

## NOZOKOMİYAL ACINETOBACTER BAUMANNII İZOLATLARINDA METALLO-BETA-LAKTAMAZ AKTİVİTESİNİN ÇEŞİTLİ FENOTİPİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

Sulhiye ASLAN<sup>1</sup>, Gülgün YENİŞEHİRLİ<sup>1</sup>, Aydan YENİŞEHİRLİ<sup>2</sup>

S. Aslan:0000-0003-0210-5597, G. Yenişehirli:0000-0001-7030-0752, A. Yenişehirli:0000-0003-0824-917X

<sup>1</sup>Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TOKAT

<sup>2</sup>Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, TOKAT

### ÖZ

Gram negatif non-fermentatif bakteriler içerisinde *Acinetobacter baumannii* önemli nozokomiyal infeksiyon etkenlerinden biridir. Yapılan çalışmalar tüm dünyada ve ülkemizde çeşitli antibiyotik gruplarına direnç geliştiğini göstermektedir. Pek çok antimikrobiyal ajana dirençli olan Gram negatif bakteri infeksiyonlarının tedavisinde en etkin kullanılan antibiyotikler karbapenemlerdir. Son yıllarda, *A. baumannii* suslarında karbapenem grubu antibiyotiklere karşı hızlı bir şekilde direnç gelişmektedir. Karbapenemlere karşı gelişen direnç mekanizmalarından birisi de bakteriler tarafından metallo beta-laktamaz (MBL) üretilmesidir. Bu çalışmada, MBL üreten ve karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık durumlarının belirlenmesinin yanı sıra MBL aktivitesini saptamakta kullanılan fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli 100 *A. baumannii* izolatı dahil edilmiştir. İzolatların tanımlamaları ve antibiyotik duyarlılık testleri VITEK 2-Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile yapılmıştır. MBL varlığı çift disk sinerji testi, kombine disk difüzyon testi ve modifiye Hodge testi (MHT) olmak üzere üç fenotipik yöntem ile test edilmiştir.

Çalışmaya alınan karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatları en sık balgamdan (%74) izole edilmiştir. Çalışılan izolatların %83'ü yoğun bakım ünitelerinden, %17'si servislerden gönderilen örneklerde saptanmıştır. Bu izolatlarda antibiyotik duyarlılık oranları aşağıdaki gibidir: gentamisin %19, tobramisin %27, amikasin %59, imipenem %0, meropenem %2, siprofloksasin %0, levofloksasin %0, trimetoprim/sülfametoksazol %0, kolistin %98. Karbapenem dirençli 100 *A. baumannii* izolatının 34'ünde çift disk sinerji testiyle, 46'sında kombine disk difüzyon testiyle, 88'inde MHT ile MBL üretimi saptanmıştır. Yüz karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatının sadece 23'ünde fenotipik yöntemlerin üçüyle de MBL üretimi tespit edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen karbapenem dirençli 100 *A. baumannii* izolatlarına karşı en etkili antibiyotik kolistin (%98) olmuştur. Karbapenem dirençli izolatlarda siprofloksasin, levofloksasin ve trimetoprim/sülfametoksazole yüksek direnç saptanmıştır. Karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında MBL saptamak için kullanılan fenotipik yöntemler karşılaştırıldığında, MHT diğer yöntemlerden daha üstün bulunmuştur ( $p<0.01$ ). MBL varlığının belirlenmesi, diğer bakterilere mobil genetik elemanlar aracılığı ile taşınmasının önlenmesi açısından da önemlidir. MBL sıklığının kesin olarak belirlenmesi için moleküler yöntemler ile doğrulanması uygun bir yaklaşım olacaktır.

**Anahtar kelimeler:** *Acinetobacter baumannii*, fenotipik yöntemler, metallo-beta-laktamaz

### ABSTRACT

#### Investigation of Metallo-Beta-Lactamase Activity in Nosocomial *Acinetobacter baumannii* Isolates by Various Phenotypic Methods

*Acinetobacter baumannii* is one of the important nosocomial infections among Gram negative non-fermentative bacteria. Studies show that resistance to various antibiotic groups has developed in our country and all over the world. The most effective antibiotics used in the treatment of infections of Gram negative bacteria that are resistant to many antimicrobial agents are carbapenems. In recent years, resistance to carbapenem group antibiotics has developed rapidly in *A. baumannii* strains. One of the mechanisms of resistance to carbapenems is the production of metallo beta-lactamase (MBL) by bacteria. In this study, it was aimed to determine the antimicrobial susceptibility status of MBL producing and carbapenem resistant *A. baumannii* isolates, as well as to compare the phenotypic methods used to detect MBL activity.

**İletişim adresi:** Sulhiye Aslan, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TOKAT  
GSM: (0553) 552 32 24

e-posta: sulhiyeaslan@gmail.com

Received/Geliş: 01.06.2022 Accepted/Kabul: 07.12.2022 Published Online/Online Yayın: 30.12.2022

**Atıf/Cite as:** Aslan S, Yenişehirli G, Yenişehirli A. Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* izolatlarında metallo-beta-laktamaz aktivitesinin çeşitli fenotipik yöntemlerle araştırılması. ANKEM Derg. 2022;36(3):117-124.

A hundred carbapenem-resistant *A. baumannii* strains isolated from various clinical specimens were included in the study. Identification and antibiotic susceptibility tests of the isolates were performed with the automated VITEK 2-Compact (bioMérieux, France) system. The presence of MBL was tested with three phenotypic methods; double disc synergy test, combined disc diffusion test and modified Hodge test (MHT).

*A. baumannii* isolates were most commonly isolated from sputum (74%). Of all the *A. baumannii* isolates, 83% were detected in specimens sent from intensive care units and 17% from wards. Antibiotic susceptibility rates were as follows: Gentamicin 19%, tobramycin 27%, amikacin 59%, imipenem 0%, meropenem 2%, ciprofloxacin 0%, levofloxacin 0% trimethoprim/sulfamethoxazole 0%, colistin 98%. Among the 100 carbapenem-resistant *A. baumannii* strains, MBL was detected in 34 using double disc synergy test, in 46 using combined disc diffusion test and in 88 using MHT. MBL production was detected by all three of the phenotypic methods in only 23 of the 100 carbapenem resistant *A. baumannii* strains.

Colistin (98%) was the most effective antibiotic against 100 carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates included in the study. Carbapenem resistant isolates showed very high resistance to ciprofloxacin, levofloxacin and trimethoprim/sulfamethoxazole. When phenotypic methods used to detect MBL in carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates were compared, MHT was superior to other methods ( $p < 0.01$ ).

Determining the presence of MBL is also important in terms of preventing its transmission to other bacteria via mobile genetic elements. Confirmation with molecular methods might be an appropriate approach for the precise determination of MBL frequency.

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

## GİRİŞ

Sağlık bakımı ilişkili infeksiyon, hastanede kalış süresini uzatan, ek tedavi gerektirerek maliyeti artıran, morbidite ve mortalitesi yüksek infeksiyonlardır. Vücut direncinin yetersiz olduğu prematüre ve yenidoğanlar, ileri yaştakiler, bağışıklık sistemi baskılanmış olanlar, yanıklı ve travmalı hastalar, operasyon geçirenler, metabolik bozukluğu ve malignitesi olanlar sağlık bakımı ilişkili infeksiyon için asıl risk grubudur. Pnömoniler, bakteriyemi, üriner sistem infeksiyonları, cerrahi alan infeksiyonları, kateter infeksiyonları en sık karşılaşılan sağlık bakımı ilişkili infeksiyonlardır<sup>(14)</sup>.

Gram negatif bakterilerin sebep olduğu infeksiyonlar hastane ortamında, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda sorun olmaktadır<sup>(16)</sup>. Hastanede yatan, immün sistemi baskılanmış hastalarda ciddi infeksiyonlara neden olan Gram negatif non-fermentatif bakteriler içerisinde en sık izole edilen türlerden biri *Acinetobacter baumannii*'dir. Bu mikroorganizma, antibiyotığı hücre dışına pompalayan efluks sistemleri, antibiyotiklerin giriş kapısı olan por proteinlerin sentezinin azaltılması veya antibiyotikleri hidrolize ederek etkilerini bozan mekanizmalar geliştirerek direnç kazanmıştır<sup>(5,20)</sup>.

*A. baumannii* suşları, dış ortam şartlarına oldukça dayanıklı olmaları nedeniyle hastane ortamında canlılıklarını uzun süre devam ettirebilmektedir. Birçok antibiyotiğe doğal dirençli olmaları ve kısa süre içerisinde kazanılmış direnç geliştirebilmeleri nedeniyle neden oldukları infeksiyonların tedavisinde kullanılan antimikrobisidler gittikçe kısıtlanmıştır<sup>(21)</sup>.

Özellikle Gram negatif non-fermentatif bakterilerin sebep olduğu ciddi infeksiyonlarda karbapenemler, geniş antibakteriyel spektruma sahip olmaları, hücre membranlarından hızlı bir şekilde geçebilmeleri, AmpC ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) enzimlerine karşı dayanıklı olmaları gibi özellikleri nedeniyle ilk tercih edilen antibiyotik grubudur. Ancak, karbapenem grubu antibiyotiklere karşı hızla gelişen birçok direnç mekanizması mevcuttur. Bu mekanizmalardan birisi bakteriler tarafından karbapenemaz üretimidir. Karbapenemazlar arasında ise, metallo-beta-laktamazlar (MBL) giderek daha önemli hale gelmektedir<sup>(2,10)</sup>. İlk plazmid aracılı MBL 1991'de *Pseudomonas aeruginosa*'da rapor edilmiştir<sup>(6)</sup>. MBL enzimleri, aktif bölgelerinde çinko ( $Zn^{2+}$ ) iyonu bulunan enzimlerdir ve klasik beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmezler. Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) veya merkaptobislikleri gibi bir metal şelatörü ile inaktive olurlar<sup>(15)</sup>. MBL üreten etkenlerin erken tanısı, dirençli izolatların yayılmasının önlenmesi ve tedavi seçeneklerinin gözden geçirilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu yüzden hızlı sonuç alınabilen ve uygulanması kolay çeşitli fenotipik yöntemler geliştirilmiştir<sup>(2)</sup>.

Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli sağlık bakımı ilişkili infeksiyon etkeni *A. baumannii* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık durumlarının belirlenmesinin yanı sıra MBL varlığının üç fenotipik test ile araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Ağustos 2021-Şubat 2022 tarihleri arasında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 128 *A. baumannii* izolatından hastaneye yatıştan 48-72 saat sonrasında gelişen veya hastaneden taburcu olduktan sonra 10 gün içerisinde gelişen ve sağlık bakımı ilişkili infeksiyon olarak tanımlanan karbapenem dirençli 100 *A. baumannii* izolatı dahil edilmiştir. Her hastadan bir izolat çalışılmıştır. *A. baumannii* izolatlarının tür düzeyinde tanımlanması, "Eosin Methylene Blue" (EMB) agarda laktoz fermentasyonu, koloni morfolojisi, Gram boyama, katalaz-oksidad testi ve VITEK-2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize bakteri tanımlama sistemi ile yapılmıştır. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları için VITEK 2-Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılmıştır. Elde edilen minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing" (EUCAST-2022) kriterlerine göre değerlendirilmiştir<sup>(19)</sup>. Karbapenem dirençli suşlarda MBL enzimi varlığı çift disk sinerji testi, kombine disk difüzyon testi ve modifiye Hodge testi (MHT) ile belirlenmiştir. *P. aeruginosa* ATCC 27853 negatif kontrol suşu olarak kullanılmıştır. MBL üreten *P. aeruginosa* ve karbapenemaz üreten *A. baumannii* pozitif kontrol suşları olarak kullanılmıştır. Modifiye Hodge testi için imipenem duyarlı *Escherichia coli* ATCC 25922 standart suşu kullanılmıştır.

Çalışmaya alınan karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatları en sık yoğun bakımlardan izole edilmiştir. *A. baumannii* izolatlarının izole edildiği birimlere göre dağılımları Tablo 1'de gösterilmektedir.

**Tablo 1.** Çalışmaya alınan 100 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatının izole edildikleri birimlere göre dağılımı.

	Sayı
Yoğun bakım ünitesi	83
Servis	17
<b>Toplam</b>	<b>100</b>

Çalışmaya alınan karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatları balgam, idrar, kan, yara ve steril vücut sıvısından (SVS) izole edilmiştir. İzolatların klinik örneklere göre dağılımı Tablo 2'de gösterilmektedir.

**Tablo 2.** Çalışmaya alınan 100 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatının klinik örneklere göre dağılımı.

	Sayı
Balgam	74
İdrar	9
Kan	7
Yara	9
Steril vücut sıvıları	1
<b>Toplam</b>	<b>100</b>

**Çift disk sinerji testi:** Karbapenem dirençli *A. baumannii* suşlarının 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonu hazırlanmış ve Mueller Hinton Agar (Condalab, İspanya) plaklarına eşit bir şekilde yayılmıştır. Bir adet imipenem diski (IPM-10 µg, Bioanalyse, Türkiye) ve bir adet boş disk (Bioanalyse, Türkiye) aralarında merkezden merkeze 15-20 mm olacak şekilde besiyerine yerleştirilmiştir. Daha sonra önceden hazırlanmış olan 10 µL 0.5 M EDTA (Aklar Kimya, Türkiye), boş disk üzerine eklenmiştir. Hazırlanan petriyerler 36±1°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında imipenem diskinden EDTA'lı boş diske doğru inhibisyon zonunda düzensizleşme olması (anahtar deliği görüntüsü) MBL pozitifliği olarak kabul edilmiştir<sup>(11)</sup>.

**Kombine disk difüzyon testi:** Test edilecek suşların 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonu hazırlanarak Mueller-Hinton Agar plaklarına yayılmıştır. Daha sonra iki adet imipenem (IPM-10 µg) diski aralarında 22 mm olacak şekilde plak içerisine yerleştirilmiştir. Disklerin bir tanesine önceden hazırlanmış 0.5 M EDTA'dan mikropipet ile 10 µL damlatılmıştır. 36 ±1 °C'de 18-24 saat inkübasyon sonrasında EDTA solüsyonu eklenen imipenem diski zon çapının, EDTA'sız imipenem diski zon çapından 7 mm veya daha büyük olması MBL pozitif kabul edilmiştir<sup>(11)</sup>.

**Modifiye Hodge testi (MHT):** İmipenem duyarlı *Escherichia coli* ATCC 25922 suşunun 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonu hazırlanmıştır. Daha sonra 100 µl *E. coli* süspansiyonu/900 µl steril serum fizyolojik olacak şekilde 1/10 bulanıklığında yeni süspansiyon hazırlanarak Mueller-Hinton Agar plaklarına her yere eşit olacak şekilde yayılmıştır. Plağın ortasına imipenem (IPM-10 µg) diski yerleştirilmiştir. Test suşları imipenem diskinin dört bir kenarından periferine doğru çizgi ekimi şeklinde öze ile ekilmiştir. 36±1 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra besiyerinde yonca yaprağı görüntüsü oluşması MBL pozitif olarak değerlendirilmiştir<sup>(8)</sup>.

MBL saptamak için kullanılan fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması Student'in t testi kullanılarak yapılmış ve p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan karbapenem dirençli izolatların antimikrobiyal duyarlılık durumları Tablo 3'te gösterilmiştir.

**Tablo 3.** Çalışmaya alınan 100 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatının antibiyotik direnç profilleri.

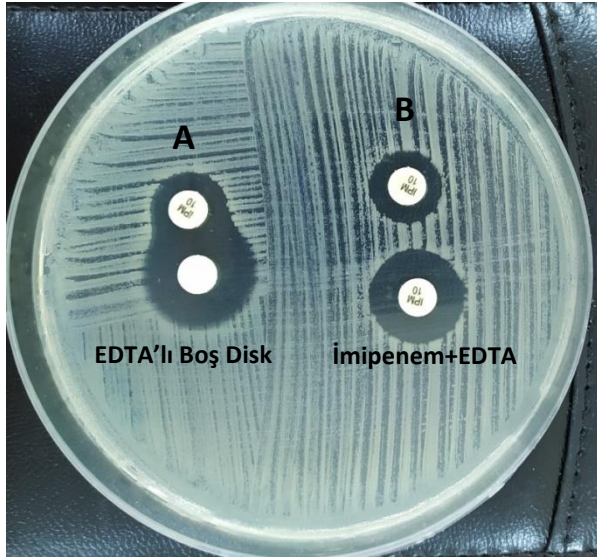
Antibiyotik	Duyarlı (n)	Duyarlı, Yüksek Dozda (n)	Dirençli (n)
Amikasin	59	0	41
Gentamisin	19	0	81
Tobramisin	27	0	73
İmipenem	0	0	100
Meropenem	2	0	98
Siprofloksasin	0	1	99
Levofloksasin	0	3	97
Trimetoprim/Sülfametoksazol	0	0	100
Kolistin	98	0	2

Çalışmaya dahil edilen karbapenem dirençli 100 *A. baumannii* izolatının fenotipik testler sonucu elde edilen MBL pozitifliği durumu Tablo 4'te gösterilmektedir.

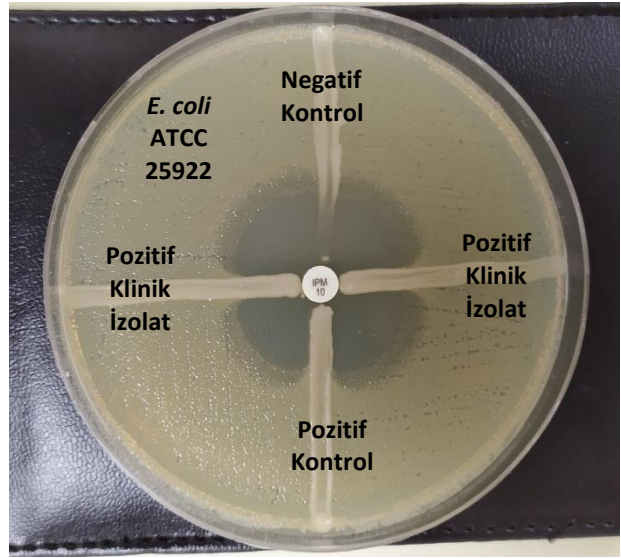
**Tablo 4.** Çalışmaya alınan 100 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatının fenotipik metallo-beta-laktamaz (MBL) test sonuçları.

Fenotipik MBL Testi	MBL pozitif (n)	MBL negatif (n)
Çift disk sinerji testi	34	66
Kombine disk difüzyon testi	46	54
Modifiye Hodge testi (MHT)	88	12

Çift disk sinerji testi, kombine disk difüzyon testi ve MHT ile MBL pozitif bulunan *A. baumannii* suşlarına ait örnekler Şekil 1 ve Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 1



Şekil 2

**Şekil 1.** Çift disk sinerji testiyle MBL pozitif olarak saptanan *A. baumannii* suşu (A), kombine disk difüzyon testiyle MBL pozitif olarak saptanan *A. baumannii* suşu (B).

**Şekil 2.** Modifiye Hodge testi ile MBL pozitif olarak saptanan *A. baumannii* suşu.

## TARTIŞMA

Geniş spektrumlu antimikrobiyal ajanların bilinçsiz kullanımı sonucu çoklu ilaç direnci kazanabilen non-fermentatif Gram negatif bakteriler, hastane ortamında önemli sorunlara sebep olmaktadır. Yakın zamanda yayımlanan bir raporda, mevcut durum kontrolsüz bir şekilde devam ederse 2050 yılına kadar yılda 10 milyon insanın antimikrobiyal direnç (AMR) gelişimi nedeniyle öleceği tahmin edilmektedir<sup>(24)</sup>. *A. baumannii*, ventilatör ilişkili pnömoni ve kan dolaşımı enfeksiyonu olmak üzere çeşitli hastane enfeksiyonlarından sorumludur ve ölüm oranları %35'e ulaşabilmektedir<sup>(25)</sup>. Amerikan Hastalık Denetim Merkezleri (Centers for Disease Control, CDC) karbapenem dirençli *Acinetobacter* izolatlarının yılda 8500 enfeksiyona ve 700 ölüme sebep olduğunu belirtmektedir<sup>(7,12)</sup>.

*A. baumannii* nozokomiyal pnömoniyeye en sık neden olan Gram negatif organizmalardan birisi olup; karbapenem sınıfı antibiyotikler, son yıllarda bu organizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılan geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Bununla birlikte, tedavide karbapenemlerin yoğun ve bilinçsiz kullanımı, karbapenem direncine yol açan GSBL ve AmpC beta-laktamazları barındıran organizmalarla gözlenen enfeksiyonlarda artışa neden olmuştur. Karbapeneme dirençli basillerin neden olduğu nozokomiyal pnömonilerde tedavi seçeneği sınırlı olduğu için klinisyenler zorlukla karşılaşmaktadır<sup>(3)</sup>.

Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı (EARS-Net) *Acinetobacter* türleri için karbapenem direncini 2014 yılı raporunda %0-93, 2016 yılında ise %0-95.4 olarak bildirmiştir. Orta Asya ve Doğu Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı (CAESAR), invaziv örneklerden elde edilen *A. baumannii* izolatlarının 2014 raporunda %11-93'ünün 2016 raporunda %11-95'inin karbapenem dirençli olduğunu bildirmiştir<sup>(10)</sup>. 2020 CAESAR raporunda *Acinetobacter* türleri için karbapenem direnci 38 ülkenin üçünde %1'in altında iken, çoğunlukla Güney ve Doğu Avrupa olmak üzere 21 ülkede %50'nin üzerinde çıkmıştır<sup>(23)</sup>.

Son 20 yılda yapılan çalışmalar, *A. baumannii*'nin küresel olarak geniş ölçüde ilaca dirençli ve çok ilaca dirençli fenotiplerinin ortaya çıktığını göstermektedir. Birkaç çalışma, farklı yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *A. baumannii* suşlarının en sık kullanılan antibiyotiklere yüksek direnç gösterdiğini bildirmiştir<sup>(22)</sup>. Şahin ve ark.'nın<sup>(18)</sup> çalışmasında yoğun bakım hastalarından elde edilen *A. baumannii* izolatlarında imipeneme %97.1, meropeneme %97.7, ertapeneme %99.6, amikasinine %89, gentamisine %95.8, netilmisine %94.3, siprofloksasine

%98.8, levofloksasine %97.5, trimetoprim/sülfametoksazole %76.8 direnç saptanmış; en düşük direncin kolistine karşı (%2.9) geliştiği gözlenmiştir. Beriş ve ark.<sup>(4)</sup> ülkemizin 12 farklı ilindeki hastanelerden izole ettikleri 519 *A. baumannii* suşunda en düşük direnç oranını kolistine (%0.6) karşı belirlemişlerdir. Diğer antibiyotiklere karşı direnç oranları şu şekildedir: Gentamisin %59.5, tobramisin %22.9, amikasin %71.1, imipenem %87.5, meropenem %78.6, siprofloksasin %82.9, levofloksasin %81.1, trimetoprim/sülfametoksazol %77.5. Bizim çalışmamıza sadece karbapenem dirençli izolatlar incelenmiş olmakla birlikte, diğer çalışmalarla benzer şekilde çoğu antimikrobiyale yüksek direnç saptanmış (Tablo 3) ve en etkili antimikrobiyal ajanın kolistin (%2) olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda trimetoprim/sülfametoksazol direnç oranı diğer iki çalışmadan yüksek (%100), amikasin direnç oranı (%41) daha düşük bulunmuştur. Antimikrobiyal ajanlara karşı direncin zaman içerisinde değişebileceği göz önüne alınarak, tedavi için seçim yapılırken antimikrobiyal duyarlılık test sonuçlarının takip edilmesi uygun olacaktır.

MBL'lerin tespit edilmesinde moleküler yöntemler altın standarttır. Fakat; bu yöntemlerin pahalı olması, yoğun emek ve özel ekipmanlar gerektirmesi laboratuvarlarda rutin olarak uygulanmasına engel olmaktadır. *A. baumannii* suşlarında MBL üretiminin tespit edilmesi, doğru tedavinin uygulanabilmesi ve direnç genlerinin hastane ortamında aktarılmasının önlemesi için oldukça önemlidir. Bunun için hızlı ve uygulanması kolay fenotipik testlere ihtiyaç duyulmuştur<sup>(10,17)</sup>. Moulana ve ark.<sup>(13)</sup> 2020 yılında karbapenem dirençli 50 *A. baumannii* izolatının 42'sinde (%84) MHT ile, 15'inde (%30) çift disk sinerji testi ile MBL üretimi saptamışlardır. Ülkemizde Aksoy ve ark.<sup>(1)</sup> 2015 yılında 52 imipenem dirençli *A. baumannii* suşunda MBL varlığını MHT, çift disk sinerji testi ve kombine disk difüzyon testi ile araştırmışlardır. MHT ile izolatların %96'sında EDTA'lı kombine disk difüzyon testi ve çift sinerji testi ile %21'inde MBL pozitifliği tespit etmişlerdir. Çıkman ve ark.<sup>(9)</sup>, imipenem dirençli 70 *A. baumannii* izolatının MHT ile %97'sinde, kombine disk testiyle %79'unda, her iki test yöntemi birlikte değerlendirildiğinde de %76'sında MBL üretimi rapor etmişlerdir. Çalışmamızda karbapenem dirençli 100 *A. baumannii* izolatının MHT ile 88'inde, çift disk sinerji testi ile 34'ünde, kombine disk difüzyon testi ile 46'sında MBL varlığı tespit edilmiştir. MHT ve çift disk sinerji testi sonuçlarımız diğer çalışmalar ile benzer bulunmuştur. Literatürle uyumlu olarak, çalışmamızda elde edilen verilere göre karbapenem dirençli *A. baumannii* suşlarında MHT ile diğer testlere göre yüksek MBL pozitifliği gözlenmiştir.

Çalışmamızın kısıtlılığı, kısa bir inceleme dönemine ait veriler olması, MBL aktivitesinin moleküler yöntemler ile doğrulanmamış olması ve tek merkezli çalışma olmasıdır. Ülke/dünya verileri ile karşılaştırabilmek için daha kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır.

Sonuç olarak; çalışmamızda elde ettiğimiz veriler; EUCAST-2022 kriterlerine göre değerlendirildiğinde sağlık bakımı ilişkili infeksiyon etkeni *A. baumannii* izolatlarında trimetoprim/sülfametoksazol, levofloksasin, siprofloksasin, meropenem, imipenem, gentamisin ve tobramisin direncinin yüksek olduğunu göstermektedir. Yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere hastanelerde antibiyotiklerin uygunsuz bir şekilde kullanılması, sağlık bakımı ilişkili infeksiyonlar ve bakteriyel direncin artmasına neden olmaktadır. Ayrıca, ülkemizde non-fermentatif Gram negatif bakterilerde MBL üretimi önemli bir sorundur. MBL üreten bakterilerin hızlı bir şekilde tespit edilerek direnç yayılımının engellenmesi için kullanımı kolay, hızlı ve ucuz fenotipik yöntemler avantaj sağlayabilmektedir. Ancak, çalışmamızda fenotipik test sonuçlarının değişken olabildiği gözlenmiş ve MBL varlığının kesin olarak belirlenmesi gereken durumlarda moleküler yöntemler ile doğrulama yapılması gerektiği düşünülmüştür.

**Etik Kurul Onayı:** Gerekli değildir.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

**Ethics Committee Approval:** Not applicable.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Financial support:** No financial support was received for the project.

## KAYNAKLAR

1. Aksoy MD, Çavuşlu Ş, Tuğrul HM. Investigation of metallo beta lactamases and oxacilinas in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated from inpatients. *Balkan Med J.* 2015;32(1):79-83.
2. Altınöz Aytar A, Şahin İ, Öztürk CE, Öksüz Ş, Avcıoğlu F, Çalışkan E, Ankaralı H. Gram negatif nonfermentatif bakterilerde metallo-beta-laktamaz aktivitesinin çeşitli fenotipik yöntemlerle araştırılması. *ANKEM Derg.* 2015;29(1):8-15.
3. Banerjee S, Henry R, Surendran S, Pillai A, Pai R. Risk factors for carbapenem resistance in gram-negative nosocomial pneumonia: a single centre prospective cohort study. *J Clin Diagn Res.* 2021;15(2):18-21.
4. Beriş FŞ, Budak EE, Gülek D, et al. Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan klinik *Acinetobacter baumannii* izolatlarında beta-laktamaz gen sıklığı ve dağılımının araştırılması: Çok merkezli bir çalışma. *Mikrobiyol Bul.* 2016;50(4):511-21.
5. Bulut Y, Çağlar H. Gram Negatif Non-fermentatif bakterilerde metallo beta laktamaz enziminin farklı yöntemlerle gösterilmesi. *FÜ Sağ. Bil. Tıp Derg.* 2013;27(3):135-40.
6. Bush K. Metallo-B-Lactamases: A Class Apart. *Clin Infect Dis.* 1998;27(Suppl 1):S48-53.
7. Centers for Disease Control (CDC). USA. (2019 AR Threats Report). Available from: [www.cdc.gov/drugresistance/biggest\\_treat.html](http://www.cdc.gov/drugresistance/biggest_treat.html). (Erişim tarihi 22.06.2022).
8. Cesur S, Kınıklı S, Doğan K, et al. Klinik örneklerden izole edilen karbapeneme dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında metallo-beta-laktamaz enzimi varlığının iki farklı fenotipik yöntemle araştırılması. *J Health Sci Med.* 2018;1(1):9-12.
9. Çıkman A, Berktaş M, Bektaş A, Özkaçmaz A, Yaman G. Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* izolatlarında metallo-beta-laktamaz üretiminin fenotipik yöntemlerle araştırılması. *Van Tıp Derg.* 2011;18(3):132-5.
10. Guzel M, Afsar Y, Akdoğan D, Moncheva P, Hristova P, Erdem G. Evaluation of metallo-beta-lactamase production in multiple antibiotic-resistant *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter baumannii* strains. *Biotechno Biotechnol Equip.* 2018;32(5),1285-90.
11. Kali A, Sreenivasan Srirangaraj SK, Divya HA, Kalyani A, Umadevi S. Detection of metallo-beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units. *Australas Med J.* 2013;6(12):686-693.
12. Küme G, Demirci M. Yoğun bakım ünitelerindeki hastaların alt solunum yolu örneklerinden izole edilen non-fermentatif gram-negatif bakterilerin antimikrobiyal duyarlılıkları ve alt solunum yolu enfeksiyonu ile ilişkili risk faktörleri. *DEÜ Tıp Derg.* 2012;26(1):37-44.
13. Moulana Z, Babazadeh A, Eslamdost Z, Shokri M, Ebrahimpour S. Phenotypic and genotypic detection of metallo-beta-lactamases in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*. *Caspian J Intern Med.* 2020;11(2):171-176.
14. Orucu M, Geyik MF. Yoğun bakım ünitesinde sık görülen enfeksiyonlar. *Duzce Med J.* 2008;10(1):40-3.
15. Öztürk CE, Çalışkan E, Şahin İ. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci ve metallo-beta-laktamaz sıklığı. *ANKEM Derg.* 2011;25(1),42-7.
16. Rattanaumpawan P, Ussavasodhi P, Kiratisin P, Aswapokee N. Epidemiology of bacteremia caused by uncommon non-fermentative gram-negative bacteria. *BMC Infect Dis.* 2013;13(1):1-8.
17. Sarıgüzel FM, Metan G, Sümerkan B. *Acinetobacter baumannii* suşlarında metallo-beta-laktamaz üretiminin ve Imp-1 ve Vim-1 tipi genlerin araştırılması. *Flora Derg.* 2013;18(1):11-9.
18. Şahin AR, Doğruer D, Nazik S, Aktemur A, Öksüz H, Aral M, Ateş S. Hastane kökenli patojenlerde artan antimikrobiyal direnç sorunu: *Acinetobacter baumannii*. *Online Türk Sağlık Bilimleri Derg.* 2019;4(2):156-69.
19. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters, Version 12.0, valid from 2022-01-01. <https://www.eucast.org> (Erişim tarihi 07.04.2022).
20. Toraman ZA, Yakupoğulları Y, Kizirgil A. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşlarında metallo-beta-laktamaz araştırılması. *İnfeksiyon Derg.* 2005;19(1):101-5.
21. Uğur M, Genç S. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının üç yıllık direnç profili. *Türk J Intens Care.* 2019;17(3):130-7.

22. Vrancianu CO, Gheorghe I, Czobor IB, Chifiriuc MC. Antibiotic resistance profiles, molecular mechanisms and innovative treatment strategies of *Acinetobacter baumannii*. *Microorganisms*. 2020;8(6):935-40.
23. World Health Organization. Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance Annual Report 2020. [https://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0003/469200/Central-Asian-and-European-Surveillance-ofAntimicrobial-Resistance.-Annual-report-2020-eng.pdf](https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0003/469200/Central-Asian-and-European-Surveillance-ofAntimicrobial-Resistance.-Annual-report-2020-eng.pdf) (erişim tarihi 16.12.2021).
24. World Health Organization (WHO). WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. World Health Organization (WHO). <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/en/>. (Erişim tarihi 22.06.2022).
25. Xie R, Zhang XD, Zhao Q, Peng B, Zheng J. Analysis of global prevalence of antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* infections disclosed a faster increase in OECD countries. *Emerg Microbes Infect*. 2018;7(1):1-10.