

Çoğul dirençli nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında beta laktamazların incelenmesi

Study of beta lactamases in nosocomial Pseudomonas aeruginosa strains with multiple resistance

Nigar Çelik

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Cerrahpaşa, İstanbul.

İletişim/Correspondence: Nigar Çelik Adres/Adress: İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Cerrahpaşa, İstanbul Tel: 0212 4143000/21432 E-mail: ncelik@istanbul.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi hastanesinde yatan 24'ü çocuk, 26'sı erişkin 50 hastadan izole edilmiş olan çoğul dirençli *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında beta laktamaz enzimleri araştırılmıştır. Suşların duyarlılıkları agar dilüsyon yöntemiyle incelenmiştir. Klasik çift disk sinerji yöntemiyle dokuz (%18) suшта genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) enzimi saptanmıştır. Beta laktamazların pI değerleri izoelektrik nokta tayini yöntemiyle 4.5 ve 8.2 arasında bulunmuştur. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile 22 (%44) suшта PER-1 enzimi, 23 (%46) suшта OXA-10 türevi ve 14 (%28) suшта OXA-2 türevi enzimler pozitif bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: *P.aeruginosa*, çoğul direnç, beta laktamaz.

SUMMARY

Beta lactamase enzymes in 50 multiply resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from 24 pediatric and 26 adult patients hospitalized in Istanbul University, Cerrahpaşa Faculty of Medicine were investigated. Susceptibilities of the strains were tested with the agar dilution method. Nine (18%) strains were positive for the extended spectrum beta lactamases (ESBL) with the classical double disk synergy test. pI ranges of the beta lactamases were between 4.5 and 8.2 by isoelectric focussing. PER-1 enzyme was positive in 22 (44%), OXA-10 derivatives in 23 (46%) and OXA-2 derivatives in 14 (28%) strains by PCR.

Key Words: *P.aeruginosa*, multiple resistance, beta lactamases.

GİRİŞ

P.aeruginosa, özellikle yoğun bakım ünitelerinde olmak üzere hastane infeksiyonu etkeni olarak en sık izole edilen patojenlerden biridir. *Pseudomonas* infeksiyonlarında antimikrobiyallere direncin çabuk gelişmesi ve yüksek oranlara ulaşması önemli bir sorundur (1). Çoğul dirençli *P.aeruginosa* nozokomiyal infeksiyonları tüm dünyada yaygınlaşmaktadır. Karbapenemazların, metalo beta laktamaz (MBL) ve genişlemiş spektrumlu beta laktamazların (GSBL) varlığı ile birçok antibiyotiğe direnç gelişmekte ve bu izolatlarla infekte hastaların tedavisinde zorluklar yaşanmaktadır (2).

Bu çalışmada 50 çoğul dirençli *P.aeruginosa* suşunun TEM, SHV, OXA-2, OXA-10, PER-1 ve

VEB direnç genlerine sahip olup olmadıkları araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Suşlar. Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi hastanesinde yatan 24'ü çocuk, 26'sı erişkin olmak üzere 50 ayrı hastadan izole edilmiş olan ve en az üç antibiyotik grubuna dirençli olduğu için çoğul dirençli olarak kabul edilen 50 adet *P.aeruginosa* suşu incelenmiştir.

Suşlar klasik mikrobiyolojik yöntemlerle tanımlanmıştır. Mavi-yeşil pigment oluşturan, oksidaz pozitif ve 42°C'de de üreyebilen suşlar *P.aeruginosa* olarak tanımlanmış ve çalışmaya alınmıştır. Gerektiğinde API ID 32 GN (Bio Mérieux, Fransa) identifikasyon kiti kullanılmıştır.

Agarda Dilüsyon Yöntemi. Suşların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için agarda dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. İncelenen suşların tikarsilin, tikarsilin/klavulanik asit, meropenem, imipenem, piperasilin, seftriakson, seftazidim, sefoperazon, sefepim, aztreonam, siprofloksasin, gentamisin ve tobramisine karşı minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri CLSI standartlarına uygun olarak araştırılmıştır (3). Deneyler sırasında kalite kontrol amacıyla standart suş olarak *E.coli* ATCC 35218, *E.coli* ATCC 25922 ve *P.aeruginosa* ATCC 27583 kullanılmıştır.

Klasik Çift Disk Sinerji Yöntemiyle GSBL Saptanması. Klavulanik asit ve genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerle yapılan çift disk sinerji testiyle (ÇDST) GSBL saptanması deneyi, yalnız *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *E.coli* ve *P.mirabilis* için standardize edilmiş; *P.aeruginosa* için ise ancak tahmini sonuç veren bir yöntemdir. Ayrıca bu test, GSBL'ye ek olarak kromozomal AmpC beta laktamazlara sahip suşlarda; karbapenemaz, metalo enzim ya da GSBL tipi OXA enzimi varlığı; GES-2 gibi klavulanatla inhibisyona göreceli direnç gösteren enzimlerin varlığında; impermealite ve efluks gibi farklı direnç mekanizmalarının birarada bulunması durumlarında *P.aeruginosa*'da tahmini GSBL tanısı için de uygun değildir (4). Ancak, bir ön bilgi vermesi amacıyla uygulanmıştır.

Deney için MHA yüzeyine 0,5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu inoküle edilmiştir. Tarama testi için plakların merkezine amoksisilin-klavulanik asit diski ve çevresine merkezden merkeze uzaklığı 20 mm olacak şekilde aztreonam, sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefepim, sefoperazon ve piperasilin diskleri yerleştirilmiştir. Amoksisilin-klavulanik asit diskiye doğru beta laktam inhibisyon zon çapının genişlemesi tahmini GSBL pozitifliği olarak kabul edilmiştir (3).

İzoelektrik Nokta Tayini (Isoelectric Focusing, IEF). İzolatların içerdiği beta laktamazların sap-

tanması amacıyla IEF yöntemi kullanılmıştır. IEF, Matthew ve ark.'na (5) ait yöntemin modifikasyonu ile yapılmıştır. Bu amaçla bakteriler sonike edilerek parçalanmış ve daha sonra satrifüjle çevrilerek beta laktamaz enzimlerini içeren üst sıvıları alınmıştır. Hazırlanan poliakrilamid jelin anot tarafına aplikatör strip yerleştirilmiştir. Beta laktamaz içeren sıvılardan ikişer mikrolitre aplikatörün kuyucuklarına damlatılmıştır. Enzim ekstraktları Model 111 MINI IEF Cell (Bio-Rad, ABD) cihazında birinci aşamada 100 V, 6 mA, 5 W 15 dakika; ikinci aşamada 100 V, 6 mA, 5 W 15 dakika; üçüncü aşamada 450 V, 4 mA, 5 W 60 dakika olacak şekilde yürütülmüştür. Bantları görüntülemek üzere jelin üzerine % 0.03'lük nitrosetin (Calbiochem, Darmstadt, Germany) çözeltisi emdirilmiş filtre kağıdı kapatılmış ve bantlar görünmeye başlayınca filtre kağıdı kaldırılmıştır. Kırmızı olarak gözlenen beta laktamaz bantlarının anoda olan uzaklıkları logaritmik kağıda işaretlenmiştir. İzoelektrik noktalar (pI) referans proteinler (IEF standartları Bio-Rad, ABD) ve daha önceden pI değerleri bilinen enzimler ile karşılaştırılarak saptanmıştır.

Direnç Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Yöntemiyle İncelenmesi. PCR yöntemiyle TEM, SHV, OXA-2, OXA-10, PER-1 ve VEB direnç genlerini içerip içermedikleri araştırılmıştır. Suşlar arasındaki klonal ilişkiyi saptamak için RAPD-PCR yöntemi kullanılmıştır (6-8). OXA tipi GSBL enzimleri genel olarak OXA-2 ve OXA-10 türevleri olduğu için OXA-2 (*blaOXA-2*, *blaOXA-15*) ve OXA-10 (*blaOXA-10*, *blaOXA-11*, *blaOXA-14*, *blaOXA-16*, *blaOXA-17*, *blaOXA-19*) gruplarına yönelik ortak primerler kullanılarak bu grup enzimlerin varlığı araştırılmıştır.

Amplifikasyon programı başlangıç denatürasyonu 94°C'de 5 dakika, daha sonra ise 95°C'de 45 saniye, 56°C'de 45 saniye ve 72°C'de 1 dakika olmak üzere 35 döngü ve sonunda 72°C'de 7 dakika olacak şekilde Thermal Cycler'da (Biometra, Almanya) yapılmıştır ve 35 döngü sonunda PCR ürünleri %1'lik agaroz jelde 150 V'da

bir saat boyunca yürütülmüştür. Elektforez işlemi sonucunda jel bir transilüminatör üzerine alınarak UV ışığı altında fotoğrafı çekildikten sonra amplifiye edilen DNA'nın molekül ağırlığı, molekül ağırlık standardı (174DNA size marker) ile karşılaştırılarak yaklaşık olarak belirlenmiştir

RAPD-PCR amplifikasyon programı başlangıç denatürasyonu 94°C'de 5 dakika, daha sonra ise 94°C'de 1 dakika, 36°C'de 1 dakika ve 72°C'de 3 dakika 35 döngü ve sonunda 72°C'de 7 dakika olacak şekilde Thermal Cycler'da (Biometra,

Almanya) yapılmıştır ve 35 döngü sonunda PCR ürünleri %1,5'lik agaroz jelde 150 V'da bir saat boyunca yürütülmüştür. Elektforez işlemi sonucunda jel bir transilüminatör üzerine alınarak UV ışığı altında fotoğrafı çekilip ortaya çıkan bantların profilleri karşılaştırılmıştır (6).

BULGULAR

Suşların minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerlerinin kümülatif dağılımı Tablo-1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Agarda dilüsyon deneyi sonuçlarına göre MİK değerlerinin kümülatif dağılımı

	MİK (İg/ml)																			
	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	>1024	MİK50	MİK90
TIC					1	1	1		3	4		2		13	10	7	8		128	512
TIC+CLA					1	2			3	5		3	3	12	7	10	4		128	512
MEM				2			1	2	3		16	6	14	2	2	2			32	128
IMP						1		6	2		13	11	7	6	1	3			32	128
PIP			1					1	1	1	8	3	4	6	15	10			128	512
CRO									1	1	2	6	1	18	10	2	9		128	1024
CAZ												10	7	25	2	6			128	512
CFP					1		2	4	2	4	5	1	2	14	9	1	4	1	128	1024
FEP				3	1		3	2	5	2	3	1	17	7	4		2		64	256
AZT					1		1	1	2	1		6	5	4	1	21	1	6	512	>1024
CIP	4	7		4	2		5		11	6	4	6	1						4	32
GEN			1	1			1	1	2			4	2	6	6	10	11	5	512	>1024
TOB		1	2	4	4		3	2				7	9	11	6	1			64	256

TIC:tikarsilin; TIC+CLA:tikarsilin/klavulanik asit; MEM:meropenem; IMP:imipenem; PIP:piperasilin; CRO:seftriakson; CAZ:seftazidim; CFP:sefoperazon; FEP:sefepim; AZT:aztreonam; CIP:siprofloksasin; GEN:gentamisin; TOB:tobramisin

Çift disk sinerji yöntemiyle dokuz (%18) suşta GSBL varlığı saptanmış; onaltı (%32) suşta ise kromozomal AmpC enziminin indüklendiği görülmüştür.

PCR deneyleri sonucunda 22 (%44) suşta PER-1, 23 (%46) suşta OXA-10 türevi ve 14 (%28) suşta OXA-2 türevi GSBL enzimi izole edilmiş ancak MBL tipi enzimlere raslanmamıştır. Suşla-

ra göre GSBL enzimlerinin dağılımı tablo-4'de gösterilmiştir. Bir (%2) suş PER-1, OXA-10 türevi ve OXA-2 türevi; sekiz (%16) suş PER-1, ve OXA-10 türevi ve sekiz (%16) suş PER-1, ve OXA-2 türevi enzimleri bir arada içermektedir. TEM, SHV ve VEB enzimleri negatif bulunmuştur. PCR deneyleri sonucunda oluşan bantlar şekil-2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. P.aeruginosa suşlarına ait fenotipik ve genotipik sonuçlar

No	Servis	Örnek türü	ÇDST	pI değerleri	MBL için EDTA ile						PCR sonuçları *				rapd-PCR				
					Bioassay			Kombine disk		Çift disk		IMP	MEM	CAZ		PER-1	OXA-10	OXA-2	
					IMP	MEM	E-test	0,5 m	0,1 m	0,5 m	0,1 m					türevi	türevi		
1	Acil	Yara		4,5, 6,2, 7,1				+					R	R	R	+	+		1
2	Nöroşiruji	İdrar		5,3, 6,1			+	+		+			R	R	R	+	+		1
3	Göğüs hast.	Balgam		5,3, 7,7	+								R	R	R	+		+	2
4	Erişkin YB	ET asp.		6,2, 6,4	+		+	+		+			R	R	R		+		3
5	Acil yanık ün.	Burun		6,2, 7,0	+	+	+	+		+			R	R	R		+		4
6	Acil yanık ün.	Yara		5,3, 6,2									R	R	R	+	+		4
7	Nöroşiruji	BOS	+	5,3, 6,2, 7,7				+					R	R	R	+	+	+	5
8	Erişkin YB	Yara	+	5,3, 6,4, 7,7									R	R	R	+		+	6
9	Erişkin YB	ET asp		5,3, 6,1, 7,0				+					S	S	R	+	+		7
10	Nöroşiruji	İdrar		6,4, 7,0	+	+	+	+	+	+	+	+	R	R	R		+		8
11	İç hast inf.	Balgam		5,3, 6,3									R	R	R		+		3
12	Erişkin YB	ET asp.		6,4, 6,1	+	+	+	+	+	+			R	R	R		+		4
13	İç hast inf.	ET asp.	+	5,3, 5,8									S	S	R	+			9
14	Ortopedi	ET asp.	+	5,3, 7,7				+					R	R	R	+		+	10
15	Acil yanık ün.	Yara		6,4, 7,0	+		+	+					R	R	R		+		4
16	Nöroşiruji	İdrar		7,0, 7,7				+					R	R	R			+	11
17	Erişkin YB	İdrar		6,2, 7,7				+					R	R	R		+	+	12
18	Erişkin YB	ET asp.		5,3, 5,8, 6,2	+		+	+		+			R	S	R	+	+		13
19	Erişkin YB	Kan		6,4, 7,7									S	R	R		+	+	11
20	Nöroşiruji	İdrar		5,3, 6,9, 7,7				+					S	R	R	+		+	12
21	İç hast inf.	Yara		5,3, 6,2				+					R	R	R	+	+		7
22	Erişkin YB	ET asp.		6,1, 6,4				+	+		+		R	R	R		+		14
23	Çocuk Hem	İdrar	+	5,8, 6,4									R	S	R		+		4
24	YDYB	ETT		5,3, 6,4									R	S	R	+			14
25	Nefroloji	Kan		5,3, 6,2, 7,0				+	+		+		R	R	R	+	+		13
26	Çocuk enf	Boğaz	+	6,4				+	+		+		R	R	R				15
27	Çocuk enf	İdrar		6,4									R	R	R		+		5
28	Çocuk enf	Boğaz		5,3, 6,2									R	R	R	+	+	+	7
29	Çocuk enf	Boğaz	+	5,3, 6,2									S	R	R	+			9
30	Erişkin YB	Yara		5,3, 5,8, 7,7	+			+	+		+		R	R	R	+			10
31	Erişkin YB	ET asp.		6,2, 7,7				+	+		+		R	R	R				6
32	Çocuk gast.	Boğaz		6,4, 7,7									R	R	R			+	15
33	Çocuk enf	İdrar	+	6,9									R	R	R				15
34	Çocuk enf	İdrar		5,3									R	R	R	+			14
35	YDYB	Kan		-									R	R	R				15
36	YDYB	Gözsür.		5,3, 7,7									R	R	R	+			5
37	Çocuk enf	Yara		5,3, 7,0, 7,7				+		+			R	R	R	+		+	5
38	Çocuk nefro	İdrar		7,7									R	R	R	+		+	16
39	Çocuk cer	İdrar		8,2				+					S	R	R				17
40	Çocuk enf	Kan		5,3, 6,9, 7,7				+					R	R	R	+			5
41	Çocuk enf	Balgam		-									R	R	R			+	18
42	Çocuk enf	Balgam		7,0									R	R	R				18
43	Çocuk enf	Balgam		7,0									R	R	R				18
44	Çocuk enf	Kan		5,3, 6,4	+			+	+				R	R	R	+	+		5
45	Çocuk enf	Balgam		5,8, 7,7									R	S	R			+	11
46	Çocuk enf	İdrar		5,8									S	S	R				15
47	Çocuk enf	BOS		5,3, 6,1	+			+	+				R	R	R	+	+		5
48	Çocuk enf	Balgam		5,8				+					R	S	R				18
49	YDYB			6,4									R	R	R				5
50	Erişkin YB			5,3, 6,4									S	R	R	+			6

Bilinen pI değerleri: PER-1: 5,3; OXA-10: 6,1, 6,2, 6,4; OXA-2: 7,7;

* VEB-1, TEM ve SHV enzimleri açısından PCR sonuçları tüm suşlar için negatiftir.

TARTIŞMA

PER-1 tipi GSBL enzimleri özellikle Türkiye’de yaygındır. İlk olarak Fransa’da bir Türk hastaya ait *P.aeruginosa* suşundan izole edilmiş, daha sonra Türkiye ve İtalya’da *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter spp.*’de bulunmuştur(9). Vahaboğlu ve ark. (10) Türkiye’nin yedi bölgesinde toplam 531 izolatta yürüttükleri çalışmanın sonucunda *Acinetobacter spp.*’lerin %76’sının, *Klebsiella spp.*’lerin %39’unun ve *P.aeruginosa*’ların %28’nin seftazidime dirençli olduğunu saptamışlardır. Seftazidime dirençli olan *Acinetobacter spp.*’lerin %60’ında ve *P.aeruginosa*’ların %38’inde PER-1 enzimi pozitif bulunmuştur. Vahaboğlu ve ark.’nın (11) 1997’de yaptıkları çalışmada 58 *Acinetobacter spp* izolatından 36’sı (%62) PER-1 üretirken hiçbirinin OXA-10 üretmediği saptanmıştır. Aktaş ve ark.’nın (6) yaptığı çalışmaya göre, İstanbul’da Şubat 1999- Şubat 2000 tarihleri arasında yatan hasta izolatu 287 *P.aeruginosa* suşundan %39’u seftazidime dirençli bulunmuştur. Aynı çalışmada yoğun bakım ünitesinden izole edilen 49 çoğul dirençli izolattan PCR yöntemiyle 42’si (%86) PER-1 ve 27’si (%55) OXA-10 türevi enzimler açısından pozitif bulunmuş; 20’sinin (%41) ise her iki beta laktamazı birlikte ürettiği saptanmıştır.

Yong ve ark.’nın (9) yaptığı çalışmaya göre Güney Kore’de 2001-2002 yıllarında toplanan 97 *Acinetobacter spp.* izolatından 61’i (%62.8) seftazidime dirençli ve 53’ü (%54.6) PER-1 pozitif bulunmuş; seftazidime dirençli 181 *P.aeruginosa* izolatında ise PER-1 pozitifliğine rastlanmamıştır. Avrupa’dan coğrafik olarak uzak Kore’de PER-1 pozitif *Acinetobacter spp.*’lerin varlığı ilginç bulunmuştur. Bu durum diğer ülkelerde de PER-1 pozitif bakterilerin olabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada PER-1 enzimi, tümü seftazidime dirençli olan 50 izolatu 22’sinde (%44) pozitif bulunmuştur.

OXA-10 türevi enzimlerden OXA-11, OXA-14, OXA-16 ve OXA-17 ve OXA-2 türevi OXA-15

ilk olarak Ankara’da Gür ve ark. (12-16) tarafından izole edilmişlerdir.

OXA-2 ve OXA-10 türevleri GSBL tipi OXA enzimlerini genel olarak içerdiği için bu çalışmada OXA-2 ve OXA-10 türevlerine yönelik ortak primerler kullanılmış ve 23 izolatta (%46) OXA-10, 14 izolatta (%28) OXA-2 türevi GSBL enzimi pozitif bulunmuştur.

SHV türü beta laktamazlara tüm dünyada sıklıkla rastlanmaktadır, fakat SHV enzimleri özellikle *E.coli*, *K.pneumoniae* ve *Enterobacter spp.* gibi Enterobacteriaceae ailesi üyelerinde yaygın olarak bulunmaktadır. SHV tipi beta laktamaz enzimlerine *P.aeruginosa*’da düşük oranda rastlanmaktadır. Günümüze kadar *P.aeruginosa*’da SHV-2, SHV-5 ve SHV-12 olmak üzere üç SHV tipi enzim bildirilmiştir. Bunlardan SHV-2 Fransa’dan, SHV-5 Yunanistan ve Tayland’dan, SHV-12 ise Tayland’dan bildirilmiştir (17,18). Ülkemizde de *Enterobacteriaceae* ailesinde SHV tipi beta laktamazlara sıklıkla rastlanmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada da SHV tipi beta laktamazlar araştırılmış ancak sonuç negatif olmuştur.

TEM türevi beta laktamaz enzimleri *Enterobacteriaceae* ailesinin farklı birçok türlerinde, *Pseudomonas*’larda, *Haemophilus influenzae* ve *Neisseria gonorrhoeae*’de yaygındır. *P.aeruginosa*’da TEM-4, TEM-21, TEM-24 ve TEM-42 alt türlerine rastlanmaktadır (19). Bu çalışmada TEM tipi beta laktamazlar negatif bulunmuştur.

GSBL tespiti için çift disk sinerji yöntemi yalnız *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *E.coli* ve *P.mirabilis* için standardize edilmiş olduğundan *Pseudomonas*’lar ve diğer gram negatif bakteriler için çift disk sinerji testi sonucu ancak “tahmini GSBL” olarak yorumlanabilmektedir. Bu bakterilerde kesin GSBL sonucu, ileri moleküler inceleme gerektirmekte; bu ise rutin laboratuvarlarda yaygın olarak uygulanmadığı için, *Pseudomonas*’larda, GSBL verileri sınırlı kalmaktadır. Antalya’da İnan ve ark. (20) 2002 yılında yaptıkları çalışmada 105 *P.aeruginosa* suşunun 13’ünde

(%12) çift disk sinerji yöntemiyle GSBL pozitifliği saptanmıştır.

Bu çalışmaya alınan 50 çoğul dirençli *P.aeruginosa* izolatında çift disk sinerji testiyle (ÇDST) dokuz izolatta (%18) GSBL pozitifliği bulunurken, PCR yöntemiyle 22 (%44) PER-1, 23 (%46) OXA-10 ve 14 (%28) OXA-2 olmak üzere 48 suşta (%96) GSBL pozitifliği saptanmıştır. Sonuçlar *P.aeruginosa*'da GSBL araştırılmasında klasik ÇDST'nin yetersiz olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte ÇDST ile pozitif olan dokuz suşun tümünde PCR yöntemi ile de GSBL pozitifliği saptanmıştır. Bu sonuçlar *P.aeruginosa*'da ÇDST'nin yalancı pozitif sonuç vermediğini ancak, yalancı negatif sonuç verebileceğini göstermektedir. Bu durum *P.aeruginosa*'da GSBL varlığı açısından ÇDST ile saptanan pozitifliğin kabul edilebilir, negatifliğin ise kabul edilemez sonuç olduğunu düşündürmektedir. Sonuç olarak bu çalışmada araştırılmış olan GSBL tipi beta laktamaz enzimlerinden ülkemizde *P.aeruginosa* izolatlarında yaygın olarak saptanan PER-1, OXA-2 türevi ve OXA-10 türevi enzimler pozitif bulunmuştur.

TEŞEKKÜR

Doktora Tezime olan bu çalışmayı T-639/17032005 no'lu proje olarak destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi 'ne teşekkürlerimi sunarım.

KAYNAKLAR

1. Fidan I, Gürelik FÇ, Yüksel S, Sultan N. Pseudomonas aeruginosa suşlarında antibiyotik direnci ve metalo-beta-laktamaz sıklığı. Ankem Derg 2005; 19: 68-70.
2. Nordmann P, Ronco E, Naas T, Dupont C, Briand YM, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum β -lactamase from Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother 1993; 37: 962-969.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S16, Pennsylvania, 2006.
4. Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler class A extended-spectrum β -lactamases in Pseudomonas aeruginosa:

novel developments and clinical impact. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 2385-2392.

5. Matthew M, Harris A, Marshall M, Boss G. The use of analytical isoelectric focusing for detection and identification of beta-lactamases J Gen Microbiol 1975; 88: 169-178.
6. Aktas Z, Poirel L, Salcioglu M, Bal C, Ang O, Nordmann P. PER-1 and OXA-10 like beta lactamases in ceftazidime resistant Pseudomonas aeruginosa isolates from intensive care unit patients in Istanbul, Turkey. Clin Microbiol Infect 2005; 11: 193-198.
7. Howard C, Daal A, Kelly G, Schooneveldt J, Nimmo G, Giffard PM. Identification and minisequencing-based discrimination of SHV in nosocomial infection associated Klebsiella pneumoniae in Brisbane Australia. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 659-664.
8. Pereira M, Perilli M, Mantengoli E, Luzzaro F, Toniola A, Rassolini GN, Amicosante G. PER-1 extended-spectrum beta lactamase production in an Alcaligenes faecalis clinical isolates resistant to extended-spectrum cephalosporins and monobactams from a hospital in Northern Italy. Microb Drug Res 2000; 6: 85-90.
9. Yong D, Shin JH, Kim S, Lim Y, Yum JH, Lee K, Chong Y, Bauernfeind A. High prevalence of PER-1 extended-spectrum β -lactamase-producing Acinetobacter spp. in Korea. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 1749-1751.
10. Vahaboglu H, Ozturk R, Aygun G, Coskuncan F, Yaman A, Kaygusuz A, Leblebicioglu H, Balık İ, Aydın K, Otun M. Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum β -lactamases among nosocomial Acinetobacter and Pseudomonas aeruginosa isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 2265-2269.
11. Vahaboglu H, Sarıbas S, Akbal H, Ozturk R, Yucel 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. J Antimicrob Chemother 1998; 42: 269-270.
12. Hall LMC, Livermore DM, Gür D, Akova M, Akalin HE: OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) β -lactamase from a Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother 1993; 37: 1637-1644.
13. Danel F, Frere JM, Livermore DM. Evidence of dimerization among class D-beta-lactamases: kinetics of OXA-14 beta-lactamase. Biochim Biophys Acta 2001; 1546: 132-142.
14. Danel F, Hall LMC, Gür D, Livermore DM. OXA-16, a further extended-spectrum variant of OXA-10 β -lactamase from two Pseudomonas aeruginosa isolates. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 3117-3122.
15. Danel F, Hall LMC, Gür D, Livermore DM. OXA-15, an extended-spectrum variant of OXA-2 β -lactamase, isolated from a Pseudomonas aeruginosa strain. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 785-790.

16. Danel F, Hall LMC, Duke B, Gür D, Livermore DM. OXA-17, a further extended-spectrum variant of OXA-10 β -lactamase, isolated from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:1362-1366.
17. Poirel L, Lebessi E, Castro M, Feure C, Foustoukou M, Nordmann P. Nosocomial outbreak of extended-spectrum β -lactamase SHV-5-producing isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Athens, Greece. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 2277-2279.
18. Neonakis IK, Scoulica EV, Dimitriou SK, Gikas AI, Tselentis YJ. Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamases produced by clinical isolates in a university hospital in Greece: detection of SHV-5 in *Pseudomonas aeruginosa* and prevalence of SHV-12. *Microb Drug Res* 2003; 9: 961-965.
19. Dubois V, Arpin C, Noury P, Andre C, Loure C, Quentin C. Prolonged outbreak of infection due to TEM-21 producing strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacteria* in a nursing home. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 4129-4138.
20. İnan D, Saba R, Seyman D, Mamikoğlu L. Hastane infeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığının araştırılması. *İnfeksiyon Derg* 2004; 18: 293-296.