

YOĞUN BAKIMDA İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS* SPP. SUŞLARINDA METALLO-BETA-LAKTAMAZ SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Kutbettin DEMİRDAĞ, Mehmet CABALAK, Müge ÖZGÜLER

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, ELAZIĞ

ÖZET

Haziran-Aralık 2008 arasında hastanemiz yoğun bakım ünitesinde hastalardan alınan kültür örneklerinden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen çoğul dirençli 43 *Pseudomonas* spp. suşunda metallo-beta-laktamaz (MBL) üretimi, modifiye Hodge testi ve kombine disk (IPM-EDTA) yöntemi ile araştırılmıştır. Kombine disk (IPM-EDTA) yöntemi ile 43 suşun 34'ünde, modifiye Hodge testi ile 43 suşun 16'sında MBL üretimi tespit edilmiştir.

Hastanelerde, fenotipik yöntemlerle *Pseudomonas* suşlarında MBL üretiminin tespit edilmesi, hem bu etkenlerle oluşan enfeksiyonların tedavisinde yol gösterici olacak hem de erken başlatılacak kontrol önlemleriyle enfeksiyon kontrolüne katkı sağlayacaktır.

Anahtar sözcükler: MBL, metallo-beta-laktamaz, *Pseudomonas*, yoğun bakım

SUMMARY

The Frequency of Metallo-Beta-Lactamase Production in *Pseudomonas* spp. Strains Isolated from Intensive Care Unit

In the present study, we evaluated the frequency of metallo-beta-lactamase (MBL) production in 43 multidrug resistant *Pseudomonas* spp. strains isolated from intensive care unit of our hospital during June and December 2008. The MBL production was examined by modified Hodge test and combined disc (IMP- EDTA) test. Thirty four and sixteen out of 43 strains were found MBL positive by IMP-EDTA and by modified Hodge test, respectively.

Consequently, detecting MBL production in *Pseudomonas* strains by phenotypical methods will provide guidance for treatment of infections and may be helpful for infection control by early initiate relevant control measures.

Keywords: intensive care unit, MBL, metallo-beta-lactamase, *Pseudomonas*

GİRİŞ

Pseudomonas türleri primer olarak nozokomiyal enfeksiyonlara yol açan fırsatçı non-fermentatif Gram negatif patojenlerdir. Özellikle yoğun bakım ünitesinde yatan immün düşkün hastalarda ciddi hastalıklara sebep olmaktadır.

Pseudomonas suşları, ampicilin, amoksisilin, amoksisilin-klavulanat, 1. ve 2. kuşak sefalosporinler, sefotaksim, seftriakson, nalidiksik asit ve trimetoprime doğal dirençlidir⁽⁴⁾. Bu nedenle *Pseudomonas* suşlarının etken olduğu

enfeksiyonların tedavisi oldukça zordur.

Çoklu ilaca direnç durumu, *Pseudomonas* suşlarında sık gözlenen bir durumdur. Çoklu ilaca direnç tanımı, antipsödomonal penisilin ve sefalosporinler, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörleri, aminoglikozidler, tetrasiklinler, florokinolonlar, trimetoprim-sulfametoksazol ve karbapenemlerden en az üçüne direnç durumunu ifade etmektedir^(8,17,18).

Pseudomonas suşlarında direnç gelişimi, porin mutasyonları, aktif pompa (efluks) sisteminin uyarılması, AmpC beta-laktamaz, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (PER-1,

İletişim adresi: Müge Özgüler. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, ELAZIĞ

Tel: (0424) 238 76 88, GSM: (0533) 445 14 83

e-posta: mugeozguler@hotmail.com

Alındığı tarih: 18.04.2011, yayına kabul: 15.08.2011

OXA, TEM-24), metallo-beta-laktamaz, aminoglikozid modifiye eden enzimler gibi enzimlerle oluşan enzimatik inaktivasyon ve DNA topoizomeraz IV gibi hedeflerde oluşan değişim gibi mekanizmalarla meydana gelmektedir⁽¹⁸⁾.

Karbapenemler, geniş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) gibi birçok beta-laktamazın hidrolizine dayanıklı olduklarından *Pseudomonas* gibi dirençli Gram negatif bakterilerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılan etkin antibiyotiklerdir⁽¹⁵⁾.

Beta-laktamazlar ise dirençli Gram negatif mikroorganizmalarda bulunan ve beta-laktam antibiyotiklere karşı gelişen antibiyotik direncinden sorumlu olan enzimlerdir. Bazı beta-laktamazlar, beta-laktam halkasını parçalamak için çinko iyonlarını kullanırlar, fakat çoğu serin ester mekanizmasıyla etki gösterirler⁽²⁾.

Günümüzde beta-laktamazlar, hidrolitik spektrumları, inhibitör duyarlılıkları, kromozomal veya plazmid kaynaklı olmalarına göre gruplandırılırlar. İlk sınıflama Jack ve Richmond⁽¹¹⁾ tarafından 1970'de yapılmış, Bush ve ark.⁽⁵⁾'nin 1989'da yaptığı sınıflama 1995'te tamamlanmıştır. Revize Bush sınıflamasında beta-laktamazlar, penisilin, oksasilin, karbenisilin, sefaloridin, geniş spektrumlu sefalosporinler, imipenem arasındaki substrat tercihlerine göre ve klavulanat ile inhibisyon duyarlılığına göre gruplandırılmıştır. Bu mekanizmadan yola çıkarak Ambler⁽²⁾ beta-laktamazları sınıflandırmıştır. Bu sınıflama stabil olup mutasyonlardan etkilenmemektedir. Zamanla bu sınıflama basitleştirilmiş ve A'dan D'ye kadar dört sınıfta toplanmıştır. A, C, D serin içeren enzimleri, B ise çinko içeren enzimleri kapsar⁽¹⁵⁾.

Metallo-beta-laktamazlar Ambler tarafından 1980 yılında, B sınıfını oluşturan serin beta-laktamazlar içinde sınıflandırılmış, daha sonra 1989 yılında Bush'un beta-laktamazları fonksiyonel olarak değerlendirerek oluşturduğu sınıflandırmada 3. sınıf içine alınmıştır⁽⁵⁾. MBL'ler diğer beta-laktamazlardan farklı olarak aktif bölgelerinde çinko bulunduran enzimlerdir. Serin beta-laktamaz inhibitörleri olan klavulanat, tazobaktam ve sulbaktamdan etkilenmezler. MBL'lerin substrat profilleri çok geniş olup, geniş spektrumlu sefalosporinleri (sefotaksim, seftazidim, sefepim) ve karbapenemleri (imipe-

nem, meropenem) de kapsamaktadır⁽²⁾.

Pseudomonas suşlarında MBL oluşması, bu enzimlerin geniş spektrumlu sefalosporin ve karbapenemleri de içeren geniş hidroliz profilleri nedeniyle tedavide sorunlara yol açmaktadır. Tedavi esnasında kullanılan antibiyotik *Pseudomonas aeruginosa*'daki AmpC enzimini güçlü bir şekilde indükler, direnç gelişimine sebep olabilir⁽¹⁸⁾. Üreidopenisilinler ve geniş spektrumlu sefalosporinler de bu enzime dayanıksız olup, enzimin salınımını zayıf da olsa indüklerler. Ampisillin ve dar spektrumlu sefalosporinler, bu enzimin hidrolizine dayanıksızdır. Karbapenemler ise, bu enzimin güçlü indükleyicisidirler^(18,24).

MBL'lerdeki bu hızlı artış endişe vermeye beraber bu enzimlerin varlığının bir takım yöntemlerle önceden tespit edilmesine dair ilgi uyandırmaktadır. MBL aktivitesinin etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve 2-merkaptopropionik asit (MPA) gibi metal şelatörler ile inhibe olma özelliklerinden yararlanılarak bu enzimleri erken tanıyabilecek tarama amaçlı basit fenotipik yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar imipenemli veya seftazidimli EDTA veya MPA disklerinin kullanıldığı çift-disk sinerji testi, Hodge testi, saftazidim veya imipenemli EDTA kombine disk testi, MBL E-test ve imipenemli EDTA kullanılan mikrodilüsyon testidir.

Kombine disk testi, plak içerisine yerleştirilen iki imipenem diskinden bir tanesine EDTA eklendikten sonraki inhibisyon zon çapı farkına göre değerlendirilmenin yapıldığı bir testtir. İmipenem/EDTA diskinin inhibisyon zonu tek başına imipenem diski zon çapından ≥ 7 mm büyük ise bakteri izolatu MBL pozitif olarak kabul edilmektedir^(7,20). Çift disk sinerji testinde amaç imipenem inhibisyon zonunun EDTA varlığında genişleyip genişlemediğini tesbit ederek MBL pozitif bakteri izolatlarını tanımlamaktır. İmipenem diski inhibisyon zonunun EDTA diskinin doğru genişlemesi sinerjistik inhibisyon zonu olarak değerlendirilir^(7,20). MBL E-test yönteminde bir tarafında imipenem diğer tarafında ise imipenem ve EDTA bulunan test stribi ile çalışıldığında, imipenem MİK değerinin EDTA'nın olduğu taraftaki MİK değerinden 8 kat ve üzerinde olması MBL pozitifliği olarak değerlendirilir^(7,20). Modifiye Hodge testinin

temeli imipeneme duyarlı bir bakterinin metallo-beta-laktamaz üreten bir bakteri ile bir arada bulunduğu imipenem varlığında da üreyebilmesi esasına dayanmaktadır. Bu test penisilinaz üreten *Neisseria gonorrhoeae* tesbitinde kullanılan Hodge testinin metallo-beta-laktamaz üretimini göstermek için *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) yerine *Escherichia coli* (ATCC 25922), penisilin diski yerine de imipenem diski kullanılması ile modifiye edilmiştir^(20,27).

Bu çalışmada; son zamanlarda giderek arttığı gözlenen karbapeneme dirençli *Pseudomonas* suşlarında, MBL üretiminin sıklığının belirlenmesi ve bu enzimlerin varlığını ortaya koyan iki fenotipik tarama yönteminin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bakteri suşları

Haziran - Aralık 2008 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen materyallerden üreyen ve API 20E ile tanımlanan toplam 126 *Pseudomonas* spp. suşuna seftazidim, siprofloksasin, gentamisin, amikasin, aztreonam, sefepim, imipenem, meropenem, piperasilin-tazobaktam diskleri ile antibiyogram yapılmıştır⁽⁶⁾. Antibiyogram sonucuna göre üç veya daha fazla antibiyotiğe dirençli olan toplam 57 suş saptanmış, bu suşlar içinde de klinik ve laboratuvar olarak hastane enfeksiyonu etkeni olduğu düşünülen 28'i trakeal aspirat, yedisi kan, altısı idrar, ikisi kateter ucundan izole edilen toplam 43 dirençli *Pseudomonas* suşu çalışmaya alınmıştır.

Metallo-beta-laktamaz (MBL) aktivitesinin belirlenmesi

Suşların karbapenemaz ve MBL üretimi, kombine disk testi (IPM-EDTA disk) yöntemi ve modifiye Hodge testi ile taranmıştır.

1-Kombine disk (IPM-EDTA) yöntemi: Öncelikle EDTA stok solüsyonu hazırlanmıştır. Bunun için, 1000 mL distile suda 186.1 g disodyum EDTA.2H₂O (Sigma Chemicals, Almanya) çözülürülerek 0.5 M EDTA solüsyonu elde edilmiş ve NaOH ile pH 8.0'e ayarlanmıştır.

Otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Test suşları CLSI'nın önerdiği disk difüzyon yönteminde olduğu gibi Mueller-Hinton agar plağının yüzeyine ekilmiştir. Plağa ikişer adet IPM (10 µg) diski yerleştirilmiş, disklerin birer tanesine 5 µL (930 µg) 0.5 M EDTA solüsyonu eklenerek kombine diskler (10 µg/930 µg) oluşturulmuştur. 35°C'de 16-18 saatlik inkübasyondan sonra zon çapları ölçülmüş, IPM diski ve bu disklerin EDTA ile kombine edildiği disklerin etrafındaki zon çapları arasındaki fark her bir suş için kaydedilmiştir. EDTA'lı diskin çevresindeki inhibisyon zon çapı, EDTA'sız disk zon çapından en az 7 mm daha büyükse sonuç pozitif olarak kabul edilmiştir^(1,7,27).

2-Modifiye Hodge testi: *E.coli* ATCC 25922 suşunun McFarland 0.5'in 1/10 bulanıklığındaki süspansiyonu hazırlanarak Mueller-Hinton agar plağının yüzeyine disk difüzyon yönteminde olduğu gibi ekilmiş, plağın merkezine IPM diski (10 µg) yerleştirilmiştir. Test suşları, bu diskin dört bir kenarından periferik doğru çizgi ekimi şeklinde öze ile ekilmiş, 35°C'de 16-18 saatlik inkübasyondan sonra diskin etrafındaki inhibisyon zonunda çarpıklık veya yonca yaprağı görünümü pozitif olarak kabul edilmiştir^(14,19).

BULGULAR

Çalışmanın yapıldığı dönemde laboratuvarımızda toplam 126 *Pseudomonas* suşu tanımlanmıştır. Bu suşlardan 57'si (% 45) karbapeneme dirençli bulunmuştur. Bu suşlar içinden hastalarda klinik ve laboratuvar olarak aktif enfeksiyon etkeni olduğu düşünülen toplam 43 *Pseudomonas* suşu çalışmaya alınmıştır. Suşların 30'u *Pa.aeruginosa* olarak tanımlanmıştır. Suşların duyarlılıkları tabloda gösterilmiştir.

Tablo. 43 *Pseudomonas* spp. suşunda antibiyotik duyarlılığı (n).

Antibiyotik	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
Seftazidim	2	13	28
Siprofloksasin	0	16	27
Gentamisin	0	13	30
Amikasin	2	5	36
Aztreonam	0	3	40
Sefepim	3	7	33
İmipenem	0	0	43
Meropenem	0	0	43
Piperasilin-tazobaktam	1	5	37

43 *Pseudomonas* suşunun her birine İPM-EDTA ve modifiye Hodge testi uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre 43 *Pseudomonas* suşundan 34'ünde (% 79) İPM-EDTA testi ile, 16'sında (% 37) modifiye Hodge ile pozitiflik elde edilmiştir. 12 suşta her iki test pozitif saptanmıştır. İPM-EDTA ile pozitif olan 22 suş modifiye Hodge ile negatif bulunmuştur. Modifiye Hodge ile pozitif olan dört suşta İPM-EDTA ile negatiflik saptanmıştır. Sonuçlar Chi-Square ile istatistiksel olarak analiz edilmiş ve İPM-EDTA testinin modifiye Hodge testine göre daha duyarlı olduğu sonucu elde edilmiştir ($p < 0.001$).

TARTIŞMA

Metalo-beta-laktamazlar; IMP ve VIM tip enzimler olarak iki majör grup altında toplanmış olup, hem kromozomal hem de plazmid aracılığıyla taşınır ve hepsi integronlar içerisindedir^(15,25,26). İntegronlar içerisinde bulunması, bu direncin başka bir mikroorganizmaya aktarılabilmesi sonucunda dirençli mikroorganizmaların artışına neden olmaktadır.

IMP-1 ve VIM-2 *Pseudomonas putida* ve *Pseudomonas stutzeri*'de, VIM-2'nin bir varyantı olan VIM-3 ve sefepim, meropenem ve imipenem karşı düşük düzeyde hidrolitik aktivite gösteren IMP-3 ile IMP-6 türü MBL'ler de *P.aeruginosa*'da gösterilmiştir⁽²⁶⁾. Bir çalışmada *P.aeruginosa*'nın imipenem dirençli suşlarında direncin plazmid aracılığıyla taşındığı saptanmıştır^(10,21).

Antibiyoqram duyarlılığına göre üreido-penisilinler, sefalosporinler, sefamisinler ve karbapenemler gibi antibiyotiklerin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin, MBL üreten suşlarda yüksek olduğu, bunun yanında monobaktam ve piperasiline MİK değerlerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir. Çoğu izolatlarda, her ne kadar MBL tarafından hidrolize ediliyorsa da sefepim, meropenem ve imipenem için MİK değerlerinin düşük olduğu gözlenmiştir. Bu izolatlarda MBL üretiminin gizli olabileceği veya baskılanmış olabileceği belirtilmiştir⁽¹⁰⁾.

Artmış aktif efluks sistemi ve azalmış membran geçirgenliği de *P.aeruginosa*'daki beta-

laktam direncine katkıda bulunmaktadır⁽¹⁶⁾. Bununla beraber bazı izolatlardaki piperasiline, sefepim ve karbapenemlere düşük MİK düzeyi, bu suşlardaki yüksek permeabilite ve daha az etkili efluks sistemi ile ilgili olabilir.

MBL'lerin sefalosporinlere, sefamisinlere ve karbapenemlere karşı dirence yol açması ve MBL genlerinin integron üzerinden taşınması sonucunda farklı Gram negatif bakteri türlerine yayılabilmesi ihtimali nedeniyle metallo-beta-laktamaz üreten *Pseudomonas* suşları klinik bir tehdit oluşturmaktadır. CLSI tarafından bu enzimlerin gösterilmesi için önerilmiş bir standart test olmamakla birlikte, modifiye Hodge testi, *Enterobacteriaceae* izolatları için karbapenem direnci saptandığında karbapenem yapımının doğrulanması için önerilmiş bir testtir^(6,7). Bir çalışmada modifiye Hodge testi sonuçları ile karşılaştırıldığında çift disk sinerji testinin pozitif prediktif değeri % 88, negatif prediktif değeri % 80, özgüllüğü % 89, duyarlılığı % 79; kombine disk difüzyon testinin pozitif prediktif değeri % 78, negatif prediktif değeri % 100, özgüllüğü % 74, duyarlılığı % 100 olarak belirtilmektedir⁽²²⁾. Çift disk sinerji testinin, MBL saptanmasında kolay uygulanabilir, duyarlı bir yöntem olduğu yönünde veriler bildirilmiştir⁽²²⁾. Ancak en güvenilir yöntem enzimi kodlayan gen varlığının moleküler genetik yöntemlerle gösterilmesidir⁽²⁵⁾. Bununla beraber, bu yöntemin de bir çok laboratuvarında kullanılabilme koşulları bulunmamaktadır. Test edilen fenotipik yöntemlerden *Pseudomonas* suşları için en duyarlı olanının kombine disk difüzyon testi olduğu bulunmuştur⁽²²⁾.

Çalışmamızda, hastane infeksiyonu etkeni olan ve disk difüzyon yöntemi ile çoğul antibiyotik direnci saptanan 43 *Pseudomonas* suşunda MBL üretimini araştırmak amacıyla, modifiye Hodge testi ve kombine (İPM-EDTA) disk yöntemi ile çalışılmıştır. MBL üretimi kombine disk testi ile 43 suşun 34'ünde (% 79), modifiye Hodge testi ile 16'sında (% 37) tespit edilmiştir. Benzer bir çalışmada; metallo-beta-laktamaz üretimi imipenem dirençli *Acinetobacter baumannii* ve *P.aeruginosa* suşlarında sırasıyla; İPM-EDTA çift disk sinerji testi ile % 84 ve % 73; kombine disk yöntemi ile % 75 ve % 62; modifiye Hodge testi ile % 74 ve % 58; E-test ile % 80

ve % 40 oranında bulunmuştur⁽²⁰⁾.

Çift disk sinerji testinin uygulandığı başka bir çalışma da, bu testin MBL saptanmasındaki duyarlılığının *Pseudomonas* türlerinde yaklaşık % 89, *Acinetobacter* türlerinde ise % 100 olduğu belirtilmiştir⁽¹³⁾. Başka bir çalışmada; imipeneme dirençli non-fermentatif Gram negatif basillerde MBL pozitifliği modifiye Hodge testi ile % 56 oranında bulunurken, çift disk sinerji testi ile % 72 oranında bulunmuş, çift disk sinerji testinin modifiye Hodge testine göre daha duyarlı olduğu belirtilmiştir⁽¹²⁾.

Ülkemizde yapılan MBL sıklığını belirten çalışmalar kısıtlı olup, Altoparlak ve ark.⁽¹⁾ *P. aeruginosa*'da MBL pozitifliğini IMP-EDTA kombine disk yöntemi ile % 55, Toraman ve ark.⁽²³⁾ E-test ile % 29 olarak saptamışlardır. Gayyurhan ve ark.⁽⁹⁾ kombine disk (IPM-EDTA) testi kullanılarak test edilen suşların 13'ünde (% 72) MBL enzimini pozitif bulmuştur.

Sesli-Çetin ve ark.⁽²⁰⁾ yaptıkları çalışmalarında, IPM-EDTA kombine disk testi ile modifiye Hodge testine göre daha yüksek pozitif değerler almışlardır. Behera ve ark.⁽³⁾ da kombine disk testini, çift disk sinerji testine göre daha duyarlı bulmuşlardır. Çalışmamızda da elde edilen sonuçların istatistiksel analizine göre kombine disk testinin, modifiye Hodge testine kıyasla daha duyarlı olduğu saptanmış, p değeri anlamlı bulunmuştur. MBL enzimi varlığının en fazla kombine disk testi ile saptanmış olması önceki çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Çalışmamızda, MBL üretimi için kombine disk testi sonuçları diğer çalışmalara benzer ancak modifiye Hodge testi için ise daha düşük oranda bulunmuştur. Modifiye Hodge testinin düşük olması yorumlamadaki farklılıklara bağlanabilir.

Çalışmanın yapıldığı dönemde elde edilen suşların hastalarda klinik ve laboratuvar olarak hastane infeksiyonu nedeni olması şartı aranmıştır. Bu suşların hepsi yoğun bakımdan izole edilen suşlar olup hastalar arasında horizontal geçişi olabilir. Bu suşlar, hastalarda kolonize olup eş zamanlı ya da farklı dönemlerde hastane infeksiyonuna neden olabilir. Suşlar klonal olarak benzer suşlar olabilir, bu da elde ettiğimiz sonuçları etkileyebilir.

MBL üreten bakterilerin neden olduğu

infeksiyonlar hem dünyada hem de ülkemizde sorun oluşturmaktadır. CLSI'da MBL üretimini saptamak için önerilen standart bir yöntem bulunmamaktadır. MBL varlığını göstermek için kullanılan fenotipik yöntemlerden hangisinin daha iyi olduğu konusunda henüz bir netliğe varılmamıştır. Ancak IPM-EDTA testinin MBL saptama oranları modifiye Hodge testine göre daha yüksek olup şüpheli durumlarda kombine yöntemin kullanılmasının duyarlılığı artıracığı kanısındayız.

Sonuç olarak; dünya genelinde artış göstermekte olan MBL üreten *Pseudomonas* suşlarının, özellikle yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere ülkemizde de artış gösterdiği gözlenmektedir. Bu etkenlerin neden olduğu infeksiyonların tedavisindeki zorluklar, akılcı antibiyotik kullanımının önemini ve karbapenem türü antibiyotiklerin gerekli olduğu durumların doğru seçilmesini daha önemli kılmaktadır. Tedaviye yanıt alınamayan durumlarda MBL üretiminden şüphelenilmeli, uygun fenotipik tarama yöntemleriyle MBL üretimi araştırılmalıdır. Gerekli durumlarda moleküler doğrulama testiyle direnç durumunun tespit edilmesi; gelecekteki direnç profilinin tahmin edilmesinde ve buna yönelik uygun planlamaların yapılmasında faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Altoparlak U, Aktas F, Celebi D, Ozkurt 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(6):707-10.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2005.02.017>
PMid:16129224
2. Ambler RP. The structure of beta-lactamases, p.321-31, *Philos Trans R Soc London Ser B (London)* (1980).
3. Behera B, Mathur P, Das A, Kapil A, Sharma V. An evaluation of four different phenotypic techniques for detection of metallo-beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa*, *Indian J Med Microbiol* 2008;26(3):233-7.
<http://dx.doi.org/10.4103/0255-0857.39587>
PMid:18695320

4. Blondell-Hill E, Henry DA, Speert DP: *Pseudomonas*, "Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds). Manual of Clinical Microbiology, 9th ed., Vol 1" kitabında s.734-48, ASM Press, Washington, DC (2007).
5. Bush KG, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structures, *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39(6):1211-33. PMID:7574506 PMCID:162717
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement, CLSI document M100-S15, CLSI, Wayne, PA (2005).
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement, CLSI document M100-S19, CLSI, Wayne, PA (2009).
8. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Pandrug resistance (PDR), extensive drug resistance (XDR), and multidrug resistance (MDR) among Gram-negative bacilli: need for international harmonization in terminology, *Clin Infect Dis* 2008;46(7):1121-2. <http://dx.doi.org/10.1086/528867> PMID:18444833
9. Gayyurhan E, Zer Y, Mehli M, Akgün S. Yoğun bakım Ünitesi hastalarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve metallo-beta-laktamaz oranlarının belirlenmesi, *İnfeksiyon Derg* 2008;22(1):49-52.
10. Ito H, Arakawa Y, Ohsuka S, Wacharotayankun R, Kato N, Ohta M. Plasmid-mediated dissemination of the metallo- β -lactamase gene blaIMP among clinical isolated strains of *Serratia marcescens*, *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39(4):824-9. PMID:7785978 PMCID:162636
11. Jack GW, Richmond MH. A comparative study of eight distinct beta-lactamases synthesized by gram-negative bacteria, *J Gen Microbiol* 1970;61(1):43-61. PMID:5489064
12. Jesudason MV, Kandathil AJ, Balaji V. Comparison of two methods to detect carbapenemase and metallo-beta-lactamase-production in clinical isolates, *Indian J Med Res* 2005;121(6):780-3. PMID:16037624
13. Lee K, Chong Y, Shin HB, Kim YA, Yong D, Yum JH. Modified Hodge test and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- β -lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species, *Clin Microbiol Infect* 2001;7(2):88-91. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-0691.2001.00204.x> PMID:11298149
14. Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk-synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp., *J Clin Microbiol* 2003;41:4623-9. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.10.4623-4629.2003> PMID:14532193 PMCID:254300
15. Livermore DM. β -Lactamases in laboratory and clinical resistance, *Clin Microbiol Rev* 1995;8(4):557-84. PMID:8665470 PMCID:172876
16. Matsumura N, Minami S, Watanabe Y, Iyobe S, Mitsuhashi S. Role of permeability in the activities of β -lactams against gram-negative bacteria which produce a group 3 β -lactamase, *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(8):2084-6. PMID:10428944 PMCID:89422
17. McGowan JE Jr. Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum, *Am J Infect Control* 2006;34(5):29-37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2006.05.226> PMID:16813979
18. Öztürk R. Çoklu ilaca dirençli *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* ile oluşan infeksiyon hastalıklarında antimikrobik tedavi, *ANKEM Derg* 2008;22(Ek 2):36-43.
19. Sarı H, Özer S, Gençer S, Batırel A, Balkan İ, Karagöz G. Karbapenemlere dirençli gram negatif basil izolatlarında imipenem-EDTA disk yöntemi ve modifiye Hodge testi ile metallo-beta-laktamaz varlığının araştırılması, *Flora* 2007;12(4):176-84.
20. Sesli-Çetin E, Tetik T, Kaya S, Arıdoğan BC. *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında metallo-beta-laktamaz üretiminin dört farklı fenotipik yöntemle araştırılması, *İnfeksiyon Derg* 2009;23(2):51-5.
21. Shibata N, Doi Y, Yamane K et al. 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, *J Clin Microbiol* 2003;41(12):5407-13. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.12.5407-5413.2003> PMID:14662918 PMCID:309014
22. Şimşek M, Sultan N. *Pseudomonas aeruginosa* ve

- Acinetobacter türlerine ait klinik izolatlarda metallo-beta-laktamaz yapımının farklı feonotip yöntemlerle incelenmesi, *Türk Klinik Lab Derg* 2010;1(1):11-16.
23. 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, *J Infect Chemother* 2004;10(5):257-61.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10156-004-0333-3>
PMid:16163458
24. Waley SG. β -Lactamase: mechanism of action, "Page MI (ed). *The Chemistry of β -Lactams*" kitabında s.198-228, Blackie Academic and Professional, London (1992).
25. Wirth FW, Picoli SU, Cantarelli VV et al. Metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in two hospitals from southern Brazil, *Braz J Infect Dis* 2009;13(3):170-2.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-86702009000300003>
PMid:20191191
26. Yan JJ, Hsueh PR, Ko WC et al. Metallo-beta-lactamases in clinical *Pseudomonas* isolates in Taiwan and identification of VIM-3, a novel variant of the VIM-2 enzyme, *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(8):2224-8.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.45.8.2224-2228.2001>
PMid:11451678 PMCID:90635
27. Yan JJ, Wu JJ, Tsai SH, Chuang CL. Comparison of the double-disk, combined disk, and Etest methods for detecting metallo-beta-lactamases in gram-negative bacilli, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004;49(1):5-11.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2004.01.002>
PMid:15135493