk cerrahisi	1	50	1	50	2 (100)
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	3	100	0	0	3 (100)
Dahiliye	8	80	2	20	10 (100)
Dermatoloji	6	85,7	1	14,2	7 (100)
Dahili Yoğun Bakım	18	36,7	31	63,2	49 (100)
Enfeksiyon Hastalıkları	1	50	1	50	2 (100)
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon	1	100	0	0	1 (100)
Genel Cerrahi	3	75	1	25	4 (100)
Göğüs Hastalıkları	5	62,5	3	37,5	8 (100)
Kardiyoloji	2	100	0	0	2 (100)
Kadın Hastalıkları ve Doğum	1	100	0	0	1 (100)
Nöroloji	1	100	0	0	1 (100)
Ortopedi ve Travmatoloji	9	60	6	40	15 (100)
Plastik ve Rekonstruktif Cerrahi	1	50	1	50	2 (100)
Üroloji	0	0	1	100	1 (100)
Toplam	83	55,3	67	44,7	150 (100)

MBL pozitiflik oranı kan (%63,2), balgam (%56,9), idrar (%40), abse (%36,4), trakeal aspirat (%31,8) ve yara (%26,1) örneklerinden izole edilen kökenlerde daha fazla saptandı (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. MBL pozitif ve negatif kökenlerin izole edildikleri klinik örneklerin dağılımları.

Klinik Örnek	Metallo-beta-laktamaz				Toplam (%)
	Negatif		Pozitif		
	n	%	n	%	
Balgam	22	43,1	29	56,9	51 (100)
Trakeal Aspirat	15	68,2	7	31,8	22 (100)
Yara	17	73,9	6	26,1	23 (100)
İdrar	12	60	8	40	20 (100)
Kan	7	36,8	12	63,2	19 (100)
Abse	7	63,6	4	36,4	11 (100)
Plevra Sıvısı	2	100	0	0	2 (100)
Beyin Omirilik Sıvısı	1	50	1	50	2 (100)
Toplam	83	55,3	67	44,7	150 (100)

MBL pozitif bulunan 67 kökenin 64 tanesi (%95,5) piperasilin/tazobaktam, 64 tanesi (%95,5) seftriakson, 63 tanesi (%94) meropenem, 63 tanesi (%94) seftazidim, 62 tanesi (%92,5) sefepim, 60 tanesi (%89,5) imipenem, 58 tanesi (%86,5) levofloksasin, 56 tanesi (%83,5) trimetoprim/sulfametaksazol, 40 tanesi (%59,7) gentamisin ve 34 tanesi (%50,7) amikasine dirençli bulundu. MBL pozitif olan kökenler imipenem ($p<0,001$), meropenem ($p<0,001$), seftazidim ($p=0,001$), gentamisin ($p=0,005$) ve piperasilin/tazobaktama ($p=0,001$) daha dirençli bulundu. Ayrıca MBL negatif olan kökenler levofloksasin ($p=0,000$) ve sefepime ($p=0,007$) daha duyarlı bulundu. E test ile saptanan MBL varlığı ile antibiyotiklere karşı duyarlılık arasındaki ilişki Çizelge 4.6 gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. E test ile saptanan MBL varlığı ile antibiyotiklere karşı duyarlılık arasındaki ilişki

Antibiyotik	Duyarlılık durumu*	Metallo Beta Laktamaz				Toplam (%)	P
		Negatif		Pozitif			
		n	%	n	%		
İmipenem	R	48	44,4	60	55,6	108 (100)	< 0,001
	I	2	50	2	50	4 (100)	
	S	33	86,8	5	13,2	38 (100)	
Meropenem	R	53	45,7	63	54,3	116 (100)	< 0,001
	I	1	50	1	50	2 (100)	
	S	29	90,6	3	9,4	32 (100)	
Amikasin	R	38	52,8	34	47,2	72 (100)	0,220
	I	10	43,5	13	56,5	23 (100)	
	S	35	63,7	20	36,3	55 (100)	
Seftazidim	R	58	48	63	52	121 (100)	0,001
	I	4	80	1	20	5 (100)	
	S	21	87,5	3	12,5	24 (100)	
Seftriakson	R	62	49,2	64	50,8	126 (100)	0,001
	I	12	100	0	0	12 (100)	
	S	9	75	3	25	12 (100)	

Çizelge 4.6. E test ile saptanan MBL varlığı ile antibiyotiklere karşı duyarlılık arasındaki ilişki (devamı)

Antibiyotik	Duyarlılık durumu*	Metallo Beta Laktamaz				Toplam (%)	p
		Negatif		Pozitif			
		N	%	n	%		
Sefepim	R	61	49,6	62	50,4	123 (100)	0,007
	I	1	50	1	50	2 (100)	
	S	21	84	4	16	25 (100)	
Gentamisin	R	31	43,7	40	56,3	71 (100)	0,005
	I	8	47,1	9	52,9	17 (100)	
	S	44	71	18	29	62 (100)	
Levofloksasin	R	60	50,8	58	49,2	118 (100)	0,000
	I	2	22,2	7	77,8	9 (100)	
	S	21	91,3	2	8,7	23 (100)	
Trimetoprim/ sulfametaksazol	R	59	51,3	56	48,7	115 (100)	0,072
	S	24	68,6	11	31,4	35 (100)	
Piperasilin/ tazobaktam	R	60	48,4	64	51,6	124 (100)	0,001
	I	2	100	0	0	2 (100)	
	S	21	87,5	3	12,5	24 (100)	

*R: Dirençli, I:Orta duyarlı, S: Duyarlı

PZR yöntemiyle kökenlerde araştırılan IMP-1, IMP-2, VIM-1 ve VIM-2 genlerinin hiçbiri tespit edilemedi.

Çalışmaya dahil edilen tüm kökenlerin izole edildiği örnekler, geldiği klinikler, E test yöntemi ile saptanan MBL varlığı ve otomatize sistem ile belirlenen imipenem, meropenem, amikasin, seftazidim, seftriakson, sefepim, gentamisin, levofloksasin, trimetoprim/sulfametaksazol ve piperasilin/tazobaktama karşı antibiyotik duyarlılık durumları Çizelge 4.7’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. Kökenlerin izole edildiği tarih, materyal, materyallerin gönderildiği klinik, türü metallo beta laktamaz varlığı ve antibiyotik duyarlılıkları

İzolat No	Geldiği tarih	Protokol No	Servis*	Materyal	Tür	MBL**	Antibiyotik Duyarlılıkları†									
							IMP	MEM	AK	CAZ	CRO	FEP	GN	LEV	SXT	PTZ
1	06.2012	919566	B.Cerrahisi	Balgam	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
2	06.2012	932318	DYB	Balgam	A.lwoffii	pozitif	S	S	S	S	S	S	S	I	R	S
3	04.2012	879774	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
4	05.2012	911408	B.Cerrahisi	Yara	A. baumannii	negatif	R	R	S	R	R	R	S	S	R	R
5	06.2012	926499	Enfeksiyon	Yara	A. baumannii	negatif	R	R	S	R	R	R	R	I	R	R
6	04.2012	888472	DYB	Balgam	A. baumannii	negatif	S	S	S	R	R	R	S	R	R	R
7	06.2012	937466	Enfeksiyon	İdrar	A. baumannii	pozitif	R	R	I	R	R	R	I	R	R	R
8	06.2012	945791	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
9	04.2012	882390	B.Cerrahisi	İdrar	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
10	06.2012	938659	Dermatoloji	Yara	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S
11	02.2012	856893	DYB	Kan	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
12	04.2012	878059	Plastik	Yara	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	S	S	R	R
13	06.2012	946035	CYB	Balgam	A. baumannii	negatif	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
14	03.2012	861440	B.Cerrahisi	İdrar	A. baumannii	pozitif	R	R	I	R	R	R	R	R	S	R
15	06.2012	920717	DYB	Kan	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
16	06.2012	927710	CYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
17	02.2012	845008	CYB	Balgam	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
18	02.2012	843411	CYB	İdrar	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
19	02.2012	857253	Dahiliye	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
20	02.2012	851607	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
21	12.2010	551662	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
22	08.2010	608322	Ortopedi	Yara	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
23	11.2010	597935	DYB	Balgam	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
24	11.2010	600893	Ortopedi	Abse	A.lwoffii	pozitif	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S
25	12.2010	612353	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
26	12.2010	604310	DYB	Kan	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
27	05.2012	916020	Kardiyoloji	Balgam	A.lwoffii	negatif	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
28	06.2012	944621	CYB	İdrar	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	I	R	S	R

Çizelge 4.7. Kökenlerin izole edildiği tarih, materyal, materyallerin gönderildiği klinik, türü metallo beta laktamaz varlığı ve antibiyotik duyarlılıkları (devamı).

İzolasyon No	Geldiği tarih	Protokol No	Servis*	Materyal	Tür	MBL**	Antibiyotik Duyarlılıkları†									
							IMP	MEM	AK	CAZ	CRO	FEP	GN	LEV	SXT	PTZ
29	06.2012	937806	Dahiliye	Balgam	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
30	05.2012	910960	Dahiliye	Yara	A. baumannii	negatif	R	R	I	R	R	R	I	R	R	R
31	03.2011	655507	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
32	12.2010	609805	Göğüs	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
33	12.2010	607489	Göğüs	Balgam	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
34	12.2010	614626	CYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
35	12.2010	615767	Ortopedi	Balgam	A. baumannii	negatif	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
36	11.2010	599942	Ortopedi	Abse	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
37	12.2010	612893	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
38	04.2011	671540	CYB	Balgam	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
39	03.2011	655863	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
40	07.2011	726403	CYB	Kan	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
41	03.2009	344998	Dahiliye	BOS	A. baumannii	negatif	R	R	I	R	R	R	I	R	R	R
42	08.2009	388775	G.Cerrahi	P. sıvısı	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
43	05.2010	506146	DYB	İdrar	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
44	05.2010	506739	Nöroloji	Balgam	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
45	06.2011	713139	CYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	I	I	R	R	S	R	S	R
46	05.2010	511189	CYB	Balgam	A. baumannii	negatif	S	S	S	R	R	R	S	R	R	R
47	01.2010	445125	Dahiliye	İdrar	A. baumannii	negatif	R	R	I	R	R	R	S	R	R	R
48	08.2011	741519	DYB	Kan	A. baumannii	negatif	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
49	11.2010	601385	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
50	03.2011	666570	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
51	12.2010	609581	B.Cerrahisi	Kan	A. baumannii	negatif	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
52	07.2011	722965	G.Cerrahi	Yara	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R
53	05.2010	502594	CYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
54	09.2010	563176	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	pozitif	R	R	I	R	R	R	R	I	R	R
55	04.2011	674891	DYB	Kan	A. baumannii	negatif	R	R	R	I	R	R	S	R	S	R
56	08.2011	738892	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
57	01.2012	838105	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
58	01.2012	837235	Dahiliye	İdrar	A. baumannii	negatif	R	R	I	R	R	R	R	R	S	R
59	08.2010	552477	Çocuk	Yara	A. baumannii	negatif	R	R	I	R	R	R	S	R	R	R

Çizelge 4.7. Kökenlerin izole edildiği tarih, materyal, materyallerin gönderildiği klinik, türü metallo beta laktamaz varlığı ve antibiyotik duyarlılıkları (devamı).

İzolasyon No	Geldiği tarih	Protokol No	Servis*	Materyal	Tür	MBL**	Antibiyotik Duyarlılıkları†									
							IMP	MEM	AK	CAZ	CRO	FEP	GN	LEV	SXT	PTZ
60	02.2012	839144	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	I	R	R	S	R
61	01.2012	832586	CYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	I	R	R	S	I	R	R	R
62	02.2012	844181	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	R	I	R	R
63	02.2012	845734	DYB	İdrar	A. baumannii	pozitif	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
64	09.2010	562921	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
65	07.2010	532036	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
66	07.2010	534157	DYB	İdrar	A. baumannii	negatif	S	S	S	R	R	R	S	R	R	R
67	06.2010	528058	Ortopedi	Abse	A. baumannii	negatif	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R
68	09.2010	569506	CYB	Kan	A. baumannii	negatif	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
69	03.2011	656032	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	I	I	R	R	R	R	R	R	R	R
70	01.2012	833734	Çocuk	İdrar	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
71	11.2009	428181	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
72	06.2010	526335	Dahiliye	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
73	09.2010	561756	Üroloji	Yara	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	S	I	S	R
74	08.2010	560168	CYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
75	07.2010	537517	Göğüs	P. sıvısı	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
76	09.2010	563799	Çocuk	İdrar	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
77	07.2010	534868	B.Cerrahisi	Balgam	A. baumannii	negatif	S	S	S	R	R	R	S	R	R	R
78	02.2012	840583	DYB	Kan	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	I	R	R	R
79	02.2011	649802	Göğüs	Kan	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
80	08.2009	393759	Dermatoloji	Yara	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
81	01.2012	832621	DYB	Balgam	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
82	06.2009	368020	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
83	02.2012	849378	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
84	06.2010	521103	CYB	Balgam	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
85	08.2010	560745	CYB	Yara	A. baumannii	negatif	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
86	08.2010	560168	CYB	İdrar	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
87	09.2010	570104	Dermatoloji	Yara	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
88	09.2010	563357	CYB	Balgam	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
89	01.2012	833163	CYB	Kan	A. baumannii	negatif	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R

Çizelge 4.7. Kökenlerin izole edildiği tarih, materyal, materyallerin gönderildiği klinik, türü metallo beta laktamaz varlığı ve antibiyotik duyarlılıkları (devamı).

İzolasyon No	Geldiği tarih	Protokol No	Servis*	Materyal	Tür	MBL**	Antibiyotik Duyarlılıkları†									
							IMP	MEM	AK	CAZ	CRO	FEP	GN	LEV	SXT	PTZ
90	03.2011	656569	Dermatoloji	Yara	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
91	04.2011	671308	CYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	I	R	R	R	S	R	R	R
92	08.2011	740329	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
93	08.2011	738891	DYB	Kan	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
94	01.2010	453486	KHD	İdrar	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
95	01.2010	443817	Dermatoloji	Yara	A.lwoffii	negatif	S	R	I	R	R	R	S	R	R	I
96	05.2010	512638	FTR	İdrar	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
97	08.2010	560168	CYB	Kan	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
98	08.2009	385875	Dahiliye	Yara	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
99	07.2009	363972	DYB	İdrar	A.lwoffii	negatif	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
100	08.2009	390431	Ortopedi	Abse	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
101	10.2010	581075	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
102	10.2011	774412	DYB	Kan	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
103	10.2011	772194	CYB	Kan	A. baumannii	pozitif	R	R	I	R	R	R	R	R	S	R
104	01.2012	822142	Göğüs	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
105	07.2011	723166	DYB	Kan	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
106	10.2009	414185	Ortopedi	Abse	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	R	I	R	R
107	03.2010	477919	Dermatoloji	Yara	A.lwoffii	pozitif	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
108	11.2010	593721	Ortopedi	Abse	A.lwoffii	negatif	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
109	08.2009	394318	Plastik	Yara	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	I	S	S	S	R	S
110	08.2009	393794	Ç. Cerrahisi	Yara	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
111	08.2009	386930	Ortopedi	Abse	A. baumannii	negatif	S	S	R	R	R	R	I	R	S	R
112	02.2010	462311	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
113	05.2010	503980	CYB	Tr. aspirat	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
114	08.2010	547497	DYB	Kan	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
115	02.2011	650877	Ortopedi	Yara	A. baumannii	pozitif	R	R	I	R	R	R	S	R	R	R
116	04.2010	486615	Ortopedi	Abse	A. baumannii	pozitif	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R
117	11.2010	594397	Ortopedi	Yara	A. baumannii	pozitif	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
118	08.2010	551415	CYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
119	02.2010	465925	CYB	Tr. aspirat	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
120	03.2010	469888	CYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R

Çizelge 4.7. Kökenlerin izole edildiği tarih, materyal, materyallerin gönderildiği klinik, türü metallo beta laktamaz varlığı ve antibiyotik duyarlılıkları (devamı).

İzolat No	Geldiği tarih	Protokol No	Servis*	Materyal	Tür	MBL**	Antibiyotik Duyarlılıkları†									
							IMP	MEM	AK	CAZ	CRO	FEP	GN	LEV	SXT	PTZ
121	07.2011	726648	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
122	03.2010	477237	Göğüs	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
123	04.2011	674586	Dahiliye	Kan	A. baumannii	negatif	I	I	R	R	R	R	R	R	R	R
124	02.2011	651906	G. Cerrahi	Yara	A. baumannii	negatif	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
125	02.2010	463564	Ortopedi	Abse	A. baumannii	negatif	S	S	S	I	I	I	S	S	S	I
126	03.2011	666588	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	S	I	R	R	S	R	S	R
127	04.2011	674352	Dahiliye	Balgam	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
128	03.2011	659266	CYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	I	R	R	R	S	R	R	R
129	02.2011	653336	G.Cerrahi	Balgam	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
130	03.2011	661573	CYB	Kan	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
131	02.2011	648134	Göğüs	Balgam	A. baumannii	negatif	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
132	05.2010	509264	Ortopedi	Abse	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R
133	12.2009	433819	Kardiyoloji	Balgam	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	I	S	I	I	S	S
134	02.2011	649764	CYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
135	12.2009	432812	CYB	İdrar	A. baumannii	negatif	S	S	S	R	R	R	S	R	R	R
136	05.2010	500997	B.Cerrahisi	Yara	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
137	06.2011	710146	DYB	Balgam	A. baumannii	negatif	R	R	R	I	R	R	S	R	S	R
138	04.2009	346993	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	S	R	R	R	I	R	R	R
139	11.2009	419191	CYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
140	09.2011	771422	B.Cerrahisi	BOS	A. baumannii	pozitif	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
141	05.2010	511189	CYB	İdrar	A. baumannii	negatif	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
142	03.2009	336510	Ortopedi	Abse	A. baumannii	negatif	S	S	S	S	I	S	S	S	R	S
143	04.2009	351527	B.Cerrahisi	İdrar	A. baumannii	negatif	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R
144	08.2011	740334	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	negatif	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
145	08.2011	740580	Dermatoloji	Yara	A.lwoffii	negatif	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
146	05.2010	500982	CYB	Balgam	A.lwoffii	negatif	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Çizelge 4.7. Kökenlerin izole edildiği tarih, materyal, materyallerin gönderildiği klinik, türü metallo beta laktamaz varlığı ve antibiyotik duyarlılıkları (devamı).

İzolat No	Geldiği tarih	Protokol No	Servis*	Materyal	Tür	MBL**	Antibiyotik Duyarlılıkları†									
							IMP	MEM	AK	CAZ	CRO	FEP	GN	LEV	SXT	PTZ
147	12.2010	612045	DYB	Tr. aspirat	A. baumannii	pozitif	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
148	12.2010	606020	Göğüs	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
149	06.2012	926848	DYB	Balgam	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	S	I	S	R
150	08.2009	391734	Ç. Cerrahisi	İdrar	A. baumannii	pozitif	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

* B.Cerrahisi: Beyin Cerrahisi, DYB: Dahili Yoğun Bakım, CYB: Cerrahi Yoğun Bakım, G. Cerrahi: Genal Cerrahi, Ç. Cerrahisi: Çocuk Cerrahisi

**MBL: metallo beta laktamaz

†IMP: imipenem, MEM: meropenem, AK: amikasin, CAZ: seftazidim, CRO: seftriakson, FEP: sefepim, GN: gentamisin, LEV: levofloksasin, SXT: trimetoperim/sulfometaksazol, PTZ: piperasilin/tazobaktam

5.TARTIŞMA

Acinetobacter türleri intrinsik olarak antimikrobiyal ajanlara *Enterobacteriaceae* türlerinden daha az duyarlıdır (Lee ve ark. 2011). Kısa zamanda birçok antibiyotik grubuna dirençli hale gelen *Acinetobacter* türleri, özellikle *A. baumannii*, nozokomiyal infeksiyonların sorumlusu olarak hastanelerde neden oldukları salgınlar nedeniyle son yıllarda dünya genelinde ortak bir sorun haline gelmişlerdir (Dal ve ark. 2012).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çoğul ilaç dirençli suşların izole edilmeye başlaması ve direncin giderek artması, *A. baumannii* infeksiyonu şüphesi ile yatan hastalarda klinisyenlerin ampirik tedavi seçeneklerini giderek azaltmaktadır (Yavuz ve ark. 2006, Gülhan ve ark 2007, Aktaş ve ark 2009).

A.baumannii'ye karşı potansiyel aktivitesi olan antimikrobiyal ajanlar geniş spektrumlu penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, aminoglikozidler, florokinolonlar, karbapenemler, polimiksinler, sulbaktamlar ve glisilsiklinlerdir. Bununla birlikte izolatların büyük bir kısmı sıklıkla kullanılan aminopenisilinler, üreidopenisilinler geniş spektrumlu sefalosporinler, birçok aminoglikozidler, kinolonlar, kloramfenikol ve tetrasiklinler gibi antibakteriyel ajanlara dirençlidir (Bergogne-Be're'zin ve Towner 1996). Sefepim ve sefpirom hala *Acinetobacter*'lere karşı aktif olmasına rağmen gelişen bu direnç sebebiyle geniş spektrumlu penisilinler, sefalosporinler ve monobaktamlar ciddi *Acinetobacter* infeksiyonlarının ampirik tedavisinde önerilmemektedir.

Klinik olarak faydalı bütün aminoglikozidlere karşı direnç oranları *Acinetobacter*'lerde diğer patojen bakterilerden daha fazladır. *Acinetobacter* türlerindeki aminoglikozid modifiye edici enzimlerinin üretimine bağlıdır. Aminoglikozid modifiye edici enzimlerin bütün grupları *Acinetobacter* türlerinde bulunur. Amikasin ve tobramisın birçok *A. baumannii* izolatına karşı aktif kalan iki ajandır. Aminoglikozidler sıklıkla tek başına kullanılmaz, genellikle kombinasyon tedavisinde kullanılır. Ülkemizin farklı hastanelerinde yapılan çalışmalarda *A.baumannii* izolatlarında değişik aminoglikozide karşı direnç oranları bildirilmiştir. Manisa'da yapılan bir çalışmada 402 *A.baumannii* suşunun %20.9'u amikasine, %71.1'i gentamisine dirençli bulunmuştur (Gazi ve ark. 2005). Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesinde (2008) yapılan başka bir çalışmada incelenen

92 *Acinetobacter baumannii* kökeninin %90,2'i gentamisine %76'sı aminoglikozidlerden amikasinine dirençli olarak bulunmuştur (Karagöl 2008). Akan, 2002 yılında Ankara'da gerçekleştirdiği çalışmada izole edilen 277 *Acinetobacter* suşunun %59,8'inin amikasinine, %78'inin gentamisine, dirençli olduğunu tespit etmiştir. 2004 yılında yapılan bir başka çalışmada (Ardıç ve ark) ise amikasinine %59, gentamisine %35 oranında duyarlı olduğu bulunmuştur. Altoparlar ve ark (2005) gentamisin ve amikasin direncini sırasıyla % 22,2 ve % 11,1 olarak bulmuşlardır. Manisa'da Gazi ve ark ları amikasinine % 63,3 ve gentamisine %58,7 direnç tespit etmişlerdir. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda Nepal'de Kumar Mishra ve ark. (2013) gentamisin ve amikasin direnç oranını sırasıyla %62,9 ve % 54,8, Vlieghe ve ark (2013) %50 ve %35, Safari ve ark. (2013) % 88 ve % 84 olarak bulmuşlardır. Szejbach ve ark (2013) ise karbapenem dirençli 78 kökende gentamisin ve amikasin direnç oranını sırasıyla %100 ve %53,4 bulmuşlardır. Karthika ve ark. (2009) çalışmalarında amikasin direncini %80, Gupta ve ark (2012) ise % 81,2 olarak bulmuşlardır. Bu veriler ışığında ülkemizde *Acinetobacter*'lerde gentamisin direnç oranı % 22,2 ile %78, amikasin direnç oranı ise % 11,1 ile % 63,3 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Diğer ülkelerde ise gentamisin direnç oranı % 50 ile 100, amikasin direnç oranı ise % 35 ile 84 arasında değişmektedir. Bizim çalışmamızda kökenlerin en duyarlı olduğu antibiyotikler gentamisin ve amikasin olmasına rağmen % 58,7 gentamisin ve % 63,3 amikasin direnci bulunmuştur.

Kinolonlar *A. baumannii*'ye karşı 1990'a kadar iyi aktivite gösteren ajanlardı (Towner 2009). Fakat klinik izolatlarda bu antibiyotiklere karşı hızla direnç gelişmiştir. Siprofloksasin gibi eski ajanlarla karşılaştırıldığında moksifloksasin gibi daha yeni florokinolonlar invitro *A. baumannii*'ye karşı daha aktiftir (Towner 2009). Ülkemizde yapılan çalışmalarda; *Acinetobacter* kökenlerinde siprofloksasine direnç oranını Gazi ve ark. (2005) % 57.2, Ardıç ve ark. (2004) % 55, Karagöl ve ark. (2008) %84,7, Akan ve ark (2002) %74, olarak bulmuşlardır. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalardaki *Acinetobacter* kökenlerindeki siprofloksasin direnç oranları %74,1 (Gupta ve ark. 2012), %72 (Karthika ve ark. 2009), %64,5 (Kumar Mishra ve ark. 2013), %45 (Vlieghe ve ark. 2013), %96,8 (Oh ve ark 2003), % 100 (Szejbach ve ark 2013) olarak bildirilmiştir. Yine diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda levofloksasin direnç oranı % 91 (Safari ve ark 2013), % 61,5 (Szejbach ve ark 2013) olarak bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda levofloksasin kökenlerin

ikinci sırada en dirençli olduğu antibiyotik olarak tespit edilmiş olup direnç oranı %84,7 olarak bulunmuştur.

Beta laktam antibiyotikler *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılmalarına rağmen bu antibiyotiklere karşı hızla direnç geliştirme oranları her geçen gün artmaktadır (Lee ve ark 2011, Eliopoulos ve ark 2008). Özellikle MBL üreten kökenler, aztreonam dışındaki tüm beta laktam antibiyotiklerini hidroliz edebilme yeteneğindedirler (Lee ve ark 2011). Bu kökenler karbapenem, sefalosporin ve sefamisinlere karşı direnç gösterirler ve bu durum MBL üreten *Acinetobacter* kökenlerinin tedavisinde karbapenem kullanımını kısıtlamaktadır (Gürler 2008, Akalın 2003).

Ülkemizde; Gazi ve ark. (2005)'nin çalışmasında kökenlerin %66.4'ü piperasilin-tazobaktama, %69.4'ü seftazidime, %82.6'sı seftriaksona, %36.3'ü meropeneme, %40.5'i imipeneme dirençli bulunmuştur. Karagöl'ün yaptığı çalışmada kökenlerin tamamı sefotaksime dirençli, % 93,4'ü piperasilin/tazobaktama, % 97,8'i seftriaksona, % 89,1'i sefepime, % 68,4'ü meropeneme ve % 54,3'ü imipeneme dirençli olarak bulunmuştur (Karagöl, 2008). Akan, 2002 yılında Ankara'da gerçekleştirdiği çalışmada izole edilen 277 *Acinetobacter* suşunun %53,6'sının imipeneme, %87,3'ünün piperasilin/tazobaktama, %88,1'inin seftazidime dirençli olduğunu tespit etmiştir. Ardıç ve ark. (2004) ise imipeneme %23, meropeneme %26, seftazidime %65, piperasilin/tazobaktama %69 oranında dirençli olduğunu bulmuştur. Altoparlar ve ark (2005) inceledikleri çok az sayıdaki *A.baumannii* izolatlarının %77,8'inin azteronam, %66,7'sinin seftazidim, %44,4'ünü piperasillin/tazobaktam, %33,3'ünün imipenem, %33,3'ünün meropeneme, dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Diğer ülkelerdeki çalışmalarda; Karthika ve ark. (2009) çalışmaya dahil ettikleri tüm kökenlerin imipeneme, %89'unun ise meropeneme dirençli olduklarını bildirmişlerdir. Nepal'de yapılan çalışmada %85,5'inin sefepime, %82,3'ünün seftazidime, %58'inin piperasilin/tazobaktama, %50'sinin meropenem ve % 35,5'inin imipeneme dirençli olduğu bulunmuştur (Mishra ve ark. 2013). Kamboçya'da Vlieghe ve ark (2013)'nin 20 *Acinetobacter* kökeni ile yaptıkları çalışmada ise kökenlerin %45'inin seftazidim, %5'inin meropeneme dirençli olduğu bulunurken, hiç birinde piperasilin/tazobaktama direnç bulunamamıştır. Hindistan'da Gupta ve ark (2012)'nin çalışmalarında ise 85 *Acinetobacter* suşunun %54,1'inin imipenem ve %31,1'inin piperasilin/tazobaktama dirençli olduğu saptanmıştır. Oh ve ark'nın (2003) çalışmasında kökenlerin %19,4'ü imipenem ve seftazidime dirençli bulunurken, %71'i ise imipeneme

duyarlı seftazidime dirençli olduğu tespit edilmiştir. Safari ve ark, (2013) inceledikleri 100 *A.baumannii* izolatının %98'inin seftotaksim, %98'inin seftazidim, %97'sinin aztreonam, %95'inin piperasillin/tazobaktam, %94'ünün meropenem, %85'inin imipeneme dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Szejbach ve ark (2013)'nin inceledikleri 78 karbapenem dirençli *A. baumannii* suşlarının %94,9'u meropenem, %89,7'i imipeneme dirençli bulunmuştur. Böylece ülkemizde yapılan çalışmalarda piperasillin/tazobaktama direnç oranlarının %66,4 ile %93,4 arasında, seftazidime direnç oranlarının %65 ile %88,1, meropeneme direnç oranlarının %26 ile %68,4, imipeneme direnç oranlarının ise %23 ile %54,3 arasında değiştiği görülmektedir. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda ise piperasillin/tazobaktama direnç oranlarının %31,1 ile %95, meropeneme direnç oranlarının %50 ile %94,9, imipeneme direnç oranlarının ise %5 ile %100 arasında değiştiği görülmektedir.

Acinetobacter türlerine karşı karbapenemler hala en etkili antimikrobiyaller olarak bilinmekle birlikte, karbapenem direnci giderek yaygınlaşmaktadır (Murray ve ark 2013). Çin'de 2007 yılında ülke çapında yapılan bir çalışmaya göre imipenem ve karbapenem için direnç oranları sırasıyla %40, %35 olarak belirlenmiştir (Wang ve ark 2008). Ancak 2010 yılında Zhang ve ark ları karbapeneme duyarlı olmayan *A. baumannii* izolatlarının yaygınlığının dramatik bir şekilde %80'e ulaştığını bildirmişlerdir.

Karbapenem dirençli *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp. içeren hastane kümeleri (aynı ribotip ve PFGE paternleri) Kuzey Amerika'dan Latin Amerika ve Avrupa'ya kadar yaygın hale gelmiştir (Deshpande ve ark 2004). Arjantin ve İsrail'de birçok bölgede karbapenem dirençli *A.baumannii* kümesi gösterilmiştir (Deshpande ve ark 2004). Karbapenem dirençli *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* salgınları New York'ta bir bölgede tespit edilmiştir (Deshpande ve ark 2004). MDR ve/veya MBL üreten *P.aeruginosa* daha çok Latin Amerika ve Avrupa'dan izole edilmiştir.

MBL üretimine bağlı karbapenem direnci özellikle *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* kökenlerinin neden olduğu hastane infeksiyonlarında önemli bir sorun olup, farklı bölgelerden farklı direnç oranları bildirilmektedir (Sesli-çetin ve ark. 2009).

Karbapenemazların identifikasyonu için farklı fenotipik yöntemler geliştirilmekle birlikte bu yöntemler bu enzimlerin spesifik inhibitörleri kullanılarak belirlenebilmektedir. Fenotipik testlerin klinik laboratuvarlarda rutin olarak hızlı ve doğru bir şekilde uygulanması klinik ve epidemiyolojik açıdan önemlidir (Aktaş 2012).

Ülkemizde Sesli-Çetin ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada MBL üretimi imipeneme dirençli *A. baumannii* kökenlerinde kombine disk yöntemi ile %62, IMP-EDTA çift disk sinerji testi ile %73, modifiye hodge testi ile %58 oranında bulmuştur. Ulusoy Al ve ark. (2011) çalışmalarına dahil ettikleri 79 imipenem dirençli *Acinetobacter* izolatlarının kombine disk sinerji testi ile 46'sının (%58.2), çift disk sinerji testi ile 44'ünün (%55.7), modifiye hodge testi ile 55'inin (%69.6) MBL ürettiğini tespit etmiştir. Türkdäği ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada kombine disk yöntemi ile karbapenem dirençli 202 *A.baumannii* suşunun 139'unda (%69) MBL üretimi saptarken Altoparlar ve ark. (2005) yine aynı yöntemle imipenem dirençli 3 *A.baumannii* suşunun birinde MBL üretimi saptamıştır.

Ülkemizde Toraman ve ark. (2004) karbapenemlere dirençli olarak saptanan *Acinetobacter* suşlarında E-Test-MBL stripleri ile metallo beta laktamaz araştırması yapmış; 14 *Acinetobacter* suşundan üç tanesinde (%21) metallo beta-laktamaz üretimi saptamıştır. Karbapenem dirençli olarak saptanan suşların MBL üretim sıklığını ise %21 olarak bulmuşlardır (Toraman ve ark. 2005). Aktaş ve ark. nın (2009) çalışmasında E-test-MBL stripleri ile imipeneme dirençli suşlarda metallo beta laktamaz üretimi %80 olarak saptanmış; suşların MBL üretim sıklığı ise %16 olarak bulunmuştur. Sesli-Çetin ve ark nın (2009) çalışmasında MBL üretimi % 40 iken Ulusoy Al ve ark.nın (2011) çalışmasında bu oran %51,9 olarak bulunmuştur. Diğer ülkelerde ise Gupta ve ark (2012)'nin çalıştıkları imipenem dirençli 46 *Acinetobacter* suşundan 19 (%41,3)'unda kombine disk testiyle MBL üretiminin olduğu tespit edilmiş, bu yöntemle pozitif olduğu belirlenen suşlardan 12 tanesinde E test yöntemi denenmiş ve bütün suşlar MBL pozitif bulunmuştur. Villalo'n ve ark. (2012) çalışmalarında E test yöntemini kullanarak inceledikleri *A.baumannii* izolatlarının %67,8'inin fenotipik olarak MBL pozitif bulurken, Safari ve ark (2013) yine aynı yöntemle bu oranı %99 olarak bulmuştur. Amilah ve ark. (2012)'nin çalışmalarında imipenem dirençli 57 *Acinetobacter* spp. izolatları içinde sadece iki (%3,5) izolat hem EPI (EDTA-fenantrolin-imipenem) mikrodilüsyon testi hem de EDTA ve 2-MPA diskleri kullanılarak MBL pozitif olarak bulmuştur. EPI mikrodilüsyon testi ile MBL negatif bulunan tüm *A.baumannii* (%15,8) aynı zamanda EDTA ve 2-MPA diskleri ile de MBL negatif bulunmuştur. *Acinetobacter* spp. izolatlarının ikisi (%3,5) EDTA ve 2-MPA yönteminin her ikisiyle de MBL için pozitif bulunmuştur (Amilah ve ark 2012). Amudhan ve ark (2011) çalıştıkları imipenem ve meropenem dirençli 116 *A.baumannii* izolatından

113'ünün MHT ile MBL pozitif olduğunu göstermiştir. Szejbach ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada incelenen karbapenem dirençli 18 *A.baumannii* suşu arasından %94,4'ü imipenem/EDTA ve imipenem diskleri arasındaki bakteri büyüme inhibisyon zon çaplarının karşılaştırılmasına dayanan fenotipik metod kullanılarak, %88,9'u MBL E test kullanılarak, %66,7'si seftazidim, imipenem, meropenem ve EDTA'lı çift disk sinerji testi kullanılarak MBL pozitif bulunmuştur. Sader ve ark (2004) çalışmalarında inceledikleri imipenem, meropenem ve seftazidime dirençli *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp.'den 89 izolatın (33 *Acinetobacter* spp., 54 *Pseudomonas aeruginosa*, and 2 *P. fluorescens*) E test yöntemiyle fenotip olarak MBL pozitif olduğunu bulmuştur. Oh ve ark'nın (2003) Modifiye Hodge testi ile taradıkları 99 *P.aeruginosa* ve 31 *A.baumannii* olmak üzere toplam 130 izolatın 30'unu MBL pozitif saptarken beş izolatın belirsiz olduğunu bulmuş, fakat bu 35 izolatın hepsinin PZR yöntemi ile MBL ürettiğini saptamışlardır.

Çalışmamıza dahil edilen 150 *Acinetobacter* spp. kökeninin 67'sinde (%44,7) E test yöntemiyle MBL üretiminin olduğu, 83'ünde (%55,3) MBL üretiminin olmadığı saptanmıştır. Bu çalışmalardaki MBL arasındaki farklılık; farklı yöntemlerin kullanılması, sadece karbapenem dirençli kökenlerin çalışılması ve oranın hastaneden hastaneye değişebilmesi ile açıklanabilir.

Yan ve ark MBL üretiminin belirlenmesi için kullanılan üç farklı yöntemi karşılaştırdıkları çalışmalarında *Acinetobacter* suşlarında duyarlılık ve özgüllük oranlarını çift disk sinerji yöntemi için %95, kombine disk yöntemi için, %96.7 ve E-test MBL yöntemi için %100 olarak belirlemişlerdir (Yan ve ark 2004).

Yong ve arkadaşları, imipenem ve imipenem+EDTA diskleri kullanılarak rutin MBL enziminin araştırılması için kullanılabilecek bir yöntemin geliştirildiğini bildirmiştir. Migliavacca ve ark yine imipenem ve EDTA ile bir mikrodilüsyon yöntemi geliştirmiş ve yaklaşık %95 duyarlılık ile MBL tespiti yapılabildiğini bildirmişlerdir. Çalışmada kullanılan E Test- MBL (AB Bio-Disk/İsveç) yönteminde, PZR ile enzim geninin saptandığı suşlarda %94 duyarlılık ve %95 özgüllük ile MBL tespiti yapılabildiği gösterilmiştir. Yine Walsh ve ark'nın (2002) yaptıkları bir çalışmada E testin MBL'in fenotipik tayinindeki duyarlılığı %94 ve özgüllüğü %95 olarak belirlenmiştir.

MBL pozitif suşlar genellikle beta-laktamlara, aminoglikozidlere ve florokinolonlara dirençlidir. Buna ek olarak genellikle polimiksinlere duyarlı kalırlar (Walsh ve ark 2005). Altoparlar ve ark (2005) da çalışmalarında MBL pozitif olan suşların imipenem, meropenem, seftazidim, piperasilin/tazobaktam, sefoperazon/sulbaktam, ofloksasin, siprofloksasin ve gentamisine dirençli olduğunu saptamıştır.

Yurt dışında ise Oh ve ark (2003) çalışmalarında MBL pozitif buldukları 60 *P.aeruginosa* izolatının 28'nin (%46,7) imipenem ve seftazidime direnç gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca VIM-2 üreten 29 *P. aeruginosa* izolatının 9'u aztreonama duyarlıyken bunlardan 2'sinin aynı zamanda amikasin'e de duyarlı oldukları tespit edilmiştir. IMP-1 üreten 2 *P.aeruginosa* izolatından biri gentamisin, amikasin, siprofloksasine diğeri ise siprofloksasin ve aztreonama duyarlı bulunmuştur. VIM-2 üreten 4 *A.baumannii* izolatının ise 2'si imipenem, 1'i siprofloksasin ve sefoperazon/sulbaktama duyarlı iken hiçbiri aztreonama karşı duyarlılık göstermemiştir. Carvalho ve ark (2013) MBL pozitif bulduğu tek *A.baumannii* suşunun amikasin, gentamisin, sefepim, seftazidim, imipenem, meropenem ve siprofloksasine dirençli; ampisilin/sulbaktam ve piperasilin/tazobaktama duyarlı olduğunu belirlemiştir.

MBL'ler beta-laktam halkasındaki amid bağıny keserek beta-laktamlara karşı direnç sağlarlar (Frere 1995). *Acinetobacter* cinsi bakterilerin beta laktam antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesinde en yaygın mekanizma kromozom veya plazmid kontrolünde beta laktamaz üretimidir (Maragakis ve Perl 2008). MBL bakteriler tarafından ekstrasellüler veya periplazmik enzimler olarak üretilirler (Sacha ve ark 2008). Bütün MBL'ler imipenemi hidrolize eder (Massidda ve ark 1991). MBL genlerinin yayılımı geniş spektrumlu sefalosporinler veya karbapenemlerin bölgesel tüketimi ile belirlendiği düşünülmektedir (Lee ve ark 2003, Lombardi ve ark 2002). MBL'nin hidroliz mekanizması komplekstir ve bir MBL'den diğesine değişir (Spencer ve ark 2001).

MBL'nin karbapenem hidrolize etme aktivitesi çok güçlüdür. MBL genlerinin ortaya çıkması ve bakteriyel patojenler arasındaki yayılımları antimikrobiyal tedavinin geleceği için önemli bir endişe konusudur (Marra ve ark 2006).

Klinikte imipenem kullanılmaya başladıktan sonra IMP-tipi ve VIM-tipi MBL üreten Gram negatif basiller sırasıyla Japonya'da ve İtalya'da görülmüştür (Peleg ve ark 2008). İlk kez saptanan MBL, Kore'de *P. aeruginosa*'da 1995 yılında saptanan VIM-2'dir

ve sonra 1998'de yılında VIM-2 ve IMP-1 *Acinetobacter* türlerinde saptanmıştır (Lee ve ark 2002, Yum ve ark 2002).

MBL'lerin sadece IMP, VIM ve SIM tipleri *Acinetobacter* spp.'de bulunmuştur (Peleg ve ark 2008). 2003-2004'teki bir çalışmada imipenem dirençli 545 *Acinetobacter* spp. izolatının 135'inde MBL bulunmuştur. IMP-1, VIM-2 ve SIM-1' in bu oranı sırasıyla % 61, % 33 ve % 6'dır (Lee ve ark 2005). 2006' daki bir çalışmada ise karbapenem dirençli 31 *Acinetobacter* spp. arasından VIM-2 sadece bir izolatta bulunurken IMP-1 15 izolatta bulunmuştur (Sung ve ark 2008).

Metallo-beta-laktamaz varlığı MBL E-test, EDTA kombine disk yöntemi gibi fenotipik yöntemlerle belirlenebilmekte ancak kesin olarak tanımlamak için moleküler yöntemlerle doğrulamak gerekmektedir (Budak ve ark 2012). Moleküler yöntemlerin duyarlılığı fenotipik yöntemlerden daha yüksektir (Aktaş 2012).

Ülkemizde MBL genlerinin saptandığı az sayıda çalışma vardır. Özgümüş ve ark (2007)'nin yaptığı çalışmada 100 *P.aeruginosa* suşunun 1'inde VIM, 9'unda IMP-1 tipi MBL bulunmuştur. Saraç'ın Mersin Üniversitesi'nde yaptığı çalışmada 29 *P.aeruginosa* suşunun 11 tanesinde VIM-1 geni bulunurken IMP-1, VIM-1 ve VIM-2 genleri bulunamamıştır (Saraç 2011). Aktaş ve ark'larının (2008) çalışmasında da 11 *A.baumannii* klinik izolatında değişik fenotipik yöntemlerle %0-100 arasında değişen oranlarda MBL pozitifliği gözlenirken, *bla_{VIM/IMP}* varlığı hiçbir izolatta gösterilememiştir. Köseoğlu Eser ve ark (2009) çalışmasında 124 *Acinetobacter*'den 64'ü (%51,6) fenotipik olarak MBL pozitif bulunmuş fakat bu suşların hiç birinde *bla_{IMP-1}* ve *bla_{VIM-2}* genlerini tespit edememişlerdir. Ulusoy Al ve ark (2011) tarafından yapılan başka bir çalışmada 79 *Acinetobacter* izolatında çeşitli fenotipik yöntemlerle (E test %51,9, kombine disk sinerji testi %58,2, çift disk sinerji testi %55,7, modifiye Hodge testi %69,6) MBL üretimi saptanmış fakat hiçbir izolatta PZR yöntemiyle IMP-1 geni bulunamamıştır. Sarıgüzel ve ark. (2013) çalışmalarına dahil ettikleri *Acinetobacter* kökenlerin %40'ında *bla_{IMP-1}* ve *bla_{VIM-1}* tespit etmişlerdir. Türk Dağı ve ark (2012)'lerinin çalışmasında da *bla_{VIM/IMP}* varlığı saptanamamıştır. Çalışmamızda fenotipik olarak MBL üretiminin olduğu belirlenen *Acinetobacter* kökenlerinin hiçbirinde PZR yöntemiyle *bla_{IMP-1}*, *bla_{IMP-2}*, *bla_{VIM-1}* ve *bla_{VIM-2}* genleri saptanamamıştır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda *Acinetobacter*'lerde bu genlerin *P. aeruginosa*'larda olduğu kadar fazla olmadığı görülmektedir.

Yurt dışında Sader ve ark (2004)'nın çalışmasında, MBL fenotipi pozitif olan 33 *Acinetobacter* türünün sadece yedisinde *bla*_{IMP-1} varlığı tespit edilmiştir. Mezzatesta ve arkadaşlarının (2008) çalışmasında ise, 107 *Acinetobacter* izolatında %50 oranında karbapenem direnci saptanırken, izolatların hiçbirisinde *bla*_{VIM} ve *bla*_{IMP} varlığı bulunamamıştır. Amudhan ve ark. (2011) çalıştıkları imipenem ve meropenem dirençli 116 *A.baumannii* izolatın 54'ünde PZR yöntemi ile MBL üretimin olduğunu saptamış; bunların 53'ünde sadece *bla*_{VIM}, birinde ise hem *bla*_{IMP} hem de *bla*_{VIM} geni bulunmuştur. Karthika ve ark. (2009)'nın çalışmasında 39 (%70,9) izolat çift disk sinerji test yöntemiyle MBL üretimi için pozitif bulunurken *bla*_{IMP-1} geni sadece 23 (%42) izolatta görülmüş, *bla*_{VIM-2} ise hiçbir izolatta tespit edilememiştir. Oh ve ark (2003) PZR yöntemiyle inceledikleri 130 izolattan (99 *P.aeruginosa*, 31 *A.baumannii*) hiçbirinde *bla*_{VIM-1} geni bulamazken 33'ünün (29 *P.aeruginosa*, 4 *A.baumannii*) *bla*_{VIM-2} geni, 2'sinin (*P.aeruginosa*) *bla*_{IMP-1} geni olmak üzere toplam 35 izolatın MBL ürettiğini saptamıştır. Ayrıca imipenem ve seftazidime dirençli 60 *P.aeruginosa*'nın %46,7 (28)'sinin, 6 *A.baumannii*'nin %33,3 (2)'ünün *bla*_{VIM-2} taşıdığını, imipeneme duyarlı seftazidime dirençli bulunan 22 *A.baumannii* izolatının ise %9,1 (2)'inin *bla*_{VIM-2} taşıdığını tespit etmişlerdir (Oh ve ark 2003). Khosravi ve Mihani 2008 yılında yaptıkları çalışmada disk difüzyon yöntemiyle imipenem dirençli buldukları 41 *P.aeruginosa* suşun'dan E test yöntemiyle fenotipik olarak MBL pozitif bulunan 8 (%19,51) suşun PZR yöntemiyle *bla*_{VIM} geni bakımından pozitif, *bla*_{IMP} geni bakımından negatif olduğunu belirlemiştir. Villalo'n ve ark. (2013) çalışmalarında fenotipik olarak MBL pozitif buldukları 40 *A.baumannii* izolatlarının ise hiçbirinde PZR yöntemiyle ile metallo beta laktamaz kodlayan bir gen varlığını tespit edememişlerdir.

Çoğu izolat 1970'lere kadar geniş spektrumlu antibiyotiklere duyarlıyken, daha sonradan *A. baumannii* her antibiyotik sınıfına dikkat çekici bir direnç geliştirme eğilimi göstermeye başlamıştır (Livermore ve Woodford 2006). Karbapenem dirençli *A.baumannii*'ler dünya çapında giderek artan nozokomiyal infeksiyonun önemli nedenidir (Koh ve ark 2007). MBL üreten organizmalar nedeniyle ciddi infeksiyonları olan hastalar bu organizmaya tamamen dirençli antibiyotikler ile tedavi edildiklerinde zayıf bir sonuç alındığı bilinmektedir (Livermore ve Woodford 2006). Hastanede MBL pozitif izolatların varlığı sadece terapötik bir sorun değildir, infeksiyon kontrol çalışmaları için de önemlidir. MBL pozitif izolat bulunan hastalar yüksek riskli olarak belirlenmeli ve uygun izolasyon

önlemleri alınmalıdır. Gerekirse hasta ile temas halinde olan klinsyenler ve diğerk sağlık çalışanları tıbbi hasta formları doldurularak uyarılmalıdır (Walsh ve ark. 2005).

6. SONUÇ

Bu çalışmada Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli bölümlerden gönderilen klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* kökenlerinde MBL tipi beta laktamaz araştırılması, IMP-1, IMP-2, VIM-1, VIM-2 genlerinin saptanması amaçlanmıştır.

Mart 2009-Haziran 2012 tarihleri arasında izole edilen 150 *Acinetobacter* spp. kökeni çalışmaya dahil edilmiş olup kökenlerin %34'ünün balgam, %15,3'ünün yara, %14,7'sinin trakeal aspirat, %13,3'ünün idrar, %12,7'sinin kan, %7,3'ünün abse, %1,3'ünün BOS, %1,3'ünün plevra sıvısı örneklerinden izole edildiği tespit edilmiştir. İzole edilen *Acinetobacter* kökenlerinin %94'ünün *A. baumannii*, %6'sının *A. Iwoffi* olduğu saptanmıştır.

Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* spp. kökenlerinin antibiyotik duyarlılıkları Vitek 2 otomatize sistem (BioMerieux, Fransa) ile belirlenmiştir. Çalışmamızdaki kökenlerin en duyarlı olduğu antibiyotiklerin sırasıyla gentamisin (%41,3), amikasin (%36,7), imipenem (%25,3), trimetoprim/sulfametoksazol (%23,3), meropenem (%21,3) ve sefepim (%16,7) olduğu tespit edilmiş olup bu oran ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla benzer düzeydedir. Otomatize sistemle imipeneme ve meropeneme karşı kökenlerdeki MİK aralığı sırasıyla ≤ 1 - ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$, $\leq 0,25$ - ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$ bulunmuştur. Bu yöntemde her iki antibiyotiğe karşı elde edilen MİK₅₀ ve MİK₉₀ değeri ≥ 16 olarak bulunmuş olup bu değerlerin duyarlılık sınırları içinde kalmadığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda E-test yöntemiyle örneklerin 67 (%44,6)'si MBL pozitif olarak saptanmıştır. MBL üreten kökenlerle oluşan infeksiyonlarda karbapenem grubu antibiyotiklere duyarlı olsalar bile tedavi esnasında direnç gelişerek tedaviye cevap alınmayacağı unutulmamalıdır. Çalışmamızda MBL ürettiği saptanılan kökenlerin imipeneme, meropeneme, seftazidime, seftriaksona, gentamisine, piperasilin/tazobaktama daha dirençli olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çalışmamızda PZR yöntemiyle kökenlerdeki *bla*_{IMP-1}, *bla*_{IMP-2}, *bla*_{VIM-1} ve *bla*_{VIM-2} genleri araştırılmıştır ancak kökenlerin hiçbirinde bu genler tespit edilmemiştir.

MBL üreten organizmalar nedeniyle ciddi infeksiyonları olan hastalar bu organizmaya tamamen dirençli antibiyotikler ile tedavi edildiklerinde zayıf bir sonuç alındığı bilinmektedir (Marra ve ark 2006). Bu nedenle daha etkili bir tedavi için MBL'lerin ve MBL kodlayan genleri taşıyan kökenlerin saptanması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. **Akan OA.** Antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii* isolates: data from Ibni Sina Hospital for the year 2002. *Mikrobiyoloji Bülteni Derg*, **2003**, s. 37(4):241-6.
2. **Aktaş AE, Yiğit N, Kayserili F, Ayyıldız A.** *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları ve Metallo-beta Laktamaz Üretimini Araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, **2009**, s. 23 (2): 57-62.
3. **Aktaş Z, Kayacan Bal C.** Investigation of metallo-beta-lactamase producing strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* by E-test disk synergy and PCR. *Scand J Infect Dis*, **2008**, s. 40: 320-5.
4. **Aktaş Z.** Direnç Mekanizmaları ve Direnç Belirleme Yöntemleri. *Ankem Derg*, **2012**, s. 26 (2):278-282.
5. **Altöparlar U, Aktaş F, Celebi D, Özkurt Z, Akçay 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* **31**, **2005**, s. 707-710.
6. **Ambler RP.** The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, **1980**, s. 289(1036):321-331.
7. **Amilah NW, İzani N, Haq A.** A Simple Screening Test For The Detection of Metallo-β- Lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* in a Tertiary Care Hospital. *Tropical Biomedicine*, **2012**, s. 29(4): 588-597
8. **Amudhan MA, Sekar U, Kamalanathan A, Balaraman S.** blaIMP and blaVIM mediated carbapenem resistance in *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species in India. *J Infect Dev Ctries*, **2012**, s. 6(11):757-762.
9. **Arakawa Y, Murakami M, Suzuki K, Ito H, Wacharotayankun ve ark.** A novel integron-like element carrying the metallo-beta-lactamase gene blaIMP. *Antimicrob. Agents Chemother*, **1995**, s. 39:1612-1615.
10. **Ardıç N, Özyurt M, İlga U, Erdemoğlu A, Haznedaroğlu T.** Yatan hastalardan İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarının Karbapenemlere ve Bazı Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Ankem Derg*, **2004**, s. 18(3):145-148.
11. **Beaber JW, Hochhut B, Waldor MK.** SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes. *Nature*, **2004**, s. 427:72-74.
12. **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 Microbio*, **2008**, s. 26: 233-7.
13. **Bellais S, Poirel L, Leotard S, Naas T, Nordmann P.** Genetic diversity of carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamases from *Chryseobacterium (Flavobacterium) indologenes*. *Antimicrob. Agents Chemother*, **2000**, s. 44:3028-3034.
14. **Bennett PM.** Integrons and gene cassettes: a genetic construction kit for bacteria. *J. Antimicrob. Chemother*, **1999**, s. 43:1-4.
15. **Bergogne-Be're'zin E, Towner KJ.** *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev*, **1996**, s. 9: 148-165.
16. **Boschi L, Mercuri PS, Riccio ML, Amicosante G, Galleni M ve ark.** The *Legionella (Fluoribacter) gormanii* metallo-beta-lactamase: a new member of the highly divergent lineage of molecular-subclass B3 beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother*, **2000**, s. 44: 1538-1543.
17. **Brown S, Amyes S.** OXA β-lactamases in *Acinetobacter*: the story so far. *J Antimicrob Chemother*, **2006**, s. 57:1-3.
18. **Budak S, Aktaş Z, Erdem H.** Enterik Gram-Negatif Bakterilerde Laboratuvaradan Kliniğe Karbapenemazlar. *J Infect Microb Antimicrob*, **2012**, s. 1(1): 1-11.
19. **Bush K.** Classification of β-lactamases—group-2c, group-2d, group-2e, group-3, and group-4. *Antimicrob. Agents Chemother*, **1989**, s. 33:271-276.
20. **Bush K, Jacoby GA.** Updated functional classification of B-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, **2010**, s. 54: 969-76.
21. **Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA.** A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother*, **1995**, s. 39:1211-1233.

22. **Castanheira M, Toleman MA, Jones RN, Schmidt FJ, Walsh TR.** Molecular characterization of a beta-lactamase gene, *blaGIM-1*, encoding a new subclass of metallo-beta-lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, s. 48:4654–4661.
23. **CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement.** CLSI document M100-S22. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute;2012.
24. **Chen YH, Succi J, Tenover FC, Koehler TM.** Beta-Lactamase genes of the penicillin-susceptible *Bacillus anthracis* Sterne strain. *J. Bacteriol.* **2003**, s. 185:823–830.
25. **Chu YW, Afzal-Shah M, Houang ET, Palepou MI, Lyon DJ ve ark.** IMP-4, a novel metallo- β -lactamase from nosocomial *Acinetobacter* spp. collected in Hong Kong between 1994 and 1998. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, s. 45: 710–714.
26. **Coelho J, Woodford N, Turton J, Livermore DM.** Multiresistant acinetobacter in the UK: how big a threat? *J Hosp Infect.* **2004**, s. 58: 167–169.
27. **Cohen Stuart J, Leverstein-Van Hall MA.** Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in *Enterobacteriaceae*. *Int J Antimicrob Agents*, **2010**, s. 36:205-10.
28. **Collis CM, Kim MJ, Stokes HW, Hall RM.** Integron-encoded Intl integrases preferentially recognize the adjacent cognate *attL* site in recombination with a 59-be site. *Mol. Microbiol.* **2002**, s. 46:1415–1427.
29. **Dal T, Dal SM, Ağır İ.** *Acinetobacter baumannii*'de Antibiyotik Direnci ve AdeABC Aktif Pompa Sistemleri: Literatürün Gözden Geçirilmesi. *Van Tıp Dergisi*, **2012**, s. 19:137-148.
30. **Deshpande LM, Fritsche TR, Jones RN.** Molecular epidemiology of selected multidrug-resistant bacteria: A global report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **2004**, s. 49: 231-236.
31. **Docquier JD, Lamotte-Brasseur J, Galleni M, Amicosante G, Frere JM ve ark.** On functional and structural heterogeneity of VIM-type metallo-beta-lactamases. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, s. 51:257–266.
32. **Doughari HJ, Ndakidem PA, Human IS, Benade S.** The Ecology, Biology and Pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: An Overview. *Microbes Environ.* **2011**, s. 26 (2): 101-112.
33. **Frere JM.** Beta-lactamases and bacterial resistance to antibiotics. *Mol. Microbiol.* **1995**, s. 16:385–395.
34. **Galleni M, Lamotte-Brasseur J, Rossolini GM, Spencer J, Dideberg O, Frere JM.** Standard numbering scheme for class B beta-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, s. 45:660–663.
35. **Gazi H, Sürücüoğlu S, Kurutepe S, İnmez E, Dinç G ve ark.** Yoğun Bakım Ünitesi ve Diğer Ünitelerde Yatan Hastalardan İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarında İn-Vitro Antibiyotik Direnci. *ANKEM Derg.* **2005**, s. 19(3):115-118.
36. **Gibb AP, Tribuddharat C, Moore RA, Louie TJ, Krulicki W ve ark.** Nosocomial outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with a new *blaIMP* allele, *blaIMP-7*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, s. 46: 255–258.
37. **Giuseppe C, Helen G.** *Gian Maria Rossolini*, Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? *Lancet Infect Dis* **2011**;11: 381–93.
38. **Gupta V, Sidhu S, Chander J.** Metallo- β -Lactamase Producing Nonfermentative Gram-Negative Bacteria: An Increasing Clinical Threat Among Hospitalized Patients. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **2012**, 718-721.
Erişim:www.elsevier.com/locate/apjtm.
39. **Gülhan B, Özekinci T, Atmaca S, Bilek H.** 2004-2006 yıllarında izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibiyotik direnci. *ANKEM Derg.* **2007**, s. 21: 32-36.
40. **Gür D.** Beta-laktamazlar. *Temel Tıptan Kliniğe Hacettepe Tıp Dergisi*, **2002**, s. 33(2): 102-109.
41. **Gür D.** Gram Negatif Bakterilerde Antibiyogram Yorumu. *Ankem Derg.* **2009**, s. 23(Ek 2):188-192.
42. **Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD.** *Acinetobacter baumannii* An emerging opportunistic pathogen. *Virulence* 3:3, **2012**, s. 243–250.
43. **Ito H, Arakawa Y, Ohsuka S, Wacharotayankun R, Kato N ve ark.** Plasmid-mediated dissemination of the metallo- β -lactamase gene *blaIMP* among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1995**, s. 39: 824-829.
44. **Iwanaga M, Toma C, Miyazato T, Insisiengmay S, Nakasone N ve ark.** Antibiotic resistance conferred by a class I integron and SXT constin in *Vibrio cholerae* O1 strains isolated in Laos. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, s. 48:2364–2369.

45. **Jeon BC, Jeong SH, Bae IK, Kwon SB, Lee K, ve ark.** Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 b-lactamase in Korea. *J Clin Microbiol*, **2005**, s. 43:2241-5.
46. **Karagöl Ç.** Hastane Kökenli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları ve İmipenem Dirençli İzolatların Genotiplenmesi. Uzmanlık tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Edirne, **2008**.
47. **Karthika RU, Rao RS, Sahoo S, Shashikala P, Kanungo R ve ark.** Phenotypic and genotypic assays for detecting the prevalence of metallo-b-lactamases in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a South Indian tertiary care hospital. *Journal of Medical Microbiology*, **2009**, s. 58: 430–435.
48. **Khosravi AD, Mihani F.** Detection of metallo-β-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients in Ahwaz, Iran. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **2008**, s. 60:125–128.
49. **Koh TH, Sng L, Wang GCY, Hsu L, Zhao Y.** IMP-4 and OXA β-Lactamases İn *Acinetobacter baumannii* From Singapore. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2007**, s. 1-6.
50. **Köseoğlu Eser Ö, Ergin A, Haşçelik G.** Erişkin Hastalardan İzole Edilen *Acinetobacter* Türlerinde Antimikrobiyal Direnç ve Metallo-Beta-Laktamaz Varlığı. *Mikrobiyol Bul*, **2009**, s. 43: 383-390.
51. **Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A, Cornaglia G, Amicosante G ve ark.** Cloning and characterization of *blaVIM*, anew integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob. Agents Chemother*, **1999**, s. 43:1584–1590.
52. **Lee K, Lee WG, Uh Y, Ha GY, Cho J ve ark.** VIM- and IMP-type metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean hospitals. *Emerg. Infect. Dis*, **2003**, s. 9:868–871.
53. **Lee K, Yum JH, Yong D, Lee HM, Kim HD ve ark.** Novel acquired metallo-β-lactamase gene, *blaSIM-1*, in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea. *Antimicrob Agents Chemother*, **2005**, s. 49:4485-91.
54. **Lee K, Yong D, Jeong SH, Chong Y.** Multidrug-Resistant *Acinetobacter* spp.: Increasingly Problematic Nosocomial Pathogens. *Yonsei Med J*, **2011**, s. 52(6): 879-891
55. **Lee K, Lim JB, Yum JH, Yong D, Chong Y ve ark.** *blaVIM-2* cassette-containing novel integrons in metallo-b-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* isolates disseminated in a Korean hospital. *Antimicrob Agents Chemother*, **2002**, s. 46: 1053-8.
56. **Lim HM, Pene JJ, Shaw RW.** Cloning, nucleotide sequence, and expression of the *Bacillus cereus* 5/B/6 β-lactamase II structural gene. *J. Bacteriol*, **1988**, s. 170:2873–2878.
57. **Livermore DM. and Woodford N.** The Beta-Lactamase Threat in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*, science direct, **2006**, 14 (9): 413-420.
58. **Lombardi G, Luzzaro F, Docquier JD, Riccio ML, Perilli M ve ark.** Nosocomial infections caused by multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas putida* producing VIM-1 metallo-beta-lactamase. *J. Clin. Microbiol*, **2002**, s. 40:4051–4055.
59. **Luz de Carvalho RM, Marques SG, Gonçalves LHB, Abreu AG, Monteiro SG ve ark.** Phenotypic detection of metallo-β-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from hospitalized patients in São Luis, State of Maranhão, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **2013**, s. 46(4):506-509.
60. **Maltezou HC.** Metallo-Beta-lactamases in Gram-negative bacteria: introducing the era of pan-resistance? International Journal of Antimicrobial Agents. *International Journal of Antimicrobial Agent*, **2009**, s. 33: 405-407.
61. **Mammeri H, Bellais S, Nordmann P.** Chromosome-encoded β-lactamases TUS-1 and MUS-1 from *Myroides odoratus* and *Myroides odoratimimus* (Formerly *Flavobacterium odoratum*), new members of the lineage of molecular subclass B1 metalloenzymes. *Antimicrob. Agents Chemother*, **2002**, s. 46:3561–3567.
62. **Markou N, Apostolakos H, Koumoudiou C, Athanasiou M, Koutsoukou A ve ark.** Intravenous colistin in the treatment of sepsis from multiresistant Gram-negative bacilli in critically ill patients. *Crit. Care*, **2003**, s. 7:78–83.
63. **Marra AR, Pereira CA, Gales AC, Menezes LC, Cal RG ve ark.** Bloodstream Infections With Metallo-β-lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa*: Epidemiology and Clinical Outcomes. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, **2006**, s. 388-390.
64. **Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA.** Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet*, **1998**, s. 351:797-9.
65. **Massidda O, Rossolini GM, Satta G.** The *Aeromonas hydrophila cphA* gene: molecular heterogeneity among class B metallo-beta-lactamases. *J. Bacteriol*, **1991**, s. 173:4611–4617.

66. **Mezzatesta ML, Trovato G, Gona F.** Invitro activity of tigecycline and comparators against carbapenem-susceptible and resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Italy. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2008, s. 7: 4.
67. **McManus-Munoz S, Crowder MW.** Kinetic mechanism of metallo-beta-lactamase L1 from *Stenotrophomonas maltophilia*. *Biochemistry*, 1999, s. 38:1547–1553.
68. **Migliavacca R, Docquier JD, Mugnaioli C.** Simple microdilution test for detection of metallo-beta-lactamase production in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol*, 2002, s. 40:4388- 4390.
69. **Mishra SK, Rijal BP, Pokhrel BM.** Emerging Threat of Multidrug Resistant Bugs-*Acinetobacter calcoaceticus baumannii* complex and Methicillin Resistant *Staphylococcus aerus*. *BMC Research Notes*, 2013, s. 6:98.
70. **Naas T, Bellais S, Nordmann P.** Molecular and biochemical characterization of a carbapenem-hydrolysing β -lactamase from *Flavobacterium johnsoniae*. *J. Antimicrob. Chemother*, 2003, s. 51:267–273.
71. **Oh EJ, Lee S, Park YJ, Park JJ, Park K ve ark.** Prevelence of Metallo- β -Laktamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* İn Korean Üniversity Hospital and Comparison of Screening Methods For Detecting Metallo- β -Laktamase. *Journal of Microbiological Methods*, 2003, s. 54: 411–418.
72. **Özgümüş OB, Ceylan R, Tosun I, Sandallı C, Aydın K ve ark.** Molecularepidemiology of Clinical *Pseudomonas aeruginosa* İsolates Carrying IMP-1 Metallo-Beta-Lactamase gene in a universityhospital in Turkey. *Microbial Drug Resistance*, 2007, s. 13(3):191-8.
73. **Page MI.** The reactivity of β -lactams, the mechanism of catalysis and the inhibition of β -lactamases. *Curr. Pharm. Des*, 1999, s. 5:895–913.
74. **Page MI.** Understanding metallo- β -lactamases. *ASM News*, 2002, s. 68: 217–221.
75. **Patel JB, Rasheed JK, Kitchel B.** Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: activity, epidemiology, and laboratory detection. *Clinical Microbiology Newslette*, 2009, s. 3:55-62.
76. **Peleg AY, Seifert H, Paterson DL.** *Acinetobacter baumannii*: emergence of a succesful pathojen. *Clin Mikrobiol Rev*, 2008; s. 21: 538-82.
77. **Poirel L, Lambert T, Turkoglu S, Ronco E, Gaillard J ve ark.** Characterization of class 1 integrons from *Pseudomonas aeruginosa* that contain the *bla*VIM-2 carbapenem-hydrolyzing β -lactamase gene and of two novel aminoglycoside resistance gene cassettes. *Antimicrob. Agents Chemother*, 2001, s. 45:546–552.
78. **Poirel L, Naas T, Nicolas D, Collet L, Bellais S ve ark.** Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo- β -lactamase and its plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. *Antimicrob. Agents Chemother*, 2000, s. 44:891–897.
79. **Queenan AM, Bush K.** Carbapenemases: the Versatile Beta-Lactamases. *Clinical Microbiology*, 2007, s. 20:440-458 .
80. **Rasmussen BA, Bush K.** Carbapenem-hydrolyzing β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother*, 1997, s. 41:223–232.
81. **Riccio ML, Pallecchi L, Fontana R, Rossolini GM.** In70 of plasmid pAX22, a *bla*VIM-1-containing integron carrying a new aminoglycoside phosphotransferase gene cassette. *Antimicrob. Agents Chemother*, 2001, s. 45: 1249–1253.
82. **Rossolini, GM, Condemi MA, Pantanella F, Docquier JD, Amicosante G ve ark.** Metallo- β -lactamase producers in environmental microbiota: new molecular class B enzyme in *Janthinobacterium lividum*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 2001, s. 45:837–844.
83. **Rossolini GM, Franceschini N, Lauretti L, Caravelli B, Riccio ML ve ark.** Cloning of a *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum* chromosomal gene (*bla*ACME) encoding an extended-spectrum class A β -lactamase related to the *Bacteroides cephalosporinases* and the VEB-1 and PER β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother*, 1999, s. 43:2193–2199.
84. **Saavedra MJ, Peixe L, Sousa JC, Henriques I, Alves A ve ark.** Sfh-1, a subclass B2 metallo-beta-lactamase from a *Serratia fonticola* environmental isolate. *Antimicrob. Agents Chemother*, 2003, s. 47:2330–2333.
85. **Sacha P, Wiczorek P, Hauschild T, Zórawski M, Olszanska D ve ark.** Metallo-beta-lactamases of *Pseudomonas aeruginosa* -a novel mechanism resistance to beta-lactam antibiotics. *Folia Histochem Cytobiol* , 2008, s. 46(2): 137-142
86. **Sader HS, Castanheira M, Mendes RE, Toleman M, Walsh TR ve ark.** Dissemination and diversity of metallo- β -lactamases in Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2004, s. 25:57–61.

87. **Safari M, Saidijam M, Bahador A, Jafari R, Alikhani MY.** High Prevalence of Multidrug Resistance and Metallo-beta-lactamase (MBL) producing *Acinetobacter Baumannii* Isolated from Patients in ICU Wards, Hamadan, Iran. *JRHS*, **2013**, 13(2): 162-167.
88. **Saraç G.** Hastane enfeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında karbapenem direnci ve direncin moleküler olarak saptanması. Doktora tezi, Mersin Üniv Tıp Fakültesi, Mersin, **2011**.
89. **Sarıgüzel FM, Metan G, Sümerkan B.** *Acinetobacter baumannii* suşlarında Metallo-Beta-Laktamaz Üretimini ve IMP-1 ve VIM-1 Tipi Genlerin araştırılması. *FLORA*, **2013**, s. 18(1):11-19.
90. **Sesli-Çetin E, Tetik T, Kaya S, Arıdoğan BC.** *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında metallo-beta-laktamaz üretiminin dört farklı fenotipik yöntemle araştırılması. *İnfeksiyon Derg*, **2009**, s. 23(2):51-5.
91. **Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, Nakashima K, Ito H, ve ark.** PCR detection of metallo-beta-lactamase gene (*blaIMP*) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum beta-lactams. *J. Clin. Microbiol*, **1996**, s. 34:2909–2913.
92. **Senda K, Arakawa Y, Nakashima K, Ito H, Ichiyama S ve ark.** Multifocal outbreaks of metallo-β-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* resistant to broad-spectrum β-lactams, including carbapenems. *Antimicrob. Agents Chemother*, **1996**, s. 40: 349–353.
93. **Simm AM, Higgins CS, Pullan ST, Avison MB, Niumsup ve ark.** A novel metallo-beta-lactamase, Mbl1b, produced by the environmental bacterium *Caulobacter crescentus*. *FEBS Lett*, **2001**, s. 509:350–354.
94. **Sung JY, Kwon KC, Park JW, Kim YS, Kim JM ve ark.** Dissemination Of IMP-1 and OXA Type β-lactamase In Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Korean J Lab Med*, **2008**, s. 28:16-23.
95. **Spencer J, Clarke AR, Walsh TR.** Novel mechanism of hydrolysis of therapeutic beta-lactams by *Stenotrophomonas maltophilia* L1 metallo-β-lactamase. *J. Biol. Chem*, **2001**, s. 276:33638–33644.
96. **Szejbach A, Mikucka, Bogiel T, Gospodarek E.** Usefulness of phenotypic and genotypic methods for metallo-beta-lactamases detection in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains. *Med Sci Monit Basic Res*, **2013**, s. 19: 32-36.
97. **Tetik T.** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde İzole Edilen Gram Negatif Nonfermenter Bakterilerde Metallo-Beta-Laktamaz Enzim Aktivitesinin Araştırılması. Uzmanlık tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta, **2008**.
98. **Toleman MA, Rolston K, Jones RN, Walsh TR.** *blaVIM-7*, an evolutionarily distinct metallo-β-lactamase gene in a *Pseudomonas aeruginosa* isolate from the United States. *Antimicrob. Agents Chemother*, **2004**, s. 48: 329–332.
99. **Toleman MA, Simm AM, Murphy TA, Gales AC, Biedenbach DJ ve ark.** Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo-β-lactamase isolated in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J. Antimicrob. Chemother*, **2002**, s. 50:673–679.
100. **Toraman ZA, Yakupoğulları Y, Kizirgil A.** *Pseudomonas ve Acinetobacter* Suşlarında Metallo-Beta-Laktamaz Araştırması. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, **2005**, s. 19 (1): 101-105.
101. **Touati A, Brasme L, Benallaoua S, Gharout A, Madoux J ve ark.** First report of *qnrB*-producing *Enterobacter cloacae* and *qnrA*-producing *Acinetobacter baumannii* recovered from Algerian hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis*, **2008**, s. 60:287-90.
102. **Towner KJ.** *Acinetobacter*: An Old Frined, But A New Enemy. *ScienceDirect*, **2009**, s. 73: 355-363.
103. **Towner KJ, Gee T, Boswell T.** An unwanted import to the UK: a carbapenem-resistant clinical isolate of *Acinetobacter baumannii* producing metallo-β-lactamase. *J. Antimicrob. Chemother*, **2002**, s. 50: 1092–1093.
104. **Türk Dağı H, Kuş H, Keyik Ş, Arslan U, Tuncer İ ve ark.** Karbapenemlere Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Metallo-Beta-Laktamaz Varlığının araştırılması. *ANKEM Derg*, **2012**, 26(4):187-192.
105. **Tysall L, Stockdale MW, Chadwick PR, Palepou MF, Towner KJ ve ark.** IMP-1 carbapenemase detected in an *Acinetobacter* clinical isolate from the UK. *J. Antimicrob. Chemother*, **2002**, s. 49: 217–218.
106. **Ulusoy Al M, Mumcuoğlu İ, Aksu N, Dolapçioğlu İ, Karahan ZC.** İmipenem Dirençli *Acinetobacter* Suşlarında Metallo-Beta-Laktamaz Üretimini Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, **2011**, s. 41(1):29-36.
107. **Villalo n P, Valdezate S, Medina-Pascual MJ, Carrasco G, Vindel A ve ark.** Epidemiology of the *Acinetobacter*-Derived Cephalosporinase, Carbapenem-Hydrolysing Oxacillinase and Metallo-β-Lactamase Genes, and of Common Insertion Sequences, in Epidemic Clones of *Acinetobacter baumannii* From Spain. *J Antimicrob Chemother*, **2013**, s. 68: 550–553.

108. **Vlieghe ER, Phe T, Smet BD, Veng HC, Kham Cve ark.** Bloodstream Infection Among Adults in Phnom Penh, Cambodia: Key Pathogens and Resistance Patterns. *Plos One*, **2013**, 8(3): e59775.
109. **Walsh TR.** The emergence and implications of metallo-beta-lactamases in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect*, **2005**, s. 11: 2-9.
110. **Walsh TR, Hall L, Assinder SJ, Nichols WW, Cartwright SJ ve ark.** Sequence analysis of the L1 metallo- beta-lactamase from *Xanthomonas maltophilia*. *Biochim. Biophys. Acta*, **1994**, s. 1218: 199–201.
111. **Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P.** Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev*, **2005**, s. 18: 306-25.
112. **Walsh TR, Bolmström A, Qwärnström A, Gales A.** Evaluation of a new E Test For Detecting Metallo-Beta-Lactamases In Routine Clinical Testing. *J Clin Microbiol*, **2002**, s. 40:2755-9
113. **Wang F, Zhu D, Hu F, Ruan F, Ni Y ve ark.** Chinet 2007 Surveillance of bacterial resistance in China (Chinese). *Zhongguo Gan Ran Yu Hua Liao Za Zhi*, **2008**, s. 8: 325-34.
114. **Wang Z, Fast W, Benkovic SJ.** Direct observation of an enzyme-bound intermediate in the catalytic cycle of the metallo-beta lactamase from *Bacteroides fragilis*. *J. Am. Chem. Soc*, **1998**, s. 120:10788–10789.
115. **Wang Z, Fast W, Valentine AM, Benkovic SJ.** Metallo-beta- lactamase: structure and mechanism. *Curr. Opin. Chem. Biol*, **1999**, s. 3:614–622.
116. **Yamazoe K, Kato N, Kato H, Tanaka K, Katagiri Y ve ark.** Distribution of the *cfiA* gene among *Bacteroides fragilis* strains in Japan and relatedness of *cfiA* to imipenem resistance. *Antimicrob. Agents Chemother*, **1999**, s. 43:2808–2810.
117. **Yan JJ, Wu JJ, Tsai SH, Chuang CL.** Comparison of The Double-Disk, Combined Disk, and E-Test Methods For Detecting Metallo-β-Lactamases in Gram Negativebacilli. *DiagnMicrobiolInfectDis*, **2004**, s. 49: 5-11.
118. **Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM ve ark.** Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol*, **2002**, s. 40: 3798-801.
119. **Yano H, Kuga A, Okamoto R, Kitasato H, Kobayashi T ve ark.** Plasmid-encoded metallo-β-lactamase (IMP-6) conferring resistance to carbapenems, especially meropenem. *Antimicrob. Agents Chemother*, **2001**, s. 45: 1343–1348.
120. **Yavuz MT, Şahin İ, Behçet M, Öztürk E, Kaya D.** Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg.* **2006**, s. 20:107-10.
121. **Yum JH, Yi K, Lee H, Yong D, Lee K ve ark.** Molecular characterization of metallo-b-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter genomospecies* 3 from Korea: identification of two new integrons carrying the blaVIM-2 gene cassette, *J Antimicrob Chemother*, **2002**, s. 49; 837-40.
122. **Zhang L, Yang W, Xiao M, Xu Y, Zheng B ve ark.** Mohnarin Annual Report 2010: Surveillance of Antimicrobial Resistance in Bacteria Isolated From Intensive Care Units (Chinese). *Zhonghua Yi Yuan Gan Ran Xue Za Zhi*, **2012**, s. 28: 330-5.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Manisa’da doğdu. 2005 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı ve 2009 yılında mezun oldu. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladı.