

ACINETOBACTER BAUMANII VE PSEUDOMONAS AERUGINOSA İZOLATLARINDA METALLO-BETA-LAKTAMAZ ÜRETİMİNİN DÖRT FARKLI FENOTİPİK YÖNTEMLE ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF METALLO-BETA-LACTAMASE PRODUCTION IN *ACINETOBACTER BAUMANII* AND *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ISOLATES WITH FOUR DIFFERENT PHENOTYPIC METHODS

Emel SESLİ-ÇETİN¹, Tülay TETİK², Selçuk KAYA¹, Buket CİCİOĞLU-ARIDOĞAN¹

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta

² Sivas Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sivas

Anahtar Sözcükler: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, metallo-beta-laktamaz, fenotipik yöntemler

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, metallo-beta-lactamase, phenotypic methods

Geliş: 06 Mart 2009

Kabul: 20 Mart 2009

ÖZET

Bu çalışmada; Ocak-Aralık 2007 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinde metallo-beta-laktamaz (MBL) üretiminin prevalansının saptanması amaçlanmıştır. Çalışma 141 *A. baumannii* ve 189 *P. aeruginosa* olmak üzere toplam 330 köken ile yapılmıştır. İmipenem dirençli bulunan 61 (%43.3) *A. baumannii* ve 52 (%27.5) *P. aeruginosa* kökeninde MBL üretimi kombine disk, çift disk sinerji, modifiye Hodge ve MBL E test fenotipik yöntemleri ile araştırılmıştır. Metallo-beta-laktamaz üretimi imipenem dirençli *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* kökenlerinde kombine disk yöntemi ile %75, %62; IMP-EDTA çift disk sinerji testi ile %84, %73; modifiye Hodge testi ile %74, %58; E test ile %80, %40 oranında bulunmuştur. *A. baumannii* kökenlerinden %52.5, *P. aeruginosa* kökenlerinden ise %21.2'sinin dört farklı fenotipik yöntemle de MBL pozitifliği gösterdiği saptanmıştır. Sonuç olarak, hastanemiz *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* kökenlerinde belirlediğimiz MBL pozitiflik oranları dikkate değer düzeyde yüksek bulunmuştur. Sıkı infeksiyon kontrol programlarının hızla başlatılabilmesi için MBL üreten *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* kökenlerinin erken saptanması açısından dikkatli olunması gerektiği sonucuna varılmıştır.

SUMMARY

The aim of this study was to determine the prevalence of metallo-beta-lactamase (MBL) production among *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates which were isolated from clinical specimens in the Microbiology Laboratory of Suleyman Demirel University Medical Faculty between January and December 2007. The study was done with a total of 330 isolates, 189 *P. aeruginosa* and 141 *A. baumannii* strains. Sixty-one (43.3%) *A. baumannii* and 52 (27.5%) *P. aeruginosa* isolates which were determined as resistant to imipenem were tested for the presence of MBL production by using combined disk, double disk synergy, modified Hodge and MBL-E tests. Among imipenem resistant *A. baumannii* and *P. aeruginosa* strains, the MBL production rate was found as 84% and 73% by IMP-EDTA double disk synergy test, 75% and 62% by combined disc method, 74% and 58% by modified Hodge test and as 80%, 40% by MBL E test, respectively. Of *A. baumannii* strains 52.5% and of *P. aeruginosa* strains 21.2% were detected as MBL producers by all of the four different phenotypic methods. In conclusion, the MBL positivity rates determined among *A. baumannii* and *P. aeruginosa* isolates of our hospital were considerably high. It is concluded that early detection of MBL-producing *A. baumannii* and *P. aeruginosa* isolates is of great importance in the on-time control of nosocomial infections.

GİRİŞ

Pseudomonas aeruginosa ve *Acinetobacter baumannii*, son yıllarda immün sistemi baskılanmış ve özellikle hastanede yatan hastalarda artan oranlarda görülen fırsatçı infeksiyonlara neden olan Non Fermentatif Gram Negatif Bakteriler (NFGNB) olarak bilinmektedir (1). Özellikle yaşamı tehdit eden çoklu ilaç direnci gösterebilen bu bakterilerin yol açtığı ciddi infeksiyonlarda karbapenemler, geniş antibakteriyel spektrumları, bakteri membranlarından hızla geçebilmeleri, AmpC ve genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) enzimlerine dayanıklı olmaları gibi özellikleri nedeniyle ilk tercih olarak kullanılan antibiyotik grubudur (2-4). Karbapenemlerin klinik kullanıma girmesi çoklu dirençli bakterilerin neden olduğu ciddi hastane infeksiyonlarında önemli bir avantaj sağlamış, ancak özellikle ampirik tedavide yaygın kullanılmaları nedeniyle *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* gibi non-fermentatif basillerde karbapenem direnci ile de sıklıkla karşılaşılır hale gelmiştir (3, 5). Metallo-beta-laktamaz (MBL) üretimine bağlı karbapenem direnci özellikle *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* kökenlerine bağlı hastane infeksiyonlarında önemli bir sorun olarak kabul edilmekte, farklı coğrafik bölgelerden farklı direnç oranları bildirilmektedir (6, 7). Metallo-beta-laktamazları kodlayan genler kromozom veya plazmit aracılı olabilir ve sınıf I integronlar üzerinde yer alır. Bu nedenle bakteriler arasında hızla yayılabilir. Aktarılabılır MBL enziminin bulunmasıyla karbapenemlere direnç gelişimi ile ilgili endişeler artmıştır (7). Metallo-beta-laktamaz üreten bakterilerin erken ve doğru olarak saptanması bu bakterilerin kontrolsüz yayılımlarının sınırlandırılmasına yardımcı olacaktır. Bu sorunun farkındalığı hastanelerde mikrobiyologların bu kökenlerle medyana gelebilecek olası salgınları erken fark etmelerini sağlaması yanında klinisyenlerin antimikrobiyal seçimlerinde ve infeksiyon kontrolünde uygun yaklaşımlara yönelmelerini sağlayacaktır.

Bu çalışmada, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde izole edilen imipeneme dirençli *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* kökenlerinde MBL enzim üretiminin kombine disk testi, çift disk sinerji testi, modifiye Hodge testi ve MBL E test fenotipik yöntemleri ile saptanarak hastanemizdeki kökenlerde MBL pozitifliğinin prevalansının saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya, Ocak 2007 ile Aralık 2007 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na

gönderilen çeşitli kliniklerden örneklerden izole edilen ve hastayı takip eden klinisyen tarafından infeksiyon etkeni olarak değerlendirilmiş olan 141 *A. baumannii* ve 189 *P. aeruginosa* olmak üzere toplam 330 köken alındı. Aynı hastaya ait tek köken çalışmaya alındı. İzole edilen bakterilerin tanımlanmasında standart konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ve bakteri tanımlama sistemi (BBL Crystal Identification Systems, BD, ABD) kullanıldı. Bakterilerin *invitro* koşullarda antibiyotik duyarlılık testleri CLSI kriterlerine göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılarak değerlendirildi (8). Kontrol suşu olarak imipeneme duyarlı *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanıldı. Disk difüzyon yöntemiyle imipeneme dirençli (orta derecede duyarlı bulunanlar da dirençli olarak değerlendirildi) olarak değerlendirilen 61 *A. baumannii* ve 52 *P. aeruginosa* kökeninde MBL enzimi varlığı kombine disk testi, çift disk sinerji testi, modifiye Hodge testi ve MBL E test fenotipik yöntemleri ile araştırıldı.

Kombine Disk Testi: Taze kültür pasajlarından saf olarak elde edilen bakterilerin 0.5 Mc Farland bulanıklığında süspansiyonu Mueller-Hinton agar plaklarına yayıldı. Plak içerisine iki tane imipenem (10 µg) diski yerleştirildi. Diskler arası uzaklık 22 mm olacak şekilde ayarlandı. İmipenem disklerinden bir tanesinin üzerine daha önceden hazırlanmış olan 0,5 M EDTA solüsyonundan 10 µl eklendi. 35°C'de 18–20 saat inkübasyon sonunda inhibisyon zon çapları ölçüldü. EDTA solüsyonunun eklendiği imipenem/EDTA diskinin inhibisyon zonu tek başına imipenem diski zon çapından ≥7 mm ise MBL pozitif olarak kaydedildi (9).

Çift Disk Sinerji Testi: Taze kültür pasajlarından saf olarak elde edilen bakterilerin 0,5 Mc Farland bulanıklığında süspansiyonu Mueller-Hinton agar plaklarına yayıldı. Plak üzerine imipenem (10 µg) diski yerleştirildi. İmipenem diskinin merkezinden 20 mm uzağına daha önce hazırlanan boş disk yerleştirildi. Boş disk üzerine 0,5 M EDTA solüsyonundan 10µl eklendi. 35°C'de 18–20 saat inkübasyon sonrasında imipenem diski inhibisyon zonunun EDTA eklenmiş boş diske doğru genişlemesi sinerjistik inhibisyon zonu olarak değerlendirildi (4, 6).

Modifiye Hodge Testi: İmipeneme duyarlı olan *E. coli* ATCC 25922 standart suşu taze pasajlarından elde edilen 0,5 Mc Farland bulanıklığında hazırlanan süspansiyonlar Mueller Hinton agar plaklarına yayıldı. Test edilecek bakteriler plağın merkezinden periferine doğru düz çizgi şeklinde ekildi. Oda ısısında 15 dakika bekleyip plağın ortasına imipenem (10 µg) diski yerleştirildi. Plak-

lar etüvde 18–20 saat inkübe edildikten sonra değerlendirildi. İmipeneme duyarlı olan *E. coli* ATCC 25922 suşunun duyarlılık zon çapının çizgi ekimi yapılan bakteri taraflarında yonca yaprağı şeklinde bozulması ve bu bölgede *E. coli* üremesi MBL üretimi yönünde pozitif test sonucu olarak değerlendirildi (4).

MBL E Test: Test edilecek bakteri kökenlerinin 0,5 Mc Farland bulanıklığında süspansiyonu Mueller-Hinton agar plaklarına yayıldı. MBL E Test stripleri (AB BIODISK, İsveç) plak üzerine yerleştirildi. Etüvde 18–20 saatlik inkübasyondan sonra imipenem-EDTA MİK değeri ve imipenem MİK değeri not edildi. IPM/IPM-EDTA MİK değerleri oranlandığında 8 ve üzerinde bir değer elde edilmesi MBL üreten bakteri suşu olarak değerlendirildi (3, 10).

BULGULAR

Acinetobacter baumannii kökenlerinin 61'i (% 43.3), *P. aeruginosa* kökenlerinin 52'si (% 27.5) imipeneme dirençli bulundu. Metallo-betalaktamaz üretimi imipenem dirençli *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* kökenlerinde, sırasıyla, IMP-EDTA çift disk sinerji testi ile %84 ve %73; kombine disk yöntemi ile %75 ve %62; modifiye Hodge testi ile %74 ve %58; E test ile %80 ve %40 oranında bulunmuştur (Tablo 1). Hem *A. baumannii* hem de *P. aeruginosa* kökenlerinde en yüksek MBL pozitifliği oranı çift disk sinerji testi ile elde edilirken, *A. baumannii* kökenlerinde dört farklı fenotipik yöntemle de MBL pozitifliği gösteren köken sayısı toplam 32 (%52.5), *P. aeruginosa* kökenlerinde ise dört farklı fenotipik

yöntemle de MBL pozitif bulunan suş sayısı ise 11 (%21.2) idi. *Acinetobacter baumannii* kökenlerinin 53 (%86.9), *P. aeruginosa* kökenlerinin 39'unda (%75) uygulanan dört yöntemden en az biri ile MBL pozitifliği saptandı. Metallo-beta-laktamaz pozitifliği en fazla Yoğun Bakım ve Nöroloji Yoğun Bakım Kliniklerinden gönderilmiş olan kan kültürü ve trakeal aspirat örneklerinden izole edilen suşlarda bulundu. (Tablo 2).

TARTIŞMA

Dünyada *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türü bakterilerde imipeneme giderek artan oranlarda antibiyotik direnci görülmektedir (1, 11). Ülkemizde de *Pseudomonas* ve *Acinetobacter*'lerde imipenem direnci coğrafik bölgelere göre farklılık göstermekte ve *Pseudomonas*'larda yaklaşık %13 ile %64, *Acinetobacter*'lerde ise %33 ile %62 arasında değişmektedir (12). Çalışmamızda ise bu oran *Pseudomonas*'larda %27.5, *Acinetobacter*'lerde ise %43.3 olarak bulunmuştur. Bulgularımız ülkemizde belirlenen direnç oranları arasında yer almakla birlikte çok dirençli suşların görüldüğü bölgelerdeki *Pseudomonas*'larda görülen direnç oranlarına göre daha düşük değerler elde edilmiştir. *Acinetobacter*'lerde ise *Pseudomonas*'lara göre daha yüksek imipenem direnci görülmesine rağmen çok dirençli *Acinetobacter* suşlarının görüldüğü çalışmalardan daha düşük veriler elde edilmiştir (11-13).

Çok merkezli surveyans çalışmalarında imipeneme dirençli *A. baumannii* izolasyon oranları hastane de yatan hastaların klinik örneklerinde %45 ve özellikle

Tablo 1. Fenotipik yöntemler sonucunda imipeneme dirençli *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* kökenlerinde saptanan MBL pozitifliği (%)

Fenotipik yöntem	<i>A. baumannii</i> (n=61)	<i>P. aeruginosa</i> (n=52)
Kombine disk testi	46 (%75)	32 (%62)
Çift disk sinerji testi	51 (%84)	38 (%73)
Modifiye Hodge testi	45 (%74)	30 (%58)
MBL E Test	49 (%80)	21 (%40)

Tablo 2. Herhangi bir fenotipik yöntemle metallobetalaktamaz (MBL) pozitifliği bulunan kökenlerin klinik ve örneklere göre dağılımı

Servis	Kan	TA	İdrar	Yara	Balgam	Diğer	Toplam
YB	28	18	1	2	-	2	51
NYB	7	10	-	-	-	-	17
Cerrahi S.	2	2	5	2	2	-	13
Göğüs H	-	-	-	-	6	2	8
Diğer S.	-	-	1	-	-	2	3
Toplam	37	30	7	4	8	6	92

TA: Trakeal aspirat, YB: Yoğun bakım, NYB: Nöroloji yoğun bakım, Cerrahi S: Cerrahi servisler, Diğer S: Diğer servisler

yoğun bakım hastalarının kan örneklerinde %85'e varabilen oranlarda bildirilmektedir (11). Çalışmamızda MBL pozitifliğinin en fazla yoğun bakım ünitelerinden gönderilmiş olan kan kültürü ve trakeal aspirat örneklerinden izole edilen suşlarda saptanmış olması, bu birimlerin dirençli bakterilerle infeksiyonlar açısından en riskli birimler olmaları gerçeği ile örtüşmekle birlikte, özellikle hastanelerin bu birimlerinde izole edilen infeksiyon etkenlerinde bu gibi aktarılabılır direnç özelliklerinin takibinin önemine dikkatimizi çekmiştir.

Metallo-beta-laktamaz üreten bakterilerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde karşılaşılan güçlükler hem dünyada hem de ülkemizde kaygıyla izlenmektedir. Metallo-beta-laktamaz üreten köken oranlarının zamanla artış göstermesi ve hızla yayılabilip çok kötü klinik sonuçlara neden olabilmesi laboratuvarlarda rutinde kolay uygulanabilen özgüllüğü yüksek duyarlı yöntemlerin bulunmasını zorunlu hale getirmiştir (6). Bu amaç için geliştirilen fenotipik yöntemlerden MBL E test, kombine disk testi, çift disk sinerji testi ve modifiye Hodge testinin duyarlılığı ve özgüllüğü ile ilgili birçok çalışma yapılmış, çift disk sinerji testinin MBL saptanmasında kolay uygulanabilir, duyarlı bir yöntem olduğu yönünde veriler bildirilmiştir. Lee ve ark. (14) imipenem-EDTA çift disk sinerji testinin MBL saptanmasındaki duyarlılığının *Pseudomonas* türlerinde yaklaşık %89, *Acinetobacter* türlerinde ise %100 olduğunu bildirmişlerdir. Jesudason ve ark. (15) imipenem dirençli NFGNB'de MBL pozitifliğini modifiye Hodge testi ile %56 oranında bulurken, çift disk sinerji testi ile bu suşlarda MBL pozitifliğini %72 oranında bulmuşlar, çift disk sinerji testinin modifiye Hodge testine göre daha duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da MBL enzimi varlığının en fazla çift disk sinerji testi ile saptanmış olması önceki çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Ancak MBL yapımında yöntem karşılaştırılmasının ancak genotipik olarak MBL pozitif bulunan kökenlerde yapıldığında anlamlı olduğu bilindiği için ve çalışmamızda MBL pozitif bulunan izolatlarda blaIMP ve blaVIM genleri moleküler bir yöntemle araştırılmamış olduğu için kullanmış olduğumuz fenotipik yöntemlerin hangisinin gerçekte daha doğru sonuç verdiği hakkında bir yorum yapılamamıştır.

Yan ve ark. (16), kombine disk yöntemi ile imipenem dirençli *Pseudomonas*'larda %86.7 oranında MBL pozitifliği saptamışlar ve testin duyarlılığının %70 olduğunu belirtmişlerdir. Altıparlak ve ark. (17) karbapenemlere dirençli 40 *P.aeruginosa* ve *A. baumannii* kökeninin 22 (%55)'sinde imipenem-EDTA kombine disk yöntemi ile pozitiflik bulmuş, MBL üreten *P.aeruginosa* ve *A. baumannii*

kökenlerinin yanık üniteleri için de önemli sorun oluşturduğuna dikkat çekmişlerdir. Çalışmamızda ise kombine disk testi ile *A. baumannii* kökenlerinin %75 ve *P. aeruginosa* kökenlerinin %61.5'inde MBL pozitifliği saptanmış, bu oranlar hastanemizde önemli nozokomiyal infeksiyon etkenleri arasında yer alan *P.aeruginosa* ve *A. baumannii* suşlarında MBL pozitifliğinin dikkate değer düzeyde olduğunu göstermiştir.

Metallo-beta-laktamaz E test yöntemi, E test stripleri ticari olarak kolayca bulunabildiği için MBL saptamasında sık kullanılan fenotipik testlerdendir. MİK değerleri okunarak değerlendirildiği için bu testin daha objektif olduğu söylenebilir. Bu yöntemin tek dezavantajı imipenem duyarlı ve orta derecede duyarlı bakterilerdeki MBL üretimini saptamada yetersiz kalmasıdır. Yan ve ark. (16), imipenem dirençli kökenlerde E test uygulamışlar ve E test sonuçlarına göre MBL negatif olan suşları polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile de negatif veya tanımlanamaz değerlerde bulduklarını belirterek imipenem dirençli suşlarda MBL saptanması için E testin kullanışlı olduğunu savunmuşlardır. Walsh ve ark. (10), E test yöntemi ile MBL saptanan 31 *Pseudomonas* bakterisinin ancak 25 tanesinde PCR yöntemi ile MBL enzimi bulunduğunu saptamışlardır. Yunanistan'da yapılan bir çalışmada (18), hastanedeki salgın sırasında 53 *P. aeruginosa* kökeninde E test yöntemi ile imipenem dirençli suşlardan 44 tanesinde MBL pozitif bulunmuş, daha sonra bu suşlara PCR yöntemi uygulanmış ve E test yönteminin MBL ürettiği saptanan üç suşu saptamadığı görülmüştür. Bu da E test yönteminin yanlış pozitif sonuç verebildiği gibi yanlış negatif sonuç da verebildiğini göstermiştir.

Bizim çalışmamızda ise MBL E test yöntemi ile *A. baumannii* kökenlerinde % 80 gibi yüksek bir oranda MBL varlığı bulunurken, *P. aeruginosa* kökenlerinin % 40'ında MBL pozitifliği saptanmış olması orta duyarlı suşların da çalışmaya alınmış olmasına bağlanabilir. Ayrıca, diğer testlerle de *P. aeruginosa* kökenlerinde *A. baumannii* kökenlerinden daha düşük oranda MBL pozitifliği saptanmış olması göz önüne alınırsa bu kökenlerde gözlenen imipenem direncine MBL üretimi dışında porin değişimleri (OprD kaybı) veya aktif pompa sistemlerinin indüklenmesi (19) gibi diğer direnç mekanizmalarının da yol açmış olabileceği ileri sürülebilir.

Her ne kadar sonuçlarımız moleküler yöntemlerle doğrulanmamış olduğu için bu oranların gerçekte MBL enzim üretimini yansıtmadığı tartışmaya açık olsa da hastanemiz kökenlerinde dört farklı yöntemle saptadığımız bu oranlar ülkemiz ve dünyada yapılmış diğer

çalışmalardaki oranlara benzerlik göstermekle birlikte, özellikle A. baumannii kökenlerinde daha yüksek olarak saptanan, fakat P. aeruginosa kökenlerinde de azımsanamayacak düzeyde bulunduğumuz MBL pozitiflik oranları hastanemizdeki önemli nozokomiyal infeksiyon ajanları arasında kabul edilen bu bakteri gruplarında MBL aktivitesinin takibi açısından uyanık olma gereksinimimizi ortaya koymaktadır. Henüz CLSI'de MBL üretimini sap-

tamak için önerilen standart bir yöntem bulunmamaktadır. Metallo-beta-laktamaz varlığını göstermek için uygulanan fenotipik yöntemlerden hangisinin daha iyi bir yöntem olduğu konusunda netlik oluşmamıştır. Kullanılan yöntemlerin hiçbirisinin tek başına yeterli olmadığı bildirilmektedir (20, 21). Bu nedenle fenotipik yöntemlerle saptanan MBL pozitif kökenlerin moleküler yöntemlerle doğrulandığı ileri çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Enoch DA, Birkett CI, Ludlam HA. Non-fermentative gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents* **2007**; 29: 33-41.
2. Bonfiglio G, Russo G, Nicoletti G. Recent developments in carbapenems. *Expert Opin Invest Drugs* **2002**; 11: 529-44.
3. Behera B, Mathur P, Das A, Kapil A, Sharma V. An evaluation of four different phenotypic techniques for detection of metallo-beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian J Med Microbiol* **2008**; 26: 233-7.
4. Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* **2003**; 41: 4623-9.
5. Hemalatha V, Sekar U, Kamat V. Detection of metallo beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in hospitalized patients. *Indian J Med Res* **2005**; 122: 148-52.
6. Franklin C, Liolios L, Peleg AY. Phenotypic detection of carbapenem-susceptible metallo beta-lactamase-producing gram-negative bacilli in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol* **2006**; 44: 3139-44.
7. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quite before the storm? *Clin Microbiol Rev* **2005**; 18: 306-25.
8. Gür D. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) . Antimikrobik Duyarlılık Testleri İçin Uygulama Standartları*. Onsekizinci Bilgi Eki. M100-S18, 2008 (Çeviri). Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, **2008**.
9. Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM, Chong Y. Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* **2002**; 40: 3798-801.
10. Walsh TR, Bolmström A, Qwärnström A, Gales A. Evaluation of a new Etest for detecting metallo-beta-lactamases in routine clinical testing. *J Clin Microbiol* **2002**; 40: 2755-9.
11. Souli M, Galani I, Giamarellou H. Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant gram-negative bacilli in Europe. *Euro Surveill* **2008**; 13: pii: 19045.
12. Gür D, Gülay Z, Akan OA, et al. Resistance to newer beta-lactams and related ESBL types in gram-negative nosocomial isolates in Turkish hospitals: results of the multicentre HITIT study. *Mikrobiyol Bult* **2008**; 42: 537-44.
13. Akan OA. Antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii* isolates, Data from İbni Sina Hospital for the year 2002. *Mikrobiyol Bult* **2003**; 37: 241-46.
14. Lee K, Chong Y, Shin HB, et al. Modified Hodge test and EDTA-disk synergy tests to screen metallo-B-lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clin Microbiol Infect* **2001**; 7: 88-91.
15. Jesudason MV, Kandathil AJ, Balaji V. Comparison of two methods to detect carbapenemase and metallo-beta-lactamase-production in clinical isolates. *Indian J Med Res* **2005**; 121: 780-3.
16. Yan JJ, Hsueh PR, Ko WC, et al. Metallo-β-lactamases in clinical *Pseudomonas* isolates in Taiwan and identification of VIM-3, a novel variant of the VIM-2 enzyme. *Antimicrob Agents Chemother* **2001**; 45: 2224-8.
17. Altoparlak U, Aktas F, Celebi D, Ozkurt Z, Akcay MN. Prevalence of metallo-beta-lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from burn wounds and *in vitro* activities of antibiotic combinations against these isolates. *Burns* **2005**; 31: 707-10.
18. Pournaras S, Maniati M, Petinaki E, et al. Hospital outbreak of multiple clones of *Pseudomonas aeruginosa* carrying the unrelated metallo-β-lactamase gene variants blaVIM-2 and blaVIM-4. *J Antimicrob Chemother* **2003**; 51: 1409-14.
19. Köhler T, Michea-Hamzehpour M, Epp SF, Pechere JC. Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: respective contributions of OprD and efflux systems. *Antimicrob Agents Chemother* **1999**; 43: 424-7.
20. Gupta V. Metallo beta lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Expert Opin Investig Drugs* **2008**; 17: 131-43.
21. Samuelsen O, Buarø L, Giske CG, Simonsen GS, Aasnaes B, Sundsfjord A. Evaluation of phenotypic tests for the detection of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in a low prevalence country. *J Antimicrob Chemother* **2008**; 61: 827-30.

İLETİŞİM

Dr. Emel SESLİ-ÇETİN
İskender Mah. 2016 Sokak
Bayhanlar Sitesi B Blok Daire: 8
32200 İSPARTA
e-posta: seslicetin@med.sdu.edu.tr