

T.C.
Sağlık Bakanlığı
Haydarpaşa Numune
Eğitim ve Araştırma Hastanesi
İnfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji Kliniği
şef: Doç. Dr. Paşa GÖKTAş

**HASTANE İNFEKSİYONU ETKENİ OLAN
PSEUDOMONAS AERUGİNOSA SUşLARININ
BETA-LAKTAMAZ YAPIMI VE
ÇEşİTLİ ANTİMİKROBİYALLERE DUYARLILIKLARI**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Behiye YÜCESOY DEDE

İstanbul - 2006

T.C.
Sağlık Bakanlığı
Haydarpaşa Numune
Eğitim ve Araştırma Hastanesi
İnfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji Kliniği
şef: Doç. Dr. Paşa GÖKTAş

**HASTANE İNFEKSİYONU ETKENİ OLAN
PSEUDOMONAS AERUGİNOSA SUşLARININ
BETA-LAKTAMAZ YAPIMI VE
ÇEşİTLİ ANTİMİKROBİYALLERE DUYARLILIKLARI**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Behiye YÜCESOY DEDE

İstanbul - 2006

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimimi aldığım Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Başhekimi Sayın Prof.Dr. Yusuf ÖZERTÜRK' e,

Uzmanlık eğitimi süresince, hoşgörü ortamı içerisinde, geniş bilgi ve tecrübesinden yararlandığım Klinik Şefimiz Sayın Doç. Dr. Paşa GÖKTAŞ' a,

Eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile bize yön veren Kliniğimiz Şef Yardımcıları Dr.Seyfi ÖZYÜREK ve Dr. Emin KARAGÜL'e, başta tez çalışmam sırasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm Dr. İlknur ERDEM olmak üzere birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Kliniğimiz uzmanlarına, asistan arkadaşlarıma, Kliniğimiz hemşire ve diğer çalışanlarına,

Çalışmalarım sırasında gösterdikleri yakın ilgi ve yardımlarından dolayı Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı uzmanlarından Dr.Naz OĞUZOĞLU ve Dr. Faruk ÇOBANOĞLU' na ve diğer laboratuvar çalışanlarına,

Manevi desteği ile her zaman yanımda olan sevgili aileme teşekkür ederim.

Dr.Behiye YÜCESOY DEDE
2006

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Giriş ve Amaç	1
Genel Bilgiler	3
Materyal ve Metod	34
Bulgular	36
Tartışma ve Sonuç	41
Özet	48
Summary	50
Kaynaklar	52

GİRİŞ ve AMAÇ

Hastane infeksiyonları; oluşturduğu ekonomik maliyet, morbidite, mortalite oranlarındaki yükseklik nedeniyle tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunudur (1- 3).

P. aeruginosa minimal üreme koşullarında bile üreyebilmesi, doğada yaygın olarak bulunması, değişik virulans faktörlerinin olmasının yanısıra, doğal olarak varolan ve buna ek olarak geliştirdiği direnç mekanizmaları ile oldukça önemli bir bakteridir (2). Pseudomonaslar yoğun bakım üniteleri, yanık üniteleri, mekanik ventilatörler, kanser kemoterapisi uygulanan veya geniş spektrumlu antibiyotik kullanılan birimlerde daha fazla kolonize olur ve bu durum invazif infeksiyonlara yatkınlık oluşturmaktadır(4, 5).

Hastane infeksiyonlarında Pseudomonasları önemli hale getiren virulans faktörlerinin yanısıra antibiyotik direnç durumlarıdır. Pseudomonasların beta-laktam antibiyotik direnci çeşitli mekanizmalara bağlı olarak gelişir. Bunlar AmpC tipi beta-laktamaz sentezlenmesi, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, karbapenemazlar, dış membran geçirgenliğinde azalma ve aktif dışa pompalama mekanizmalarıdır. Bunun dışında aminoglikozit değiştirici enzimlerle aminoglikozitlere, DNA giraz-enzim mutasyonları ile kinolonlara direnç kazanırlar. Ayrıca birkaç direnç mekanizmasının birlikte görüldüğü çoğul dirençli suşlar *P. aeruginosa*'da yaygındır. Bu durumda tedavi seçenekleri oldukça sınırlıdır (1, 3, 6-10).

Tüm bu veriler ışığında *P. aeruginosa* 'ya bağlı hastane infeksiyonu ve direnç sorunun olacağı büyük hastanelerde rutin antibiyotik duyarlılık testlerinin yanısıra beta-laktamaz üretimi de izlenmelidir. Böylece tedavi başarısı, direnç gelişimi ve yüksek maliyet sorunu kontrol altına alınabilir. Pseudomonas infeksiyonlarının tedavisi sırasında da direnç gelişebileceği ve bu durumda tedavide kullanılacak alternatiflerin bilinmesi oldukça önemlidir (11, 12).

Bu alışmada *P. aeruginosa* infeksiyonlarında direnç durumunun saptanması ile ampirik tedavi seçeneklerine ve etkin tedavi yaklaşımlarına katkı sağlanması amaçlanmıştır. Çalışmamızda Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak izole ettiğimiz *P. aeruginosa* suşlarında antibiyotik duyarlılıkları ve bu bakterilerdeki Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL), İndüklenebilir Beta-Laktamaz (İBL) ve Metallo Beta-Laktamaz (MBL) üretimi araştırılmıştır.

GENEL BİLGİLER

PSEUDOMONASLAR VE PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Mikrobiyoloji

Pseudomonas cinsi bakteriler, Pseudomonadaceae ailesi içinde yer alan Gram negatif, nonfermentatif, sporsuz, polar flagellaları ile hareketli, aerobik basillerdir. Bazı izolatlar nitrat ya da arginin kullanarak anaerob ortamda da üreyebilirler. *P. luteola* ve *P. oryzyhabitans* dışında oksidaz pozitiflerdir. En iyi 37 °C'de ürerler, 42 °C'de de üreyebilirler, ancak 4 °C'de üreyemezler. Pyoverdin adı verilen yayılabilen floresan pigmenti ve klinik izolatların yarısından fazlasında görülen suda çözünebilen pyosyanin pigmenti üretirler. Bazı suşlar rengi koyu kırmızı olan piyorubin ve siyah olan piyomelanin pigmenti üretir. Nitratlardan gaz oluştururlar, L-arginin dehidrolaz pozitif, L-lizin dekarboksilaz negatiftirler. Simmon's sitrat ve katalaz pozitiflerdir (13-16).

Biyokimyasal karakterler baz alındığında farklı şekerlere karşı olan oksidasyonlarına, 42°C de büyüme özellikleri ve flagellar yapılarına göre suş ayırımı yapılabilir. Pyosyanin pigmenti üretimi ve tatlı üzüm benzeri koku *P. aeruginosa* için spesifik ayırma kriteri olarak kabul edilmektedir (15, 16).

Epidemiyoloji

P. aeruginosa toprakta, suda, hayvanlarda, bitkilerde ve insanlarda bulunabilir. İnsanlarda önemli bir fırsatçı infeksiyon etkenidir. Bitkilerde ve hayvanlarda da patojen olabilir. Fiziksel ve kimyasal şartlara oldukça kolay uyum sağlar. Özellikle nemli ortamlarda kolay üreyebilir, insanlarda perine, aksilla ve kulaklarda kolaylıkla kolonize olabilir. Hastanelerde solunum destek cihazları, temizleme solusyonları, lavabolar, paspaslar gibi her yerde varlıklarını sürdürebilirler (14, 15).

Patogenez

P. aeruginosa sağlıklı insanlarda saprofit olarak bulunur ve nadiren hastalığa sebep olur. Yanık, kanser kemoterapisi, HIV infeksiyonu, n6tropeni gibi normal savunma mekanizmalarının bozulması, uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, 6riner kateter, ent6basyon gibi savunma mekanizmalarının bozulduğu durumlarda infeksiyona neden olur (17).

Pseudomonas aeruginosa infeksiyonu kolonizasyon, invazyon ve sistemik yayılım olmak 6zere 6ç aşamada gelişir. Cilt ve mukoza y6zeylerine kolonize olan bakterilerin yayılımında vir6lans fakt6rleri, konağın immun direnci ve fiziksel savunma mekanizmaları 6nemli yer tutar. İnfeksiyon kolonizasyon aşamasında kalabilir ya da sistemik infeksiyona ilerleyebilir (13-16).

Pseudomonas aeruginosa'nın virulans fakt6rleri

Pili ve Fimbrialar: Konak epitel h6crelerinin y6zeyinde bulunan GM-1 gangliosid resept6rlerine tutunmayı sağlar. Pililer en 6nemli adherans fakt6r6d6r (14-16).

Polisakkarid kaps6l: Glikokaliks, Eksopolisakkarid ya da Alginate olarak da adlandırılan bu kaps6ler yapı, monnuronik ve glukronik asitten oluşur. 6zellikle mukoid suşlarda bulunur. M6sin salgılanması, bakterinin fagositozdan korunması, aminoglikozidler başta olmak 6zere antibiyotiklerin bakterisidal aktivitesinin azalması ve biyofilm tabakanın oluşması gibi işlevleri vardır (14-16).

N6rominidaz: *Pseudomonas* cinsi bakteriler sialik asidin olmadığı gangliosid resept6rlerine 6ncelikli bağlanırlar. N6raminidaz da sialik asidi uzaklaştırarak pilinin GM-1 reseptirlerine bağlanmasını kolaylaştırır(14-16).

Endotoksin: Lipopolisakkarit yapıda olup, araşidonik asid metabolitlerinin üretimini sitimüle ederek ateş, şok, dissemine intravasküler koagulasyon ve metabolik değişikliklerle karakterize septik şok sendromuna neden olur (14-16).

Ekzotoksin A (Lipid A): *P. aeruginosa*'nın en önemli virulan faktörüdür. Memeli hücrelerinde nikotinamid adenin dinukleotid (NAD)'in elongasyon faktör 2 (EF2)'ye bağlanmasını sağlayarak protein sentezinin inhibisyonuna sebep olur (14-16).

Enterotoksin: Normal gastrointestinal aktivitenin kesintiye uğramasına neden olarak diyareye yol açar (15, 16).

Pyosyanin: Solunum yolları siliyer aktivitesinin kesintiye uğramasından ve akciğerde oksidatif ve nötrofil bağlantılı doku hasarından sorumludur (14-16).

Ekzoenzim S-T (ExoS): Ekstrasellüler toksinler olup, bakterilerin yayılmasını ve invazyonunu kolaylaştırıcı etkisi vardır. Virulansı yüksek suşlarda güçlü nekrotik etkisi deneysel olarak gösterilmiştir(14-16).

Ekstrasellüler proteazlar (Elastaz-alkalin proteaz): Elastaz enzimi elastin içeren doku hasarından sorumludur. Akciğer parenkim hasarına ve hemorajik deri lezyonları olan ektima gangrenozuma neden olur. Nötrofil kemotaksisini engeller, bakterilerin yayılımını artırır. Kronik pseudomonas infeksiyonlarının çoğunda elastaza karşı antikor saptanmıştır (15, 16).

Hemolizinler: Hemolizinlerden fosfolipaz C ısı değişken, ramnolipid ısı değişken olmayan hemolizin özelliğinde olup siliyer aktivitenin azalması ve alt solunum yolu infeksiyonlarının oluşmasından sorumludur (15, 16).

Sitotoksin (lökosidin): Lökosit fonksiyonlarını bozar, deney hayvanlarında pulmoner mikrovasküler hasar yaptığı gösterilmiştir (15, 16).

Tablo 1. *P. aeruginosa* 'nın virulans faktörleri ve biyolojik etkileri

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'nın virülans faktörleri	
Virülans faktörleri	Biyolojik etkileri
Yapısal faktörler	
Kapsül:	Mukoid polisakkaridin yapılması Adhezyon sağlanması Antibiyotiklerin bakterisidal etkisinin azaltılması Nötrofil ve lenfosit aktivasyonunun önlenmesi
Nöraminidaz: Piluslar ve nonpilus adezinler:	Pilusların adezyonunun kolaylaştırılması Akciğer ve yara yerine adezyon sağlanması
Lipopolisakkarid:	Endotoksik aktivite
Pyosyanin:	Siliyer fonksiyonun bozulması, inflamasyonun başlatılması Toksik oksijen radikallerinin salınması ve doku hasarı
Toksin ve Enzimler	
Ekzotoksin A:	Protein sentezinin EF2 etkileyerek önlenmesi Doku hasarının oluşması İmmünsüpresyonun sağlanması
Ekzototoksin S: Sitotoksin:	Protein sentezinin önlenmesi, immünosüpresyon Lökosit fonksiyonlarının bozulması
Elastaz , Alkalın proteaz:	Pulmoner mikrovasküler yapıların hasarlanması Elastin içeren dokuların harabiyeti
Fosfolipaz C:	İnflamasyonun başlatılması
Rhamnolipid:	Lesitin içeren dokuların harabiyeti ve pulmoner siliyer aktivitenin inhibisyonu

Klinik

Pseudomonaslar yüzeysel deri infeksiyonlarından sepsise kadar farklı klinik tablolara sebep olabilen, yüksek morbidite ve mortalitesi ile önemli bir insan patojenidir.

Pseudomonaslar öncelikli olarak nozokomiyal patojen olup, sağlıklı insanda nadiren hastalık oluşturur. Özellikle hastane ortamında, bağışık yanıtı ve savunma sistemleri bozulmuş insanlarda fırsat bulduğunda her sistem ve organda infeksiyon oluşturabilir. 1990-1996 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan Ulusal Hastane İnfeksiyonlarını İzleme Servisi (NNIS) verilerine göre *P.aeruginosa* pnömonilerde ikinci, üriner sistem infeksiyonlarında üçüncü, cerrahi alan infeksiyonlarında dördüncü ve bakteriyemilerde yedinci sırada izole edilmiştir (14-17).

Pseudomonasların en sık neden olduğu infeksiyonlar: nötropenik hastalarda, mekanik ventilasyon desteğindeki hastalarda ve kistik fibrozlu hastaların akut alevlenmelerinde görülen pnömoniler, nötropenik hastalar ve HIV infeksiyonunu da içeren bağışıklığı kırılmış hastalardaki bakteriyemiler, yanık sonrası gelişen yanık yarası infeksiyonları, diyabetik hastalarda ve yüzücülerin kulağında gelişen malign otitis media, beyin cerrahisi, kafa travması, intraventriküler şant ve Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) sızıntısı ile komplike menenjit ve beyin apseleri, penetran yaralanma ve intraoküler cerrahi, kontakt lensler ile endoftalmit ve keratit, hemotojen yayılım ya da penetran travma veya cerrahi ile ilişkili septik artrit, osteomyelit, primer veya metastatik odaklardan kaynaklanan deri ve yumuşak doku infeksiyonları, intravenöz ilaç kullananlarda doğal kapak endokarditi ve prostetik kapak endokarditi olarak sayılabilir (14-19).

Antimikrobiyal duyarlılık:

Toplumdan kazanılmış *P. aeruginosa* izolatları genellikle antipseudomonal penisilinlere (tikarsilin ve piperasilin), aminoglikozidlere (gentamisin, tobramisin, amikasin), siprofloksasin'e, sefoperazon'a, seftazidim'e, meropenem'e ve imipenem'e hassastır. Antistafilokokkal penisilinler, sulbaktam-ampisilin, ampisilin, amoksisilin, amoksilin-klavulanik asid, 1. ve 2. kuşak sefalosporinler, sefotaksim, seftriakson, trimetoprim sulfametaksazol, nalidiksik asid'e doğal olarak dirençlidir. Tetrasiklinler, makrolidler, rifampin, kloramfenikol, sefiksim, sefpodoksime ise kural olarak dirençlidir. Tikarsilin, piperasilin, seftazidim, sefepim, sefpirom, sefoperazon, karbapenemler ve aztreonam antipseudomonal beta laktamlardır (15).

Pseudomonas aeruginosa genetik olarak birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençli olmasının yanısıra kemoterapi sırasında da çoğul dirençli suşlar ortaya çıkabilmektedir (20, 21). Bu direnç mekanizmaları başlıca şu şekildedir:

- Beta laktamaz salınmasına bağlı direnç; Kromozomal ve plazmid kaynaklı beta laktamazların üretimi.
- Antibiyotik hedeflerinde değişiklik sonucu oluşan direnç; Penisilin bağlayan proteinler (PBP)'deki değişime bağlı olan bu direnç Gram negatif bakterilerde yaygın değildir. Bununla birlikte pseudomonas cinsi bakterilerde beta-laktamaz üretmeyen suşlardaki penisilin direncine düşük afiniteli PBP'ler neden olur .
- Dış membran geçirgenliğinin azalması ile kazanılan direnç; Porin proteinlerinde değişiklik.
- Aktif dışa pompalama sistemi ile antibiyotiğin dışarı atılmasına bağlı direnç.

Aktif Dışa Pompalama Sistemleri; Pseudomonaslarda beta laktamazlardan sonra en önemli direnç mekanizmaları aktif dışa pompalama sistemleridir. Günümüzde aktif dışa pompalama sistemleri en iyi *P. aeruginosa* 'da araştırılmıştır. Aktif dışa pompalama sistemleri yapısal olup normalde düzenleyici genler ile kontrol altındadır. Bu genlerdeki mutasyonlar aktif dışa pompalama sistemlerinin aşırı çalışmasını ve antimikrobiyallerin de dışarı atılmasına neden olur (24, 25).

P. aeruginosa'da MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexXY-OprM aktif dışa pompalama sistemleri tanımlanmıştır. MexAB-OprM aktif dışa pompalama sistemi en iyi tanımlanmış olanıdır (26).

Aktif pompalama sistemi ile kazanılan direnç çoğul direnç genine sahip fenotipler oluşturur (Tablo 2). MexAB-OprM aktif pompalama sistemi imipenem hariç tüm betalaktamlara ve kinolonlara direnç oluşturması ile önemlidir. MexCD-OprJ aktif pompalama sistemi 4. kuşak sefalosporinlere direnç oluşturur. MexEF-OprN aktif pompalama sistemi karbapenemlerde de dirence neden olabilir (25- 29).

Tablo 2. *P. aeruginosa* 'da bulunan aktif dışa pompalama sistemleri

Sistem	Düzenleyici gen	mutasyon geni	Direncin olduğu antibiyotikler
MexAB-OprM	mexR	nalB ve nalC	İmipenem dışında beta laktamlar, kloramfenikol, eritromisin, kinolonlar, tetrasiklin, trimethoprim, sulfonamid, novobiosin
MexCD-OprJ	nfxB	nfxB	İmipenem dışında beta laktamlar, kloramfenikol, eritromisin, kinolonlar, tetrasiklin, trimethoprim, novobiosin
MexEF-OprN	mexT	nfxC	Kloramfenikol, kinolonlar, trimethoprim.
MexXY-OprM	mexZ		Karbenisilin, seftazidim ve imipenem hariç beta laktamlar, aminoglikozidler, kloramfenikol, eritromisin, kinolonlar, tetrasiklin, novobiosin

Multiple antibiyotik direnci (MAR) *P. aeruginosa*' da çoğul antibiyotik direncine sebep olur ve en az üç mutasyon sonucu ortaya çıkar. Bunlar nalB, nfxB, nfxC gen mutasyonlarıdır. Bunların hepsi düzenleyici genlerdeki değişikliklere ek olarak aktif dışa pompalama sistemlerinde aşırı salınmaya neden olurlar (25-29).

Dış Membran Porin Defektleri; Dış membran gram negatif bakteriler için oldukça önemlidir. *P. aeruginosa* dış membranındaki asıl porin proteini OprF dir. OprB, OprC, OprD, OprE yardımcı porin proteinleridir. OprD porin kaybı karbapenem direncini gösterir. Bu durumda meropeneme duyarlılık azalırken, imipeneme direnç ortaya çıkabilir. *P. aeruginosa* tedavisinde ilk haftanın sonunda OprD kaybı ile yaklaşık olarak % 50 oranında karbapenem direnci saptandığı gösterilmiştir (25,26,30).

Plazmid kaynaklı fosforilasyon, asetilasyon, adenilizasyon ile enzimatik hidroliz, permeabilite azalması, ribozomal hedeflerdeki değişiklikler, kromozomal kaynaklı aphA gen mutasyonları aminoglikozid direncinin oluşmasına katkıda bulunur. Ayrıca aktif dışa pompalama sistemleri de bu dirence neden olurlar (31, 32).

Pseudomonas aeruginosa'da DNA giraz (Topoizomeraz II) mutasyonları, dış membran proteinlerinin özellikle OmpF, OmpC defektleri ile oluşan dış membran geçirgenliğinin değişmesi ve aktif dışa pompalama sistemlerinin hepsi kinolon direncine neden olur (33- 36).

BETA- LAKTAMAZLAR

Beta-laktamazlar, beta laktam grubu antibiyotiklerde beta-laktam halkasının amid bağlarını parçalayarak etki gösterirler. Kromozomal ya da plazmid kaynaklıdır (37-41).

Beta-laktamazların sınıflaması ilk defa 1973 yılında Richmand and Sykes tarafından yapılmış, 1976 yılında ise Sykes ve Matthew tarafından genişletilmiştir. Beta laktamazlar ilk olarak penisilinleri hidrolize etmeleriyle tanımlanmıştır. Bundan sonra her yeni beta laktam grubu antibiyotik kullanılmasıyla bu tabloya yeni beta-laktamazlar eklenmiştir (37, 38). Oksimino sefalosporinlerin 1980' lerin başında kullanılmasıyla GSBL 1980'lerin sonlarına doğru beta laktam/beta laktam inhibitörlerinin yaygın kullanımıyla inhibitör rezistan TEM enzimleri, 1990'larda sefamisinlerin kullanımıyla plazmid kaynaklı Amp-C type enzimler, daha sonra da karbapenemlerin yaygın kullanımıyla karbapenemazlar ortaya çıkmıştır. Beta-laktamazların sınıflaması Tablo 3' de gösterilmiştir (37, 38). Son yıllarda genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar, inhibitör-rezistan beta-laktamazlar, AmpC-tipi enzimler ve metallo-beta-laktamaz ve non metallo-beta-laktamaz tip karbapenemazlarda oldukça fazla sayıda artış gözlenmiştir (37-41).

Tablo 3. Beta laktamazların sınıflandırması

Beta laktamaz sınıflandırması	
Bush-Jacoby-Medeiros	Ambler
Fonksiyonel grup	Moleküler sınıflama
Grup 1 sefalosporinazlar	Sınıf C sefalosporinazlar
Grup 2 penisilinazlar	Sınıf A penisilinazlar
2a Stafilokokal penisilinazlar	
2b TEM-1 ve SHV-1 Beta-laktamazlar	
2be-ESBL'ler	
2br-inhibitör dirençli Beta-laktamazlar	
2c-karbenisilinazlar	
2e-sefalosporinazlar	
2f-karbapenemazlar	
Grup 2d	Sınıf D kloksasilin hidrolize eden enzimler (OXA)
Grup 3 (3a, 3b, 3c)	Sınıf B metallo-beta-laktamazlar
Grup 4	Sınıflanmamış

Bush ve arkadaşları substrat özgülüğü ve beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlılığının temel alındığı fenotipik sınıflandırma ile tüm enzimleri sınıflandırmış ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarında antibiyogram ile ilişki kurulabilmesi gibi avantajlar sağlamıştır. Dezavantajı ise tek bir nokta mutasyonu ile substrat özgülüğünün değişebilmesidir. Bu enzimlerin moleküler sınıflandırılması ise 1980 yılında Ambler tarafından yapılmıştır. Moleküler sınıf A, C ve D'nin aktif bölgelerinde serin bulunurken, sınıf B' de ise çinko bulunur. Beta-laktamazların nükleotid dizilenmesini esas alan bu sınıflama mutasyonlardan etkilenmemektedir (38- 40, 42, 43).

Kromozomal Kaynaklı Beta-Laktamazlar

Hemen hemen tüm Gram negatif bakterilerde kromozomal kaynaklı beta-laktamazlar bulunmaktadır. Bunlar arasında en önemli olan enzimler;

sefalosporinaz aktivitesi gösteren ve Bush sınıflandırmasında Grup 1'de yer alan enzimlerdir. Bu enzimlerin önemli özelliği indüklenebilir olmalarıdır (37-43).

Moleküler sınıf C AmpC Tip İndüklenebilen Beta-Laktamazlar (İBL)

AmpC tipi beta laktamaz enzimleri moleküler sınıf C ve fonksiyonel grup 1 olup, genellikle oksiminosefalosporinlere (seftriakson, sefotaksim), sefamisin grubu sefalosporinlere dirençlidir (37, 38, 40, 42). Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile inhibe olmazlar. Birçok Gram negatif bakteride bulunmakla beraber AmpC tipi enzim içeren başlıca bakteriler; *Enterobacter spp*, *C. freundii*, *Serratia spp*, *P. stuartii*, *P. rettgeri*, *Pseudomonas spp.* ve *Hafnia alvei*'dir (37- 40).

İBL sentezleyen bakterilerde 10^5 - 10^7 sıklığında devamlı yüksek düzeyde enzim sentezleyen dereprese denilen mutantlar oluşmaktadır. Dereprese mutantlar İBL sentezleyen bakteri topluluklarında zayıf indükleyiciler ile tedavi sırasında ortaya çıkabilen labil beta-laktamazlardır. İkinci kuşak, üçüncü kuşak sefalosporinler, aztreonam, üreidopenisilinler ve karboksipenisilinler zayıf indükleyicilerdir. Dereprese mutantların seleksiyonunda infeksiyonun yeri, bakteri yoğunluğu, antibiyotiğin dağılımı ve kullanılan antibiyotikler önemlidir. Karbapenemler hem indükleyici hem de dereprese mutantlara etkili olduğu için seleksiyona yol açmaz. Dereprese mutantların seçilme riski nedeniyle, genişletilmiş spektrumlu sefalosporinlerin İBL sentezlediği bilinen bakteriler ile gelişen üriner sistem infeksiyonları dışındaki infeksiyonlarda kullanılması sakıncalıdır (44-47).

İBL'lerin yapısal genlerine ampC adı verilmektedir ve bunlar ampR denilen aktivatör represör genler (LysR tip transkripsiyonel genler) tarafından kontrol altında tutulur. Bu bölge ampD genlerinin baskılayıcı etkisi altındadır. İBL'ler için gerekli olan gen ürünleri ve proteinler Tablo 4'de gösterilmektedir (37-40).

Tablo 4. Gram Negatif Bakterilerde Beta-Laktamaz İndüksiyonu İçin Gereken Proteinler

İBL' lerde gerekli olan proteinler ve fonksiyonları	
Protein	Rolü
Amp R	Transkripsiyonun düzenlenmesi
AmpG	İndüksiyon sinyalinin geçirilmesi
AmpD	Beta-laktamazların kontrol altında tutulması
AmpE	Represyonun artışı
PBP2	Beta-laktamlarla etkileşime giren proteinler

İBL ürettiği bilinen bakterilerde dikkat edilecek noktalar şunlardır (42).

- İBL varlığı laboratuvarından bildirilmemiş olsa da *Enterobacter spp*, *C. freundii*, *Serratia spp*, *P. stuartii*, *P. rettgeri*, *Pseudomonas spp*. ve *Hafnia alvei* türlerinin bu özellikte olduğu ve antibiyogramlarda yalancı olarak antibiyotiklere duyarlı görülebilecekleri unutulmamalıdır.
- Bu suşlarla gelişen infeksiyonlarda 2. ve 3. kuşak sefalosporinler ve aztreonam'ın tek başlarına kullanılmasından kaçınılmalıdır.
- Tedavi sırasında direnç gelişebileceğinden uzun süreli tedavi gerekiyorsa bu suşların antibiyogramları 3-4 günde bir tekrarlanmalıdır.
- Dereprese beta-laktamazlar sentezleyen ve aynı zamanda dış membran porinleri eksik olan *P. aeruginosa* suşları vardır. Bunlar birçok beta-laktam antimikrobiyal yanında karbapenemlere, temosilin, sefepim ve sefpiroma da dirençlidirler.
- İndüklenebilen AmpC tipi beta-laktamazı olmayan bakteri türlerinde kromozomal beta-laktamazların aşırı üretimi ile olan direnç özelliğinin görülmesi plazmid kaynaklı AmpC tipi beta-laktamazı düşündürmelidir (48- 50).

Moleküler Sınıf A'da Bulunan Kromozomal Beta-Laktamazlar

Gram negatif bakterilere özgü olan kromozomal enzimlerin çoğu moleküler sınıf C'dedir. Moleküler sınıf A'da da kromozomal enzimler bulunmaktadır. Farklı substratlar üzerine olan etkilerine göre bu enzimler Bush sınıflandırmasında 2b, 2be ve 2e'de yer alırlar (37, 38, 49).

Moleküler Sınıf B'de Bulunan Kromozomal Beta-Laktamazlar

Bu sınıfta yer alan enzimlere metallo- beta-laktamazlar'da denilmektedir. Bunlar Bush sınıflamasına göre grup 3 de yer alırlar. Karbapenemazlar bölümünde bu enzimler anlatılacaktır (37, 38, 49).

Plazmid Kontrolündeki Beta-laktamazlar

Plazmidlerce kodlanan beta-laktamazlar dört moleküler sınıfta da yer almaktadır, ancak bunlardan en önemlileri gram negatif bakterilerdeki TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleridir. Bu enzimler moleküler sınıf A fonksiyonel grup 2b'de yer alırlar ve geniş spektrumlu enzimler olarak adlandırılırlar. Klavulanik asit ile inhibe olan bu grup ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, sefalotin, sefamandol'e direnç oluştururken yeni sefalosporinlere, monobaktamlara ve sefamisinlere etkisizdirler (49).

1980'li yıllarda beta laktamazlara dayanıklı genişletilmiş spektrumlu sefalosporinlerin geliştirilmesinden kısa bir süre sonra *K. pneumoniae* suşlarında plazmid kontrolünde olan çeşitli beta laktamazlar tanımlanmıştır. Bu enzimlerin nokta mutasyonları sonucu 1, 2 aminoasit değişikliği ile TEM veya SHV enzimlerinden köken alan bu enzimlere genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL) denilmektedir (37, 38, 44-46, 49).

Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar

Kullanımdaki beta-laktam antibiyotiklerin çoğunu hidrolize etmelerinden dolayı GSBL'ler tedavide önemli bir sorundur. GSBL'ler sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, seftizoksım, seftazidim, sefpirom ve sefepim gibi oksimino-sefalosporinleri benzilpenisilinle eşit yada %10 daha fazla hidrolize edebilen, aktif bölgelerinde serin içeren ve beta-laktamaz inhibitörleri ile inhibe olabilen beta-laktamaz enzimleridir (37,38,46-50).

TEM ve SVH enzimleri içeren GSBL'ler moleküler sınıf A, fonksiyonel grup 2be'de yer alırlar. Bu enzimler penisilinleri ve tüm sefalosporinleri, aztreonamı hidrolize ederler, beta laktam inhibitörlerine duyarlıdırlar. Günümüzde sayısı 130'u aşmış TEM türü, 50'yi aşmış SHV türü beta-laktamaz saptanmıştır. Daha çok Pseudomonaslarda bulunan OXA türü GSBL'ler moleküler sınıf D fonksiyonel grup d'de yer alır (37,38, 48).

TEM Grubu GSBL:

Ampisiline dirençli *E. coli* suşlarının % 90'ındaki dirençten TEM-1,2 grubu enzimler sorumludur. Bu enzimler penisilinleri ve 1.kuşak sefalosporinleri hidrolize ederler (37, 48). TEM grubu beta-laktamazlar, *E. coli* ve *K. pneumoniae* başta olmak üzere *E. aerogenes*, *M.morganii*, *P. mirabilis*, *P. retgeri* ve *Salmonella spp.* gibi Enterobacteriaceae üyelerinde sık görülmektedir. TEM-4, TEM-21, TEM-24 ve TEM-42 Pseudomonas aeruginosa' da bulunan GSBL' lerdir (46-50).

İnhibitörlere Dirençli Beta-Laktamazlar:

1990'lı yıllarının başında beta laktamaz inhibitörlerine direnç saptanmıştır. İnhibitör rezistan TEM beta laktamaz (İRT) olarak adlandırılan bu enzimler ilk olarak amoksasilin-klavulanik asite dirençli *E. coli*'de bildirilmiştir. Varyant TEM-1 ve TEM-2 beta-laktamaz olan İRT moleküler sınıf A, fonksiyonel grup 2br' de yer alır. Yaklaşık 22 farklı İRT saptanmıştır. En çok *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytca*, *P. mirabilis*, *C.*

freundt'de bildirilmiştir. İlginç olarak piperasilin-tazobaktam kombinasyonuna karşı duyarlı olarak bulunabilirler (46-50).

SHV Grubu:

SHV grubu enzimler ilk olarak *K. Pneumoniae*' da kromozomal olarak saptanmıştır. Daha sonra *C. diversus*, *E.coli* ve *P. eruginosa*'da bildirilmiştir. Ampisilin, tikarsilin, piperasiline direnç oluşturmaktadır ve oksimino sefalosporinlere karşı aktivitesi yoktur (46- 50).

CTX-M Grubu:

Substrat olarak sefotaksimi tercih eden plazmid aracılıklı GSBL' lerdir. Seftazidimi hidrolize ederler. ancak bu klinikte dirence yol açmaz. Sefotaksim ve seftriaksonun yaygın kullanımı ile ortaya çıktığı düşünülmektedir. CTX-M grubu GSBL' lerde tazobaktamın inhibitör özelliği diğer beta-laktamaz inhibitörlerine göre daha fazladır. Günümüzde kadar bu enzimlerin (CTX-M 1-19, TOHO 1-3) sayısı 40 kadardır (46-50).

OXA Grubu:

OXA grubu enzimler, Ambler grup D'de fonksiyonel grup 2d'de yer alan ve daha çok *P. aeruginosa* 'da bulunana GSBL' lerdir.

Bu enzimlerden OXA-1'den OXA -10'a kadar olanları dar spektrumlu enzimlerdir. Oksasilin ve kloksasilini substrat olarak tercih ederler. Geniş spektrumlu OXA enzimlerinden ilki OXA-11 enzimidir ve Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde yatan bir hastadan izole edilen bir pseudomonas suşunda bulunmuştur. Bu grupta 30'dan fazla OXA enzimi tespit edilmiştir. OXA-11, 14, 15, 16 seftazidim direncine yol açarken, OXA-17 sefotaksime direnç oluşturmaktadır. OXA-31 sefepime dirençli olması seftazidime duyarlı olması ile dikkatleri üzerine çekmiştir. Son olarak OXA-20, OXA-23, OXA-

24, OXA-45 gibi yeni tanımlanan bazı enzimler karbapenamaz aktivitesi gösterir iken GSBL değildirlir (46- 51).

Diğer GSBL'ler:

Son yıllarda TEM, SHV, OXA veya CTX-M beta laktamazlardan köken almamış yeni GSBL'ler bulunmuştur. Bunların ilki plazmid kontrolünde olan PER- 1 Türkiye'de *P. aeruginosa*'dan izole edilmiştir. Daha sonra *A. baumannii*'de, *Salmonella* spp. de izole edilmiştir (48, 52, 54, 55). PER-1 enziminin özelliği, seftazidime çok dirençli olmalarına karşın piperasiline daha az dirençli olmalarıdır. Bu enzimler klavulanik asit ve tazobaktama duyarlıdır. Ayrıca bölgesel ağırlıklı olmak üzere BES-1, FEC-1, CME-1, TLA-1, PER-2, VEB-1, GES-1 ve nihayet imipenem direncini de taşıyan GES-2' de *P. aeruginosa*'dan Fransa'da tespit edilmiştir (52-55).

Plazmid kaynaklı AmpC beta laktamazlar

Plazmid kaynaklı AmpC üretiminden ampR regulatör geninin kaybı nedeniyle yüksek seviyelerde enzim üretimi sorumlu tutulmuştur. Bu enzimler çoğunlukla *K. pneumoniae*, *K oxytoca*, *Salmonella* spp, *P. mirabilis* ve *E. coli*'de bildirilmiştir (56).

AmpC Beta-laktamazlar penisilinler, sefalosporinler ve monobaktamları inhibe eder, bunun yanında dış membran porin kaybı ile karbapenam direncine de yol açar. GSBL'lerden farklı olarak sefamisinleri de inhibe etmekte ancak ticari olarak var olan beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmemektedir. Plazmid kaynaklı AmpC beta-laktamazlar penisilinler, sefalosporinler ve monobaktam direnciyle kalmaz (56).

KARBAPENEMAZLAR

Karbapenemleri hidrolize eden beta-laktamazlar karbapenem kullanımına paralel olarak son yıllarda artan oranlarda bildirilmektedir (44,57). Karbapenemazlar Ambler sınıflamasında üç grupta yer alırlar. Moleküler sınıf A'daki karbapenemazların aktif bölgesinde serin iyonu vardır ve klavulanik asit ile inhibe olur. Moleküler sınıf B'de enzimin aktif bölgesi çinko iyonu içerir ve Metallo-Beta-Laktamaz (MBL) olarak sınıflandırılan bu grup klasik beta-laktam inhibitörlerine dirençlidir. Metal şelatörlere ya da thiol komponentlerine duyarlıdırlar. Moleküler sınıf D karbapenemazlar enzimin aktif bölgesinde serin içerirler, beta-laktamazlar inhibitörlerine zayıf duyarlıdırlar (57). Karbapenemazlar doğal olarak bulunan kromozomal kaynaklı ya da kazanılmış olabilirler (57-60).

Doğal olarak bulunan Karbapenemazlar

Yapısal olarak bulunan karbapenemazlar 1980 yıllarının başlarında nonfermantatif bakteriler ve *Aeromonas* türlerinde saptanmıştır. Bu grup karbapenemazlar aktif bölgelerinde çinko içermeleri nedeniyle moleküler sınıf B' de yer alırlar, klinik önemleri henüz açık değildir (57-60).

Kazanılmış Karbapenemazlar

Bu enzimler sadece karbapenem direncinden değil, aynı zamanda beta laktam antimikrobiyallerin direncinden de sorumludur. Moleküler sınıf B kazanılmış karbapenemazlar *Acinetobacter spp*, *P. aeruginosa* ve *Enterobacter spp*'de, moleküler sınıf D'de *Acinetobacter spp*, sınıf A ise *Enterobacterler*'de saptanmıştır (57-60).

Kazanılmış Sınıf D Karbapenemazlar

Moleküler sınıf D'de yer alan OXA tipi enzimler oksasilinaz aktivitesi gösterirler. Acinetobacter izolatlarında OXA-23, 24, 25, 26, 27 tipi, *P. aeruginosa*'da OXA-2, 10, 18, 24 tipi saptanmıştır. Bunlar karbapenemaz aktivitesi gösterirler (57-60).

Kazanılmış Sınıf A Karbapenemazlar

Fonksiyonel grup 2f (Non metallo beta-laktamazlar):

Moleküler sınıf A'da yer alan karbapenemazlardan SME-1 ve SME-2 *S. marcescens*'den, NMC-A ve IMI-1 *E. cloacae*'dan, KPC-1 ve GES-1 *K. pneumoniae*'den izole edilmiştir . Karbapenem direncinin yanında penisilin ve aztreonam direnci de mevcuttur. En fazla tazobaktam olmak üzere diğer beta-laktam inhibitörlerine duyarlıdır. Meropenemden ziyade imipenem direnci daha belirgindir. Bu direnci taşıyan suşlarda karbapenemazların yanında Amp-C tip beta-laktamazları ve TEM-1 tip beta laktamazları birlikte sentezleyebilmelerinden dolayı geniş spektrumlu bir beta laktam antibiyotik direnci oluşturabilirler (57-60).

Kazanılmış Ambler Sınıf B Karbapenemazlar

Ambler sınıf B veya Bush grup 3' de yer alan karbapenemazlar MBL olarak bilinirler, klinik açıdan en önemli karbapenemazlardır. Aztreonam dışındaki tüm beta-laktamları hidrolize eden IMP ve VIM serisi metalloenzimleri içerirler. Aminoasid dizilim homolojisini araştırılarak yapılan çalışmalarda 4 tip MBL saptanmıştır. Bunlar IMP, VIM, SPM ve GIM tipi MBL' dir. MBL'ler fonksiyonel olarak 3a, 3b ve 3c alt gruplarına ayrılır. Grup 3a'da imipenem ve penisilinler güçlü, sefalosporinler zayıf hidrolize olur. 3b enzimleri gerçek karbapenemazlardır çünkü karbapenem hidrolizi spesifiktir. 3c enzimleri ise *L. gormanii*' de bulunur (57-64).

IMP tipi beta-laktamaz:

IMP-1 beta-laktamaz ilk olarak Watanable ve ark. tarafından Japonya'da *P. aeruginosa* 'dan sonra da *S. marcescens*'den izole edilmiştir . Bu enzimin *bla*_{IMP-1} geninin horizontal geçiş kapasitesi oldukça yüksektir. Bu sebeple *bla*_{IMP-1} başta *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *K.pneumoniae* arasında daha sonra *Acinetobacter spp* ve Entereobacteriaceae ailesinde hızla yayılmaktadır (Tablo 5). Japonya'dan sonra Asya ve Avrupa'dan da IMP tipi karbapenemazlar bildirilmiştir (64-66). Çok geçmeden IMP-2, IMP-3 ve takiben *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* izolatlarında IMP-13'e kadar saptanmıştır (67-68).

IMP tipi enzimler monobaktam hariç tüm beta laktam antimikrobilyallere dirençten sorumludur. IMP-1'de imipenem direnci daha fazla olup, IMP-2 ve IMP-3 deki direnç tüm beta-laktam antimikrobilyaller için aynıdır. IMP-tip metallo-beta-laktamaz üreten bakteriler dünya için önemli bir tehlike olarak görülmektedir. IMP üreten *bla*_{IMP-1} geni pozitif *P. aeruginosa* suşlarıyla yapılan bir çalışmada hastanede uzun süre kalma, steroid kullanımı, antineoplastik tedavi verilmesi, üriner kateterin varlığı *bla*_{IMP-1} pozitifliği ile birliktelik göstermiştir ve infeksiyona bağlı ölüm oran *bla*_{IMP-1} taşıyanlarda anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (69).

Tablo 5. IMP tipi beta-laktamazlar

IMP tipi beta-laktamazlar		
Beta-laktamazlar	Bulunduğu bakteri	Bildirilen ülke
IMP-1	<i>Serratia marcessens</i>	Japonya
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Japonya
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Japonya
	<i>Pseudomonas putida</i>	Japonya
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Japonya
IMP-2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	İtalya
IMP-3	<i>Shigella flexneri</i>	Japonya
IMP-4	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Hong -Kong
IMP-5	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Portekiz
IMP-6	<i>Serratia marcessens</i>	Japonya
IMP-7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kanada
		Malezya
IMP-8	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Tayvan
IMP-9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Çin
IMP-10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Japonya
	<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	Japonya

VIM tipi beta-laktamazlar:

İlk VIM tipi beta laktamaz 1997 yılında İtalya'nın Verona şehrinde *P. aeruginosa* suşunda rapor edildi. VIM-2 Fransa'dan ve Yunanistan'dan VIM-3 Tayvan'dan *P. aeruginosa* suşlarında izole edildi (70). VIM tipi MBL üreten suşlar ise daha çok Avrupa ülkelerinden izole edilmekle birlikte, diğer VIM tipi MBL' ler dünyanın çeşitli bölgelerinden bildirilmiştir. VIM tipi MBL'ler Tablo-6'da sunulmuştur. VIM-tipi enzimler IMP tipi enzimler ile % 40 homoloji göstermektedir (70-74).

Tablo 6. VIM tipi beta-laktamazlar

VIM tipi beta-laktamazlar		
VIM-1	<i>P. aeruginosa</i>	İtalya
	<i>A. baumannii</i>	İtalya
VIM-2	<i>S. marcessens</i>	Fransa
	<i>A. baumannii</i>	Kore
	<i>P. aeruginosa</i>	Kore
	<i>P. aeruginosa</i>	Yunanistan
	<i>P. putida</i>	Kore
	<i>E. cloace</i>	Kore
VIM-3	<i>P. aeruginosa</i>	Tayvan
VIM-4	<i>P. aeruginosa</i>	Polonya
VIM-5	<i>P. aeruginosa</i>	Türkiye, Portekiz
VIM-6	<i>P. putida</i>	Singapur
VIM-7	<i>P. aeruginosa</i>	Amerika Birleşik Devletleri

BETA LAKTAMAZLARIN TANI YÖNTEMLERİ

GSBL'lerin Tanı Yöntemleri:

GSBL'ler, genellikle seftazidim ve /veya sefotaksim MIK değerlerinde orta derecede bir artışa yol açarlar ve tanımlanma güçlükleri ortaya çıkarırlar. GSBL üretimi normal duyarlılık testleriyle saptanamayabilir. Etkilenen antibiyotiklere azalmış duyarlılık bir gösterge olabilir. Antibiyogramlarda indikatör antibiyotiklerin tamamı bulunmalıdır (75).

Bir izolatın GSBL ürettiği saptandığında beta laktamaz inhibitör kombinasyonları ve sefamisinler hariç tüm sefalosporinler, penisilinler ve monobaktamlara dirençli kabul edilirler. GSBL üreten suşlar bakteri sayısının yüksek olduğu durumlarda direnç düzeylerinde artmasıyla açıklanan inokulum etkisi gösterirler. Bu durum in vitro testlerde duyarlı görülseler bile beta-laktam grubu kullanılmaması gerekliliğini ortaya koyar (75-77).

GSBL Tarama Testleri:

CLSI önerilerine göre; disk diffüzyon veya dilüsyon yöntemleriyle sefotaksim, seftriakson, seftazidim, aztreonam veya sefpodoksime karşı duyarlılığın azalması halinde doğrulama testleri kullanılmalıdır (75, 76). Tablo 7'de CLSI M 100- S15' e göre tarama testleri verildi (77).

Tablo 7. GSBL tarama testi olarak önerilen inhibisyon zonu ve MIK değerleri

GSBL'ler için tarama testi olarak önerilen inhibisyon zonu ve MIK değerleri		
Antibiyotik	Inhibisyon zonu (mm)	MIK ($\mu\text{g/mL}$)
Sefotaksim (CTX)	≤ 27	≥ 2

Seftriakson (CRO)	≤ 25	≥ 2
Seftazidim (CAZ)	≤ 22	≥ 2
Sefpodoksim (POD)	≤ 17	≥ 8
Aztreonam (ATM)	≤ 27	≥ 2

GSBL Doğrulama Testleri

- 1- Klavulanik asit içeren kombinasyon disklerinin kullanımı: CLSI önerdiği gibi, sefotaksim (30 μ g) ve seftazidim (30 μ g) disklerine 10 μ g klavulanik asit eklenir. bakteri süspansiyonunun inkubasyondan sonra kombinasyon disklerinin zon çapının, klavulanik asit içermeyen disklerin zon çaplarından ≥ 5 mm genişleme göstermesi pozitiflik olarak kabul edilir (74). Bir diğer yöntemde de klavulanik asit içeren ve içermeyen diskler etrafındaki zonların oranlanması ile ≥ 1.5 değerinin saptanması GSBL aktivitesini gösterir (75, 76).
- 2- Çift Disk Sinerji (ÇDS): Bu yöntemde bakteri süspansiyonu 0.5 McFarland standardında hazırlanır, MHA plağına yayılır. Plağın ortasına amoksisilin-klavulanik asit diski (AMC;20/10 μ g) ve etrafına disk merkezleri arasındaki uzaklık 20-30 mm olacak şekilde seftazidim (CAZ), seftriakson (CRO), sefotaksim (CTX-M), aztreonam (ATM) veya sefpodoksim (POD) diskleri yerleştirilir. Bir gece 35 °C'de inkübasyondan sonra antibiyotik disklerinin çapında AMC diskinde doğru genişleme ya da arada bakterinin üremediği bir sinerji alanının bulunması GSBL mevcutiyesini gösterir. Bu yöntemin kolay ve ucuz bir yöntem olması avantajdır. Bunun yanında GSBL üretiminin fazla olduğu ya da AmpC tipi enzim üretimi ile birlikte olduğu hallerde diskler arası uzaklığın 20 mm indirilmesi gerektiği, AMC ve 3.kuşak sefalosporin disklerinde inhibisyon zonunun bulunmadığı durumlarda disklerin 15-17 mm ara ile yerleştirilmesi önerilmektedir (75, 76).

- 3- Sulandırım yöntemi: Sefotaksim ve seftazidim MIK değerleri tek başına ve klavulanik asit (CA) (4µg/mL) ile birlikte değerlendirilir. CA ile birlikte olan MIK değerinin 8 kat azalması GSBL göstergesidir (78, 79).
- 4- E-test GSBL stripleri: Bir ucunda CAZ, diğer ucunda CAZ'a klavulanik asit eklenerek hazırlanan E test striplerinde MIK değerlendirilir. MIK değerinde ≥ 8 kat azalma olması ya da fantom zonu görüldüğü durumlar da GSBL pozitif olarak kabul edilir (78).
- 5- Diğer fenotipik yöntemler: MHA içine 4µg/mL olacak şekilde klavulanik asit eklenmesi başka bir GSBL arama testidir (75, 76).
- 6- Üç boyutlu test: Thomson ve Sanders'ın bildirdiği bu testte; mikroorganizma agar yüzeyine ekildikten sonra agarda yarık açılır. Bu yarık içi test edilecek mikroorganizmanın üretildiği sıvı besiyeri ile doldurulur. Bu yarıktan 3 mm uzaklıkta diskler yerleştirilir. Yarığa bakan yüzde disklerdeki zon çaplarında bozulma ve daralma gözlenmesi GSBL pozitifliği olarak değerlendirilir (75, 76).

Tablo 8. GSBL saptama yöntemleri

Yöntemin tipi	Test adı	Avantaj	Dezavantaj
Fenotipik	CLSI yorumu kriterleri	Kolay, her laboratuvarında kullanılabilir	GSBL her zaman direnç kategorisinde değildir.

	CLSI doğrulama testleri	Uygulama ve yorum kolay	Duyarlılık oksiminosefalosporinlerin seçimine göre değişir
	Çift Disk sinerji (ÇDS) Üç boyutlu test	Kolay, uygulanabilir	Disklerin yerleştirildiği uzaklık standart değildir.
	E-test GSBL stripleri	Duyarlı, yorumu kolay	GSBL'lere özgül değil, emek yoğun
	Vitek GSBL	Uygulaması kolay	Yorum zor. ÇDS kadar duyarlı değil ve çok pahalı
		Uygulaması kolay	Duyarlılık düşük veri tabanına bağlı
Genotipik	DNA problemleri	Gen ailesine özgül (TEM, SVH)	Zahmetli, TEM ve SHV ayırımı yapamaz.
	PCR	Uygulaması kolay ve gen ailesine özgül	TEM ve SHV ayırımı yapamaz.
	Oligotiplendirme	Özgül TEM varyantları saptanır	Yoğun emekli, yeni varyantları ayıramaz
	PCR-RFLP	Uygulama kolaylığı, spesifik nükleotid değişimleri saptanır	Spesifik nükleotid değişimi saptanması gerekir.
	PCR-SSCP	Bazı SVH varyantlarının ayırımı	Özel elektroforez koşulları gerekir
	LCR	Bazı SVH varyantlarının ayırımı	Çok sayıda oligonükleotid öncülü gerekir.
	Nükleotid dizi analizi	Altın standart, yeni enzimler saptanır.	Özel teknik cihazlar gerekir.

PCR; polimerize zincir reaksiyonu LCR: ligaz zincir reaksiyonu

İndüklenebilir Beta-Laktamaz Tanı Yöntemleri

Başlıca İBL tanı yöntemleri

1. **Disk Yakınlaştırma Yöntemi:** Sefoksitin ya da imipenem gibi güçlü beta-laktamaz indükleyicilerinin çevresine merkezden merkeze 1.5-2.0 cm uzaklıkta olacak şekilde aztreonam veya 3. kuşak sefalosporin

gibi zayıf indükleyici disk yerleştirildiğinde, zayıf indükleyici disklerdeki inhibisyon zonunun en az 4 mm' lik küçülmesi İBL varlığını gösterir (78- 81).

2. **İndükleyici Ajanın Besiyerine Eklenmesi:** Standart miktarda imipenem içeren ve içermeyen besiyerlerine sefotaksim veya diğer uygun beta laktam antimikrobiyal diskleri yerleştirilir. İmipenem içeren besiyerindeki inhibisyon çapının imipenem içermeyene kıyasla 3 mm veya daha dar olması İBL varlığını gösterir (78-81).

Metallo-Beta-Laktamazların Araştırılması

Metallo beta-laktamazlar mobil integronların yardımıyla sayılarını artırmakta ve gram negatif bakteriler arasında yayılmaktadır. MBL üreten suşlar monobaktam hariç tüm beta laktamlara dirençlidirler. MBL üreten etkenle infekte hastaların optimal tedavisi için bu direncin tanınması ve yayılmasının kontrol edilebilmesi gerekmektedir. Ancak halen CLSI önerdiği bir tarama testi bulunmamaktadır (82, 83).

Modifiye Hodge testine ek olarak MBL aktivitesinin etilen diaminotetra asetik asit (EDTA) yada merkaptopropionik asit (MPA) gibi metal selatör ajanlarla bloke edilmesi esasına dayanan bir çok MBL tarama çalışmaları yapılmıştır. Modifiye Hodge testi ve imipenem-EDTA çift disk diffüzyon testi MBL saptanmasında kullanılan basit tarama testleridir, bunun yanında başarılı sonuçları PZR (polimerize zincir reaksiyonu) ile doğrulanmış olan diğer tarama yöntemlerinde de bahsedilecektir (82-88).

1- Modifiye Hodge test:

Hodge ve arkadaşları *N. gonorrhoeae*'de penisilinaz aktivitesinin gösterilmesi için Hodge testini kullanmışlardır. Lee ve arkadaşları ise MBL enzimini saptamak için Modifiye Hodge testini geliştirmişlerdir. Bu test için imipenem hassas *E. coli* ATCC 25922 suşu, imipenem diski (10 µg) ve test

edilecek bakteri suşu gerekmektedir. MHA yüzeyine 0.5 McFarland'ı ayarlanmış, bir gece inkübasyona bırakılmış standart *E.coli* suşu kültür süspansiyonunun ekimi yapılır, plak kuruyunca ortasına 10 µg imipenem diski yerleştirilir. İmipenem diskinin tam kenarından başlanıp dışa doğru doğrusal olarak imipenem dirençli suşun ekimi yapılır. Bir gecelik inkübasyon sonrasında inhibisyon zonunda yonca yaprağı şeklinde bozulmanın olması MBL pozitifliği olarak kabul edilir. Lee ve ark. MBL saptamak için yaptıkları çalışmalarda çinko sülfat (140 µg /disk) imipenem diskine eklenerek ya da Müeller-Hinton agara çinko sülfat eklenerek testin duyarlılığının artırılabilceğini belirtmişlerdir (82, 83).

2- Çift disk sinerji testleri (ÇDST):

MBL saptanması çalışmalarında imipenem ve seftazidim disklerinin EDTA, MPA, merkaptto asetik asit (SMA) emdirilmiş disklerle yapılan çift disk sinerji testleri kullanılmıştır. Bunlar;

- IMP-EDTA çift disk sinerji testi
- IMP-MPA çift disk sinerji testi
- CAZ-MPA çift disk sinerji testi
- CAZ-SMA çift disk sinerji testi
- IMP-EDTA-SMA çift disk sinerji testi

İmipenem-EDTA ÇDST: Lee ve ark. IMP dirençli izolatlarda MBL saptanması için IMP-EDTA ÇDST'ni uygulamışlardır. Bu test için test edilecek IMP dirençli *P. aeruginosa* suşunun bir gecelik inkübasyon sonrası elde edilen kültür süspansiyonu Müeller-Hinton agar plağının üzerine 0.5 McFarland bulanıklığında olacak şekilde ekilir. Plak yüzeyi kuruduktan sonra 10 µg IMP diski yerleştirilir. IMP diskinin 15 -20 mm ötesine 0.5 molarlık EDTA solüsyonunun 10 µl'si emdirilmiş disk yerleştirilir. Bir gecelik inkübasyondan sonra inhibisyon zonundaki düzensizleşmelerin olması MBL pozitifliği olarak değerlendirilir (82,83).

CAZ-MPA, CAZ-SMA , IMP-EDTA-SMA Çift Disk Sinerji Testi : Arakawa ve ark tarafından geliştirilen bu tarama testinde CLSI laboratuvar standartlarına göre test edilecek bakteri MHA besiyerine ekilir. İki tane CAZ diski (30 µg) 4-5 cm aralıklarla yerleştirilir. 2-MPA emdirilmiş disk seftazidim disklerinden birisinin 1-2.5 cm yakınına eklenir. 37°C' de bir gecelik inkübasyondan sonra CAZ diskinin inhibisyon zonunda bir genişleme olması IMP-1 üretimi açısından pozitiflik olarak değerlendirilir. Metallo-beta-laktamaz inhibitörü olarak CuCl₂ (5 µl), FeCl₂ (5 µl), EDTA (5 µl), 2-MPA (2-3 µl) ve merkaptasetik asit (2-3 µl), merkaptoetanol (2-3 µl) kullanılarak da doğru sonuçlar elde edilebilir. En iyi sonuç 2-merkapto propionik ile elde edilmiştir. Ağır metallerle yapılan testlerde de inhibitör zonlarında genişleme olmuştur, ancak PCR ile yapılan testler MBL varlığını doğrulamamıştır (84).

Jing Jou Yan ve ark. (85) MBL tarama çalışmasında seftazidim, seftazidim klavulanik asit, sefepim diskleri ve MBL inhibitörü olarak EDTA, MPA, SMA gibi şelatörler kullanmışlardır. Bu yöntemle AmpC tip enzimlerin aşırı salınımını ya da SHV-12 salınımının yanlış pozitifliğe neden olması ortadan kaldırmış ve test daha özgül hale getirilmiştir. Bu yöntemle imipenem hassas suşlarda da MBL taranabilmiştir. Bu çalışmalar karbapenemaz direncini yansıtan MBL sadece imipenem dirençli suşlarda değil, aynı zamanda imipenem hassas suşlarda da bulunduğunu ortaya koymuştur.

Lee ve ark (82, 83) *P. aeruginosa*'da MBL taraması için imipenem direnci olan suşlarla çalışmanın, seftazidim dirençli suşlar ile çalışmaktan daha iyi sonuçlar verdiğini göstermişlerdir. Her üç MBL inhibitörü kullanılarak *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter spp*, için MBL taramaları yapılmış, sonuçlar eşdeğer olarak saptanmıştır (86, 87).

3- Kombine Disk Diffüzyon Testi :

Yong ve ark.(85) MBL araştırmasında kullanmışlardır. Test edilecek bakteri CLSI önerdiği şekilde MHA inokule edilir ve iki imipenem (10 µg) diski yerleştirilir. Disklerden birisinin üzerine 0.5 M EDTA' nın pH= 8'de hazırlanmış solusyonundan 10 µl eklenir ve bir gecelik inkübasyondan sonra İMP diski ile İMP–EDTA'lı diskin zon çaplarında 7 mm veya daha fazla fark olması MBL pozitifliği olarak yorumlanır. Kombine disk difüzyon testinde İMP-EDTA kombinasyonu dışında 2-MPA ile kombinasyon da kullanılabilir. Ancak 2-MPA'un kimyasal olarak uçucu olması ve saklanması zorluğu nedeniyle İMP-EDTA diskleri tercih edilmiştir. İMP-EDTA diskleri kuru şekilde + 4 yada -20 derecede etkinliğinde azalma olmadan 12-16 hafta saklanabilir (85, 88, 89).

4- E-test yöntemi:

İMP ya da CAZ' e , EDTA ya da 2-MPA eklenerek E-test stripleri geliştirilmiştir. Walsh ve ark.'nın (88) çalışmasında MHA'a CLSI önerdiği şekilde test edilecek bakteri ekimi yapılır. Plaklar kuruduktan sonra E - test stripleri yerleştirilir. 35°C'de inkübe edilir ve 16-18 saat sonra İMP/ İMP-EDTA MIK oranlarının 8 kat azalması ya da fantom zonunun görülmesi MBL pozitifliği olarak değerlendirilir. Bu yöntem % 94 duyarlı ve % 95 özgün bulunmuştur. Arakawa ve ark.(84) MPA kullanarak yaptıkları çalışmada da oldukça sensitif sonuçlar bulmuşlardır. E- test yöntemiyle aerobik yada anaerobik bakterilerde hem kromozomal hem de plazmid kaynaklı MBL saptanabilir (85, 88).

5- Mikrodilüsyon test:

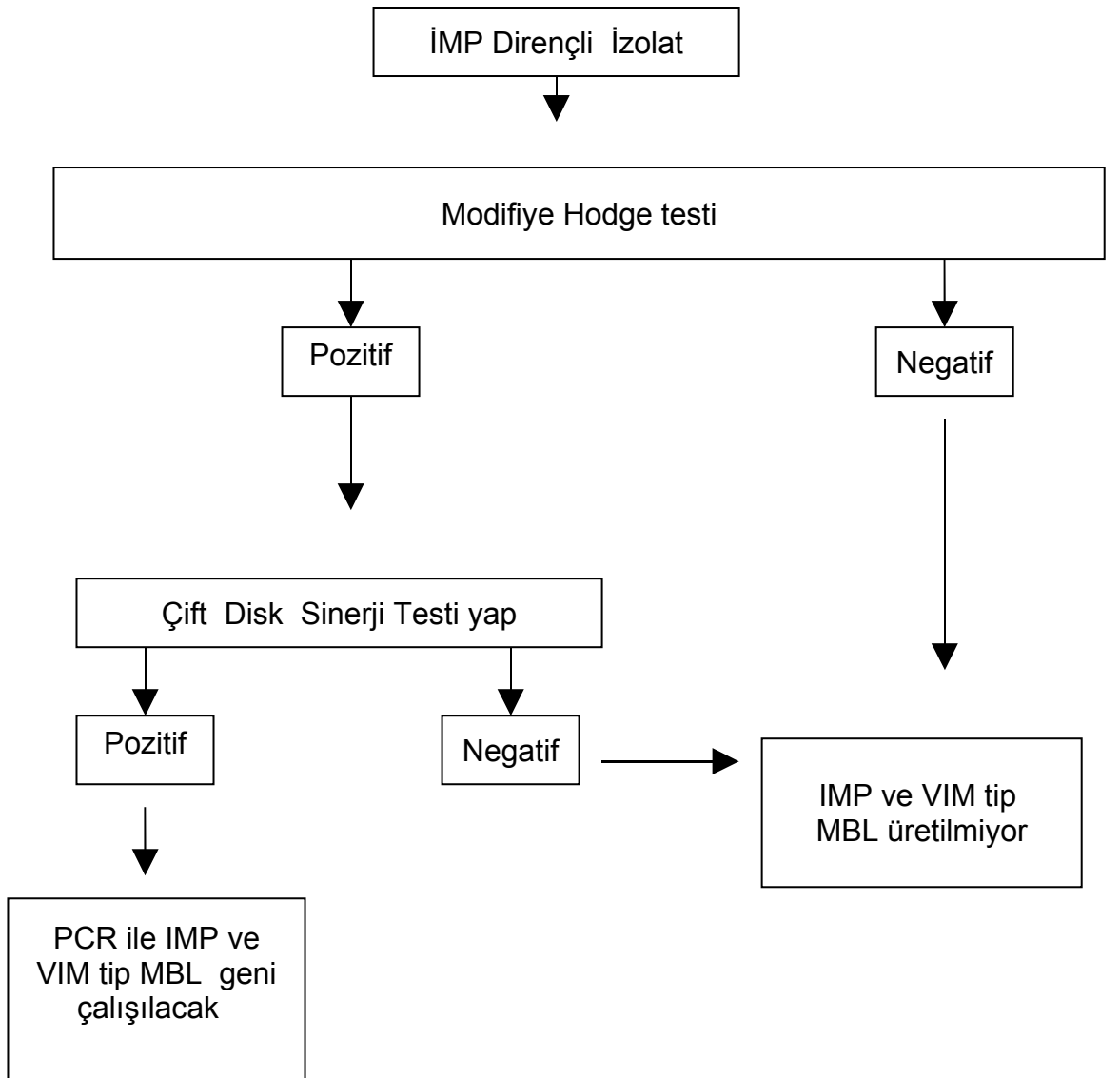
Migliavacca ve ark. (86) tarafından geliştirilmiş olan mikrodilüsyon MBL tarama testi basit, duyarlı ve yüksek özgüllüğe sahiptir. Rutin

mikrobiyoloji laboratuvarlarında çalışılmaya da uygundur. İmipenem MIK değeri mikrodilüsyon yöntemi ile ölçülür, sonra metal şelatörlerden EDTA ve fenantirolin eklenerek tekrar MIK değerine bakılır, 8 kat azalma pozitif olarak değerlendirilir .

7- Moleküler yöntemler:

Moleküler yöntemlerden başlıca kullanılanlar şu şekilde sıralanabilir; blot hibridizasyon yöntemi, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), nükleotid sekans amfikasyon yöntemi, izoelektrik fokuslama yöntemi ve poliakrilamid jel elektroforezi (82).

MBL üreten basillerin neden olduğu infeksiyonların kontrolü ve direncin yayılmasının izlenmesi için basit ve hızlı tarama testleri gerekmektedir. MBL taramasında izlenecek basit algoritma Şekil-1' de verilmiştir .



Şekil 1. İMP dirençli suşlarda MBL tarama algoritması.

MATERYAL VE METOD

Nisan 2003-Nisan 2004 tarihleri arasında hastanemizin çeşitli kliniklerinden gönderilen kültürlerden hastane infeksiyon etkeni olarak izole edilen 172 *P. aeruginosa* suşu çalışmaya alındı.

Nonfermentatif, oksidaz pozitif, aerop, hareketli, Brain Heart Broth'da 37 °C ve 42 °C' de üreyen, +4 °C'de üremeyen, karakteristik kokusu olan ve mavi-yeşil pigment yapan suşlar *P. aeruginosa* olarak değerlendirildi. Bu suşlar -20°C' de saklama besiyerinde saklandı.

Antimikrobiyal duyarlılığının araştırılması (Kirby Bauer) disk diffüzyon metodu ile CLSI M2-A6'ya göre ve antimikrobiyallerin seçimi de CLSI M100-S15' ye göre yapıldı (77). Kontrol suşu olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu kullanıldı. Antimikrobiyal duyarlılık, IBL ve ESBL saptanması disk difüzyon testi ile yapıldı. 4 mm kalınlığında 9 cm çaplı 2 adet ve 15 cm çaplı 1 adet Müeller-Hinton agar besiyeri kullanıldı.

IBL üretimi disk yakınlştırma metodu ile, GSBL üretimi ise çift disk sinerji yöntemi ile tespit edildi. MBL araştırılması Modifiye Hodge test ve İmipenem - EDTA kombine disk diffüzyon testi ile değerlendirildi.

Antimikrobiyal duyarlılık testi için 0.5 McFarland'a göre hazırlanmış bakteri süspansiyonlarının ekimi MHA üzerine yapıldı. Birinci petri kutusuna İBL tayini için merkeze imipenem (IMP) ve 20 mm uzağa sefotaksim (CTX),

sefoperazon (CFP), sefoksitin (FOX), ikinci petri kutusuna ESBL tayini için merkeze amoksisilin-klavulanik asit (AMC) diski ve 25 mm uzağına seftazidim (CAZ), aztreonam (ATM), sefotaksim (CTX), sefepim (FEP), diskleri, 150 mm çaplı olan petri kutusuna ise diğer antibiyotikler olan gentamisin (CN), amikasin (AK), tobramisin (TOB), meropenem (MEM), siprofloksasin (CIP), Tazobaktam-piperasilin (TZP), Trimethoprim sulfometaksazol (SXT), sefoperazon (CFP), netilmisin (NET) diskleri yerleştirildi. Ekim yapılan petriyer 35°C'de 16-18 saat inkübe edildi.

İBL saptanması için ekim yapılan petride kullanılan beta laktam disklerinin İMP diskine yakın olan zon kenarlarındaki daralmanın 4 mm veya daha fazla olması durumu IBL pozitifliği olarak değerlendirildi. Petriyer 35 °C de 16-18 saat inkübe edildi (80, 81).

GSBL saptanması için ise ekim yapılan petride beta-laktam diskleri çevresindeki inhibisyon zonunun, AMC' ye doğru belirgin genişlemesi veya iki disk arasında inhibisyon olan başka bir alanın varlığı pozitiflik olarak değerlendirildi. *P. aeruginosa*'nın diğer antimikrobiyallere olan duyarlılık CLSI kriterlerine göre belirlendi (75, 77).

MBL saptanmasında, Modifiye Hodge testi için MHA üzerine bir gece inkübasyona bırakılmış olan ATCC 25922 *E. coli* suşunun 0.5 McFarland'a göre hazırlanmış süspansiyonun ekimi yapıldı. Plak kuruduktan sonra merkeze İMP (10µg) diski yerleştirildi. Test edilecek İMP dirençli *P. aeruginosa* suşlarının ekimi karşılıklı olacak şekilde merkezden perifer doğruşal olarak yapıldı. 35°C'de 16-18 saat inkübe edildikten sonra imipenem diski inhibisyon çapında görülen yonca yaprağı şeklindeki bozulma pozitiflik olarak değerlendirildi (82).

İMP-EDTA kombine disk diffüzyon testi için MHA üzerine test edilecek imipenem dirençli *P. aeruginosa* suşlarının ekimi yapıldı. Merkeze imipenem diski (Neo-Sensitabs ®) 15 µg yakınına da 750 µg EDTA

eklenmiş IMP-EDTA (Neo-Sensitabs ®) diski yerleştirildi. Bir gecelik inkübasyon sonrasında imipenem-EDTA diski zon çapının imipenem zon çapından 7 mm ve daha üzeri olması pozitiflik olarak kabul edildi (83).

BULGULAR

Hastane infeksiyonları etkeni olarak izole edilen 172 *P.aeruginosa* suşunun klinik örneklerle göre dağılımı; % 34'ü trakeal aspirat, % 23'ü idrar, % 22'si yara yeri, % 5'i BOS, % 3'ü balgam, % 3'ü safra, % 3'ü apse kültürü, % 2' si kateter, % 2'si periton mayii, % 1' i kan kültürü idi.

P. aeruginosa suşlarının izole edildiği klinik örneklerle ve kliniklere göre dağılımı Tablo 9'da gösterildi.

Tablo 9. *P. aeruginosa* suşlarının izole edildiği klinik örneklerle ve kliniklere göre dağılımı

KLİNİK	Trakeal aspirat	İdrar	Yara	BOS	Balgam	Apse	Safra Mayi	Damar içi kateter	Periton mayii	Kan	Toplam	
											N	%
Reanimasyon	56	6	7	2	1	-	-	1	-	-	73	42
Dahiliye	-	20	6	-	4	2	-	2	-	1	35	20
Cerrahi	-	4	13	-	-	3	6	1	2	1	30	17
Beyin cerrahi	3	3	5	6	1	-	-	-	1	-	19	11
Ortopedi	-	1	5	-	-	1	-	-	-	-	7	4
KBB	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	2	1
Kadın hastalıkları ve doğum	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1
Nöroloji	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1
Diğer	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1
Toplam N	59	40	38	8	6	6	6	4	3	2	172	
%	34	23	22	5	3	3	3	4	4	1		

Pseudomonas suşlarında; seftazidim'e % 24, sefoperazon'a % 71, sefoperazon-sulbaktam'a % 57, sefepim'e % 46, imipenem'e % 37, meropenem'e % 45, piperasilin-tazobaktam'a % 38, tobramisin'e % 56, amikasin'e % 29, gentamisin'e % 58, trimetoprim- sulfametaksazol'e % 87, aztreonam'a % 53, siprofloksasin'e % 52 oranında direnç saptanmıştır. Tüm suşların çeşitli antibiyotiklere direnç oranları Tablo 10'da verildi.

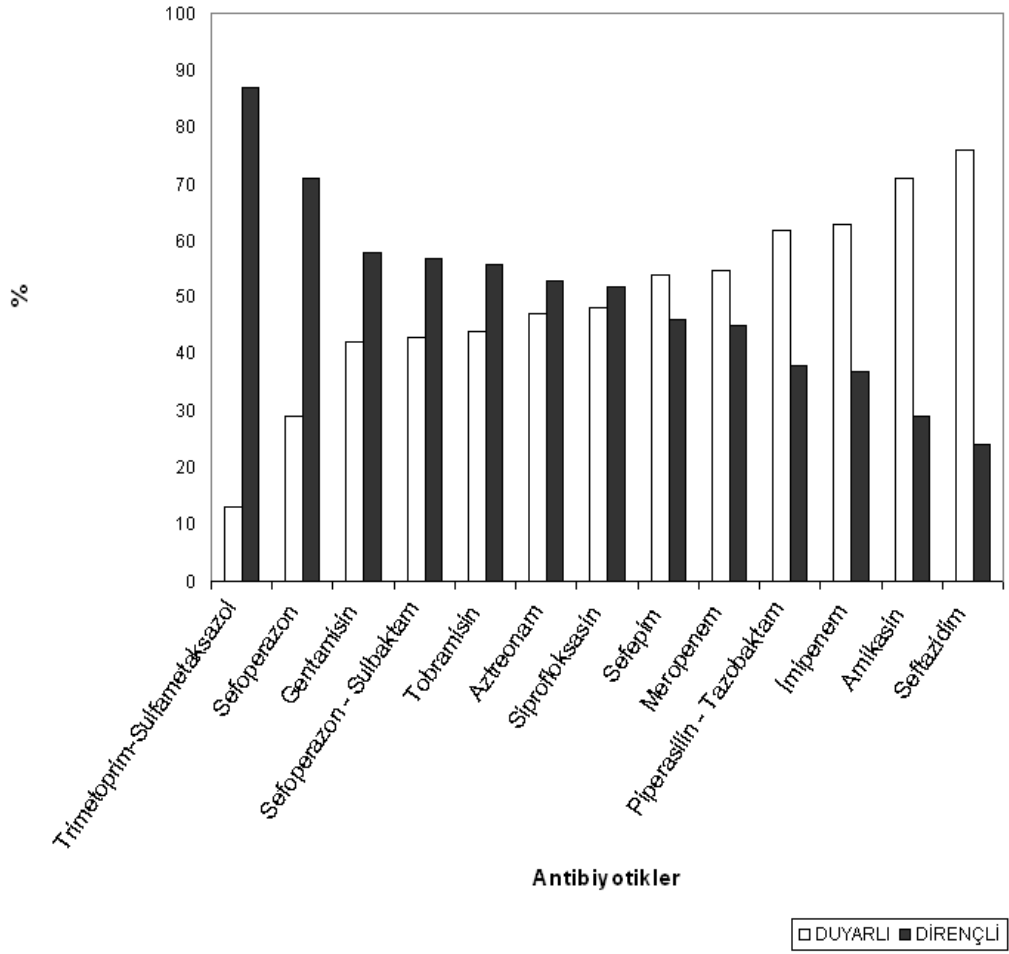
Tablo 10. Tüm suşların çeşitli antibiyotiklere direnç oranları.

Antibiyotikler	Duyarlı		Dirençli	
	N	%	N	%
Seftazidim	131	76	41	24
Sefoperazon	50	29	122	71
Sefoperazon - Sulbaktam	74	43	98	57
Sefepim	93	54	79	46
İmipenem	109	63	63	37
Meropenem	94	55	78	45

Aztreonam	81	47	91	53
Piperasilin – Tazobaktam	106	62	66	38
Gentamisin	73	42	99	58
Amikasin	122	71	50	29
Tobramisin	76	44	96	56
Trimetoprim-Sulfametaksazol	22	13	150	87
Siprofloksasin	82	48	90	52

Grafik 1. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları

Pseudomonas aeruginosa suşlarının antibiyotik duyarlılıkları



İzole edilen *P. aeruginosa* suşlarında Disk Yakınlaştırma yöntemi ile İBL % 40, Çift Disk Sinerji yöntemi ile GSBL % 5 oranında saptandı.

İBL pozitif olan *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotik dirençleri tablo 11'de, ESBL pozitif olan suşların antibiyotik direnç durumları da Tablo 12'de verildi.

Tablo 11. İBL pozitif *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç durumları

Antibiyotikler	Duyarlı	Dirençli
----------------	---------	----------

	N	%	N	%
Seftazidim	56	82	12	18
Sefoperazon	40	58	28	42
Sefoperazon-Sulbaktam	47	69	21	31
Sefepim	54	79	14	21
İmipenem	53	77	15	23
Meropenem	49	72	19	28
Aztreonam	46	68	12	32
Piperasilin-Tazobaktam	57	83	11	17
Gentamisin	42	62	16	38
Amikasin	61	89	7	11
Tobramisin	48	71	20	29
Trimetoprim-Sulfametaksazol	17	25	51	75
Siprofloksasin	44	65	13	35

Tablo 12. ESBL pozitif *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç durumları

Antibiyotikler	Duyarlı		Dirençli	
	N	%	N	%
Seftazidim	5	62	3	38
Sefoperazon	3	38	5	62
Sefoperazon-Sulbaktam	4	50	4	50
Sefepim	5	62	3	38
İmipenem	7	88	1	12
Meropenem	6	75	2	25
Piperasilin-Tazobaktam	8	100	0	0
Aztreonam	7	88	1	12
Gentamisin	4	50	4	50
Amikasin	8	100	0	0
Tobramisin	5	62	3	38
Trimetoprim-Sulfametaksazol	1	12	7	88
Siprofloksasin	4	50	4	50

Çalışmamızda disk diffüzyon testi ile 63 (% 31) *P. aeruginosa* suşunda imipeneme direnç saptandı. Bu suşların diğer antibiyotiklere olan direnç durumu Tablo 13’de verildi.

Tablo 13. İmipenem dirençli olan *P. aeruginosa* suşlarının diğer antibiyotiklere direnç durumu

Antibiyotikler	Duyarlı		Dirençli	
	N	%	N	%
Seftazidim	53	84	10	16
Sefoperazon-Sulbaktam	0	0	63	100
Sefepim	5	8	58	92
Aztreonam	10	16	53	84

Piperasilin-Tazobaktam	12	19	51	81
Gentamisin	2	3	61	97
Amikasin	28	44	45	56
Tobramisin	2	3	61	97
Trimetoprim-Sulfametaksazol	0	0	63	100
Siprofloksasin	2	3	51	97

Sonuç olarak, nozokomiyal infeksiyon etkeni olan *P. aeruginosa* suşlarında en az direnç seftazidimde bulunurken, bunu amikasin, imipenem, piperasilin- tazobaktam, meropenem, sefepim takip etmekte idi.

TARTIŞMA VE SONUÇ

P. aeruginosa nonfermentatif bakteriler içerisinde en sık hastane infeksiyonu etkenidir. Değişik çalışmalarda hastane infeksiyonlarının % 8-25' inden sorumlu tutulmuştur. Pseudomonas infeksiyonları yoğun bakım üniteleri, yanık üniteleri, kanser kemoterapisi uygulanan veya geniş spektrumlu antibiyotik kullanılan birimlerde daha sık görülür.

Çalışmamızda, *P. aeruginosa* suşları en sık yoğun bakım ünitesi (% 42) olmak üzere, dahiliye (% 20) ve cerrahi (% 18) kliniklerinden izole edildi. Bu suşlar en sık trakeal aspirat (% 59) olmak üzere, idrar (% 40) ve yara yeri (% 38) kültürü izolatları idi. Ülkemizde yapılan çalışmalarda

da *P. aeruginosa* suşları en sık yoğun bakım ünitesinden izole edilmiş olup, sıklık sırasına göre izole edildikleri klinik materyaller trakeal aspirat , idrar ve yara yeri kültürüdür (90, 91).

Pseudomonas aeruginosa genetik olarak birçok antibiyotiklere doğal olarak dirençli olmasının yanı sıra, kemoterapi sırasında da çoklu dirençli suşlar ortaya çıkabilmektedir. Bu direnç mekanizmalarının başlıcaları; beta laktamazların salınması, dış membran geçirgenliğinin azalması, aktif dışa pompalama sistemleridir. *P. aeruginosa* suşlarında beta-laktamaz enzimi üretimi antibiyotik direnç gelişiminde en önemli mekanizmadır. Bunlar AmpC tipi beta-laktamaz sentezlenmesi, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, karbapenemazlar olarak sayılabilir. Aktif pompalama sistemleri kromozomal beta-laktamazlar ile beraber ya da ayrı olarak aktif hale gelirse karbapenemler de dahil birçok antibiyotiğe tek tek ya da çoğul direnç oluşur. Daha da önemlisi bu sistem tedavi sırasında aktif hale gelebilmekte ve böylece çoğul hatta tam dirençli suşlar ortaya çıkabilmektedir (92).

Pseudomonas infeksiyonlarında ilk tercih edilecek sefalosporinlerden birisi seftazidimdir. Çalışmamızda *pseudomonas* suşlarında seftazidim direnci % 24 olarak bulundu. Diğer sefalosporinlerden sefoperazon direnci % 71, sefoperazon-sulbaktam direnci % 57, sefepim direnci % 46 idi. Ülkemizde yapılan farklı çalışmalarda sefalosporin direnç oranları seftazidim % 15-60, sefoperazon % 50-85, sefoperazon- sulbaktam % 28-58, sefepim % 20-45 oranındadır. Çalışmamızda beta laktam antibiyotiklerden piperasilin- tazobaktam ve aztreonam direnci sırasıyla % 38, % 53 olarak saptandı. Diğer çalışmalarda piperasilin-tazobaktam direnci % 9-33, aztreonam direnci % 13-88'dir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda *pseudomonas* cinsi bakterilerdeki antibiyotik duyarlılıkları Tablo-14' de verildi (93-106).

Pseudomonas infeksiyonlarında aminoglikozidler kombine tedavinin bir parçasıdır. Çalışmamızda gentamisine % 58 oranında direnç saptandı.

Çeşitli çalışmalarda saptanan gentamisin direnci % 14-64 arasında değişmektedir. Çalışmamızda amikasin direncini % 29, tobramisin direncini % 56 olarak saptandı. Ülkemizde yapılan çalışmalarda amikasin'e direncin % 13-40, tobramisine direncin % 37-81 arasında olduğu bildirilmektedir. Aminoglikozid direncine; ribozomlara karşı afinite değişikliği, membran permeabilite değişimine yol açan mutasyonlar ve aminoglikozid modifiye edici enzim mutasyonları neden olur (107).

Kinolon grubu antibiyotikler pseudomonas infeksiyonları tedavisinde kullanılan antibiyotiklerdendir. Çalışmamızda siprofloksasin direnci % 52 idi. *P. aeruginosa*'da çeşitli çalışmalarda bildirilen siprofloksasin direnci % 7-60 arasında değişmektedir (Tablo-14). Kinolonlara dirençte asıl mekanizma DNA giraz enziminin mutasyonu olup, dış membran proteinlerinin özellikle de OmpF, OmpC defektleri ile oluşan dış membran geçirgenliğinin değişmesi ve aktif dışa pompalama sistemleri de kinolon direncine neden olur (108).

İBL üreten izolatlarda beta laktam grubu antibiyotiklerin özellikle sefalosporinlerin kullanımıyla normalde az olan beta laktamaz enziminin yapımı aşırı artabilir, bir mutasyon sonucu enzim indüksiyona gerek kalmaksızın aşırı ve devamlı üretilir hale gelebilir buna “derepresyon” yada “stabil derepresyon” denilmektedir. Karbapenemler hem indükleyici hem de dereprese mutantlara etkili olduğu için seleksiyona yol açmaz. Dereprese mutantların seçilme riski nedeniyle, genişletilmiş spektrumlu sefalosporinlerin İBL sentezlediği bilinen bakteriler ile gelişen üriner sistem infeksiyonları dışındaki infeksiyonlarda kullanılmamalıdır (107).

Anti- pseudomonal penisilin ve sefalosporinlere karşı direnç gelişimine neden olan GSBL'ler pseudomonas cinsi bakteriler arasında da son yıllarda artan oranlarda görülmeye başlamıştır. *P. aeruginosa*' da TEM, SHV, PER ve OXA türü GSBL'ler görülür (109).

Bu çalışmada disk yaklaşım yöntemi ile % 40 oranında İBL ve çift disk sinerji yöntemi ile % 5 oranında GSBL tesbit edildi.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda *P. aeruginosa*'daki İBL oranları Tunçbilek ve ark. % 43, Erdem ve ark. % 55, Ersoy ve ark. % 55, Ersöz ve ark. % 59, Gencer ve ark. % 53, Keşli ve ark. % 22, Özkalay ve ark. % 65 olarak bulunmuştur (110-115).

GSBL oranlarını ise Ersöz ve ark. % 30, Vahaboğlu ve ark. % 11, Gencer ve ark. % 4, Keşli ve ark. % 5.6 olarak saptamışlardır. Ülkemizde GSBL oranları % 0-18 arasında değişmektedir (112-116).

Tablo 14. *P. aeruginosa*'nın çeşitli çalışmalardaki antibiyotik direnç durumu

Kaynak (-yıl)	CAZ	CFP	CFP/ SUL	FEB	IMP	MEM	TZP	TOB	AK	GN	SXT	ATM	CIP
Erdem ve ark. (1995)	60	85			18			81	40	55		88	60
Çobanoğlu ve ark. (1999)	38	77		9	23	38	26	44	3	58	100	40	33
Zer ve ark. (2000)	33	50	52		23			40	13	55		61	8
Demirci ve ark. (2001)	33				7		55		15	40		37	12
Ayyıldız ve ark. (2002)	15				3				3	19			10
Özgenç ve ark. (2002)	23				18			57	27	64		44	40
Yücel ve ark. (2002)	21		28	20	17		24	37	26	40		22	40
Ünlü ve ark. (2002)	42			37	29	22	9		33	56		24	9
Gencer ve ark. (2002)	25		41	46	27	40	56					28	15

Ersöz ve ark. (2004)	38		42	30	29	33	44	38	56		59	15	
Gültekin ve ark. (2004)	18			11		18	3	2	14		13	7	
Demir ve ark. (2004)	54	58	45	16	23	15		40				20	
Candevir ve ark. (2005)	53	28	45	43	55	19	71	50	76		75	49	
Yücel ve ark. (2005)	40	37		31	36	39	45	15	42		36	15	
Darka ve ark. (2005)	30		24	30	36	15	49	21	52			27	
Pullukçu ve ark. (2005)	42		32	24	26	42		15		52	32		
Bu çalışma	24	71	57	46	37	45	38	56	29	58	87	53	52

Karbapenemler bilinen en geniş spektrumlu betalaktam antibiyotiklerdir. *P. aeruginosa* için karbapenem direnci OprD kaybı, MexAB-OprM aktif dışa pompalama sistemi, permeabilite mutasyonları, aşırı miktarda kromozomal AmpC beta-laktamaz üretilmesi ve metallo-beta-laktamaz enzimlerinin üretilmesi şeklinde olabilir (117).

P. aeruginosa' da düşük düzey karbapenem direnci OprD porin kaybı ve dereprese kromozomal AmpC beta-laktamazlar salınması ve aktif dışa pompalama sistemlerinin birlikte çalışmaları ile olur. Yüksek düzey karbapenem direncinden MBL üretimi sorumlu tutulmaktadır. OprD porin kaybı durumunda imipenem dirençli iken meropenem hassas olabilir. MexAB-OprM aktif dışa pompalama sisteminde ise imipenem hariç tüm beta laktamlara direnç olur. MexEF-OprN dışa pompalam ile oprD porin kaybı beraberliğinde imipenem ve kinolon dirençli meropenem duyarlı suşlar görülür. Meropenem direncinin tedavi sırasında ortaya çıkması için hem porin protein kaybı, hem de aktif dışa pompalama sistemi mutasyonları gerekir. Birçok çalışmada *P. aeruginosa'* da PER- tip GSBL ile VIM- tip metallo-beta-laktamaz üretiminin birlikte görüldüğü bildirilmiştir (118,119).

Çalışmamızda karbapenemlerden imipenem direncini % 37, meropenem direncini % 45 olarak saptadık. Ülkemizdeki çalışmalarda bu oranlar imipenem için % 7-43, meropenem için % 22-55 olarak bildirilmiştir (Tablo-14). Dünyada SENTRY çalışması çerçevesinde karbapenem direnci Japonya'da % 38, Brezilya'da % 44, İtalya'da % 31, KONSAR çalışmasında % 17 olarak saptanmıştır (120, 121).

P. aeruginosa suşlarında MBL saptanmasında modifiye Hodge testi ve İMP-EDTA kombine disk sinerji testinin oldukça yüksek duyarlılık ve özgüllükte olduğunu belirten bir çok çalışma bulunmaktadır (122,123).

Bu çalışmada karbapenem dirençli olan suşlarda MBL enzimi modifiye Hodge testi ve imipenem-EDTA kombine disk sinerji testi ile araştırıldı. İmipenem dirençli *P. aeruginosa* suşlarında MBL pozitifliği saptanmadı. İmipenem dirençli suşlarda çoğul antibiyotik direnci % 32 olarak saptandı.

Ülkemizde yapılan MBL tarama çalışmaları kısıtlı olup, Altoparlak ve ark. (124) *P. aeruginosa'* da MBL pozitifliğini İMP-EDTA kombine disk yöntemi ile % 55, Toraman ve ark. (125) ise E-test ile % 29 olarak saptamışlardır. Dünyadaki çalışmalarda ise bu oran ortalama % 30 civarındadır (126).

Moleküler araştırmalarda çoğul dirençli *P. aeruginosa* suşlarının kromozomal AmpC enziminin aşırı salınması, porin protein kaybı ve dışa pompalama sistemleri bu dirençten sorumlu tutulmuştur. Çoğul dirençli *P. aeruginosa* suşlarında class1 integronlarda beta-laktamazlar ve aminoglikozid hidrolize eden enzimler ve kinolon direnci genleri birlikte kodlanır ve transfer edilirler. Bu suşlar penisilinlere, sefalosporinlere, karbapenemlere, aminoglikozidlere ve kinolonlara dirençli iken, kolistine hassastırlar. Çoğul dirençli *Pseudomonas* infeksiyonlarında kolistin kullanımıyla ilgili daha geniş çalışmalar gereklidir (127-131).

Bizim çalıştığımız tüm *P. aeruginosa* suşlarından 20'sinde (% 12) çoğul antibiyotik direnci özelliği saptandı. Çeşitli çalışmalarda bu oran % 1-23 arasında belirtilmiştir (131, 132, 133).

Sonuç olarak hastanemizde hastane infeksiyon etkeni olarak izole ettiğimiz *P. aeruginosa* suşlarında ülke genelinde ve tüm dünyada olduğu gibi yüksek oranda antimikrobiyal direnç ve çoğul direnç özellikleri görülmektedir. Bu direnç mekanizmalarının bilinmesi ve yayılımının önlenmesi önemlidir. Akılcı antibiyotik kullanımı politikaları belirleyip, belirlenen kurallara sıkı uyumu sağlamak zorunludur. Direnç özelliklerinin belirlenmesine yönelik epidemiyolojik çalışmalar ampirik tedavide klinisyene yol göstermesi açısından yararlıdır. Klinisyenler bu veriler ışığında ve hastane infeksiyonları kontrol komitelerinin önerileri doğrultusunda antibiyotik kullanmalıdırlar .

ÖZET

Pseudomonas aeruginosa, yüksek mortalite ve morbidite ile seyreden hastane infeksiyonlarına neden olmaktadır. Bu infeksiyonlarda erken ve etkin antibiyotiklerle tedaviye başlanması önem taşımaktadır. Nozokomiyal infeksiyon etkeni olan *P. aeruginosa* antimikrobiyal ajanlara karşı giderek artan direnç tedavide sorun oluşturmaktadır. Hastane infeksiyonlarında doğru ampirik tedavi yaklaşımı için, o hastanede infeksiyonlara neden olan mikroorganizmalar ve direnç özelliklerinin bilinmesi önemlidir.

Çalışmamızda Nisan 2003-Nisan 2004 arasında hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilen 172 *P. aeruginosa* suşunun anti-pseudomonal antibiyotik duyarlılıkları CLSI önerilerine uygun olarak standart disk diffüzyon yöntemi ile araştırıldı.

Pseudomonas suşlarında seftazidime % 24, sefoperazona % 71, sefoperazon-sulbaktama % 57, sefepime % 46, imipeneme % 37, meropeneme % 45, piperasilin-tazobaktama % 38, aztreonama % 53, gentamisin, % 58, amikasine % 29, tobramisine % 56, trimetoprim-

sulfometaksazole % 87, siprofloksasine % 52 oranında direnç saptandı. İndüklenebilir Beta-laktamaz disk yaklaşım yöntemiyle % 40, çift disk sinerji testi ile GSBL % 5 olarak bulundu. Metallo-beta-laktamaz enzim üretimi Modifiye Hodge ve İmipenem-EDTA kombine disk diffüzyon testi saptanamadı.

P. aeruginosa için karbapenem direnci OprD kaybı, MexAB-OprM aktif dışa pompalama sistemi, permeabilite mutasyonları, aşırı miktarda kromozomal AmpC beta-laktamaz üretilmesi ve metallo-beta-laktamaz enzimlerinin üretilmesi şeklinde olabilir.

Çalışmamızın sonucunda *P. aeruginosa* suşlarında yüksek oranda antibiyotik direnci ve çoğul direnç özelliği görüldü. Seftazidim, amikasin, karbapenem, piperasilin-tazobaktam direnç oranları diğer antibiyotiklere kıyasla daha düşük tespit edildi. Sonuç olarak hastanemizde ampirik tedavi planlanırken bu bulguların dikkate alınması gerekmektedir.

SUMMARY

Pseudomonas aeruginosa infections have high morbidity and mortality. Prompt and effective antibiotic use is very important in the treatment of these infections. Increasing resistance rates to various antimicrobial agents among *P. aeruginosa* strains isolated from nosocomial infections are problem in the treatment. Considering the causative microorganisms and their antimicrobial resistance patterns are essential for rational empiric treatment of nosocomial infections.

The aim of this study was to detect the antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from various clinical specimens in our hospital between April 2003-April 2004. The resistance of nosocomial 172 *Pseudomonas aeruginosa* strains to anti-pseudomonal antibiotics was determined by disk diffusion test according to CLSI recommendations. Resistance to ceftazidime was found to be 24 %, to cefoperazone 71 %, to cefoperazone-sulbactam 57 %, to cefepime 46 %, to imipenem 37 %, to meropenem 45 %, to piperacillin-tazobactam 38 %, to tobramycin 56 %, to amikacin 29 %, to gentamicin 58 %, to trimethoprim-sulfamethoxazole 87 %, to aztreonam 53 %, to ciprofloxacin 52 %. Inducible beta-lactamases were detected in 53 % of isolates by disk approximation test. GSBLs were

detected in 5 % isolates by double disk synergy methods. Metallo-beta-lactamases were detected in none of the isolates by Hodge test and IMP-EDTA combined disk test.

In the case of *P. aeruginosa*, carbapenem resistance is mediated by OprD loss, up-regulation MexAB-OprM efflux system, metallo-beta-lactamase as well as expression of chromosomal AmpC beta-lactamase.

Our result indicate that *P. aeruginosa* strains have high antimicrobial resistance rate and multiple antibiotic resistance. In relatively, resistance to ceftazidime, amikacin, carbapenems, piperacillin tazobactam was lower than other antibiotics. This results should be taken into consideration in the empiric treatment in our hospital.

KAYNAKLAR

1. Vahaboğlu H. oğul dirençli nonfermentatif Gram-negatif basiller. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2000; 4:222-225.
2. Yalçın N. Nozokomiyal Gram-negatif omak infeksiyonları. Klimik Dergisi, özel sayı 2000: 23-25.
3. Öztürk R. Antimikrobik ilaçlara karşı direnç gelişme mekanizmaları ve günümüzde direnç durumu. Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar. Ed.Tabak F,Öztürk R, Aktuđlu Y. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakóltesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi No:31, İstanbul 2002: 83-100.
4. Bonten M, Weinstein R. Transmission pathways of Pseudomonas aeruginosa in intensive care units don't go near the water. Critical Care Medicine 2002; 30:10-12.
5. Zarakolu P. Mikroorganizmalarda direnç mekanizması olarak aktif dışa pompalama sistemleri. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2003; 7 (3):131-136.
6. Bouzza E, Perez A, Munoz P. et all. Ventilator associated pneumonia after heart surgery: A prospective analysis and value of surveillance. Critical Care Medicine 2003; 31(7):10-12.
7. Akalın H. Pseudomonas infeksiyonları. 6. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Program ve Özet Kitabı, 2004, İstanbul. S:124-130.

8. Ünal S. Hastane infeksiyonları: Neredeyiz ? Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2004; 8: 129-131.
9. Öngen B. Hastanede sorunlu mikroorganizmalar: Gram negatif bakteriler. 3. Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon Kongresi Kongre Kitabı 2003: 125-128.
10. Gür D. Hastane İnfeksiyonları etkeni çoklu dirençli Gram-negatif mikroorganizmalar. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2003;7 (3): 111-117.
11. Walsh T. New mechanisms of resistance: Focus on metallo- β -lactamases and pumps. 6. Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve Özet Kitabı, İstanbul, 2004:54.
12. Vahaboğlu H, Mülazımoğlu L. Tedavisi sorun olan mikroorganizmaların yönetimi: Çoğul dirençli Gram negatif bakteriler. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı, Adana. 2001: 96-97.
13. Bilgehan H. Non-fermentatif Gram olumsuz basiller. Klinik Mikrobiyoloji Barış Kitabevi, İzmir, 1995 : 161-178
14. Erdem B. Pseudomonaslar. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. In: Ustaçelebi Ş ed. Güneş Kitabevi, Ankara, 1999; 551-558
15. Pier GB, Ramphal R. Pseudomonas aeruginosa In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. Principles and Practice of Infectious Diseases 6th ed., Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005: 2587-2614.
16. Bergagne E. Pseudomonas and miscellaneous gram negative bacilli. In: Colman J, Powerdyly GW eds. Infectious Diseases. Second ed., Toronto, 2004; 1733-1748.
17. Akova M. Pseudomonas aeruginosa infeksiyonları. Flora 1997;1: 61-65.
18. Koneman E, Stephan DA, William MJ, Schreckenberger PC, Winn CW Jr. The nonfermentative Gram-negative bacilli. Konoman's Colour Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th Ed. Philadelphia, Lippincott 2006: 303-391.
19. Kang C, Kim HS, Park W, Choe Y J. Pseudomonas aeruginosa bacteremia: Risk factors for mortality and influence of delayed receipt of effective antimicrobial therapy on clinical outcome. Clinic of Infectious Disease 2003 ; 37:745-751.

20. Gülay Z, Sümerkan B. Antibiyotik Direnci: Mekanizma fenotip ilişkisi ve bildirimi. 5. Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve Özet Kitabı, İstanbul, 2002: 43-67.
21. Hancock REW. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative Gram-negative bacteria. *Clinic Infectious Disease* 1989 ; 27(Suppl 1): 93-99.
22. Lauretti L, Riccio M L, Mazzorial A, Cornaglia G, Amicosante A. Cloning and characterization of bla-VIM a new integron-borne metallo- β -lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1999; 43 (7): 1584-1590.
23. Yorgancıgil B. β -laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç mekanizmaları. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 1999; 6:2-9.
24. Haluk Vahaboğlu. YBÜ'sinde Gram negatif bakteriler ve direnç sorunu. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı, Adana, 2001; S: 95.
25. Nikaido H. Antibiyotik direnç caused by Gram-negative multidrug efflux pumps. *Clinical Infectious Diseases* 1998; 27 (Suppl 1): 32-41.
26. Louis B Rice MD And Robert A, Bonomo MD. The red menace: Emerging issues in antimicrobial direnç in Gram- negative bacilli. *Current Infectious Disease Reports* 1999;1 (4):338-346.
27. Nakae T, Nakajima A, Ono T, Saito K.et all. Direnç to β -laktam antibiyotikler in *Pseudomonas aeruginosa* due to interplay between MexAB-OprM effluks pump and β -laktamaz. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1999 (5); 1301-1303.
28. Livermore MD. Bacterial direnç: Origins, epidemiology, and impact. *Clinical Infectious Diseases* 2003; 36 (suppl 1): 11-13.
29. Helfand S and Bonomo R. Current challenges in antimicrobial kemoterapi: The impact of extended-spectrum β -laktamazlar ve metallo- β -laktamazlar on the treatment of resistant Gram- negative patojenler. *Current Opinion in Pharmacology* 2005; 5: 452-458.
30. Akkurt L, Havuz G S, Uyar Y, Karadağ A, Esen Ş. 1999-2000 yıllarında yoğun bakım ünitelerinden izole edilen bakterilerde antibiyotik direnci.

- ANKEM Dergisi 2002; 16 (1): 14-17.
31. Canton R, Teresa M, Coque And Fernando Baquero. Multiresistant Gram- negative bacilli: From epidemics to endemics. *Current Opinion in Infectious Disease* 2003 ; 16: 315-325.
 32. Livermore DM. Mechanism of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* : Our worst nightmare? *Clinical Infectious Diseases* 2002; 34:634-640
 33. George A. Jacoby. Mechanism of resistance to quinolones. *Clinical Infectious Diseases* 2005; 41:120-6.
 34. G.Thomas Ray, Roger Baxter, Gerald N. Delorenzo. Hospital level rates of fluoroquinolone use and the risk of hospital-acquired infection with ciprofloxacin- nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Infectious Diseases* 2005 ; 41:441-449.
 35. Macdougall C, Harpe E, Powell P. et all. *Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus*, and fluoroquinolone use. *Emerging Infectious Disease* 2005; 11: 8.
 36. Hooper C.D. Bacterial topoisomerases, and anti-topoisomerase resistance. *Clinical Infectious Diseases* 1998; 27(Suppl 1); 54-63.
 37. Patricia A. Bradford, Phd. What's new in β -lactamases? *Current Infectious Disease Reports* 2001,3:13-19.
 38. Bush K. Characterization of β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1989: 259-263.
 39. Opal SM, Medeiros AA. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6 th edition, Pennsylvania: Elsevier Churchill Livingstone 2005: 253-270.
 40. Gür D. β -laktamazlar. *Flora* 1997; 283: 3-16.
 41. Akalın H. Çoğul dirençli Gram negatif bakteriler. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 2004.13-15.
 42. Yüce A. Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klimik Dergisi* 2001;14 (2):42-46.
 43. Bush K, Jacoby G, Medeiros A. A Functional classification scheme for β -

- lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1995: 1211-1233.
44. Gönüllü N, Gürol Y, Bülüç M, Bal Ç. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında görülen beta-laktam direnç fenotipleri ve antibiyotik duyarlılıkları. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 2003;7:141-147.
 45. Bonfiglio G, Iaksoi Y, Franchino L, Amicosante G, Nicolletti G. Mechanism of β -lactam resistance amongst *Pseudomonas aeruginosa* isolated in an Italian survey. *Journal Antimicrobial Chemotherapy* 1998 ; 42: 697-702.
 46. Pechere JC, Köhler T. Patterns and modes of β -lactam resistance in *P. aeruginosa*. *Clinical Microbiology Infection* 1999; 5(suppl 1): 15-18.
 47. Gür D. Antibiyotiklere direnç mekanizmaları. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S ed. *Antibiyotikler*. Bilimsel Tıp Kitabevi. Ankara 2003 : 31-42.
 48. Gür D. ESBL'lerin genel özellikleri ve ESBL tipleri. Yeni ve yeniden gündeme gelen infeksiyonlar. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2004: 5-13.
 49. Rice L. Evolution and clinical importance of extended-spectrum β -lactamases. *Chest* 2001; 119 (2): 391-396.
 50. Gür D. ESBL ve plazmid kaynaklı AmpC β -laktamazlar. XII.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2005: 147-151.
 51. Toleman A M, Rolston K, Jones N, Walsh RT. Molecular and biochemical characterization of OXA-45, an extended- spectrum class 2d β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003 : 2859-2863.
 52. Vahaboğlu H, Sarıbaş S, Akbal H, Öztürk R, And Yücel A. Activities of cefepime and five other antibiotics against nosocomial PER-1-type and/or OXA-10-type β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1998; 42: 269-270.
 53. Gerhard F, Weldhagen F, Laurent Poirel, Partice Nordmann. Ambler Class A extended spectrum β -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* : Novel developments and clinical impact. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003: 2385-2392.

54. Pellegrino C, Teixeira LM, Carvalho M. et al. Occurrence of a multidrug resistant *P. aeruginosa* Clone in Brazil. *Journal of Clinical Microbiology* 2002; 2420-2424.
55. Docquer JD, Luzzaro F, Amikósante FG. Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing PER-1 extended-spectrum Serine- β -lactamase and VIM-2 metallo- β -Lactamase. *Emerging Infectious Diseases* 2001; 7(5):200.
56. Dumlupınar B. Antibiyotiklere dirençte yeni eğilimler. *Klinik Dergisi* 2001;14(2): 47-56.
57. Poirel L, Nordmann P. Acquired carbapenem-hydrolyzing β -lactamases and their genetic support. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2002;3 : 117-127.
58. Livermore DM, Woodford N. Carbapenemases: A problem in waiting? *Current Opinion Microbiology* 2000;3:489-495.
59. Bush K. Metallo- β -lactamases: A class apart. *Clinic Infectious Disease* 1998; (Suppl1): 48-53.
60. Poirel L, Magalhães M, Lopes M, Nordmann P. Molecular analysis of metallo- β -lactamases gene bla *spm-1* surrounding sequences from disseminated *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Recife. Brazil. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2004: 1406-1409.
61. Oh EJ, Lee S, Park YJ, Park JJ. Prevalence of metallo- β -lactamases among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in a Korean University Hospital and comparison of screening methods for detecting metallo- β -lactamase. *Journal of Microbiological Methods* 2003; 54: 411-418.
62. Gales A, Menezes C, Silbert S, Sader S. Dissemination in distinct Brazilian regions of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo- β -lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003; 52: 699-702.
63. Castanheira M, Toleman M, Jones R, Walsh TR. Molecular characterization of β -lactamase Gene, bla-GIM new subclass of metallo- β -lactamase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2004 (12):4654-

4661.

64. Shibata N, Doi Y, Yamane K, Yagi T, Kurokawa H, Shibayama K, Kato H, Ikai K, Aarakawa Y. PCR typing of genetic determinants for metallo- β -lactamases and integrases carried by gram –negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 5407-5413.
65. Luzzaro F, Endimiani A, Docquier JD. Prevalance and characterization of metallo- β -lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Diagnostic Microbiology of Infectious Disease* 2004; 48(2): 131-135.
66. Lee K, Lee WG, Uh Y. VIM- and IMP- metallo- β -lactamase producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean hospitals. *Emerging Infectious Disease* 2003; 9: 868-871.
67. Iyobe S, Kusadokoro H, Takahashi A, Okubo T. Detection of variant metallo- β -lactamase, IMP-10, from two unrelated strains of *Pseudomonas aeruginosa* and an *Alcaligenes xylosoxidans* strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2002: 2014-2016.
68. Ho ES, Subramaniam G, Palasubramaniam S, Navaratnam P. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Malaysia producing IMP-7 β -lactamase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2002: 3286-3287.
69. Hirakata Y, Yamaguchi T, Michiko N, Izumikawa K, Mine M, Aoki S, Kondoh A. Clinical and bacteriological characteristics of IMP-type metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Infectious Diseases* 2003;37: 26-32.
70. Yan JJ, Hsueh P R, Ko W C, Luh K T. Metallo- β -lactamases in clinical pseudomonas isolates in Taiwan and identification of VIM-3, a novel variant of the VIM-2 enzyme. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001: 2224-2228.
71. Koh TH, Wang GCY, Sng LH. IMP-1 and novel metallo- β -lactamases , VIM-6, in fluorescent pseudomonads isolates in Singapore. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2004: 2334-2336.

72. Patzer J, Toleman A M, Deshpande M L, Kaminska W, Bennett MP, Jones RN, Walsh RT. Pseudomonas aeruginosa strains harbouring an unusual bla VIM-4 gene cassette isolated from hospitalized children in Poland. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2004; 53: 451-456.
73. Toleman AM, Rolston K, Jones R, Walsh RT. Bla VIM-7 an evolutionarily distinct metallo- β -lactamase gene in a Pseudomonas aeruginosa isolate from the United States. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2004:329-332
74. Yatsuyanagi J, Saito S, Ito Y, Ohta K, Kato J, Harata S, Suzuki N. Identification of Pseudomonas aeruginosa clinical strains harboring the bla VIM-2 metallo- β -lactamase gene in Japan. Japan Journal of Infectious Disease 2004; 57:130-132.
75. Gülay Z. ESBL'lerin tanı yöntemleri. Yeni ve yeniden gündeme gelen infeksiyonlar. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2004:13-25.
76. Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st Century: Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. Clinical Microbiology Review 2001; 14: 933-51.
77. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement. CLSI Document M100-S15. Clinical and Laboratory Standard Institute Pennsylvania USA, 200
78. Gülay Z. Antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumu. Toraks Dergisi 2002; 3 (1): 75-88.
79. Detection of β -lactamases. Users Guide. NEO-SENSİTABS Susceptibility Testing.17th ED, Denmark. 2004; p: 102-121.
80. Livermore DM. β -lactamases: Quantity and resistance. Clinical Microbiology Infectious 1997; 3 (suppl 4): 4510-4519.
81. Sanders CC, Sanders W Jr. β -lactamases in Gram negative bacteria global trends and clinical impact. Clinical Infectious Diseases 1992; 15: 824-829.
82. Lee K, Chong Y, Shin HB, et all. Modified Hodge test and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- β -lactamase-producing strains of

- Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clinical Microbiology Infection* 2001; 7: 88-91
83. Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the Hodge test and the Imipenem-EDTA Double-Disk-Synergy test for metallo- β -lactamase producing isolates of *Pseudomonas* spp, *Acinetobacter* spp. *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 41:4623-4629.
84. Arakawa Y, Shibata N, Shibayama K. Convenient test for screening metallo β -lactamase-producing Gram-negative bacteria by using thiol compounds. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38 (1):40-43.
85. 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-negative bacilli. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2004; 49 (1): 5-11.
86. Migliavacca R, Docquier JD, Mugnaioli C. Simple microdilution test for detection of metallo- β -lactamase producing in *P. aeruginosa*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002 ; 40: 4388-4390.
87. Moland ES, Hanson ND, Herrera VÍ, Black AJ. Plasmid -mediated carbapenem-hydrolysing β -lactamase, KPC-2, in *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003; 51: 711-714.
88. Walsh TR, Balmström A, Owarström A, Gales A. Evaluation of a new Etest for detecting metallo- β -lactamases in routine clinical testing. *Journal of Clinical Microbiology* 2002;40:2755-9.
89. Sarı H. Karbapenemlere dirençli Gram negatif basil izolatlarında imipenem-EDTA/ meropenem EDTA disk yöntemi ve modifiye Hodge test ile metallo-beta-laktamaz varlığının araştırılması. Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi. İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2005.
90. Ersöz G, Otağ F, Bayındır İ, Kandemir Ö. Hastane infeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının meropenem direnci. XXX Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2002: 290.
91. Şengöz G, Yıldırım F, Berzeg D, Aydın N, Özenç E, Nazlıcan Ö. Yoğun bakım ünitesi'nden izole edilen *P. aeruginosa* cinsi bakterilerin çeşitli

- antibiyotiklere olan duyarlılıklarının araştırılması. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2005: 286.
92. Gür D. Hastane infeksiyonu etkeni Gram negatif nonfermentatif basiller ve antibiyotiklere direnç sorunu. Hastane İnfeksiyonu Dergisi 1999; 3: 33-39.
93. Erdem İ, Mülazımoğlu L, Bakkal Ö, Güldüren S, Dodanlı S, Vahaboğlu H. Taksim Hastanesi'nde 1993-1994 yıllarında izole edilen Gram negatif bakterilerin antibiyotik direnç paternleri ve β -laktamaz türleri. Türk Mikrobiyoloji Cemiyet Dergisi 1995; 25: 58-61
94. Zer Y, Balcı İ, Karslıgil T, Bayram A, Ekşi F. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen pseudomonas'ların tiplendirilmesi, antibiyotik duyarlılıkları ve sefepimin anti-pseudomonas Etkinliği. Klimik Dergisi 2000; 13(1):33-35.
95. Ayyıldız A, Kocazeybek B, Arıtürk S. Cerrahi Yoğun Bakım hastalarından infeksiyon etkeni olarak izole edilen Gram negatif çomaklarda aminoglikozid direnci. ANKEM Dergisi 2002;16 (1): 78-81.
96. Demirci B, Yorgancıgil D, Arda M. Değişik klinik örneklerden izole edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarının bazı antibiyotiklere duyarlılıkları. ANKEM dergisi 2001;15:30.
97. Çobanoğlu F. Nozokomiyal infeksiyon etkeni olan Pseudomonas aeruginosa suşlarının beta-laktamaz yapımı ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi. İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Tezi, İstanbul, 1999.
98. Özgenç O, Urbarlı A, Erdenizmenli M, Fidan N, Arı A: Pseudomonas aeruginosa kökenlerinin çeşitli antimikrobiklere direnç oranlarının araştırılması. İnfeksiyon dergisi 2002;16:17.
99. Yücel M, Gündüz E, Yağcı S, Karakoç EA, Önde U, Acar N. Pseudomonas ve Acinetobacter türlerinde antibiyotik direnç oranlarının değerlendirilmesi. XXX Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2002: 280.
100. Ünlü EF, Ögünç D, Öztürk F, Özhak B. Klinik örneklerden izole edilen

- Pseudomonas aeruginosa suşlarında antibiyotiklerin invitro etkinlikleri. XXX Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2002 :288
- 101.Gültekin B, Eyigör M, Aydın N. Klinik örneklerden izole edilen Pseudomonas kökenlerinin antibiyotik direnci. Ankem Dergisi 2004;18 : 1-4.
- 102.Demiroğlu YZ, Turunç T, Uncu H, Arslan H. Hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen Pseudomonas ve Acinetobacter türlerinin antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2004;8(2): 6.
- 103.Candevir A, İnal AS, Kurtaran B. Hastanemiz yoğun bakımlarında gelişen bakteriyemilerde antibiyotik duyarlılığı. XII.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2005:223.
- 104.Yücel M, Behçet M, Öztürk CE, Kaya D. Pseudomonas aeruginosa izolatlarının antibiyotiklere direnç oranlarının yıllar içinde izlenmesi. XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2005 : 228
- 105.Darka Ö, Çekiç CC, Birinci A, Acuner İ. Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan Pseudomonas aeruginosa suşlarında antibiyotik direncinin değerlendirilmesi. XII.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2005:235.
- 106.Pullukçu H, Aydemir Ş, Turhan A. Steril örneklerden izole edilen Pseudomonas aeruginosa kökenlerinin çeşitli antibiyotiklere invitro duyarlılığı. XII.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2005:238.
- 107.Hancock REW. Mechanism in Pseudomonas aeruginosa and other nonfermentative gram-negative bacteria. Clinical Infectious Diseases 1998; 27(supl 1):93-99.
- 108.Akalın H. Mikrobiyoloji laboratuvarlarının antibiyotik kullanımına etkisi. Klimik Dergisi. 2001; 14(2): 62-65.
- 109.Tanır G, Göl N. Antibiyotik Direnci. Klimik Dergisi 1999;12 (2): 47-54.
- 110.Tunçbilek S, Tezeren D, Balaban H, Öztürk S, Işılak I. Hastane ineksiyonu etkeni olan Pseudomonas aeruginosa ların invitro antibiyotik

- duyarlılıkları. *İnfeksiyon Dergisi* 1998; 12 (3) :361-364.
- 111.Ersöz G, Otağ F, Bayındır İ, Kandemir Ö. Nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında antibiyotik direnci ve karbapenemlere dirençli suşlarda meropenemin MİK değerleri. *Ankem Dergisi* 2004; 8(1): 28-31.
- 112.Ersoy Y, Fırat M, Şerefhanoglu K. Hastane kökenli infeksiyonlardan izole edilen Gram negatif suşlarda iki farklı yöntemle ESBL üretiminin tespit edilmesi. *XXX Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2002*: 290.
- 113.Keşli R. Çelebi S. Nonfermentatif Gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu ve indüklenebilir β -laktamaz sıklığının ve GSBL ve/veya IBL pozitif suşlarda meropenem direncinin belirlenmesi. *XXX Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2002* : 275.
- 114.Özkalay N, Cengiz A, Ağuş N, Taneri N. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* türlerinin antibiyotik duyarlılıkları ve kromozomal β -laktamaz oranları. *XII.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2005*:22716-20.
- 115.Gençer S, Ak Ö, Benzonana N, Batirel A, Özer S. Susceptibility patterns and cross resistances of antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* in a teaching hospital of Turkey. *Annual Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2001; 8: 24-30.
- 116.Esen Ş. ESBL'lerin epidemiyolojik özellikleri. Yeni ve yeniden gündeme gelen infeksiyonlar. *Bilimsel Tıp Kitabevi, Ankara 2004*: 26-30.
- 117.Livermore MD. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance In *Pseudomonas aeruginosa* : Our worst nightmare? *Clinical Infectious Diseases* 2002; 34: 634-640.
- 118.Kohler T, Hamzhepour M, Epp SF, Pechere JC. Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: Respective contributions of OprD and efflux systems. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1999; 43: 424-471.
- 119.Livermore DM. of *Pseudomonas*, porins, pumps and carbapenems. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2001; 47: 247-250

- 120.Lee K, Jang SJ, Lee HJ, Ryoo R, Kim M. KONSAR study in 2001. Journal of Korean Medicine 2004; 19: 8-14.
- 121.Fritsce TR, Sader H, Toleman MA, Walsh TR, Jones RN. Emerging metallo- β -lactamases mediated resistance: A summary report from the worldwide SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Clinical Infectious Diseases 2005; 41:276-278.
- 122.Yong D, Lee K, Yum JH.IMP-EDTA disk method for differentiation of metallo- β -lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. Journal of Clinical Microbiology, 2002; 40 (10): 3798-3801.
- 123.Pitout ID, Gregson DB, Poirel L. Detecting of *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo- β -lactamases in a large centralized laboratory. Journal of Clinical Microbiology 2005; 43(7):3129-3135.
- 124.Altoparlak U, Aktas F, Celebi D, Özkurt Z, Akcay MN. Prevalence of metallo- β -lactamases among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from burn wounds and in vitro activities of antibiotic combinations against these isolates. Burns 2005; 31: 707-710.
- 125.Toraman ZA, Yakupoğulları Y, Kizirgil A. Detection of metallo-beta-lactamase production and antibiotic resistance with E test method in *Pseudomonas*, *Acinetobacter* and *Klebsiella* strains in Turkey. Journal Infectious and Chemotherapy 2004; 10: 257-261.
- 126.Walsh TR, Toleman A, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: The quiet before the storm? Clinical Microbiology Reviews 2005;.18 (2): 306-325.
- 127.Carmelli Y, Troillet N, George M. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* risk associated with different anti-pseudomonal agent. Antimicrobial Agent and Chemotherapy 1999 ; 43(6):1379-1382.
- 128.Deplano A, Denis O, Poirel L. Molecular characterization of an epidemic clone panantibiotic resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Clinical

- Microbiology 2005; 43 (3):1198-1204.
- 129.Gür D. Antimikrobik ilaçlara karşı yalancı direnç ve yalancı duyarlılık. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2002:123.
- 130.Gönlügür U, Bakıcı M, Özdemir L, Akkurt İ, Gültekin F. Retrospective analysis of antibiotic susceptibility patterns of respiratory isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Turkish University Hospital. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2003; 2:5.
- 131.Bal Ç. Metallo-beta-laktamazlar ve klinik önemi. XII.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı, Antalya 2005:146
132. Tacconelli E, Tumbarello M, Bertagnolio S, Citton R, Spanu T, Fadda G, and Caudo R. Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infectious: Analysis of trends in prevalence and epidemiology. *Emerging Infectious Disease* 2002; 8 (2):2-8.
- 133.Lalitagauri M, Deshpande R, Thomas R, Ronald N. Molecular epidemiology of selected multidrug-resistant bacteria: A global report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2004; 49 (4): 231-233.

134. Bahar G, Mazzariol A, Koncan R, Mert A, Fontana R, Rossolini G M, Cornaglia G. Detection of VIM-5 metallo- β -lactamases in a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate from Turkey. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2004:54-61.
135. Zer Y, Balcı İ, Karslıgil T, Bayram A, Ekşi F. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen pseudomonas'ların tiplendirilmesi, antibiyotik duyarlılıkları ve sefepimin anti-pseudomonas etkinliği. *Klimik Dergisi* 2000; 13 (1): 33-35.
- 136.
137. Thomas R, Helio S S, Mark AT, Walsh TR, Ronald N. Emerging metallo- β -lactamases-mediated resistances: A summary report from the worldwide SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Clinical Infectious Diseases* 2005; 41(l 4):276-278.
138. .
139. Iyobe S, Kusodokoro H, Takahashi A, Yomoda S, Okubo T, Nakamura A, Hara K. Detection of a variant metallo- β -lactamases , IMP-10, from two unrelated strains of *Pseudomonas aeruginosa* and an *Alcaligenes xylosoxidans* strain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2002: 2014-2016.

