

ERİŞKİN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN ACINETOBACTER TÜRLERİNDE ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ VE METALLO-BETA-LAKTAMAZ VARLIĞI*

ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND EXISTENCE OF METALLO-BETA-LACTAMASE IN ACINETOBACTER SPECIES ISOLATED FROM ADULT PATIENTS

Özgen KÖSEOĞLU ESER¹, Alper ERGIN², Gülşen HASÇELİK¹

¹ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
(ozgen@tr.net)

² Hacettepe Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Programı, Ankara.

ÖZET

Acinetobacter sıklıkla hastane kökenli enfeksiyonlara neden olan ve çoklu direnç nedeniyle tedavide sorun oluşturan bir patojendir. Bu çalışmada, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesine başvuran hastalardan izole edilen *Acinetobacter* türlerinin çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi ve metallo-beta-laktamaz (MBL) varlığının saptanması amaçlanmıştır. Çalışmaya toplam 124 *Acinetobacter* izolatı alınmıştır. "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" kriterlerine göre, izolatların imipenem (IMP), meropenem (MER), seftazidim (CAZ), aztreonam (AZT) ve siprofloksasin (CIP) duyarlılıkları mikrodilüzyon yöntemi ile çalışılmış; çoklu direnç gösteren izolatlarda mikrodilüzyon yöntemi ile kolistin duyarlılığı ve disk difüzyon yöntemi ile amikasin (AN), piperasilin-tazobaktam (PIP-TAZ), sefepim (FEP), seftriakson (CRO), tetrasiklin (TET), trimetoprim-sülfametoksazol (SXT) ve mezlosilin (MEZ) duyarlılıkları araştırılmıştır. Fenotipik MBL tayini için imipenem-EDTA kombine disk difüzyon yöntemi, genotipik tayin için "in house" polimeraz zincir reaksiyonu kullanılmıştır. İzolatların 72'si *Acinetobacter baumannii*, 52'si *Acinetobacter lwoffii* olarak tanımlanmıştır. İzolatların minimum inhibitör konsantrasyonu 50 (MİK₅₀) ve minimum inhibitör konsantrasyonu 90 (MİK₉₀) değerleri sırasıyla; IMP için 32 ve 128 µg/ml, MER için 16 ve 32 µg/ml, CIP için 128 ve 256 µg/ml, CAZ için 64 ve 256 µg/ml ve AZT için 128 ve 256 µg/ml olarak bulunmuştur. İzolatların 43 (%34.7)'ünün imipeneme duyarlı olduğu saptanmıştır. Antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre 51 (%41) izolat çok ilaca dirençli olarak belirlenmiş ve bu izolatların kolistin MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri 2 ve 8 µg/ml olarak bulunmuştur. İzolatlarda kolistine karşı direnç oranı %27.5 olarak tespit edilmiştir. Çok ilaca dirençli suşlarda AN, PIP-TAZ, FEP, CRO, TET, SXT ve MEZ duyarlılık sonuçları ise sırasıyla; %80.4, %98, %92.2, %100, %100, %86.3 ve %86.3 olarak belirlenmiştir. İmipenem-EDTA kombine disk difüzyon yöntemi ile 124 izolatın 64 (%51.6)'ünde MBL fenotipi izlenmiş, ancak tüm izolatlar çalışılan MBL genleri açısından negatif bulunmuştur. Sonuç olarak bu çalışmada, hastanemize ait *Ac-*

* Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiş (Proje No: 04 D05 101 001) ve çalışmanın bir bölümü 12. ICID Kongresi'nde (15-18 Haziran 2006, Lizbon-Portekiz), bir bölümü ise XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde (16-19 Eylül 2006, Antalya) sunulmuştur.

netobacter spp. izolatlarında antibiyotiklere yüksek direnç saptanmış, ayrıca karbapenem direnci ve çoklu dirençli izolatlarda belirgin olarak yükseklik izlenmiştir. Bu birliktelik bakteriler arası direncin yayılımını artırmaktadır. Kolistin direncinin de artma eğiliminde olması, bu tip izolatlarda antibiyotik duyarlılık sonuçlarının dikkatle takip edilmesi gerektiğini göstermektedir. Bu nedenle, çoklu ilaç direnci görülen *Acinetobacter* türlerinde tedavide kullanılacak yeni antibiyotiklere gereksinim bulunmaktadır.

Anahtar sözcükler: *Acinetobacter*, antimikrobiyal direnç, metallo-beta-laktamaz, kolistin.

ABSTRACT

Acinetobacter spp. are the frequent causes of nosocomial infections which are difficult to treat due to multidrug resistance. The aim of this study was to determine the antibiotic susceptibilities and the presence of metallo-beta-lactamases in *Acinetobacter* spp. isolated from patients admitted to Hacettepe University Adult Hospital. A total of 124 *Acinetobacter* spp. isolates were included in the study. Antibiotic susceptibilities against imipenem (IMP), meropenem (MER), ceftazidime (CAZ), ciprofloxacin (CIP) and aztreonam (AZT) were studied by microdilution susceptibility testing according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines. Multidrug-resistant isolates (MDR) were further tested for susceptibility against colistin by microdilution, and against amikacin (AN), piperacillin-tazobactam (PIP-TAZ), cefepime (FEP), ceftriaxone (CRO), tetracycline (TET), trimetoprim-sulfamethoxazole (SXT) and mezlocillin (MEZ) by disk diffusion method according to CLSI guidelines. Each isolate was also tested for metallo-beta-lactamase (MBL) production by using IMP and EDTA combined disk diffusion test and molecular analysis for *bla*_{IMP-1} and *bla*_{VIM-2} genes was done by polymerase chain reaction (PCR). Among 124 non-duplicate isolates, 72 were identified as *Acinetobacter baumannii* and 52 as *Acinetobacter lwoffii*. Minimum inhibitor concentration 50 (MIC₅₀) and minimum inhibitor concentration 90 (MIC₉₀) values of the isolates were 32 and 128 µg/ml for IMP, 16 and 32 µg/ml for MER, 128 and 256 µg/ml for CIP, 64 and 256 µg/ml for CAZ, 128 and 256 µg/ml for AZT, respectively. Forty-three (34.7%) isolates were susceptible to IMP. Overall, 51 (41%) *Acinetobacter* spp. were found to be resistant to ≥ 3 antibiotics belonging to different antimicrobial classes and defined as MDR. Colistin MIC₅₀ and MIC₉₀ values were 2 and 8 µg/ml, respectively and the rate of colistin resistance was 27.5% in MDR isolates. The resistance rates for AN, PIP-TAZ, FEP, CRO, TET, SXT and MEZ were 80.4%, 98%, 92.2%, 100%, 100%, 86.3% and 86.3%, respectively. Among 124 isolates, 64 (51.6%) yielded positive result by IMP-EDTA combined disk test, and all the isolates were negative in terms of the tested MBL genes by PCR. These data revealed high level resistance among the *Acinetobacter* population in our hospital. The high rate of carbapenem resistance and increasing colistin resistance among *Acinetobacter* isolates should be surveyed cautiously. The increasing incidence of multidrug resistant *Acinetobacter* spp. emphasizes the need for new and effective treatment options.

Key words: *Acinetobacter*, antimicrobial resistance, metallo-beta-lactamase, colistin.

GİRİŞ

Acinetobacter türleri önemli nozokomiyal mikroorganizmalar arasında yer alan non-fermentatif, gram-negatif basillerdir. Beta-laktam antibiyotiklere dirençli olan gram-negatif basillerle oluşan enfeksiyonların tedavisinde iyi yanıt alınan karbapenemlere karşı, günümüzde klinik olarak belirgin sorun yaşanmaya başlanmıştır¹. *Acinetobacter* spp. enfeksiyonlarında karbapenemlerin yaygın olarak klinik kullanıma girmesi ile ortaya çıkan karbapenem direnci, esas olarak sınıf D OXA tipi enzimlere, daha az sıklıkla da kazanılmış karbapenemazlar olan sınıf B metallo-beta-laktamaz (MBL)'lara bağlıdır². MBL'ler karbapenemleri inhibe edebilen ancak monobaktamları hidrolize etmeyen, EDTA, dipi-

klinik asit gibi ajanlar ile inhibe olan ve çinko iyonlarına ihtiyaç duyan enzimlerdir³. Günümüzde 5 tip MBL çeşidi (IMP, VIM, SPM, GIM ve SIM) belirlenmiştir. Bu enzimler genellikle, *Pseudomonas* türleri, *Acinetobacter* türleri ve Enterobacteriaceae'da ortaya çıkmaktadır. Bu genleri içeren bakteriler ile oluşan enfeksiyonlar hayatı tehdit eden boyutlarda olmakta ve çoğu kez de ölümle sonlanmaktadır⁴⁻⁶.

Moleküler A sınıfı dışındaki karbapenemazların tespiti için imipenem ve klavulanik asit ile çift disk sinerji testi, B grubu MBL'lerin tespiti için EDTA ile inhibisyon esasına dayalı E-test ve çift disk sinerji testleri fenotipik tanımlamada kullanılmaktadır. MBL'ler EDTA ve tiyol bazlı bileşiklerle inhibe olmaktadır. Bu nedenle seftazidim ve imipenem gibi beta-laktamların EDTA veya 2-merkaptopropiyonik asit (MPA) ile birlikte kullanımına dayalı disk difüzyon testleri MBL'leri saptayabilmektedir^{7,8}. MBL'lerin tespitinde son yıllarda Hodge testi ve EDTA disk sinerji yöntemleri geliştirilmiştir. *Acinetobacter* türlerinde fenotipik olarak MBL tespiti için kombine disk difüzyon testinin kullanımı en duyarlı ve pratik yöntemdir^{8,9}.

Acinetobacter türlerinde MBL üretiminin saptanması için çeşitli moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile *bla*_{IMP} ve *bla*_{VIM} gen varlığı gösterilebilmektedir. Moleküler yöntemlerle *Acinetobacter* türlerinde bulunan tüm MBL'lerin tespiti mümkündür¹⁰.

Bu çalışmada, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesine başvuran hastalardan izole edilen *Acinetobacter* türlerinin çeşitli antibiyotiklere karşı direncinin belirlenmesi ve MBL varlığının saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bakteri İzolatları

Çalışmaya, Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında enfeksiyon etkeni olarak izole edilen toplam 124 adet *Acinetobacter* suşu alındı. Gram boyama, oksidaz ve katalaz testleri yapılan izolatların tür tayini Phoenix (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) sistemi ile yapıldı.

Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Antibiyotik duyarlılık testlerinde MİK değerleri mikrodilüsyon yöntemiyle saptandı¹¹. Tüm izolatlar triptik soy buyyona ekilerek bir gece 37°C'de inkübe edildi. Steril mikrop-laklarda Mueller-Hinton buyyonda antibiyotiklerin 2-250 µg/ml MİK aralığında seri dilüsyonları gerçekleştirildi. MİK değerleri "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" standartlarında yer alan direnç sınır değerlerine göre yorumlandı¹¹. İzolatlara ait MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri belirlendi. Buna göre suşların imipenem, meropenem, seftazidim, aztreonam ve siprofloksasin duyarlılıkları saptandı. Çoklu direnç gösteren izolatlarda kolistin duyarlılığı mikrodilüsyon yöntemi ile, amikasin, piperasilin-tazobaktam, sefo-perazon, sefepim, seftriakson, tetrasiklin, trimetoprim-sülfametoksazol ve mezlosilin duyarlılıkları ise disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı.

Fenotipik Metallo-Beta-Laktamaz (MBL) Tayini

Bu amaçla imipenem-EDTA kombine disk difüzyon yöntemi uygulandı. Buna göre Mueller-Hinton Agar plağının tüm yüzeyine 0.5 McFarland standart bulanıklıkta hazırlanan izolatlar ekildi. Birbirinden 20 mm uzaklıkta biri ek olarak 0.5 M EDTA içeren iki imipenem antibiyotik diski yerleştirildi. Bir gece 37°C'de inkübe edilen plaklar ertesi gün değerlendirildi. Buna göre imipenem ve imipenem/EDTA diskleri çevresinde oluşan inhibisyon zon çapları arasında 7 mm'den daha fazla bir fark olması halinde fenotipik MBL varlığı saptandı¹².

Genotipik MBL Tayini

Fenotipik olarak MBL pozitifliği saptanan izolatlarda PCR ile bla_{IMP-1} ve bla_{VIM-2} gen bölgeleri araştırıldı. DNA izolasyonu için *Acinetobacter* izolatları 37°C'de 18 saat Mueller-Hinton buyyonda üretildi. Bakteri süspansiyonları TE tamponu (10 mM TRIS, 1 mM EDTA) ile yıkandıktan sonra 20 dakika kaynatıldı. Elde edilen DNA 260 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. PCR için bla_{IMP-1} primer çifti (5'-ACC GCA GCA GAG TCT TTG CC-3' ve 5'-ACA ACC AGT TTT GCC TTA CC-3') ve bla_{VIM-2} primer çifti (5'-ATG TTC AAA CTT TTG AGT AAG-3' ve 5'-CTA CTC AAC GAC TGA GCG-3') kullanıldı¹³. PCR ürünleri %1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve bla_{IMP-1} için 587 bp, bla_{VIM-2} için 678 bp büyüklüğünde bant varlığı araştırıldı. Pozitif kontrol olarak bla_{IMP-1} pozitif *Pseudomonas aeruginosa*, bla_{VIM-2} pozitif *P.aeruginosa* izolatu ve moleküler ağırlık standardı olarak ØX174 HaeIII marker kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmaya dahil olan klinik örneklerin 62'si servis, 45'i yoğun bakım, 17'si poliklinik hastalarından alınmıştır. İzolatların 40'ı kan, 37'si bronkoalveoler lavaj (BAL), 35'i idrar ve 12'si balgam örneğinden tanımlanmıştır. Bu izolatlarda tür tayini yapılmış ve kan izolatlarının 20'si *Acinetobacter baumannii*, 20'si *Acinetobacter lwoffii*; balgam ve BAL izolatlarının 34'ü *A.baumannii*, 15'i *A.lwoffii*; idrar izolatlarının ise 18'i *A.baumannii*, 17'si *A.lwoffii* olarak tespit edilmiştir.

İzolatların MIK_{50} ve MIK_{90} ($\mu\text{g/ml}$) değerleri Tablo 1'de verilmiş, imipenem duyarlılığı %34.7 (n= 43) olarak saptanmıştır. Antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre 51 (%41) izolat çok ilaca dirençli olarak saptanırken, bu izolatların kolistin MIK_{50} ve MIK_{90} değerleri 2 ve 8 $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur. Kolistine karşı direnç oranı %27.5 olarak tespit edilmiştir. Çok ilaca dirençli suşlarda disk difüzyon yöntemi ile saptanan amikasin, piperasilin-tazobaktam, sefepim, seftriakson, tetrasiklin, trimetoprim-sülfametoksazol ve mezlosilin duyarlılık sonuçları sırasıyla %80.4, %98, %92.2, %100, %100, %86.3 ve %86.3 olarak belirlenmiştir.

İzolatların tümüne (n= 124) kombine disk difüzyon testi uygulanmış ve 64 (%51.6)'ünde MBL fenotipi belirlenmiştir. Bunların 32'sinin BAL, 23'ünün kan, 7'sinin idrar, 2'sinin balgam izolatu olduğu tespit edilmiştir. Fenotipik olarak MBL pozitif olan 64 izolatta bla_{IMP-1} ve bla_{VIM-2} gen varlığı PCR ile araştırılmış ve tüm izolatlar bla_{IMP-1} ve bla_{VIM-2} negatif bulunmuştur.

Tablo 1. *Acinetobacter* İzolatlarının Çeşitli Antimikrobiyal İlaçlara Karşı $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ Değerleri (n= 124)

Antimikrobiyal ilaç	$MİK_{50}$ ($\mu\text{g/ml}$)	$MİK_{90}$ ($\mu\text{g/ml}$)	$MİK$ aralığı ($\mu\text{g/ml}$)	Direnç (%)
İmipenem	32	128	< 0.125-> 256	65.3
Meropenem	16	32	< 0.125-> 256	69.3
Seftazidim	64	256	< 0.125-> 256	85.5
Siprofloksasin	128	256	0.125-> 256	86.3
Aztreonam	128	256	< 0.125-> 256	93.5
Kolistin*	2	8	1-64	27.5

* Çok ilaca dirençli *Acinetobacter* izolatlarının sonuçları (n= 51).

$MİK$: Minimum inhibitör konsantrasyonu.

TARTIŞMA

Acinetobacter türleri ventilatörle ilişkili pnömoni, üriner sistem enfeksiyonu, endokardit, sepsis ve menenjit gibi özellikle konak savunması bozulmuş hastalarda ciddi nozokomiyal enfeksiyonların nedenidir¹⁴. Dünyada *Acinetobacter* türlerinde çeşitli antibiyotiklere karşı direnç yayılmaktadır ve özellikle birinci seçenek tedavide kullanılan karbapenem direncinin artması, klinik anlamda ciddi sorun olarak kabul edilmektedir¹⁵. Gram-negatif basillerde direnç oranlarını araştıran çok merkezli araştırmalar içerisinde yer alan SENTRY, 2001-2004 yıllarına ait dönemde *Acinetobacter* türlerinde karbapenem direncini %26.3-29.6 olarak bildirirken, Latin Amerika SENTRY raporu karbapenem direncini %86 olarak saptamıştır^{16,17}. MYSTIC çalışması ise, 2003 yılında *Acinetobacter* türlerinde karbapenem direncinin %14-16 değerlerine ulaştığını işaret etmektedir. Otuz yedi ülkede yürütülen bu araştırmada karbapenemlere direnç %27-38 ile en yüksek ülkemizde görülmüştür¹⁸. *Acinetobacter* türlerinde karbapenem direncini göstermek için ülkemizde yapılan çalışmalarda yıllar içerisinde farklı sonuçlar alınmıştır. Güriz ve arkadaşlarının¹⁹ 1999 yılında yaptıkları çalışmada, hastane enfeksiyonu etkeni olan 65 *Acinetobacter* spp. izolatında imipeneme dirençli suş bulunmamıştır. Akan ve arkadaşları²⁰ 2008 yılında yaptıkları çalışmada, çok ilaca dirençli *A.baumannii* izolatlarını, kolistin dışında, çalışılan tüm antibiyotiklere dirençli bulmuş ve imipeneme de %59 oranında direnç tespit etmişlerdir. Araştırmamızda yer alan izolatlarda imipeneme direnç %65.3 gibi yüksek bir oranda bulunmuştur. Bu bulgular ülkemizde özellikle çoklu direnç gösteren *Acinetobacter* izolatlarının direnç profilinin 10 yıl içerisinde ne kadar hızlı değiştiğini göstermektedir.

Karbapenemler ve diğer seçenek ilaçlara karşı direnç geliştikçe, *Acinetobacter* türlerinde çoklu antibiyotik direnci kavramı ortaya çıkmaktadır. Hastanemizde *Acinetobacter* enfeksiyonlarına neden olan türler genellikle çoklu antibiyotik direncine sahiptir. Bu nedenle eski ilaçlardan polimiksin grubu antibiyotikler günümüzde tedavide tekrar alternatif olarak önem kazanmıştır. *Acinetobacter* türlerinde, bu ilaç grubunda yer alan kolistine karşı ülkemizde direnç henüz yüksek seviyede görülmemektedir. Kolistinin nefrotoksisite ve nörotoksisite gibi yan etkilerinin olması ve Türkiye'de rutin olarak kullanılmaması di-

renç gelişimini bir ölçüde engellemektedir. Dizbay ve arkadaşlarının²¹ çalışmasında, çoklu dirençli *A.baumannii* izolatlarında (n= 66) kolistin direnci saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda ise, çoklu dirençli *Acinetobacter* izolatlarında kolistin direnci %27.5 olarak belirlenmiştir. Kolistin direnci dünyanın çeşitli ülkelerinden artan oranlarda bildirilmektedir. *Acinetobacter* izolatlarında rutin antimikrobiyal testler sırasında belirlenemeyen, ancak E-test ile tespit edilebilen heterodirenç, *A.baumannii*'de gelişen kolistin ve karbapenem direncinden sorumlu tutulmaktadır. Daha önceleri *Staphylococcus aureus* ve *P.aeruginosa* için tanımlanan bu direnç şekli, ana bakteri topluluğuyla benzer genetik özellik gösteren alt bakteri topluluğunun daha dirençli olması nedeniyle tedaviye klinik olarak cevapsızlık şeklinde ortaya çıkmaktadır¹⁴. Özellikle çok ilaca dirençli *A.baumannii*'ye bağlı enfeksiyonlarda kolistin tek tedavi seçeneği olarak kullanılması bu tehlikeyi artırmaktadır²².

Karbapeneme dirençli izolatlarda dirence yol açan genetik neden çok çeşitli olabilmektedir. Karbapeneme dirençli bulunan bazı izolatlarda, Amp-C tipi beta-laktamazların sürekli ekspresyonu ile birlikte dış membran porinlerinde kayıp olmasına bağlı olarak karbapenemin hücre içine alımı azalmaktadır¹⁷. Bunun yanı sıra *Acinetobacter* türlerinde *Pseudomonas* türlerinde olduğu gibi OXA-tipi karbapenemazların varlığı da karbapenem direncine yol açabilmektedir²³. Bu izolatlarda karbapenem direncinin bir diğer olası nedeni de MBL'lerdir. MBL'lerin rutin laboratuvarında tespitine yönelik olarak yapılan testlerde çeşitli sorunlar ve genotipik yöntemlerle karşılaştırıldığında çeşitli uyumsuzluklar yaşanmaktadır. Bu uyumsuzluklar daha çok fenotipik yöntemlerle yanlış pozitif MBL saptanması yönündedir. Sader ve arkadaşlarının¹⁷ çalışmasında, MBL fenotipi pozitif olan 33 *Acinetobacter* türünün sadece 7'sinde bla_{IMP} varlığı tespit edilmiştir. Mezzatesta ve arkadaşlarının¹⁵ çalışmasında ise, 107 *Acinetobacter* izolatında %50 oranında karbapenem direnci saptanırken, izolatların hiçbirisinde bla_{VIM} ve bla_{IMP} varlığı bulunamamıştır. Benzer bir durum Aktaş ve arkadaşlarının²⁴ çalışmasında da irdelenmiş; 28 *P.aeruginosa* ve 11 *A.baumannii* klinik izolatında değişik fenotipik yöntemlerle %0-100 arasında değişen oranlarda MBL pozitifliği gözlenirken, $bla_{VIM/IMP}$ varlığı hiçbir izolatta gösterilememiştir²⁴. Bu bulgular bu çalışmada elde edilen sonuçları da desteklemektedir. Çalışmamızda, yüksek oranda imipenem direnci saptanan *Acinetobacter* izolatlarında fenotipik MBL yapımı %51.6 olarak bulunmuştur. Ancak genotipik olarak bu izolatlarda PCR ile bla_{IMP-1} ve bla_{VIM-2} genleri saptanmamıştır. Bu suşlarda, dünyada sıklıkla rastlanmakta olan bla_{IMP-1} ve bla_{VIM-2} genlerine bağlı MBL yapımı dışında bir mekanizmanın rol oynadığı ileri sürülebilir. Çalışmamızda sadece *Acinetobacter* türlerinde en sık saptanan IMP-1 ve VIM-2 türü MBL genlerine yönelik bir inceleme yapılmış olması bu çalışmanın kısıtlayıcı yönlerinden biridir. Çalışılan izolatlarda görülen yüksek karbapenem direncinin MBL yapımına bağlı olduğunun kesin kanıtlanabilmesi için, tüm diğer tanımlanmış MBL genlerine yönelik moleküler bir taramanın yapılması gerekmektedir. Fenotipik ve genotipik bulguların çelişkili sonuçlar vermesini engellemek için, özellikle moleküler seviyede olanaklara sahip olmayan laboratuvarlarda, MBL yapımını belirleyen daha etkin fenotipik yöntemlerin ortaya konmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

Acinetobacter sıklıkla hastane kökenli enfeksiyonlara neden olan ve çoklu direnç nedeniyle tedavide sorun oluşturan bir patojendir. Bu çalışmada hastanemizde izole edilen

Acinetobacter türlerinde özellikle çoklu dirençli izolatların yüksek oranı, bakteriler arası direnç yayılımının arttığına ve olası bir klonal yayılıma işaret etmektedir. Kolistin direncinin de artma eğiliminde olması, bu izolatlarda antibiyotik duyarlılık sonuçlarının dikkatle takip edilmesini gerektirmektedir. Bu nedenle, çoklu ilaç direnci görülen *Acinetobacter* türlerinde tedavide kullanılacak yeni antibiyotiklere gereksinim bulunmaktadır. Bu süreç içinde direnç yayılımının engellenmesine yönelik önlemlerin alınması uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

- Jacoby GA, Medeiros AA. More extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1697-704.
- Giamarellou H, Antoniadou A, Kanellakopoulou K. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? *Int J Antimicrob Agents* 2008; 32: 106-19.
- Gacar GG, Midilli K, Kolaylı F, et al. Genetic and enzymatic properties of metallo-beta-lactamase, isolated from *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate from Turkey. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 4400.
- Takahashi A, Yomoda S, Kobayashi I, et al. Detection of carbapenemase producing *Acinetobacter baumannii* in a hospital. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 526-29.
- Yum JH, Yi K, Lee H, et al. Molecular characterization of metallo-β-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomospecies 3 from Korea: identification of two new integrons carrying the *blavim-2* gene cassettes. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 837-40.
- Toleman MA, Biedenbach D, Bennett DMC, Jones RN, Walsh TR. Italian metallo-beta-lactamases: a national problem? Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Programme. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55: 61-70.
- Lee K, Lee WG, Uh Y, et al. VIM- and IMP-type metallo-β-lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean Hospitals. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 868-71.
- Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the Hodge test and the Imipenem-EDTA double disk synergy test for differentiating metallo-β-lactamase producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 4623-9.
- Yan JJ, Wu JJ, Tsai SH, Chuang CL. Comparison of the double-disk, combined disk, and E-test methods for detecting metallo-beta-lactamases in gram-negative bacilli. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004; 49: 5-11.
- Eun-Jee O, Lee S, Park YJ, et al. Prevalence of metallo-beta-lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in a Korean University hospital and comparison of screening methods for detecting metallo-beta-lactamase. *J Microbiol Methods* 2003; 54: 411-8.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 16th Informational Supplement. M100-S16. 2006. CLSI, Wayne, PA.
- Yong D, Kyungwon L, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM, Chong Y. Imipenem EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3798- 801.
- Shibata N, Doi Y, Yamane K, et al. PCR typing of genetic determinants for metallo-beta-lactamases and integroses carried by gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. *J Clinical Microbiol* 2003; 41: 5407-13.
- Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agent Chemother* 2007; 51: 3471-84.
- Mezzatesta ML, Trovato G, Gona F, et al. In vitro activity of tigecycline and comparators against carbapenem-susceptible and resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Italy. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2008; 7: 4.
- Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of antimicrobial activity of polymyxin B against 54731 clinical isolates of gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 315-21.

17. Sader HS, Castanheira M, Mendes RE, Toleman M, Walsh TR, Jones RN. Dissemination and diversity of metallo-beta-lactamases in Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 25: 57-61.
18. Turner MJ, Greenhalgh JM; MYSTIC study group (Europe). The activity of meropenem and comparators against *Acinetobacter* strains isolated from European countries (1997-2000). *Clin Microbiol Infect* 2003; 9: 563- 7.
19. Güriz H, Aysev D, Yavuzdemir Ş. Hastane enfeksiyonlarından etken olarak izole edilen *Acinetobacter* suşlarının antimikrobiyallere duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bul* 1999; 33: 289-96.
20. Akan Ö, Uysal S. Çoklu dirençli *Acinetobacter baumannii* ve karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında tigesiklinin in vitro etkinlik durumu. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42: 209-15.
21. Dizbay M, Altuncekic A, Sezer BE, Ozdemir K, Arman D. Colistin and tigecycline susceptibility among multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from ventilator-associated pneumonia. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 32: 29-32.
22. Li J, Rayner CR, Nation RL, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 2946-50.
23. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 440-58.
24. Aktaş Z, Kayacan Bal Ç. Investigation of metallo-beta-lactamase producing strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* by E-test disk synergy and PCR. *Scand J Infect Dis* 2008; 40: 320-5.