



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

BİR EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ YOĞUN BAKIM
ÜNİTESİ HASTALARININ KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE
EDİLEN KARBAPENEM DİRENÇLİ ACINETOBACTER
BAUMANNII İZOLATLARINDA BETA LAKTAM DİRENÇ
GENLERİNİN VE KLONAL İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Canset Nur Aydoğan

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANKARA/2024



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

BİR EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ YOĞUN BAKIM
ÜNİTESİ HASTALARININ KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE
EDİLEN KARBAPENEM DİRENÇLİ ACINETOBACTER
BAUMANNII İZOLATLARINDA BETA LAKTAM DİRENÇ
GENLERİNİN VE KLONAL İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Canset Nur Aydoğan

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Tevfik Yavuz

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANKARA/2024

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca benden bilgi, yardım ve desteklerini eksik etmeyen, tezimin planlanmasında ve yürütülmesinde her zaman bana yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet Teyfik YAVUZ'a,

Uzmanlık eğitimim ve tez sürecim boyunca deneyim, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, desteğini hiç esirgemeyen, öğretmenliğinin yanında abiliğini her zaman hissettiğim, çalışkanlığı ve akademisyenliği ile örnek aldığım hocam sayın Doç. Dr. Tuğrul HOŞBUL'a,

Bilgilerinden ve tecrübelerinden her zaman faydalandığım Gülhane EAH Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma, aynı ortamda çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma ve tüm çalışma arkadaşlarıma; tezim boyunca güler yüzünü ve desteklerini esirgemeyen Tuğba FATSA'ya,

Hayatımın her döneminde yanımda olan, sonsuz sevgilerini ve desteklerini üzerimden hiç eksik etmeyen anneme, babama ve kardeşime,

Hayatımın her alanında varlıkları ile şanslı hissettiren, en büyük destekçilerim ve mutluluk kaynaklarım olan canım eşim Canberk'e ve biricik oğlum Perit'e,

Sonsuz teşekkürlerimle...

Dr. Canset Nur AYDOĞAN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. HASTANE ENFEKSİYONLARI	3
2.2. <i>Acinetobacter CİNSİ</i>	4
2.2.1. Tarihçesi ve Taksonomisi.....	4
2.2.2. Morfolojik ve Metabolik Özellikleri	5
2.2.3. Epidemiyolojisi	6
2.2.4. Virülansı ve Patogenezi	6
2.2.5. Risk Faktörleri ve Enfeksiyonları	7
2.2.6. Tedavisi.....	8
2.2.6.1. B-laktamlar ve B-laktamaz inhibitörleri:.....	8
2.2.6.2. Aminoglikozidler :	9
2.2.6.3. Florokinolonlar :	9
2.2.6.4. Tigesiklin :	10
2.2.6.5. Kolistin (Polimiksin E) :.....	10
2.2.7. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları	11
2.2.7.1. Karbapenem Direnci :	11
2.2.7.2. Karbapenem Direnç Mekanizmaları :	12
2.2.7.2.1. Enzimatik Olmayan Mekanizmalar	12

2.2.7.2.2. Enzimatik Direnç Mekanizmaları (Beta Laktamazlar).....	13
a) A sınıfı.....	14
b) B sınıfı.....	15
c) C sınıfı.....	15
d) D sınıfı.....	16
2.3. EPİDEMİYOLOJİK TİPLENDİRME YÖNTEMLERİ.....	18
2.3.1. Fenotipik Yöntemler.....	18
2.3.2. Genotipik Yöntemler.....	20
2.3.2.1. PFGE (Darbeli Alan Jel Elektroforezi).....	20
2.3.2.2. RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi).....	21
2.3.2.3. Ribotiplendirme.....	21
2.3.2.4. PCR Temelli Tiplendirme Yöntemleri : AP-PCR, RAPD, REP-PCR, AFLP 22	
2.3.2.4.1. RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA).....	22
2.3.2.4.2. AP-PCR (Rastgele Primerli PCR).....	22
2.3.2.4.3. Rep-PCR (Tekrarlayan Ekstragenik Palindromik Sıra Tabanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu).....	23
2.3.2.4.4. MLST (Multilokus Sekans Analizi).....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. İZOLATLARIN ELDE EDİLMESİ.....	25
3.2. İZOLATLARIN TANIMLANMASI.....	25
3.3. ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ.....	25
3.4. DİRENÇ GENLERİNİN PCR İLE ARAŞTIRILMASI.....	26
3.4.1. PCR için DNA ekstraksiyonu.....	26
3.4.2. PCR ile karbapenem direnç genlerinin tespiti.....	26
3.5. PCR SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	28
3.6. KLONAL İLİŞKİNİN AP-PCR İLE ARAŞTIRILMASI.....	28
3.7. AP-PCR SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	29

3.8. MLST ANALİZİ	29
3.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	29
4. BULGULAR.....	31
4.1. HASTALARA ve İZOLATLARA AİT ÖZELLİKLER	31
4.2. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TEST SONUÇLARI.....	31
4.3. DİRENÇ GENLERİ.....	33
4.4. ARBITRARILY PRİMED POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (AP-PCR) SONUÇLARI	36
4.5. MLST SONUÇLARI.....	40
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	52
KAYNAKLAR.....	55
ÖZGEÇMİŞ	69
EK'LER	70
EK 1: T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi Dekanlığı Yönetim Kurulu Kararı: Tez konusu onayı	70
EK 2 : Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu (TUEK) Kararı: Araştırma izin onayı	72
EK 3 : T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Araştırma Projesi Değerlendirme Raporu: Etik kurul onayı	73

KISALTMALAR DİZİNİ

- AMR:** Antimikrobiyal Direnç (Antimicrobial Resistance)
- AP-PCR:** Rastgele Primer ile PCR (Arbitrarily Primed PCR)
- ATCC:** American Type Culture Collection
- bp:** Baz Çifti
- CHDL:** Karbapenemi hidrolize eden sınıf D beta-laktamaz
- Cfu/ml:** Koloni Oluşturan Birim / Mililitre
- CLSI:** Klinik ve Laboratuvar Standartları Kurumu (The Clinical and Laboratory Standards Institute)
- DNA:** Deoksiribonükleik Asit
- dNTP :** Deoksiribonükleotid trifosfat
- EDTA:** Etilendiamintetraasetik asit
- EUCAST:** Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi
- GES :** Guiana geniş spektrumlu beta-laktamaz
- IMP:** İmipenemaz
- KPC :** *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz
- MALDI-TOF MS:** Matriks destekli lazer dezorpsiyon iyonizasyon- uçuş zamanı kütle spektrometresi (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry)
- MEM:** Meropenem
- MBL:** Metallo- β -laktamaz
- MİK:** Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
- MLST:** Multilokus Sekans Analizi (Multilocus Sequence Typing)
- NCBI:** National Center for Biotechnology Information
- NDM :** New Delhi metallo-beta-lactamase
- OMP:** Dış membran Proteini
- PBP:** Penisilin Bağlayan Protein
- PCR:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu (polymerase chain reaction)
- PFGE:** Darbeli Alan Jel Elektroforezi (Pulsed-field Gel Electrophoresis)
- RAPD:** Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA (Randomly Amplified Polimorphic DNA)
- Rep-PCR:** Tekrarlayan Ekstragenik Palindromik Sıra Tabanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Repetitive Extragenic Palindromic-Polymerase Chain Reaction)

rRNA: Ribozomal RNA

RFLP: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism)

SIM: Seoul imipenemaz

ST: Sekans tipi

TBE: Tris/Borate/EDTA

UPGMA: Aritmetik Ortalama ile Ağırlıksız Çift Grup Yöntemi (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean)

UV: Ultraviyole

VIM: Verona integron kodlu metallo-beta-laktamaz

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

YBÜ: Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi

TABLolar DİZİNİ

- Tablo 1:** *Acinetobacter* cinsinin taksonomisi.....
- Tablo 2:** Çalışmada Kullanılan Primerler.....
- Tablo 3:** İzolatların VITEK®2 Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları.....
- Tablo 4:** Sıvı Mikrodilüsyon ile İzolatlarda Saptanan Meropenem Minimum İnhibitör Konsantrasyon Değerlerinin Dağılımı.....
- Tablo 5:** Direnç Genleri ve İzolatlarda Bulunma Oranları.....
- Tablo 6:** Klon, Genotip ve Direnç Genleri.....



ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1. *A.baumannii*'nin virülans faktörleri ve patogenezdaki rolleri.....
- Şekil 2. *A.baumannii* karbapenem direncinden sorumlu mekanizmalar.....
- Şekil 3. *A.baumannii* türünde bulunan klinik açıdan anlamlı karbapenemazlar.....
- Şekil 4. Klinik örneklerin YBÜ'lere göre dağılımı.....
- Şekil 5. OXA-58 direnç genin araştırılması.....
- Şekil 6. OXA-23 direnç genin araştırılması.....
- Şekil 7. OXA-24 ve OXA-51 direnç genlerinin araştırılması.....
- Şekil 8. NDM direnç genin araştırılması.....
- Şekil 9. IMP direnç genin araştırılması.....
- Şekil 10. AP-PCR çalışmasına ait iki elektroforez görüntüsü, A ve B klonları.....
- Şekil 11. AP-PCR çalışmasına ait dendogram görüntüsü.....
- Şekil 12. Kliniklere göre klon dağılımı.....

ÖZET

Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Yoğun Bakım Ünitesi Hastalarının Kan Kültürlerinden İzole Edilen Karbapenem Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Beta Laktam Direnç Genlerinin ve Klonal İlişkinin Araştırılması

Giriş-Amaç:

A. baumannii, özellikle yoğun bakım ünitelerinde hastane kökenli sepsis, pnömoni ve idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan fırsatçı bir patojendir. *A. baumannii*'nin çok ilaca dirençli izolatları, antimikrobiyal ajanların yaygın ve uygun olmayan kullanımının bir sonucu olarak, son on yılda giderek artan şekilde rapor edilmektedir. Bu bakterilerin direnç mekanizmalarının anlaşılması, enfeksiyonların önlenmesi ve yönetiminde kritik önem taşımaktadır. Yoğun bakım hastalarının kan kültürlerinden izole edilen karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında karbapenem direncinin nedenlerini ortaya koymak, bu sayede antimikrobiyal sürveyansa katkıda bulunmak ve izolatlar arasındaki klonal ilişkiyi ortaya çıkarmak amaçlandı.

Gereç ve yöntem:

Çalışmaya, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2020 – Ocak 2022 tarihleri arasında yoğun bakım servislerinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen ve stok kültür koleksiyonunda yer alan 80 *A. baumannii* suşu dahil edildi. İzolatların tanımlanması Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon-Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS, Bruker Daltonics, Almanya) kullanılarak yapıldı. İzolatların antibiyotiklere duyarlılık sonuçları VITEK® 2 (Biomérieux, Fransa) otomatize sistem ile EUCAST kriterlerine göre belirlendi. İzolatların tamamına sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile meropenem için antibiyotik duyarlılığı çalışıldı. Çalışmada karbapenem direnç genlerinin (*bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-24}*, *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-58}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM}*) varlığı, dirençten sorumlu olduğu bilinen gen bölgelerini hedef alan primerlerin kullanıldığı polimeraz zincir reaksiyonları ile araştırıldı. Çalışma izolatları arasındaki klonal ilişki M13 primerinin kullanıldığı Arbitrarily Primed PCR (AP-PCR) yöntemi araştırıldı. AP-PCR sonuçlarına göre baskın olan klondan bir izolat seçilerek bu izolatın MLST yöntemi ile Sekans Tipi (ST)'ı belirlendi.

Bulgular:

Çalışmamızda kullanılan *A. baumannii* izolatlarının VITEK®2 (bio-Merieux, Fransa) otomatize sistem ile yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre izolatların tamamının karbapenemler, piperasilin-tazobaktam, siprofloksasin, levofloksasin, seftazidim için dirençli olduğu görülmüştür. Sıvı mikrodilüsyon antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre bütün izolatların MİK değeri sınır değer 8 µg/L in üzerinde bulunmuştur. Direnç genlerine bakıldığında bu türe intrensek olduğu bilinen OXA-51 geninin izolatların hepsinde pozitif olduğu görüldü. İzolatların 25'inde (%31) OXA-23 geninin pozitif olduğu, 56'sında (%70) OXA-24 geninin pozitif olduğu tespit edildi. OXA-58 gen bölgesi izolatların hiçbirinde saptanmadı. Metallobetalaktamaz enzimlerinden sorumlu IMP, VIM, NDM direnç genleri izolatların hiçbirinde tespit edilmedi. AP-PCR çalışmasına ait bantlar değerlendirildiğinde iki baskın klon olduğu görüldü. Çalışmadaki baskın olan A klonundan alınan izolatın MLST tipi tüm genom kullanılarak ST -78 olarak belirlendi.

Sonuç:

Çalışmamızda incelediğimiz karbapenemlere dirençli izolatların OXA-23 ve OXA-24 karbapenem direnç genlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma, araştırdığımız kadarıyla Türkiye'de karbapenem dirençli *A.baumannii* izolatlarında baskın olarak OXA-24 direnç geninin tespit edildiği ilk çalışmadır. *A. baumannii* gibi çok ilaca dirençli izolatların tanımlanması, direnç genlerinin belirlenmesi ve epidemiyolojisi ile ilgili çalışmaların yapılması, hastanelerde uygun enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınmasında, uygulanmasında ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, hastane enfeksiyonu, karbapenem direnci, AP-PCR

ABSTRACT

Investigation of Beta-Lactam Resistance Genes and Clonal Relationships in Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates from Blood Cultures of Patients in an Education and Research Hospital Intensive Care Unit

Introduction and Objective:

Acinetobacter baumannii is an opportunistic pathogen responsible for nosocomial infections such as septicemia, pneumonia, and urinary tract infections, particularly within intensive care units. The emergence of multi-drug resistant isolates of *A. baumannii*, reported increasingly over the past decade, is a consequence of the widespread and inappropriate use of antimicrobial agents. Understanding the resistance mechanisms of these bacteria is critical for the prevention and management of infections. This study aims to elucidate the causes of carbapenem resistance in *A. baumannii* isolates from the blood cultures of intensive care patients, thereby contributing to antimicrobial surveillance and revealing the clonal relationship among the isolates.

Materials and Methods:

The study included 80 *A. baumannii* strains isolated from the blood cultures of patients admitted to the intensive care units of Gülhane Education and Research Hospital, University of Health Sciences, Turkey, between January 2020 and January 2022, and stored in the stock culture collection. The isolates were identified using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS, Bruker Daltonics, Germany). Antibiotic susceptibility results for the isolates were determined using the VITEK® 2 (Biomérieux, France) automated system, in accordance with EUCAST criteria. Antibiotic susceptibility to meropenem for all isolates was tested using the broth microdilution method. The presence of carbapenem resistance genes (*bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-24}*, *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-58}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM}*) was investigated using polymerase chain reaction (PCR) with primers targeting gene regions known to confer resistance. The clonal relationship among the study isolates was examined using Arbitrarily Primed PCR (AP-PCR) with the M13 primer. Based on the AP-PCR results, a dominant clone was selected for Sequence Type (ST) determination using the MLST method.

Findings:

The antibiotic susceptibility testing of the *A. baumannii* isolates, conducted with the VITEK®2 (bio-Merieux, France) automated system, revealed that all isolates were resistant to carbapenems, piperacillin-tazobactam, ciprofloxacin, levofloxacin, and ceftazidime. The MIC values for all isolates were found to be above the breakpoint value of 8 µg/L in broth microdilution antibiotic susceptibility testing. The intrinsic OXA-51 gene was found to be positive in all isolates. The OXA-23 gene was positive in 25 (31%) of the isolates, and the OXA-24 gene was positive in 56 (70%) of the isolates. The OXA-58 gene region was not detected in any of the isolates. No metallo-beta-lactamase enzymes responsible for resistance, such as IMP, VIM, NDM, were detected. The evaluation of AP-PCR bands revealed two dominant clones. The ST of a selected isolate from the dominant A clone was determined to be ST-78 using whole genome sequencing.

Conclusion:

Our study determined that the carbapenem-resistant isolates we investigated possess the OXA-23 and OXA-24 carbapenem resistance genes. To our knowledge, this is the first study in Turkey to predominantly identify the OXA-24 resistance gene in carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates. Identifying multi-drug resistant isolates like *A. baumannii*, determining resistance genes, and conducting epidemiological studies will assist in implementing appropriate infection control measures, application, and development of treatment strategies in hospitals.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, hospital infection, carbapenem resistance, AP-PCR

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Toprakta ve suda bulunabilen, Gram negatif, aerobik, fermentatif olmayan, oksidaz negatif ve hareketsiz bir kokobasil olan *Acinetobacter*'in en önemli türü *Acinetobacter baumannii*'dir (1). *Acinetobacter baumannii* hastane enfeksiyonlarına neden olan en önemli patojenlerden biridir ve pnömoni, sepsis, endokardit, osteomyelit, menenjit, üriner sistem enfeksiyonları, yara ve yumuşak doku enfeksiyonları gibi çok çeşitli klinik tablolara neden olabilmektedir. Çoğunlukla nozokomiyal yayılma ve kolonizasyonun bir sonucu olarak enfeksiyona neden olmaktadır. Virülansının artması ve tedaviye dirençli olmasıyla insan sağlığına yönelik en önemli tehditlerden biri haline gelmiştir (1,2). *A. baumannii*'nin çok ilaca dirençli izolatları, antimikrobiyal ajanların yaygın ve uygun olmayan kullanımının bir sonucu olarak, son on yılda giderek artan şekilde rapor edilmektedir. Bu durum tedaviyi oldukça zorlaştırmaktadır. Karbapenem direncinin tek başına *A. baumannii* izolatını yüksek dirençli olarak tanımlamak için yeterli olduğu düşünülmektedir (3). Karbapenem direnci özellikle 1990'larda Enterik bakteriler ile önem kazanmaya başlamış olsa da daha sonrasında *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Stenotrophomonas* gibi karbapeneme dirençli fermente olmayan Gram negatif bakterilere ilişkin farkındalık artmıştır. Günümüzde Gram negatif bakterilerdeki karbapenem direnci, büyümeye devam eden önemli bir küresel sorun haline gelmiştir (4). *A. baumannii*'deki karbapenem direncinin mekanizmaları dört gruba ayrılabilir; penisilin bağlayan proteinlerdeki değişiklikler, dış membran porinlerinin kaybı, atım pompalarının aşırı ekspresyonu, karbapenemi hidrolize eden β -laktamazların (karbapenemazlar) sentezi. Karbapenemazlar ile karbapenemlerin inaktivasyonu veya enzimatik bozunması, *A. baumannii*'deki en önemli karbapenem direnç mekanizmasıdır ve genellikle plazmitlerle aktarılabilmektedir (5). Hastane enfeksiyonlarına neden olan bakterilerin direnç mekanizmalarının belirlenmesi, bu enfeksiyonların önlenmesinde ve yönetilmesinde önemli rol oynamaktadır. İlaçlara karşı gelişen direnç profillerinin anlaşılması etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından gereklidir. Antimikrobiyal direnç (AMR) nedeniyle tedavinin başarısız olması uzun süreli ciddi hastalıklara ve yüksek maliyetlere neden olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), küresel bir halk sağlığı sorunu olan AMR ile mücadele etmek için koordineli küresel bir çabanın gerekliliğini kabul etmektedir. Yerel veya ulusal AMR durumlarını ortaya çıkarmak, uygun müdahalelerin yapılması açısından kritik öneme sahiptir (6,7).

Epidemiyolojik araştırmalar, hastane enfeksiyonları, salgınlar gibi ciddi küresel sağlık sorunlarına yönelik önemli bir araçtır. Bu çalışmalar, hastane ve toplum kaynaklı

enfeksiyonların yayılımını, epidemik suşların kaynağını ve yayılım yollarını, dirençli suşların ve bunların yaygınlığının belirlenmesinde, ve hastalar arasındaki epidemiyolojik ilişkilerin ortaya konulmasında kritik rol oynamaktadır (8,9).

Bu çalışmada WHO'nun en önemli patojenler listesinde yer alan bakterilerden biri olması ve hastanemiz klinik örneklerinden çok sık izole edilmesi nedeniyle *A. baumannii* türü araştırılmıştır. *A. baumannii*'nin özellikle yoğun bakım hastalarından izole edilmesi nedeniyle çalışma yoğun bakım kliniklerine yönelik planlanmıştır. Sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonların en önemlilerinden biri olan kan dolaşım enfeksiyonları yoğun bakım ünitelerinde çok sık görülmektedir. Hastanemiz yoğun bakım hastalarının kan kültürlerinden elde edilen *A. baumannii* suşları genellikle çok ilaca dirençli olmaktadır. Çalışmada bu sebeplerden dolayı 2020-2021 yıllarında tedavi gören yoğun bakım hastalarının kan kültürlerinden izole edilen *A. baumannii* suşlarının karbapenem direncinin nedenlerini ortaya koymak bu sayede antimikrobiyal sürveyansa katkıda bulunmak ve izolatlar arasındaki klonal ilişkiyi ortaya çıkarmak amaçlandı. Direnç mekanizmalarının aydınlatılmasına katkı sağlamak amacıyla polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile karbapenemaz üretimine neden olan direnç genleri araştırıldı. Suşlar arasındaki klonal ilişkiyi görebilmek için genotipik tiplendirme yöntemlerinden faydalanıldı. İlk olarak Rastgele Primer ile PCR (Arbitrally Primed PCR – AP PCR) ile klonların tespit edilmesi, devamında baskın olan klondan bir suş seçilerek Multi Locus Sekans Tipleme (Multi Locus Sequence Typing- MLST) yapılması planladı. MLST sonucu elde edilen ST, global veriler ile karşılaştırıldı. Elde edilen verilerin hastanemiz yoğun bakım kliniklerindeki enfeksiyon kontrol çalışmaları için ve *A.baumannii* izolatlarının tedavi stratejileri için yol gösterici olacağı düşünülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. HASTANE ENFEKSİYONLARI

Hastane enfeksiyonları hastaneye başvuru sırasında mevcut olmayan ancak tıbbi ya da cerrahi durumlar için tedavi alındığı sırada edinilen ve genellikle hastaneye yatıştan 48 saat sonra ortaya çıkan enfeksiyonlar olarak tanımlanmaktadır. Hastane kökenli enfeksiyonlar küresel olarak gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yüksek morbidite ve mortalite nedeni olmaya devam etmektedir. Bu enfeksiyonlar, hastaların hastanede yatış sürelerinin uzamasına, antimikrobiyal ilaçlara karşı direnç gelişiminin artmasına ve sağlık sistemleri üzerinde ekonomik yükün artmasına neden olmaktadır. Gelişmiş ülkelerde hastane enfeksiyonları %3,5 ile %12 arasında değişen insidans oranları göstermektedir. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) enfeksiyon oranları %40'ı bulabilmektedir. Bildirilen en sık hastane enfeksiyonu tipleri arasında santral kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonları ve ventilatörle ilişkili pnömoni ve kateterle ilişkili idrar yolu enfeksiyonları yer almaktadır (10). Kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarının risk faktörlerine bakıldığında, kateter takılmadan önce hastanede kalış süresi, birden fazla kateter takılması, parenteral nutrisyon tedavisi, hastanın yaşı, hematolojik, onkolojik, kardiyovasküler hastalıklar ve gastrointestinal hastalıklar gibi altta yatan bir ya da birden fazla hastalığı olması, erkek cinsiyet gibi faktörlerin etkili olduğu görülmektedir (11).

Türkiye'de 2015-2019 yılları arasında YBÜ ve kliniklerde yatan hastalarda gelişen hastane enfeksiyonlarının incelendiği bir çalışmada, primer yerleşim yerlerine göre kan dolaşımı enfeksiyonları %55,3, pnömoni %20,4, cerrahi alan enfeksiyonları %13,7 ve idrar yolu enfeksiyonları %9,5 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca hastane enfeksiyonlarına neden olan etkenlerin dağılımına bakıldığında en sık izole edilen mikroorganizma *Escherichia coli* (%16,7) olurken, onu sırasıyla *Pseudomonas aeruginosa* (%15,7), *Acinetobacter baumannii* (%11,3), *Klebsiella pneumoniae* (%11,1) ve koagülaz negatif Stafilokoklar (%10,0) takip etmektedir. *P. aeruginosa* izolatlarında karbapenem direnci %29,8 ; *A. baumannii* izolatları arasında %95,1 şeklinde bulunmuştur (12). Türkiye'den, 2019-2021 yılları arasında tedavi gören 24 yoğun bakım hastasının da dahil edildiği, uluslararası yapılan EUROBACT II çalışmasında, hastane enfeksiyonlarından kan dolaşımı enfeksiyonları incelenmiş ve Gram negatif etkenler (402/599) %67,1 oranında tespit edilmiştir. Gram negatif etkenler arasında *Acinetobacter* spp. (135/402; %33,6) ilk sırada yer almaktadır. Ayrıca *Acinetobacter* türlerinin %90,4 'ünün karbapenem direncine sahip olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada Türkiye'de YBÜ'de multidisipliner bir

yönetim yaklaşımının benimsenmesi gerektiği vurgulanmıştır. Ayrıca, çok yüksek antimikrobiyal direnç oranları, yoğun bakım ünitelerinde enfeksiyon önleme ve kontrol tedbirlerinin yanı sıra antimikrobiyal yönetim uygulamalarının da iyileştirilmesi gerektiğini göstermektedir. (13).

2.2. *Acinetobacter* CİNSİ

2.2.1. Tarihçesi ve Taksonomisi

Acinetobacter cinsinin taksonomisine ve tarihçesine bakıldığında günümüzde bile bazı karmaşıklıkların devam ettiği ve kafa karıştırıcı olduğu görülmektedir. *Acinetobacter* ilk kez 1911 yılında Hollandalı mikrobiyolog Martinus Willem Beijerinck tarafından kalsiyumla zenginleştirilmiş besiyeri kullanılarak topraktan izole edilmiş ve *Micrococcus calcoaceticus* olarak isimlendirilmiştir (14). Morfolojik ve biyokimyasal özellikleri ile tanımlanmaları ve sınıflandırmaları oldukça karmaşık aşamalardan geçmiştir. Günümüze kadar *Micrococcus calcoaceticus*, *Alcaligenes haemolysans*, *Mima polymorpha*, *Moraxella lwoffii/glucidolytica*, *Herellea vaginicola*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* gibi farklı isimlerle anılmıştır (15). Brisou ve Prevot, *Acinetobacter* (Yunanca'da "akinetos" hareketsiz anlamına gelmektedir) cinsinin hareketsiz olması, Gram-negatif olması ve agar ortamında (Brisou) büyüdüğünde pigmentasyon oluşturmaması nedeniyle diğer bakterilerden ayrılması gerektiğini belirtmişlerdir (16). Baumann ve arkadaşları 1968 yılında yaptığı kapsamlı bir çalışmada *Micrococcus calcoaceticus*, *Alcaligenes hemolysans*, *Mima polymorpha*, *Moraxella lwoffii*, *Herellea vaginicola* gibi organizmaları kapsamlı bir şekilde incelemişlerdir ve bunların tek bir cinse ait olduğu ve fenotipik özelliklere dayalı olarak farklı türlere ayıramayacağı sonucuna varmışlardır (17). Moraxella ve İlgili Bakterilerin Taksonomisi Alt Komitesi, 1970 yılında Baumann ve ark. 'larının çalışmasına dayanarak *Acinetobacter* cinsini resmen tanımıştır (18). Bouvet ve Grimont tarafından 1986 yılında DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları sayesinde 12 DNA hibridizasyon grubunu veya genotürünü ayıran çok önemli adım atılmıştır (19). *Acinetobacter*'lerin dört türünün (*A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *Acinetobacter* genomik tür 3 ve *Acinetobacter* genomik tür 13TU), fenotipik benzerlikleri nedeniyle ayırt edilmesi zor olduğundan *A. Calcoaceticus-A.baumannii kompleksi* olarak adlandırılmaları önerilmiştir. *A. calcoaceticus* klinik hastalıklarla ilişkilendirilmemişken, kompleksteki diğer üç tür ve özellikle *A.baumannii* hem toplum kaynaklı hem de nosokomiyal enfeksiyonlara neden olan klinik ilişkili ve önemli türler olarak belirtilmişlerdir (20). Yakın zamanlı yapılan bir çalışmada Pasteur Multilokus Dizi Tipleme (MLST) şeması kullanılarak *Acinetobacter* cinsinde 72 tür izole edilmiş ve genotiplenmiştir (21). *Acinetobacter* cinsi içindeki genomik türlerin

çeşitliliğine ve yeni türlerin keşfine yönelik çok sayıda çalışmalar yayımlanmaya devam etmektedir. *Acinetobacter* cinsinin taksonomisi Tablo 1’ de yer almaktadır (22).

Tablo 1: *Acinetobacter* cinsinin taksonomisi

Alem (Kingdom):	Bacteria
Şube (Phylum):	Pseudomonadota
Sınıf (Class):	Gamma Proteobacteria
Takım (Order):	Moraxellales
Aile (Family):	Morexellaceae
Cins (Genus):	Acinetobacter

2.2.2. Morfolojik ve Metabolik Özellikleri

Acinetobacter cinsi, gram negatif, zorunlu aerobik, fermentasyon yapmayan, hareketsiz, katalaz pozitif, oksidaz negatif, kolay üreyen, %39-%47 arasında DNA G+C içeriğine sahip bakterilerden oluşmaktadır. Bunlar kısa, dolgun, gram negatif basillerdir ve dekolorizasyonu zordur. *Acinetobacter*’ler logaritmik üreme fazında kısa 1-1,5 µm x 1,5-2,5 µm boyutlarında, Gram negatif basiller şeklinde görülürken, sabit fazda ise kok ya da kokobasil görünümünde olmaktadır. Bu nedenlerle Gram boyama bazen yanıltıcı olabilmektedir (17,23).

Acinetobacter türleri, koyun kanlı agar, triptik soya agar gibi klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan katı besiyerlerinde 37°C inkübasyon sıcaklığında iyi gelişmektedir. *A. baumannii* ise ayrıca 41°C ve 44°C’de üreyebilmektedir. Bu organizmalar besiyerinde pürüzsüz, bazen mukoid, grimsi beyaz koloniler oluşturmaktadır. Suşların çoğu MacConkey agarda iyi ürer ve soluk pembe renktedirler. *A.calcoaceticus-A.baumannii* kompleksi’nin dışındaki bazı *Acinetobacter* türleri McConkey agarda gelişmeyebilir. *A. haemolyticus* ve şu anda iyi tanımlanmamış diğer bazı türler, koyun kanlı agarda hemoliz gösterebilmektedir (23,24).

Acinetobacter türleri çok çeşitli çevre koşullarında hayatta kalma yetenekleriyle bilinmektedir. Biyofilm oluşturabilirler ve çok çeşitli karbon kaynaklarından yararlanmalarını sağlayan çeşitli metabolik yetenekleri mevcuttur. Bu özellikleri farklı habitatlarda hayatta kalmalarında ve hastane enfeksiyonlarına neden olmalarında önemli bir faktördür (24).

2.2.3. Epidemiyolojisi

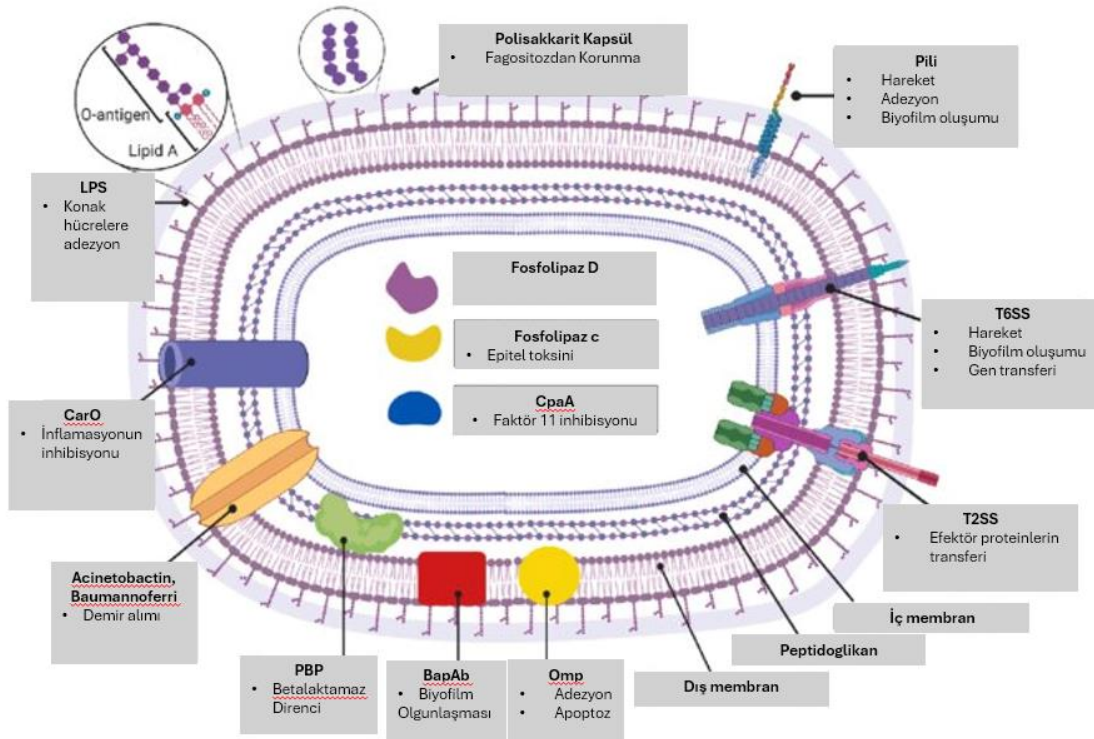
Acinetobacter spp. genel olarak nemli toprak, çamur, sulak alanlar, göletler, su arıtma tesisleri, balık çiftlikleri, atık su gibi çok çeşitli ıslak ve nemli ortamlarda saprofit olarak yaşayabilen bakterilerdir. Yaşamını devam ettirmek için düşük besin ihtiyacı düşük olduğundan kuru ve cansız yüzeylerde ortalama beş ay kadar yaşayabilmektedir. Bu yaşam şekli ile insan rezervuarları ve hastane ortamlarında kolayca kolonize olabilmekte ve özellikle YBÜ başta olmak üzere hastane salgınlarına neden olabilmektedir (25). *Acinetobacter* insanlarda ciltte, yaralarda, solunum ve gastrointestinal kanallarda kolonize olabilmektedir (26).

Türkiye Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı (USHİESA) Etken Dağılımı ve Antibiyotik Direnç Raporu 2022 verilerine göre sağlık hizmetleri ilişkili enfeksiyon türlerine bakıldığında kan dolaşımı enfeksiyonları ilk sırada gelmektedir. Kan dolaşımı enfeksiyonları mukozal bariyer hasarlı laboratuvar tarafından doğrulanmış kan dolaşım enfeksiyonu ve santral kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu olarak iki gruba ayrılmıştır. Enfeksiyon türüne göre etken dağılımı incelendiğinde mukozal bariyer hasarlı laboratuvar tarafından doğrulanmış kan dolaşım enfeksiyonuna neden olan etkenlerin %45'ini fermentatif olmayan gram negatif basiller oluşturmaktadır. *Acinetobacter* spp. bu grubun içerisinde ilk sıradadır ve tüm etkenler içerisinde %21,8 lik bir oran göstermektedir. Santral kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları incelendiğinde %45,4'ünü fermentatif olmayan gram negatif basiller oluştururken *Acinetobacter* spp. tüm etkenler içerisinde %21,5 ile ilk sırada yer almaktadır. Ayrıca *Acinetobacter* spp. tüm sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar göz önüne alındığında etken olan mikroorganizmaların %23,7' sini oluşturmaktadır (27).

2.2.4. Virülansı ve Patogenezi

Acinetobacter enfeksiyonlarının patogenezinde çeşitli mekanizmalar tanımlanmıştır. Çevresel yüzeylerde kolonizasyon, pili yoluyla yapışma ve ardından biyofilm oluşumu ile desteklenmektedir. Yüksek biyofilm üreten suşlar, düşük biyofilm üreten suşlara göre kurumaya karşı daha az duyarlıdır; bu nedenle biyofilm üretimi, *Acinetobacter baumannii*'in kuru koşullar altında hayatta kalma konusundaki yeteneği açısından önem taşımaktadır (28). Dış membran proteini A(OmpA) üretimi de hem sağlam bir biyofilm oluşturmak için hem de epitel hücrelerine tutunma için gereklidir. Apoptoz üretimini indüklediği gibi ayrıca kompleman yolunun bir inhibitörü olan Faktör H'nin bağlanmasına da yardımcı olmaktadır (29). K1 kapsülü önemli virülans faktörlerinden birisidir ve suşların yaklaşık üçte biri, kompleman aktivasyonunu önleyen, hücre duvarı liposakkaritiyle birlikte çalışan bir polisakkarit kapsülü

üretmektedir (30). Fimbria, *Acinetobacter*'lerin çevresel yüzeylere bağlanmasına yardımcı olmaktadır ve ayrıca bronşiyal epitel gibi canlı yüzeylerde kolonizasyona katkı sağlamaktadır (31). Hücre duvarının lipopolisakkarit bileşeni olan Lipid A ile dokulardaki lipitleri yıkan endotoksin üretebilmektedir. Ayrıca jelatinaz, esteraz ve fosfolipaz C gibi hücre dışına salgıladığı virülans faktörleri de mevcuttur. N-açil homoserin lakton yapısındaki sinyal moleküllerinin rol oynadığı Quorum sensing sistemi de patojenin uygun olmayan çevresel koşullara adaptasyonunu sağlamasında katkı sağlayan faktörlerden birisidir (32). Virülans faktörlerine ait bir görsel Şekil 1'de sunulmuştur (33).



LPS: lipopolisakkarit, PBP: penisilin bağlayan protein, T6SS: tip VI sekresyon sistemi, T2SS: tip II sekresyon sistemi, BapAb: biyofilm ilişkili protein, Omp: dış membran proteini

Şekil1. *A.baumannii*'nin virülans faktörleri ve patogenezdaki rolleri

2.2.5. Risk Faktörleri ve Enfeksiyonları

A. baumannii enfeksiyonları, sıklıkla yoğun bakım ünitelerindeki özellikle ventilatöre bağlı olup uzun süredir bakım ve tedavi gören çocuk ve yetişkin hastalarda ortaya çıkma eğilimindedir. Risk faktörleri arasında yakın zamanda geçirilmiş cerrahi, mekanik ventilasyon, santral vasküler kateterizasyon, trakeostomi, enteral beslenme, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı yer almaktadır (34,35). Yenidoğanlar arasındaki risk faktörleri arasında düşük doğum ağırlığı, total parenteral beslenme ve santral venöz kateter yer almaktadır (36). Hastaya ait risk

faktörlerinden bazıları ileri yaş, altta yatan hastalık, mevcut hastalığın ciddiyeti, bağışıklık yanıtındaki sorunlar, hastanede uzun süreli yatış hikayesinin mevcut olmasıdır. (37).

Acinetobacter türleri çok çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır. Özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlar görülmekte ve bunlardan da en sık görülen formlar ventilatörle ilişkili pnömoni ve kan dolaşımı enfeksiyonlarıdır. Ayrıca üriner sistem enfeksiyonu, yara, yumuşak doku, kemik enfeksiyonları, menenjit ve endokardite de neden olabilmektedir (38). Kan dolaşımı enfeksiyonlarına en sık neden olan kaynaklar vasküler kateterler ve solunum yollarıdır. Yaralar ve idrar yolları daha az yaygın olan primer kaynaklardır. *A. baumannii* nedenli kan dolaşımı enfeksiyonunun mortalitesi oldukça yüksektir. Salgınlar kontamine olmuş solunum yolu ekipmanları, intravasküler kateterler, yatak malzemeleri ve hastane personellerinin elleri yoluyla bulaşma ile ilişkilendirilmiştir. (39).

2.2.6. Tedavisi

Acinetobacter baumannii enfeksiyonlarının tedavisinde potansiyel olarak yararlı olan antimikrobiyal ajanların in vitro aktivitesi oldukça değişkendir ve direnç nedeniyle birçoğunun etkinliği giderek azalmıştır, bu durum da mevcut tedavi seçeneklerini sınırlamaktadır. Günümüzde *A. baumannii* tedavisi için karbapenemler, polimiksinler, tigesiklinler ve bunların birbirleriyle olan kombinasyonları tercih edilmektedir. Duyarlı *A. baumannii* enfeksiyonları için β -Laktam antibiyotikler ilk tercih edilen antibakteriyel ajanlardır. Sefiderokol, sulbaktam ve durlobaktam kombinasyonu ve yeni tetrasiklinler gibi yeni ajanların ortaya çıkışı tedavi seçeneklerini geliştirmiştir ancak bu antibiyotiklerin daha fazla klinik kanıtla desteklenmesi gerekmektedir (40).

2.2.6.1. B-laktamlar ve B-laktamaz inhibitörleri:

β -laktam ajanlar; penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemlerin yer aldığı *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan önemli bir antibiyotik grubudur. Bu antibiyotik grubu etkinliklerinin yüksek olması ve güvenle kullanılabilmesi nedeniyle tedavide sıklıkla tercih edilmektedir. Ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanılan, en geniş etki spektrumuna sahip β -laktam ajanlar olan karbapenemlerin, diğer sınıf antibiyotiklere karşı direncin oldukça artmış olması nedeniyle *A. baumannii* enfeksiyonlarında kullanımı yaygınlaşmıştır. Fakat bu ajanlara karşı bildirilen direnç oranlarının da artması nedeniyle bu antibakteriyallerin klinik kullanımı giderek kısıtlanmaktadır (41,42).

Bazı karbapenemler (örn. meropenem, imipenem) duyarlı *Acinetobacter* türlerine karşı oldukça bakterisidaldir (43). Artan direnç nedeniyle tedavide giderek daha kritik bir seçenek haline gelmişlerdir. Karbapenemlerin etkinliği serum karbapenem konsantrasyonları minimum inhibitör konsantrasyonun(MİK)'nün üzerinde kaldığı süre uzadıkça artmaktadır. Bu nedenle uygulanan uzamış infüzyon, MİK üzerinde kalınan süreyi artırarak tedavi sonuçlarını, özellikle dirençli patojenler için olumlu etkilemektedir (44).

Bir β -laktam- β -laktamaz kombinasyonu olan ampisilin-sulbaktam tedavide benzersizdir çünkü kombinasyon ilacının sulbaktam bileşeni (beta-laktamaz inhibitör aktivitesine sahip bir beta-laktam), ampisilin yokluğunda dahi *Acinetobacter*'e karşı tek başına mükemmel bakterisidal aktiviteye sahiptir. Sulbaktamın bu benzersiz etki mekanizması, diğer beta-laktam antibiyotiklere ve karbapenemlere direnç mevcut olduğunda aktivitesini koruyabilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde ve diğer birçok ülkede sulbaktam yalnızca ampisilin ile kombinasyon halinde mevcut bulunmaktadır (43).

Özellikle *Acinetobacter* spp.'yi tedavi etmek için geliştirilmiş yeni bir beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonu olan Sulbaktam-durlobaktam, in vitro olarak *A. baumannii*'ye karşı oldukça aktiftir ve tek başına sulbaktam ile karşılaştırıldığında MİK 90'da 32 kat azalma sergilemiştir (45).

2.2.6.2. Aminoglikozidler:

Aminoglikozidler (tobramisin, amikasin, gentamisin) sıklıkla *Acinetobacter*'e karşı in vitro aktivite sergilemektedir. İdrar yolu enfeksiyonu dışında veriler yetersizdir ve kullanılacaksa bir kombinasyon rejiminin parçası olarak kullanımı önerilmektedir. Direnç oranları yüksek olduğu için ampirik tedavi olarak tercih edilmemelidir ve toksisite nedeniyle uzun süre kullanımından kaçınılmalıdır (43,46).

2.2.6.3. Florokinolonlar:

Acinetobacter izolatları bazen siprofloksasin, levofloksasin gibi bir veya daha fazla florokinolona duyarlıdır olabilmektedir. Florokinolonların avantajlarından biri hem oral hem de parenteral formülasyonlarının mevcut olmasıdır. *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanımlarına ilişkin veriler sınırlıdır, duyarlı izolatların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Ancak ampirik tedavi seçeneği olarak düşünülmemelidir çünkü direnç oranları yüksektir (47).

2.2.6.4. Tigesiklin:

Dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan bir diğer ajan minosiklin türevidir olan tigesiklidir. Ribozomlara bağlanarak etki gösteren tigesiklin geniş spektrumlu bir antibiyotiktir ve özellikle tetrasiklin dirençli mikroorganizmalara karşı etki göstermektedir. Tigesiklinin çoklu ilaç dirençli *A. baumannii* gibi Gram-negatif enfeksiyonlara karşı in vitro etkili olduğu gösterilse de özellikle alt solunum yolu enfeksiyonları ve bakteriyemiler gibi durumlar için klinik verilerin sınırlı olması, bu ilacın bu enfeksiyonlarının tedavisinde tek başına kullanımını konusunda çekincelere yol açmaktadır. Klinikte dirençli suşlar için kombinasyon tedavilerinde kullanılmaktadır ve monoterapi olarak kullanımı uygun görülmemektedir. Tigesiklin için de direnç gelişimi rapor edilmektedir ve bu durum endişe vericidir. Bazı çalışmalarda tigesiklinin etkinliği ve güvenliği konusunda fikir birliği olmadığı ve tedaviye olumlu katkısı olmadığı rapor edilmiştir. Bu nedenle, dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarına karşı daha etkili bir mücadele stratejisi olarak tigesiklinin diğer antimikrobiyal ajanlarla kombinasyon halinde kullanılmasının potansiyel faydalarını araştıran detaylı prospektif çalışmaların yapılması önerilmektedir (48,49).

2.2.6.5. Kolistin (Polimiksin E):

Bakteriyel membranları bozarak hücre ölümüne neden olan kolistin dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan seçeneklerden birisidir. Kolistinin antimikrobiyal spektrumu dar olup, bazı çoklu ilaç dirençli Gram-negatif patojenlere karşı in vitro aktiviteye sahiptir. Bu patojenler arasında önemli non-fermentatif Gram-negatif bakteriler olan *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* yer almaktadır. Polimiksinler, Enterobacteriaceae ailesinin çoğu üyesine karşı bakterisidal aktivite göstermektedir. Florokinolonlar ve aminoglikozitlerin yanı sıra tüm β -laktamlara dirençli Gram-negatif patojenlerin prevalansındaki hızlı artış, toksisite nedeniyle kullanımı azalmış olan kolistinin bir tedavi seçeneği olarak yeniden değerlendirilmesine yol açmıştır. Çalışmaların çoğu karbapenemlere karşı direncin arttığını ve tigesiklinin birçok ülkede ruhsatlı olmaması nedeniyle kolistinin çoğu zaman çoklu ilaca dirençli organizmalara karşı etkili tek antibiyotik olduğunu bildirmektedir. Ne yazık ki kolistine de direnç gelişmektedir, henüz kullanımı çok yaygın olmadığı için direnç oranları yüksek olmasa da, yakın zamanda *A. baumannii*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* gibi çeşitli Gram negatif bakteri türlerinde kolistine dirençli izolatlar tespit edilmiştir (50).

2.2.7. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları

Acinetobacter baumannii virülans faktörleri ve direnç mekanizmaları nedeniyle sağlık hizmetlerindeki en tehlikeli patojenlerden biri haline gelmiştir. *A. baumannii*'nin çeşitli türleri klinik olarak mevcut çoğu antibiyotiğe karşı oldukça dirençlidir. *A. baumannii*'nin β -laktamazlar, aminoglikozid modifiye edici enzimler, dışa atım(eflüx) pompaları, geçirgenlik defektleri ve hedef bölgelerdeki modifikasyonlar dahil olmak üzere bir dizi direnç mekanizması mevcuttur. Çeşitli direnç mekanizmalarının birikmesi, klinik pratikte *A. baumannii* enfeksiyonlarını tedavi etmek için mevcut antibiyotik sınıflarının sayısını giderek azaltmıştır. Özellikle β -laktamların β -laktamazlar tarafından inaktivasyonu, *A. baumannii*'de önemli bir antibiyotik direnç mekanizmasıdır. Dizi homolojisine dayanarak β -laktamazlar A, B, C ve D şeklinde moleküler sınıflara ayrılmaktadır. Atım pompaları, *A. baumannii*'de imipenem ve tigesiklin gibi birçok farklı antibiyotik sınıfına karşı dirençle ilişkilidir. Membranda oluşan geçirgenlik defektleri bir diğer mekanizmadır, örneğin porinler, moleküllerin dış zar boyunca taşınmasına izin veren kanallar oluşturur ve *A. baumannii*'nin virülansında önemli bir rol oynamaktadır. Porinler membran geçirgenliğini etkilediğinden direnç mekanizmasında da önemli rol oynarlar. Dış membran proteinlerinin yanı sıra lipopolisakkaritler ve peptidoglikanlar gibi zarf bileşenleri de *A. baumannii*'nin antibiyotik direncini etkilemektedir. Lipopolisakkaritlerin kaybı veya modifikasyonu, *A. baumannii*'de membran bütünlüğünü azaltır ve kolistin direncini artırır. Aminoglikozid değiştirici enzimler, *A. baumannii*'nin aminoglikozidlere direnç kazandırdığı ana mekanizmadır. Antibiyotikler için hedef bölgelerindeki değişiklikler, antibiyotik direncini tetikleyen bir diğer mekanizmadır (51,52).

2.2.7.1. Karbapenem Direnci:

Karbapenemler, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı belirgin etkinin yanı sıra geniş kapsamlı aktivite göstermesi nedeniyle nozokomiyal enfeksiyonların tedavisinde önem arz etmektedir. Kritik hastalar için son çare antibiyotiklerden birisidir ve çok ilaca dirençli organizmalardan, özellikle *Acinetobacter baumannii* ile enfekte hastaların tedavisi için önemli bir ajandır; ancak karbapeneme dirençli *A. baumannii*'nin küresel ölçekte artmasıyla birlikte bu patojen halk sağlığını önemli ölçüde tehdit etmektedir. Bu nedenle, *A. baumannii* ile mücadelede yeni tedaviler ve kontrol stratejileri geliştirmek amacıyla bu patojenin ve direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına acil ihtiyaç vardır. Endemik durumların ve gelecekteki salgınlardan üstesinden gelmek, karbapenem direncinin hızlı ilerleyişini kontrol altına almak için

çok fazla bilgiye sahip olmak gerekmektedir ve karbapenem direnç mekanizmalarını anlamak bunlardan birisidir (53,54).

2.2.7.2. Karbapenem Direnç Mekanizmaları:

Acinetobacter baumannii'de karbapenem direnci enzimatik ve enzimatik olmayan mekanizmalarla oluşmaktadır. Genellikle birden fazla mekanizma direnç oluşuma katkı sağlamaktadır. β -laktamaz enzimlerinin varlığı, dış membran geçirgenliğinin bozulması, dışa atım (efluks) pompaları ve ilacın hedef bölgesindeki PBP (penisilin bağlayan protein)'lerin yapısındaki değişiklikler gibi mekanizmalar, direnç gelişiminde birlikte görev almaktadır (53). Karbapenem direnç mekanizmaları Şekil 2'de gösterilmiştir (55).



Şekil 2. *A.baumannii* karbapenem direncinden sorumlu mekanizmalar. PBP: penisilin bağlayan protein

2.2.7.2.1. Enzimatik Olmayan Mekanizmalar

Penisilin bağlayıcı proteinlerdeki değişiklikler:

A. baumannii suşlarında arasındaki PBP'lerin regülasyonunun azalması nedeniyle azalan ilaç afinitesi karbapenem direnci ile ilişkili mekanizmalardan birisidir. PBP'lerin üretim seviyesini veya bağlanma afinitesini değiştiren mutasyonlar β -laktam antimikrobiyallerde dirence yol açsa da PBP'nin rolü, *A. baumannii*'de yalnızca düşük seviyeli karbapenem direnciyle ilişkili bulunmuştur(55).

Dış membran porinlerinin kaybı:

Acinetobacter türlerindeki bir diğer karbapenem direnç mekanizması ise porinlerde ekspresyonun azalması veya mutasyona bağlı olarak membran geçirgenliğinin azalması ile ilgilidir. Porin kanalları ve dış membran proteinleri (OMP) normalde antimikrobiyal ajanların hücreye taşınmasından sorumludur. *CarO* veya karbapenemle ilişkili *OMP*, *HMP-AB* ve *OmpW*

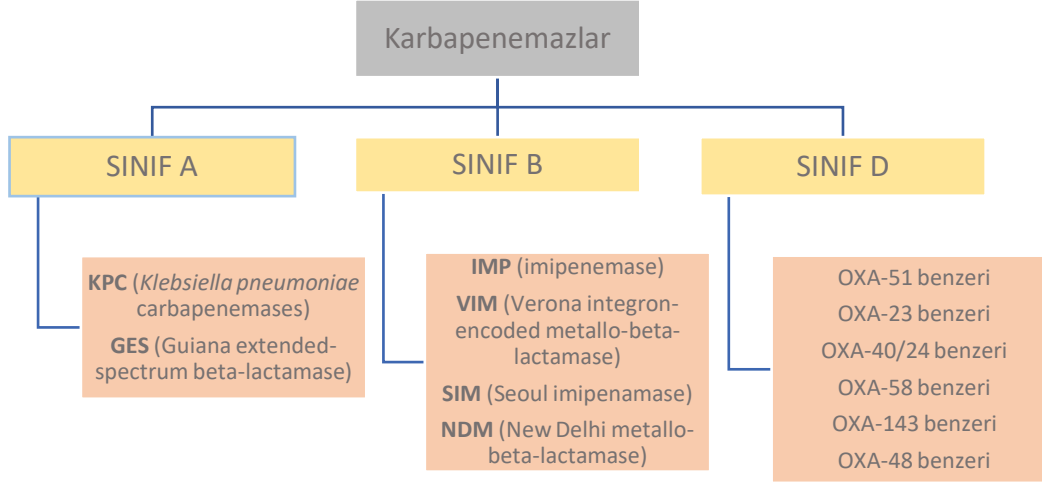
gibi β -laktamların *A. baumannii* zarı boyunca taşınması ve dolayısıyla karbapenem direncinin oluşması ile ilişkili çeşitli OMP'ler vardır. Örneğin *CarO* ekspresyonundaki bir azalma, imipenem ve meropenem duyarlılığının azalmasına yol açar. Daha ileri çalışmalar, bu porin proteinlerinin varlığı veya yokluğu ile karbapenem duyarlılığı arasında doğrudan bir korelasyonun doğrulanması konusunda yardımcı olacaktır(56,57).

Atım pompalarının aşırı ekspresyonu

Atım pompaları (efflüks pompası), *A. baumannii*'de karbapenem duyarlılığında rol oynayabilir. İlişkili olan dış zar porinleriyle karşılaştırıldığında antibiyotik alımıyla birlikte dışa atım sistemleri, bir dizi antimikrobiyal ajanı hücrenin dışına pompalayarak aktif olarak uzaklaştırmaktan sorumludur ve bu da çoklu ilaç direncine yol açmaktadır(48). *A. baumannii*'de antimikrobiyal dirençle ilişkili olarak; small multidrug resistance (SMR) ailesi, major facilitator superfamily (MFS) ailesi, resistance-nodulation-division (RND) ailesi ve multidrug and toxic compound extrusion ailesi olmak üzere dört dışa atım pompası tanımlanmıştır. AbeM, multidrug and toxic compound extrusion ailesindedir ve imipeneme direnç kazandırmaktadır (51).

2.2.7.2.2. Enzimatik Direnç Mekanizmaları (Beta Laktamazlar)

Karbapenemlerin inaktivasyonu veya enzimatik bozunması, *A. baumannii*'deki en önemli karbapenem direnç mekanizmasıdır ve genellikle plazmidlerde bulunan ve aktarılabilir olan karbapenemaz enzimleri tarafından gerçekleştirilmektedir. Ambler sınıflandırma sistemine göre A, B, C ve D sınıfı olarak dört ana moleküler β -laktamaz enzim kategorisi vardır. B sınıfında bulunan metallo- β -laktamazlar (MBL'ler) β -laktam halkasını tetiklemek ve bozmak için bir su molekülüne ve bir çinko iyonuna ihtiyaç duymaktadır. Öte yandan A, C ve D sınıfına ait β -laktamazlar, katalitik aktiviteleri için serin gerektiren karbapenemazlardır. D grubu enzimler, oksazolilpenisilin ve oksasilini benzilpenisiline göre çok daha hızlı hidrolize etmelerinden dolayı OXA'lar (oksasilinazlar) olarak adlandırılmaktadır. Karbapenemaz aktivitesine sahip varyantlar içerisinde 400'den fazla OXA enzimi tanımlanmıştır. MBL'ler ve OXA tipi karbapenemazlar benzer fenotipik direnç sergilemektedir. OXA tipi karbapenemazlar, *A. baumannii*'de MBL'lerden daha yaygın olarak görülmektedir ancak MBL'ler, OXA tipi karbapenemazlardan 100-1000 kat daha ölümcül olan karbapeneme dirençli hidrolitik aktiviteler sergiler (55,58). Karbapenemazlara ait görsel Şekil 3'de sunulmuştur (55).



Şekil 3. *A.baumannii* türünde bulunan klinik açıdan anlamlı karbapenemazlar

a) A sınıfı

A Sınıfı beta-laktamazlar penisilin, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemlere karşı dirence aracılık etmektedir. Bu enzimler dar spektrumlu olabileceği gibi, nokta mutasyonları yoluyla geniş spektrumlu antibiyotik aktivitesi de kazanabilirler. Dar spektrumlu laktamazlar çoğunlukla penisiline karşı aktiftir ve klavulanik asit tarafından inhibe edilebilir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL'ler) ise seftazidim, seftriakson, sefotaksim ve aztreonam gibi geniş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize edebilir. Ek olarak, plazmidler ve diğer hareketli genetik elemanların yardımıyla Gram negatif bakteriler arasında geniş bir yayılım gösterirler. Bu sınıfın diğer bir önemli üyesi *Klebsiella pneumoniae* karbapenemazlarıdır (KPC). Ambler A sınıfı beta-laktamazlar arasında yalnızca az sayıda enzim karbapenemaz aktivitesi göstermektedir. Bu sınıf çok sayıda enzim içerir ve KPC şu anda karbapenemler için klinik açıdan en alakalı gruptur. KPC dünya çapında esas olarak Enterobacterales izolatlarında ve ayrıca *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* türlerinde tespit edilmiştir. KPC pozitif *A. Baumannii* ilk olarak Porto Riko'dan bildirilmiştir. Bir diğer karbapenem ilişkili A sınıfı enzimlerden biri olan GES (Guiana geniş spektrumlu beta-laktamaz) enzimleri, *P. aeruginosa*, *Enterobacterales* ve *A. baumannii* suşlarında rapor edilen edinsel betalaktamazlardır. Bu ailenin tümü geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı aktiviteye sahiptir. Ayrıca, aktif bölgenin modifikasyonu sayesinde birçok GES enzimi, imipenemi etkili bir şekilde hidrolize eden karbapenemaz aktivitesi elde etmiştir. GES enzimleri dünya çapında geniş bir dağılım göstermese de GES-11 ve/veya GES-14 beta-laktamaz taşıyan *A. baumannii* suşları rapor edilmiştir. (55,59).

b) B sınıfı

Bu enzimler sıklıkla metallo-beta-laktamazlar (MBL) olarak tanımlanmaktadır ve aktif bölgelerinde, A, C ve D sınıfı enzimlerde bulunan bir serin kalıntısının aksine genellikle çinko olmak üzere bir veya iki metal iyonu bulundurlar. Çinkoya bağımlı oldukları için MBL aktivitesi, etilendiamintetraasetik asit (EDTA) gibi metal şelatlayıcı ajanlarla inhibe edilmektedir. Bu enzimler, penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemler dahil olmak üzere geniş spektrumlu beta-laktamlara direnç kazandırmaktadır. Ayrıca, MBL'ler klinik olarak yararlı hiçbir beta-laktamaz inhibitörü tarafından inhibe edilmez. Bu sınıf enzimler, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* ve diğer Gram negatif nonfermenter bakteriler ile *Enterobacterales* ailesinde tespit edilmiştir (55,60).

Amino asit dizisi homolojisi ve metal gereksinimini dikkate alarak, MBL'ler B1, B2 ve B3 olmak üzere üç alt sınıfa ayrılır. Substrat spektrumunu karşılaştırıldığında, B1 ve B3 alt sınıfları, penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemler dahil geniş bir beta-laktam yelpazesini hidrolize ederken, B2 alt sınıfı enzimleri dar bir spektruma sahiptir ve bu da karbapenemleri içerir. B1 alt sınıfı, şu ana kadar tanımlanmış en fazla sayıda metallo-beta-laktamızı içerir ve IMP(imipenemase), VIM(Verona integron-encoded metallo-beta-lactamase), NDM(New Delhi metallo-beta-lactamase) ve SIM(Seoul imipenemase) ailelerine ait klinik olarak önemli enzimleri barındırır (61). MBL'ler *A. baumannii*'de OXA enzimleri kadar yaygın olmamakla birlikte, karbapenemlere karşı önemli ölçüde daha yüksek hidrolitik aktivite sergilemektedir. Şu anda dünya çapında bu enzimlerin dört grubu *A. baumannii*'de bildirilmiştir: IMP, VIM, SIM ve NDM (62).

c) C sınıfı

AmpC veya *Acinetobacter* kökenli sefalosporinazlar olarak da bilinen bu sınıfa ait enzimler, *A. baumannii*'de doğal olarak bulunmaktadır. Bu sınıfa ait enzimlerin karbapenemaz aktiviteleri yoktur. *A. baumannii* izolatlarında bulunan ampC tipi sefalosporinaz, porin mutasyonları gibi diğer direnç mekanizmalarıyla birleştiğinde karbapenem duyarlılığının azalmasına katkıda bulunabilir. İlginç bir şekilde, diğer Gram-negatif basil türlerinden farklı olarak ampC üretiminin *A. baumannii*'de indüklenebilir olmadığı görülmektedir. Bununla birlikte, yerleştirme dizisi ISAbal, *bla*_{AmpC}'den yukarı yönde olduğunda promotör dizileri sağlayabilir, ekspresyonu artırabilir ve seftazidim direncine yol açabilir ancak bu ampC aşırı üretimi tek başına karbapenem duyarlılığını etkilemez (53).

d) D sınıfı

Karbapenemi hidrolize eden sınıf D beta-laktamazlar (CHDL'ler) *A. baumannii*'nin karbapeneme dirençli hale gelmesinin en sık nedenidir. *A. baumannii*, direnç kazandıran ve plazmidler veya diğer hareketli genetik bileşenler tarafından taşınan bu özel OXA grubu β-laktamaz genlerini aldığıında, bu karbapenem direnç genlerinin hızla yayılımı söz konusu olmaktadır. Bu genler bağımsız bir şekilde kopyalanabilmekte ve bakteriler arasında değiş tokuş edilebilmektedir. Plazmitler bu nedenle karbapenem direncinin hızla yayılmasında çok önemli bir yere sahiptir (63).

A. baumannii'de tanımlanmış CHDL'ler, intrensek OXA-51 benzeri , kazanılmış OXA-23 benzeri, OXA-58 benzeri, OXA-24/40 benzeri, OXA-143 benzeri ve OXA-235 benzeri β-laktamazlar olmak üzere 6 ana grup içermektedir (55).

OXA-23 benzeri beta laktamazlar: Sınıf D beta-laktamaz olarak tanımlanan ve karbapenemaz aktivitesine sahip OXA-23, ilk olarak İskoçya Edinburg'da tespit edilmiştir (64). Bu enzimin karbapenemleri hidroliz etme yeteneği, diğer CHDL'lere kıyasla önemlidir. Bugüne kadar, OXA-23 benzeri grup 19 enzim içermekte olup, bu enzimlerin çoğunlukla *A. baumannii* izolatlarında plazmidler ve kromozomlar üzerinde bulunduğu bilinmektedir. Bu karbapenemazlar, çoğunlukla plazmid aracılı transfer yoluyla yayılmaktadır. İnsersiyon sekansı *ISAbal*'in her zaman *bla_{OXA-23}* genine yakın bir bölgede alması *ISAbal*'in düzenleyici rol oynadığını ve *bla_{OXA-23}*'ün ekspresyonunda kilit rol oynadığını düşündürmektedir. OXA-23 benzeri enzimlerin ekspresyonu, *ISAbal*'in varlığı ile artmaktadır. Ayrıca, OXA-23 benzeri enzimler, oksimino sefalosporinler, aminopenisilinler, piperasilin, oksasilin ve aztreonam ile birlikte karbapenemleri de hidroliz edebilir (65).

OXA-23 taşıyan suşlar arasında karbapenem direncine ilişkin klonal çalışmalar, genin varlığının direnci sağlamak için yeterli olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, yüksek direnç seviyesi, OXA-23 ile birlikte diğer direnç mekanizmalarının, örneğin RND ailesinin üyesi AdeABC efflux pompasının bir arada bulunmasıyla elde edilebilir. OXA-23 benzeri gruba ait beta-laktamazların yayılımı dünya çapında rapor edilmiş olup, bu enzimleri taşıyan *A. baumannii* suşları İtalya, Polonya, Fransa, İspanya, Japonya, Mısır, Avustralya, Amerika Birleşik Devletleri, Brezilya ve diğerleri dahil olmak üzere çeşitli ülkelerde izole edilmiştir (55,66).

OXA-51 benzeri beta laktamazlar: OXA tipi beta-laktamazların en büyük grubunu oluşturmaktadırlar. Bu enzimler *A. baumannii*'ye özgüdür ve bu bakterinin kromozomunda

kodlanmıştır. Çalışmalar, OXA-51 enziminin bu antimikrobiyal ajanlara karşı düşük afinite göstermesinden dolayı katalitik etkinliğinin de düşük olduğunu göstermiştir. Yapılan çalışmalar, bu düşük afinitenin enzimin aktif bölgesinde karbapenem substratına karşı geçici bir sterik bariyer oluşumundan kaynaklandığını göstermektedir. Bu bariyere yapılan bir aminoasit eklentisi bu sterik engeli ortadan kaldırır ve mutant enzimin karbapenemlere olan afinitesini 10 kat artırarak bu antibiyotiklere karşı direnç seviyelerini önemli ölçüde artırmaktadır. OXA-51'in tek bir amino asit değişimi sonucu etkin bir karbapenemaz haline gelme yeteneği, yakın gelecekte OXA-51 ailesinin en tehlikeli *A. baumannii* karbapenemazlarından biri haline gelebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca OXA-51 benzeri beta-laktamazların doğal düşük seviyeli ekspresyonunun karbapenem duyarlılığı üzerinde çok az etkisi olmasına rağmen, insersiyon sekansı olan *ISAbal*'nın aracılık ettiği aşırı üretim durumunda da karbapenem direncine yol açabilirler (53,67).

OXA-40/24 benzeri beta laktamazlar: Sınıf D karbapenemazlara dahil edilen bir başka grup OXA-40/24 benzeri gruptur. OXA-40/24 benzeri grubun ilk keşfedilen üyesi OXA-24 enzimi olup, şu anda OXA-40 olarak yeniden adlandırılmıştır. Bu beta-laktamaz, İspanya'daki bir hastaneden *A. baumannii* salgın suşundan köken almıştır. OXA-40 aynı zamanda Amerika Birleşik Devletleri'nde *A. baumannii*'de tespit edilen ilk CHDL enzimidir. OXA-40/24 benzeri grup bugüne kadar 7 enzim içermekte olup, çoğunlukla *A. baumannii*'de tanımlanmıştır, ancak son zamanlarda başka Gram-negatif bakterilerde de tespit edilmiştir. OXA-40/24 grubu içinde kinetik parametreler önemli ölçüde farklılık gösterse de OXA-40 karbapenemlere karşı en yüksek aktiviteyi sergilemektedir. OXA-40 geninin klonlanması veya insertasyonel inaktivasyonu ile ilgili çalışmalar, karbapenemlere dirençteki önemli rolünü doğrulamaktadır (66,68).

OXA-58 benzeri beta laktamazlar: Bu grubun ilk temsilcisi, Fransa-Toulouse'daki bir hastaneden elde edilen karbapeneme dirençli *A. baumannii* izolatından izole edilmiştir. OXA-58'in kinetik analizi, *A. baumannii*'deki diğer OXA tipi enzimlerle kıyaslandığında benzer enzimatik spektrum içinde bulunmuştur. OXA-58'in düşük seviyede karbapenemleri hidrolize ettiği düşünülürken, insersiyon dizileri ile (örneğin, *ISAb3*, *ISAb825*) ekspresyonunun artabildiği ve bu durumun *A. baumannii*'de karbapenem direncine yol açabildiği bulunmuştur. Şimdiye kadar, bu türde dört OXA-58 benzeri grup üyesi (OXA-58, OXA-96, OXA-97, OXA-164) tanımlanmıştır ve bu enzimler plazmidler veya kromozomlarda yer almaktadır (66,69).

OXA-143 benzeri beta laktamazlar:

Bildirilen ek bir CHDL, OXA-143'tür. Bu enzim ilk olarak 2004 yılında Brezilya'da klinik örnekten izole edilen *A. baumannii* izolatından tespit edilmiştir. OXA-143'ün amino asit dizisi analizi, daha önce açıklanan enzimlerle farklı derecelerde özdeşlik olduğunu ortaya çıkarmıştır; %88 OXA-40, %63 OXA-23 ve %52 OXA-58 ile benzerlik göstermektedir. Bu enzim penisilin, oksasilin, meropenem ve imipenemi hidrolitik olarak parçalamaktadır. OXA-143 düşük hidroliz oranlarıyla karakterize olmasına rağmen, imipenem ve meropenem direncine önemli ölçüde katkıda bulunduğu düşünülmektedir (70).

OXA-235 benzeri beta laktamazlar: OXA-235 enzimi Meksika ve A.B.D.'da 2013 yılında izole edilen *A. baumannii* izolatlarında tanımlanmıştır. Bu enzim, penisilinleri ve karbapenemleri hidrolize etmekte, ancak geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı aktivite göstermemektedir. Genetik analiz, OXA-235 ve varyantları olan OXA-236 ve OXA-237 genlerinin iki ISAbal insersiyon dizisi arasında yer aldığını ortaya koymuştur (71).

2.3. EPİDEMİYOLOJİK TİPLENDİRME YÖNTEMLERİ

2.3.1. Fenotipik Yöntemler

Fenotipik yöntemler mikroorganizmanın morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre yapılmaktadır. Biyotiplendirme, serotiplendirme, antibiyotiplendirme, faj tiplendirme, bakteriyosin tiplendirme tipi birçok yöntem mevcuttur. Biyotiplendirmede bakterilerin metabolik aktivitesi esas alınmaktadır. Bu yöntemin ayırım gücü yapılacak biyokimyasal test sayısına bağlıdır. Testler ısı, büyüme koşulları, kültür yaşı, gibi birçok parametreden etkilenmektedir. Harcanan süre uzundur ve sonuçlar değişkenlik gösterebilmekte ve yanıltıcı olabilmektedir. Birçok biyokimyasal test bir araya getirilerek *A.baumannii* için biyotiplendirme yapılması amacıyla otomatize sistemler geliştirilmiştir. Ancak genotipik yöntemlerin ön plana çıkmasıyla bu tür çalışmalar artık tercih edilmemektedir (72,73). Serotiplendirmede bakterinin antijenik yapısındaki farklılıklar esas alınmaktadır. Aynı türün farklı suşları veya farklı türlerin suşları arasında olabilecek çapraz reaksiyona bağlı yanlış pozitif sonuçlar alınabilmektedir. *Acinetobacter* suşlarını serolojik reaksiyonlarla tiplendirmek için çok sayıda girişimde bulunulmuştur ancak sınırlı bir başarı elde edilebilmiştir. Bu yöntemin kullanılabilirliğini test etmek için, çok sayıda epidemiyolojik olarak tanımlanmış suşla daha fazla çalışma yapılması önerilmiştir ancak çok ilerleme kaydedilememiştir (24,74).

Antibiyotiplendirme, benzer izolatları gruplandırmak ve direnç profillerini tespit etmek amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Bu süreçte, genellikle MİK (Minimum İnhibitör Konsantrasyonu) değerleri ve disk difüzyon zon değerleri esas alınmaktadır. Kümeleme analizi için bu metotla çok sayıda çalışma yapılmış ve sonuçların diğer tiplendirme yöntemleriyle iyi korelasyon gösterdiği görülmüştür. Tiplendirme için, antibiyogram sonuçlarının epidemiyolojik verilerle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Ancak yapılan çalışmalar, bazen benzer olmayan suşların aynı antibiyogram profiline sahip olabildiğini veya enfeksiyon atakları sırasında duyarlılık profillerinin değişebildiğini de gösterdiğinden antibiyogram tiplendirme sonuçlarının dikkatle yorumlanması gerektiği vurgulanmalıdır (24,75). Bakteriyofaj tiplendirme, belirli bakterileri enfekte edebilen bakteriyofajlar kullanılarak bakteriyel suşları ayırt etme yöntemidir. Bu yöntem, özellikle bakteriyel enfeksiyonların epidemiyolojik analizinde kullanılmaktadır. Standardize edilmiş bakteriyofajlarla araştırılmak istenen bakteriler karıştırılır. Değerlendirme sürecinde her bir bakteriyofajın oluşturduğu plak sayısı ve karakteristikleri, bakteri suşlarının ayırımında kullanılır. Farklı bakteriyofajların farklı bakteri suşlarına karşı gösterdiği etkinlik, suşların tanımlanmasında ve ayrıştırılmasında önemlidir. Bakteriyofaj tiplendirme, halk sağlığı uygulamalarında, bakterilerin genetik çeşitliliğini ve popülasyon dinamiklerini anlamada değerli bir araç olarak kullanılmaktadır. Fransa ve diğer Avrupa ülkelerinden *Acinetobacter* izolatları üzerinde yapılan bir dizi farklı epidemiyolojik çalışmada iki tamamlayıcı bakteriyofaj seti kullanılmıştır. Sonuçların tekrarlanabilirliği konusunda bazı şüpheler olsa da, faj tiplendirmesinin diğer tiplendirme yöntemleriyle birlikte kullanıldığında zaman alıcı olsa da faydalı olabileceği düşünülmektedir (24,76). Bakteriyosin tiplendirme, bakteriler tarafından üretilen antimikrobiyal proteinler olan bakteriyosinlerin sınıflandırılması ve karakterizasyonunu içeren bir süreçtir. Bakteriyosinin biyolojik özellikleri, fizikokimyasal stabilitesi ve antibakteriyel spektrumu incelenir. Son olarak, elde edilen verilerin analizi ile bakteriyosinler, üretildikleri bakteri türü, hedef bakteriye olan etkileri ve moleküler yapılarına göre sınıflandırılır. *Acinetobacter* türlerinin incelendiği bir çalışmada bakteriyosin üretimi ile gentamisin direnci arasında yakın bir ilişki bulunmuş ve kullanılan bu tekniğin *Acinetobacter* epidemiyolojisinin incelenmesinde değerli olabileceği belirtilmiştir. Yöntemin kullanılabilirliği açısından daha çok çalışma yapılması gerekmektedir(77,78). Protein analizi yönteminde; bakteriden izole edilen proteinlerdeki farklılıklara dayalı olarak karşılaştırma ve analiz yapılmaktadır. Bu yöntemde *A. baumannii* için hem hücre duvarı proteini hem de tüm hücre proteinleri kullanılmıştır. Tüm hücre proteinlerinin örnek hazırlama aşaması, diğerlerine kıyasla kolay olduğu için bu yöntem daha avantajlı bulunmuştur. Hastane

salgınlarında ve endemik olaylarda belirli suşların izlenmesinde başarıyla uygulanmıştır. Yorumlamasının diğer fenotipik yöntemler gibi dikkatle yapılması gerekmektedir (24).

Fenotipik yöntemler her ne kadar hastane enfeksiyonları epidemiyolojisi ile çalışanlar tarafından ilk seçenek yöntemler olarak kullanılsa da daha çok benzerlikleri ortaya koyan bu yöntemler yeteri kadar ayırım yeteneğine ve kullanılabilirlik özelliklerine sahip değildir. Genotipik ekspresyon veya varyasyonlarla değişebilecek stabil olmayan özelliklerden faydalanmaları, sınırlı sayıda özelliği tespit etmeleri, yavaş olmaları ve yoğun emek gerektirmesi, yorumlama güçlükleri gibi dezavantajları mevcuttur. Mikroorganizmaların genetik materyallerindeki farklılıkları ortaya koyarak tiplendirmenin yapıldığı genotipik epidemiyolojik yöntemler fenotipik tiplendirme yöntemlerinin eksikliklerini önemli ölçüde ortadan kaldırmıştır (79).

2.3.2. Genotipik Yöntemler

Tarihsel olarak, *A. baumannii*'nin klonal doğasını çözmek için fenotipik tiplendirme yöntemleri kullanılmıştır. Ancak moleküler tekniklerin kullanımının artmasıyla birlikte fenotipik yöntemlerin büyük çoğunluğunu geçmişte bırakan çok sayıda genotipik tiplendirme yöntemi tercih edilmektedir. Moleküler tiplendirme yöntemleri, fenotipik yöntemlerin çok ötesinde olan, suş özelliklerini daha ayrıntılı saptama kapasitesine sahip yöntemlerdir. Bu tür moleküler temelli özelliklerin bakteriyel patojenlere ilişkin epidemiyolojik çalışmalarda çok yararlı olduğu kanıtlanmıştır. Tıbbi rutin mikrobiyoloji, enfeksiyon kontrol çalışmaları ve sürveyans gibi farklı alanlarda uzmanlaşmış araştırmacılar ve kuruluşlar için çok çeşitli epidemiyolojik yöntemler mevcuttur. Epidemiyolojik amaçlara tam olarak uyacak yöntemi seçmek önem arz etmektedir (80,81).

2.3.2.1. PFGE (Darbeli Alan Jel Elektroforezi)

Dizilemeye dayalı yeni yaklaşımların ortaya çıkmasına rağmen, Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE), *A. baumannii*'nin epidemiyolojik araştırmalarında hala altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir (82). PFGE'de organizmaya ait tüm genom analiz edilmektedir. Kromozom 6-8 bazlık enzimler tarafından kesilerek parçalar elde edilir. Kromozomal DNA'yı agaroz bloklar içinde hareketsiz bırakarak mekanik hasardan korumaya özen gösterilir. Bloklar daha sonrasında bir cihazın kontrolü altında elektrik alanının yönünün değiştiği bir alternatif voltaj gradyanına tabi tutulur. Elektroferez sonrası jel UV transilüminator ile görüntülenir. Bu yaklaşım, boyutu 800-1000 kb'ye kadar olan DNA parçalarını analiz edebilir. PFGE, birçok bakteriyel patojen için kısa süreli lokal epidemiyolojik araştırmalarda

başarıyla kullanılmış ve çok doğru ve tekrarlanabilir bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır (83). Uzun süren emek yoğun çalışma olması (2-4 gün), bazı suşların tiplendirilememesi, sonuçların yorumlanması ve bant modellerinin bilgisayar destekli analizi için bilgili personel gereksinimi gibi dezavantajları bulunmaktadır (80).

2.3.2.2. RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) teknolojisi, DNA dizilerindeki polimorfizmleri belirlemek için kullanılan genetik yöntemlerden birisidir. Bu teknik, özel restriksiyon endonükleazlarla DNA örneklerinin kesilmesi sonucu farklı uzunluklardaki parçaların varlığını tespit ederek DNA dizilerindeki farklılıkları ortaya çıkarmaktadır. RFLP, bitkiler, hayvanlar ve insanlar dahil hemen hemen tüm organizmaların genotiplenmesi için kullanılabilir ve genetik araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. RFLP analizinin temel adımları, DNA'nın restriksiyon enzimleri ile kesilmesi ve ardından bu parçaların elektroforez ile ayrılmasıdır. Parçalar, agaroz jelden nitroselüloza veya naylon bir membrana aktarılır. Membrana bağlı nükleik asit daha sonra incelenen gen ile homolog olan prob veya problemler ile hibridize edilir. Problemlerle hibridize olan DNA parçaları görülür hale geldiği için sonuçların analizi kolaylaşmıştır ve yöntemin tekrarlanabilirliği yüksektir. Öncesinde PCR kullanarak DNA'nın spesifik bir bölümünün çoğaltıldığı ardından bu çoğaltılmış DNA'nın restriksiyon enzimleri ile kesildiği PCR-RFLP gibi teknikler de geliştirilmiştir. Böylece daha özgül DNA bölgelerinin hızlı ve etkili bir şekilde analiz edilmesi mümkün olmuştur. RFLP ve PCR-RFLP yöntemleri daha önce *A.baumannii* ile ilgili çalışmalarda kullanılmıştır (84–86).

2.3.2.3. Ribotiplendirme

Ribozomal RNA (rRNA) genleri, evrimsel süreç boyunca büyük oranda korunmuş ve tüm bakteri türlerinde var olan genlerdir. rRNA genlerinin RFLP analizi temelinde yürütülen ribotiplendirme, bir tür sınıflandırma yöntemidir. Bu yöntemde, bakteriyel DNA'nın saflaştırılmasını takiben, ribozomal RNA'yı kodlayan ve yüksek oranda muhafaza edilmiş gen bölgelerindeki çeşitlilik araştırılmaktadır. Restriksiyon enzimleri ile kesilen ve elektroforezle ayrıştırılan DNA, bir prob ile hibridize edilir. Elde edilen bantların analiziyle bakteriler sınıflandırılır. Hızlı ve spesifik bir yöntem olması nedeniyle bakteriyel tanılamada kullanılmaktadır. Yeni türlerin belirlenmesinin yanı sıra, klinik tanı, gıda ve içeceklerin mikrobiyal analizi gibi birçok alanda uygulanmaktadır. Yüksek tekrarlanabilirliğe sahip olan bu yöntem, otomasyona uygunluğu ve geliştirilen bilgisayar programlarıyla suşların tür düzeyinde tanımlanmasını sağlayarak avantajlar sunmaktadır. Ribotiplendirme, diğer

tekniklerle birleştirildiğinde, değerli epidemiyolojik veriler elde etme imkanına sahiptir (87,88). Protokolünde yoğun emek ve teknik bilgi birikimi gerekmektedir. Uygulamaya bağlı olarak değişen enzim, prob ve diğer reaktiflerin seçimi gibi değişiklikler sonuçları etkileyebileceğinden, laboratuvarlar arası karşılaştırma yapılması zordur. Nispeten uzun geri dönüş süresi yöntemi rutin kullanım için uygunsuz kılmaktadır (89).

2.3.2.4. PCR Temelli Tiplendirme Yöntemleri: AP-PCR, RAPD, REP-PCR, AFLP

PCR temelli yöntemler çok çeşitli bakteri türlerinin hızlı bir şekilde alt tiplendirmesini yapmak için kullanılmaktadır. Bu genotipleme testlerinin en büyük avantajları hızları, kolaylıkları, düşük maliyetleri ve çok yönlülükleridir. En büyük dezavantajı ise tekrarlanabilirliğinin sınırlı olmasıdır (90).

2.3.2.4.1. RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA, Randomly Amplified Polimorphic DNA)

İlk kez 1990 yılında ortaya çıkan ve rastgele seçilen primerlerin kullanıldığı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) temelli bir tekniktir. Amaç polimeraz zincir reaksiyonuyla polimorfik genomik parmak izleri oluşturmaktır. Öncesinde DNA dizilimiyle ilgili bilgiye ihtiyaç duyulmaması önemli bir avantajdır. Hızlı ve kolay uygulanabilir olması, ekipmana kolay erişilebilir olması gibi avantajları mevcuttur. Sadece prokaryot çalışmalarında değil ökaryot çalışmalarında da sıklıkla kullanılmaktadır. AP-PCR ile prensip olarak çok benzerdir ve hatta aynı yılda başka bir çalışma grubu tarafından çok benzer bir yöntem uygulanmış ve AP-PCR (Arbitrarily-Primed PCR) olarak isimlendirmiştir. RAPD'nin temel prensibi, ilgilenilen türün genomik DNA'sı üzerinde, rastgele seçilmiş tek bir 9-10 baz çifti uzunluğundaki oligonükleotid primerin düşük sıcaklıkta rastgele bağlanması ve ardından PCR ile amplifikasyonun gerçekleştirilmesidir. Kullanılan oligonükleotid dizileri(primer) genellikle oldukça kısadır. Elde edilen amplifikasyon ürünü standart jel elektroforezinde yürütülür ve bantlar halinde gözlemlenir. Bantların analizi ile sonuçlar değerlendirilmektedir (91).

2.3.2.4.2. AP-PCR (Rastgele PCR, Arbitrarily Primed PCR)

Bu yöntem de RAPD yöntemine benzer bir şekilde, ilk kez 1990 yılında ortaya çıkan ve rastgele primerlerin kullanıldığı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) temelli bir tekniktir. Yöntemde polimeraz zincir reaksiyonuyla polimorfik genomik parmak izleri oluşturulması amaçlanmaktadır. Karmaşık genomların basit ve tekrarlanabilir fingerprint(parmakizi) bölgeleri, rastgele seçilen tek bir primer veya primerler ile polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

kullanılarak tespit edilebilir. Yöntem RAPD ile benzerlik göstermektedir. Önceden DNA diziliminin bilinmesine gerek olmaması önemli bir avantajdır. Yöntem genomik DNA'nın elde edilmesinden sonra 20-25 bp uzunlukta bir oligonükleotid dizisinin önce düşük sıcaklık ardından yüksek sıcaklıkta rastgele hedef DNA dizisine bağlanarak amplifikasyon yapmasına dayanmaktadır. Amplifikasyon ürünlerinin jel elektroforezde oluşturduğu bant profillerindeki polimorfizmleri karşılaştırarak suşların ayırt edilebilmesi mümkün olmaktadır (92). AP-PCR'nin başlıca avantajları arasında hızlı sonuç elde edilmesi, teknik olarak basitliği, yorumla kolaylığı, maliyet etkinliği ve görece iyi ayırım gücü yer alır ve bu da onu moleküler epidemiyolojide değerli bir araç haline getirmektedir. Ancak AP-PCR, çalışmalar arası ve laboratuvarlar arası düşük tekrarlanabilirliğe sahiptir. Protokol ve reaktif optimizasyonu gerektirmektedir. Bu zorluklara rağmen, AP-PCR ve benzer PCR bazlı yöntemler, mikrobiyal izolatlar arasındaki klonal ilişkilerin anlaşılmasında önemli yöntemlerdir (93). Salgın durumunda suşlar arasındaki epidemiyolojik ilişkinin analizi için AP-PCR yöntemi *A.baumannii* suşlarında bir çok kez uygulanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (94,95).

2.3.2.4.3. Rep-PCR (Tekrarlayan Ekstragenik Palindromik Sıra Tabanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

REP-PCR (Repetitive Extragenic Palindromic-Polymerase Chain Reaction) tekniği, mikroorganizmaların genetik analizinde sıkça kullanılan bir yöntemdir. Organizmanın genomunda bulunan tekrarlayan ekstragenik palindromik dizilere (REP elementleri) spesifik primerler kullanılarak PCR uygulanmasını içerir. PCR ile bu tekrarlayan bölgeler amplifiye edilir, ürünler jel elektroforez yöntemiyle boyutlarına göre sıralanır ve bantlar görüntülenir. Farklı mikroorganizmaların veya aynı türün farklı suşlarının DNA bant desenleri karşılaştırılarak genetik çeşitlilik ve ilişkiler analiz edilir. REP-PCR, hızlı ve ekonomik olması nedeniyle özellikle mikrobiyolojik tanımlama ve epidemiyolojik çalışmalarda tercih edilir (96).

2.3.2.4.4. MLST (Multilokus Sekans Analizi)

MLST (Multilocus Sequence Typing), mikroorganizmalar arasındaki genetik farklılıkları belirlemek, epidemiyolojik izleme ve bakteriyel türlerin filogenetik analizi için kullanılan önemli bir moleküler tekniktir. Bu teknikte hedef olarak 6-8 adet housekeeping gen bölgesi seçilir. Seçilen lokuslar genellikle evrimsel bir zaman ölçeğinde çok yavaş evrimleşen ev sahibi genlerdir. Bu genlerin her biri için PCR yapılarak spesifik DNA bölgeleri amplifiye edilir. Amplifiye edilen bölgelere dizileme yapılır. Elde edilen dizilimler, her bir gen için önceden tanımlanmış alellerle karşılaştırılır. Bu karşılaştırma, izolatın her bir gen için belirli bir alel

numarasına sahip olmasını sağlar. Her gen için belirlenen alel numaraları bir araya getirilerek, mikroorganizmanın alel profili oluşturulur. Bu profil, izolatın Sequence Type'ını (ST) tanımlar ve veritabanlarındaki diğer izolatlarla karşılaştırılır (97,98). Genetik farklılıkları yüksek hassasiyette ortaya koyması, laboratuvarlar arası tekrarlanabilirlik ve güvenilirliğinin yüksek olması, veritabanları aracılığıyla global olarak karşılaştırma yapılabilmesi, uzun dönem evrimsel değişikliklerin takip edilebilmesi için avantajlara sahiptir. Ayrıca pahalı ve zaman alıcı olması, teknik uzmanlık gereksinimi, verilerin yorumlanmasının zorluğu gibi dezavantajları da mevcuttur (99).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez çalışması Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Tıpta Uzmanlık Projesi - Proje No: 2023-007). Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 17.10.2022 tarihinde etik kurul onayı alınmıştır.

3.1. İZOLATLARIN ELDE EDİLMESİ

Çalışmaya, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2020 – Ocak 2022 tarihleri arasında yoğun bakım servislerinde yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen ve stok kültür koleksiyonunda yer alan 80 *A. baumannii* suşu dahil edildi. Aynı hastadan birden fazla örnek olması durumunda ilk izole edilen örnek çalışmaya dahil edildi, tekrarlayan izolatlar çıkarıldı.

3.2. İZOLATLARIN TANIMLANMASI

Laboratuvara gönderilen kan kültürü şişeleri otomatize kan kültürü cihazına yerleştirildikten sonra pozitif sinyal veren örneklerden mikroskopik inceleme için Gram boya preparatları hazırlandı. Ardından %5 koyun kanlı agar (RTA, Türkiye), çikolatalı agar (RTA, Türkiye) ve EMB (Eosin Methylene Blue Agar) (RTA, Türkiye) agar besiyerlerine ekildi ve 37°C'de en az 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası değerlendirmede karakteristik koloni morfolojisine sahip kolonilerden konvansiyonel yöntemlerle (oksidaz, katalaz, gram boyama) ve MALDI-TOF MS (Matriks Destekli Lazer Dezorpsiyon İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi, Bruker Daltonics, Almanya) kullanılarak tanımlama yapıldı. Tanımlanmış ve saflaştırılmış izolatlar -80°C de gliserollü brain heart besiyerinde stoklandı. İzolatlar çalışma için triptik soy agara pasajlandı. Üreyen izolatların tamamına tekrar MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Almanya) kullanılarak tanımlama yapıldı. İzolatlar *Acinetobacter baumannii* olarak tür düzeyinde tanımlandı.

3.3. ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

İzolatların antibiyotik duyarlılıkları VITEK®2 (bio-Merieux, Fransa) otomatize sistem ile belirlendi. Antibiyotik duyarlılık sonuçları Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi [The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)] kriterlerine göre değerlendirildi. EUCAST kriterlerine göre çalışma izolatlarının tamamı karbapenemlere dirençli bulundu. Stoktan triptik soy agara pasajlanarak subkültürü yapılan

suşlar meropenem eklenmiş Mueller Hinton besiyerine pasajlandı. Çalışmaya dahil edilen izolatların tamamı meropenem eklenmiş besiyerinde üreme gösterdi. Karbapenem duyarlı olduğu bilinen kontrol suşu, meropenem eklenmiş besiyerinde üreme göstermedi.

İzolatların tamamına sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile meropenem için antibiyotik duyarlılığı çalışıldı. Mueller Hinton sıvı besiyeri (katyon ayarlı) ve meropenem ile hazırlanan U tabanlı mikropklara, *A.baumannii* süspansiyonlarından inokule edildi. İnokülasyon sonunda her kuyucuktaki bakteri son konsantrasyonu 5×10^5 cfu /mL olacak şekilde ayarlandı. Her mikroplağa *K. pneumoniae* ATCC 1705 ve *E. faecalis* ATCC 29212 kalite kontrol suşları dahil edildi. İnoküle edilmiş mikrodilüsyon plakları 35°C'de 16-20 saat süre ile aerop koşullarda etüvde inkübe edildi. İnkübasyon sonrası üremeler değerlendirildi ve elde edilen minimum inhibitör konsantrasyon değerleri EUCAST v14.0 Klinik Sınır Değerler Tablosu'na göre değerlendirildi.

3.4. DİRENÇ GENLERİNİN PCR İLE ARAŞTIRILMASI

3.4.1. PCR için DNA ekstraksiyonu

Polimeraz Zincir Reaksiyonu için kullanılacak kalıp DNA'nın elde edilmesi için DNA4PCR (RTechMed®, Türkiye) DNA ekstraksiyon kiti kullanıldı. Özetle; suşlar triptik soy sıvı besiyerinde 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda elde edilen 1 ml bakteri süspansiyonu 12.000 g'de 3 dakika santrifüj edilerek pellet elde edildi. Pellete 100 µl kit solüsyonu pipetlenerek vortekslendi. Devamında ısı bloğunda 56 °C ısıda 30 dakika inkübe edilip vorteks yapıldıktan sonra 100 °C ısıda 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon tamamlandıktan sonra 12.000 g'de 3 dakika santrifüj yapıldı ve üst faz PCR çalışmalarında kalıp DNA olarak kullanıldı. DNA çalışmaları arasında hemen kullanılmayacak ise -20 °C derin dondurucu saklandı.

3.4.2. PCR ile karbapenem direnç genlerinin tespiti

Çalışmamızda karbapenem direnç genlerinin (*bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-24}*, *bla_{OXA-51}*, *bla_{NDM}*, *bla_{OXA-58}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM}*) varlığı, dirençten sorumlu olduğu bilinen gen bölgelerini hedef alan primerlerin kullanıldığı polimeraz zincir reaksiyonları ile araştırıldı. Araştırılan direnç genlerini içerdiği bilinen kontrol suşları çalışmaya dahil edildi. Karbapenem direnç genlerinin varlığını tespit edebilmek için her biri ayrı reaksiyonlar olacak şekilde polimeraz

zincir reaksiyonları gerçekleştirildi. Hedeflenen bölgeye özgül kullanılan primerlerin dizilimi ve reaksiyon sonucu beklenen bant büyüklükleri Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2: Çalışmada kullanılan primerler

<i>Gen</i>	Primer	Dizilim (5’-3’)	Bant büyüklüğü	Referans
<i>OXA-23</i>	OXA23-F	GAT CGG ATT GGA GAA CCA GA	501 bp	(100)
	OXA24-R	ATT TCT GAC CGC ATT TCC AT		
<i>OXA-24</i>	OXA24-F	GGT TAG TTG GCC CCC TTA AA	246 bp	(100)
	OXA24-R	AGT TGA GCG AAA AGG GGA TT		
<i>OXA-51</i>	OXA51-F	TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG	353 bp	(100)
	OXA51-R	TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG		
<i>OXA-58</i>	OXA58-F	AAG TAT TGG GGC TTG TGC TG	599 bp	(100)
	OXA58-R	CCC CTC TGC GCT CTA CAT AC		
<i>IMP</i>	IMP-F	GGA ATA GAG TGG CTT AAY TCT	188 bp	(101)
	IMP-R	CCA AAC YAC TAS GTT ATC T		
<i>NDM</i>	NDM-F	GGT CGC GAA GCT GAG CAC CGC AT	782 bp	(102)
	NDM-R	GCA GCT TGT CGG CCA TGC GGG C		
<i>VIM</i>	VIM-F	AAG TCC GTT AGC CCA TTC CG	778 bp	Bu çalışma
	VIM-R	AAA GTC CCG CTC CAA CGA TT		

Amplifikasyonlarda kullanılan her bir reaksiyon karışımı, örnek başına toplam hacim 50 µl olacak şekilde hazırlandı. 0,2 ml’lik PCR tüpü içerisinde reaksiyon gerçekleştirildi.

- OXA tipi karbapenem direnç genleri için PCR amplifikasyonları; 2 µl toplam DNA, 1 X PCR tamponu, 2,5 mM MgCl₂, her bir deoksinükleotit trifosfattan (dNTP) 0.2 mM, her primerden 20 pmol ve 0.15 U Taq DNA polimeraz (5 U/µl) (WizPure™) içeren 50 µl reaksiyon karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon protokolü 94°C’de beş dakika başlangıç denatürasyonu ve 94°C’de 30 saniye, 55°C’de 30 saniye ve 72°C’de 60 saniyeden oluşan 36 döngü ve 72°C’de sekiz dakika son uzama olacak şekilde uygulandı.
- VIM ve IMP direnç genleri için PCR amplifikasyonları; 2 µl toplam DNA, 1 X PCR tamponu, 2,5 mM MgCl₂, her bir deoksinükleotit trifosfattan (dNTP) 0.2 mM, her primerden 10 pmol ve 0.15 U Taq DNA polimeraz (5U/µl) (WizPure™) içeren 50 µl reaksiyon karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon protokolü 94°C’de beş dakika başlangıç denatürasyonu ve 94°C’de 30 saniye, 55°C’de 40 saniye ve 72°C’de 50 saniyeden oluşan 36 döngü ve 72°C’de beş dakika son uzama olacak şekilde uygulandı (101).

- NDM direnç geni için PCR amplifikasyonları ; 2 µl toplam DNA, 1 X PCR tamponu, 2.5 mM MgCl₂, her bir deoksiniükleotit trifosattan (dNTP) 0,2 mM, her primerden 50 pmol ve 0,15 U Taq DNA polimeraz (5U/µl) (WizPure™) içeren 50 µl reaksiyon karışımında gerçekleştirildi. Amplifikasyon protokolü 94°C'de üç dakika başlangıç denatürasyonu ve 95°C'de 30 saniye, 55°C'de 30 saniye ve 72°C'de 60 saniyeden oluşan 36 döngü ve 72°C'de beş dakika son uzama olacak şekilde uygulandı.

3.5. PCR SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

PCR sonuçlarının değerlendirilmesi için 100 ml 0.5 X Tris/Borate/EDTA (TBE) tamponu içerisinde 1 gr agaroz mikrodalga fırında çözdürülerek %1'lik agaroz jel hazırlandı. Sonrasında 5 µl görüntüleme boyası Gel Safer (A.B.T.™) eklendi. Elektroforez tankına yerleştirilen jel üzerine üzerine kaplayacak şekilde 0.5 X TBE tamponu eklendi. Amplifikasyon ürününden 8µl, 6X Loading Buffer'dan (A.B.T.™) 2 µl alınarak karıştırıldı ve jel üzerindeki kuyucuklara 10 µl yükleme yapıldı. İlk kuyucuğa 5 µl DNA büyüklük belirteci (DNA ladder, GENESTA™) yüklendi. Ürünler 45 dk boyunca 85 V elektrik akımında yürütüldü. Elektroforez sonrası Gel Doc EZ Imager görüntüleme sistemi (Bio-Rad, ABD) ile UV ışık altında görüntüledi ve Tablo 1'de gösterilen ampikon uzunluklarına göre değerlendirildi. Her bir PCR reaksiyonunda çalışmaya dahil edilen pozitif izolatta beklenen uzunlukta bant olmasına dikkat edildi. DNA belirteci ve pozitif kontrolde oluşan bant referans alınarak beklenen uzunlukta bant oluşturan izolatlar pozitif kabul edildi. PCR sonrası elde edilen ampikonların sekansı ticari firma (EYS Medikal, İstanbul) aracılığıyla ABI 3500 Genetik Analizör (8 kapilerli) sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. Sekans sonuçları FinchTV programı ile değerlendirildi ve NCBI (National Center for Biotechnology Information) Nucleotide BlastN aracılığıyla NCBI veri sisteminde sonuçlar tarandı. Her reaksiyona dahil edilen negatif kontrolde bant olmamasına dikkat edildi.

3.6. KLONAL İLİŞKİNİN AP-PCR İLE ARAŞTIRILMASI

AP-PCR yönteminde 5'-GAGGGTGGCGTTCT-3' dizisine sahip M13 primeri (103) kullanıldı. PCR reaksiyonunda 2 µl örnek DNA'sı ve 48 µl ; 1X PCR tamponu, 0,2 mM dNTP (deoksiribonükleotid trifosfat) karışımı, 4 mM Mg⁺², 50 pmol primer, 2,5 U TaqDNA polimeraz ve DNaz-RNaz içermeyen sudan oluşan PCR karışımı kullanıldı. Amplifikasyon koşulları; başlangıç denaturasyonu için 94°C'de 5 dakika, primer bağlanması için 38°C'de 5 dakika,

sentez için 72°C'de 5 dakika olacak şekilde 2 döngü ve başlangıç denaturasyonu için 94°C'de 1 dakika, primer bağlanması için 40°C'de 1 dakika, sentez için 72 °C'de 2 dakikadan oluşan 40 döngü olacak şekilde T100 Thermal Cycler (Bio-Rad, ABD) cihazında gerçekleştirildi. Amplifikasyon ürünleri 0.5 X TBE tamponu ile %1,5 oranında hazırlanmış ve Gel Safer (A.B.T.TM) görüntüleme boyası eklenmiş agaroz jele yüklendi. İlk kuyucuğa 5 µl DNA ladder (GENESTATM) yüklendi. Elektroforez işlemi 75 V akımla 2 saat, 57 V akımla 1 saat olacak şekilde uygulandıktan sonra jel, Gel Doc EZ Imager görüntüleme sistemi (Bio-Rad, ABD) ile UV ışık altında görüntülendi.

3.7. AP-PCR SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmamızda M13 primeri kullanarak gerçekleştirdiğimiz AP-PCR sonucu elde ettiğimiz bant profilleri hem görsel olarak hem de GelJ manual v.2.0 programını kullanarak analiz edildi. Analiz sırasında benzerlik hesaplanmalarının yapılmasında Dice benzerlik metodu kullanıldı. Kümeleşme analizi için UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean-Aritmetik Ortalama ile Ağırlıksız Çift Grup Yöntemi) metodu tercih edildi. Benzerlik analizinde Dice metodu için tolerans %3 olarak belirlendi (bant pozisyonunda yüzde 3'lik bir tolerans uygulandı) ve benzerlik sınırı (cut off) %90 olarak belirlendi. İzolatların benzerlik katsayıları karşılaştırıldı ve birbirleriyle %90'ın üzerinde benzerlik gösteren suşlar aynı klonda kabul edildi. Benzerlik oranları %90'ın altında olan suşlar ise diğerlerinden farklı olarak değerlendirildi.

3.8. MLST ANALİZİ

AP-PCR sonuçlarına göre baskın olan klondan bir izolat (187 numaralı) seçilerek bu izolatın MLST yöntemi ile Sequnce Type (ST)'ı belirlendi. MLST analizi için öncesinde ticari firma (Refgen Biyoteknoloji, Ankara) aracılığı ile kütüphane hazırlığı ve WGS (Tüm Genom Dizileme) yapıldı. Elde edilen WGS sonucu ile bakterinin MLST tipini bulmak için PubMLST veritabanı kullanıldı (104). *cpn60*, *gltA*, *recA*, *fusA*, *pyrG*, *rplB* ve *rpoB* housekeeping genlerini içeren Pasteur MLST şeması sonuçları değerlendirildi.

3.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin analizi, gözlemlenen frekansların yüzde olarak ifade edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Ayrıca istatistiksel analizler SPSS versiyon 25 (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı. Kategorik gruplar

arasındaki yaygınlığı karşılaştırmak ve bunların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirlemek için için Fisher's exact testi ve Chi-kare testi uygulanmıştır. $P < 0.05$ değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farkı gösterdiği kabul edildi.

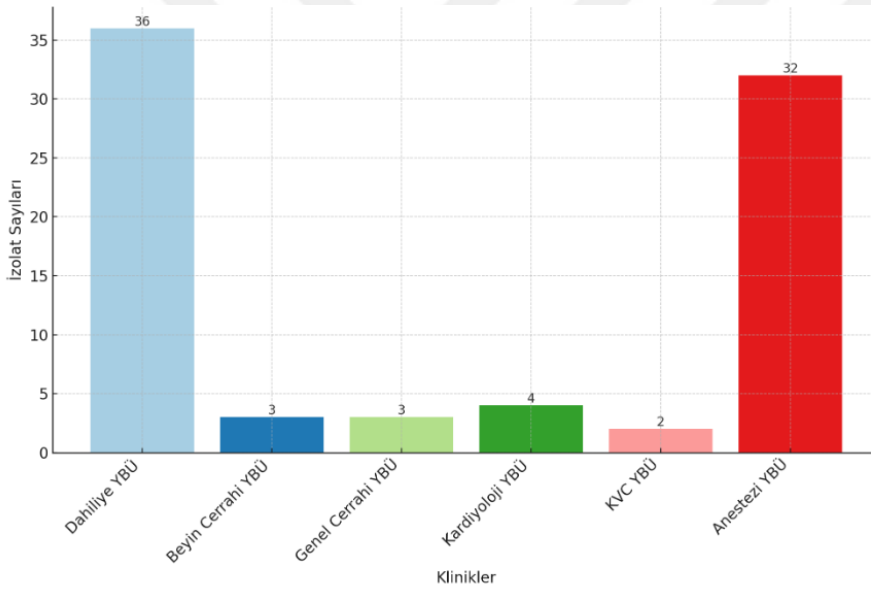


4. BULGULAR

4.1. HASTALARA ve İZOLATLARA AİT ÖZELLİKLER

Çalışmaya dahil edilen 80 *A.baumannii* izolatının izole edildiği hastaların cinsiyet dağılımına bakıldığında 47'sinin erkek, 33'ünün kadın hasta olduğu görüldü. Yaş aralığı incelendiğinde hastalar 20-91 yaş aralığındaydı. Hastaların 52'sinin 65 yaş ve üzerinde, 28'inin 65 yaş altında olduğu görüldü.

A.baumannii izolatlarının elde edildiği kan kültürlerinin YBÜ'lerine göre dağılımı incelendiğinde ; 36 izolatın dahiliye YBÜ'den, üç izolatın genel cerrahi YBÜ'den, üç izolatın beyin cerrahi yoğun YBÜ'den, 32 izolatın anestezi YBÜ'den, dört izolatın kardiyoloji YBÜ'nden, iki izolatın KVC YBÜ'nden gönderildiği görüldü. (Şekil 4)



Şekil 4. Klinik örneklerin YBÜ'lere göre dağılımı
YBÜ:Yoğun Bakım Ünitesi, KVC:Kardiyovasküler Cerrahi

4.2. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TEST SONUÇLARI

Çalışmamızda kullanılan *A. baumannii* izolatlarının VITEK®2 (bio-Merieux, Fransa) otomatize sistem ile yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre izolatların tamamının (80/80, %100) karbapenemlere dirençli olduğu görülmüştür. Piperasilin-tazobaktam, siprofloksasin, levofloksasin, seftazidim için antibiyotik duyarlılık sonuçları değerlendirildiğinde izolatlarının tamamının (80/80, %100) bu antibiyotikler için de dirençli

olduğu bulunmuştur. Amikasin için 8 izolat standart dozda duyarlı, 3 izolat artmış dozda duyarlı 69 izolat dirençli bulunurken gentamisin için dirençli izolatların sayısı 77 dir. Tigesikline ise 36 izolat standart dozda duyarlı, 41 izolat artmış dozda duyarlı bulunmuştur. Çalışmaya alınan izolatların antibiyotik duyarlılık sonuçları, Tablo 3’te gösterildi.

Tablo 3: İzolatların VITEK®2 Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları

Antibiyotikler	Duyarlı (Standart dozda)	Duyarlı (Artmış dozda)	Dirençli
Karbapenemler (İmipenem- Meropenem)	0		80 (%100)
Piperasilin- Tazobaktam	0		80 (%100)
Seftazidim	0		80 (%100)
Amikasin	8	3	69
Gentamisin	1	2	77
Tobramisin	3		77
Siprofloksasin	0		80(%100)
Levofloksasin	0		80 (%100)
Tigesiklin	36	41	-
TMP-SXT	8		72/80

TMP-SXT: Trimetoprim/sülfametoksazol

Çalışmaya dahil edilen *A. baumannii* izolatlarının tamamının meropenem duyarlılığı sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile çalışıldı. Meropenem MİK değerleri 2-128 µg/ml arasında değerlendirildi.

EUCAST sınır değerlerine göre *A. baumannii* için meropenem MİK değerleri $S \leq 2$ µg/L ve $R > 8$ µg/L şeklindedir. Sıvı mikrodilüsyon antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre bütün izolatların MİK değeri sınır değer 8 µg/L in üzerinde bulunmuştur. 4 izolatın MİK değeri 32 µg/L, 8 izolatın MİK değeri 64 µg/L, 29 izolatın MİK değeri 128 µg/L, 39 izolatın MİK değeri >128 µg/L idi. MİK değerlerinin dağılımı Tablo 4’ de verilmiştir.

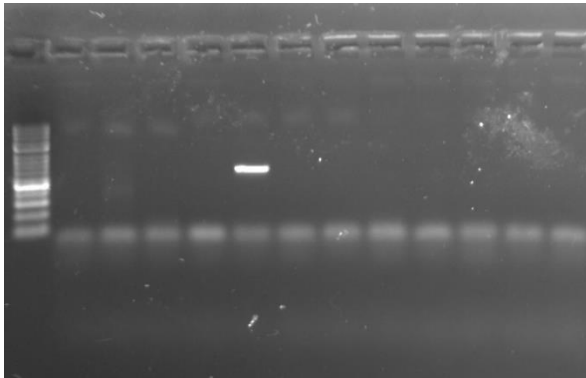
Tablo 4: Sıvı Mikrodilüsyon ile İzolatlarda Saptanan Meropenem Minimum İnhibitör Konsantrasyon Değerlerinin Dağılımı

	Meropenem konsantrasyonu($\mu\text{g/ml}$)							
	2	4	8	16	32	64	128	>128
<i>A. Baumannii</i>	0	0	0	0	4	8	29	39

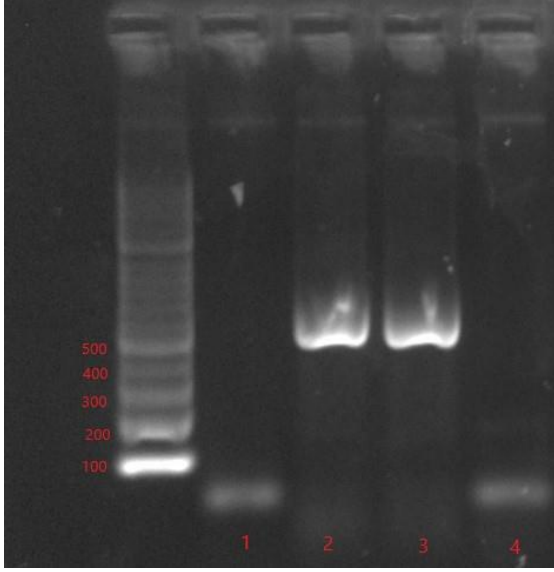
MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon
* Meropenem için MİK50 ve MİK90 değerleri *Acinetobacter baumannii* izolatlarında sırasıyla 128 ve >128 $\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmiştir.

4.3. DİRENÇ GENLERİ

Çalışmaya dahil edilen 80 *A. baumannii*'nin OXA tipi direnç genlerine bakıldığında bu türe intrensek olduğu bilinen OXA-51 geninin izolatların hepsinde pozitif olduğu görüldü. İzolatların 25'inde (%31) OXA-23 geninin pozitif olduğu, 56'sında (%70) OXA-24 geninin pozitif olduğu tespit edilmiştir. Çalışmadaki üç izolatın OXA-23 ve OXA-24 direnç genlerinin ikisine birden sahip olduğu bulunmuştur. İki izolatta ise OXA-23 ya da OXA-24 gen bölgesi saptanmamıştır. OXA-58 gen bölgesi izolatların hiçbirinde saptanmamıştır. Metallobetalaktamaz enzimlerinden sorumlu IMP, VIM, NDM direnç genleri izolatların hiçbirinde tespit edilmemiştir. Direnç genlerine ait jel görüntüleri Şekil 5, 6, 7, 8 ve 9 'da sunulmuştur. Direnç genleri ve izolatlar arasında görülme oranları Tablo 5' de gösterilmiştir.

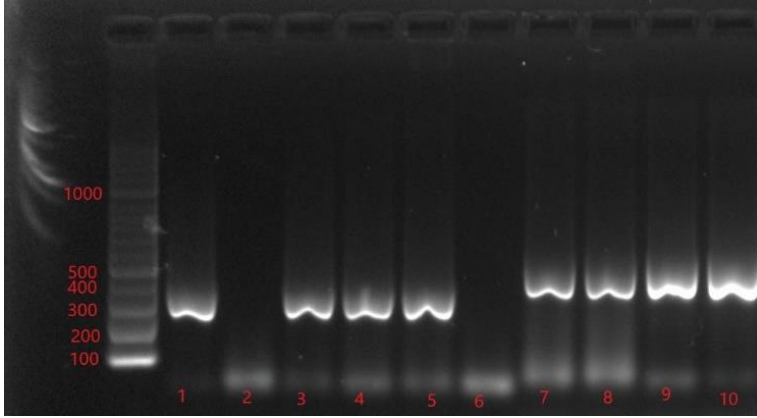


Şekil 5. OXA-58 direnç genin araştırılması
Bant pozitif kontrole aittir.



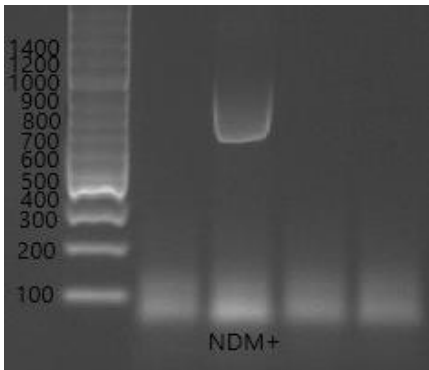
Şekil 6. OXA-23 direnç genin araştırılması

1 ve 4 numara: direnç geni negatif izolatları 2 ve 3 numara; direnç genş pozitif izolatlar



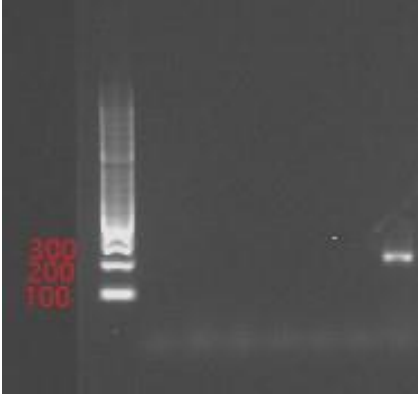
Şekil 7. OXA-24 ve OXA-51 direnç genlerinin araştırılması

1,3,4,5 numaralı izolatlar; OXA-24 direnç geni pozitif. 7,8,9,10 numaralı izolatlar; OXA-51 direnç geni pozitif



Şekil 8. NDM direnç genin araştırılması

Bant pozitif kontrole aittir.



Şekil 9. IMP direnç genin araştırılması
Bant pozitif kontrole aittir.

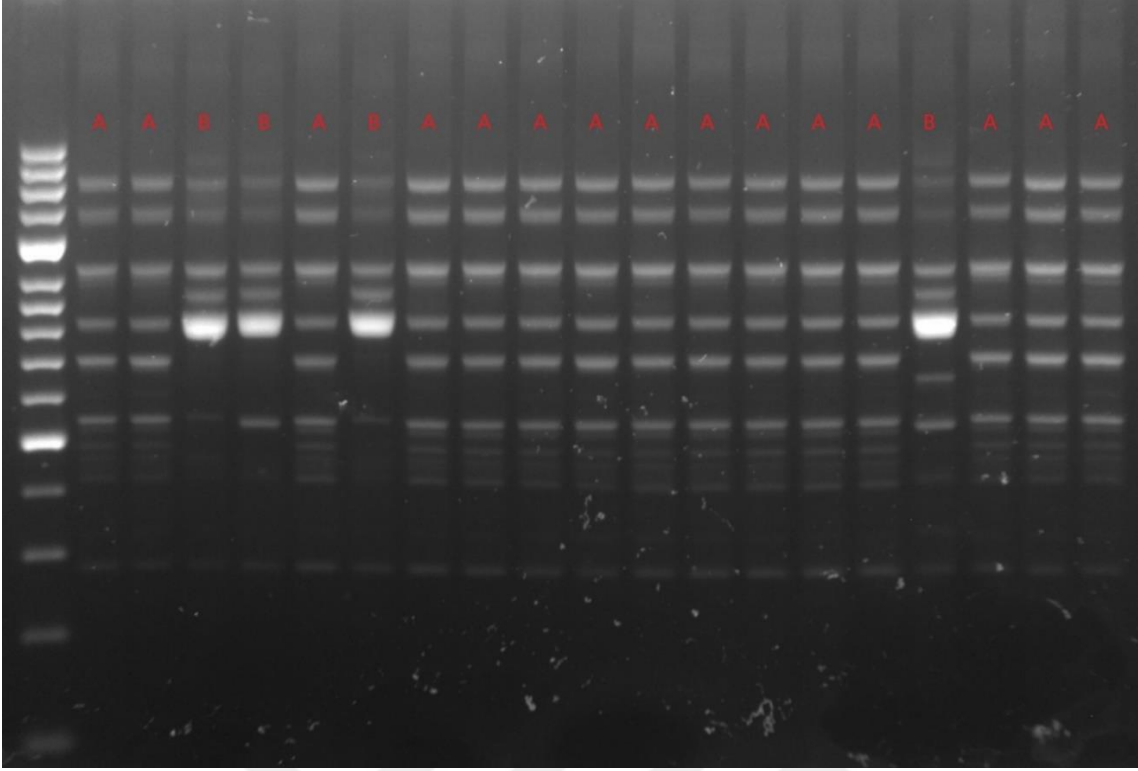
Tablo 5: Direnç genleri ve izolatlarda bulunma oranları

Direnç Genleri	Pozitif (%)	Negatif (%)
OXA-23	25 (%31,25)	55(%68,75)
OXA-24	56(%70)	24(%30)
OXA-51	100(%100)	0
OXA-58	0	0
IMP	0	0
VIM	0	0
NDM	0	0

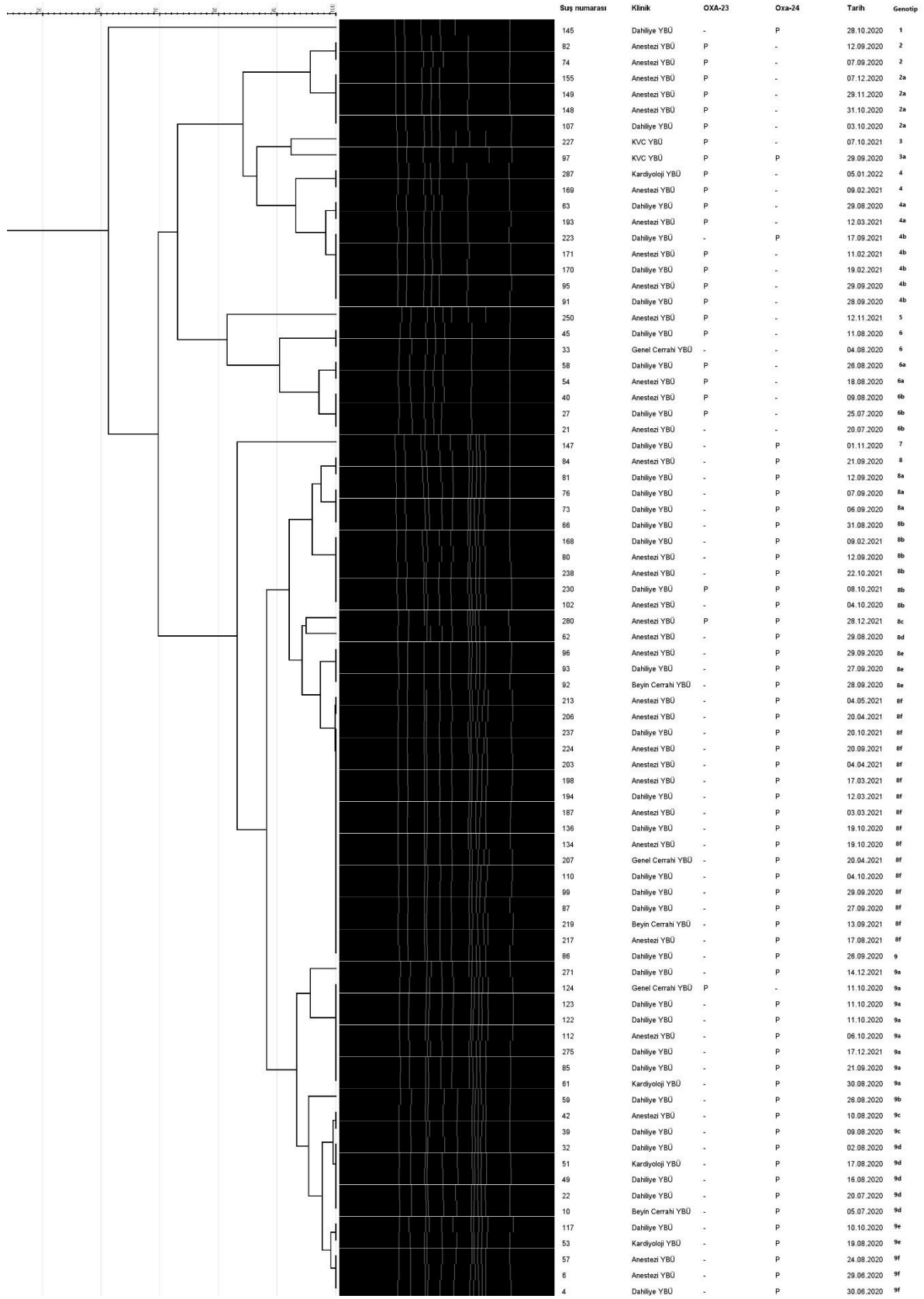
Her çalışmadaki direnç geni pozitif olan izolatlara ait ampliconlar dizi analizi ile direnç geni varlığı açısından doğrulandı. Her direnç geni (OXA23, OXA24 ve OXA51) için iki suş seçilerek ampliconların dizilemesi yapıldı. NCBI Nucleotide BlastN aracılığıyla NCBI veri sisteminde sonuçlar karşılaştırıldı. Pozitif izolatlara ait ampliconların sekans diziliminin, aranan gen bölgesi ile %100 uyumlu olduğu görüldü.

4.4. ARBITRARILY PRIMED POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (AP-PCR) SONUÇLARI

Toplam 80 *A.baumannii* izolatı çalışmaya dahil edildi. AP-PCR çalışmasına ait bantlar görsel olarak değerlendirildiğinde iki baskın klon olduğu görüldü. Bu klonlar Şekil 10'da A ve B klonu şeklinde gösterilmiştir. B klonu içerisinde birkaç bant farklılığı içeren subtipler olduğu görülmüştür. Görsel değerlendirmede A klonu 54 izolattan, B klonu 26 izolattan oluşmaktadır. Program bazlı değerlendirmede gel görüntülerinden GelJ v.2.3. programı kullanılarak dendogram oluşturuldu (Şekil 11). Dendogram benzerlik indeksi (cut off) %70 (tolerans 3.0.) baz alınarak değerlendirildiğinde, 2 klondan oluştuğu, yalnız bir izolatın bu klonlar dışında kaldığı görüldü. A klonu 54, B klonu 25 izolata sahipti. Benzerlik indeksi %90 (tolerans 3.0.) baz alınarak dendogram değerlendirildiğinde izolatlar arasında 9 farklı genotip tespit edilmiştir. Kümeleşme gösteren izolatlar 6 farklı küme içerisinde toplanmıştır. İzolatların 77'si herhangi bir küme içerisinde yer almakta olup kümeleşme oranı %96'dır. En büyük küme 32 izolatın yer aldığı genotip 8 kümesidir. Ardından 21 izolatın yer aldığı genotip 9 kümesi yer almaktadır. Bu iki kümenin oluşturduğu 53 izolat bir tanesi hariç OXA-24 gen bölgesi pozitif olan izolatlardır ve bahsedilen A klonunu oluşturmaktadırlar. Bu 53 izolattan iki tanesi OXA-23 ve OXA-24 gen bölgelerini birlikte taşımaktadır. Bir izolat ise OXA-23 gen bölgesi pozitifdir. İzolatların 25 tanesi ise 2,3,4,5,6 genotiplerindedir ve bu izolatlar birlikte B klonunu oluşturmaktadır. Bu izolatların ise 22 tanesi sadece OXA-23 pozitif, 1 izolat OXA-23 ve OXA-24 birlikte pozitif, 1 izolat sadece OXA-24 pozitifdir. Genotip 6 içinde yer alan iki izolatta ise OXA-23 ve/veya OXA-24 direnç genleri tespit edilmemiştir. Genotip 1 de ise OXA-24 direnç geni pozitif tek izolat yer almaktadır. AP-PCR çalışmasına ait jel elektroforez görüntülerinden biri Şekil 10'da sunulmaktadır.



Şekil 10. AP-PCR çalışmasına ait iki elektroforez görüntüsü, A ve B klonları
Sıra 1: Büyüklük belirteci (100-2000 baz çifti); Sıra 2-20: Çalışma izolatları



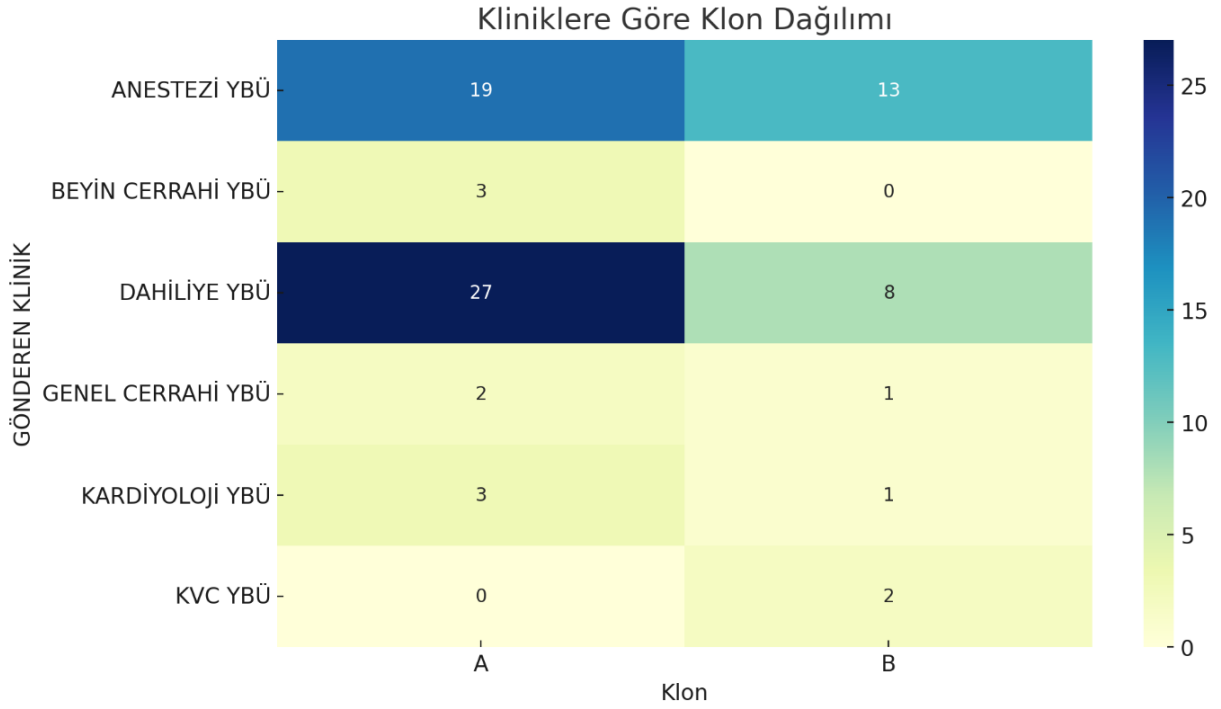
Şekil 11. AP-PCR çalışmasına ait dendrogram görüntüsü

Çalışma izolatlarının iki klondan oluştuğu tespit edildi. B klonu genotip 2, 3, 4, 5 ve 6'yı kapsarken A klonu genotip 7, 8 ve 9'u kapsamaktadır. Klonlar arasında direnç genlerinin varlığı açısından karşılaştırma yapıldı. OXA-23 direnç geni açısından karşılaştırıldığında B klonunun anlamlı bir şekilde OXA-23 direnç genine sahip olduğu görülmektedir ($p<0,05$). Her iki klon OXA-24 direnç geni açısından karşılaştırıldığında A klonunun anlamlı olarak OXA-24 direnç genine sahip olduğu görülmektedir ($p<0,05$). B klonunda bir izolat, A klonunda iki izolat her iki direnç genine sahiptir ve B klonunda iki izolatta ise bu direnç genlerine rastlanmamıştır. Klon, genotip ve direnç genlerine ilişkin veriler Tablo 7'de sunulmuştur.

Tablo 6: Klon, genotip ve direnç genleri

Klon	Genotip	Sadece OXA-23 Pozitif	Sadece OXA-24 Pozitif	Her iki direnç geni pozitif	Her iki direnç geni negatif
	1	0	1		
B	2	6	0		
	3	1	0	1	
	4	8	1		
	5	1	0		
	6	5	0		2
	A	7	0	1	
8		0	30	2	
9		1	20		

Klonların YBÜ'lere göre dağılımı incelendi. Şekil 12'de her bir YBÜ'de A ve B klonlarının dağılımı görsel olarak sunulmaktadır. Dağılıma bakıldığında en çok örneğin gönderildiği Anestezi YBÜ ve Dahiliye YBÜ'de A klonunun daha fazla olduğu görülmektedir. Dahiliye YBÜ'de Genotip A ve B'nin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Dahiliye YBÜ'de klon A baskın klondur. Anestezi YBÜ'de Genotip A ve B'nin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Daha az sayıda örneğin gönderildiği Beyin Cerrahi YBÜ'de sadece klon A tespit edilmişken, KVC YBÜ'de sadece klon B tespit edilmiştir.



Şekil 12. Kliniklere göre klon dağılımı (genotip 1 hariç)
Daha koyu renkler daha yüksek frekansları temsil ederken, daha açık renkler daha düşük frekansları ifade etmektedir.

4.5. MLST SONUÇLARI

Çalışmadaki baskın olan A klonundan alınan 187 numaralı suşun MLST tipi tüm genom kullanılarak PubMLST veritabanı aracılığıyla belirlendi. *cpn60*, *gltA*, *recA*, *fusA*, *pyrG*, *rplB* ve *rpoB* housekeeping genlerini içeren Pasteur MLST şemasına göre sekans tipi ST -78 olarak tespit edildi.

5. TARTIŞMA

Yaygın olarak suda, toprakta, havada ve diğer doğal ortamlarda bulunan, aerobik, fermenter olmayan, gram negatif, basil şeklinde bir bakteri olan *Acinetobacter baumannii* aynı zamanda sağlıklı bireylerin derisinde, konjonktivasında, ağız boşluğunda, solunum yollarında, gastrointestinal sisteminde ve genitoüriner sisteminde de kolonize olabilmektedir. *A. baumannii* çeşitli yüzeylerde kolonize olabilmekte ve güçlü adezyon gösterebilmektedir. Üstelik sadece kuru ve nemli koşullara değil aynı zamanda genel dezenfektanlara ve ultraviyole ışınlarına da dayanıklıdır. Bu özellikler *A. baumannii*'yi, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda sıklıkla bakteriyemi, yara enfeksiyonları, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, gastrointestinal sistem enfeksiyonları ve idrar yolu enfeksiyonları dahil olmak üzere fırsatçı hastane enfeksiyonlarına neden olan önemli bir patojen haline getirmektedir (38,105).

DSÖ, 2011 tarihli raporunda yüksek gelirli ülkelerde yoğun bakım hastalarının yaklaşık %30'unun en az bir sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyondan etkilendiğini tahmin etmektedir; bu durumun orta ve düşük gelirli ülkelerde görülme sıklığının en az iki ila üç kat daha yüksek olduğunu belirtmektedir. Fermentatif olmayan Gram negatif bakteriler sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonların önde gelen nedenidir; bunların arasında *A. baumannii*, özellikle yoğun bakım ünitelerinde hastane kökenli sepsisemi, pnömoni ve idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan fırsatçı bir patojendir. Özellikle, giderek artan sayıda karbapenem dirençli *A.baumannii* izolatının hastalardan izole edilmesi nedeniyle, bu enfeksiyonlarının prevalansı ve risk faktörleri önem arz etmektedir (106).

A. baumannii ventilatörle ilişkili pnömoni ve kan dolaşımı enfeksiyonları en sık görülenleri olmakla birlikte çeşitli hastane kaynaklı enfeksiyonlara sebep olmaktadır. *A. baumannii*'nin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonları ciddi bir sağlık tehdidi oluşturmaktadır ve hastane kaynaklı enfeksiyonları olan hastalarda yüksek mortalite ile ilişkilidir, dolayısıyla bu patojenin moleküler epidemiyolojisi ve antimikrobiyal direnç özelliklerinin acilen araştırılması gerekmektedir. *A.baumannii*'nin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonları ile ilişkili mortalitenin %45 gibi yüksek oranlara ulaştığı bildirilmiştir ve nozokomiyal enfeksiyon kontrolü açısından önemli bir endişe kaynağıdır (38,107). *A. baumannii*'nin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonlarına bağlı mortalite oldukça yüksektir.

Özellikle bağışıklığı zayıf olan hastalarda invaziv prosedürler ve aşırı antibiyotik kullanımı ilişkili risk faktörleridir (108).

Aşırı ve uygun olmayan endikasyonda antibiyotik kullanımı, çok ilaca dirençli, yaygın olarak ilaca dirençli ve tüm ilaçlara dirençli *A. baumannii*'nin neden olduğu küresel salgınlara yol açmıştır. Antimikrobiyallerin etkilerinden kaçabildiği için *A. baumannii*, Dünya Sağlık Örgütü'nün en tehlikeli patojenler olarak tanımladığı ESKAPE patojenlerindedir; diğer ESKAPE patojenleri arasında *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter spp.* yer almaktadır. Antimikrobiyal dirençteki bu artış acil küresel bir halk sağlığı durumuyla sonuçlanmıştır (109). *A. baumannii*'nin antibiyotik direncindeki artış klinik tedavide büyük engellere yol açmıştır. *A. baumannii* birçok antibiyotiğe karşı kayda değer bir direnç göstermektedir, bu da kombinasyon terapisini mevcut klinik tedavinin temel dayanağı haline getirmektedir. Bununla birlikte, CRAB enfeksiyonu olan hastalarda mortaliteyi önemli ölçüde azaltan veya klinik yanıtı belirgin artıran kombinasyon terapisi bulunmamaktadır. Yeni antibiyotikler geliştirilmesi ve hastalığın yayılmasının etkili bir şekilde yönetilmesi için *A. baumannii*'nin antibiyotik direncinin altında yatan mekanizmaları tam olarak anlamak önem arz etmektedir.(110). Karbapenemler, *A. baumannii* enfeksiyonları için son çare antibiyotikler olarak kullanılmaktaydı. Ancak zaman içinde gelişen karbapenem direnci ile “karbapenem dirençli *A. baumannii*” büyük bir problem haline gelmiştir ve ne yazık ki dünya genelinde yayılarak taramalar sırasında gözlemlenen pozitif oran, 2003'te %1'den 2008'de %58'e kadar yükselmiştir. Bu durum da bu patojenin da insan sağlığı için büyük bir tehdit oluşturduğunu göstermektedir (111).

Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi ve Dünya Sağlık Örgütü'nün 2023 yayınladığı ve 2021 yılına kadar olan verileri içeren “Avrupa'da Antimikrobiyal Direnç Sürveyansı” raporunda Türkiye'den 2021 yılında 64 laboratuvardan 3516 *A. baumannii* rapor edilmiştir ve bunların %83 yoğun bakım izolatlarından oluşmaktadır. İzolat sayısı ve direnç fenotipine sahip izolatların yüzdesine bakıldığında bu izolatlardan 3279'unun %93,3 oranında karbanem (imipenem/meropenem) direncine sahip olduğu ve bunun önceki yıllara göre anlamlı olarak artma trendinde olduğu paylaşılmıştır. 2019 yılında 2390 izolatın %90,4 karbapenem direncine sahip olduğu görülmektedir. Karbapenemlerin, aminoglikozidlerin ve florokinolonların kombinasyonlarından oluşan tedavilere direnç oranları ise 3089 izolat için %84.8 olarak bildirilmiştir (112).

A. baumannii'nin karbapenem direncinde çok çeşitli mekanizmaların rol oynadığı bilinmektedir ancak en sık görüleni ve dirençle en ilişkili olan mekanizma karbapenemaz üretimidir. Karbapenemazlardan OXA tipi (D sınıfı) olanlar en yaygın görülen sınıftır. Ayrıca MBL (B sınıfı) üretimi daha nadir görülmekte ancak belirgin karbapenem direncine neden olabilmektedir (55). Bu nedenle çalışmamızda karbapenem dirençli *A. Baumannii* izolatlarında MBL ve OXA direnç genlerinin varlığını araştırdık. Bu amaçla her biri direnç geni için PCR gerçekleştirilmiş ve pozitif bulunan izolatlardan iki tanesi seçilerek sekanslama yöntemi ile doğruluğu teyit edilmiştir. Çalışma izolatlarımızın hepsinde bu türe intrensek olduğu bilinen bu nedenle de türün tanımlanması için anahtar bir özellik olarak kullanılabilen OXA-51 gen bölgesinin varlığı tespit edilmiştir. İzolatların 25 (%31,25)'inde OXA-23 gen bölgesi, 56 (%70)'sında OXA-24 gen bölgesi pozitif olarak bulunmuştur. OXA-58 gen bölgesi hiçbir izolatta saptanmamıştır. MBL tipi enzimleri üreten VIM, NDM, IMP direnç gen bölgeleri hiçbir izolatta tespit edilmemiştir. Üç izolatta intrensek OXA51'in yanı sıra OXA23 ve OXA24 direnç genleri bir arada tespit edilmiştir. İki izolatta ise sadece OXA51 direnç geni pozitif bulunmuştur.

Boral ve ark.larının yaptığı bir meta analiz çalışmasında, Türkiye'de *Acinetobacter baumannii* izolatlarında karbapenem direnç genlerinin ve klonalitenin araştırıldığı çalışmaların incelenmesiyle 2006-2019 yılları arasında OXA-23, OXA-24 ve OXA-58 direnç genlerinin varlığı ortaya konulmuştur. İncelenen 17 çalışmada OXA-23 direnç geni; bir çalışma dışında bütün çalışmalarda tespit edilmiş, bulunma oranı %31 ile %100 arasında değişmiştir. Beş çalışmada %100 oranında OXA-23 direnç geni pozitif bulunmuştur. Diğer çalışmalardaki OXA-23 direnç genine sahip izolatların oranları %96, %94,2, %91,5, %89,9, %88, %74,4, %67, %63,6, %46,6, %35,1, %31 şeklindedir. OXA-24 sadece iki çalışmada %1 ve %4,5 oranlarında tespit edilmiş, diğer çalışmalarda tespit edilmemiştir. OXA-58 direnç geni 7 çalışmada hiçbir izolatta saptanmamışken diğer çalışmalarda %3 ile %79 arasında değişen oranlarda saptanmıştır. Ayrıca tüm bu çalışmalarda, *A. baumannii* kromozomunda bulunan, intrinsik oksasilinaz olarak da bilinen OXA-51 için %100 pozitiflik belirtilmiştir(113). Karabay ve ark.larının çalışmasında Haziran-2016 ile Haziran-2017 tarihleri arasındaki klinik örneklerden izole edilen 50 karbapenem dirençli *A. baumannii* suşunda OXA-51, OXA-58, OXA-23 ve OXA-24 genleri PCR yöntemiyle araştırılmıştır. İzolatların 50'sinde (%100) blaOXA-51 ve blaOXA-23 gen grubu tanımlanmıştır. İzolatların hiçbirinde OXA-58 gen grubuna rastlanmazken, 16'sında (%32) OXA-24 gen grubu pozitifliği belirlenmiştir (114).

Bizim çalışmamız Türkiye' de yaygın olarak bulunan OXA-23 direnç geni açısından diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Ancak Türkiye'de, araştırdığımız kadarıyla bizim

çalışmamızda tespit ettiğimiz kadar yüksek oranda OXA-24 direnç geni bildirimi yapılmamıştır. OXA58 direnç geni negatif bulunan çalışmalar mevcut olup (113), bu sonucumuz Türkiye verileri açısından uyumludur. Aynı şekilde *A. baumannii* izolatlarında tespit edilmesi beklenen intrensek OXA-51 direnç geni de bütün izolatlarda pozitif tespit edildi.

Global veriler açısından bakıldığında; Gu ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada, Çin'de 2009-2018 yılları arasında kan dolaşımını enfeksiyonlarına neden olan 47 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatı incelenmiş ve 32 izolatın OXA-23 direnç genine sahip olduğu bunların içinden bir izolatın ayrıca NDM-1 pozitif olduğu bildirilmiştir. Ayrıca 15 izolat OXA-24/40 ailesinden olan OXA-72 pozitif bulunmuştur (107). Bejarano ve ark.'ları Meksika'da bir hastanede çocuklarda karbapenem dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarının moleküler karakterizasyonunu tanımlamayı hedefleyen bir çalışmada 2017-2022 dönemindeki suşları incelemiştir. Beşi yenidoğanlarda olmak üzere altı karbapenem dirençli *A. baumannii* vakası belgelenmiştir. Altı suştan üçünün OXA-51, OXA-24 ve IMP karbapenemaz genlerini birlikte barındırdığı rapor edilmiştir. İki yenidoğan hastada mortalite bildirilmiştir. Bu çalışma, terapötik kararlar üzerinde doğrudan etkisi olan OXA-51, OXA-24 ve IMP-1'in yüksek oranda birlikte bulunduğunu göstermektedir (115). Dikkat çekici bir başka çalışma ise yine Bejarano ve ark.'ları Meksika'da üçüncü basamak bir merkezde 2017-2022 yılları arasında ardışık karbapenem dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarını incelemişlerdir ve 21 olgunun tamamının OXA-24 direnç açısından pozitif olduğunu bildirmişlerdir. İzolatların yarısında IMP ve OXA-24 direnç geninin birlikte taşındığını tespit etmişlerdir (116). Kuo ve ark.'ları Taiwan'da 2002-2010 arasındaki 555 CRAB izolatını çalışmalarına dahil etmişler ve 292 izolatta OXA-23 direnç varlığı, 59 izolatta ise OXA-24 direnç geni varlığını tespit etmişlerdir (117). İran'da, Abbasi ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada 84 CRAB izolatının 69'u (%82,1) OXA-23, 46'sı(%54,7) OXA-24 direnç geni pozitif belirlenmiştir (118). İran'da Ghasemi ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada, Nisan 2018 ile Mart 2019 tarihleri arasında toplamda 133 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatı izole edilmiştir. OXA-23 ve OXA-24 direnç genleri prevalansı sırasıyla 89 (%66,9) ve 46 (%34,6) bulunmuştur. Ayrıca OXA-23 ve OXA-24 direnç genlerinin birlikte görülme oranı 10 (%7,5) bulunmuştur (119). Amerika Birleşik Devletleri'nde karbapenem dirençli *A. baumannii* sürveyansını yürüten Antimikrobiyal Direnç Laboratuvar Ağı, 2017–2020 boyunca 45 eyaletten 6.026 CRAB izolatı toplamış ve izolatları karbapenemaz direnç genleri açısından test etmiştir. Hedeflenen sınıf D genleri için test edilen karbapenem dirençli *A. baumannii* 'lerin %83'ü (4.041'in 3.351'i) pozitif bulunmuştur. Tüm yıllar içerisinde toplam bla-OXA24/40 izolat sayısı 1.328 olarak tespit edilmiştir, 2017 yılından 2020 yılına

kadar pozitiflik giderek artmış ve 2020 yılı içinde test edilen 2084 izolatın 744'ünün OXA-24 direnç genine sahip olduğu bulunmuştur (120). Yusuf ve ark.'larının yaptığı dikkat çeken bir çalışmada; Mayıs 2015 ile Ağustos 2017 arasında Romanya'daki büyük bir üçüncü basamak merkezden 104 hastadan meropenem duyarlı olmayan *A. baumannii* izolatı toplanmıştır. İzolatların %79,1'inde OXA-24 geni, %20,9'unda ise OXA-23 geni tespit edilmiştir. Bir izolatta OXA-23 ve OXA-24 direnç genleri birlikte bulunmuş, OXA-58 ise hiçbir izolatta tespit edilmemiştir. Çalışmada core genom MLST yöntemiyle tiplendirdikleri OXA-24 taşıyan ST502 tipinin, izolatlarının elde edildiği merkeze endemik olabileceğini çünkü bütün izolatların çeşitli servislere kabul edilen farklı hastalardan çeşitli zamanlarda tek merkezden prospektif olarak toplandığını söylemişlerdir. Üniversite hastanesi nispeten geniş bir alan için sevk merkezi olarak hizmet verdiği için, bu ST tipinin Romanya'ya veya hastanenin bulunduğu Romanya bölgesine de endemik olabileceğini ancak bunun bir varsayım olduğunu da belirtmişlerdir. Diğer bir çok çalışmada OXA-24 benzeri enzim ailesinin, %60 amino asit homolojisini paylaşan OXA-23'ten daha az yaygın olduğu belirtilmiştir (121). Bir başka Balkan ülkesi olan ve Romanya'ya komşu olan Sırbistan'da Lukovic ve ark.'larının yaptığı prospektif, gözlemsel, çok merkezli çalışmaya Ocak-Haziran 2018 arasında Sırbistan genelinde hastanede yatan hastalardan elde edilen klinik numuneler dahil edilmiştir. Karbapenem dirençli 222 *A. baumannii* izolatı, edinilmiş karbapenemazların varlığı açısından PCR ile test edilmiştir. İzolatların 98'inde (%44,2) OXA-24 benzeri gen ve 76 izolatta (%34,5) OXA-23 benzeri gen bulunmuştur. İki izolatın aynı anda hem OXA-23 hem de OXA-24 genlerine sahip olduğu ancak test edilen popülasyonda OXA-58 benzeri ve OXA-143 benzeri genlerin tespit edilmediği belirtilmiştir. NDM, çalışmada tespit edilen tek MBL geni olmuştur ve 7 izolatta tespit edilmiştir. Ayrıca NDM pozitif *A. baumannii*'nin tümünün OXA-24 de pozitif olduğu bildirilmiştir (122). Bahreyn'de Al-Rashed ve ark.'larının yaptığı bir başka çalışmada dört büyük hastaneden toplanan 50 izolatın 41(%82)'inde OXA-23 tespit edilirken, 23 (%46) izolatta OXA-24, 7 izolatta ise OXA-40 tespit edilmiştir. Ayrıca OXA-58 hiçbir izolatta tespit edilmemiştir. (123).

Tüm bu çalışmalar göz önüne alındığında dünya genelinde OXA-40/24 ailesinin karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında tespit edildiği çok fazla çalışma olduğu görülmektedir. ABD ve özellikle Meksika' da OXA-24 pozitifliği belirgin gözlenmektedir (115,116,120). Yine Çin, Taiwan gibi Doğu Asya ülkelerinden de çok sayıda OXA24 bildirim yapılmıştır (107,117). İran' da bir çok çalışmada OXA-24 pozitifliği bildirilmiştir (118,119). Romanya'dan ve Bulgaristan'dan yakın zamanda bildirilen çalışmalarda bizim çalışmamızda

olduğu gibi OXA-24, OXA-23'e göre daha baskın rapor edilmiştir (121,122). Biz de hastanemiz 2020-2022 yılları arasındaki karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarını incelediğimiz bu çalışmamızda OXA-24 geninin OXA-23 genine göre daha fazla izolatta görüldüğünü tespit ettik. Araştırdığımız kadarıyla çalışmamız Türkiye'de OXA-24'n baskın tespit edildiği ilk çalışmadır. Araştırdığımız kadarıyla lkemizde OXA-24/40 üreten karbapenem dirençli *A. baumannii* ilk olarak 2012 tarihinde Sarı ve ark.'larının yaptığı çalışmada bir yoğun bakım örneğinden izole edilmiştir ve OXA-24/40 ailesinden OXA-72 direnç genine sahip olduğun bulunmuştur (124). Sonrasında daha az sayıda OXA-24 tespit edilen çalışmalar yayınlanmıştır (114,125,126). Ülkemizde az sayıda rapor edilmiş olsa da dünya genelinde özellikle ülkemize komşu sayılabilecek Bulgaristan ve Romanya gibi Balkan lkelerinde ve İnan gibi yakın sayılabilecek orta doğu ülkelerinde rapor edildiğini görmekteyiz. Ülkemiz açasından bu OXA-24 pozitifliğinin hastanemize endemik olabileceğini düşünebiliriz ancak bu düşüncenin bir varsayımdan ileri gitmesi için il ve ülke bazında çok sayıda moleküler epidemiyolojik çalışmaya ihtiyaç olduğu bir gerçektir.

Metallobetalaktamazlar açasından bakıldığında; *A.baumannii* karbapenem direncinde oksasilinazlar kadar yaygın görülmese de belirgin karbapenemaz üretimi nedeniyle MBL önemli bir enzim ailesidir. Bu nedenle çalışmamızdaki suşlarda VIM, IMP, NDM direnç genlerinin varlığını da araştırdık. Çalışmamızdaki suşların MBL enzimlerini üreten VIM, IMP, NDM direnç genleri açasından negatif olduğu tespit edilmiştir.

Telli ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında direnç genleri araştırılmıştır ve metallobetalaktamaz enzimler için araştırılan VIM, IMP, NDM direnç genleri hiç izolatta tespit edilmemiştir (127). iek ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada 101 klinik izolat karbapenemaz direnç genleri açasından incelenmiş ve VIM, NDM, IMP direnç genlerine rastlanmamıştır (126). Uluçam ve ark.'larının çalışmasında kan kültürü örneklerinden izole edilen 74 *A.baumannii* izolatında VIM, IMP, NDM direnç genleri tespit edilmemiştir (128). Türkiye'de 3 bölgeden 177 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatının dahil edildiği Gzalan ve ark.'larının yaptığı çalışmada karbapenem direnç genleri araştırılmış, IMP ve NDM direnç genine rastlanmazken 2 izolatta NDM direnç geni tespit edilmiştir (129).

İnan'da Abbasi ve ark.'larının yaptığı çalışmada ise 84 CRAB izolatının 78'nin MBL retimi yaptığı ve %60,7 oranında VIM, %33,3 oranında IMP direnç geni pozitif oldukları belirlenmiştir (118). Hindistan'da Girija ve ark.'larının yaptığı çalışmada 75 *A.baumannii* izolatından %34' VIM direnç geni pozitif bulunmuştur. IMP ve NDM direnç genlerine rastlanmamıştır (130). Dünya genelinde İnan gibi orta doğu ülkelerinden ve ilk NDM bildirinin

yapıldığı Hindistan'dan(131) daha sıklıkla MBL direnç genlerinin rapor edildiği görülmektedir. Çalışmamızın MBL direnç genlerinin sonuçları açısından, ülkemiz verilerine bakıldığında uyumlu olduğu görülmektedir.

Bulaşıcı hastalık salgınları genellikle etiyolojik ajanın ortak bir kaynağına maruz kalma sonucu ortaya çıkar. Genellikle, bir enfeksiyon salgınına neden olan etiyolojik ajan, kaynak organizmaya genetik olarak aynı veya yakın olan tek bir kaynaktan türetilir. Epidemiyolojik açıdan, salgında yer alan organizmalar klonal olarak ilişkilidir; yani, ortak bir kökenleri vardır. Subtiplendirmek veya suş sınıflandırmak, enfeksiyon salgınlarını tanıma, hastane kaynaklı patojenlerin çapraz bulaşmasını tespit etme, enfeksiyon kaynağını belirleme, özellikle virülan organizma suşlarını tanıma ve aşılama programlarını izleme açısından epidemiyolojik olarak önemlidir. Suş sınıflandırma veya subtiplendirme, birçok farklı yaklaşımla başarılmıştır. *Acinetobacter* türlerinin tiplendirmesi için kullanılan fenotipik yöntemler yeterli bulunmamakta, genotipik yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Genotipik yöntemler farklı paternlerin veya DNA parmak izinin ortaya çıkartılmasına dayanmaktadır (132).

Acinetobacter türüne bağlı salgınların epidemiyolojik araştırmasına yönelik genel kabul görmüş bir tiplendirme şeması bulunmamaktadır. Daha önceki birçok çalışmada, altın standart olarak kabul edilen PFGE'nin *Acinetobacter* suşlarının karakterizasyonunda en ayırt edici teknik olduğunu ileri sürülmüştür. Ancak bu tekniğin zahmetli ve zaman alıcı olması klinik laboratuvarlarda daha fazla kullanılmasını engellemektedir. *A.baumannii*'nin tiplendirilmesi için, evrensel primer M13 ile rastgele olarak hazırlanmış PCR, enterobakteriyel tekrarlayan intergenik konsensüs (ERIC) PCR ve tekrarlayan ekstragenik palindromik (REP) PCR dahil olmak üzere farklı PCR bazlı tiplendirme teknikleri uygulanmıştır (133). PFGE'nin ayırt edici gücünün tüm bu PCR yaklaşımlarından daha yüksek olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (133,134). Ayrıca Liu ve ark.'ları PFGE'nin salgın suşları arasındaki küçük mutasyonları diğer PCR yaklaşımlarından daha fazla tespit edebildiğini belirtmişlerdir. Buna karşılık Graser ve ark. *A. baumannii* için M13 primer ile AP-PCR gerçekleştirmiş ve bu PCR yaklaşımının ayırt edici gücünün PFGE'ninkine benzer olduğunu bulmuştur (135). Ucuz ve hızlı bir yöntem olan RAPD ve AP-PCR uygulamalarının koşullarının optimizasyonu ile ilgili yapılan bir çalışmada özellikle agaroz jelin ve elektroforez koşullarının optimize edilmesini gerekliliği vurgulanmıştır. Bununla birlikte PFGE tekniği, RAPD ve AP-PCR uygulamalarıyla karşılaştırıldığında zaman alıcı, maliyeti yüksek ve emek yoğun bir tekniktir. RAPD ve AP-PCR metodolojisinin basitliği, kullanılabilirliği, maliyetin düşük olması, zaman alıcı olmaması ve epidemiyolojik araştırmalarda rutin bir prosedür olarak kullanılma potansiyeli göz önüne

alındığında, bu tür optimizasyon çalışmalarının haklı, faydalı ve hatta vazgeçilmez olduğu görülmektedir. RAPD PCR güvenilir sonuçlar vermektedir ve uygun parametreler uygulanırsa yorumlanması nispeten kolay olmaktadır (136).

Simonovic ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada Haziran 2017 ile Ocak 2019 arasındaki dönemde Sırbistan'ın Belgrad Askeri Tıp Akademisi'nin farklı kliniklerden 194 izolat toplanmış ve bu izotların RAPD analizi, izolatların çoğunun yüksek düzeyde genomik benzerlik ve klonal dağılım gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. M13 primeri ile iki ana küme oluşturulmuştur. İzolatların çoğunun profil 1'de (86/194 veya %44,4) olduğu ve profil 1'in profil 2'den (77/194 veya %39,6) bir bantta farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca genetik profillerin küme analizi ve dendrogramların oluşturulması STATISTICA 10 yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. Bu analizde kümeleme için Ward yöntemi kullanıldığını ve mesafenin Öklid mesafelerinin karesinin kullanılarak hesaplandığını bildirmişlerdir (137).

A. baumannii izolatlarının genetik çeşitliliğinin RAPD PCR yöntemi ile araştırıldığı Khosravi ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada bant desenlerinin analizi için, Gel Compare II yazılımı kullanılmıştır. Homoloji derecelerinin belirlenmesi için Dice katsayısı kullanılmış ve RAPD jelleri için bir dendrogram oluşturulmuş ve kümelenme algoritmasının hesaplaması %80 benzerlik sınır (cut-off) değeri ile UPGMA (aritmetik ortalamalarla ağırlıksız çift grup yöntemi) kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada en yaygın izolatlar olarak yoğun bakım ünitesinden 62 *A. baumannii* suşu için RAPD tipleni yapılmıştır. Sonuç olarak 37 kümelenme bulunmuştur; bunlardan 32'si tekli ve tek bir izolat içeren küme iken ve 5'i çoklu küme şeklinde bulunmuştur. Böylece, yöntem toplamda 37 RAPD tipi üretmiştir, 62 *A. baumannii* izolatından 57'sinin %80 sınır(cut-off) değerinde büyük bir çeşitlilik gösterdiğini belirtmişlerdir (138). Karbapenem dirençli *A.baumannii* izolatlarında klonal ilişkinin irdelendiği bir başka çalışmada DAF4 primerinin kullanıldığı RAPD analizi, 106 *A. baumannii* izolatının A, B, C, D ve E dahil olmak üzere beş RAPD tipine ayrıldığını ortaya çıkarmıştır. *A. baumannii* suşlarının çoğunluğu 61 (%57,5) suş içeren RAPD tip C ve 28 (%26,4) suş içeren RAPD tip B olarak kümelendi. DNA bantlarının analizi, GelCompare II yazılımı kullanılarak UPGMA yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. İzolatların aynı genotipte kümelenebilmesi için %80'lik bir benzerlik sınırı(cut-off) dikkate alınmıştır (139).

Bahsedilen çalışmalarda ve daha birçok çalışmada klonal ilişkinin değerlendirilmesi amacıyla AP-PCR ve RAPD tekniğinin kullanıldığı görülmektedir. Çalışmamızda hızlı, pratik, uygun maliyetli olması ve ayırım gücünün görece iyi olması nedeniyle AP-PCR yöntemini tercih edildi. M13 primeri kullanarak gerçekleştirdiğimiz AP-PCR sonucu elde edilen bant görüntüleri

hem görsel olarak hem de GelJ manual v.2.0 programı kullanılarak analiz edildi. Bantlar görsel olarak değerlendirildiğinde iki baskın klon olduğu görüldü. Görsel olarak değerlendirildiğinde A klonunun 54 izolattan oluştuğu, B klonunun 26 izolattan oluştuğu belirlendi. GelJ programı ile bilgisayar tabanlı bir analiz yapıldı. Yapılan analiz sırasında Dice benzerlik metodu kullanıldı ve UPGMA ile kümeleme yapıldı. Benzerlik analizinde tolerans %3 seçildi (bant pozisyonunda yüzde 3'lik bir tolerans uygulandı) ve benzerlik sınırı (cut off) %90 olarak belirlendi. Edilen edilen dendogram benzerlik indeksi %70 alınarak değerlendirildiğinde 2 klondan oluştuğu ve bu klonlar dışında tek bir izolat olduğu görülmektedir. Benzerlik indeksi %90 baz alınarak değerlendirme yapıldığında; izolatların 9 farklı genotipte olduğu ve 6 farklı küme oluşturduğu tespit edilmiştir. Çalışma izolatlarının 53'ü 8 ve 9 genotipindedir ve bu izolatlar 2 farklı küme oluşturmaktadır. Bu 53 izolat bir tanesi hariç OXA-24 gen bölgesi pozitif olan izolatlardır ve genotip 7 olan tek izolatla birlikte bahsedilen iki klondan A klonunu oluşturmaktadırlar. Bu 54 izolattan iki tanesi OXA-23 ve OXA-24 gen bölgelerini birlikte taşımaktadır. Bir izolat ise sadece OXA-23 gen bölgesi pozitifdir. İzolatların 25 tanesi ise 2,3,4,5,6 genotiplerindedir ve bu izolatlar birlikte bahsedilen iki klondan B klonunu oluşturmaktadır. Bu izolatların ise 22 tanesi sadece OXA-23 pozitif, 1 izolat OXA-23 ve OXA-24 birlikte pozitif, 1 izolat sadece OXA-24 pozitifdir. Genotip 6 içinde yer alan iki izolatta ise OXA-23 ve/veya OXA-24 direnç geni tespit edilmemiştir. Bahsedilen bu direnç geni pozitif izolatların dağılımının, klonlar ile korelasyon gösterdiğini ve AP-PCR sonuçlarımızı destekler nitelikte olduğunu düşünmekteyiz. Görsel olarak da program aracılığı ile de tespit edilen 2 baskın klon olduğu ve 54 izolat içeren A klonunda (1 izolat hariç) bütün suşların OXA-24 pozitif olduğu, 25 izolat içeren B klonunda (3 izolat hariç) bütün suşların OXA-23 pozitif olduğu görülmektedir. Varılan bu sonuç ile, yoğun bakımlarımızda kan dolaşımı enfeksiyonuna neden olan karbapenem dirençli izolatların iki klondan köken aldığını, bu klonlardan birinin OXA-23 birinin OXA-24 direnç genine sahip olduğunu ve OXA-24 pozitif olan klonun baskın klon olduğunu söylemek mümkün olmaktadır.

İzolatların kaynaklandığı yoğun bakım servislerine bakacak olursak en çok örneğin gönderildiği Dahiliye YBÜ ve Anestezi YBÜ'de baskın olan klonun A klonu olduğu görülmektedir. Dahiliye YBÜ'de A klonunun B klonuna göre anlamlı şekilde fazla olduğu tespit edilmiştir. Örnek sayısı az olsa da Beyin Cerrahi YBÜ'den gönderilen örnekler arasında B klonu tespit edilmemiş olup 3 örnek A klonuna aittir. KVC YBÜ'den gönderilen örnekler arasında ise A klonu tespit edilmemiş olup 2 örnek B klonuna aittir. Diğer YBÜ'lerinde iki klona ait izolatlar bulunmaktadır. Bu klonların neredeyse bütün yoğun bakımlara yayıldığını görülmektedir. Özellikle hastane enfeksiyonlarını önleme ve kontrol stratejilerinin

değerlendirilmesi gerektiğini söylemek mümkündür. Ayrıca hastanedeki bu şekilde bir yayılım, özellikle örneklerin gönderildiği tarihler içerisinde mevcut olan COVID döneminde artan YBÜ ihtiyacı ve YBÜ'ler arası hasta nakilleri, personel ihtiyacı ve çok sayıda personelin çok çeşitli yoğun bakımlarda çalışmış olması gibi suşların taşınmasına imkan sağlayacak ortamların gelişmesi gibi nedenlere bağlanabilir.

Çalışmamızda, OXA-23 ve OXA-24 gen bölgesi pozitifliğinin yoğun olarak saptanması ve mevcut klonal benzerliğin ortaya konulması, bu ajanın yayılımının engellenmesine yönelik uygulanacak enfeksiyon kontrol programlarının belirlenmesinde önem arz etmektedir. Çalışmamız hastanelerin sürekli ve düzenli olarak kendi direnç gen profillerinin ve baskın klonlarının tespit edilmesinin ne kadar önemli olduğunu göstermiştir. Ayrıca enfeksiyon önleme ve kontrol stratejilerinin gerekliliğini de bir kez daha vurgulamıştır.

AP-PCR sonuçlarına göre baskın klon olarak tespit ettiğimiz OXA-24 direnç geni pozitif olan A klonundan bir örnek alınarak Multi Lokus Sekans Tipleme yapılmıştır. Sekans tipi ST78 olarak belirlenmiştir. Veritabanları aracılığıyla global olarak karşılaştırma yapılabilme imkanı sunan MLST ile belirlediğimiz ST78'in ülkemizde ve dünyada tespit edildiği çalışmalar incelendi. *A. baumannii* salgınlarının büyük çoğunluğu dünya çapında sınırlı sayıda suş tarafından meydana gelmekte olup, başlangıçta Avrupa klonları olarak adlandırılan ancak şu anda Uluslararası Klonal Hatlar (International clonal lineages -IC) I, II ve III olarak kabul edilen suşlara aittir. Yakın zamanda, Avrupa'dan yakından ilişkili ST15 ve ST84 genotipleri, Avrasya'dan ST25 genotipi ve birçok İtalyan hastanesinde izole edilen ST78 genotipi gibi ek *A. baumannii* genotipleri bazı bölgelerde epidemik klonlar olarak ortaya çıkmıştır (140). 2011'de Popolo ve ark.ları tarafından dört Akdeniz ülkesinde çok ilaca dirençli *A. baumannii* suşlarının MLST şemasıyla moleküler epidemiyolojik araştırması yapılmıştır. Yunanistan, İtalya, Lübnan ve Türkiye'deki 20 hastaneden 484 hastayı kapsayan 28 salgını temsil eden 35 *A.baumannii* suşu, MLST ile analiz edildi. ST78 İtalya-Cenova'dan gönderilen örneklerde ortaya çıkmıştır (141). Yunanistan, İtalya, Lübnan ve Türkiye'deki 21 hastaneden elde edilen 585 çok ilaca dirençli *A. baumannii* klinik izolatında gerçekleştirilen bir başka çalışmada izolatlar, 12 farklı sekans tipine (ST) ait bulunmuştur ve ST78 İtalya'dan gönderilen örneklerde tespit edilmiştir (142). İran'da, 2023 yılında yayınlanan bir çalışmada 70 *A.baumannii* izolatı analiz edilmiş baskın klon ST2 olsa ST78 de bildirilmiştir (143). Bu bulgular, *A. baumannii*'nin epidemik suşlarının sınırlı sayıda genotip tarafından yönlendirildiğini ve uluslararası seviyede bir tehdit oluşturduğunu vurgulamaktadır. Bahsedilen çalışmalar ST78 sekans tipiyle tanımlanan *A. baumannii*'nin, çeşitli ülkelerde ve özellikle İtalya'da epidemik bir klon olarak ortaya çıkışını belgelemektedir. Ayrıca, Yunanistan, İtalya,

Lübnan ve Türkiye'deki hastanelerden elde edilen çok sayıda izolatin incelenmesi, ST78'in Akdeniz bölgesindeki yayılımının yanı sıra İran'da da bildirilmesiyle, bu suşun bölgesel bir sorun olmanın ötesinde, daha geniş bir coğrafi dağılıma sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle ST78 genotipinin, farklı bölgelerde ve sağlık kurumlarında belirlenmesi, bu suşların yayılma potansiyelinin ve halk sağlığı üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılması için detaylı araştırmaların ve uluslararası iş birliğinin önemini ortaya koymaktadır.

Bu çalışma 2020-2022 yılları arasındaki karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarını değerlendirdiği için, baskın klondaki veya direnç genlerindeki değişim hakkında yorum yapılamamaktadır. OXA-24 pozitifliğinin uzun zamandır hastanede var olup olmadığı ya da ne zaman baskın klon haline geldiği ilgili bilgiler edinilememiştir.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. *A.baumannii* izolatlarının elde edildiği kan kültürlerinin YBÜ'lerine göre dağılımı incelendiğinde ; 36 izolatın dahiliye YBÜ'den, üç izolatın genel cerrahi YBÜ'den, üç izolatın beyin cerrahi yoğun YBÜ'den, 32 izolatın anestezi YBÜ'den, dört izolatın kardiyoloji YBÜ'nden, iki izolatın KVC YBÜ'nden gönderildiği görüldü.
2. Çalışmamıza dahil edilen *A. baumannii* izolatlarının VITEK®2 (bio-Merieux, Fransa) otomatize sistem ile yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre karbapenem, piperasilin-tazobaktam, siprofloksasin, levofloksasin, seftazidim için antibiyotik duyarlılık sonuçları değerlendirildiğinde izolatlarının tamamının (80/80, %100) bu antibiyotikler için dirençli olduğu görülmüştür.
3. Sıvı mikrodilüsyon antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre bütün izolatların MİK değeri sınır değer 8 µg/L in üzerinde bulunmuştur. 4 izolatın MİK değeri 32 µg/L, 8 izolatın MİK değeri 64 µg/L, 29 izolatın MİK değeri 128 µg/L, 39 izolatın MİK değeri >128 µg/L idi.
4. Çalışmaya dahil edilen 80 *A. baumannii*'nin OXA tipi direnç genlerine bakıldığında bu türe intrensek olduğu bilinen OXA-51 geninin izolatların hepsinde pozitif olduğu görüldü. İzolatların 25'inde (%31) OXA-23 geninin pozitif olduğu, 56'sında (%70) OXA-24 geninin pozitif olduğu tespit edilmiştir. OXA-58 gen bölgesi izolatların hiçbirinde saptanmamıştır. Metallobetalaktamaz enzimlerinden sorumlu IMP, VIM, NDM direnç genleri izolatların hiçbirinde tespit edilmemiştir.
5. AP-PCR çalışmasına ait bantlar görsel olarak değerlendirildiğinde iki baskın klon olduğu görüldü. A klonu 54 izolattan, B klonu 26 izolattan oluşmaktadır. Dendogram benzerlik indeksi (cut off) %70 (tolerans 3.0.) baz alınarak değerlendirildiğinde, 2 klondan oluştuğu, yalnız bir izolatın bu klonlar dışında kaldığı görüldü. A klonu 54, B klonu 25 izolata sahipti. Benzerlik indeksi %90 (tolerans 3.0.) baz alınarak dendogram değerlendirildiğinde izolatlar arasında 9 farklı genotip tespit edilmiştir. Kümeleşme gösteren izolatlar 6 farklı küme içerisinde toplanmıştır. İzolatların 77'si herhangi bir küme içerisinde yer almakta olup kümeleşme oranı %96'dır.
6. Klonlar arasında değerlendirme direnç genlerinin varlığı açısından karşılaştırma yapıldı. OXA-23 direnç geni açısından karşılaştırıldığında B klonunun anlamlı bir şekilde OXA-23 direnç genine sahip olduğu görülmektedir (p<0,05). Her iki klon OXA-24 direnç geni açısından karşılaştırıldığında A klonunun anlamlı olarak OXA-24 direnç genine sahip olduğu görülmektedir (p<0,05).

7. Dağılıma bakıldığında en çok örneğin gönderildiği Anestezi YBÜ ve Dahiliye YBÜ' de A klonunun daha fazla olduğu görülmektedir. Dahiliye YBÜ'de Genotip A ve B'nin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Dahiliye YBÜ' de klon A baskın klondur. Anestezi YBÜ'de Genotip A ve B'nin dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).
8. Çalışmadaki baskın olan A klonundan alınan 187 numaralı suşun MLST tipi tüm genom kullanılarak ST -78 olarak belirlendi. ST78 sekans tipiyle tanımlanan *A. baumannii*'nin, çeşitli ülkelerde ve özellikle İtalya'da ve akdeniz ülkelerinde epidemik bir klon olarak ortaya çıkışını belgelemektedir.
9. Çalışmada, yoğun bakım klinik örneklerinden izole edilen suşlarla yaptığımız epidemiyolojik tiplendirme bize yoğun bakımlardaki enfeksiyon önleme ve kontrol stratejilerinin gözden geçirilmesi gerektiğini göstermektedir.
10. Hastanemiz *A. baumannii* izolatlarının antibiyotik direnç profili ile ilgili geniş bir veri sağlanmıştır. *A. baumannii* gibi çok ilaca dirençli izolatların tanımlanması, direnç genlerinin belirlenmesi ve epidemiyolojisi ile ilgili çalışmaların yapılması, hastanelerde uygun enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınmasında, uygulanmasında ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde yardımcı olacaktır.
11. Hastanelerde akılcı antibiyotik kullanımı, dirençli mikroorganizmaların yayılmasını önlemede hayati bir rol oynamaktadır. Antibiyotiklerin gereksiz ve yanlış kullanımı, dirençli suşların ortaya çıkmasına ve yayılmasına yol açmaktadır. Bu durumu önlemek için, hastanelerde antibiyotik yönetim programlarının (antimicrobial stewardship programs) oluşturulması ve etkin bir şekilde uygulanması gerekmektedir.
12. Akılcı antibiyotik kullanımı, multidisipliner bir yaklaşım gerektirir ve bu sürecin başarısı, tüm sağlık personelinin ve hastane yönetimlerinin işbirliği içinde çalışmasıyla mümkün olabilir.
13. Yoğun bakım ünitelerinde enfeksiyon kontrol önlemlerinin artırılması hayati önem taşımaktadır. Personel eğitimlerinin düzenli aralıklarla tekrarlanması, el hijyeninin sağlanması ve sterilizasyon protokollerinin titizlikle uygulanması gerekmektedir. Bu önlemler, dirençli suşların yayılmasını engellemek için kritik rol oynamaktadır. Klonların yoğun bakımlara yayılmış olması, hastane içindeki bulaşma yollarının dikkatlice izlenmesi ve kontrol altına alınması gerektiğini göstermektedir.
14. Bu tür çalışmaların hastane enfeksiyonları ve olası salgınlar açısından büyük önemi bulunmaktadır. Hastaneler, düzenli olarak bu tür araştırmalar yapmalı ve elde edilen veriler doğrultusunda önleyici stratejiler geliştirmelidir. Ayrıca, enfeksiyon kontrol

önlemlerinin etkinliğini değerlendirmek için periyodik gözlem ve denetimlerin yapılması önem arz etmektedir.

15. *A. baumannii* gibi dirençli patojenlerin genetik ve moleküler özelliklerinin detaylı incelenmesi, direnç mekanizmalarının anlaşılmasına ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olabilir. Bu tür patojenlerin genomik analizlerini yaparak, direnç genlerinin dağılımını ve işlevlerini daha iyi anlamak fayda sağlayacaktır. Bu bilgiler, hem mevcut antibiyotiklerin etkin kullanımını optimize etmek hem de yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

16. Hastane enfeksiyonlarıyla mücadelede, klinik patojenlerin direnç profilleri ve klonal ilişkilerinin sürekli ve sistematik olarak incelenmesi, ulusal ve uluslararası alanda çalışmaların devam etmesi, kritik bir rol oynamaktadır.



KAYNAKLAR

1. Brady MF, Jamal Z, Pervin N. Acinetobacter [Internet]. StatPearls. 2023. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30906692>
2. Ramirez MS, Bonomo RA, Tolmasky ME. Carbapenemases: Transforming Acinetobacter baumannii into a Yet More Dangerous Menace. Biomolecules [Internet]. 2020 May 6;10(5):720. Available from: <https://www.mdpi.com/2218-273X/10/5/720>
3. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: Mechanisms and epidemiology. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2006;12(9):826–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01456.x>
4. Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. Clin Infect Dis [Internet]. 2019 Nov 13;69(Supplement_7):S521–8. Available from: https://academic.oup.com/cid/article/69/Supplement_7/S521/5624000
5. Nguyen M, Joshi SG. Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii, and their importance in hospital-acquired infections: a scientific review. J Appl Microbiol. 2021;131(6):2715–38.
6. Haak BW, Wiersinga WJ. Uncovering hidden antimicrobial resistance patterns within the hospital microbiome. Nat Med [Internet]. 2020 Jun 8;26(6):826–8. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41591-020-0919-z>
7. Regassa BT, Tosisa W, Eshetu D, Beyene D, Abdeta A, Assefa A, et al. Antimicrobial resistance profiles of bacterial isolates from clinical specimens referred to Ethiopian Public Health Institute: analysis of 5-year data. BMC Infect Dis [Internet]. 2023 Nov 15;23(1):798. Available from: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-023-08803-x>
8. Choudhuri A, Chakravarty M, Uppal R. Epidemiology and characteristics of nosocomial infections in critically ill patients in a tertiary care intensive care unit of Northern India. Saudi J Anaesth [Internet]. 2017;11(4):402. Available from: https://journals.lww.com/10.4103/sja.SJA_230_17
9. Zingg W, Holmes A, Dettenkofer M, Goetting T, Secci F, Clack L, et al. Hospital organisation, management, and structure for prevention of health-care-associated infection: a systematic review and expert consensus. Lancet Infect Dis [Internet]. 2015 Feb;15(2):212–24. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309914708540>
10. Abban MK, Ayerakwa EA, Mosi L, Isawumi A. The burden of hospital acquired infections and antimicrobial resistance. Heliyon [Internet]. 2023 Oct;9(10):e20561. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405844023077691>
11. Boev C, Kiss E. Hospital-Acquired Infections Current Trends and Prevention. Crit Care Nurs Clin North Am [Internet]. 2017 Mar;29(1):51–65. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S089958851630079X>

12. Erdem I, Yıldırım I, Safak B, Karaali R, Erdal B, Ardic E, et al. A 5-year surveillance of healthcare-associated infections in a university hospital: A retrospective analysis. *SAGE Open Med* [Internet]. 2022 Jan 19;10:205031212210917. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/20503121221091789>
13. Aslan AT, Tabah A, Köylü B, Kalem AK, Aksoy F, Erol Ç, et al. Epidemiology and risk factors of 28-day mortality of hospital-acquired bloodstream infection in Turkish intensive care units: a prospective observational cohort study. *J Antimicrob Chemother*. 2023;78(7):1757–68.
14. Beijerinck MW. Über pigmentbildung bei essigbakterien. *Cent Bakteriöl Parasitenk*. 1911;29:169–76.
15. Percival SL, Williams DW. *Acinetobacter*. In: *Microbiology of Waterborne Diseases* [Internet]. Elsevier; 2014. p. 35–48. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124158467000020>
16. Brisou J, Prévot AR. Études de systématique bactérienne. 10. Révision des espèces réunies dans le genre *Achromobacter*. In: *Annales De L Institut Pasteur*. MASSON EDITEUR 21 STREET CAMILLE DESMOULINS, ISSY, 92789 MOULINEAUX CEDEX 9 ...; 1954. p. 722–8.
17. Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY. A Study of the *Moraxella* Group II. Oxidative-negative Species (Genus *Acinetobacter*). *J Bacteriol* [Internet]. 1968 May;95(5):1520–41. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jb.95.5.1520-1541.1968>
18. Lessel EF. International Committee on Nomenclature of Bacteria Subcommittee on the Taxonomy of *Moraxella* and Allied Bacteria: Minutes of the Meeting, 11 August 1970. Room Constitution C, Maria-Isabel Hotel, Mexico City, Mexico. *Int J Syst Bacteriol* [Internet]. 1971 Apr 1;21(2):213–4. Available from: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-21-2-213>
19. Bouvet PJM, Grimont PAD. Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov. and emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* a. *Int J Syst Evol Microbiol*. 1986;36(2):228–40.
20. Gerner-Smidt P, Tjernberg I. *Acinetobacter* in Denmark: II. Molecular studies of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *APMIS* [Internet]. 1993 Nov;101(11):826–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8286091>
21. Migliaccio A, Bray J, Intoccia M, Stabile M, Scala G, Jolley KA, et al. Phylogenomics of *Acinetobacter* species and analysis of antimicrobial resistance genes. *Front Microbiol* [Internet]. 2023 Oct 19;14. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2023.1264030/full>
22. Schoch CL, Ciufo S, Domrachev M, Hotton CL, Kannan S, Khovanskaya R, et al. NCBI:txid470 NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database* [Internet]. 2020 Jan 1;2020:baaa062. Available from: <https://academic.oup.com/database/article/doi/10.1093/database/baaa062/5881509>
23. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii* : Emergence of a Successful Pathogen. *Clin*

- Microbiol Rev [Internet]. 2008 Jul;21(3):538–82. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00058-07>
24. Bergogne-Bérézin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 1996 Apr;9(2):148–65. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.9.2.148>
 25. Atrouni A Al, Joly-Guillou ML, Hamze M, Kempf M. Reservoirs of non-baumannii *Acinetobacter* species. *Front Microbiol*. 2016;7(FEB):1–12.
 26. Albrecht MA, Griffith ME, Murray CK, Chung KK, Horvath EE, Ward JA, et al. Impact of *Acinetobacter* Infection on the Mortality of Burn Patients. *J Am Coll Surg* [Internet]. 2006 Oct;203(4):546–50. Available from: <https://journals.lww.com/00019464-200610000-00018>
 27. T.C. Sağlık Bakanlığı. Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı (USHİESA) Etken Dağılımı ve Antibiyotik Direnç Raporu 2022. <https://hsgm.saglik.gov.tr/>. 2022;1–42.
 28. Greene C, Vadlamudi G, Newton D, Foxman B, Xi C. The influence of biofilm formation and multidrug resistance on environmental survival of clinical and environmental isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Am J Infect Control* [Internet]. 2016 May;44(5):e65–71. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196655315012602>
 29. Richards AM, Abu Kwaik Y, Lamont RJ. Code blue: A *cinetobacter baumannii* , a nosocomial pathogen with a role in the oral cavity. *Mol Oral Microbiol* [Internet]. 2015 Feb 27;30(1):2–15. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/omi.12072>
 30. KAPLAN N, ROSENBERG E, JANN B, JANN K. Structural studies of the capsular polysaccharide of *Acinetobacter calcoaceticus* BD4. *Eur J Biochem* [Internet]. 1985 Oct;152(2):453–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1432-1033.1985.tb09218.x>
 31. Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G. The Distribution of *Acinetobacter* Species in Clinical Culture Materials. *Zentralblatt für Bakteriologie* [Internet]. 1993 Nov;279(4):544–52. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0934884011804275>
 32. Joly-Guillou M-L. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2005 Nov;11(11):868–73. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14626008>
 33. Marszałik A, Sidor K, Kraśnicka A, Wróblewska M, Skirecki T, Jagielski T, et al. *Acinetobacter Baumannii* – Virulence Factors and Epidemiology of Infections. *Postępy Mikrobiologii - Adv Microbiol* [Internet]. 2021 Dec 1;60(4):267–79. Available from: <https://www.sciendo.com/article/10.21307/pm-2021.60.4.21>
 34. Villers D. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* Infections: Microbiological and Clinical Epidemiology. *Ann Intern Med* [Internet]. 1998 Aug 1;129(3):182. Available from: <http://annals.org/article.aspx?doi=10.7326/0003-4819-129-3-199808010-00003>

35. Zhou H, Yao Y, Zhu B, Ren D, Yang Q, Fu Y, et al. Risk factors for acquisition and mortality of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2019 Mar;98(13):e14937. Available from: <https://journals.lww.com/00005792-201903290-00017>
36. Mittal N, Nair D, Gupta N, Rawat D, Kabra S, Kumar S, et al. Outbreak of *Acinetobacter* spp septicemia in a neonatal ICU. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* [Internet]. 2003 Jun;34(2):365–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12971564>
37. Lee S-O, Kim NJ, Choi S-H, Kim TH, Chung J-W, Woo J-H, et al. Risk Factors for Acquisition of Imipenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*: a Case-Control Study. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2004 Jan;48(1):224–8. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.48.1.224-228.2004>
38. Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* Infection. *N Engl J Med* [Internet]. 2008 Mar 20;358(12):1271–81. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra070741>
39. Wisplinghoff H, Edmond MB, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP, Seifert H. Nosocomial Bloodstream Infections Caused by *Acinetobacter* Species in United States Hospitals: Clinical Features, Molecular Epidemiology, and Antimicrobial Susceptibility. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2000 Sep 1;31(3):690–7. Available from: <http://academic.oup.com/cid/article/31/3/690/296725/Nosocomial-Bloodstream-Infections-Caused-by>
40. Bouza E, Muñoz P, Burillo A. How to treat severe *Acinetobacter baumannii* infections. *Curr Opin Infect Dis* [Internet]. 2023 Dec;36(6):596–608. Available from: <https://journals.lww.com/10.1097/QCO.0000000000000974>
41. Dijkshoorn L, Nemeč A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2007 Dec;5(12):939–51. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrmicro1789>
42. Valencia R, Arroyo LA, Conde M, Aldana JM, Torres M-J, Fernández-Cuenca F, et al. Nosocomial Outbreak of Infection With Pan-Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in a Tertiary Care University Hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2009 Mar 2;30(3):257–63. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0195941700036298/type/journal_article
43. Fishbain J, Peleg AY. Treatment of *Acinetobacter* Infections. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2010 Jul;51(1):79–84. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/653120>
44. Mattoes HM, Kuti JL, Drusano GL, Nicolau DP. Optimizing antimicrobial pharmacodynamics: dosage strategies for meropenem. *Clin Ther* [Internet]. 2004 Aug;26(8):1187–98. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149291804800018>
45. Karlowsky JA, Hackel MA, McLeod SM, Miller AA. In Vitro Activity of Sulbactam-Durlobactam against Global Isolates of *Acinetobacter baumannii* - calcoaceticus Complex Collected from 2016 to 2021. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2022 Sep 20;66(9):e00781-22. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aac.00781-22>

46. Aliakbarzade K, Farajnia S, Karimi Nik A, Zarei F, Tanomand A. Prevalence of Aminoglycoside Resistance Genes in *Acinetobacter baumannii* Isolates. *Jundishapur J Microbiol* [Internet]. 2014 Aug 23;7(8). Available from: <https://brieflands.com/articles/jjm-18767.html>
47. Heinemann B, Wisplinghoff H, Edmond M, Seifert H. Comparative Activities of Ciprofloxacin, Clinafloxacin, Gatifloxacin, Gemifloxacin, Levofloxacin, Moxifloxacin, and Trovafloxacin against Epidemiologically Defined *Acinetobacter baumannii* Strains. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2000 Aug;44(8):2211–3. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.44.8.2211-2213.2000>
48. Gordon NC, Wareham DW. A review of clinical and microbiological outcomes following treatment of infections involving multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* with tigecycline. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2009 Feb 17;63(4):775–80. Available from: <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkn555>
49. Ni W, Han Y, Zhao J, Wei C, Cui J, Wang R, et al. Tigecycline treatment experience against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections: a systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2016 Feb;47(2):107–16. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857915004021>
50. Bialvaei AZ, Samadi Kafil H. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin*. 2015;31(4):707–21.
51. Lee C-R, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2017 Mar 13;7(MAR). Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2017.00055/full>
52. Lin M-F. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii* : From bench to bedside. *World J Clin Cases* [Internet]. 2014;2(12):787. Available from: <http://www.wjgnet.com/2307-8960/full/v2/i12/787.htm>
53. Pogue JM, Mann T, Barber KE, Kaye KS. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* : epidemiology, surveillance and management. *Expert Rev Anti Infect Ther* [Internet]. 2013 Apr 10;11(4):383–93. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/eri.13.14>
54. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: Past, Present, and Future. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2011 Nov;55(11):4943–60. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.00296-11>
55. Nowak P, Paluchowska P. *Acinetobacter baumannii*: biology and drug resistance — role of carbapenemases. *Folia Histochem Cytobiol* [Internet]. 2015 Feb 12;54(2):61–74. Available from: https://journals.viamedica.pl/fovia_histochemica_cytobiologica/article/view/42960
56. Hsu L-Y, Apisarnthanarak A, Khan E, Suwantararat N, Ghafur A, Tambyah PA. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and Enterobacteriaceae in south and southeast Asia. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30(1):1–22.

57. Sen B, Joshi SG. Studies on *Acinetobacter baumannii* involving multiple mechanisms of carbapenem resistance. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2016 Mar;120(3):619–29. Available from: <https://academic.oup.com/jambio/article/120/3/619/6717209>
58. D'Souza R, Pinto NA, Phuong N Le, Higgins PG, Vu TN, Byun J-H, et al. Phenotypic and Genotypic Characterization of *Acinetobacter* spp. Panel Strains: A Cornerstone to Facilitate Antimicrobial Development. *Front Microbiol* [Internet]. 2019 Mar 26;10:559. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.00559/full>
59. Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*. 2021;10(3):373.
60. Fiett J, Baraniak A, Mrówka A, Fleischer M, Drulis-Kawa Z, Naumiuk Ł, et al. Molecular Epidemiology of Acquired-Metallo- β -Lactamase-Producing Bacteria in Poland. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2006 Mar;50(3):880–6. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.50.3.880-886.2006>
61. Palzkill T. Metallo- β -lactamase structure and function. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2013 Jan 16;1277(1):91–104. Available from: <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-6632.2012.06796.x>
62. Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2011 May;11(5):381–93. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309911700561>
63. Hamidian M, Nigro SJ. Emergence, molecular mechanisms and global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microb Genomics* [Internet]. 2019 Oct 1;5(10). Available from: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/mgen/10.1099/mgen.0.000306>
64. SCAIFE W, YOUNG H-K, PATON RH, AMYES SGB. Transferable imipenem-resistance in *Acinetobacter* species from a clinical source. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 1995;36(3):585–6. Available from: <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/36.3.585>
65. Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM, et al. The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett* [Internet]. 2006 May;258(1):72–7. Available from: <https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.2006.00195.x>
66. Evans BA, Amyes SGB. OXA β -Lactamases. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2014 Apr;27(2):241–63. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00117-13>
67. Smith CA, Antunes NT, Stewart NK, Frase H, Toth M, Kantardjieff KA, et al. Structural Basis for Enhancement of Carbapenemase Activity in the OXA-51 Family of Class D β -Lactamases. *ACS Chem Biol* [Internet]. 2015 Aug 21;10(8):1791–6. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acscchembio.5b00090>

68. Bou G, Oliver A, Martínez-Beltrán J. OXA-24, a Novel Class D β -Lactamase with Carbapenemase Activity in an *Acinetobacter baumannii* Clinical Strain. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2000 Jun;44(6):1556–61. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.44.6.1556-1561.2000>
69. Poirel L, Marqué S, Héritier C, Segonds C, Chabanon G, Nordmann P. OXA-58, a Novel Class D β -Lactamase Involved in Resistance to Carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2005 Jan;49(1):202–8. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.49.1.202-208.2005>
70. Higgins PG, Poirel L, Lehmann M, Nordmann P, Seifert H. OXA-143, a Novel Carbapenem-Hydrolyzing Class D β -Lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2009 Dec;53(12):5035–8. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.00856-09>
71. Higgins PG, Pérez-Llarena FJ, Zander E, Fernández A, Bou G, Seifert H. OXA-235, a Novel Class D β -Lactamase Involved in Resistance to Carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2013 May;57(5):2121–6. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.02413-12>
72. Towner KJ, Chopade BA. Biotyping of *Acinetobacter calcoaceticus* using the API 20NE system. *J Hosp Infect* [Internet]. 1987 Sep;10(2):145–51. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/019567018790140X>
73. Bouvet PJ., Grimont PA. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Ann l'Institut Pasteur / Microbiol* [Internet]. 1987 Sep;138(5):569–78. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0769260987900421>
74. Das BC, Ayliffe G. Serotyping of *Acinetobacter calcoaceticus*. *J Clin Pathol* [Internet]. 1984 Dec 1;37(12):1388–91. Available from: <http://jcp.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jcp.37.12.1388>
75. Dijkshoorn L, Aucken HM, Gerner-Smidt P, Kaufmann ME, Ursing J, Pitt TL. Correlation of typing methods for *Acinetobacter* isolates from hospital outbreaks. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1993 Mar;31(3):702–5. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.31.3.702-705.1993>
76. Chirakadze I, Perets A, Ahmed R. Phage Typing. In: *Bacteriophages: Methods and Protocols, Volume 2 Molecular and Applied Aspects* [Internet]. Springer; 2009. p. 293–305. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-1-60327-565-1_17
77. Zou J, Jiang H, Cheng H, Fang J, Huang G. Strategies for screening, purification and characterization of bacteriocins. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2018 Oct;117:781–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813018318270>
78. Andrews HJ. *Acinetobacter* bacteriocin typing. *J Hosp Infect* [Internet]. 1986 Mar;7(2):169–75. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0195670186900605>
79. KÖKSAL F. Moleküler Biyolojik Tiplendirme Yöntemlerinin Hastane İnfeksiyonlarında Kullanımı. *Hastan İnfeksiyonları Derg.* 1999;3:189–95.

80. Rafei R, Kempf M, Eveillard M, Dabboussi F, Hamze M, Joly-Guillou ML. Current molecular methods in epidemiological typing of *Acinetobacter baumannii*. *Future Microbiol.* 2014;9(10):1179–94.
81. Schwarz S, Blickwede M, Kehrenberg C, Michael GB. [Phenotypic and genotypic methods for epidemiological typing of veterinary important bacterial pathogens of the genera *Staphylococcus*, *Salmonella*, and *Pasteurella*]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* [Internet]. 2003;116(9–10):401–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14526470>
82. Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2013 Jan;41(1):11–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857912003731>
83. Ranjbar R, Karami A, Farshad S, Giammanco GM, Mammina C. Typing methods used in the molecular epidemiology of microbial pathogens: a how-to guide. *New Microbiol* [Internet]. 2014 Jan;37(1):1–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24531166>
84. Jarcho J. Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis. *Curr Protoc Hum Genet* [Internet]. 1994 May;1(1):2–7. Available from: <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471142905.hg0207s01>
85. Sadeghi P, Khosravi AD, Shahraki AH, Beiranvand M. Identification of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from Iran and study of their heterogeneity. *J Chinese Med Assoc* [Internet]. 2016 Jul;79(7):382–6. Available from: <https://journals.lww.com/02118582-201607000-00007>
86. Sadeghi P. Molecular Methods for Identification of *Acinetobacter* Species by Partial Sequencing of the *rpoB* and 16S rRNA Genes. *J Clin DIAGNOSTIC Res* [Internet]. 2015;9(7):DC09. Available from: http://jcdr.net/article_fulltext.asp?issn=0973-709x&year=2015&volume=9&issue=7&page=DC09&issn=0973-709x&id=6188
87. Gonçalves CR, Vaz TMI, Araujo E, Boni RDF, Leite D, Irino K. Biotyping, serotyping and ribotyping as epidemiological tools in the evaluation of *Acinetobacter baumannii* dissemination in hospital units, Sorocaba, São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2000;42(5):277–82.
88. Schumann P, Pukall R. The discriminatory power of ribotyping as automatable technique for differentiation of bacteria. *Syst Appl Microbiol* [Internet]. 2013 Sep;36(6):369–75. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S072320201300091X>
89. Pavlic M, Griffiths MW. Principles, Applications, and Limitations of Automated Ribotyping as a Rapid Method in Food Safety. *Foodborne Pathog Dis* [Internet]. 2009 Nov;6(9):1047–55. Available from: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2009.0264>
90. Riley LW. Laboratory Methods in Molecular Epidemiology: Bacterial Infections. *Microbiol Spectr.* 2018;6(6).
91. Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey S V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 1990;18(22):6531–5.

Available from: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/18.22.6531>

92. Welsh J, Mcclelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 1990;18(24):7213–8.
93. Fernández-Cuenca F. Aplicaciones de las técnicas de PCR a la epidemiología molecular de las enfermedades infecciosas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2004 Jan;22(6):355–60. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0213005X04731080>
94. Nowak J, Pacholczyk A, Petroniec V, Dziedzicka B, Zwolska Z. [The results of molecular epidemiological investigations in patients infected with strains of the genus *Acinetobacter*]. *Pneumonol Alergol Pol* [Internet]. 2010;78(6):386–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21077030>
95. Lindblad M, Sütterlin S, Tano E, Huss F, Lytsy B. Infection control measures to stop the spread of sequence type 15 OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* in a Swedish Burn Center. *Burns* [Internet]. 2022 Dec;48(8):1940–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0305417922000195>
96. Ishii S, Sadowsky MJ. Applications of the rep-PCR DNA fingerprinting technique to study microbial diversity, ecology and evolution. *Environ Microbiol* [Internet]. 2009 Apr;11(4):733–40. Available from: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1462-2920.2008.01856.x>
97. Bansal K, Saroha T, Patil PP, Kumar S, Kumar S, Singhal L, et al. Evolutionary trends of carbapenem-resistant and susceptible *Acinetobacter baumannii* isolates in a major tertiary care setting from North India. *Infect Genet Evol* [Internet]. 2024 Jan;117:105542. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134823001405>
98. Spratt BG. Multilocus sequence typing: molecular typing of bacterial pathogens in an era of rapid DNA sequencing and the Internet. *Curr Opin Microbiol* [Internet]. 1999 Jun;2(3):312–6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S136952749980054X>
99. Pérez-Losada M, Cabezas P, Castro-Nallar E, Crandall KA. Pathogen typing in the genomics era: MLST and the future of molecular epidemiology. *Infect Genet Evol* [Internet]. 2013 Jun;16:38–53. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134813000269>
100. WOODFORD N, ELLINGTON M, COELHO J, TURTON J, WARD M, BROWN S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2006 Apr;27(4):351–3. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857906000264>
101. Ellington MJ, Kistler J, Livermore DM, Woodford N. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo- β -lactamases. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2006 Nov 13;59(2):321–2. Available from: <https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkl481>
102. Doyle D, Peirano G, Lascols C, Lloyd T, Church DL, Pitout JDD. Laboratory Detection of Enterobacteriaceae That Produce Carbapenemases. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2012 Dec;50(12):3877–

80. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.02117-12>
103. Asgin N, Otlu B. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of *Corynebacterium striatum* isolated in a tertiary hospital in Turkey. *Pathogens*. 2020;9(2).
104. Jolley KA, Bray JE, Maiden MCJ. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res* [Internet]. 2018 Sep 24;3:124. Available from: <https://wellcomeopenresearch.org/articles/3-124/v1>
105. Dexter C, Murray GL, Paulsen IT, Peleg AY. Community-acquired *Acinetobacter baumannii*: clinical characteristics, epidemiology and pathogenesis. *Expert Rev Anti Infect Ther* [Internet]. 2015 May 4;13(5):567–73. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/14787210.2015.1025055>
106. Jiang Y, Ding Y, Wei Y, Jian C, Liu J, Zeng Z. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: A challenge in the intensive care unit. *Front Microbiol* [Internet]. 2022 Nov 10;13:1045206. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.1045206/full>
107. Gu Y, Zhang W, Lei J, Zhang L, Hou X, Tao J, et al. Molecular epidemiology and carbapenem resistance characteristics of *Acinetobacter baumannii* causing bloodstream infection from 2009 to 2018 in northwest China. *Front Microbiol* [Internet]. 2022 Aug 22;13:983963. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.983963/full>
108. Kim SY, Jung JY, Kang YA, Lim JE, Kim EY, Lee SK, et al. Risk Factors for Occurrence and 30-Day Mortality for Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Bacteremia in an Intensive Care Unit. *J Korean Med Sci* [Internet]. 2012;27(8):939. Available from: <https://jkms.org/DOIx.php?id=10.3346/jkms.2012.27.8.939>
109. Denissen J, Reyneke B, Waso-Reyneke M, Havenga B, Barnard T, Khan S, et al. Prevalence of ESKAPE pathogens in the environment: Antibiotic resistance status, community-acquired infection and risk to human health. *Int J Hyg Environ Health* [Internet]. 2022 Jul;244:114006. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S143846392200089X>
110. Shi J, Cheng J, Liu S, Zhu Y, Zhu M. *Acinetobacter baumannii*: an evolving and cunning opponent. *Front Microbiol* [Internet]. 2024 Jan 22;15:114006. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S143846392200089X>
111. Reddy T, Chopra T, Marchaim D, Pogue JM, Alangaden G, Salimnia H, et al. Trends in Antimicrobial Resistance of *Acinetobacter baumannii* Isolates from a Metropolitan Detroit Health System. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2010 May;54(5):2235–8. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.01665-09>
112. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023 - 2021 data. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control and World Health Organization; 2023. 2023. 136,137.
113. Boral J, Pınarlık F, Ekinçi G, Can F, Ergönül Ö. Does Emerging Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* Increase the Case Fatality Rate? Systematic Review and Meta-Analysis. *Infect Dis Rep*

- [Internet]. 2023 Sep 27;15(5):564–75. Available from: <https://www.mdpi.com/2036-7449/15/5/55>
114. Karabay O, Ekşi F, Yıldırım MS. Investigation of Antibiotic Resistance Profiles and Carbapenemase Resistance Genes in *Acinetobacter Baumannii* Strains Isolated From Clinical Samples. *Eur J Ther* [Internet]. 2022 Dec 30;28(4):252–9. Available from: <https://eurjther.com/index.php/home/article/view/28>
 115. Castillo Bejarano JI, Llaca Díaz J, de la O Cavazos ME, Sánchez Alanís H, Mascareñas de los Santos AH, Espinosa Villaseñor F, et al. Case Report: Molecular Characterization of Bloodstream Infections due to Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*: A Pediatric Case Series. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2023 Dec 6;109(6):1270–3. Available from: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/109/6/article-p1270.xml>
 116. Castillo Bejarano JI, Llaca Díaz J, e la O Cavazos ME, Sánchez Alanís H, Mascareñas de los Santos AH, Espinosa-Villaseñor F, et al. Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection in Children From a Third-Level Hospital in Mexico: Clinical Characteristics and Molecular Epidemiology. *J Pediatric Infect Dis Soc* [Internet]. 2023 Jul 31;12(7):431–5. Available from: <https://academic.oup.com/jpids/article/12/7/431/7216781>
 117. Kuo S-C, Huang W-C, Huang T-W, Wang H-Y, Lai J-F, Chen T-L, et al. Molecular Epidemiology of Emerging bla OXA-23-Like - and bla OXA-24-Like -Carrying *Acinetobacter baumannii* in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2018 Mar;62(3):10–1128. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.01215-17>
 118. Abbasi E, van Belkum A, Ghaznavi-Rad E. High frequency of carbapenemase in extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in central Iran. *World J Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2023 Nov 27;39(11):321. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s11274-023-03778-y>
 119. Ghasemi S, Shoja S, Mazloomirad F, Ghatee MA, Rashidpoor F, Khoramrooz SS, et al. Prevalence of Aminoglycoside and Carbapenemase Resistance Genes and Biofilm Formation among Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii* in Iran. *Mediterr J Infect Microbes Antimicrob* [Internet]. 2022 Aug 12;11(1). Available from: <https://mjima.org/pdf.php?&id=342>
 120. Sabour S, Bantle K, Bhatnagar A, Huang JY, Biggs A, Bodnar J, et al. Descriptive analysis of targeted carbapenemase genes and antibiotic susceptibility profiles among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* tested in the Antimicrobial Resistance Laboratory Network—United States, 2017–2020. Babiker A, editor. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2024 Feb 6;12(2):e02828-23. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/spectrum.02828-23>
 121. Yusuf E, Tompa M, Strepis N, Klaassen CHW, Goessens WHF. High Prevalence of ST502 Carrying an OXA-24 Carbapenemase gene in Carbapenem-Nonsusceptible *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* Isolates in Romania. *Microb Drug Resist* [Internet]. 2022 Jun 1;28(6):636–44. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2021.0274>
 122. Lukovic B, Gajic I, Dimkic I, Kekic D, Zornic S, Pozder T, et al. The first nationwide multicenter study

- of *Acinetobacter baumannii* recovered in Serbia: emergence of OXA-72, OXA-23 and NDM-1-producing isolates. *Antimicrob Resist Infect Control* [Internet]. 2020 Dec 6;9(1):101. Available from: <https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-020-00769-8>
123. Al-Rashed N, Bindayna KM, Shahid M, Saeed NK, Darwish A, Joji RM, et al. Prevalence of Carbapenemases in Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates from the Kingdom of Bahrain. *Antibiotics* [Internet]. 2023 Jul 17;12(7):1198. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/7/1198>
 124. Sarı AN, Biçmen M, Gülay Z. The First Report on the Outbreak of OXA-24/40-Like Carbapenemase-Producing *Acinetobacter baumannii* in Turkey. *Jpn J Infect Dis* [Internet]. 2013;66(5):439–42. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/yoken/66/5/66_439/_article
 125. Keskin H, Tekeli A, Dolapçı İ, Öcal D. Molecular Characterization of Beta-Lactamase-Associated Resistance in *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Clinical Samples. *Mikrobiyol Bul* [Internet]. 2014 Jul 25;48(3):365–76. Available from: <http://www.mikrobiyolbul.org/linkout.aspx?pmid=25052103>
 126. Cicek AC, Saral A, Iraz M, Ceylan A, Duzgun AO, Peleg AY, et al. OXA- and GES-type β -lactamases predominate in extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a Turkish University Hospital. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2014 May;20(5):410–5. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X1460077X>
 127. Telli M, Eyigör M, Korkmazgil B, Aydın N, Atalay MA. Molecular Epidemiology Of Clinical Isolates Of Carbapenem Resistant *Acinetobacter* spp. *Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg* [Internet]. 2017;47(4):190–6. Available from: <https://www.journalagent.com/z4/vi.asp?pdire=tmcd&plng=eng&un=TMCD-44153&look4=>
 128. Uluçam Atay G, Bayramoglu G, Durmaz R, Tosun İ, Kaklıkkaya N, Aydın F. Investigation of Molecular Mechanisms of Carbapenemase Producing *Acinetobacter baumannii* complex Isolates Isolated from Blood Cultures. *Van Med J* [Internet]. 2022;29(4):362–70. Available from: https://jag.journalagent.com/z4/download_fulltext.asp?pdire=vtd&plng=eng&un=VTD-04382
 129. Gozalan A, Unaldı O, Guldemir D, Aydogan S, Kuzucu C, Cakirlar FK, et al. Molecular Characterization of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Blood Culture Isolates from Three Hospitals in Turkey. *Jpn J Infect Dis* [Internet]. 2021 May 31;74(3):200–8. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/yoken/74/3/74_JJID.2020.478/_article
 130. Giriya SA, Jayaseelan VP, Arumugam P. Prevalence of VIM- and GIM-producing *Acinetobacter baumannii* from patients with severe urinary tract infection. *Acta Microbiol Immunol Hung* [Internet]. 2018 Aug 14;65(4):539–50. Available from: <https://akjournals.com/view/journals/030/65/4/article-p539.xml>
 131. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2010 Sep;10(9):597–602. Available from:

- <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309910701432>
132. Olive DM, Bean P. Principles and Applications of Methods for DNA-Based Typing of Microbial Organisms. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1999 Jun;37(6):1661–9. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.37.6.1661-1669.1999>
 133. Liu PY-F, Wu W-L. Use of different PCR-based DNA fingerprinting techniques and pulsed-field gel electrophoresis to investigate the epidemiology of *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 1997 Sep;29(1):19–28. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0732889397000801>
 134. Marcos MA, Jimenez de Anta MT, Vila J. Correlation of six methods for typing nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Med Microbiol* [Internet]. 1995 May 1;42(5):328–35. Available from: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/00222615-42-5-328>
 135. Gräser Y, Klare I, Halle E, Gantenberg R, Buchholz P, Jacobi HD, et al. Epidemiological study of an *Acinetobacter baumannii* outbreak by using polymerase chain reaction fingerprinting. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1993 Sep;31(9):2417–20. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.31.9.2417-2420.1993>
 136. Bogiel T, Mikucka A, Kanarek P. Agarose Gel Electrophoresis-Based RAPD-PCR—An Optimization of the Conditions to Rapidly Detect Similarity of the Alert Pathogens for the Purpose of Epidemiological Studies. *Gels* [Internet]. 2022 Nov 22;8(12):760. Available from: <https://www.mdpi.com/2310-2861/8/12/760>
 137. Simonovic M, Lepsanovic Z, Rakonjac B, Lazic S. Detection of carbapenem-resistance and biofilm formation genes, and genetic relatedness of *Acinetobacter baumannii* isolates. *Genetika* [Internet]. 2022;54(3):1069–82. Available from: <https://doiserbia.nb.rs/Article.aspx?ID=0534-00122203069S>
 138. Khosravi AD, Montazeri EA, Maki SR. Antibacterial effects of Octenisept, and benzalkonium chloride on *Acinetobacter baumannii* strains isolated from clinical samples and determination of genetic diversity of isolates by RAPD-PCR method. *Mol Biol Rep* [Internet]. 2021 Nov 11;48(11):7423–31. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s11033-021-06758-3>
 139. Firoozeh F, Nikibakhsh M, Badmasti F, Zibaei M, Nikbin VS. Clonal relatedness of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: high prevalence of ST136pas in a burn center. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* [Internet]. 2023 May 6;22(1):34. Available from: <https://ann-clinmicrob.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12941-023-00589-9>
 140. Giannouli M, Antunes LCS, Marchetti V, Triassi M, Visca P, Zarrilli R. Virulence-related traits of epidemic *Acinetobacter baumannii* strains belonging to the international clonal lineages I-III and to the emerging genotypes ST25 and ST78. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2013 Dec 20;13(1):282. Available from: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-13-282>
 141. Di Popolo A, Giannouli M, Triassi M, Brisse S, Zarrilli R. Molecular epidemiological investigation of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in four Mediterranean countries with a multilocus

sequence typing scheme. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2011 Feb;17(2):197–201. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14616621>

142. Pournaras S, Gogou V, Giannouli M, Dimitroulia E, Dafopoulou K, Tsakris A, et al. Single-locus-sequence-based typing of blaOXA-51-like genes for rapid assignment of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates to international clonal lineages. *J Clin Microbiol*. 2014;52(5):1653–7.
143. Hajihashemi B, Abbasi A, Shokri D. Emergence of colistin resistant *Acinetobacter baumannii* clonal complex 2 (CC2) among hospitalized patients in Iran. *Acta Microbiol Immunol Hung* [Internet]. 2023 Sep 21;70(3):213–9. Available from: <https://akjournals.com/view/journals/030/70/3/article-p213.xml>



ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Canset Nur AYDOĞAN

Doğum yeri ve tarihi:

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu:

Yabancı dili: İngilizce, Almanca

II- Eğitimi

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Gülhane Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji
(2019-2024)

Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi / Tıp Fakültesi (2010-2016)

Tokat Milli Piyango İhya Balak Fen Lisesi (2006-2010)

Tokat Gazi Osman Paşa İlköğretim Okulu (2005-2006)

Niksar İlköğretim Okulu (2003-2005)

Giresun Kenan Evren İlköğretim Okulu (1998-2003)

III- Ünvanları

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji-Araştırma
Görevlisi (2019-halen)

IV- Mesleki Deneyimi

Tokat Artova İlçe Devlet Hastanesi-Pratisyen Hekim (2016 – 2017)

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi – Asistan Hekim
(2017-2019)

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Gülhane Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji -
Araştırma Görevlisi (2019-2024)

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği

EK'LER

EK 1: T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi Dekanlığı Yönetim Kurulu Kararı: Tez konusu onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 04.03.2022-109991



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Gülhane Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : E-86241737-100--109991
Konu : GTF Tez İnceleme ve Değerlendirme
Akademik Kurulu Kararları

04.03.2022

DAĞITIM YERLERİNE

Gülhane Tıp Fakültesi Tez İnceleme ve Değerlendirme Akademik Kurulu, 03.03.2022 tarihinde saat 14:00'da Dekan Yardımcısı Prof.Dr. Sedat YILMAZ başkanlığında üyelerin uzaktan dijital ortamda online olarak katılımı ile toplanmıştır. Toplantıda, Dekanlığımızla afiliye olan SUAM'larda görevli 93 (doksan üç) uzmanlık öğrencisine ait tez incelenerek değerlendirilmiş olup; tezlerle ilgili Ek'teki kararların alınmasına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Cüneyt GÖKSOY
Dekan V.

Ek:Kural Kararı

Dağıtım:

Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı
Başkanlığına
Acil Tıp Anabilim Dalı Başkanlığına
Hava ve Uzay Hekimliği Anabilim Dalı
Başkanlığına
Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Başkanlığına
Aile Hekimliği Anabilim Dalı Başkanlığına
Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı
Başkanlığına
Adli Tıp Anabilim Dalı Başkanlığına
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı
Başkanlığına
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığına
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Başkanlığına
Ankara Atatürk Sanatoryum Sağlık Uygulama ve

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu : *B5NBFJW0UJ* FİN Kodu :95392
Adres:Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Yerleşkesi Ermiş Mah. 0618
Etlik/Keçiören/ANKARA
Telefon:0 312 304 61 73 Faks:0 312 304 61 90
Web:http://sbu.edu.tr
Kep Adresi: sbu@sbu01.kep.tr

Belge Takip Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/sbu-ebys>

Bilgi için: Levent YILDIZIM
Ünvan: Uzman

S.No	ADI SOYADI	GÖREVLİ OLDUĞU SUAM	TEZ KONUSU	AÇIKLAMA
71	Dr.Kübra ÖZUNCA	GTF Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji AD.Bşk.lığı	Gonoderma Lucidum Ekstraktının Farelerde oluşturulan Karbonmonoksit Zehirlenme modelinde böbrek üzerindeki etkilerinin incelenmesi	Kabul Edilmedi: Hakem Değerlendirme Formlarında, hakem görüşlerinin olması gereken bölümlere tez onay formundaki açıklamalar yazılmış.
72	Dr. Tuğba YILMAZ	GTF Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji AD.Bşk.lığı	Gonoderma Lucidum Ekstraktının Karbonmonoksit Zehirlenmesi oluşturulmuş farelerde kalp üzerindeki etkilerinin incelenmesi	Kabul Edildi.
73	Dr.Zeynep KAPLAN	GTF Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp AD. Dalı Bşk.	Hava trafik kontrollerinin lg performansı üzerine yorgunluğunun etkilerinin araştırılması	Kabul Edildi.
74	Dr.Gül METE ÇİVELEK	Ankara Şehir SUAM	Jinekolojik onkolojik cerrahi sonrası alt ekstremitelerde lenfödemli olan hastalarda komplet dekonjestif tedavi e komplet dekonjestif tedavi ve komplet dekonjestif tedavi + baskılet ergonomi tedavilerinin yaşam kalitesi, alt ekstremitelerde fonksiyonelliği ve alt ekstremitelerde volüm değişimi açısından karşılaştırılması	Kabul Edildi.
75	Dr. Zehra YÜCEL	Ankara Dr. Sami Ulus Kadın Doğum Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları SUAM	Adolesanlarda Okul Başlığı ve Siberzorbelik Arasındaki İlişki	Kabul Edildi.
76	Dr. Nilay KAN MENKÜ	Ankara Dr. Sami Ulus Kadın Doğum Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları SUAM	Kronik böbrek hastalığı ile takipli hastaların değerlendirilmesi ve hastalık komplikasyonlarının belirlenmesi	Kabul Edildi.
77	Dr. Selin YILDIRIM ARICI	Ankara Dr. Sami Ulus Kadın Doğum Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları SUAM	Tersiyer bir merkezde Çift Çıkım 1 Sağ Ventrikül(ÇÇSV) kompleks kalp hastalarının klinik değerlendirilmesi	Kabul Edildi.
78	Dr.Beyza NUR YILDIZ	Ankara Şehir SUAM	Ultrasonografi eşliğinde beklen silding sign bulgusunun Histerosalpingografi sonuçlarını öngörülebilirliği *	Kabul Edildi.
79	Dr.Onur KARA	Ankara Şehir SUAM	Jinekolojik onkolojik cerrahi sonrası alt ekstremitelerde lenfödemli olan hastalarda komplet dekonjestif tedavi komplet dekonjestif tedavi ve komplet dekonjestif tedavi + baskılet ergonomi tedavilerinin yaşam kalitesi, alt ekstremitelerde fonksiyonelliği ve alt ekstremitelerde volüm değişimi açısından karşılaştırılması	Kabul Edildi: Araştırma türünün girişimsel ve randomize olarak düzenlenmesi, araştırma sonuçları bölümünün de "gözetimsel prospektif" çalışma yerine randomize ve girişimsel" şeklinde değiştirilmesi kopyuluydu.
80	Dr.Beyza DURAN	Ankara Şehir SUAM	Çocukluk çağı lenfomalarda ABO kan gruplarının önemi *	Kabul Edildi.
81	Dr.Hande ÖZCAN	GTF Mik ve Kl.Mik AD.Bşk.lığı	Mycobacterium abscessus izolatlarının sıvı mikrodizilyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık paterninin belirlenmesi	Kabul Edildi.
82	Dr.Canset Nur AYDOĞAN	GTF Mik ve Kl.Mik AD.Bşk.lığı	Bir eğitim ve araştırma hastanesi yoğun bakım ünitesi hastalarının kan kültürlerinden izole edilen karpobakteriyen dirençli acinetobacter baumannii izolatlarında beta laktam direnç genlerinin ve klonal ilişkilerinin araştırılması	Kabul Edildi.
83	Dr. Tayfun BAYRAKTAR	Ankara Sağlık SUAM	Deneyel yara iyileşmesi modelinde red ginseng ve aloce verenin etkinliğinin karşılaştırılması	Kabul Edilmedi: İkinci tez danışmanı görevlendirmesi uygun değildir.
84	Dr. Ülkü ÖZTOPRAK SİYAH	Ankara Sağlık SUAM	Covid-19 enfeksiyonu nedeniyle yoğun bakım ünitelerinde ve servislere yatan hastalarda serum soluble örökünaz plazminojen aktivatör reseptörü (suPAR) ve neopterin düzeylerinin hastaların klinik laboratuvar bulguları ve prognozuyla ilişkisinin belirlenmesi	Kabul Edildi.
85	Dr. Bilal Talha KOÇYİĞİT	Ankara Sağlık SUAM	Çocukluk çağındaki hipermetropik ekzotropiyada refraktif değerlerin akomodatif kapasiteye göre verilen negatif lenslerin ve bilgisayar oyun egzersizlerinin prognoza etkisi	Kabul Edildi.
86	Dr.Hüseyin ÇAMLI	Ankara Sağlık SUAM	Akut kolanjit tanısı ile takip edilen hastalarda hastalık şiddet ve prognozunu öngörmeye Tokyo -2018 kriterlerinin değerlendirilmesi	Kabul Edildi.
87	Dr.Meryem ASLAN	Ankara Sağlık SUAM	Akut pankreatit ciddiyetini belirlemede obezite ve yağlanma paterninin prognostik rolü	Kabul Edildi.

EK 2: Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu (TUEK) Kararı: Araştırma izin onayı



T.C.
ANKARA VALİLİĞİ
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI GÜLHANE EĞİTİM VE
ARAŞTIRMA HASTANESİ - GÜLHANE SAH TİPTA
UZMANLIK EĞİTİM KURULU (TUEK)
00942822 16 26 - E-5067469 - 799 - 173



Sayı : E-50687469-799
Konu : Araştırma İzni (Arş. Gör. Canset Nur
AYDOĞAN)

Sayın : Arş. Gör. Canset Nur AYDOĞAN
(Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği Birimi)

“Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Yoğun Bakım Ünitesi Hastalarının Kan Kültürlerinden İzole Edilen Karbapenem Dirençli Acinetobacter Baumannii İzolatlarında Beta Laktam Direnç Genlerinin ve Klonal İlişkinin Araştırılması” başlıklı tez çalışmamızı hastanemizde uygulama talebiniz Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi Tıpta Uzmanlık Eğitimi Kurulunun 31.03.2022 tarih ve 6 no’lu toplantısında görüşülerek kabul edilmiştir.

Klinik Araştırmalar Yönetmeliğinin 23. maddesine istinaden etik kurul onayı alındıktan sonra araştırmaya başlanabilir. Aynı Yönetmeliğin 1. Bendi uyarınca araştırmanın bütçesinin karşılanmasından araştırmacılar sorumludur.

Gereğini rica ederim.

e-İmza
Prof. Dr. Cevdet Serkan GÖKKAYA
Başhekim

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu: 485627e7e4004428e476547e1015821e - Belge Doğrulama Adresi: <http://www.gulhane.saglik.gov.tr>
General Dr. Tevfik Sağlam Cd. Etilik ARGE/TUEK Birimi
Telefon: Faks No:
e-Posta: dilek.menay@saglik.gov.tr İnternet Adresi:
<http://www.gulhane.saglik.gov.tr/>

Bilgi için: Dilek MENAY
Veri Hazırlama ve Kontrol İşt.
Telefon No: (0 312) 304 61 05



EK 3: T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Araştırma Projesi Değerlendirme Raporu: Etik kurul onayı



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 46418926

17.10.2022

Konu : Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul Kararları

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

TOPLANTI TARİHİ : 17.10.2022

TOPLANTI SAATİ : 13:00 (Covid-19 tedbirleri kapsamında toplantı online yapılmıştır.)

TOPLANTI NO : 2022/09

PROJE/ KARAR NO : 2022-287 (Değerlendirilme Tarihi: 12.09.2022-17.10.2022)

Üniversitemiz Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında görevli Prof. Dr. Mehmet Tevfik YAVUZ'un sorumlu araştırmacı, Dr. Canset Nur AYDOĞAN ve Doç.Dr. Gürhan TAŞKIN'ın yardımcı araştırmacı oldukları, 2022/287 kayıt numaralı, "Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Yoğun Bakım Ünitesi Hastalarının Kan Kültürlerinden İzole Edilen Karbapenem Dirençli Acinetobacter Baumannii İzolatlarında Beta Laktam Direnç Genlerinin ve Klonal İlişkinin Araştırılması" başlıklı uzmanlık tezi proje önerisi, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur. Rica ederim.

Sıra No	Adı Soyadı ve Görev Yeri	Kuruld Görevi
1	Prof. Dr. Ahmet COŞAR (Gülhane Anestezi Anabilim Dalı Başkanlığı)	Başkan
2	Prof. Dr. Alper GÖZÜBÜYÜK (Gülhane Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanlığı)	Başkan Yardımcısı
3	Prof. Dr. Selahattin BEDİR (Gülhane Üroloji. Anabilim Dalı Başkanlığı)	Üye
4	Prof. Dr. Levent KENAR (Enstitü Tıbbi Kimyasal Biyolojik Radyolojik ve Nükleer Savunma Anabilim Dalı Başkanlığı)	Üye
5	Prof. Dr. Yusuf İZCİ (Gülhane Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanlığı)	Üye
6	Prof. Dr. Ali Kağan COŞKUN (Gülhane Genel Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanlığı)	Üye
7	Prof. Dr. Cantürk TAŞCI (Gülhane Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı)	Üye
8	Prof. Dr. Necmiye Ün YILDIRIM (Gülhane Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Fakültesi)	Üye
9	Prof. Dr. Fulya TOKSOY TOPÇU (Gülhane Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı Başkanlığı)	Üye
10	Prof. Dr. Ayten TÜRKKANI (Gülhane Tıp Fakültesi, Histoloji Anabilim Dalı Başkanlığı)	Sekreter
11	Prof. Dr. Gülten GÜVENÇ (Gülhane Hemşirelik Fakültesi, Doğum ve Kadın Hastalıkları Hemşireliği Anabilim Dalı Başkanlığı)	Üye
12	Prof. Dr. Dilek YILDIZ (Gülhane Hemşirelik Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı)	Üye
13	Dr. Öğr. Üyesi Mustafa GÜNEY (Gülhane Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı)	Üye
14	Dr. Öğr. Üyesi Eray Serdar YURDAKUL (Gülhane Tıp Fakültesi, Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı Başkanlığı)	Üye

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu
Etik-Ankara Telefon: 0 (312) 304 6135