



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
KARBAPENEM DİRENÇLİ
ACINETOBACTER BAUMANNII
İZOLATLARINDA
KARBAPENEMAZLARIN MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

NURSEDA BÜRKÜK

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ORHAN BAYLAN

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
EYLÜL/2022

İTHAF

“Tüm eğitim hayatım boyunca en büyük destekçim olan aileme ithaf ediyorum.”

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca danışmanlığımı üstlenen, eğitim ve öğretimime çok büyük katkı sağlayan, hoşgörüsüyle her zaman bana destek olan Prof. Dr. Orhan BAYLAN'a,

Bilgi ve deneyimleriyle tezimin deney aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, tecrübelerini bana aktaran, mesleki ve akademik alanlarda bana yol gösteren Doç. Dr. Mehmet KARAKUŞ'a,

Yüksek lisans eğitimim sürecinde anlattıkları dersler ile yetişmemde emekleri geçen Ana Bilim Dalı öğretim üyelerimiz Prof. Dr. Sebahat AKSARAY'a, Prof. Dr. Gülbu İŞİTMANGİL'e ve Dr. Öğr. Üyesi Aysun KAYA'ya,

Verilerimin istatistiksel analizinde yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Efe Serkan BOZ'a,

Pozitif kontrol suşlarımın temininde yardımlarından dolayı Prof. Dr. Elif AKTAŞ SEPETÇİ'ye, Doç. Dr. Tuğba KULA ATİK'e ve Dr. Öğr. Üyesi Gülşen ULUÇAM ATAY'a,

Çalışmamın gerçekleştirilebilmesi için 2022/041 sayılı projeyi destekleyerek bu tezin yapılmasına katkı sağlayan Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

RAPIDEC CARBA NP kitimin temininde bana sponsor olan bioMérieux şirketine,

Yüksek lisans eğitimimi keyifli hale getiren, bu süreci birlikte yaşamaktan mutluluk duyduğum ve sürekli desteğini hissettiğim arkadaşım İrem SERBEST'e,

Hayatım boyunca desteklerini bir an üzerinden çekmeyen, varlıklarından güç bulduğum canım aileme ve nişanlıma çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>ACINETOBACTER</i> SPP.....	3
2.1.1. Tarihçe ve Taksonomi	3
2.1.2. Mikrobiyolojik Özellikler ve Tanı	4
2.2. EPİDEMİYOLOJİ	5
2.3. PATOGENEZ VE VİRÜLANS FAKTÖRLERİ.....	6
2.4. <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> NEDENİYLE OLUŞAN ENFEKSİYONLAR.....	8
2.4.1. Hastane Kaynaklı Pnömoni	8
2.4.2. Toplum Kaynaklı Pnömoni	9
2.4.3. Kan Dolaşım Enfeksiyonları	9
2.4.4. Menenjit.....	9
2.4.5. Üriner Sistem Enfeksiyonları	10
2.4.6. Yumuşak Doku Enfeksiyonları	10
2.4.7. Diğer Enfeksiyonlar	10
2.5. <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> ENFEKSİYONLARININ TEDAVİSİ.....	10
2.5.1. Karbapenemler	11
2.5.2. Polimiksinler	13
2.5.3. Tigesiklin.....	14
2.5.4. Aminoglikozidler.....	14
2.5.5. Kinolonlar.....	15
2.5.6. Sefalosporinler.....	15
2.5.7. Trimetoprim-Sulfametoksazol.....	15
2.6. KARBAPENEMLERE DİRENÇ	15

2.6.1. Enzimatik Olmayan Mekanizmalar	16
2.6.1.1. Penisilin bağlayıcı proteinlerde değişiklik	16
2.6.1.2. Eflüks dışı atım pompaları	16
2.6.1.3. Dış membran proteinlerindeki değişiklik	17
2.6.2. Enzimatik Direnç (Beta Laktamaz Üretimi)	17
2.6.2.1. Sınıf A karbapenemazlar	19
2.6.2.2. Sınıf B karbapenemazlar	19
2.6.2.3. Sınıf D karbapenemazlar	21
2.7. KARBAPENEMAZ TESPİTİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER	24
2.7.1. Fenotipik Yöntemler	24
2.7.1.1. Karbapenem inaktivasyon yöntemi	24
2.7.1.2. Kombine disk testi	25
2.7.1.3. Çift disk sinerji testi	25
2.7.2. Biyokimyasal Yöntemler	25
2.7.2.1. RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa)	25
2.7.2.2. Blue-Carba testi	25
2.7.3. Genotipik Yöntemler	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> İZOLATLARININ SEÇİMİ	27
3.2. KLİNİK ÖRNEKLERİN TOPLANMASI, <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> İZOLATLARININ İZOLASYONU VE TANIMLANMASI	27
3.2.1. VITEK-2 (bioMérieux, Fransa) Çalışma Prensipleri	28
3.2.2. Disk Difüzyon Yöntemi	28
3.2.3. Kolistin Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi	29
3.3. KARBAPENEMAZLARIN FENOTİPİK YÖNTEMLERLE SAPTANMASI	30
3.3.1. Karbapenem İnaktivasyon Testi (CIM)	30
3.3.2. RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) Testi	30
3.4. KARBAPENEMAZLARIN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE SAPTANMASI	32
3.4.1. DNA İzolasyonu	32
3.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	33
3.4.2.1. <i>bla</i> _{OXA-23} , <i>bla</i> _{OXA-51} , <i>bla</i> _{OXA-58} genlerinin amplifikasyonu	34
3.4.2.2. <i>bla</i> _{KPC} geninin amplifikasyonu	35
3.4.2.3. <i>bla</i> _{IMP} geninin amplifikasyonu	36
3.4.2.4. <i>bla</i> _{NDM} geninin amplifikasyonu	37
3.4.3. Amplifikasyonun Agaroz Jel Elektroforezi ile Kontrolü	37
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	38

4. BULGULAR.....	39
4.1. ARAŞTIRMAYA DAHİL EDİLEN HASTALARIN DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ	39
4.2. ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLEN YATAN HASTALARIN KLİNİKLERİ VE KLİNİK ÖRNEKLERİN DAĞILIMLARI.....	40
4.3. İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI	42
4.4. KARBAPENEMAZLARIN FENOTİPİK YÖNTEMLERLE SAPTANMASI.....	46
4.5. KARBAPENEMAZLARIN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE SAPTANMASI.....	48
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	62
KAYNAKLAR	64
EK	75

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1: <i>Acinetobacter</i> spp. taksonomisi.....	3
Tablo 2.2: Etki spektrumlarına göre karbapenem grupları	12
Tablo 2.3: Beta laktamazların sınıflandırılması.....	18
Tablo 3.1: Disk difüzyon yönteminin sonuçlarının yorumlanmasında kullanılan zon çapı sınır değerleri.....	29
Tablo 3.2: RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) kit içeriği.....	31
Tablo 3.3: RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) test şeridi kuyucuk içerikleri ...	31
Tablo 3.4: Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan primerler.....	33
Tablo 3.5: Multipleks polimeraz zincir reaksiyonu test içeriği	34
Tablo 3.6: Multipleks polimeraz zincir reaksiyonu amplifikasyon koşulları	34
Tablo 3.7: <i>bla</i> _{KPC} polimeraz zincir reaksiyonu test içeriği	35
Tablo 3.8: <i>bla</i> _{KPC} polimeraz zincir reaksiyonu amplifikasyon koşulları	35
Tablo 3.9: <i>bla</i> _{IMP} polimeraz zincir reaksiyonu test içeriği.....	36
Tablo 3.10: <i>bla</i> _{IMP} polimeraz zincir reaksiyonu amplifikasyon koşulları.....	36
Tablo 3.11: <i>bla</i> _{NDM} polimeraz zincir reaksiyonu test içeriği	37
Tablo 3.12: <i>bla</i> _{NDM} polimeraz zincir reaksiyonu amplifikasyon koşulları	37
Tablo 4.1: Çalışmamızda test edilen <i>Acinetobacter baumannii</i> izolatlarının antibiyotik direnç durumları.....	44
Tablo 4.2: Fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması.....	48
Tablo 4.3: <i>Acinetobacter baumannii</i> izolatlarında araştırılan karbapenemaz genlerinin klinik örneklerin gönderildikleri kliniklere göre dağılımları	50
Tablo 4.4: Karbapenemaz genlerinin izole edildikleri klinik örneklere göre dağılımları... 51	51

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: MacConkey agarda <i>Acinetobacter baumannii</i> koloni görüntüsü.....	5
Şekil 3.1: RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) testi.....	32
Şekil 4.1: <i>Acinetobacter baumannii</i> izole edilen hastaların cinsiyet dağılımları.....	39
Şekil 4.2: <i>Acinetobacter baumannii</i> izole edilen hastaların yaş dağılımları	40
Şekil 4.3: <i>Acinetobacter baumannii</i> izole edilen klinik örneklerin dağılımları	40
Şekil 4.4: <i>Acinetobacter baumannii</i> izole edilen klinik örneklerin gönderildikleri kliniklere göre dağılımları.....	41
Şekil 4.5: <i>Acinetobacter baumannii</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık yüzdeleri.	42
Şekil 4.6: Kolistin mikrodilüsyon yöntemi	43
Şekil 4.7: Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle karbapenem direncinin doğrulanması..	43
Şekil 4.8: Karbapenem inaktivasyon testi pozitif ve negatif izolatlar.....	46
Şekil 4.9: RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) testi negatif ve pozitif izolatlar..	47
Şekil 4.10: <i>bla</i> _{NDM} jel elektroforez görüntüsü	48
Şekil 4.11: <i>bla</i> _{OXA-23} , <i>bla</i> _{OXA-51} , <i>bla</i> _{OXA-58} jel elektroforez görüntüsü	49
Şekil 4.12: <i>bla</i> _{KPC} jel elektroforez görüntüsü	49
Şekil 4.13: <i>bla</i> _{IMP} jel elektroforez görüntüsü	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

ARI-1	: <i>Acinetobacter</i> Resistant to Imipenem
ATCC	: American Type Culture Collection
BAL	: Bronkoalveolar Lavaj
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CIM	: Karbapenem İnaktivasyon Yöntemi
ÇİD	: Çok İlaça Dirençli
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	: Etilendiaminotetraasetik Asit
EMB	: Eosin-Metilen Blue
EUCAST	: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA	: Food and Drug Administration
LPS	: Lipopolisakkarit
MBL	: Metallo Beta Laktamaz
MHA	: Mueller-Hinton Agar
MHB	: Mueller-Hinton Broth
MİK	: Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu
MYSTIC	: Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection
Omp	: Dış Zar Proteini
OXA	: Oksasilinaz
PBP	: Penisilin Bağlayıcı Protein
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
QS	: Quorum Sensing
RND	: Resistance-Nodulation-Division

SMART : Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends

YBÜ : Yoğun Bakım Ünitesi



KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN KARBAPENEM DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII* İZOLATLARINDA KARBAPENEMAZLARIN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

ÖZET

Amaç: *Acinetobacter baumannii*, tüm dünyada hastane enfeksiyonlarına yol açan en önemli patojenlerden biridir. Çoklu ilaca dirençli *A. baumannii* izolatlarının tedavisinde kullanılan karbapenemlere karşı giderek artan direnç, endişe verici boyutlara ulaşmıştır. Karbapenem dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarında altta yatan direnç mekanizmasının tespiti, hastane kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması için gereklidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya, Ocak 2021-Aralık 2021 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Sultan 2. Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde yatan hastalardan Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli 100 *A. baumannii* izolatı dahil edilmiştir. Karbapenemaz varlığını saptamak amacıyla fenotipik yöntemlerden karbapenem inaktivasyon yöntemi ve RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) testleri kullanılmış; genotipik yöntemlerden ise PCR ile *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM} ve *bla*_{KPC} karbapenemaz direnç genleri araştırılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen izolatlar en çok trakeal aspirat kültüründen (%61) izole edildi ve klinik örnekler en çok Anesteziyoloji ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi'nden (%53) gönderildi. Klinik örneklerin tamamı imipeneme, siprofloksasine ve levofloksasine dirençli bulundu. Meropeneme %98 oranında direnç saptanırken *A. baumannii*'ye karşı en etkili antibiyotikler kolistin (%87) ve tigesiklin (%87) olarak tespit edildi. Karbapenemaz varlığını araştırmak için yapılan fenotipik testlerde CIM ile yedi, RAPIDEC CARBA NP ile dört izolatta negatiflik bulundu. PCR ile araştırılan direnç genlerinden *bla*_{OXA-51} %100, *bla*_{OXA-23} %38, *bla*_{NDM} ise %26 oranında saptandı. *bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP} ve *bla*_{KPC} direnç genlerine sahip hiçbir köken bulunamadı.

Sonuç: Hastanemize başvuran hastalardan izole edilen *A. baumannii* izolatlarındaki karbapenem direncine yol açan mekanizmalar arasında *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-23}* ve *bla_{NDM}*'nin baskın olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, Grup A karbapenemaz, Karbapenemaz, Metallo beta laktamaz, Oksasilinaz



INVESTIGATION OF CARBAPENEMASES BY MOLECULAR METHODS IN CARBAPENEM-RESISTANT *ACINETOBACTER BAUMANNII* ISOLATES ISOLATED FROM CLINICAL SPECIMENS

ABSTRACT

Aim: *Acinetobacter baumannii* is isolated as one of the most important factors causing nosocomial infections all over the world. Increasing resistance to carbapenems used in the treatment of multidrug-resistant *A. baumannii* isolates has reached alarming levels. Detection of the underlying resistance mechanism in carbapenem-resistant *A. baumannii* infections is necessary to prevent hospital-acquired infections and to take necessary precautions. The results obtained will contribute to the formation of epidemiological data.

Materials and Methods: The study included 100 carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates isolated from various clinical samples sent to the Medical Microbiology Laboratory from patients hospitalized in Sultan 2. Abdulhamid Han Training and Research Hospital of Health Sciences University between January 2021 and December 2021. Carbapenem inactivation method and RAPIDEC CARBA NP tests from phenotypic methods were used to detect the presence of carbapenemase, and resistance genes of *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM} and *bla*_{KPC} were investigated by PCR from genotypic methods.

Results: Isolates were most commonly isolated from tracheal aspirate culture (61%), and clinical specimens were mostly sent from the Anesthesia and Reanimation ICU (53%). All clinical specimens were resistant to imipenem, ciprofloxacin and levofloxacin. While 98% resistance to meropenem was detected, the most effective antibiotics against *A. baumannii* were colistin (87%) and tigecycline (87%). In the phenotypic tests performed to investigate the presence of carbapenemase, seven isolates were negative with CIM and four isolates with RAPIDEC CARBA NP. Among the resistance genes investigated by PCR, *bla*_{OXA-51} was 100%, *bla*_{OXA-23} was

38%, and bla_{NDM} was 26% positive. No isolates with the *bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP} and *bla*_{KPC} genes were detected.

Conclusion: Among the mechanisms leading to carbapenem resistance in *A. baumannii* isolates isolated from patients admitted to our hospital, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23} and *bla*_{NDM} were dominant.

Key Words: *Acinetobacter baumannii*, carbapenemases, Class A carbapenemases, Metallo beta lactamases, Oxacillinases



1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlk kez 1911 yılında tanımlanan *Acinetobacter* cinsi, günümüze kadar birçok enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkmıştır (1). *Moraxellaceae* ailesinin üyesi olan *Acinetobacter* cinsinde bulunan insan patojeni olarak en sık karşılaşılan tür *A. baumannii*'dir (1).

Acinetobacter baumannii, non-fermentatif gram negatif basil olup sıklıkla hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilmektedir. Özellikle yoğun bakım ünitesi (YBÜ)'nde yatan, mekanik ventilatör desteği alan, invaziv girişimlerin yapıldığı ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda fırsatçı patojen olarak enfeksiyona yol açar. Hastane kaynaklı pnömoni, *A. baumannii* kaynaklı enfeksiyonların başında gelse de kan dolaşım enfeksiyonları, menenjit, toplum kaynaklı pnömoni, üriner sistem ve yumuşak doku enfeksiyonlarına da sebep olabilmektedir. Çok ilaca dirençli (ÇİD) *A. baumannii*'nin sebep olduğu enfeksiyonlar, tedavi maliyetinin artmasına, hastanede yatış süresinin uzamasına ve mortalitenin artmasına yol açmaktadır (2).

Geniş spektrumlu antibiyotiklerin *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde uzun yıllar kullanımı sonucunda ÇİD izolatların ortaya çıkması kaçınılmaz olmuştur. Geçtiğimiz yıllara kadar ÇİD *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan karbapenem grubu antibiyotiklere karşı çok yüksek oranda direnç gelişmiştir. Penisilin bağlayıcı protein (PBP)'lerde değişiklik, efluks dışa atım pompasının aşırı ekspresyonu, dış membran proteinlerindeki (Omp) değişiklik ve en önemlisi karbapenemaz üretimi, karbapenem direncinden sorumlu mekanizmalardandır (1).

Acinetobacter baumannii'de karbapenem direncinden sorumlu tutulan karbapenemazların büyük bir kısmını oksasilinaz (OXA)'lar olarak bilinen sınıf D karbapenemazlar oluşturmaktadır. Bu sınıfta *A. baumannii*'lerde intrinsik olarak bulunan OXA-51 ile sonradan edinilen OXA-23, OXA-24 ve OXA-58 öne çıkmaktadır. Ayrıca sınıf A (KPC, GES, TEM) ve sınıf B (IMP, NDM, VIM) karbapenemazlar da *A. baumannii*'deki karbapenem direncinden sorumlu tutulan enzimlerdir.

Büyük bölümü plazmidler aracılığıyla taşınan karbapenemaz kodlayan direnç genleri, aktarılabılır olduğundan büyük öneme sahiptir. Karbapenem dirençli olan izolatların mortalite oranını arttırması ve tedavisi zor enfeksiyonlara yol açmasından dolayı bu dirence sebep olan gen varlığının tespit edilmesi oldukça önemlidir. Karbapenemaz varlığının saptanmasında altın standart yöntem, genotipik yöntemler olarak kabul edilse de rutin laboratuvar ortamında maliyet ve işçilik açısından uygulanması zor olabileceği için fenotipik yöntemlere de başvurulabilmektedir. Günümüzde geliştirilen birçok yöntem, bu amaçla kullanılmaktadır (2).

Çalışmamızda, karbapenem dirençli olduğu saptanan 100 *A. baumannii* izolatında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP}, *bla*_{NDM} ve *bla*_{KPC} direnç genlerini araştırmayı, CIM ve RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) testleri ile fenotipik olarak karbapenemaz varlığını göstermeyi, elde edilen sonuçların epidemiyolojik verilere katkı sunmasını ve bu doğrultuda gerekli hastane enfeksiyon önlemlerinin alınmasını amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ACINETOBACTER SPP.

2.1.1. Tarihçe ve Taksonomi

Acinetobacter cinsi, tarihte ilk kez 1911 yılında Hollandalı mikrobiyolog Beijerinck (1851–1931) tarafından kalsiyum asetat içeren ortamda zenginleştirilerek topraktan izole edilmiştir (1). İlk olarak *Mirococcus calcoaceticus* olarak isimlendirilen bu bakteri, günümüze kadar *Diplococcus mucosus*, *Moraxella lwoff*, *Bacterium anitratum*, *Neisseria winogradskyi*, *Achromobacter anitratus* ve *Achromobacter mucosus* gibi 15'ten fazla farklı isimle anılmıştır (2).

Achromobacter cinsi içerisindeki diğer bakterilerden hareketsiz olmaları ile ayrılan bu bakterilere Brisou ve Prevot tarafından 1954 yılında Yunanca'da "akinetos: hareketsiz" anlamına gelen *Acinetobacter* adı verilmesi önerilmiştir (3). Bunu takiben, 1968 yılında Baumann ve ark.'nın bakterinin biyokimyasal ve morfolojik özelliklerini ayrıntılı olarak ortaya koyması ile bu öneri kabul görmüştür (4). Taksonomi Komitesi ise yapılan bu çalışmalar sonucunda 1971 yılında *Acinetobacter*'i, cins ismi olarak onaylamıştır. *Acinetobacter*'ler, günümüzde *Moraxellaceae* ailesi içinde yer almaktadır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1: *Acinetobacter* spp. taksonomisi (4)

Alem	<i>Bacteria</i>
Şube	<i>Proteobacteria</i>
Sınıf	<i>Gamma Proteobacteria</i>
Takım	<i>Pseudomonadales</i>
Aile	<i>Moraxellaceae</i>
Cins	<i>Acinetobacter</i>

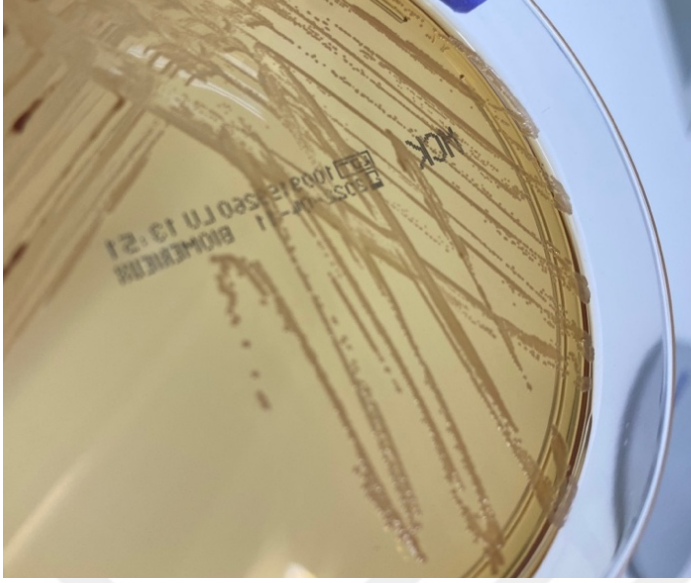
DNA benzerliklerinin temel alınarak yapıldığı çalışmalarda, 32 genomik tür saptanmıştır ve bunlardan bazıları özel isimlendirilmiştir. *A. baumannii*, *A. haemolyticus* ve *A. calcoaceticus* türleri, klinik örneklerde en sık saptanan

Acinetobacter türleridir. Tüm bu türler arasında insanlarda en sık klinik tabloya yol açan ise *A. baumannii*'dir (1).

2.1.2. Mikrobiyolojik Özellikler ve Tanı

Acinetobacter'ler hareketsiz, katalaz pozitif, indol ve oksidaz negatif, non-fermentatif gram negatif kokobasillerdir (1). Nazlı bakteri olmayan *Acinetobacter*'ler, laboratuvar ortamında 20-30°C'de bile üreyebilse de en iyi üreme sıcaklıkları, 33-35°C'dir. Üremenin eksponensiyal fazında 0.9-1.6 µl çapında, 1.5-2.5 µl uzunluğunda, genellikle çiftler halinde veya kısa zincirler halinde görünürken durağan fazda ise kok benzeri görünürler (2). Hücre duvarı, klasik gram negatif hücre duvarı yapısındadır; fakat peptidoglikan tabakasının kristal viyole boyasını tutma eğilimi nedeniyle saf kültür kullanılarak hazırlanan preparatlarda gram pozitif kok gibi görünebilmektedir (5). Bu nedenle bu bakteriler, Gram boyalı preparatlarda *Neisseria* ve *Haemophilus* cinsleri ile karışabilmekte, ayrımları oksidaz testi ile yapılabilmektedir. *Enterobacteriales* takımından ise glikozu fermente edememesi, nitratı indirgeyememesi ve zorunlu aerop olmasıyla ayrılmaktadır (6).

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan genel üretim besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilen *Acinetobacter*'ler, koyun kanlı agarda 37°C'de 18-24 saat inkübasyon sonucu tipik morfolojisi olan 2-3 mm çapında koloniler oluştururlar. Koloniler pigmentsiz, beyaz-krem renkli olabildiği gibi bazı kapsüllü izolatlarda mukoid koloni görmek de mümkündür (7). *A. haemolyticus* başta olmak üzere bazı izolatlar, koyun kanlı agarda hemoliz oluşturabilmektedir. Eozin-metilen mavisi (EMB) agarda laktoz negatif ve mavimsi-grimsi koloniler oluştururken MacConkey agarda enterobakterilerden daha küçük, şeffaf ya da pembemsi, S tipi koloniler oluştururlar (5) (Şekil 2.1). Üç şekerli demirli besiyerinde asit oluşturmazlar, dolayısıyla besiyerinde sarı renk değişimi görülmez. Klinik izolatlardan kolaylıkla izole edilmesi için bazı seçici-ayırt edici besiyerleri de yaygın olmasa da kullanılabilir. Bu besiyerlerinden en çok kullanılanları ise diğer mikroorganizmaların üremesini engelleyen bromkrezol moru, safra tuzları ve şeker içeren Herellea agar ve bazı gerekli antibiyotikleri içeren Leeds *Acinetobacter* Medium'dur. Dışkı ve toprak gibi kontamine örneklerden izole etmek amacıyla ise amonyum veya nitrat tuzları içeren sıvı mineral besiyerleri kullanılmaktadır.



Şekil 2.1: MacConkey agarda *Acinetobacter baumannii* koloni görüntüsü

Rutin laboratuvar ortamında, *Acinetobacter*'ler arasında tür tayini belirli biyokimyasal özellikler ve üreme koşullarına göre yapılabilmektedir. Klinikte sık karşılaşılan türlerin ayrımında, glikozu oksitleyen, hemoliz yapamayan ve 44°C'de üreyebilen türler *A. baumannii*; glikozu oksitleyemeyen, hemoliz yapamayan türler *A. lwoffii*; hemoliz yapan türler ise *A. haemolyticus* olarak isimlendirilmektedir. 37°C'de üreyememe özelliği ise *A. johnsonii* türünü diğer türlerden ayırmaktadır (8).

2.2. EPİDEMİYOLOJİ

Acinetobacter'ler, canlılığını sürdürebilmek amacıyla ihtiyaç duyduğu gereksinimleri en düşük seviyede tutarak, birçok ortamda ve besinde yaşayabilen, sağlık sistemi ile ilişkilendirilen ve salgınlara yol açan önemli fırsatçı patojenlerdir. Kuruluğa dayanıklı olmaları, cansız yüzeylerde uzun süre canlı kalabilmeleri ve farklı ısı ve pH ortamlarından etkilenmemeleri, özellikle *A. baumannii* izolatlarının bu salgınlara başlıca nedeni olmasına sebep olmaktadır. *A. baumannii*'nin, sağlıklı insanların koltuk altı, kasık gibi nemli bölgelerindeki deri mikrobiyotasında, ağız boşluğunda ve gastrointestinal sistem mikrobiyotasında bulunabildiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (8).

A. baumannii izolatlarının ÇİD olarak tanımlanması için tedavide kullanımı onaylanmış antibiyotik gruplarından üç veya daha fazlasına karşı direnç göstermesi gerekmektedir. Bu antibiyotik grupları; aminoglikozidler (amikasin, gentamisin),

karbapenemler (imipenem, meropenem), kinolonlar (siprofloksasin, levofloksasin), polimiksinler (kolistin ve polimiksin B) ve sefalosporinler (seftazidim, sefepim) olarak sıralanabilmektedir. Birçok araştırmacı, ÇİD *A. baumannii* suşlarının yayılma riskini arttıran durumları araştırmış ve hastaların genel özelliklerini incelemiştir (9). Tüm bunlar dikkate alındığında uzun süreli hastanede yatışın, çok sayıda cerrahi girişimin, yoğun bakım yatış süresince uygulanan mekanik ventilasyon desteğinin, kan transfüzyonunun ve özellikle karbapenem ve üçüncü kuşak sefalosporinler gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının ÇİD *A. baumannii* izolatlarının yaygınlaşmasına sebep olabileği tespit edilmiştir (10).

Acinetobacter baumannii, hastanelerin yanısıra suda ve toprakta yaygın olarak bulunmakta ve insanlarda kolonize olabilmektedir. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar incelendiğinde, Avrupa ve Kuzey Amerika ülkeleri yanısıra, Çin, Japonya, Hong Kong, Brezilya ve Güney Kore dahil olmak üzere dünyanın birçok farklı ülkesinde ÇİD *A. baumannii* kaynaklı enfeksiyonlar bildirilmiştir. Bu enfeksiyonların çoğunluğunun ise hastane enfeksiyonu olduğu saptanmıştır (11). Hastane enfeksiyonlarının yanısıra dünyanın tropikal bölgelerinde sıcak ve nemli aylarda toplum kaynaklı pnömoni olguları da bildirilmiştir (1). Birleşik Krallık ve ABD ordusunda, Afganistan ve Irak'ta görevleri sırasında yaralanan askeri personellerden oldukça dirençli *Acinetobacter baumannii calcoaceticus* kompleksi izole edildiği tespit edilmiştir (12).

2.3. PATOGENEZ VE VİRÜLANS FAKTÖRLERİ

Acinetobacter baumannii'nin patojenitesinden sorumlu virülans faktörleri, fenotipik ve genotipik analizlerle halen belirlenmeye devam edilmektedir ve diğer gram negatif bakterilerin virülans faktörlerine kıyasla oldukça azdır. Polisakkarit kapsül, fimbrium, lipid A, lipopolisakkarit (LPS), biyofilm oluşumu, quorum sensing (QS) mekanizması ve Omp, *A. baumannii* patogenezinde rol oynayan önemli virülans faktörlerindedir (13).

Gram negatif bakterilerin Omp'leri, hücre dış zarı permeabilitesini modüle etmek ile görevlidir ve virülansta anahtar oyunculardır. Omp'lerin, konak hücrelerde patogeneze ve adaptasyona katkı sağlamasının yanı sıra, antibiyotik direncinde de önemli rolü vardır (14). *A. baumannii*'de OmpA, dış zarda en çok bulunan porindir ve *in vitro* model sistemlerinde önemli biyolojik özelliklere sahip olduğu belirlenen ve çok iyi karakterize edilmiş bir virülans faktördür (13). Yapılan çalışmalar, OmpA'nın konak

epitel hücrelerine bağlanmasını takiben mitokondride lokalize olduğunu, burada sitokrom c ve apoptoz indükleyen faktörün salınımıyla hücre ölümüne yol açtığını göstermektedir (15). Aynı zamanda OmpA, fibronektin ile etkileşime girerek adezyon ve invazyonun gerçekleşmesinde görev alır ve insan serumunda bulunan H faktörüne bağlanır (16). Bu durum *A. baumannii*'nin, kompleman aracılı öldürmeden kaçmasına olanak sağlar. OmpA geninin mutasyonu ile yapılan çalışmalar, kloramfenikol, aztreonam ve nalidiksik asit gibi bazı antibiyotiklerin minimal inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerlerinin düştüğünü göstermiştir ve bu durum, OmpA'nın antibiyotik direncinde de önemli rol oynadığını kanıtlamaktadır (14). *A. baumannii*'nin sitotoksitesinde önemli rol oynayan bir başka Omp olan Omp 33-36 proteini, su kanalı görevi görür ve ekspresyonu, karbapenem grubu antibiyotiklere direnç ile ilişkilidir. Omp 33-36 delesyonu olan murin sepsis modelinde yapılan çalışma (17), dalak ve akciğerde bakteri konsantrasyonunu azaltmakla birlikte, öldürücülüğü de azalttığını göstermiştir. Bu durum, Omp 33-36'nın *A. baumannii* için önemli virülans faktörlerinden biri olduğunu göstermektedir.

Demir, neredeyse tüm bakteriyel patojenler için gerekli olan bir elementtir ve konak-patojen ilişkisinde önemli bir rol oynamaktadır (18). Bu nedenle *A. baumannii*, metal ihtiyacını karşılamak için birçok siderofor salgılayarak bakteri için gerekli olan demiri konak dokusundan temin eder. *A. baumannii* tarafından salgılanan baumannoferrin, asinetobaktin ve fimsbaktin gibi sideroforlar arasında virülansa en çok katkıda bulunanın asinetobaktin olduğu bildirilmiştir (19).

Bakteriyel biyofilmler, dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Son yıllarda biyofilm oluşumu ile birlikte gelişen antibiyotiğe dirençli gram negatif bakterilerin varlığı, endişe verici şekilde artmaktadır (20). Biyofilmler, hücre dışı matriks ile kaplanan biyotik veya abiyotik yüzeyler üzerindeki bakteri popülasyonlarıdır ve patogeneizde önemli rol oynayarak tedaviyi zorlaştırmaktadır (21). *A. baumannii* biyofilmlerinin oluşmasında çeşitli biyolojik ve çevresel unsurlar yer almaktadır. Biyofilm ile ilişkili protein, OmpA, *bla*_{PER-1} beta-laktamaz geni ve sideroforların, *A. baumannii* biyofilm oluşumunda önemli rol aldıkları gösterilmiştir. Aynı zamanda OmpA ve *bla*_{PER-1}'in epitel hücrelere adezyondan ve yüzeylere bağlanılmasından sorumlu olduğu bildirilmiştir (22).

Polisakkarit kapsül, L-ramnoz, D-glikoz, D-mannoz ve D-glikronik asitten meydana gelmekte olup bakterinin fagosite edilmesine engel olmakta, aynı zamanda bakteriyi konağın bağışıklık sisteminin olumsuz etkilerine karşı korumaktadır. Fimbrium, bakteri hücresinin konak epitel hücrelerine adezyonunu sağlarken hücre duvarının LPS tabakasında bulunan lipid A, endotoksin özelliği sayesinde toksisiteyi artırarak patojeniteye katkıda bulunmaktadır (23).

Quorum sensing mekanizması olarak adlandırılan çevreyi algılama sistemi, *A. baumannii*'de patojeniteyi arttıran ve aynı zamanda antimikrobiallere karşı direnç gelişimine neden olan önemli bir virülans faktörüdür. Sinyal molekülleri aracılığıyla bakteriler arasında iletişime olanak sağlayan bu mekanizma ile mikroorganizmalar, buldukları ortamdaki besin, oksijen, pH gibi değişimleri algılayabilmekte, aynı zamanda ortama adaptasyonunu da kolaylaştırabilmektedir (24). *N*-açıl homoserin lakton yapısında olan QS sinyal molekülleri, bakterilerin belirli bölgede toplanmasına olanak sağlayarak bu bölgedeki biyofilm oluşumunu tetiklediği de bilinmektedir (25).

2.4. ACINETOBACTER BAUMANNII NEDENİYLE OLUŞAN ENFEKSİYONLAR

Acinetobacter baumannii, daha çok hastane kaynaklı fırsatçı enfeksiyonlara, zaman zaman ise toplum kaynaklı enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Yayıldığı doku ve organlarda piyojenik enfeksiyon oluşturur. Solunum yolu enfeksiyonu, bakteriyemi, menenjit, üriner sistem enfeksiyonu, yumuşak doku enfeksiyonu, sinüzit, peritonit gibi çeşitli klinik tablolara sebep olabilmektedir. Geçtiğimiz yıllar boyunca artan ÇİD kökenler, yüksek morbidite ve mortalite oranına sahip olabilmekte ve bu da oluşan enfeksiyonun ciddiyetini arttırmaktadır (26). Hastane kaynaklı *A. baumannii* enfeksiyonlarında görülen yaklaşık %30'luk ölüm oranı, hastalığın ne denli ciddi olduğunu göstermektedir (2).

2.4.1. Hastane Kaynaklı Pnömoni

Hastane kaynaklı pnömoni, hastaneye yatıştan en az 48 saat sonra gerçekleşen akciğer enfeksiyonu olarak tanımlanmaktadır (26). Çoğu *A. baumannii* izolatu, mekanik ventilasyon gerektiren yoğun bakım hastalarının solunum yolu örneklerinden izole edilmektedir; fakat üst solunum yolu kolonizasyonunu pnömoniden ayırt etmek neredeyse imkânsızdır. Uzun süreli yoğun bakımda kalış, geniş spektrumlu antibiyotik

kullanımı, cerrahi girişimler, bağışıklığı baskılayan tedavi, gastrik ve endotrakeal tüp kullanımı, damar içi kataterizasyon ve ilerlemiş yaş, kolonizasyon ve enfeksiyon riskini arttıran önemli faktörlerdendir (27). Bununla birlikte ÇİD *A. baumannii*'nin sebep olduğu ventilatörle ilişkili pnömoni, YBÜ'de yatan kritik hastalarda yüksek mortalite oranlarına sebep olan nedenlerden birisidir. Yapılan çalışmalar, *A. baumannii*'nin ventilatörle ilişkili pnömoninin %8 ile %50'sinden sorumlu olduğunu göstermektedir (27).

2.4.2. Toplum Kaynaklı Pnömoni

Özellikle tropik bölgelerde rastlanan toplum kaynaklı pnömoni, hastane kaynaklı pnömoni ile kıyaslandığında oldukça düşük oranda görülmektedir. Risk faktörleri arasında aşırı alkol kullanımı, diyabet, sigara ve kronik akciğer hastalığı bulunmaktadır ve %40 ile %60'lık bir ölüm oranına sahiptir (28,29).

2.4.3. Kan Dolaşım Enfeksiyonları

Acinetobacter baumannii, kan dolaşım enfeksiyonlarına sebep olan mikroorganizmalar arasında üst sıralardan bulunmaktadır. Bu enfeksiyona en yaygın olarak intravasküler ve solunum yolu kataterleri neden olmakta ve ölüm oranı, yoğun bakım hastalarında %40'ları bulmaktadır (30). Bakteriyemi gelişen hastaların büyük çoğunluğunu yaşlı ve bağışıklığı baskılayan tedavi gören kişiler oluşturmakla birlikte yenidoğanlar da risk grubu içerisinde sayılmaktadır. Düşük doğum ağırlığı, mekanik ventilasyon desteği ve yenidoğan konvülsiyonlarının varlığı, bakteriyemi gelişmesi olasılığını arttıran faktörlerdendir (8).

2.4.4. Menenjit

Çok ilaca dirençli *A. baumannii*, özellikle kalıcı ventrikülostomi tüpleri veya beyin omurilik fistülü bulunan ve operasyon sonrası geniş spektrumlu antibiyotik kullanan hastalarda sekonder menenjit etkeni olarak görülürken primer menenjit etkeni olarak çok fazla karşılaşılmamaktadır. Erişkinlerde bakteriyel menenjitte *A. baumannii*, gram negatif basillerin %40'ından, tüm hastane menenjitlerinin ise %4'ünden sorumlu tutulmuştur (31). Beyin operasyonu sonrası menenjitlere sebep olan *A. baumannii* izolatlarının %21'inin yalnızca kolistin ve tigesikline duyarlı olan ÇİD izolatları olduğu ve bu enfeksiyonlarda mortalite oranının yaklaşık %70'e ulaştığı bildirilmiştir (32).

2.4.5. Üriner Sistem Enfeksiyonları

Çoğunlukla uzun süreli üriner katateri olan yaşlı hastalarda enfeksiyona yol açsa da oldukça nadir olarak rastlanmaktadır. YBÜ kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarının yalnızca %1,6'sından sorumludur. *A. baumannii* kaynaklı üriner sistem enfeksiyonu saptanan hastaların %80'i erkektir. Sağlıklı bireylerde üriner sistem enfeksiyonuna sebep olması, çok nadir rastlanan bir durumdur (33).

2.4.6. Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Acinetobacter baumannii kaynaklı oluşan yumuşak doku enfeksiyonlarının başlıca risk faktörleri arasında travmatik yara, yanık, cerrahi girişim, katater uygulamaları yer almaktadır. Irak ve Afganistan'da savaş sırasında yaralanan askerlerin yara bölgelerinden izole edilen *A. baumannii*, ciddi oranda salgınlara yol açmıştır ve askeri bölgelerde açık kırıklardan en çok izole edilen patojen olarak bildirilmiştir (34).

2.4.7. Diğer Enfeksiyonlar

Acinetobacter baumannii'nin endokardit ile ilişkilendirildiği oldukça az olgu vardır ve bu olguların çoğunluğunun protez kapağa sahip olduğu bildirilmiştir (35). Bazı olgularda kontak lens kullanımına veya göz ameliyatına bağlı olarak endoftalmi veya keratit görülebilmektedir. Pankreas ve karaciğer absesi ile sinüzit de *A. baumannii* kaynaklı görülen nadir enfeksiyonlar olarak sıralanabilmektedir (36).

2.5. ACINETOBACTER BAUMANNII ENFEKSİYONLARININ TEDAVİSİ

Acinetobacter baumannii, yaşamı ciddi şekilde tehdit eden nozokomiyal enfeksiyonlara yol açmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), yeni antimikrobiyallerin araştırılması ve geliştirilmesi için öncelikli patojenleri yayınladığı listede, karbapenem dirençli *A. baumannii*'nin kritik patojen olduğunu belirtmiştir. *A. baumannii*'nin halihazırda mevcut olan birçok antimikrobiyal ajana karşı direnç geliştirmesi ve yerleşik bir tedavi rejiminin olmaması, tedavide zorluk yaşanmasına yol açmaktadır. Enfeksiyonlarının tedavisinde monoterapi yeterli olmadığından kombine tedaviler tercih edilmektedir (37).

2.5.1. Karbapenemler

Karbapenemler, yapı olarak penisiline benzeyen yarı sentetik geniş spektrumlu beta laktam antibiyotik grubudur. Penisilinden farklı olarak C1'de kükürt atomu, kükürt atomuna da tiazolidin halkası bağlanmıştır. C2 ve C3 arasında doymamış bağlar vardır ve C6'da bulunan trans hidroksietil grubu, beta laktamaz hidrolizine karşı dayanıklılık sağlamanın yanısıra karbapenem aktivitesi ve stabilitesi için en önemli bileşendir (38). Gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı en etkili antibiyotiklerden olmalarından dolayı nozokomiyal enfeksiyonların tedavisinde yüksek öneme sahiptirler (37).

Karbapenemler, hücre duvarını direkt olarak geçemezler, bunun yerine Omp'ler aracılığı ile PBP'lere bağlanarak etki göstermektedirler (39). PBP'ler, bakteri hücre duvarında peptidoglikan sentezinden sorumlu sitoplazmik membran proteinleri olarak tanımlanmaktadır ve karbapenemler, bu yapılara geri dönüşümsüz olarak bağlanabilmektedir. Karbapenem, PBP'lere bağlandığında bakteri hücre duvarı için gerekli olan peptidoglikan tabakasının sentezi engellenir ve böylece hücre duvar oluşumu inhibe edilir. Bu durum ise osmotik basınç karşısında hücre ölümüyle sonuçlanır (40).

Klinik olarak kullanımı onaylanmış karbapenem grubu antibiyotikler arasında imipenem, meropenem, doripenem ve ertapenem bulunmaktadır. Karbapenemlerin farklı PBP'lere karşı afinitesi, bakteri türleri arasında farklılıklar göstermektedir ve karbapenemleri diğer beta laktamlardan ayıran önemli farklardan biri, PBP-1a ve PBP-1b için oldukça güçlü afiniteye sahip olmalarıdır. Bu fark, karbapenemleri diğer beta laktamlardan ayırırken PBP-2 ve PBP-3 afinitesi, karbapenem grubu antibiyotikleri kendi arasında ayırmaktadır (41). İmipenem, PBP-2 için en yüksek afiniteye sahipken bunu PBP-1a, PBP-1b ve PBP-3 takip eder. Meropenem ve ertapenem de imipenem ile aynı şekilde PBP-2'ye en yüksek afiniteyi gösterir; fakat farklı olarak bunu PBP-3, PBP1-a ve PBP-1b takip etmektedir. Farklı antimikrobiallerin farklı PBP'lere karşı olan afinitesi, antimikrobiyal aktivitedeki farklılığı açıklayabilmektedir (38).

Yapılan klinik çalışmalar ve elde edilen veriler doğrultusunda karbapenemler, kendi içinde gruplara ayrılmıştır. Ertapenem ve panipenem, Grup 1'de yer alır ve non-fermentatif gram negatif basillere karşı etkisizdir. Bu gruptaki antibiyotiklerin toplum kaynaklı enfeksiyon tedavisinde kullanımı tercih edilmektedir. İmipenem, meropenem ve doripenem ise Grup 2'de yer alır. Bu gruptaki ajanlar, en geniş etki spektrumuna

sahiptir ve non-fermentatif gram negatif basillere karşı yüksek etkinliğe sahiptir. Aynı zamanda nozokomiyal enfeksiyonların tedavisi için oldukça etkili seçeneklerdir. Grup 3'te yer alan karbapenemler ise tomopenem ve rezupenemdir. Non-fermentatif gram negatif basil ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* tedavisinde kullanılabilir (42). Etki spektrumlarına göre karbapenem grupları, Tablo 2.2'de özetlenmiştir.

Tablo 2.2: Etki spektrumlarına göre karbapenem grupları

Grup	Antibiyotik	Etki Spektrumu
Grup 1 Karbapenemler	Ertapenem Paripenem	Non-fermentatif gram negatif basillere etkisiz Toplum kaynaklı pnömoni tedavisi
Grup 2 Karbapenemler	İmipenem Meropenem Doripenem	Non-fermentatif gram negatif basillere etkili Geniş spektrumlu Nozokomiyal enfeksiyon tedavisi
Grup 3 Karbapenemler	Tomopenem Rezupenem	Non-fermentatif gram negatif basil ve metisiline dirençli <i>S. aureus</i> tedavisi

En eski karbapenem grubu antibiyotik imipenemdir (43). İmipenem, diğer karbapenemlerle karşılaştırıldığında gram pozitiflere karşı daha güçlü etkinlik göstermektedir. Post-antibiyotik etki, diğer beta laktam grubu antibiyotiklerde yalnızca gram pozitif bakteriler arasında görülürken imipenem, PBP-2'ye bağlanarak bakteride sferoplast formasyonuna yol açmakta ve bu sayede hem gram negatif hem de gram pozitif bakteriler üzerinde post-antibiyotik etki gösterebilmektedir (44). Böbrekte bulunan dehidropeptidaz enzimi tarafından hidrolize olmaktan korunmak için silastatin ile birlikte kullanılmaktadır. PBP'lere yüksek oranda aktiflik gösterdiği ve beta laktamlara karşı dirençli olduğu için uzun yıllar boyunca başta nozokomiyal enfeksiyonlar olmak üzere birçok enfeksiyon tedavisinde kullanılmıştır; fakat son yıllarda artan direnç oranları ile tedavide etkisiz hale gelmeye başlamıştır. Ek olarak "Food and Drug Administration" (FDA), menenjit veya merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarının tedavisinde nörolojik rahatsızlığı veya böbrek yetmezliği olan kişilerde nöbetlere yol açma riski olduğundan dolayı imipenem kullanımını önermemektedir (45).

Meropenem, imipenemden farklı olarak 1-β-metil grubu içerir. Bu grup, meropenemi böbrekte dehidropeptidaz enzimine karşı koruduğundan dolayı silastatin ile

birlikte kullanımına gerek duyulmaz. Aynı zamanda FDA tarafından menenjit olgularında kullanılması da onaylanmıştır. En küçük beta laktam grubu antibiyotiklerden olan meropenem, en etkili karbapenem grubu antibiyotik olarak bilinmektedir. Yıllar boyunca hastane kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde en güvenilir antimikrobiyal ajan olarak kullanılmıştır (42).

Ertapenem, non-fermentatif gram negatif bakteri kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde tercih edilmemektedir. Toplum kaynaklı pnömoni, deri ve üriner sistem enfeksiyonları gibi toplum kaynaklı bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (45).

2.5.2. Polimiksinler

Polimiksinler (B ve E), uzun yıllardan beri kullanımda olan ve çoğu gram negatif bakterilere karşı güçlü etkisi olan polikasyonik peptid antibiyotik grubudur (46). 1940'lı yıllarda keşfedilen polimiksinler, yüksek toksisitesi nedeniyle uzun süre kullanım dışı kalsa da 1990'lı yıllardan sonra yalnızca polimiksin E (kolistin) duyarlı izolatların ortaya çıkmasıyla tekrar gündeme gelmiştir (47). Literatürde çoğunlukla kolistin üzerinde yoğunlaşılmasına karşın, polimiksin B'nin de karbapenem dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde rolü vardır.

Kolistin, pnömoni, bakteriyemi ve menenjit tedavisinde başarıyla kullanılmaktadır. LPS ile etkileşime girerek hücre zarının yapısını bozar ve membran geçirgenliğini artırarak hücre ölümüne yol açar (48). Aynı zamanda lipid A'ya bağlanarak endotoksin özelliğini sınırlandırır. Bakterisidal etki gösteren kolistinin *A. baumannii*'ye karşı olan etkisi, kullanılan konsantrasyona bağlı olarak değişmektedir; fakat terapötik ilaç konsantrasyonunu belirlemede zorluklar yaşanmaktadır (49). Kolistin, aktif formunda hidrolize edilmeyi gerektiren ön ilaç olan kolismetat sodyum ve kolistin sülfat olmak üzere iki şekilde kullanımda yer almaktadır (50). Kolismetat sodyumum %70'lik kadar büyük bir bölümü idrar ile atılmaktadır, yaklaşık %30'u kolistinin aktif formuna dönüşmektedir. Böbrek fonksiyonu azaldıkça, daha yüksek oranda kolismetat sülfat kolistine dönüşeceği için, dozlaması oldukça zordur (51).

Nefrotoksisite ve nörotoksisite, kolistin kullanımına bağlı olarak gelişen en yaygın yan etkilerdir. 35.569 hastayı içeren bir meta-analize (52) göre, kolistin kullanımına bağlı gelişen nefrotoksisite oranı %39 olarak bulunmuştur. Aynı zamanda

kolistin kullanımında tutarsız dozlama ve yaygın kullanım, direnç sorununu da arttırmaktadır. Sonuç olarak, polimiksin monoterapisi yerine en az bir başka antimikrobiyal ajan ile kombine tedavi seçeneğinin kullanılması önerilmektedir (52).

2.5.3. Tigesiklin

Glisiklin sınıfının üyesi olan tigesiklin, monosiklinin sentetik bir türevidir (53). 30S ribozomal alt birime bağlanarak bakteriyostatik etki gösterir ve gram pozitif, gram negatif ve anaerob bakteriler de dahil olmak üzere geniş bir etki spektrumuna sahiptir (54). Klinik raporlar, neden olduğu bakteriyemi, ventilatörle ilişkili pnömoni, yumuşak doku ve cilt enfeksiyonları gibi *A. baumannii* izolatlarının sebep olduğu enfeksiyonlarda tigesiklin tedavisinin başarılı sonuç verdiğini bildirmiştir (55). Üriner sistem enfeksiyonunda ise, tigesiklin idrar yoluyla atılmadığı için önerilmemektedir (56). Tigesiklinin monoterapi olarak kullanımında, yüksek doz kullanım gerektiği gözlemlenmiştir ve bunun sonucunda ise direnç gelişimi, kaçınılmaz olmuştur (57). Bu sebeple monoterapi yerine kombine tedavi olarak kullanılması, farklı bir antimikrobiyal ajan kullanılabilceği durumda ise tigesiklin kullanılmaması gerektiği sonucuna varılmıştır. Tigesiklin direnci, atım pompalarının aşırı ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (53).

2.5.4. Aminoglikozidler

Aminoglikozidler, iki ya da daha fazla amino şekerin birbirine glikozid bağıyla bağlanmasıyla meydana gelen antibiyotik grubudur. Bakterilerde 30S ribozomal alt birime bağlanarak protein sentezini engelleyen aminoglikozidler, bakterisidal etki gösterirler. Amikasin, gentamisin ve tobramisin, bu grup içerisinde bulunan ve karbapenem dirençli *A. baumannii* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan başlıca antimikrobiyallerdir (58). Özellikle bakteriyemi ve sepsis gelişimine yol açan gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan bu seçeneklerin diğer antimikrobiyal ajanlarla birlikte kombinasyon halinde kullanılması önerilmektedir (59). Ototoksisite ve nefrotoksisite sık görülen yan etkilerindedir. Toksisite, doza ve zamana bağlı olarak değişmektedir ve tek doz uygulamanın daha az toksik etkiye yol açtığı görülmüştür (60). Diğer patojenlere kıyasla, *A. baumannii*'de aminoglikozid direncine daha fazla rastlanmaktadır. Bu direnç, aminoglikozid modifiye edici enzimler ve efluks dışı atım pompası mekanizmaları ile oluşmaktadır (61).

2.5.5. Kinolonlar

Kinolonlar, diğer antimikrobiyal ajanlardan DNA sentezini direkt inhibe etmesiyle ayrılmaktadır. DNA giraz ve topoizomerez IV ile etkileşime girer ve DNA sentezi ve mRNA oluşumunu durdurarak nükleik asit sentezini engeller. Uygulanan konsantrasyona bağlı olarak değişken etkinlik göstermektedir. *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan kinolonlar, levofloksasin, siprofloksasin ve ofloksasindir. Geçmişte ÇİD *A. baumannii* enfeksiyonlarında kombine tedavi seçeneği olarak siprofloksasin yaygın olarak kullanılsa da günümüzde kinolonlara karşı yüksek oranda direnç mevcuttur (62).

2.5.6. Sefalosporinler

Sefalosporinler, *Cephalosporium* türü mantarlardan elde edilen sefalosporin-C türevi antimikrobiklerdir ve hücre duvar sentezinde görev alan PBP'lere bağlanarak hücre duvar sentezini bozarlar (62). Dozdan bağımsız olarak bakterisidal etki gösteren sefalosporinler, kendi aralarında beş kuşak altında sınıflandırılırlar. Birinci kuşak sefalosporinler, gram pozitif koklar üzerine etkiliyken beşinci kuşağa gidildikçe gram negatif bakterilere karşı etkinlik artmaktadır. Sefalosporinler grubu altında *Acinetobacter* enfeksiyonlarında kullanılan en önemli antimikrobikler, üçüncü kuşak sefalosporinlerden seftazidim ve dördüncü kuşak sefalosporinlerden sefepimdir.

Seftazidim, duyarlı *Acinetobacter* enfeksiyonlarında kullanılabilir de antipsödomonal etkinliği ön plandadır. Ancak yapılan araştırmalarda seftazidime karşı yüksek oranda direnç geliştiği gösterilmiştir ve dolayısıyla günümüzde kullanımını oldukça sınırlanmıştır (62).

2.5.7. Trimetoprim-Sulfametoksazol

Trimetoprim-sulfametoksazol, sentetik diaminoprimidin olan trimetoprim ve sülfanomid olan sülfametoksazolün kombinasyonundan oluşmaktadır. Gram pozitif bakterilere, *Enterobacteriaceae* ve *Acinetobacter* spp. üzerine etki göstermelerine karşın *Pseudomonas aeruginosa* ve anaerobik bakterilere karşı etkisizdirler (37).

2.6. KARBAPENEMLERE DİRENÇ

Acinetobacter baumannii izolatları arasında gittikçe artan antimikrobiyal direnç sonucunda neredeyse tüm mevcut antibiyotiklere dirençli izolatlar ortaya çıkmıştır (63).

Bu izolatların sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan mevcut ajanlar, hızla gelişen direnç eğiliminden etkilenmekte ve tedavi seçenekleri sınırlanmaktadır (64). ÇİD *A. baumannii* izolatları sıklıkla izole edilmekte ve bu enfeksiyonların tedavisi giderek daha zor hale gelmektedir (65).

Gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı etkili aktivite gösteren karbapenemler, beta laktam antibiyotikler arasında en geniş spektruma sahip gruptur. Beta laktamazlar ise beta laktam grubu antibiyotiklere direnç gelişmesinde rol oynayan enzimlerdir. Bu enzimler, yapısal olarak PBP'lerin bağlandığı d-Ala-d-Ala bölgesine benzemektedir ve peptidoglikan sentezinin son aşaması olan transpeptidasyonu inhibe ederek etki göstermektedirler. Ayrıca beta laktamaz üretimi, Omp'lerdeki değişiklik ve efluks dışa atım pompalarının fazla çalışması da karbapenem direncine yol açan etkenlerdir (66).

2.6.1. Enzimatik Olmayan Mekanizmalar

Karbapenem direncine yol açan enzimatik olmayan direnç mekanizmaları PBP'lerdeki değişiklik, efluks dışa atım pompaları ve Omp'lerin yapı ve sayısındaki değişiklikler olarak sıralanmaktadır.

2.6.1.1. Penisilin bağlayıcı proteinlerde değişiklik: PBP'ler, beta laktam grubu antibiyotiklerin bağlandığı hücre yüzey proteinleridir. Hücre duvar sentezi sırasında peptidoglikan polimerizasyonunu katalize etmekten sorumlulardır. PBP'ler, yüksek ve düşük molekül ağırlığına göre iki gruba ayrılırlar. Yüksek molekül ağırlığına sahip PBP'ler, transpeptidazlar olarak adlandırılırlar ve bakterinin hayatta kalması için oldukça önemlidirler. Düşük moleküler ağırlıklı PBP'ler ise karboksipeptidazlardır ve delesyonları, bakterinin canlı kalması için elzem değildir (67). PBP'lerdeki değişime bağlı direnç, gram pozitif bakteriler arasında daha yaygın olsa da *Acinetobacter* cinsinde de direnç gelişimine sebep olurlar (68).

2.6.1.2. Efluks dışa atım pompaları: Efluks pompaları, hücre membranında bulunan dışa atım proteini, dış membranda bulunan kanal proteini ve iki protein arasında bağlantı kuran periplazmik membran füzyon proteini olmak üzere üç kısımdan oluşur. *A. baumannii* izolatları arasında "Resistance-nodulation-division" (RND) tipi efluks pompaları tanımlanmıştır. Birkaç farklı RND efluks pompa tipi vardır ve *A. baumannii* izolatları arasında en yaygın olan ve en çok çalışılanı AdeABC'dir. Diğer

RND tipi efluks pompalarında olduğu gibi, AdeABC de üç bileşenden oluşmaktadır; AdeA zar füzyon proteinini, AdeB trans membran bileşenini, AdeC ise Omp'yi oluşturmaktadır (69). AdeABC akış pompasının aşırı ekspresyonu, *A. baumannii*'de karbapenem ve sefalosporin direnci başta olmak üzere diğer birçok antibiyotiğe karşı gelişen direnç ile sonuçlanmaktadır (70). Bu akış pompasının ifadesi, iki bileşenli sistem olan AdeRS tarafından düzenlenmektedir. AdeRS operonunda meydana gelen nokta mutasyonları, AdeABC pompa ekspresyonunun artmasına ve dolayısıyla antibiyotik direncinin gelişmesine yol açmaktadır (71). *A. baumannii* izolatları arasında tanımlanan başka bir dışa atım pompası olan AbeM'nin aşırı ekspresyonu ise imipenem dirençli izolatlarda saptanmıştır (72).

2.6.1.3. Dış membran proteinlerindeki değişiklik: Beta laktamlara karşı gelişen antibiyotik direnci, Omp'ler ile ilişkili bulunmuştur. *A. baumannii*'de asıl porin olarak işlev gören OmpA delesyonu olan mutant suşlarda, dış zarın kararsızlığı sonucunda penisilin ve sefalosporinler dahil birçok antibiyotiğe karşı artan duyarlılık gözlemlenmiştir (14). *A. baumannii*'de bulunan 29 kDA'lık CarO dış zar proteininin, imipenem ve meropenem direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiş ve *bla*_{OXA-51} ve *bla*_{OXA-23} genlerine sahip izolatlarda Omp29 kaybının, imipeneme karşı artan dirençle sonuçlandığı bildirilmiştir (73,74).

2.6.2. Enzimatik Direnç (Beta Laktamaz Üretimi)

Karbapenemazlar, karbapenem grubu antibiyotiklerden en az birini hidrolize edebilen beta laktamazlardır. Beta laktam grubu antibiyotiklerin hidrolizini katalize eden beta laktamazlar, bakteriyel direncin en sık rastlanan nedenidir ve neredeyse tüm beta laktamları inaktive edebilirler (75). Beta laktamazlar, ilk olarak 1980 yılında Ambler tarafından sekans homolojisine dayanarak A, B, C ve D olmak üzere dört ana grupta sınıflandırılmıştır (76). Bunu takiben 1989 yılında Bush tarafından sınıflandırma, substrat ve inhibitörlerine göre ayrılarak geliştirilmiştir (75). Beta laktamazların sınıflandırılması, Tablo 2.3'te gösterilmiştir.

Tablo 2.3: Beta laktamazların sınıflandırılması

Bush-Jacoby-Medeiros sınıflaması	Alt Grup	Ambler Sınıflaması	Substrat	Özellikler	Örnek Enzimler
Grup 1 Sefalosporinazlar	1	C	Sefalosporinler	Genellikle gram negatif bakterilerde bulunan kromozomal enzimlerdir. Klavulanik asiti inhibe edemezler.	ACT-1, FOX-1, MIR-1, <i>E. coli</i> AmpC
Grup 2 Penisilinazlar	2a	A	Penisilinler	Stafilokokkal ve enterokokkal penisilinazlar	Penisilinazlar, PC-1
	2b	A	Penisilinler, dar spektrumlu sefalosporinler	Genellikle gram negatif bakterilerde bulunur	TEM-1, TEM-2, SHV-1
	2be	A	Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar	Geniş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL)	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
	2br	A	Penisilinler	Klavulanik sulbaktam ve tazobaktama karşı direnç geliştiren enzimler	TEM-30, SHV-10
	2c	A	Penisilinler	Karbenisilini hidrolize eden enzimler	PSE-1, CARB-3
	2d	D	Penisilinler, oksasilinler	Oksasilin ve kloksasilini hidrolize eden enzimler	OXA-1, OXA-10
	2df	D	Karbapenemler	Kloksasilin veya oksasilini ve karbapenemleri hidrolize eden enzimler	OXA-23, OXA-48
	2e	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler	Sefalosporinazlar Klavulanik asitle inhibe olurlar fakat aztreonamla inhibe olmazlar	CepA
2f	A	Karbapenemler	Karbapenemleri hidroliz eden, aktif bölgelerinde serin içeren ve klavulanik asitle inhibe olan enzimler	KPC-2, IMI-1	
Grup 3 Metallo beta laktamazlar	3a	B	Karbapenemler	Metallo beta laktamazlar Karbapenem hidrolizi yüksektir Klavulanik asit ile inhibe olmaz	IMP-1, VIM-1
	3b	B	Karbapenemler	Karbapenemlerin tercihli hidrolizi görülür	CphA, Sfh-1
Grup 4	-		Karbapenemler		Çeşitli enzimler

2.6.2.1. Sınıf A karbapenemazlar: Beta laktam grubu antibiyotikler üzerinde geniş bir etkiye sahip olan Sınıf A karbapenemazlar, Bush'un sınıflamasına göre fonksiyonel grup 2f'te yer alırlar ve aynı zamanda serin karbapenemazlar grubunda bulunurlar. Sınıf A karbapenemazlar, sefamisinler hariç tüm penisilinleri ve sefalosporinleri hidrolize ederken, klavulanik asit tarafından inhibe edilirler (77). Bu enzimlerin bazıları dar spektrumluysen, bazıları genişletilmiş spektrumlu beta laktamazlardır (75). *A. baumannii*'de diğer grup karbapenemazlara göre daha az saptansa da TEM, SHV, GES, CTX-M ve KPC gibi karbapenemazların bildirildiği yayınlar mevcuttur (75-77).

Kromozomal aracılı kodlanan karbapenemazlar nadir olarak tespit edilirler. Buna karşın, plazmit aracılı kodlanan ve en yaygın olan sınıf A karbapenemaz, KPC'dir. İlk olarak 1996 yılında Kuzey Karolina'da yapılan sürveyans çalışması sırasında keşfedilen *bla_{KPC}* direnç geni, günümüzde tüm dünyada *Enterobacteriaceae* başta olmak üzere *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türlerinde de saptanmaktadır (78,79). Özellikle *Enterobacteriaceae* ailesi arasında yaygın olarak tanımlanan KPC enzimi, FDA onaylı tüm beta laktamlara direnç geliştiren tek enzimdir (80). Plazmitler üzerinde taşınan *bla_{KPC}*, *Klebsiella* ve diğer bakteriler üzerinde hızla yayılmaya başlamış ve ÇİD izolatların çok yüksek oranının *bla_{KPC}* genine sahip olduğu bulunmuştur (81). KPC, klinik öneme sahip *A. baumannii* izolatları arasında ilk kez 2010 yılında Porto Riko'da izole edilmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda *bla_{KPC-2}*, *bla_{KPC-3}*, *bla_{KPC-4}* ve *bla_{KPC-10}* genlerine sahip on *A. baumannii* izolatı bildirilmiştir (82). KPC enzimine sahip bakterilerin çoğu ÇİD olduğu ve tedavi seçeneğini oldukça kısıtladığı için, *bla_{KPC}* direnç genine sahip bakterilerle enfekte olan bireylerin mortalite oranının oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir (83).

2.6.2.2. Sınıf B karbapenemazlar: Metallo beta laktamazlar (MBL) olarak da bilinen sınıf B karbapenemazlar, beta laktamları hidrolize eden, çoğunlukla plazmitler üzerinde olsa da kromozomlarda da bulunabilen kazanılmış direnç mekanizmalarıdır (77). Aktif bölgelerinde, genellikle çinko olmak üzere, metal iyonu bulunmasıyla serin karbapenemazlardan (Sınıf A, C ve D) ayrılmaktadırlar (84). Sınıf D karbapenemazlara kıyasla *A. baumannii*'de daha az yaygınlardır fakat 100-1000 kat daha ölümcül olan karbapenem direnci gösterirler (85). *A. baumannii*'de kazanılmış MBL genlerinin büyük bir kısmı, sınıf 1 integronlarda bulunurlar. Burada aynı zamanda

aminoglikozid direnci gibi diğer direnç genleri de bulunabilmektedir. Bu tür izolatların, integrondan yoksun izolatlara göre çok daha dirençli olmalarının yanısıra, integronlarının plazmitler veya transpozonlar gibi hareketli genetik elementler üzerinde bulunmasından kaynaklı kolayca aktarılabılır olması önem taşımaktadır (77).

Metallo beta laktamazlar, B1, B2 ve B3 olmak üzere üç alt gruba ayrılırlar. B1 ve B3 grubuna ait enzimler, karbapenem inaktivasyonu için iki çinko iyonuna sahiptirler ve penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemler dahil olmak üzere geniş spektrumlu substrat profili sergilerler. B2 grubuna ait enzimler ise sadece bir çinko iyonuna ihtiyaç duyarlar ve yapısına ikinci çinko iyonunun bağlanması, aktivitelerini inhibe eder. Bu enzimler, B1 ve B3 grubunun aksine dar spektrumlu substrat profili sergilerler (86). Klinik izolatlar en çok rastlanan IMP, VIM ve NDM dahil olmak üzere, günümüze kadar tanımlanan MBL'lerin büyük çoğunluğu B1 grubuna aittir (87).

Acinetobacter baumannii'de rastlanan MBL'ler arasında en endişe verici olan enzimlerden birinin NDM olduğu bilinmektedir (88). NDM enzimleri, beta laktamların hidrolizinin gerçekleştiği aktif bölgede iki çinko iyonuna sahiptirler ve 270 amino asitten oluşmaktadır. 24 farklı NDM varyantı tespit edilmiştir ve bu varyantlardaki amino asit değişikliğinin hiçbiri aktif bölge içerisinde meydana gelmemektedir. *A. baumannii* izolatları arasında en çok tespit edilen NDM enzimi NDM-1 olsa da NDM-2 ve 3'e de sıklıkla rastlanmaktadır (89). İlk olarak Hindistan'ın başkenti New Delhi'de idrar yolu enfeksiyonu olan hastadan izole edilen karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae*'de tespit edilen NDM-1, florokinolon ve kolistin hariç diğer antibiyotiklere karşı direnç gelişimine yol açmaktadır. Aynı hastadan izole edilen *Escherichia coli*'de de bla_{NDM-1} geninin bulunması, konjugasyon ile aktarım sağlanabildiğini düşündürmüştü ve daha sonra bu durum deneylerle kanıtlanmıştır (90). Fransa'da ST85 klonuna ait NDM-1 enzimi üreten *A. baumannii* epidemisi, Avrupa'da büyük endişe uyandırmıştır (91). Ülkemizde NDM-1 enzimine ise Irak'tan gelen lösemi hastasından izole edilen *K. pneumoniae*'de rastlanmıştır (92). Yapılan çalışmalar, NDM-1 enziminin dünya çapında hızla yayılmaya devam ettiğini göstermektedir (90). NDM-2 enzimine sahip ilk *A. baumannii* izolatı 2011 yılında Almanya'da bir hastadan izole edilmiştir ve spektrumunun NDM-1 ile oldukça benzer olduğu gösterilmiştir (93). NDM-2, 28. konumunda alanin aminoasidi bulunmasıyla NDM-1'den ayrılmaktadır (94).

IMP, ilk kez 1988 yılında Japonya’da imipenem dirençli *P. aeruginosa* izolatında tanımlanmıştır (95). Daha sonra aynı direnç geni 1991 yılında idrar yolu enfeksiyonu olan hastadan izole edilen *Serratia marcescens* Tn9106 izolatında tespit edilmiştir (96). Dünyanın farklı bölgelerinden bildirimleri yapılan IMP enzimi, Avrupa’da ilk kez 1997 yılında bildirilmiştir (95). İlk zamanlar *bla*_{IMP} direnç geninin kromozomlar üzerinde bulunduğu düşünülse de yapılan çalışmalar sonucunda plazmit ve integronlar üzerinde konumlandığı bulunmuştur ve direncin aktarılabılır olması dünya geneline yayılan IMP direnci ile ilişkilendirilmiştir (95,97).

2.6.2.3. Sınıf D karbapenemazlar: Karbapenem hidrolize edici sınıf D beta-laktamazlar veya diğer adıyla oksasilinazlar (OXA’lar), izoksazolilpenisilini hidrolize ederek *A. baumannii*’de karbapenem direncinin ana mekanizmasını oluşturmaktadırlar (98). Ambler’in moleküler sınıflandırmasında D grubunda, Bush sınıflandırmasına göre ise fonksiyonel grup 2d’ de yer alırlar. OXA’lar, sınıf A ve sınıf C beta laktamazlar gibi serin bağımlıdırlar ve genellikle klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam tarafından inhibe edilmezken, *in vitro* sodyum klorür ile inhibe edilebilmektedirler. Bu durum diğer beta laktamaz sınıflarında bulunmadığı için, *in vitro* tanımlamada ayırıcı özellik göstermektedir (99).

Farklı bakteri türleri arasında 400’den fazla OXA tipi enzim tanımlanmıştır (23). *A. baumannii*, direnç kazandıran ve plazmitler tarafından taşınan OXA grubu beta laktamaz genlerini edindiğinde bu genler, bağımsız bir şekilde çoğalmakta ve bakteriler arasında aktarılmaktadırlar. Bu nedenle plazmitler, karbapenem direncinin yayılması için çok önemlilerdir (99). *A. baumannii*’de karbapenem hidrolize edici OXA’lar OXA-51 benzeri, OXA-23 benzeri, OXA-24/40 benzeri, OXA-58 benzeri, OXA-143 ve OXA-235 benzeri beta laktamazlar olmak üzere 6 ana gruba ayrılmıştır (100).

2.6.2.3.a. OXA-23 benzeri enzimler: *A. baumannii*’de karbapenemleri hidroliz eden sınıf D karbapenemaz kodlayan ilk gen imipenem dirençli izolatta 1985’te İskoçya’da tanımlanmıştır ve sonrasında direnç genlerinin plazmit aracılı aktarılabildiği tespit edilmiştir (101). Üretilen enzime ilk olarak ARI-1 (*Acinetobacter* resistant to imipenem) ismi verilmiş ve DNA dizi analizi sonrasında OXA-23 olarak yeniden adlandırılmıştır (102). Sonraki yıllarda OXA-23 ile en az %95 sekans benzerliği taşıyan 17 farklı enzim daha keşfedilmiştir. Bu enzimler arasından en çok karşılaşılanlar iki amino asit farklılığından meydana gelen OXA-27 ve OXA-49’dur. Enzimler arasında

yüksek oranda benzerlik olduğundan dolayı, OXA-23 benzeri enzimler olarak gruplandırılmaya başlanmışlardır. Bu enzim grubu, meropenem, amoksisilin ve imipeneme karşı direnç oluşumuna yol açmaktadır. En önemli genetik elemanı olan ISAbal varlığı, OXA-23'ün kopya sayısını arttırmakta ve antibiyotik direncinin gelişmesine yol açmaktadır. OXA-23 üreten *A. baumannii* izolatları, dünya çapında Fransa, İngiltere, Türkiye ve Brezilya gibi birçok ülkeden izole edilmişlerdir (103).

2.6.2.3.b. OXA-24/40 benzeri enzimler: OXA-24, 1997 yılında İspanya'da bir salgın sırasında izole edilen *A. baumannii* izolatından soyutlanmış ve bilinen ikinci OXA tipi beta laktamaz olarak tanımlanmıştır (104). Başlangıçta *bla*_{OXA-40} olarak adlandırılrsa da daha sonra *bla*_{OXA-24} olarak tekrar isimlendirilmiştir. *bla*_{OXA-24} varyantları, *bla*_{OXA-40}, *bla*_{OXA-25}, *bla*_{OXA-26}, *bla*_{OXA-72}, *bla*_{OXA-139} ve *bla*_{OXA-160} direnç genlerini içermektedir. *bla*_{OXA-24} ve *bla*_{OXA-25} İspanya ve Belçika'da, *bla*_{OXA-72} Tayland'ta izole edilmiştir (105). Başlangıçta yalnızca *A. baumannii* izolatlarına özgü olduğu düşünülse de yapılan çalışmalar sonucunda *Acinetobacter* türlerinin yanı sıra *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* izolatlarının plazmitlerinde de *bla*_{OXA-24} direnç genleri bulunduğu gösterilmiştir (99). *bla*_{OXA-24} benzeri genler plazmit yada kromozom kaynaklı olabilmektedirler ve karbapenemlere karşı düşük afiniteleri vardır. Karbapenem duyarlı *A. baumannii* izolatına *bla*_{OXA-24} benzeri gen eklendiğinde, izolatta imipeneme karşı düşük ile orta derecede direnç gelişmiştir (106). Aynı zamanda *bla*_{OXA-24} benzeri genlerin G+C içeriğinin %34,1 ile *A. baumannii* genom içeriğinden oldukça düşük olması, bu direnç genlerinin farklı bakteri kaynaklı olabileceği olasılığını arttırmaktadır (107).

2.6.2.3.c. OXA-51 benzeri enzimler: OXA-51 ilk olarak 1996 yılında Arjantin'de klinik *A. baumannii* izolatında kromozomal aracılı beta laktamaz olarak bulunmuştur. Sonrasında yapılan çalışmalar, OXA-51 benzeri enzimler olarak adlandırılan gruba dahil edilmiş çok sayıda enzim varlığını göstermiştir ve bugüne kadar tanımlanan en büyük OXA tipi beta laktamaz grubunu oluşturmuşlardır (105). Günümüze kadar 95 farklı OXA-51 enzim varyantı tanımlanmıştır. OXA-51 benzeri beta laktamazlar, OXA-23 benzeri enzimler ile yaklaşık %56, OXA-24/40 benzeri enzimler ile %61-62 benzerlik gösterirken OXA-58 benzeri enzimler ile %50'den az amino asit benzerliğine sahiptirler (108). OXA-51 enzimi üzerinde yapılan çalışmalar, *bla*_{OXA-51} benzeri genlerin *A. baumannii* kromozomuna özgül olduğunu ve bakteriler

arasında aktarım olmadığını göstermiştir. Bu genler çoğunlukla kromozomda yer alsa da birkaç çalışmada plazmitler üzerinde yerleşim gösterdikleri de tespit edilmiştir (109). Bu durum, *Acinetobacter* türleri arasında yanlış tanımlamaya yol açabilmektedir (110).

OXA-51 ile yapılan biyofiziksel ve biyokimyasal çalışmalar, geniş pH (4-10) ve sıcaklık (30-60°C) aralığında bile denatüre olmadığını, enzimatik aktivitenin yaklaşık %75'inin proteinlerde korunduğunu göstermiştir (111). Enzimatik çalışmalar ise OXA-51 benzeri enzimlerin zayıf karbapenemaz özellik sergilediğini, ancak ISaba1 gibi IS elemanlarının ekspresyonunu arttırarak karbapenem direncine yol açabildiğini göstermiştir (112).

2.6.2.3.d. OXA-58 benzeri enzimler: İlk *bla*_{OXA-58} geni, Fransa'da ÇİD *A. baumannii* izolatının 30 kbp'lik plazmitinde tespit edilmiştir (113). *A. baumannii*'nin yanısıra diğer *Acinetobacter* türlerinde de OXA-58 enzimine rastlanabilmektedir. Tayvan'da *A. nosocomialis*'te, İspanya'da *A. pittii*'de, Çin'de *A. haemolyticus*'ta ve Hindistan'da *A. junii* ve *A. radioresistens*'te *bla*_{OXA-58} direnç genine rastlanmıştır (99). *bla*_{OXA-58} geni ile *A. baumannii* genom içeriğinde bulunan G+C yüzdesinde farklılık olması, *bla*_{OXA-58} benzeri genlerin farklı bir bakteriden kaynaklandığını düşündürmektedir (105). Bu genin farklı bir bakteriden *A. baumannii*'ye aktarımın yakın zamanda olma olasılığı, enzim grubunda yalnızca üç varyantın olması ile artmaktadır. *bla*_{OXA-58}'in diğer varyantları *bla*_{OXA-97} ve *bla*_{OXA-164} genleridir (114).

OXA-58 benzeri enzimler, diğer OXA'larla zayıf ilişkililerdir ve %50'den az amino asit benzerliğine sahiplerdir (114). Türkiye, Kuveyt, İtalya, İngiltere ve Avusturya gibi birçok ülkede OXA-58 benzeri enzimlerinin neden olduğu karbapenem direncine rastlanmaktadır. Türkiye'nin de aralarında bulunduğu ve Akdeniz ülkelerini kapsayan bir çalışmada, 1999-2009 yılları arasında izole edilen karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında en yaygın saptanan genin *bla*_{OXA-58} olduğu, 2009 yılından itibaren ise bunun yerini *bla*_{OXA-23} geninin aldığı bildirilmiştir (98).

2.6.2.3.e. OXA-143 benzeri enzimler: OXA-143 enzimi ilk olarak 2009 yılında Brezilya'da karbapenemler dahil neredeyse tüm beta laktam grubu antibiyotiklere dirençli *A. baumannii* izolatından izole edilmiştir (115.). OXA-40 ile %88, OXA-23 ile %63, OXA-58 ile %52 amino asit benzerliğine sahiptir. Aynı zamanda OXA-143, OXA-40'ın plazmit kaynaklı 31 amino asit mutantıdır. Sık olarak izole edilmemekle

birlikte, Brezilya ve İran'da karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında rastlandığı bildirilmiştir (116).

2.6.2.3.f. OXA-235 benzeri enzimler: Yakın zamanda ABD ve Meksika'da karbapenem dirençli 9 *A. baumannii* izolatında tespit edilen bu grup, OXA-234, OXA-236 ve OXA-237'yi içermektedir (98). OXA-23, OXA-24, OXA-58 ve OXA-14 ile %57; OXA-51 ile %56 amino asit benzerliğine sahiptir. Hem plazmit hem kromozom kaynaklı olabilmenin yanı sıra, izolatlar ISAbal ile yakın ilişki içerisindedir. Gen transferinin nasıl gerçekleştiği net olarak belirlenemese de ISAbal ile transpozisyonla hareket ettiği tahmin edilmektedir (117).

2.7. KARBAPENEMAZ TESPİTİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

Karbapenemaz üreten bakterilerin yayılmasının önlenmesi için, bu bakterilerin hızlı tespit edilmesi zorunlu hale gelmiştir. Karbapenemlere direnç, agar plaklar üzerinde veya hazır ticari kitler ile belirlenebilmesi yanı sıra PCR gibi genotipik yöntemlerle de saptanabilmektedir. Bununla birlikte, karbapenem direnci yalnızca karbapenemaz varlığı sonucu gelişmediğinden, karbapenemaz negatif bulunan izolatlar karbapeneme duyarlı olarak değerlendirilemez. Bu nedenle karbapenemaz varlığı sonucu oluşan karbapenem direnci ile diğer mekanizmalar ile oluşan karbapenem direnci arasındaki ayrımın yapılabilmesi oldukça önemlidir (75).

2.7.1. Fenotipik Yöntemler

2.7.1.1. Karbapenem inaktivasyon yöntemi: Testin çalışma prensibi, bir karbapenem grubu antibiyotik diskinin, bakteri süspansiyonu içerisinde inokülasyonu sonucunda enzim aracılığıyla parçalanma temeline dayanmaktadır. Distile su içerisine karbapenemaz üretimi araştırılacak izolattan bir öze dolusu alınıp süspansiyon edilir ve içerisinde 10 µg meropenem diski atılır. İki saat inkübasyondan sonra meropenem diski, 0,5 McFarland bulanıklığında meropenem duyarlı standart suş olan *E. coli* ATCC 25922 inoküle edilmiş Mueller-Hinton agar (MHA) üzerine yerleştirilir ve 24 saat 37°C'de inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonucunda normal durumda meropenem diskinin etrafında üreme olmaması ve zon çapı oluşması beklenirken, karbapenemaz ile inaktive olmuş meropenem diskinin etrafında üreme gözlemlenir. Böylece söz konusu izolatta karbapenemaz varlığı kabul edilir (118).

2.7.1.2. Kombine disk testi: Rutin laboratuvar ortamında kolay uygulanabilen ve düşük maliyeti olan disk kombinasyonuna dayanan yöntemdir. Karbapenem ve karbapenemaz inhibitörlerinin etkileşimi temelinde oluşturulmuştur. 0,5 McFarland bulanıklığı ayarlanmış *E. coli* ATCC 8739 suşunun 1:10 seyreltisi inoküle edilmiş MHA içerisine imipenem ve imipenem/EDTA diskleri, aralarında en az 20 mm mesafe olacak şekilde yerleştirilir. 37°C’de 18-24 saat inkübasyon sonucunda imipenem/EDTA diskinin zon çapı tek başına imipenem diskinin zon çapından ≥ 7 mm daha büyükse izolat MBL pozitif kabul edilir (100).

2.7.1.3. Çift disk sinerji testi: Çift disk sinerji testinde amaç, meropenem diskinin oluşturduğu inhibisyon zonunun EDTA varlığındaki değişimini gözlemleyerek MBL pozitif izolatları tespit etmektir. Bunun için taze kültür pasajından elde edilen saf koloniler 0,5 McFarland bulanıklığında MHA içerisine inoküle edilir ve besiyeri üzerine 10 µg meropenem diski ile üzerinde 10 µl EDTA eklenmiş boş disk yerleştirilir. 37°C’de 18-24 saat inkübasyon sonucunda imipenem diskinin etrafında oluşan zonun EDTA eklenmiş boş diske doğru genişlemesi sinerjistik inhibisyon zonu olarak değerlendirilir ve sonuç MBL pozitif olarak kabul edilir (119).

2.7.2. Biyokimyasal Yöntemler

2.7.2.1. RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa): İmipenemin beta laktam halkasının hidrolizine dayanan RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) testi, 2,5 saat gibi kısa bir zaman aralığında sonuç vermektedir. Test, karbapenem hidrolizi sonucunda pH değişikliği sonucunda fenol kırmızısının renk değiştirme prensibine dayanmaktadır. Bunun için MHA besiyerine taze kültürü alınmış bakteri, kit içerisindeki prosedür uygulanarak çalışılır. 33-38°C aralığında 30 dakika ile 2,5 saat içerisinde sonuç alınır. Fenol kırmızısının sarı ya da turuncu renge dönüşmesi, çalışılan izolatta karbapenemaz varlığı saptandığını gösterir (120).

2.7.2.2. Blue-Carba testi: Blue-Carba testi, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp. başta olmak üzere gram negatif bakterilerde karbapenemaz üreten izolatları saptamak amacıyla kullanılan biyokimyasal yöntemdir. Araştırılacak bakteri kolonisinin imipenemi hidrolize etmesi sonucunda pH indikatörü olarak kullanılan bromtimol mavisinin yeşil veya sarı renklerine dönüşmesi prensibine dayanmaktadır (121).

2.7.3. Genotipik Yöntemler

Karbapenemaz varlığının araştırılmasında fenotipik yöntemlere göre duyarlılığı daha yüksek olan genotipik yöntemler oldukça sık kullanılmaktadır. Bakterinin karbapenemaz geni taşıyıp taşımadığını belirli primerler veya DNA probları kullanarak saptamak mümkündür. PCR yapılmasının avantajı, kolay ve ulaşılabilir olmasıdır fakat gene özgül türevleri ayırt edemediği gibi yeni türevleri de saptayamaz. DNA probları ise nispeten daha zordur fakat daha özgüdür. Genotipik yöntemlerin altın standardı olarak sekans analizi, klonlama yöntemleri ve protein analizi kabul edilmektedir (122).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'nın 19.11.2021 tarihli ve 35/11 karar sayılı etik kurul onayı alındı (EK-1). Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi'nin "2022/041" sayılı projesi ile desteklendi.

3.1. *ACINETOBACTER BAUMANNII* İZOLATLARININ SEÇİMİ

Ocak 2021- Aralık 2021 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Sultan 2. Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen, yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen karbapenem dirençli 100 *A. baumannii* izolatu çalışmaya dahil edildi.

Tür düzeyinde tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testlerinin gerçekleştirilebilmesi için VITEK-2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi kullanıldı; imipenem, meropenem ve amikasin duyarlılık durumları, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle, kolistin duyarlılık durumu ise sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle çalışıldı. Antibiyotik duyarlılık sonuçları, "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing" (EUCAST) kriterlerine göre duyarlı ve dirençli olarak değerlendirildi (123).

Acinetobacter baumannii olduğu tespit edilen ve karbapenem grubu antibiyotiklerden en az birine dirençli olduğu saptanan izolatlar, daha sonra kullanılmak üzere stok besiyerine alındı. Çalışmaya, aynı hastaya ait farklı klinik örneklerden izole edilen *A. baumannii* suşları arasında hastanın ilk gelen klinik örneğinden izole edilen suş dahil edildi.

3.2. KLİNİK ÖRNEKLERİN TOPLANMASI, *ACINETOBACTER BAUMANNII* İZOLATLARININ İZOLASYONU VE TANIMLANMASI

Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen tüm klinik örneklerin uygun şartlar altında %5 koyun kanlı agar (bioMérieux, Fransa), MacConkey agar (bioMérieux, Fransa) ve çikolatamsı agar (bioMérieux, Fransa) besiyerlerine seyreltme ekimi yapıp etüvde 37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Kan kültür şişelerinde laboratuvara gönderilen kan, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve bronkoalveolar lavaj

(BAL) örnekleri ise BacT/ALERT 3D (bioMérieux, Fransa) tam otomatize hemokültür cihazında beş gün inkübasyona bırakıldı. Pozitif sinyal veren hemokültür şişelerinden yukarıda bahsedilen besiyerlerine ekimler yapıp ve 37°C’de 18-24 saat süreyle etüvde inkübasyona bırakıldı. Ön tanımlama için üreyen kolonilerden Gram boyama, oksidaz ve katalaz testleri yapıldı. Kültürde üreyen gram negatif kokobasil morfolojisinde, oksidaz negatif, katalaz pozitif mikroorganizmaların identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testleri, VITEK-2 (bioMérieux, Fransa) otomatize identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık test sisteminde yapıldı.

3.2.1. VITEK-2 (bioMérieux, Fransa) Çalışma Prensibi

VITEK-2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sistem ile identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testlerinin gerçekleştirilebilmesi için besiyerinde üreyen incelenecek her koloni için iki ayrı 12x75 mm’lik steril polistiren deney tüpü kullanıldı. Tüplerin her ikisine de 3 ml %0,45-0,50 steril salin solüsyonu (pH 4.5-7.0) aktarıldı. Salin solüsyonu içeren ilk tüpe, steril eküvyon yardımıyla VITEK-2 DensiChek (bioMérieux, Fransa) cihazında 0,5 McFarland bulanıklığı oluşturacak düzeyde koyun kanlı agarda üremiş saf bakteri kolonileri inoküle edildi. Aynı şekilde salin solüsyonu içeren ikinci tüpe, ilk tüpte hazırlanan 0,5 McFarland bulanıklığındaki bakteri süspansiyonundan 145 µl aktarıldı. Kasetin içerisinde bulunan ilk tüpe, gram negatif bakteri identifikasyon kartı (VITEK-2 GN, BioMérieux, Fransa), ikinci tüpe ise gram negatif bakteri antibiyotik duyarlılık test kartı (VITEK-2-AST-N326, BioMérieux, Fransa) konuldu. Kaset, VITEK-2 (bioMérieux, Fransa) cihazının içerisine yerleştirildi ve talimatlara uygun şekilde cihazın çalışması gerçekleştirildi. 18-24 saat süreden sonra izolatların cins ve tür düzeyinde tanımlamaları ve antibiyotik duyarlılık durumları değerlendirildi.

3.2.2. Disk Difüzyon Yöntemi

Otomatize sistem ile en az bir karbapenem grubu antibiyotiğe dirençli bulunan izolatların direnç durumlarının doğrulanması, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapıldı. Aynı zamanda amikasin duyarlılık durumları da, VITEK-2 (bioMérieux, Fransa) sonuçları güvenilir olmadığından dolayı disk difüzyon yöntemi (123) ile çalışıldı.

Bunun için koyun kanlı agara saf kolonilerden taze kültür pasajı yapıldı. Besiyerinden steril eküvyon yardımıyla alınan koloniler, 0,5 McFarland bulanıklığında olacak şekilde salin solüsyonu içerisine süspansiyon edildi. Hazırlanan süspansiyondan steril eküvyon yardımıyla MHA (bioMérieux, Fransa) plağının yüzeyinde boş yer kalmayınca kadar yayma ekimi yapıldı. Petri 90° açıyla döndürülerek agar yüzeyine yayma ekimi dört kez daha tekrar edildi. Besiyerinin oda ısısında kurummasını takiben 10 µg meropenem (Bioanalyse, Türkiye), 10 µg imipenem (Bioanalyse, Türkiye) ve 10 µg amikasin (Bioanalyse, Türkiye) diskleri, agar üzerine steril penset yardımıyla, aralarında en az 2-2,5 cm mesafe olacak şekilde yerleştirildi. Besiyerleri, etüvde 37°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda oluşan zon çapları milimetrik cetvelle ölçüldü ve EUCAST kriterlerine göre duyarlı veya dirençli olarak değerlendirildi (123). Çalışmamızda kullanılan zon çapı sınır değerleri, Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1: Disk difüzyon yönteminin sonuçlarının yorumlanmasında kullanılan zon çapı sınır değerleri (mm) (123)

	Duyarlı	Dirençli
İmipenem	≥ 24	<21
Meropenem	≥21	<15
Amikasin	≥19	<19

3.2.3. Kolistin Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Disk veya gradient agar difüzyon yöntemleri ile elde edilen duyarlılık test sonuçları, polimiksinlerin agar yüzeyinde zayıf yayılım göstermelerinden dolayı yanıltıcı olabildiğinden *Acinetobacter baumannii* izolatlarımızın kolistine duyarlılık durumları, EUCAST’in altın standart yöntem olarak önerdiği (123) sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı.

Kolistin sıvı mikrodilüsyon yöntemi için hazır ticari kit kullanıldı (Merlin, Almanya). Bunun için taze kültür besiyerinden steril eküvyon yardımıyla alınan saf bakteri kolonileri, steril polistiren deney tüpünde 0,5 McFarland bulanıklığında olacak şekilde steril salin solüsyonuna inoküle edildi ve hazırlanan söz konusu bu bakteri süspansiyonunun 50 µl’lik kısmı, steril otomatik pipetle oda ısısında bekletilen MHB besiyerine aktarıldı. MHB besiyeri vorteksenip homojen karıştığından emin olundu ve

kitin her bir kuyucuğuna 100 µl eklendi. Kuyucukların üstü jelatin yardımıyla kapatıldıktan sonra 18-24 saat 37°C’de inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklarda oluşan bulanıklık, gözle değerlendirildi. Bulanıklığın olmadığı en düşük ilaç konsantrasyonu, minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değeri olarak kabul edildi.

3.3. KARBAPENEMAZLARIN FENOTİPİK YÖNTEMLERLE SAPTANMASI

3.3.1. Karbapenem İnaktivasyon Testi (CIM)

Kanlı agardaki taze kültür pasajından alınan 10 µl’lik öze dolusu saf *A. baumannii* kolonileri, 400 µl saf su eklenmiş mikrosantrifüj tüp içerisine süspansiyon edildi. Homojen hale gelmeleri için vortekslenen tüpün içerisine, antibiyotik duyarlılık testleri için kullanılan 10 µl meropenem diski (Bioanalyse, Türkiye) konuldu ve 37°C’de iki saat etüvde inkübasyona bırakıldı. Aktaş ve ark.’nın (124) yaptıkları çalışmaya istinaden aynı deney, yeni meropenem diskinin tekrar hazırlanan bakteri süspansiyonu içinde 37°C’de dört saat bekletilmesiyle tekrarlandı. İndikatör olarak kullanılmak üzere karbapeneme duyarlı *E. coli* ATCC 25922 standart suşunun salin solüsyonunda 0,5 McFarland bulanıklığı ayarlandı ve steril eküvyon yardımıyla MHA üzerine yayma ekimi yapıldı. Bakteri süspansiyonu içerisinde inkübasyon süresi tamamlanan meropenem diski, steril öze ile alınıp MHA üzerine yerleştirildi ve 37°C’de etüvde inkübasyona bırakıldı. Test sonuçları 24 saat sonra değerlendirildiğinde, izolatın karbapenemaz ürettiği durumda, meropenem diskinin inaktive olarak indikatör suş olan *E. coli* ATCC 25922’nin üremesini inhibe edemediği gözlemlendi. Buna karşın, karbapenemaz üretemeyen izolat içeren süspansiyonda inoküle edilen meropenem diskinin çevresinde üreme olmadığı, dolayısıyla inhibisyon zonu oluştuğu izlendi. Sonuç olarak meropenem diskinin çevresinde inhibisyon zonu oluşmaması, izolatın karbapenemaz ürettiğini gösterdi (125).

3.3.2. RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) Testi

Test, üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışıldı (120). Kit içeriği Tablo 3.2’de ve test şeridindeki kuyucuklarda bulunan içerikler, Tablo 3.3’te verilmiştir.

Tablo 3.2: RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) kit içeriği (120)

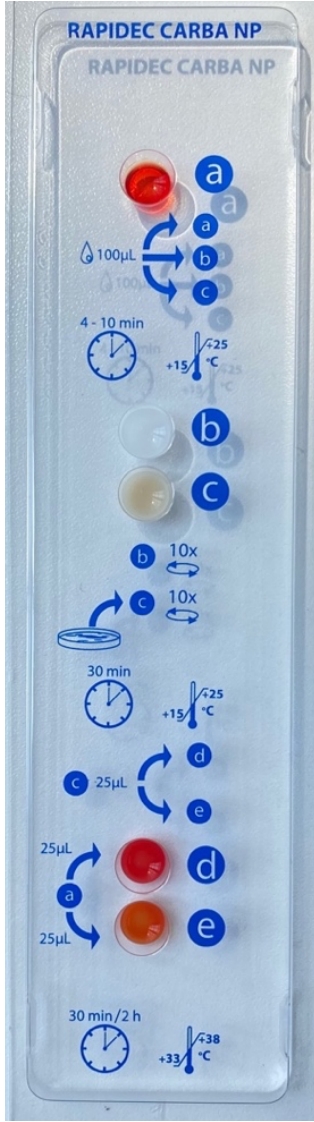
Kit İçeriği	Adet
Test Şeridi	10
API ® Süspansiyon Medium	10
Karıştırma Çubuğu	1 paket

Tablo 3.3: RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) test şeridi kuyucuk içerikleri (120)

Kuyucuk	Reaktifler
A	Fenol kırmızısı solüsyonu
B	Bulanıklık kontrol
C	Liziz tamponu
D	İmipenem içermeyen kontrol kuyusu
E	İmipenem içeren reaksiyon kuyusu

1. Test şeridi, ambalajından çıkarıldı (Şekil 3.2).
2. API ® Süspansiyon Medium ampulünden alınan 100'er µl süspansiyon, a, b ve c kuyucuklarına aktarıldı.
3. Kit kutusu içerisinden çıkan tek kullanımlık inkübasyon kapağı ile her bir test şeridinin üzeri kapatıldı ve oda sıcaklığında (15-25oC) 10 dakika beklendi.
4. Karıştırma çubuğu ile bulanıklık kontrolü sağlama amacıyla b kuyucuğu karıştırıldı.
5. Test edilecek saf bakteri kolonileri alınarak c kuyucuğuna inoküle edildi. Koloniler çözünene kadar karıştırıldı ve bu işlem b ve c kuyucuklarının bulanıklıkları aynı seviyeye gelene kadar devam etti.
6. Oda sıcaklığında (15-25oC) 10 dakika beklendi.
7. c kuyucuğundan alınan 25'er µl süspansiyon, d ve e kuyucuklarına aktarıldı.
8. İnkübasyon kapağı, şeridin üzerine yerleştirildi ve 37oC'de etüvde 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
9. İnkübasyon sonucunda yapılan ilk okumada e kuyucuğundaki kırmızı rengin sarıya, açık turuncuya, turuncuya veya koyu turuncuya değişmesi durumunda sonuç pozitif olarak kabul edildi.

10. Renk değişikliği gözlemlenmeyen durumda inkübasyon süresi iki saate kadar devam ettirildi ve son okuma yapıldı.



Şekil 3.1: RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) testi

3.4. KARBAPENEMAZLARIN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE SAPTANMASI

3.4.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, kaynatma yöntemiyle yapıldı. Bunun için:

1. MHA besiyerine pasajlanmış bakteriler kullanıldı.

2. Mikrosantrifüj tüplerinin içerisine 500 µl steril distile su eklendi ve bir öze dolusu bakteri ile süspanse edildi.

3. Hazırlanan süspanسیون, homojen hale gelmesi için vortekslendi.

4. Homojenizasyon sağlandıktan sonra mikrosantrifüj tüpleri, önceden ısıtılmış 100°C kaynar su içeren su banyosuna konuldu ve 10 dakika bekletildi.

5. Süre sonunda mikrosantrifüj tüpleri, mikrosantrifüj cihazına yerleştirildi ve 10 dakika 10.000 rpm’de santrifüj işlemine tabi tutuldu.

6. Santrifüj tamamlandıktan sonra süspanسیونun en üst tabakasından 100 µl alınarak PCR işleminde kullanılmak üzere DNase RNase içermeyen mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı.

7. İzole edilen DNA’lar, -20°C’de saklandı.

3.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Karbapenemaz üretiminden sorumlu olan *bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-51}* ve *bla_{OXA-58}* multipleks PCR yöntemi ile; *bla_{NDM}*, *bla_{IMP}* ve *bla_{KPC}* direnç gen bölgeleri ise tek primer kullanılarak çalışıldı. Gen bölgelerini saptamak için kullanılan primer dizileri, Tablo 3.4’te verilmiştir.

Tablo 3.4: Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan primerler

Hedef	Nükleotid dizisi (5’-3’)	Amplikon boyutu
OXA-23-F	GATCGGATTGGAGAACCAGA	501 bç (126)
OXA-23-R	ATTCTGACCGCATTTCCAT	
OXA-51-F	TAATGCTTTGATCGGCCTTG	353 bç (126)
OXA-51-R	TGGATTGCACTTCATCTTGG	
OXA-58-F	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG	599 bç (126)
OXA-58-R	CCCCTCTGCGCTCTACATAC	
NDM-F	GGTTTGGCGATCTGGTTTTC	621 bç (127)
NDM-R	CGGAATGGCTCATCACGATC	
KPC-F	CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG	798 bç (128)
KPC-R	CTTGTCATCCTTGTTAGGCG	
IMP-F	ACCGCAGCAGAGTCTTTGCC	587 bç (129)
IMP-R	ACAACCAGTTTTGCCTTACC	

3.4.2.1. *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} genlerinin amplifikasyonu: *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} genlerinin varlığını araştırmak üzere multipleks PCR’da kullanılacak master mix hazırlanması için gerekli olan tüm bileşenler ve miktarları, Tablo 3.5’te verilmiştir. 1,5 ml santrifüj tüpü içerisine eklenen bileşenler, 5-10 saniye vortekslendikten sonra belirtilen miktarda eklendi ve tekrar vortekslenerek master mixin homojen olmasına dikkat edildi. Hazırlanan master mix 0,2 ml’lik PCR tüplerine, her birinde 20 µl olacak şekilde dağıtıldı. Son olarak 5 µl DNA eklendi ve toplam hacim 25 µl oldu. Negatif kontrol olarak hazırlanan master mix kullanıldı. Tüpler, Tablo 3.6’da gösterilen reaksiyon koşullarında çalışılmak üzere termal döngü cihazına yerleştirildi.

Tablo 3.5: Multipleks polimeraz zincir reaksiyonu test içeriği

Reaksiyon İçeriği	Miktar
Enzim	13
ddH ₂ O	1
OXA-23-R	1
OXA-23-F	1
OXA-51-F	1
OXA-51-R	1
OXA-58-F	1
OXA-58-R	1
DNA	5
Toplam	25 µl

Tablo 3.6: Multipleks polimeraz zincir reaksiyonu amplifikasyon koşulları

Reaksiyon Koşulları	Siklus Sayısı		
Başlangıç denatürasyonu	95°C	3 dakika	1
Denatürasyon	95°C	15 saniye	
Bağlanma (Annealing)	52°C	15 saniye	40
Uzama	72°C	10 saniye	
Son uzama	72°C	3 dakika	1

3.4.2.2. *bla_{KPC}* geninin amplifikasyonu: *bla_{KPC}* geninin izolatlardaki varlığını göstermek amacıyla gene ait 798 bp uzunluğundaki fragmenti hedef alan primerler kullanıldı (Tablo 3.4). DNA izolasyonu gerçekleştirilen 100 *A. baumannii* izolatı *bla_{KPC}* geni içermeleri bakımından değerlendirildi. Master mix karışımı, amplifikasyonda kullanılmak üzere Tablo 3.7’de gösterildiği miktarlarda hazırlandı. 0,2 ml’lik PCR tüplerine master mix ve DNA eklenerek Tablo 3.8’de gösterilen reaksiyon koşullarında çalışılmak üzere termal döngü cihazına yerleştirildi.

Tablo 3.7: *bla_{KPC}* polimeraz zincir reaksiyonu test içeriği

Reaksiyon İçeriği	Miktar
Enzim	12.5 µl
KPC-F	1 µl
KPC-R	1 µl
ddH ₂ O	6.5 µl
DNA	4 µl
Toplam	25 µl

Tablo 3.8: *bla_{KPC}* polimeraz zincir reaksiyonu amplifikasyon koşulları

Reaksiyon Koşulları	Siklus Sayısı		
Başlangıç denatürasyonu	95°C	3 dakika	1
Denatürasyon	95°C	15 saniye	
Bağlanma (Annealing)	56°C	15 saniye	40
Uzama	72°C	10 saniye	
Son uzama	72°C	3 dakika	1

3.4.2.3. *bla*_{IMP} geninin amplifikasyonu: *bla*_{IMP} geninin izolatlardaki varlığını göstermek amacıyla gene ait 587 bç uzunluğundaki fragmenti hedef alan primerler kullanıldı (Tablo 3.4). DNA izolasyonu gerçekleştirilen 100 *A. baumannii* izolatı *bla*_{IMP} geni içermeleri bakımından değerlendirildi. Master mix karışımı, amplifikasyonda kullanılmak üzere Tablo 3.9’da gösterildiği miktarlarda hazırlandı. 0,2 ml’lik PCR tüplerine master mix ve DNA eklenerek Tablo 3.10’da gösterilen reaksiyon koşullarında çalışılmak üzere termal döngü cihazına yerleştirildi.

Tablo 3.9: *bla*_{IMP} polimeraz zincir reaksiyonu test içeriği

Reaksiyon İçeriği	Miktar
Enzim	12.5 µl
IMP-F	1 µl
IMP-R	1 µl
ddH ₂ O	6.5 µl
DNA	4 µl
Toplam	25 µl

Tablo 3.10: *bla*_{IMP} polimeraz zincir reaksiyonu amplifikasyon koşulları

Reaksiyon Koşulları	Siklus Sayısı		
Başlangıç denatürasyonu	95°C	3 dakika	1
Denatürasyon	95°C	15 saniye	
Bağlanma (Annealing)	59°C	15 saniye	40
Uzama	72°C	5 saniye	
Son uzama	72°C	3 dakika	1

3.4.2.4. *bla*_{NDM} geninin amplifikasyonu: *bla*_{NDM} geninin izolatlardaki varlığını göstermek amacıyla gene ait 621 bp uzunluğundaki fragmenti hedef alan primerler kullanıldı (Tablo 3.4). DNA izolasyonu gerçekleştirilen 100 *A. baumannii* izolatı *bla*_{NDM} geni içermeleri bakımından değerlendirildi. Master mix karışımı, amplifikasyonda kullanılmak üzere Tablo 3.11’de gösterildiği miktarlarda hazırlandı. 0,2 ml’lik PCR tüplerine master mix ve DNA konularak Tablo 3.12’de gösterilen reaksiyon koşullarında çalışılmak üzere termal döngü cihazına yerleştirildi.

Tablo 3.11: *bla*_{NDM} polimeraz zincir reaksiyonu test içeriği

Reaksiyon İçeriği	Miktar
Enzim	12.5 µl
NDM-F	1 µl
NDM-R	1 µl
ddH ₂ O	6.5 µl
DNA	4 µl
Toplam	25 µl

Tablo 3.12: *bla*_{NDM} polimeraz zincir reaksiyonu amplifikasyon koşulları

Reaksiyon Koşulları	Siklus Sayısı		
Başlangıç denatürasyonu	95°C	3 dakika	1
Denatürasyon	95°C	15 saniye	
Bağlanma (Annealing)	60°C	15 saniye	40
Uzama	72°C	5 saniye	
Son uzama	72°C	3 dakika	1

3.4.3. Amplifikasyonun Agaroz Jel Elektrofrezisi ile Kontrolü

Çalışmamızda PCR ürünlerinin incelenmesi için konsantrasyonu %1,2 olacak şekilde 1XTAE ile jel hazırlandı. Beher içerisine 3 gr agaroz (Grisp, Portekiz) ve 250 ml 1XTAE alındı ve mikrodalga fırında (Vestel, Türkiye) agaroz partikülleri tamamen eriyinceye dek ısıtıldı. Hazırlanan jel sıcaklığı yaklaşık 50-55°C’ye düştüğünde,

içerisine taraklar yerleştirilmiş yatay elektroforez jel kabına döküldü ve jelin katılaşması için yaklaşık 30 dakika beklendi.

Agaroz katılaştıktan sonra 1XTAE dolu elektroforez tankına yerleştirildi ve taraklar çıkarıldı. Jel üzerinde oluşmuş kuyucaklardan ilk kuyucuğa 100 bç DNA marker (Grisp, Portekiz), son kuyucuğa negatif kontrol, diğer kuyucuklara ise 5 µl amplifikasyon ürünü ve 1 µl loading dye (Grisp, Portekiz) karışımı yüklendi. Yükleme tamamlandıktan sonra jel, elektroforez cihazında (Bio-Rad, ABD) 120 volt akımda bir saat süresince akıma tabi tutuldu. Elektroforez sonucu Syngene Gbox (İngiltere) cihazında görüntülendi.

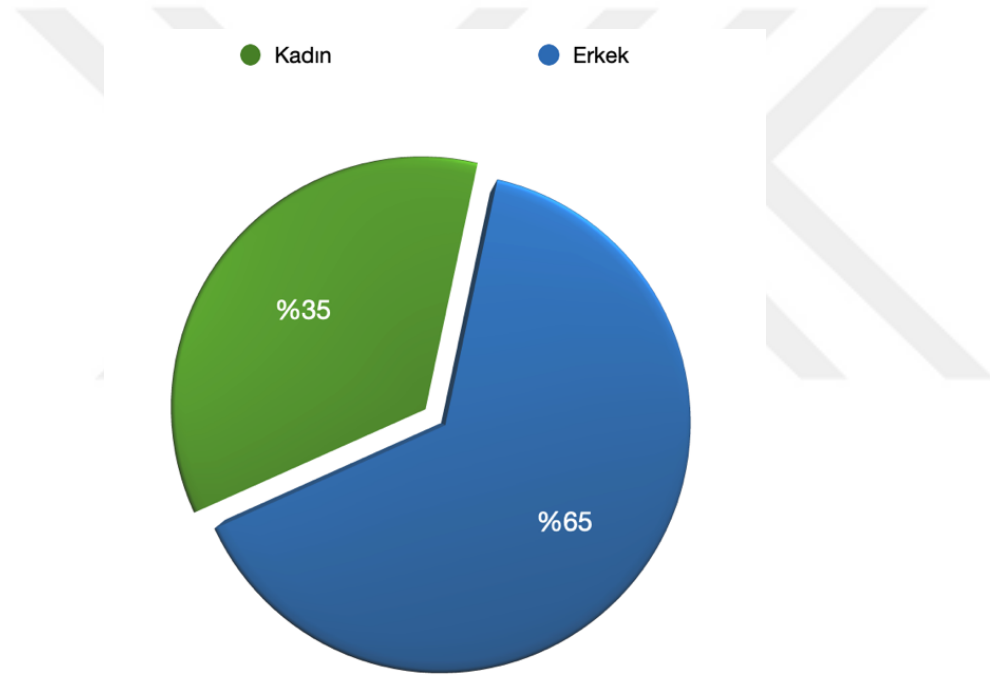
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz için SPSS istatistik paketi kullanıldı. Kategorik veriler (cinsiyet, yaş, klinik örnek, klinik örneklerin gönderildiği klinikler, fenotipik testler ve direnç genleri) arasındaki istatistiksel ilişkiyi belirlemek için ki-kare testi kullanıldı ve $p < 0,05$ değeri, anlamlı kabul edildi.

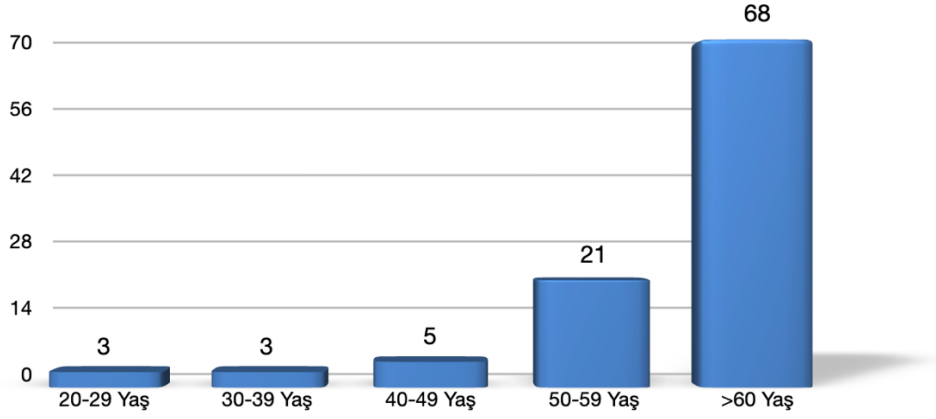
4. BULGULAR

4.1. ARAŞTIRMAYA DAHİL EDİLEN HASTALARIN DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ

Çalışmaya alınan hastaların %65'i (n=65) erkek, %35'i (n=35) kadındı. *A. baumannii* izole edilen hastaların yaş aralığı, 20 ile 93 arasında idi ve aritmetik yaş ortalaması, 67,41 olarak bulundu. Hastaların cinsiyet ve yaş dağılımları, Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



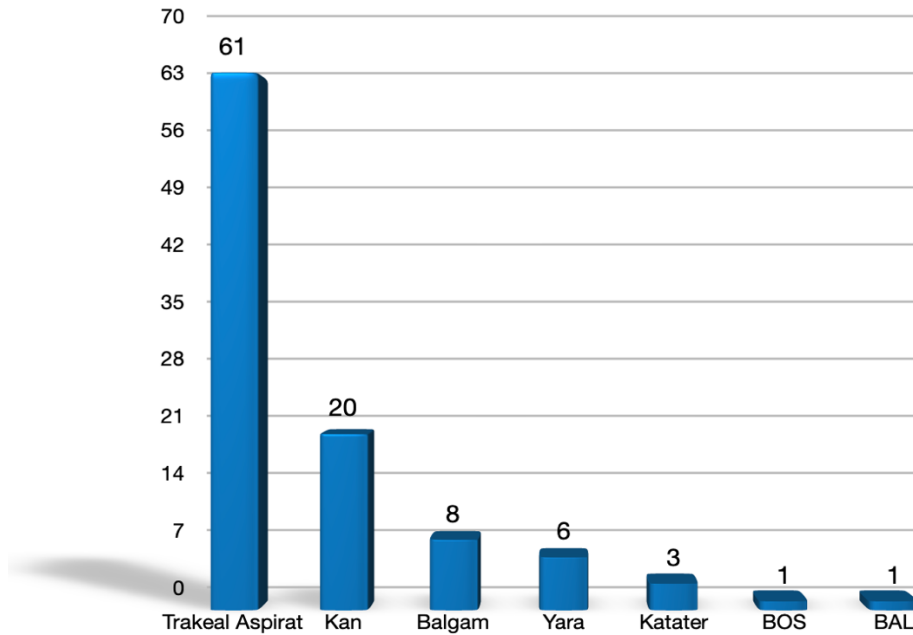
Şekil 4.1: *Acinetobacter baumannii* izole edilen hastaların cinsiyet dağılımları



Şekil 4.2: *Acinetobacter baumannii* izole edilen hastaların yaş dağılımları

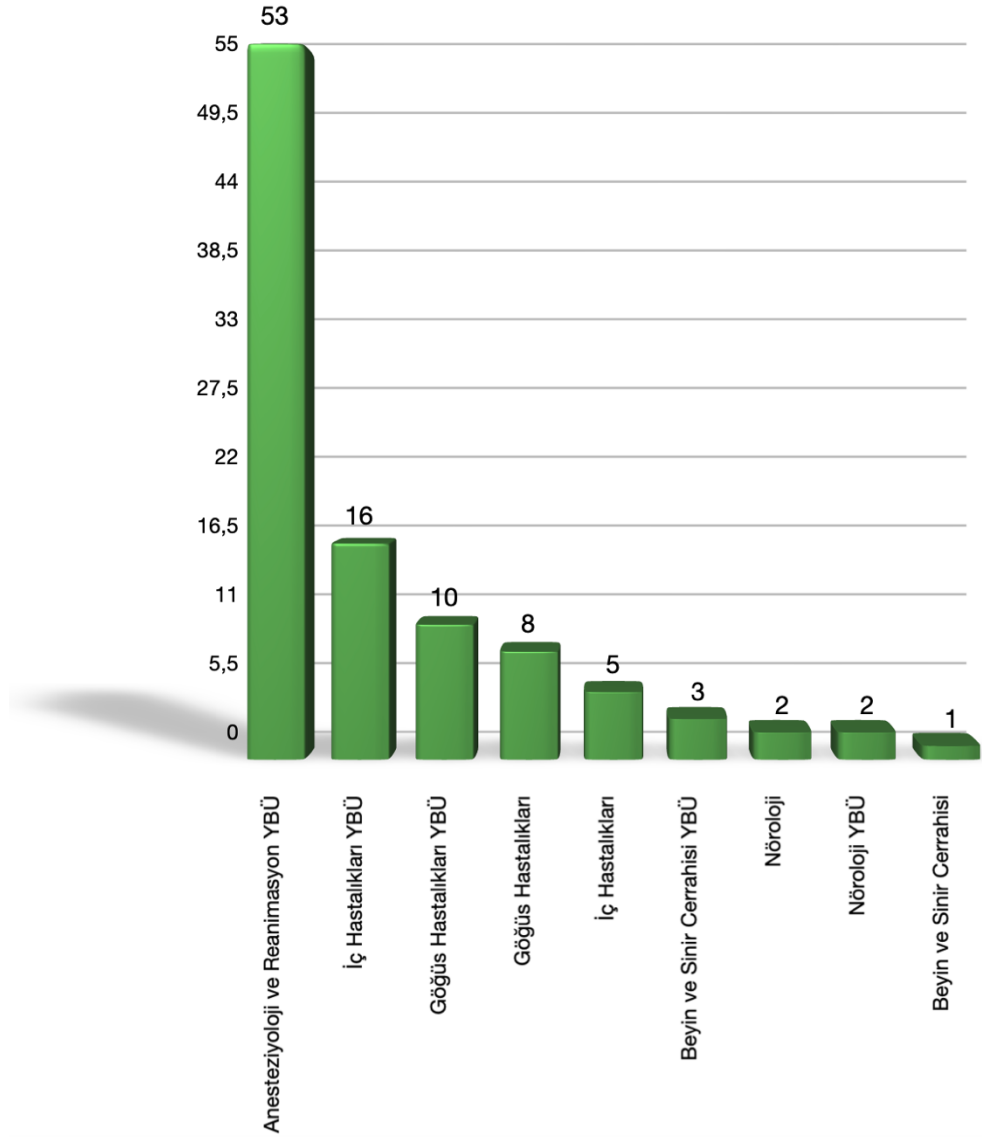
4.2. ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLEN YATAN HASTALARIN KLİNİKLERİ VE KLİNİK ÖRNEKLERİN DAĞILIMLARI

Laboratuvara gönderilen klinik örneklerde üreyen karbapenemlere dirençli *A. baumannii* izolatları, en yüksek oranda trakeal aspirat kültüründen (%61) ve kan kültüründen (%20) izole edildi. Bu sırayı %8 ile balgam kültürü, %6 ile yara kültürü, %3 ile katater kültürü, %1 ile BOS kültürü ve %1 ile BAL kültürü takip etti. *A. baumannii* izolatlarının klinik örneklere göre dağılımları Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3: *Acinetobacter baumannii* izole edilen klinik örneklerin dağılımları

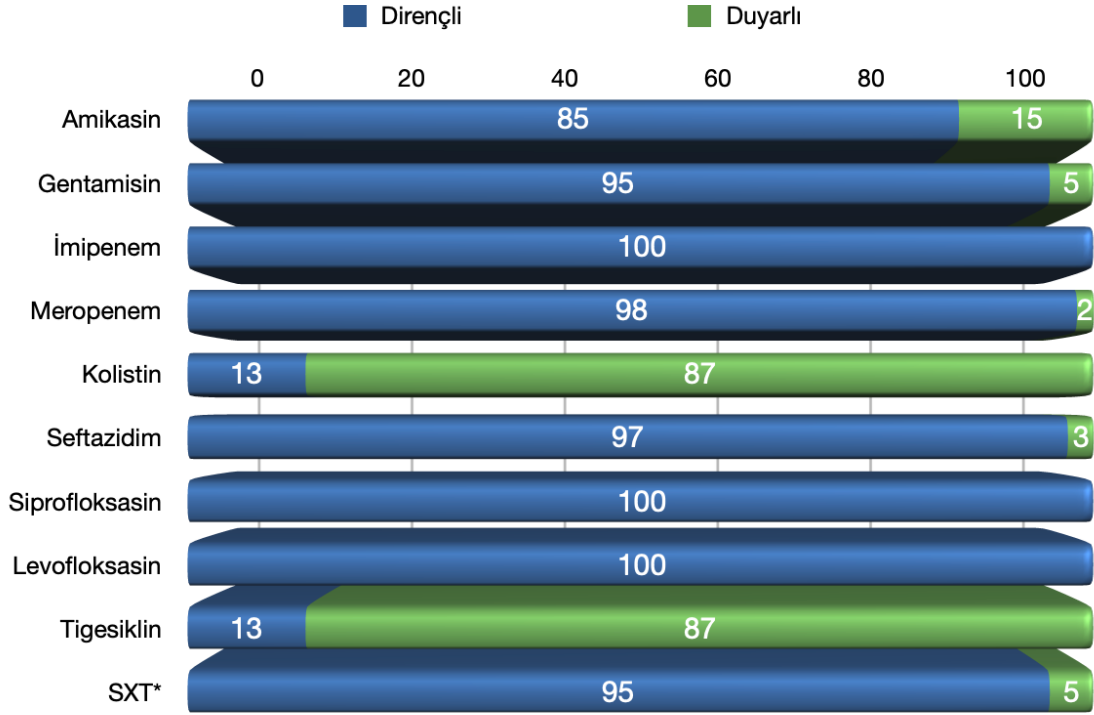
Çalışmaya dahil edilen izolatlar en yüksek oranda (%53) Anesteziyoloji ve Reanimasyon YBÜ'de yatmakta olan hastaların klinik örneklerinden izole edildi. Bu oranı %16 ile İç Hastalıkları YBÜ, %10 ile Göğüs Hastalıkları YBÜ, %5 ile İç Hastalıkları, %3 ile Beyin ve Sinir Cerrahisi YBÜ, %2 ile Nöroloji, %2 ile Nöroloji YBÜ ve %1 ile Beyin ve Sinir Cerrahisi takip etti. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde; karbapenemlere dirençli *A. baumannii* izolatlarımızın %84'ünün (n=84) YBÜ'lerde yatan hastalardan, YBÜ'lerde yatan hastaların ise %63,1'inin (n=53) Anesteziyoloji ve Reanimasyon YBÜ'de yatan hastalardan elde edildiği saptandı. Klinik örneklerin izole edildikleri kliniklere göre dağılımları, Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4: *Acinetobacter baumannii* izole edilen klinik örneklerin gönderildikleri kliniklere göre dağılımları

4.3. İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

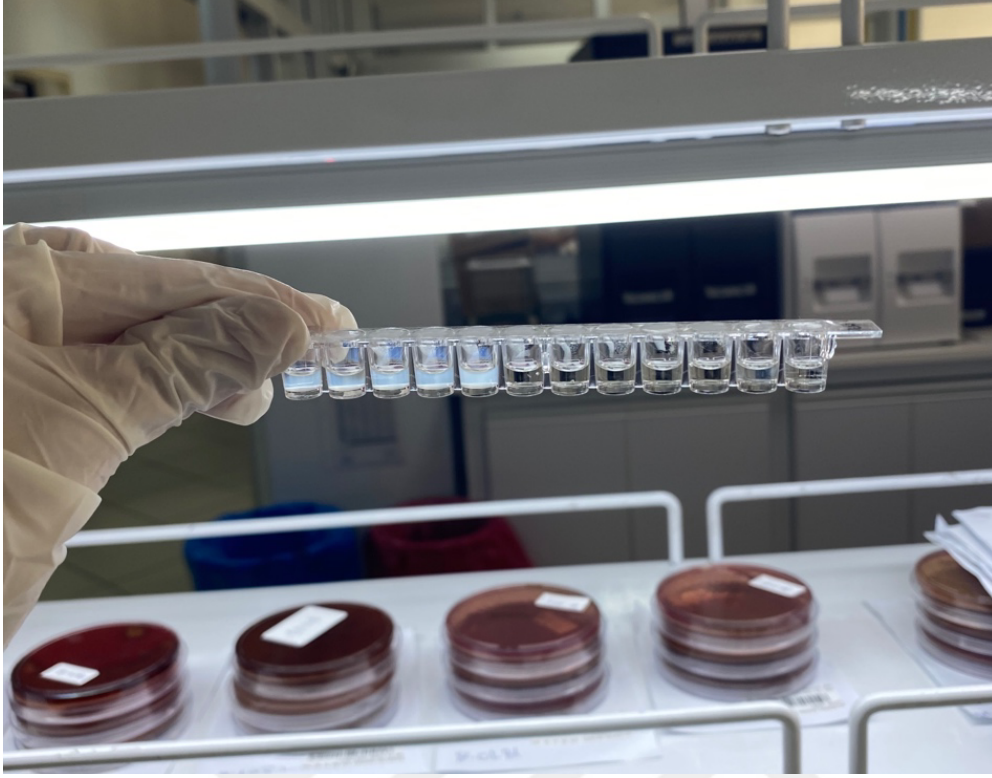
Klinik örneklerden izole edilen karbapenemlere dirençli *A. baumannii* izolatlarında 10 antibiyotik için duyarlılık testleri çalışıldı. *A. baumannii* izolatlarının test edilen antibiyotiklere dirençlilik/duyarlılık oranları, Şekil 4.5'te gösterilmiştir.



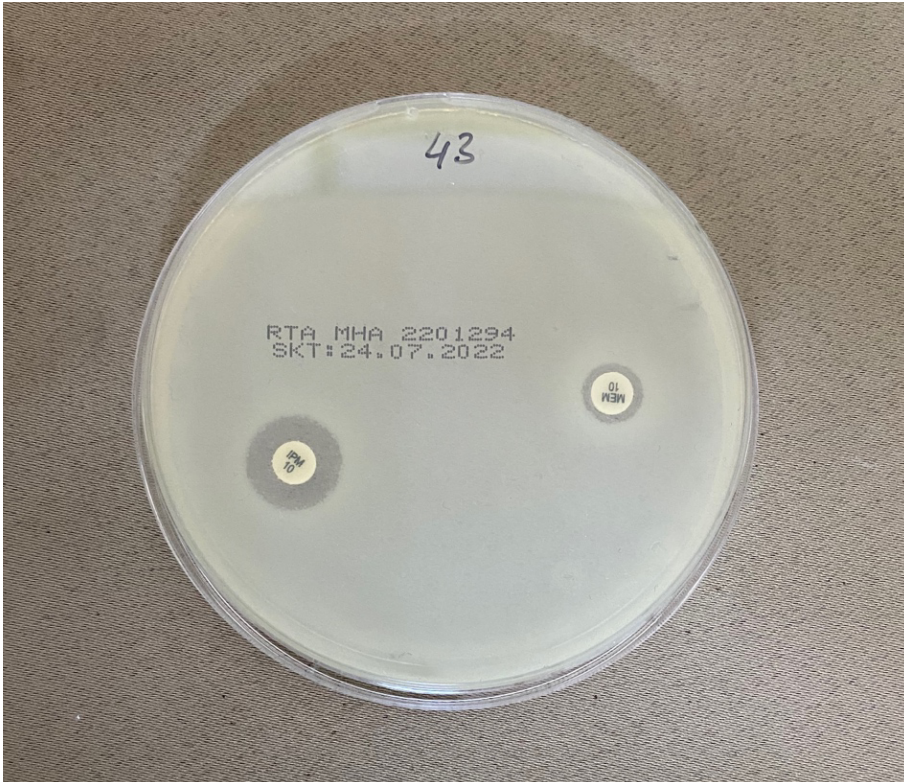
Şekil 4.5: *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik duyarlılık yüzdeleri.

SXT: Trimetoprim-sulfametolsazol

Kolistin duyarlılık testi, altın standart olan mikrodilüsyon yöntemiyle çalışıldı (Şekil 4.6). Bunun sonucunda 13 (%13) *A. baumannii* izolatı kolistine dirençli bulundu. Aynı zamanda çalışmamızda kullanılan izolatların VITEK-2 otomatize antibiyotik duyarlılık test sistemi ile karbapenem grubu antibiyotiklere karşı saptanan direnç durumları, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle doğrulandı (Şekil 4.7).



Şekil 4.6: Kolistin mikrodilüsyon yöntemi



Şekil 4.7: Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle karbapenem direncinin doğrulanması

Antibiyotik duyarlılık testi yapılan 100 *A. baumannii* izolatının tamamı imipeneme, levofloksasine ve siprofloksasine dirençli bulundu. En az direncin kolistine (%13) ve tigesikline (%13) karşı geliştiği saptandı. İzolatların antibiyotik direnç durumları Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: Çalışmamızda test edilen *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik direnç durumları

İzolat kodu	AK	GN	IPM	COL	MEM	CAZ	CIP	LEV	TGC	SXT
AB001	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
AB002	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
AB003	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB004	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB005	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R
AB006	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB007	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R
AB008	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB009	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB010	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB011	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB012	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB013	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB014	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB015	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB016	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB017	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB018	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB019	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB020	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB021	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
AB022	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB023	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB024	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB025	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB026	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
AB027	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB028	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
AB029	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB030	S	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB031	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R
AB032	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB033	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB034	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB035	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB036	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S
AB037	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S
AB038	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB039	S	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB040	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
AB041	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB042	S	S	R	S	R	S	R	R	S	S
AB043	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB044	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
AB045	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB046	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB047	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB048	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R

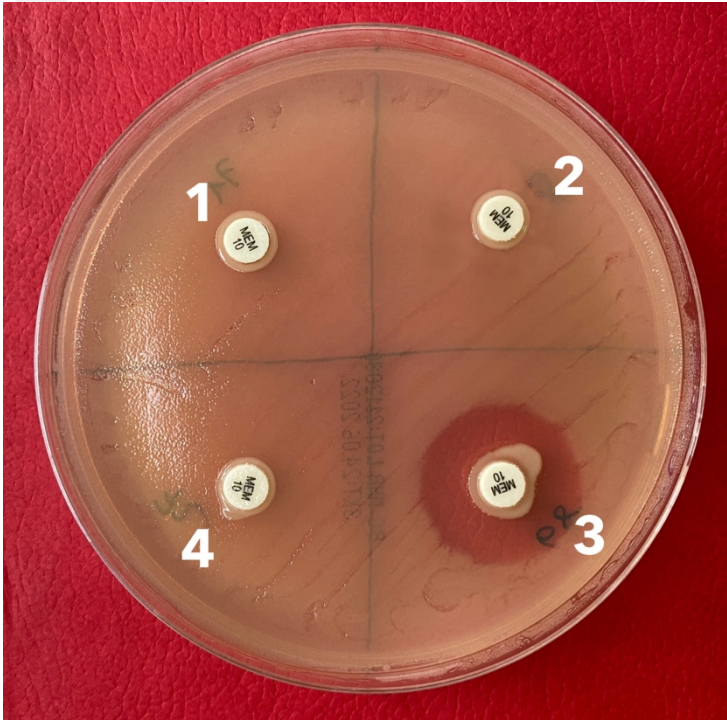
Tablo 4.1: (devam)

AB049	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB050	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
AB051	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB052	S	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB053	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
AB054	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB055	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB056	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB057	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB058	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
AB059	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB060	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
AB061	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
AB062	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB063	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB064	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB065	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB066	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB067	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
AB068	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB069	S	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB070	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB071	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB072	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R
AB073	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S
AB074	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R
AB075	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
AB076	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB077	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB078	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB079	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB080	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB081	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB082	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S
AB083	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
AB084	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
AB085	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB086	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB087	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB088	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
AB089	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB090	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB091	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
AB092	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB093	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R
AB094	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB095	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB096	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB097	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB098	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB099	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R
AB100	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R

AK: Amikasin, GN: Gentamisin, IPM: İmipenem, COL: Kolistin, MEM: Meropenem, CAZ: Seftazidim, CIP: Siprofloksasin, LEV: Levofloksasin, TGC: Tigesiklin, SXT: Trimetoprim-Sulfametoksazol

4.4. KARBAPENEMAZLARIN FENOTİPİK YÖNTEMLERLE SAPTANMASI

Çalışmamızda CIM deneyi ile meropenem diskinin hazırlanan süspansiyon içerisinde iki saat bekletilmesiyle 100 *A. baumannii* izolatının 24'ünde negatif sonuç elde edildi. Daha sonra, negatif sonuç alınan izolatlar ile meropenem diskinin süspansiyonda dört saat bekletilmesiyle deney tekrar edildi, negatif sonuç alınan izolat sayısı yediye düştü. Sonuç olarak; CIM testi ile izolatların 93'ünde (%93) karbapenemaz üretimi tespit edilirken, yedisinde (%7) negatif sonuç elde edildi. CIM deneyi pozitif ve negatif olan izolatlar, Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



Şekil 4.8: Karbapenem inaktivasyon testi pozitif ve negatif izolatlar. 1,2,4: Pozitif sonuç, 3: Negatif sonuç

Çalışmaya dahil edilen 100 *A. baumannii* izolatı ile yapılan RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) testinde 96 (%96) izolatın, pH indikatörü ile kırmızı rengi, koyu turuncu/turuncu/açık turuncuya değiştirdiği gözlemlendi ve bu izolatlar, karbapenemaz pozitif olarak kabul edildi. Dört (%4) izolat ile yapılan testte ise herhangi bir renk değişikliği oluşmadı ve sonuçlar, karbapenemaz negatif olarak kabul edildi (Şekil 4. 9).



Şekil 4.9: RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) testi negatif ve pozitif izolatlar. 1: Negatif sonuç, 2: Pozitif sonuç

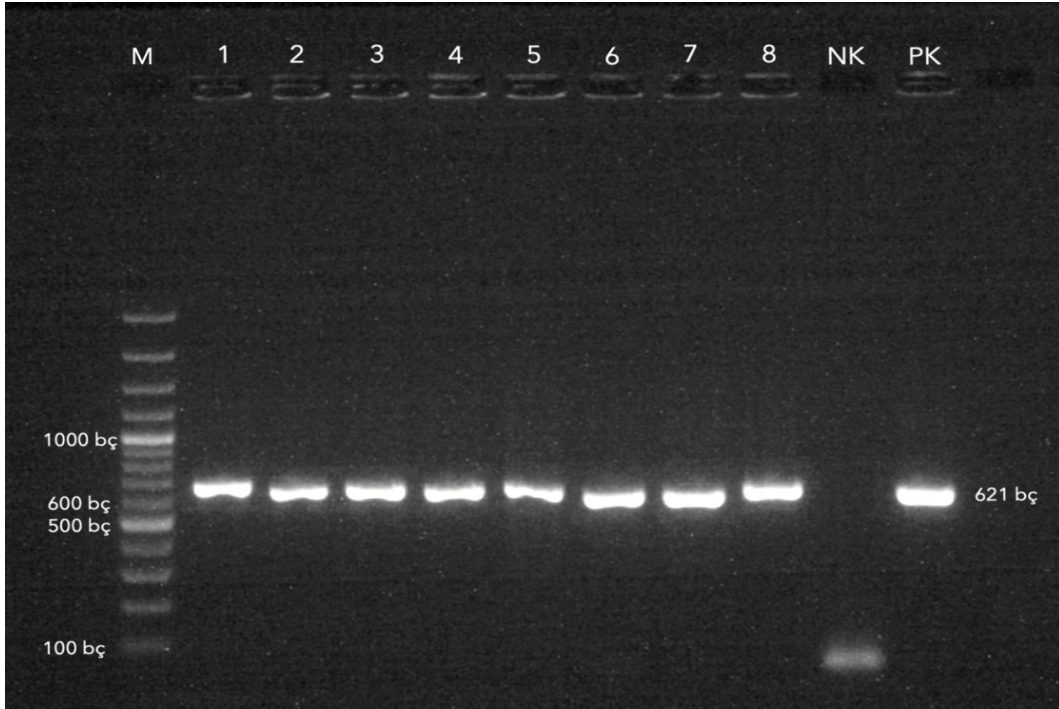
Çalışmamıza dahil edilen *A. baumannii* izolatlarında karbapenemaz pozitifliği, fenotipik testler arasında en yüksek %96'lık oran ile RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) testinde saptandı. CIM testi negatif çıkan altı izolat, RAPIDEC CARBA NP testi ile pozitif bulundu. Buna karşın, RAPIDEC CARBA NP ile negatif sonuç alınan üç izolat ise CIM testi ile pozitif bulundu. Yalnızca bir izolatta hem CIM hem de RAPIDEC CARBA testinde negatif sonuç alındı. Her iki testin de pozitif olduğu izolat sayısı 90 olarak saptandı. Fenotipik yöntemlerden alınan sonuçlar, Tablo 4.2'de karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.2: Fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması

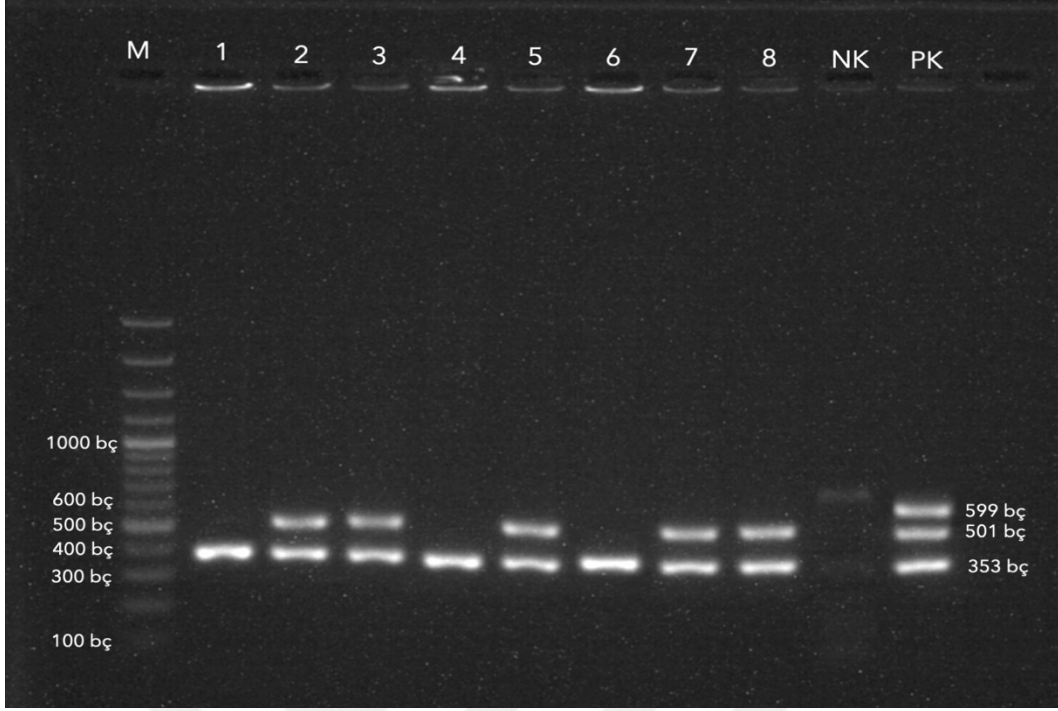
	RAPIDEC CARBA NP Pozitif	RAPIDEC CARBA NP Negatif	Toplam
CIM Pozitif	90	3	93
CIM Negatif	6	1	7
Toplam	96	4	100

4.5. KARBAPENEMAZLARIN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE SAPTANMASI

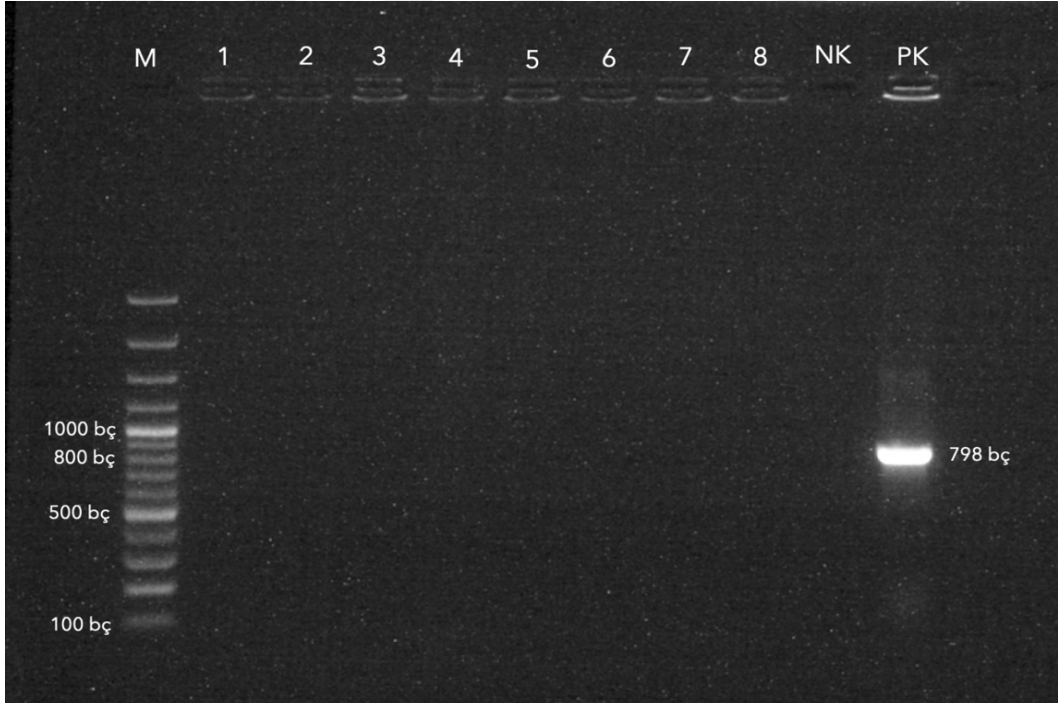
Karbapenem dirençli 100 *A. baumannii* izolatında karbapenemazların moleküler yöntemlerle saptanabilmesi için *bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-58}*, *bla_{NDM}*, *bla_{KPC}* ve *bla_{IMP}* direnç genleri araştırıldı. Araştırma sonucunda *A. baumannii* izolatlarında intrinsik olarak bulunan *bla_{OXA-51}* geni, tüm izolatlarda tespit edildi. *bla_{OXA-23}* geni 38 izolatta saptanmış iken *bla_{NDM}* geni 26 izolatta tespit edildi. 24 izolatta ise *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-23}* ve *bla_{NDM}* direnç genlerinin birlikte bulunduğu gözlemlendi. 60 izolatta sadece *bla_{OXA-51}* pozitifliği saptandı. İzolatların hiçbirisinde *bla_{OXA-58}*, *bla_{IMP}* ve *bla_{KPC}* geni tespit edilmedi. Örneklere ait jel görüntüsü Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'te gösterilmiştir.



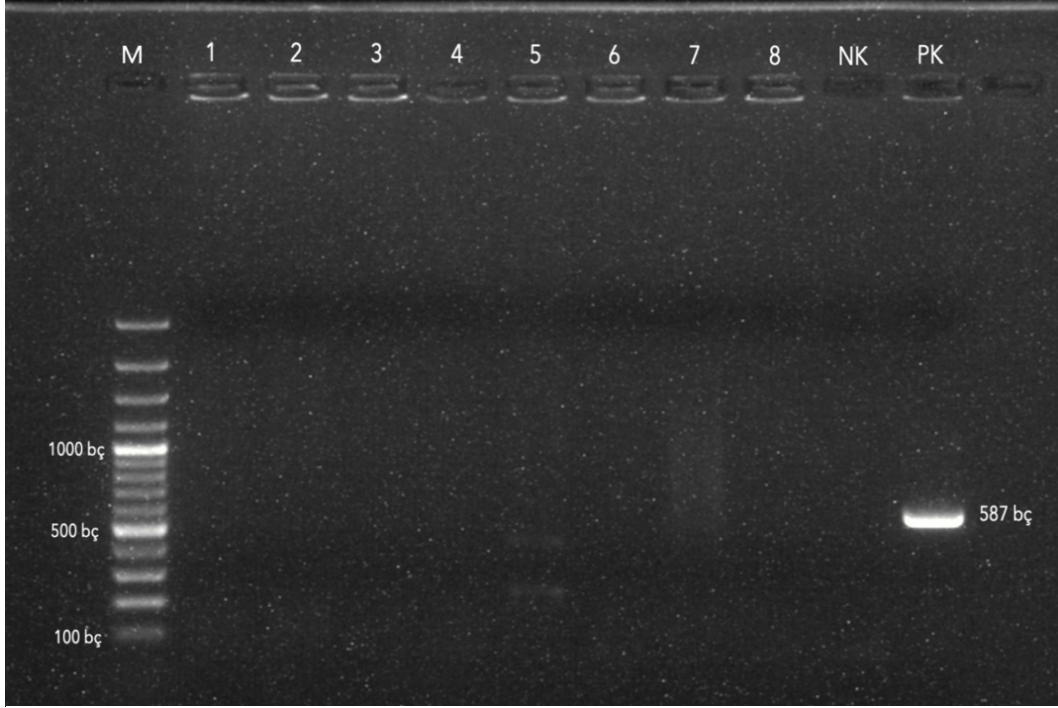
Şekil 4.10: *bla_{NDM}* jel elektroforez görüntüsü. M: Marker (100 bç), 1-8: Pozitif izolatlar, NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol



Şekil 4.11: *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} jel elektroforez görüntüsü. M: Marker (100 bç), 1,3,6: *bla*_{OXA-51} pozitif izolatlar, 2,3,5,7,8: *bla*_{OXA-23} ve *bla*_{OXA-51} pozitif izolatlar, NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol



Şekil 4.12: *bla*_{KPC} jel elektroforez görüntüsü. M: Marker (100 bç), 1-8: Negatif izolatlar, NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif kontrol



Şekil 4.13: *bla_{IMP}* jel elektroforez görüntüsü. M: Marker (100 bç), 1-8: Negatif izolatlara, NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif kontrol

Araştırılan karbapenemaz genlerinin gönderildikleri kliniklere ve klinik örneklere göre dağılımları, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3: *Acinetobacter baumannii* izolatlarda araştırılan karbapenemaz genlerinin klinik örneklerin gönderildikleri kliniklere göre dağılımları

Klinikler	<i>bla_{OXA-23}</i>	<i>bla_{OXA-51}</i>	<i>bla_{OXA-58}</i>	<i>bla_{NDM}</i>	<i>bla_{KPC}</i>	<i>bla_{IMP}</i>
Anesteziyoloji ve Reanimasyon YBÜ	15	53	0	12	0	0
İç Hastalıkları YBÜ	2	16	0	1	0	0
İç Hastalıkları	4	5	0	0	0	0
Göğüs Hastalıkları YBÜ	8	10	0	6	0	0
Göğüs Hastalıkları	5	8	0	3	0	0
Beyin ve Sinir Cerrahisi YBÜ	3	3	0	3	0	0
Beyin ve Sinir Cerrahisi	0	1	0	0	0	0
Nöroloji YBÜ	1	2	0	1	0	0
Nöroloji	0	2	0	0	0	0
Toplam	38	100	0	26	0	0

BOS: Beyin omurilik sıvısı, BAL: Bronkoalveolar lavaj

Tablo 4.4: Karbapenemaz genlerinin izole edildikleri klinik örnekler göre dağılımları

Klinik Örnek	<i>bla</i> _{OXA-23}	<i>bla</i> _{OXA-51}	<i>bla</i> _{OXA-58}	<i>bla</i> _{NDM}	<i>bla</i> _{KPC}	<i>bla</i> _{IMP}
Trakeal Aspirat	18	61	0	18	0	0
Kan	9	20	0	6	0	0
Balgam	5	8	0	0	0	0
Yara	5	6	0	1	0	0
Katater	1	3	0	1	0	0
BOS	0	1	0	0	0	0
BAL	0	1	0	0	0	0
Toplam	38	100	0	26	0	0

BOS: Beyin omurilik sıvısı, BAL: Bronkoalveolar lavaj

Çalışmamızda genotipik yöntemlerle saptanan *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC} ve *bla*_{IMP} direnç genleri ile hastaların cinsiyetleri, yaşları, klinik örnekleri ve yattıkları klinikler arasında istatistiksel bir farklılığın olup olmadığı değerlendirildi. Söz konusu direnç genleri ile hastaların cinsiyetleri, yaşları, klinik örnekleri ve yattıkları klinikler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. Benzer şekilde CIM ve RAPIDEC CARBA NP testlerini kapsayan fenotipik yöntemlerle saptanan karbapenemaz varlığı ile hastaların cinsiyetleri, yaşları, klinik örnekleri ve yattıkları klinikler arasında istatistiksel bir farklılığın olup olmadığı araştırıldı ve sadece klinik örnekler arasındaki analizde, CIM testi ve solunum yolu örneği (trakeal aspirat, balgam, BAL) arasında anlamlı bir ilişki ($p < 0,05$) saptandı.

5. TARTIŞMA

Gram negatif bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlardan sıklıkla izole edilen *A. baumannii*, *Moraxellaceae* ailesine ait non-fermentatif, oksidaz negatif kokobasillerdir. ESKAPE patojenler (*Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *Enterobacter* spp.) arasında bulunan bu bakteri, nozokomiyal enfeksiyonların büyük kısmından sorumludur (88).

Acinetobacter baumannii, patojenitesi yüksek olmadığı için 1960'lı yıllarda göz ardı edilse de 1970'li yıllarda hastane enfeksiyonu etkeni olarak kabul edilmeye başlanmıştır. Hastane enfeksiyonu, inkübasyon dönemi olmadığı takdirde hastaneye yatış yapıldıktan 48 ile 72 saat sonra, cerrahi girişimden 30 gün sonra veya taburcu olduktan 10 gün sonra oluşan enfeksiyon olarak tanımlanmaktadır (130). Serviste uzun süreli yatarak tedavi gören hastaların yaklaşık %5'inde hastane enfeksiyonu görülürken, bu oran YBÜ'de %20'lere çıkmaktadır. Sağlık kurumlarında sterilizasyon ve dezenfeksiyon kurallarına önem verilse de bu bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonların yayılması, halen tam olarak önlenememiştir. ABD'de her yıl yaklaşık iki milyon hasta, hastane enfeksiyonuna yakalanmaktadır ve bu olguların yaklaşık 88.000'i ölümle sonuçlanmaktadır (131). Hastaların tedavisi için harcanan toplam maliyet artışı, 1000-4500 dolar arasında olmakla birlikte, ortalama 1800 dolar civarındadır (132). Hastanede yatış süresinin uzaması, mekanik ventilasyon desteği, çok sayıda uygulanan cerrahi girişim, düşük doğum ağırlığı ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı gibi etkenler, hastane enfeksiyonu riskini arttıran faktörlerdendir. Aynı zamanda *A. baumannii*'lerin, ısıya ve kuruluğa oldukça dirençli olup cansız yüzeylerde uzun süre canlı kalabilmeleri de enfeksiyon oluşturma riskini arttırmaktadır (133).

Acinetobacter baumannii'nin neden olduğu enfeksiyonlar, genellikle hastane kaynaklı olsa da toplum kaynaklı olgular da bildirilmiştir. Bu olgular, yüksek oranda önceden mevcut komorbiditeleri olan kişilerden oluşmaktadır (13,134). Toplum kaynaklı *A. baumannii* enfeksiyonları, sıklıkla alkol tüketimi veya kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi altta yatan faktörlerle ilişkilendirilmiştir (63). Hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *A. baumannii*'lerin sebep olduğu en yaygın klinik tablo ise pnömonidir (135). *A. baumannii*'nin yol açtığı ventilatörle ilişkili pnömoninin çevresel maruziyet yoluyla solunum yolunda kolonizasyonundan kaynaklandığı ve ardından pnömoni geliştiği düşünülmektedir (63). Çeşitli çalışmalarda, ventilatörle ilişkili

pnömonilerde ölüm oranının %20-50 arasında değiştiği bildirilmiştir (136-140). Pnömoninin yanısıra *A. baumannii*, kan dolaşım enfeksiyonlarına da oldukça sık sebep olmakta ve bu enfeksiyonlarda mortalite %30-52'lere kadar çıkabilmektedir (30). Kan dolaşım enfeksiyonlarının en yaygın sebepleri, alt solunum yolu enfeksiyonları ve intravasküler cihazlardır (141). Tayland'ta bir üçüncü basamak hastanesinde, ÇİD izolatların neden olduğu kan dolaşım enfeksiyonlarının, ÇİD olmayan izolatların sebep olduğu kan dolaşım enfeksiyonlarına kıyasla, hasta başına 3758 dolar ek maliyete yol açtığı ve hastanede yatış süresini 13,4 gün arttırdığı bildirilmiştir (142)

Acinetobacter baumannii izolatlarının izole edildiği klinik örneklerin dağılımı, çalışmalar arasında farklılıklar göstermektedir. Uğur ve Genç'in (143) 2019 yılında Giresun'da YBÜ'den izole edilen *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* izolatlarının üç yıllık direnç profilini gözlemledikleri çalışmada, izolatların %46'sı trakeal aspirattan, %21'i kandan, %19'u balgamdan, %9'u idrardan ve %3'ü deri ve yumuşak doku örneğinden izole edildiği bildirilmiştir. Güvenir ve ark.'nın (144) K.K.T.C'de yaptıkları ve 2016-2018 yıllarını kapsayan çalışmalarında, izolatların %30,4'ü trakeal aspirattan, %27,2'si balgamdan, %23,9'u idrardan izole edilmiştir. Şay Çoşkun (145)'un Ocak 2016-Temmuz 2017 yıllarını kapsayan dönemde Tokat'ta yaptığı çalışmada ise elde edilen karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatları, en çok solunum yolu örneğinden (%41,8) izole edilmiş ve bunu %35,4 ile kan örneği takip etmiştir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde *A. baumannii* %61 ile en yüksek oranda trakeal aspirat kültüründen izole edilmiştir. Bunu %20 ile kan, %8 ile balgam, %6 ile yara, %3 ile katater, %1 ile BOS ve %1 ile BAL kültürü takip etmiştir. Klinik örneklerin dağılımı; hastanelerin hasta yoğunluğuna, YBÜ kapasitesine ve hastaların hastanede yatış süresinin uzunluğuna bağlı olarak değişebilmektedir.

Acinetobacter baumannii izole edilen klinik örneklerin gönderildiği YBÜ'ler (n=84, %84) incelendiğinde; çalışmamıza dahil edilen 100 *A. baumannii* izolatının 53'ünün (%53) Anesteziyoloji ve Reanimasyon YBÜ'den, 16'sının (%16) İç Hastalıkları YBÜ'den, 10'unun (%10) Göğüs Hastalıkları YBÜ'den, üçünün (%3) Beyin ve Sinir Cerrahisi YBÜ'den ve birinin (%1) ise Nöroloji YBÜ'den gönderilen klinik örneklerden izole edildiği tespit edilmiştir. Keyik ve ark.'nın (146) 2014 yılında Konya'da 105 *A. baumannii* izolatu ile yaptıkları çalışmada, izolatlar en çok Anesteziyoloji ve Reanimasyon YBÜ'den (%46,7), bunu takiben ise Göğüs Hastalıkları

YBÜ'den (%18,1) izole edilmiştir. Başka bir benzer çalışmada ise *A. baumannii*, %67,7 ile en çok Anesteziyoloji ve Reanimasyon YBÜ'de tedavi gören hastalardan izole edilmiştir (147). Leblebicioğlu ve ark.'nın (148) Türkiye'de 2002-2005 yıllarında 10 merkezi kapsayan çalışmasında, karbapenem dirençli olduğu saptanan 596 izolatin %51'i YBÜ'den izole edilmiştir. Çalışmamıza dahil edilen *A. baumannii* izolatlarımızın %84'ünün YBÜ'de yatan hastalardan, YBÜ'lerde yatan hastaların ise %63,1'inin (n=53) Anesteziyoloji ve Reanimasyon YBÜ'den elde edildiği saptanmıştır. Bu sonuçlarımızın, literatür bulguları (146-148) ile uyumlu olduğu görülmüştür. YBÜ'den gönderilen klinik örneklerden *A. baumannii* izole edilme sıklığının yüksek olmasının nedeni olarak YBÜ'lerde yatan hastaların çoğunlukla daha yaşlı, kronik hastalığa sahip, mekanik ventilasyon desteği alan, bağışıklık sistemi zayıf kişilerden oluşması ve invaziv işlemlerin daha fazla uygulanıyor olması sayılabilir.

Çalışmamızda Ocak 2021-Aralık 2021 tarihleri arasında yatan hastalardan izole edilen karbapenem dirençli 100 *A. baumannii* izolatu dahil edilmiştir. *A. baumannii* izole edilen 100 hastanın cinsiyet durumuna bakıldığında; 35'inin (%35) kadın, 65'inin (%65) erkek olduğu görülmüştür. Benzer bir şekilde Güvenir ve ark.'nın (144) yaptığı çalışmada, *A. baumannii* izole edilen hastaların %39,1'inin kadın, %60,9'unun erkek; Şay Çoşkun (145)'un yaptığı çalışmada ise %56,1'inin erkek, %43,9'unun kadın olduğu bildirilmiştir. Çalışmalardan, *A. baumannii* izole edilen hastaların çoğunlukla erkek oldukları anlaşılmaktadır.

Tüm dünyada ve ülkemizde ÇİD izolatlarının artması ve antibiyotik direncinin giderek yayılması, *A. baumannii* kaynaklı enfeksiyonlarda tedavi seçeneklerini oldukça kısıtlamaktadır. Bu soruna neden olan en büyük etkenlerden birisi de gereksiz ve sık antibiyotik kullanımımızdır. Artan antibiyotik kullanımı ile birlikte mikroorganizmaların bu antimikrobiyallere karşı direnç geliştirmesi kaçınılmaz olmuştur. ÇİD *A. baumannii* izolatlarının çoğu, bizim çalışmamızda da olduğu gibi, kolistin ve tigesikline duyarlıdır. Ancak bazı çalışmalarda, bu antibiyotiklerden sadece birine duyarlı olan izolatlar da bildirilmiştir (149). Lob ve ark.'nın (150) 2011 ve 2014 yılları arasını kapsadığı "Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends" (SMART) çalışmasında, 48 ülkeden 453 farklı hastaneden 2337 *A. baumannii* izolatu toplanmış ve bu izolatların enfeksiyon etkeni olarak izole edilen gram negatif bakterilerin %0,7 ile %4,6'sını oluşturduğu bildirilmiştir. Büyük bir çoğunluğunun YBÜ'de yatan hastalardan izole edildiği

bildirilen ÇİD *A. baumannii*'ler, Kuzey Amerika'dan %47, Avrupa ve Ortadoğu'dan %93 oranında izole edilmişlerdir. Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi'nin 2015-2019 yıllarını kapsadığı çalışmasında, direnç yüzdelerinde ülkeler arası aralığın en geniş olduğu türün *Acinetobacter* spp. olduğu tespit edilmiştir. ÇİD *Acinetobacter* spp. izolatlarının izole edildiği ülkelere bağlı olarak %0 ile %95.8 arasında değiştiği saptanmıştır. En yüksek direnç oranı ise Baltık ülkelerinden ve Güney Avrupa'dan bildirilmiştir (151).

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda antibiyotik direnç oranları farklılıklar gösterse de çoğul dirençli kökenlerin benzerlik göstermesi, oldukça endişe vericidir. Gür Vural ve Durupınar (152)'ın 2011 yılında Kocaeli'de 100 *A. baumannii* izolatu ile yaptıkları çalışmada, seftazidime %100, siprofloksasine %99, levofloksasine %90, amikasin ve gentamisine %62, trimetoprim-sulfametoksazole %73 oranında direnç saptanmıştır ve tüm izolatların kolistine duyarlı olduğunu bildirilmiştir. Ocak 2016-Temmuz 2017 yıllarını kapsayan dönemde yapılan başka bir çalışmada (145) ise 237 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatının antibiyotik direnç durumları araştırılmış ve levofloksasine %100, siprofloksasine %99,6, seftazidime %95, trimetoprim-sulfametoksazole %84, gentamisine %77,2, amikasine %70,9 oranında direnç saptanmıştır. En düşük direnç oranı ise %23,9 ile tigesikline ve %0,4 ile kolistine karşı gelişmiştir. Bizim çalışmamızda ise siprofloksasin ve levofloksasine %100, seftazidime %97, trimetoprim-sulfametoksazol ve gentamisine %95, amikasine %85, kolistin ve tigesikline ise %13 oranında direnç saptanmıştır. Bahsedilen çalışmalarla karşılaştırıldığında çalışmamıza dahil edilen izolatların aminoglikozid ve kolistin direncinin daha yüksek, trimetoprim-sulfametoksazol, seftazidim ve florokinolon direncinin benzer ve tigesiklin direncinin ise daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durum hastanemizde uygulanan tedavinin çeşitliliği ile ilişkilendirilebilir.

Karbapenem dirençli *A. baumannii*, DSÖ tarafından antibiyotiklere dirençli bakteriler ile ilgili yayınlanan listede son zamanların en kritik patojeni olarak yer almış ve dirençli enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek yeni antibiyotiklerin araştırılması ve geliştirilmesinde öncelikli bakteri olarak tanımlanmıştır (153). Özellikle karbapenem dirençli olarak belirtilmesinin sebebi ise bu direncin, genellikle diğer antimikrobiyal sınıflara karşı da ko-direnç geliştirmesine olan yatkınlığı ile ilişkilendirilmiştir (37). Karbapenem direnci, bölgeler arasında farklılıklar

göstermektedir. Avrupa'nın yanısıra Irak, Filistin, Lübnan ve Suriye gibi Arap ülkelerinde karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarının insidansında artış gözlenmiştir (151). Avrupa'da 1997-2000 yıllarını kapsayan "Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection" (MYSTIC) programı kapsamında incelenen 426 *A. baumannii* izolatu arasında karbapenem direncini saptamak için yapılan çalışmada, imipeneme %79,6 ve meropeneme %82,2 oranında duyarlılık tespit edilmiştir (154). Ülkemizde 2000-2004 yılları arasında yapılan MYSTIC çalışmasında bu oran, sırasıyla %48 ve %53 bulunmuştur (155). Eraksoy ve ark.'nın (156) 2000 yılında yaptıkları benzer çalışmada, *A. baumannii* enfeksiyonlarına karşı kullanılabilir en etkili antibiyotiğin karbapenem grubu antibiyotikler olduğu belirtilmiştir. Bedenik ve ark.'nın (157) gerçekleştirdiği farklı bir MYSTIC programında, 2010 yılında izole edilen *A. baumannii* izolatlarının imipenem ve meropeneme sırasıyla %4,7 (8/169) ve %1,2 (2/169) oranında direnç geliştirdiği bildirilmiştir. 2006 ve 2018 yıllarında karbapenem direnç oranlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada (158) ise bu direnç, 2006 yılında %25 bulunurken 2018 yılında %93,5 olarak tespit edilmiştir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda ise karbapenem direnci %100'e kadar çıkmıştır (145,152,159-161). Karbapenem direnç oranlarının bu denli yüksek olması, bu dirence neden olan mekanizmaların araştırılmasını zorunlu hale getirmektedir. Direnç gelişiminin önüne geçilmesi, tedavide kullanılabilir antimikrobiyal seçeneklerinin kısıtlanmaması adına oldukça büyük öneme sahiptir.

Acinetobacter baumannii izolatları arasında karbapenem direncine yol açan PBP'lerdeki değişiklik, eflüks dışa atım pompalarının aşırı ekspresyonu, dış membran porinlerinin kaybı ve karbapenemaz varlığı gibi birçok mekanizma vardır. Bunlar arasında en önemli mekanizma ise doğal veya kazanılmış yolla elde edilen karbapenemaz enziminin üretimi sonucunda gelişen dirençtir. *A. baumannii* arasında şimdiye kadar çok sayıda karbapenemaz tanımlanmıştır ve bunlar Ambler sınıflandırmasına göre A, B ve D olmak üzere üç ana gruba ayrılmaktadır.

Sınıf A karbapenemazlar, kromozom, plazmid ya da her ikisi tarafından kodlanabilen enzim grubudur. Bu enzimlere sahip izolatların sebep olduğu enfeksiyonu olan hastalarda ölüm oranı oldukça yüksektir. İlk olarak 2010 yılında *A. baumannii* izolatında saptanan KPC, diğer sınıf karbapenemazlara göre oldukça az oranda izole edilmektedir. Robledo ve ark. (162) 2011 yılında Porto Riko'da 958 *A. baumannii*

izolatında *bla_{KPC}* gen varlığını PCR ile araştırmış ve 41 izolatta (%4,3) pozitiflik saptamışlardır. Portekiz’de 2018 yılında, 35 yaşındaki kadın hastada tüm antimikrobiyallere dirençli *A. baumannii* izole edilmiş ve PCR ile taraması sonucunda *bla_{KPC}* direnç genine sahip olduğu tespit edilmiştir (163). Türkiye’de 2012’de 10 merkezi kapsayarak yapılan bir çalışmada, 172 *A. baumannii* izolatlarının tamamında *bla_{OXA-51}*, 166’sında (%96) *bla_{OXA-23}*, beşinde (%3) *bla_{OXA-58}* tespit edilmişken izolatların hiçbirinde *bla_{IMP}*, *bla_{NDM}* ve *bla_{KPC}* direnç genleri gösterilememiştir (164). Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar alınmış ve hiçbir izolatta *bla_{KPC}* pozitifliği saptanmamıştır. Elde ettiğimiz sonuç doğrultusunda, hastanemizde karbapenem direncine yol açan ana mekanizmanın, *bla_{KPC}* direnç geninden kaynaklanmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Ambler sınıf B’de yer alan MBL, aztreonam dışında tüm beta laktam grubu antibiyotikleri hidroliz edebilmektedir (165). *A. baumannii*’de kazanılan MBL genlerinden *bla_{NDM}* ve *bla_{IMP}*, çalışmamızda araştırılan direnç genleridir. Bu direnç genlerinin incelendiği çalışmalara bakıldığında, Çin’de 2011 yılında yapılan çalışmada 2109 *A. baumannii* izolatında *bla_{NDM}* pozitifliği araştırılmış, yalnızca dört izolatın (%0,18) *bla_{NDM}* pozitifliğine sahip olduğu bulunmuştur. *bla_{NDM}* pozitif olduğu saptanan tüm izolatların karbapenemlere ve sefalosporinlere dirençli olduğu tespit edilmiştir (166). Avrupa’da ilk *bla_{IMP}* pozitifliği, 1997 yılında İtalya’da YBÜ’de yatan bir hastanın solunum yolu örneğinden izole edilen ÇİD *A. baumannii* izolatında saptanmıştır (167). Ocak ve ark. (168), Hatay’da 2014 yılında 141 *A. baumannii* ve dokuz *A. lwoffii* ile yaptıkları çalışmada, *bla_{IMP}* gen varlığını PCR ile gösterememiştir. 2015 yılında İran’da yapılan benzer bir çalışmada da 65 *A. baumannii* izolatında *bla_{IMP}* ve *bla_{NDM}* pozitifliği saptanmamıştır (169). Heydari ve ark. (127) tarafından 2015 yılında ülkemizde yapılan bir çalışmada, Suriyeli bir göçmenden izole edilen *A. baumannii*’de *bla_{NDM}* pozitifliği saptanmış ve bunun ST85 klonuna ait olduğu tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise *bla_{IMP}* pozitif izolat tespit edilememiş, *bla_{NDM}* pozitifliği ise %26 oranında saptanmıştır.

Oksasilinazlar olarak da bilinen sınıf D karbapenemazlar, *A. baumannii* izolatlarında karbapenem direncine en sık neden olan karbapenemaz grubudur. OXA-23, OXA24/40, OXA-51, OXA-58 ve OXA-143 ve OXA-258 olmak üzere altı ana tip OXA grubu tanımlanmıştır. OXA-51, tüm *A. baumannii* izolatlarında intrinsik olarak

bulunmakta ve izolatin *A. baumannii* olduğunun doğrulanması için pozitif kontrol olarak da kullanılmaktadır. Zayıf hidroliz yeteneği olan OXA-51'lerin karbapenem inaktivasyonuna yol açabilmeleri için aşırı salınımı gereklidir. Yapılan çalışmalar, bunu doğrular nitelikte olup, *bla*_{OXA-51} geninin tüm izolatlarda bulunabileceğini, fakat yalnızca aşırı gen ekspresyonunun bu dirence yol açabileceğini göstermiştir (170). Çalışmamızda kullanılan tüm *A. baumannii* izolatlarının moleküler doğrulaması yapılması amacıyla *bla*_{OXA-51} gen varlığı araştırılmıştır ve tüm izolatlarda (100/100) tespit edilmiştir.

Acinetobacter'ler arasında kazanılmış OXA olarak ilk tespit edilen enzim OXA-23'tür. İlk olarak ARI-1 olarak adlandırılmasını takiben OXA-23 adını almıştır. *bla*_{OXA-23} direnç geni; Çin, Güney Kore ve Kolombiya gibi bazı ülkelerde hastane salgımına neden olan *A. baumannii* izolatlarından izole edilmiştir (165). Kolombiya'da 2005 yılında gerçekleştirilen ve karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatları dahil edilen bir çalışmada, 66 izolatin 65'inde *bla*_{OXA-23} gen varlığı tespit edilmiştir (171). Aynı zamanda Hong Kong'da yapılan ve 2014-2017 yıllarını kapsayan bir çalışmada, karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarının %82'sinin *bla*_{OXA-23} direnç genine sahip olduğu gösterilmiştir (172). Çalışmamızda 100 izolatin 38'inde (%38) *bla*_{OXA-23} pozitif izolat tespit edilmiştir. Buna ek olarak *bla*_{OXA-23} pozitif saptanan 38 izolatin 24'ünün *bla*_{NDM} pozitif olduğu da gözlemlenmiştir. Ülkemizde yapılan benzer çalışmalarda ise Sarı ve Gülay (173), İzmir'de 2015 yılında 62 ÇİD *A. baumannii* izolatu ile yaptıkları çalışmada, *bla*_{OXA-23} pozitifliğini %100 olarak saptarken, Telli ve ark. (174) ise bu oranı 2018 yılında Aydın'da %78 olarak bildirmişlerdir. Pozitiflik oranı, bölgeden bölgeye değişse de oldukça yüksektir. Bizim elde ettiğimiz verilerin diğer çalışmalarla kıyaslandığında daha az olması, hastanemizde karbapenem direncine yol açan mekanizmanın yalnızca *bla*_{OXA-23}'ten kaynaklanmadığını düşündürmektedir.

*bla*_{OXA-58} ilk olarak Fransa'da tanımlanmış ve daha sonra Avrupa, İngiltere, Tayvan ve Arjantin'de bildirilmiştir. Hastane enfeksiyonu etkeni olarak Fransa, İtalya ve Yunanistan'da izole edilmiştir (175). *bla*_{OXA-58} direnç geninin araştırıldığı çalışmalara bakıldığında, 2010 yılında Zonguldak'ta *bla*_{OXA-58} pozitif izolatların yol açtığı hastane salgını bildirilmiştir (126). Keyik ve ark. (146), Konya'da 2014 yılında *bla*_{OXA-58} pozitifliğini %53,3; Bölükbaşı ve ark. (176), Ankara'da Ocak 2014-Ağustos 2016 yıllarını kapsayan çalışmasında ise bu oranı, %0,7 olarak bulmuşlardır. Yine 2016

yılında Mersin’de karbapenemazların araştırıldığı bir çalışmada, hiçbir *bla_{OXA-58}* pozitif izolat tespit edilememiştir (177). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da *bla_{OXA-58}* geni PCR yöntemiyle araştırılmış, fakat pozitif izolat saptanamamıştır ve son yıllarda yapılan çalışmalarla uyumlu sonuç elde edilmiştir. Ülkemizde 1999-2009 yılları arasında baskın olan *bla_{OXA-58}* varlığının 2009 sonrasında yerini *bla_{OXA-23}*’e bıraktığı gözlemlenmektedir (177).

Moleküler yöntemler, karbapenemaz varlığını saptamak için altın standart olarak kabul edilmektedir (178). Bununla birlikte, uzmanlık ve nispeten pahalı malzemelere gereksinimi gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır (124). Rutin klinik uygulamalarda tedaviye karar vermek ve karbapenemaz üreten izolatların hızlı yayılımını önlemek amacıyla farklı uygulamalar da yararlı olabilmektedir. Bu amaçla günümüze kadar birçok çalışma tarafından değerlendirilip rutin laboratuvar ortamında da kolaylıkla kullanılacak testler, kromojenik tarama ortamını, CIM gibi büyüme fazlı fenotipik testleri, kolorimetrik biyokimyasal testleri ve çeşitli hidroliz yöntemlerini içermektedir. Karbapenem dirençli gram negatif basillerin fenotipik yöntemlerle saptanması, karbapenem direncine neden olan direnç genlerini saptamak için gerçekleştirilen moleküler çalışmalarla uyum içinde yürütülmelidir (179).

Carba NP testi, karbapenemaz aktivitesini saptamak amacıyla tanıtılan ilk kromojenik testtir (180). Bu test üzerinde maliyeti azaltmak, duyarlılığı arttırmak ve sonuç alınan süreyi hızlandırmak amacıyla birçok modifikasyon yapılmıştır. Bu test baz alınarak ortaya çıkan hazır ticari kit olan RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) kiti ile 30 dakika kadar kısa bir süre içerisinde sonuç alınabilmektedir. Zwaluw ve ark. (118) tarafından tanımlanan başka bir fenotipik test olan CIM, yalnızca 10 µg meropenem diski gerektirdiğinden rutin laboratuvar ortamında kolaylıkla uygulanabilen bir test haline gelmiştir. Fakat bakteri kolonisinden alınan miktar, kullanılan meropenem diskinin içeriği ve inokülasyonu süresi gibi etmenlerin değişiklik gösterebilmesinden dolayı standardizasyon açısından sorunlar yaşanabilmektedir.

Çalışmamızda karbapenem dirençli 100 *A. baumannii* izolatında karbapenemaz varlığını araştırmak üzere yapılan CIM testinde, meropenem diskinin iki saat inkübasyonu sonucunda 23 izolatta (%23) negatif sonuç elde edilmiştir. Daha sonra negatif sonuç elde edilen izolatlarla ikinci bir çalışma daha yapılmış, meropenem diski, hazırlanan bakteri süspansiyonunda dört saat bekletilmiştir (124). Bunun sonucunda ise

yedi (%7) izolat negatif sonuç vermiştir ve 16 izolatın sonucu negatiften pozitifte dönmüştür. CIM sonucu negatif bulunan izolatların direnç genleri incelendiğinde, tümü *bla_{OXA-51}*, üçü *bla_{OXA-23}* ve biri *bla_{NDM}* pozitif bulunmuştur. *bla_{NDM}* direnç genine sahip izolat, aynı zamanda *bla_{OXA-23}* direnç genine de sahiptir. Bayramoğlu ve ark.'nın (181) 2016 yılında Trabzon'da *Enterobacteriaceae* izolatları ile yaptıkları çalışmada, karbapenem dirençli izolatlarda PCR ile karbapenemaz direnç geni saptandığı durumda CIM testinde pozitif; PCR ile karbapenemaz direnç geni saptanmadığı durumda ise CIM testinde negatif sonuç alındığı görülmüştür. Bulgular bir arada değerlendirildiğinde CIM testinin duyarlılığı %100 olarak saptanmıştır. Aktaş ve ark. (124) ise Aralık 2015-Ocak 2016 aylarını kapsayan ve İstanbul'da gerçekleştirdikleri çalışmalarında iki saatlik inkübasyon süresinde duyarlılığı %78 bulurken dört saatlik inkübasyon sonucunda bu oranın %90'a çıktığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da iki saatlik inkübasyon sonucunda duyarlılık %77, dört saatlik inkübasyon sonucunda ise %93 bulunmuş ve diğer çalışmalardaki yüksek duyarlılık oranlarıyla benzerlik göstermiştir. Bu veriler, CIM testinin karbapenemaz varlığını saptamada oldukça yüksek oranda doğru sonuç verdiğini göstermektedir.

Çalışmamızda RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) testinde dört izolatta (%4) negatif sonuç alınmıştır. Negatif izolatların PCR sonuçlarında ise üç izolat *bla_{OXA-23}* pozitif, bir izolat *bla_{NDM}* pozitifdir. CIM ile benzer şekilde *bla_{NDM}* pozitif olan izolat, aynı zamanda *bla_{OXA-23}* pozitifdir. CIM sonucu negatif çıkan yedi izolattan altısı RAPIDEC CARBA NP ile pozitif bulunmuş, tersi olarak ise RAPIDEC CARBA NP ile negatif bulunanlar CIM ile pozitif bulunmuştur. Yalnızca Nöroloji kliniğinden gelen kan kültürü örneğinden izole edilen bir izolat, hem CIM hem RAPIDEC CARBA NP testi ile negatif bulunmuştur ve bu izolatta *bla_{OXA-51}* hariç bir direnç genine rastlanmamıştır. Pakistan'da 2018 yılında yapılan çalışmada karbapenem dirençli 47 *A. baumannii* izolatında karbapenemazlar araştırılmış ve RAPIDEC CARBA NP duyarlılığı %100 olarak saptanmıştır. RAPIDEC CARBA NP pozitif saptanan tüm izolatlarda *bla_{OXA-23}* gen varlığı da gösterilmiştir (182). Bizim çalışmamızda farklı olarak RAPIDEC CARBA NP pozitif saptanan izolatların (96/100) 38'inde *bla_{OXA-23}* pozitifliği saptanmıştır. Fransa'da 2013-2016 yıllarında izole edilen karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* izolatlarının dahil edildiği başka bir çalışmada ise, RAPIDEC CARBA NP duyarlılığı %92 olarak bildirilmiştir (183). Bizim çalışmamızda

duyarlılık %96 olarak saptanmış olup bu verilerle kıyaslandığında tutarlı sonuç elde edildiği söylenebilmektedir.

Çalışmamızın geneline baktığımızda karbapenemaz varlığı fenotipik ve genotipik yöntemlerle incelenmiştir. PCR ile OXA enzimlerinden OXA-23, OXA-51 ve OXA-58; MBL enzimlerinden IMP ve NDM; Ambler sınıf A enzimlerinden KPC araştırılmış ve yalnızca OXA-23, OXA-51 ve NDM pozitifliği saptanmıştır. Bunun sonucunda araştırdığımız izolatlarda bulunan karbapenem direncinin intrinsik olarak *A. baumannii*'lerde saptanan OXA-51'in aşırı ekspresyonundan ve OXA-23 ile NDM'den kaynaklandığı tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz veriler, enfeksiyon kontrol önlemlerinin etkin bir şekilde alınması ve epidemiyolojik veriler açısından önem taşımaktadır.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Çalışmamıza dahil edilen karbapenem dirençli 100 *A. baumannii* izolatu en çok trakeal aspirat kültüründen (%62) izole edilmiştir. Bunu %20 ile kan, %8 ile balgam, %6 ile yara, %3 ile katater, %1 ile BOS ve %1 ile BAL kültürü takip etmiştir.

2. *A. baumannii* izole edilen klinik örnekler, %53 oranla en çok Anesteziyoloji ve Reanimasyon YBÜ'den gönderilmiştir. Bunu İç Hastalıkları YBÜ (%16), Göğüs Hastalıkları YBÜ (%10), Göğüs Hastalıkları (%8), İç Hastalıkları (%5), Beyin ve Sinir Cerrahisi YBÜ (%3), Nöroloji (%2), Nöroloji YBÜ (%2) ve Beyin ve Sinir Cerrahisi (%1) takip etmiştir.

3. Hastaların %35'ini kadın, %65'ini erkek hastalar oluşturmuştur. Yaş ortalaması 67,41 bulunurken yaş aralığı ise 20 ile 93 arasındadır.

4. İmipenem, levofloksasin ve siprofloksasin, çalışılan tüm izolatlarda dirençli bulunmuştur. Meropenem direnci, %98 olarak saptanmıştır. Bu oranları, %97 ile seftazidim, %95 ile gentamisin ve trimetoprim-sülfametoksazol, %85 ile amikasin takip etmiştir. En duyarlı antibiyotiklerin ise tigesiklin (%13) ve kolistin (%13) olduğu tespit edilmiştir.

5. Karbapenemaz varlığının fenotipik yöntemlerle incelenmesi için CIM ve RAPIDEC CARBA NP testleri gerçekleştirilmiştir. CIM ile yedi (%7) izolatta, RAPIDEC CARBA NP (bioMérieux, Fransa) ile dört izolatta negatiflik saptanmıştır. CIM sonucu negatif olan altı izolat RAPIDEC CARBA NP ile pozitif; RAPIDEC CARBA NP ile negatif bulunan üç izolat ise CIM ile pozitif bulunmuştur. Yalnızca bir izolatta CIM ve RAPIDEC CARBA NP testleri ile negatif sonuç alınmıştır. Her iki testten de pozitif sonuç alınan izolat sayısı 73 olarak tespit edilmiştir. Tüm bunlar sonucunda CIM testinin duyarlılığı %93, RAPIDEC CARBA NP testinin duyarlılığı ise %96 olarak saptanmıştır.

6. Çalışmamıza dahil edilen izolatlarda altı karbapenemaz gen varlığı incelenmiştir. Tüm izolatlarda *A. baumannii*'de yapısal olarak bulunan *bla_{OXA-51}* gen varlığı gösterilmiştir. 38 izolatta *bla_{OXA-23}* pozitif bulunurken, 26 izolatta *bla_{NDM}* pozitifliği saptanmıştır. 24 izolatın *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-23}* ve *bla_{NDM}* direnç genlerine

sahip olduğu bulunmuştur. İzolatların hiçbirinde *bla_{OXA-58}*, *bla_{IMP}* ve *bla_{KPC}* varlığı gösterilememiştir. 60 izolatta yalnızca *bla_{OXA-51}* pozitifliği gözlemlenmiştir.

7. İstatistiksel analize bakıldığında direnç genleri ile cinsiyet, yaş, klinik örnek ve klinik örneklerin gönderildiği klinikler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

8. Klinik örnekler ile fenotipik testlerin istatistiksel analizinde solunum yolu örneklerinden (trakeal aspirat, balgam, BAL) izole edilen *A. baumannii* izolatlarında CIM pozitifliği, istatistiksel olarak anlamlı derecede daha çok olduğu saptanmıştır.

Gelecek çalışmalarda karbapenemaz kodlayan genlerin daha çeşitli incelenmesi, karbapenemaz direncine neden olan ana mekanizmanın ne olduğunu anlamak adına daha verimli olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Doughari, H. J., Ndakidemi, P. A., Human, I. S., & Benade, S. (2011). The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: an overview. *Microbes and Environments*, 26(2), 101–112. <https://doi.org/10.1264/jsme2.me10179>
2. Jung, J., & Park, W. (2015). *Acinetobacter* species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(6), 2533–2548. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6439-y>
3. Brisou, J., and Prevot, A.R. (1954). Studies on bacterial taxonomy. X. The revision of species under *Achromobacter* group. *Annales de l'Institut Pasteur* (Paris) 86(6):722-8.
4. Baumann, P., Doudoroff, M., & Stanier, R. Y. (1968). A study of the *Moraxella* group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*). *Journal of Bacteriology*, 95(5), 1520–1541. <https://doi.org/10.1128/jb.95.5.1520-1541.1968>
5. Prashanth, K., & Badrinath, S. (2005). Epidemiological investigation of nosocomial *Acinetobacter* infections using arbitrarily primed PCR & pulse field gel electrophoresis. *The Indian Journal of Medical Research*, 122(5), 408–418.
6. Bahar, İ.H., Esen, N. (2008). *Acinetobacter* türleri ve diğer gram negatif nonfermentatif basiller. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
7. Winn, J., Stephen, A., William, J., Elmer, K., Gary, P., Schreckenberger, P. & Gail, W. (2006). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Pensilvanya: Lippincott williams and wilkins.
8. Bergogne-Berezin, E. & Towner, K.J. (1996). *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev*, 9(2):148-65. <https://doi.org/10.1128/CMR.9.2.148>
9. Falagas, M. E., & Kopterides, P. (2006). Risk factors for the isolation of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: a systematic review of the literature. *J Hosp Infect*, 64(1), 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2006.04.015>
10. Karageorgopoulos, D. E., & Falagas, M. E. (2008). Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Lancet Infect Dis*, 8(12), 751–762. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70279-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70279-2)
11. Kanafani, A.Z., Kanj, S.S. (2014). Ministry of Health, Kingdome of Saudi Arabia. <http://www.uptodate.com/contents/acinetobacter-infection-treatment-and-prevention>, (Erişim tarihi: 16.06.2022)
12. Peleg, A. Y., Seifert, H., & Paterson, D. L. (2008). *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(3), 538–582. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-07>
13. McConnell, M. J., Actis, L., & Pachón, J. (2013). *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(2), 130–155. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00344.x>
14. Smani, Y., Fàbrega, A., Roca, I., Sánchez-Encinales, V., Vila, J., & Pachón, J. (2014). Role of OmpA in the multidrug resistance phenotype of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(3), 1806–1808. <https://doi.org/10.1128/AAC.02101-13>
15. Lee, J. S., Choi, C. H., Kim, J. W., & Lee, J. C. (2010). *Acinetobacter baumannii* outer membrane protein A induces dendritic cell death through mitochondrial targeting. *Journal of Microbiology*, 48(3), 387–392. <https://doi.org/10.1007/s12275-010-0155-1>
16. Kim, S. W., Choi, C. H., Moon, D. C., Jin, J. S., Lee, J. H., Shin, J. H., Kim, J. M., Lee, Y. C., Seol, S. Y., Cho, D. T., & Lee, J. C. (2009). Serum resistance of *Acinetobacter baumannii* through the binding of factor H to outer membrane proteins. *FEMS Microbiology Letters*, 301(2), 224–231. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01820.x>
17. Smani, Y., Dominguez-Herrera, J., & Pachón, J. (2013). Association of the outer membrane protein Omp33 with fitness and virulence of *Acinetobacter baumannii*. *The Journal of Infectious Diseases*, 208(10), 1561–1570. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit386>
18. Sheldon, J. R., Laakso, H. A., & Heinrichs, D. E. (2016). Iron acquisition strategies of bacterial pathogens. *Microbiology Spectrum*, 4(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0010-2015>
19. Sheldon, J. R., & Skaar, E. P. (2020). *Acinetobacter baumannii* can use multiple siderophores for iron acquisition, but only acinetobactin is required for virulence. *PLoS Pathogens*, 16(10), e1008995. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008995>

20. Pompilio, A., Scribano, D., Sarshar, M., Di Bonaventura, G., Palamara, A. T., & Ambrosi, C. (2021). Gram-negative bacteria holding together in a biofilm: The *Acinetobacter baumannii* way. *Microorganisms*, *9*(7), 1353. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071353>
21. Gedefie, A., Demsis, W., Ashagrie, M., Kassa, Y., Tesfaye, M., Tilahun, M., Bisetegn, H., & Sahle, Z. (2021). *Acinetobacter baumannii* biofilm formation and its role in disease pathogenesis: A review. *Infection and Drug Resistance*, *14*, 3711–3719. <https://doi.org/10.2147/IDR.S332051>
22. Bardbari, A. M., Arabestani, M. R., Karami, M., Keramat, F., Alikhani, M. Y., & Bagheri, K. P. (2017). Correlation between ability of biofilm formation with their responsible genes and MDR patterns in clinical and environmental *Acinetobacter baumannii* isolates. *Microbial Pathogenesis*, *108*, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.04.039>
23. Lee, C. R., Lee, J. H., Park, M., Park, K. S., Bae, I. K., Kim, Y. B., Cha, C. J., Jeong, B. C., & Lee, S. H. (2017). Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *7*, 55. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00055>
24. Ayoub Moubareck, C., & Hammoudi Halat, D. (2020). Insights into *Acinetobacter baumannii*: A review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen. *Antibiotics*, *9*(3), 119. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9030119>
25. Asik, G. (2011). *Acinetobacter baumannii* virülansının açıklanmasında güncel yaklaşımlar. *Mikrobiyoloji Bülteni*, *45*(2), 371-80.
26. Villegas, M. V., & Hartstein, A. I. (2003). *Acinetobacter* outbreaks, 1977-2000. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, *24*(4), 284–295. <https://doi.org/10.1086/502205>
27. Lynch, J. P., Zhanel, G. G., & Clark, N. M. (2017). Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU: Treatment options. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, *38*(3), 311–325. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1599225>
28. Ho, P. L., Cheng, V. C., & Chu, C. M. (2009). Antibiotic resistance in community-acquired pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, and *Acinetobacter baumannii*. *Chest*, *136*(4), 1119–1127. <https://doi.org/10.1378/chest.09-0285>
29. Leung, W. S., Chu, C. M., Tsang, K. Y., Lo, F. H., Lo, K. F., & Ho, P. L. (2006). Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. *Chest*, *129*(1), 102–109. <https://doi.org/10.1378/chest.129.1.102>
30. Wisplinghoff, H., Paulus, T., Lugenheim, M., Stefanik, D., Higgins, P. G., Edmond, M. B., Wenzel, R. P., & Seifert, H. (2012). Nosocomial bloodstream infections due to *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii* and *Acinetobacter nosocomialis* in the United States. *The Journal of Infection*, *64*(3), 282–290. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2011.12.008>
31. Basri, R., Zueter, A. R., Mohamed, Z., Alam, M. K., Nors'a'adah, B., Hasan, S. A., Hasan, H., & Ahmad, F. (2015). Burden of bacterial meningitis: a retrospective review on laboratory parameters and factors associated with death in meningitis, kelantan malaysia. *Nagoya Journal of Medical Science*, *77*, 59–68.
32. Sharma, R., Goda, R., Borkar, S. A., Katiyar, V., Agarwal, S., Kumar, A., Mohapatra, S., Kapil, A., Suri, A., & Kale, S. S. (2019). Outcome following post neurosurgical *Acinetobacter* meningitis: an institutional experience of 72 cases. *Neurosurgical Focus*, *47*(2), E8. <https://doi.org/10.3171/2019.5.FOCUS19278>
33. Gaynes, R., Edwards, J. R., & National Nosocomial Infections Surveillance System (2005). Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clinical Infectious Diseases: an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, *41*(6), 848–854. <https://doi.org/10.1086/432803>
34. Davis, K. A., Moran, K. A., McAllister, C. K., & Gray, P. J. (2005). Multidrug-resistant *Acinetobacter* extremity infections in soldiers. *Emerging Infectious Diseases*, *11*(8), 1218–1224. <https://doi.org/10.3201/1108.050103>
35. Menon, T., Shanmugasundaram, S., Nandhakumar, B., Nalina, K., & Balasubramaniam, A. (2006). Infective endocarditis due to *Acinetobacter baumannii* complex—a case report. *Indian Journal of Pathology & Microbiology*, *49*(4), 576–578.
36. Peleg, A. Y., Seifert, H., & Paterson, D. L. (2008). *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, *21*(3), 538–582. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-07>
37. Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outtersson, K., Patel, J., Cavalieri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., Theuretzbacher, U., Magrini, N., & WHO Pathogens Priority List Working Group (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics:

- the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet. Infectious diseases*, 18(3), 318–327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)
38. Lo, T. S., Welch, J. M., Alonto, A. M., & Vicaldo-Alonto, E. A. (2008). A review of the carbapenems in clinical use and clinical trials. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 3(2), 123–131. <https://doi.org/10.2174/157489108784746588>
39. Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., & Bonomo, R. A. (2011). Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(11), 4943–4960. <https://doi.org/10.1128/AAC.00296-11>
40. Elshamy, A. A., & Aboshanab, K. M. (2020). A review on bacterial resistance to carbapenems: epidemiology, detection and treatment options. *Future Science OA*, 6(3), FSO438. <https://doi.org/10.2144/fsoa-2019-0098>
41. Lister P. D. (2007). Carbapenems in the USA: focus on doripenem. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 5(5), 793–809. <https://doi.org/10.1586/14787210.5.5.793>
42. Shah, P.M. (2008) Parenteral carbapenems. *Clin Microbiol Infect*, 14(1), 175–180. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01868.x>
43. Tahri, A., Ksouda, K., Kallel, R., Daoud, S., Boudawara, T., Zeghal, K. M., & Sahnoun, Z. (2017). A carbapenem antibiotic imipenem/cilastatin induces an oxidative stress-status and gonadotoxic effects in «wistar» rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95, 308–316. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.039>
44. Chambers, H.F. (2000). Other beta-lactam antibiotics. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds.). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 264–72.
45. Kattan, J. N., Villegas, M. V., & Quinn, J. P. (2008). New developments in carbapenems. *Clinical Microbiology and Infection: the Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 14(12), 1102–1111. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02101.x>
46. Garnacho-Montero, J., Ortiz-Leyba, C., Jiménez-Jiménez, F. J., Barrero-Almodóvar, A. E., García-Garmendia, J. L., Bernabeu-Wittell, M., Gallego-Lara, S. L., & Madrazo-Osuna, J. (2003). Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem-susceptible VAP. *Clinical Infectious Diseases: an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 36(9), 1111–1118. <https://doi.org/10.1086/374337>
47. Vourli, S., Frantzeskaki, F., Meletiadis, J., Stournara, L., Armaganidis, A., Zerva, L., & Dimopoulos, G. (2015). Synergistic interactions between colistin and meropenem against extensively drug-resistant and pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from ICU patients. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 45(6), 670–671. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.02.005>
48. El-Sayed Ahmed, M., Zhong, L. L., Shen, C., Yang, Y., Doi, Y., & Tian, G. B. (2020). Colistin and its role in the era of antibiotic resistance: an extended review (2000–2019). *Emerging Microbes & Infections*, 9(1), 868–885. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1754133>
49. Chamoun, S., Welander, J., Martis-Thiele, M. M., Ntzouni, M., Claesson, C., Vikström, E., & Turkina, M. V. (2021). Colistin dependence in extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain is associated with IS*Ajo2* and IS*Aba13* insertions and multiple cellular responses. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 576. <https://doi.org/10.3390/ijms22020576>
50. Halstead, D. C., Abid, J., & Dowzicky, M. J. (2007). Antimicrobial susceptibility among *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex and *Enterobacteriaceae* collected as part of the tigecycline evaluation and surveillance trial. *The Journal of Infection*, 55(1), 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2006.11.018>
51. Bartal, C., Rolston, K., & Nesher, L. (2022). Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: Colonization, infection and current treatment options. *Infectious Diseases and Therapy*, 11(2), 683–694. <https://doi.org/10.1007/s40121-022-00597-w>
52. Wagenlehner, F., Lucenteforte, E., Pea, F., Soriano, A., Tavoschi, L., Steele, V. R., Henriksen, A. S., Longshaw, C., Manissero, D., Pecini, R., & Pogue, J. M. (2021). Systematic review on estimated rates of nephrotoxicity and neurotoxicity in patients treated with polymyxins. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 27, 671–686. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.12.009>
53. Zhanel, G. G., Karlowsky, J. A., Rubinstein, E., & Hoban, D. J. (2006). Tigecycline: a novel glycylcycline antibiotic. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 4(1), 9–25. <https://doi.org/10.1586/14787210.4.1.9>

54. Koomanachai, P., Kim, A., & Nicolau, D. P. (2009). Pharmacodynamic evaluation of tigecycline against *Acinetobacter baumannii* in a murine pneumonia model. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63(5), 982–987. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp056>
55. Assimakopoulos, S. F., Karamouzou, V., Lefkaditi, A., Sklavou, C., Kolonitsiou, F., Christofidou, M., Fligou, F., Gogos, C., & Marangos, M. (2019). Triple combination therapy with high-dose ampicillin/sulbactam, high-dose tigecycline and colistin in the treatment of ventilator-associated pneumonia caused by pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii*: a case series study. *Le Infezioni in Medicina*, 27(1), 11–16.
56. Brust, K., Evans, A., & Plemmons, R. (2014). Tigecycline in treatment of multidrug-resistant Gram-negative bacillus urinary tract infections: a systematic review. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(10), 2606–2610. <https://doi.org/10.1093/jac/dku189>
57. Zha, L., Pan, L., Guo, J., French, N., Villanueva, E. V., & Tefsen, B. (2020). Effectiveness and safety of high dose tigecycline for the treatment of severe infections: A systematic review and meta-analysis. *Advances in Therapy*, 37(3), 1049–1064. <https://doi.org/10.1007/s12325-020-01235-y>
58. Falghoush, A., Beyenal, H., & Call, D. R. (2020). Sequential hypertonic-hypotonic treatment enhances efficacy of antibiotic against *Acinetobacter baumannii* biofilm communities. *Antibiotics*, 9(11), 832. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110832>
59. Chung, E. S., & Ko, K. S. (2019). Eradication of persister cells of *Acinetobacter baumannii* through combination of colistin and amikacin antibiotics. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(5), 1277–1283. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz034>
60. Mistık, R. (2000). Aminoglikozid antibiyotikler ve günde tek doz kullanımları. *Klinik Dergisi*, 13(2), 43-45.
61. Anderson, S. E., Sherman, E. X., Weiss, D. S., & Rather, P. N. (2018). Aminoglycoside heteroresistance in *Acinetobacter baumannii* AB5075. *mSphere*, 3(4), e00271-18. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00271-18>
62. Arda, B., & Ulusoy, S. Kinolonlar. (2008). *Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 497-512.
63. Dijkshoorn, L., Nemec, A. & Seifert, H. (2007). An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol*, 5, 939–951 <https://doi.org/10.1038/nrmicro1789>
64. Wong, D., Nielsen, T. B., Bonomo, R. A., Pantapalangkoor, P., Luna, B., & Spellberg, B. (2017). Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: a century of challenges. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(1), 409–447. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-16>
65. Isler, B., Doi, Y., Bonomo, R. A., & Paterson, D. L. (2018). New treatment options against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(1), e01110-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01110-18>
66. Green, D. W. (2002). The bacterial cell wall as a source of antibacterial targets. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 6(1), 1–19. <https://doi.org/10.1517/14728222.6.1.1>
67. Sauvage, E., Kerff, F., Terrak, M., Ayala, J. A., & Charlier, P. (2008). The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(2), 234–258. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00105.x>
68. Livermore, D. M. (1995). Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 8(4), 557–584. <https://doi.org/10.1128/CMR.8.4.557>
69. Nowak, J., Seifert, H., & Higgins, P. G. (2015). Prevalence of eight resistance-nodulation-division efflux pump genes in epidemiologically characterized *Acinetobacter baumannii* of worldwide origin. *Journal of Medical Microbiology*, 64(6), 630–635. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000069>
70. Huang, L., Sun, L., Xu, G., & Xia, T. (2008). Differential susceptibility to carbapenems due to the AdeABC efflux pump among nosocomial outbreak isolates of *Acinetobacter baumannii* in a Chinese hospital. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 62(3), 326–332. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.06.008>
71. Marchand, I., Damier-Piolle, L., Courvalin, P., & Lambert, T. (2004). Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the AdeRS two-component system. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(9), 3298–3304. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.9.3298-3304.2004>
72. Magnet, S., Courvalin, P., & Lambert, T. (2001). Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(12), 3375–3380. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.12.3375-3380.2001>
73. Limansky, A. S., Mussi, M. A., & Viale, A. M. (2002). Loss of a 29-kilodalton outer membrane protein in *Acinetobacter baumannii* is associated with imipenem resistance. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(12), 4776–4778. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.12.4776-4778.2002>

74. Fonseca, E.L., Scheidegger, E., Freitas, F.S., Cipriano, R., & Vicente R, A.C. (2013). Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Brazil: role of *carO* alleles expression and *bla_{OXA-23}* gene. *BMC Microbiol*, 13, 245. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-245>
75. Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), 969–976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
76. Ambler, R. P. (1980). The structure of beta-lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 289(1036), 321–331. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
77. Jeon, J. H., Lee, J. H., Lee, J. J., Park, K. S., Karim, A. M., Lee, C. R., Jeong, B. C., & Lee, S. H. (2015). Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(5), 9654–9692. <https://doi.org/10.3390/ijms16059654>
78. Naas, T., Dortet, L., Iorga, B.I. (2016). Structural and functional aspects of class A carbapenemases. *Current Drug Targets*, 17(9), 1006-28. <https://dx.doi.org/10.2174/1389450117666160310144501>
79. Yigit, H., Queenan, A. M., Anderson, G. J., Domenech-Sanchez, A., Biddle, J. W., Steward, C. D., Alberti, S., Bush, K., & Tenover, F. C. (2001). Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(4), 1151–1161. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.4.1151-1161.2001>
80. Ramirez, M. S., Bonomo, R. A., & Tolmasky, M. E. (2020). Carbapenemases: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace. *Biomolecules*, 10(5), 720. <https://doi.org/10.3390/biom10050720>
81. Miriagou, V., Tzouveleki, L. S., Rossiter, S., Tzelepi, E., Angulo, F. J., & Whichard, J. M. (2003). Imipenem resistance in a *Salmonella* clinical strain due to plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(4), 1297–1300. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.4.1297-1300.2003>
82. Robledo, I. E., Aquino, E. E., Santé, M. I., Santana, J. L., Otero, D. M., León, C. F., & Vázquez, G. J. (2010). Detection of KPC in *Acinetobacter* spp. in Puerto Rico. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), 1354–1357. <https://doi.org/10.1128/AAC.00899-09>
83. Munoz-Price, L. S., Poirel, L., Bonomo, R. A., Schwaber, M. J., Daikos, G. L., Cormican, M., Cornaglia, G., Garau, J., Gniadkowski, M., Hayden, M. K., Kumarasamy, K., Livermore, D. M., Maya, J. J., Nordmann, P., Patel, J. B., Paterson, D. L., Pitout, J., Villegas, M. V., Wang, H., Woodford, N., & Quinn, J. P. (2013). Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *The Lancet. Infectious Diseases*, 13(9), 785–796. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70190-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70190-7)
84. Perez, F., Hujer, A. M., Hujer, K. M., Decker, B. K., Rather, P. N., & Bonomo, R. A. (2007). Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(10), 3471–3484. <https://doi.org/10.1128/AAC.01464-06>
85. D'Souza, R., Pinto, N.A., Phuong, N.L., Higgins, P.G., Vu, T.N., Byun, J.H., Cho, Y.L., Choi, J.R., & Yong, D. (2019) Phenotypic and genotypic characterization of *Acinetobacter* spp. Panel strains: a cornerstone to facilitate antimicrobial development. *Front Microbiol*, 10, 559. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00559>
86. Palzkill, T. (2013). Metallo-β-lactamase structure and function. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1277, 91–104. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06796.x>
87. Mojica, M. F., Bonomo, R. A., & Fast, W. (2016). B1-Metallo-β-Lactamases: Where do we stand?. *Current Drug Targets*, 17(9), 1029–1050. <https://doi.org/10.2174/1389450116666151001105622>
88. Kyriakidis, I., Vasileiou, E., Pana, Z.D., & Tragiannidis, A. (2021). *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*, 10, 373. <https://doi.org/10.3390/pathogens1003037>
89. Nordmann, P., Boulanger, A. E., & Poirel, L. (2012). NDM-4 metallo-β-lactamase with increased carbapenemase activity from *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(4), 2184–2186. <https://doi.org/10.1128/AAC.05961-11>
90. Yong, D., Toleman, M. A., Giske, C. G., Cho, H. S., Sundman, K., Lee, K., & Walsh, T. R. (2009). Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, *blan_{DM-1}*, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(12), 5046–5054. <https://doi.org/10.1128/AAC.00774-09>
91. Potron, A., Poirel, L., & Nordmann, P. (2015). Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 45(6), 568–585. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.03.001>

92. Poirel, L., Ozdamar, M., Ocampo-Sosa, A. A., Türkoglu, S., Ozer, U. G., & Nordmann, P. (2012). NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* now in Turkey. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(5), 2784–2785. <https://doi.org/10.1128/AAC.00150-12>
93. Kaase, M., Nordmann, P., Wichelhaus, T. A., Gatermann, S. G., Bonnin, R. A., & Poirel, L. (2011). NDM-2 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* from Egypt. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(6), 1260–1262. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr135>
94. Espinal, P., Fugazza, G., López, Y., Kasma, M., Lerman, Y., Malhotra-Kumar, S., Goossens, H., Carmeli, Y., & Vila, J. (2011). Dissemination of an NDM-2-producing *Acinetobacter baumannii* clone in an Israeli rehabilitation center. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(11), 5396–5398. <https://doi.org/10.1128/AAC.00679-11>
95. Watanabe, M., Iyobe, S., Inoue, M., & Mitsuhashi, S. (1991). Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35(1), 147–151. <https://doi.org/10.1128/AAC.35.1.147>
96. Walsh, T. R., Toleman, M. A., Poirel, L., & Nordmann, P. (2005). Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm?. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(2), 306–325. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.2.306-325.2005>
97. Shivaprasad, A., Antony, B., & Shenoy, P. (2014). Comparative evaluation of four phenotypic tests for detection of Metallo-β-lactamase and carbapenemase production in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 8(5), DC05–DC8. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/6447.4317>
98. Poirel, L., & Nordmann, P. (2006). Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 12(9), 826–836. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01456.x>
99. Antunes, N. T., & Fisher, J. F. (2014). Acquired class D β-Lactamases. *Antibiotics*, 3(3), 398–434. <https://doi.org/10.3390/antibiotics3030398>
99. Hamidian, M., & Nigro, S. J. (2019). Emergence, molecular mechanisms and global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microbial Genomics*, 5(10), e000306. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000306>
100. Abouelfetouh, A., Torky, A. S., & Aboulmagd, E. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Egypt. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 8, 185. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0611-6>
101. Paton, R., Miles, R. S., Hood, J., Amyes, S. G., Miles, R. S., & Amyes, S. G. (1993). ARI 1: beta-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2(2), 81–87. [https://doi.org/10.1016/0924-8579\(93\)90045-7](https://doi.org/10.1016/0924-8579(93)90045-7)
102. Scaife, W., Young, H. K., Paton, R. H., & Amyes, S. G. (1995). Transferable imipenem-resistance in *Acinetobacter* species from a clinical source. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 36(3), 585–586. <https://doi.org/10.1093/jac/36.3.585>
103. Gur, D., Korten, V., Unal, S., Deshpande, L. M., & Castanheira, M. (2008). Increasing carbapenem resistance due to the clonal dissemination of oxacillinase (OXA-23 and OXA-58)-producing *Acinetobacter baumannii*: report from the Turkish SENTRY Program sites. *Journal of Medical Microbiology*, 57(Pt 12), 1529–1532. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.2008/002469-0>
104. Bou, G., Cerveró, G., Domínguez, M. A., Quereda, C., & Martínez-Beltrán, J. (2000). Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of beta-lactamases. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(9), 3299–3305. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.9.3299-3305.2000>
105. Evans, B. A., & Amyes, S. G. (2014). OXA β-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(2), 241–263. <https://doi.org/10.1128/CMR.00117-13>
106. Héritier, C., Poirel, L., Aubert, D., & Nordmann, P. (2003). Genetic and functional analysis of the chromosome-encoded carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-40 of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(1), 268–273. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.1.268-273.2003>
107. Vallenet, D., Nordmann, P., Barbe, V., Poirel, L., Mangenot, S., Bataille, E., Dossat, C., Gas, S., Kreimeyer, A., Lenoble, P., Oztas, S., Poulain, J., Segurens, B., Robert, C., Abergel, C., Claverie, J. M., Raoult, D., Médigue, C., Weissenbach, J., & Cruveiller, S. (2008). Comparative analysis of *Acinetobacter*: three genomes for three lifestyles. *PloS One*, 3(3), e1805. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001805>

108. Brown, S., & Amyes, S. G. (2005). The sequences of seven class D beta-lactamases isolated from carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from four continents. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 11(4), 326–329. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01096.x>
109. Chen, T. L., Lee, Y. T., Kuo, S. C., Hsueh, P. R., Chang, F. Y., Siu, L. K., Ko, W. C., & Fung, C. P. (2010). Emergence and distribution of plasmids bearing the *bla*_{OXA-51}-like gene with an upstream ISAbal in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Taiwan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(11), 4575–4581. <https://doi.org/10.1128/AAC.00764-10>
110. Lee, Y. T., Turton, J. F., Chen, T. L., Wu, R. C., Chang, W. C., Fung, C. P., Chen, C. P., Cho, W. L., Huang, L. Y., & Siu, L. K. (2009). First identification of *bla*_{OXA-51}-like in non-*baumannii* *Acinetobacter* spp. *Journal of Chemotherapy*, 21(5), 514–520. <https://doi.org/10.1179/joc.2009.21.5.514>
111. Tiwari, V., & Moganty, R. R. (2014). Conformational stability of OXA-51 β -lactamase explains its role in carbapenem resistance of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 32(9), 1406–1420. <https://doi.org/10.1080/07391102.2013.819789>
112. Figueiredo, S., Poirel, L., Croize, J., Recule, C., & Nordmann, P. (2009). In vivo selection of reduced susceptibility to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* related to ISAbal-mediated overexpression of the natural *bla*_{OXA-66} oxacillinase gene. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(6), 2657–2659. <https://doi.org/10.1128/AAC.01663-08>
113. Poirel, L., Marqué, S., Héritier, C., Segonds, C., Chabanon, G., & Nordmann, P. (2005). OXA-58, a novel class D beta-lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(1), 202–208. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.1.202-208.2005>
114. Lanjri, S., Uwingabiye, J., Frikh, M., Abdellatifi, L., Kasouati, J., Maleb, A., Bait, A., Lemnouer, A., & Elouennass, M. (2017). In vitro evaluation of the susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolates to antiseptics and disinfectants: comparison between clinical and environmental isolates. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 6(36), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0195-y>
115. Higgins, P. G., Poirel, L., Lehmann, M., Nordmann, P., & Seifert, H. (2009). OXA-143, a novel carbapenem-hydrolyzing class D beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(12), 5035–5038. <https://doi.org/10.1128/AAC.00856-09>
116. Sarikhani, Z., Nazari, R., & Nateghi Rostami, M. (2017). First report of OXA-143-lactamase producing *Acinetobacter baumannii* in Qom, Iran. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 20(11), 1282–1286. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2017.9490>
117. Higgins, P. G., Pérez-Llarena, F. J., Zander, E., Fernández, A., Bou, G., & Seifert, H. (2013). OXA-235, a novel class D β -lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(5), 2121–2126. <https://doi.org/10.1128/AAC.02413-12>
118. van der Zwaluw, K., de Haan, A., Pluister, G. N., Bootsma, H. J., de Neeling, A. J., & Schouls, L. M. (2015). The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PloS One*, 10(3), e0123690. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123690>
119. Bulut, Y., & Çağlar, H. (2013). Gram negatif non-fermantatif bakterilerde metallo-beta laktamaz enziminin farklı yöntemlerle gösterilmesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 27(3), 135 – 140.
120. RAPIDEC® CARBA NP Test Instructions: Available from: http://www.biomerieux-usa.com/sites/subsidiary_us/files/18_rapidecbrochure.pdf, (Erişim Tarihi: 16.06.2022.).
121. Pires, J., Novais, A., & Peixe, L. (2013). Blue-carba, an easy biochemical test for detection of diverse carbapenemase producers directly from bacterial cultures. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(12), 4281–4283. <https://doi.org/10.1128/JCM.01634-13>
122. Aktaş, Z. (2012). Direnç mekanizmaları ve direnç belirleme yöntemleri. *Ankem Dergisi*, 26(2), 278-282.
123. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0, 2021, https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_12.0_Breakpoint_Tables.pdf, (Erişim tarihi: 16.06.2022.).
124. Aktaş, E., Malkoçoğlu, G., Otlu, B., Çopur Çiçek, A., Külah, C., Cömert, F., Sandallı, C., Gürsoy, N. C., Erdemir, D., & Bulut, M. E. (2017). Evaluation of the carbapenem inactivation method for detection of carbapenemase-producing gram-negative bacteria in comparison with the RAPIDEC CARBA NP. *Microbial Drug Resistance*, 23(4), 457–461. <https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0092>

125. Kılıç, Ü., Demirağ, T. & Aldıncı, M. (2016). Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* izolatlarının saptanmasında fenotipik ve genotipik metodlar. *Ankem Dergisi*, 30(2), 62-75.
126. Kulah, C., Mooij, M. J., Comert, F., Aktas, E., Celebi, G., Ozlu, N., Rijnsburger, M. C., & Savelkoul, P. H. (2010). Characterisation of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak strains producing OXA-58 in Turkey. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 36(2), 114–118. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.03.017>
127. Heydari, F., Mammina, C., & Koksall, F. (2015). NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* ST85 now in Turkey, including one isolate from a Syrian refugee. *Journal of Medical Microbiology*, 64(9), 1027–1029. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000132>
128. Poiriel, L., Walsh, T. R., Cuvillier, V., & Nordmann, P. (2011). Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 70(1), 119–123. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.002>
129. Nishio, H., Komatsu, M., Shibata, N., Shimakawa, K., Sueyoshi, N., Ura, T., Satoh, K., Toyokawa, M., Nakamura, T., Wada, Y., Orita, T., Kofuku, T., Yamasaki, K., Sakamoto, M., Kinoshita, S., Aihara, M., & Arakawa, Y. (2004). Metallo-beta-lactamase-producing gram-negative bacilli: laboratory-based surveillance in cooperation with 13 clinical laboratories in the Kinki region of Japan. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(11), 5256–5263. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.11.5256-5263.2004>
130. Çevik, M.A., Yılmaz, G.R., Erdinç, F.Ş., Üçler, S. & Tülek, N. (2001). Nöroloji yoğun bakım ünitesinde mortalite ile ilişkili faktörler ve nozokomiyal infeksiyonla mortalitenin ilişkisi. *Yoğun Bakım Dergisi*, 1, 47-55.
131. Andrei, A., & Zervos, M.J. (2006). The application of molecular techniques to the study of hospital infection. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 130, 662-668.
132. Inan, D., Saba, R., Gunseren, F., Ongut, G., Turhan, O., Yalcin, A. N., & Mamikoglu, L. (2005). Daily antibiotic cost of nosocomial infections in a Turkish university hospital. *BMC Infectious Diseases*, 5, 5. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-5-5>
133. Ok, G., Gazi, H., Tok, D. & Erbüyün, K. (2007). Celal Bayar Üniversitesi anestezi yoğun bakım ünitesinde hastane infeksiyonlarının surveyansı. *Yoğun Bakım Dergisi*, 7(4), 452-457.
134. Harding, C. M., Hennon, S. W., & Feldman, M. F. (2018). Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nature Reviews. Microbiology*, 16(2), 91–102. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.148>
135. Abbo, A., Carmeli, Y., Navon-Venezia, S., Siegman-Igra, Y., & Schwaber, M. J. (2007). Impact of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* on clinical outcomes. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 26(11), 793–800. <https://doi.org/10.1007/s10096-007-0371-8>
136. Kalil, A. C., Metersky, M. L., Klompas, M., Muscedere, J., Sweeney, D. A., Palmer, L. B., Napolitano, L. M., O'Grady, N. P., Bartlett, J. G., Carratalà, J., El Solh, A. A., Ewig, S., Fey, P. D., File, T. M., Jr, Restrepo, M. I., Roberts, J. A., Waterer, G. W., Cruse, P., Knight, S. L., & Brozek, J. L. (2016). Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the infectious diseases society of America and the American thoracic society. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 63(5), e61–e111. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw353>
137. Huang, Y., Jiao, Y., Zhang, J., Xu, J., Cheng, Q., Li, Y., Liang, S., Li, H., Gong, J., Zhu, Y., Song, L., Rong, Z., Liu, B., Jie, Z., Sun, S., Li, P., Wang, G., Qu, J. (2018). Microbial etiology and prognostic factors of ventilator-associated pneumonia: a multicenter retrospective study in Shanghai. *Clinical Infectious Diseases*, 67(suppl 2):146-52. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy686>
138. Ding, C., Zhang, Y., Yang, Z., Wang, J., Jin, A., Wang, W., Chen, R., & Zhan, S. (2017). Incidence, temporal trend and factors associated with ventilator-associated pneumonia in mainland China: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), 468. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2566-7>
139. da Silveira, F., Nedel, W. L., Cassol, R., Pereira, P. R., Deutschendorf, C., & Lisboa, T. (2019). *Acinetobacter* etiology respiratory tract infections associated with mechanical ventilation: what impacts on the prognosis? A retrospective cohort study. *Journal of Critical Care*, 49, 124–128. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2018.10.034>
140. Nseir, S., Di Pompeo, C., Pronnier, P., Beague, S., Onimus, T., Saulnier, F., Grandbastien, B., Mathieu, D., Delvallez-Roussel, M., & Durocher, A. (2002). Nosocomial tracheobronchitis in mechanically ventilated patients: incidence, aetiology and outcome. *The European Respiratory Journal*, 20(6), 1483–1489. <https://doi.org/10.1183/09031936.02.00012902>

141. Jung, J. Y., Park, M. S., Kim, S. E., Park, B. H., Son, J. Y., Kim, E. Y., Lim, J. E., Lee, S. K., Lee, S. H., Lee, K. J., Kang, Y. A., Kim, S. K., Chang, J., & Kim, Y. S. (2010). Risk factors for multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia in patients with colonization in the intensive care unit. *BMC Infectious Diseases*, *10*, 228. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-228>
142. Chusri, S., Chongsuvivatwong, V., Rivera, J. I., Silpapojakul, K., Singkhamanan, K., McNeil, E., & Doi, Y. (2017). Molecular epidemiology and spatiotemporal analysis of hospital-acquired *Acinetobacter baumannii* infection in a tertiary care hospital in southern Thailand. *The Journal of Hospital Infection*, *95*(1), 53–58. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2016.10.003>
143. Uğur, M. & Genç, S. (2019). Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının üç yıllık direnç profili. *J Turk Soc Intens Care*, *17*(3):130-7. <https://doi.org/10.4274/tybd.galenos.2018.94103>
144. Güvenir, M., Güler, E. & Süer, K. (2021). Kuzey Kıbrıs'taki bir üniversite hastanesi yoğun bakım biriminde *Acinetobacter baumannii* kompleksi etkenli hastane enfeksiyonlarında karbapenem direnci: 3 yıllık izlem. *J Turk Soc Intens Care*, *19*, 118-122.
145. Şay Coşkun, U. S. (2018). Karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında antibiyotik direncinin araştırılması. *Ankem Dergisi*, *32*(2), 37-44. Doi: 10.5222/Ankem.2018.037
146. Keyik, Ş., Arslan, U., Dağı, H.T., Seyhan, T. & Findık, D. (2014). Karbapenemlere dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında OXA tipi beta-laktamazların araştırılması ve PFGE ile genotiplendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, *48*(4), 556-65.
147. Şahin, A.R., Doğruer, D., Nazik, S., Aktemur, A., Öksüz, H., Aral, M. & Ateş, S. (2019). Hastane kökenli patojenlerde artan antimikrobiyal direnç sorunu: *Acinetobacter baumannii*. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, *4*(2), 156-69. <https://doi.org/10.26453/otjhs.462304>
148. Leblebicioğlu, H., Rosenthal, V. D., Arıkan, O. A., Özgültekin, A., Yalcın, A. N., Koksall, I., Usluer, G., Sardan, Y. C., Ulusoy, S., & Turkish Branch of INICC (2007). Device-associated hospital-acquired infection rates in Turkish intensive care units. Findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC). *The Journal of Hospital Infection*, *65*(3), 251–257. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2006.10.012>
149. Queenan, A. M., & Bush, K. (2007). Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, *20*(3), 440–458. <https://doi.org/10.1128/CMR.00001-07>
150. Lob, S. H., Hoban, D. J., Sahm, D. F., & Badal, R. E. (2016). Regional differences and trends in antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *47*(4), 317–323. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.01.015>
151. European Centre for Disease Prevention and Control. (2020). *Antimicrobial Resistance in the EU/EEA (EARS-Net) —Annual Epidemiological Report 2019*; ECDC: Stockholm, Sweden.
152. Vural, D.G. & Durupınar, B. (2016). Karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* klinik izolatlarında sınıf D beta laktamaz varlığının araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, *46*(4), 181-187.
153. Levy-Blitchein, S., Roca, I., Plasencia-Rebata, S., Vicente-Taboada, W., Velásquez-Pomar, J., Muñoz, L., Moreno-Morales, J., Pons, M. J., Del Valle-Mendoza, J., & Vila, J. (2018). Emergence and spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* international clones II and III in Lima, Peru. *Emerging Microbes & Infections*, *7*(1), 119. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0127-9>
154. Garcia-Rodriguez, J. A., Jones, R. N., & MYSTIC Programme Study Group (2002). Antimicrobial resistance in gram-negative isolates from European intensive care units: data from the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) programme. *Journal of Chemotherapy*, *14*(1), 25–32. <https://doi.org/10.1179/joc.2002.14.1.25>
155. Zarakolu, P., Hasçelik, G., & Unal, S. (2006). Hastane enfeksiyonu etkeni gram negatif bakterilerin çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılık durumu: Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi MYSTIC çalışması verisi (2000-2004). *Mikrobiyoloji Bülteni*, *40*(3), 147–154.
156. Eraksoy, H., Basustaoglu, A., Korten, V., Kurt, H., Ozturk, R., Ulusoy, S., Yaman, A., Yuce, A., Zarakolu, P., & Turkish MYSTIC Study Group (2007). Susceptibility of bacterial isolates from Turkey--a report from the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) Program. *Journal of chemotherapy (Florence, Italy)*, *19*(6), 650–657. <https://doi.org/10.1179/joc.2007.19.6.650>
157. Bedenic, B., Goic-Barisic, I., Budimir, A., Tonkic, M., Mihajkevic, L. J., Novak, A., Sviben, M., Plecko, V., Punda-Polic, V., & Kalenic, S. (2010). Antimicrobial susceptibility and beta-lactamase production of selected gram-negative bacilli from two Croatian hospitals: MYSTIC study results. *Journal of Chemotherapy (Florence, Italy)*, *22*(3), 147–152. <https://doi.org/10.1179/joc.2010.22.3.147>

158. Uzuner, N., Atmaca, S., Çelik, M. & Kangül, H. (2020). *Acinetobacter baumannii*'nin bazı antibiyotiklere karşı direnç oranları: 2018 ve 2006 yılları sonuçlarının karşılaştırılması. *ANKEM Dergisi*, 34(3), 99-104. <https://doi.org/10.5222/ankem.2020.099>
159. Ragbetli, C., Güdücüoğlu, H. & Parlak, M. (2019). Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter* and *Pseudomonas* izolatlarında karbapenem direncinin araştırılması. *Journal of Contemporary Medicine*, 9(3), 275-279. <https://doi.org/10.16899/jcm.609560>
160. Demirci, M., Yiğın, A. & Demir, C. (2019). Karbapeneme dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında OXA tipi karbapenemaz genlerinin dağılımının Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemiyle incelenmesi. *Klinik Dergisi*, 32(2), 123-6. <https://doi.org/10.5152/kd.2019.29>
161. Özbey, N. & Tatman-Otkun, M. (2016). Molecular typing and investigation of carbapenemases in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 73(4), 345-354
162. Robledo, I. E., Aquino, E. E., & Vázquez, G. J. (2011). Detection of the KPC gene in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* during a PCR-based nosocomial surveillance study in Puerto Rico. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(6), 2968–2970. <https://doi.org/10.1128/AAC.01633-10>
163. Caneiras, C., Calisto, F., Jorge da Silva, G., Lito, L., Melo-Cristino, J., & Duarte, A. (2018). First description of colistin and tigecycline-resistant *Acinetobacter baumannii* producing KPC-3 carbapenemase in Portugal. *Antibiotics*, 7(4), 96. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7040096>
164. Boral, B., Unaldi, Ö., Ergin, A., Durmaz, R., Eser, Ö. K., & *Acinetobacter* Study Group (2019). A prospective multicenter study on the evaluation of antimicrobial resistance and molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in intensive care units with clinical and environmental features. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 18(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s12941-019-0319-8>
165. Poirel, L., Naas, T., & Nordmann, P. (2010). Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(1), 24–38. <https://doi.org/10.1128/AAC.01512-08>
166. Chen, Y., Zhou, Z., Jiang, Y., & Yu, Y. (2011). Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(6), 1255–1259. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr082>
167. Cornaglia, G., Riccio, M. L., Mazzariol, A., Lauretti, L., Fontana, R., & Rossolini, G. M. (1999). Appearance of IMP-1 metallo-beta-lactamase in Europe. *Lancet (London, England)*, 353(9156), 899–900. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(98\)05954-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(98)05954-6)
168. Ocak, M., Özer, B., İnci, M. & Duran, N. (2015). Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* kökenlerinde antibiyotik direnci ve IMP-1, IMP-2, VIM-1, VIM-2 tipi metallo-β-laktamazların araştırılması. *Klinik Dergisi*, 28(1), 23-27.
169. Azimi, L., Talebi, M., Pourshafie, M. R., Owlia, P., & Rastegar Lari, A. (2015). Characterization of carbapenemases in extensively drug resistance *Acinetobacter baumannii* in a burn care center in Iran. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 4(1), 46–53.
170. Huang, X. Z., Cash, D. M., Chahine, M. A., Nikolich, M. P., & Craft, D. W. (2012). Development and validation of a multiplex TaqMan real-time PCR for rapid detection of genes encoding four types of class D carbapenemase in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Medical Microbiology*, 61(Pt 11), 1532–1537. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.045823-0>
171. Villegas, M. V., Kattan, J. N., Correa, A., Lolans, K., Guzman, A. M., Woodford, N., Livermore, D., & Quinn, J. P. (2007). Dissemination of *Acinetobacter baumannii* clones with OXA-23 Carbapenemase in Colombian hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(6), 2001–2004. <https://doi.org/10.1128/AAC.00226-07>
172. Leung, E. C., Leung, P. H., & Lai, R. W. (2019). Emergence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ST195 harboring bla_{OXA-23} isolated from bacteremia in Hong Kong. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, 25(8), 1199–1203. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0433>
173. Sarı, A. & Gülay, Z. (2012). Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde kan kültürlerinde üremiş *Acinetobacter baumannii* suşlarında OXA-58 tipi karbapenemaz üretiminin Polimeraz Zincir Tepkimesi (PZT) yöntemi ile araştırılması. XXXV. *Türk Mikrobiyoloji Kongresi*. Kuşadası
174. Tellı, M., Eyigör, M., Korkmazgil, B., Aydın, N. & Atalay, M.A. (2017). Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem resistant *Acinetobacter* spp. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 4(47), 190-196. <http://doi.org/10.5222/tmcd.2017.190>
175. Bogaerts, P., Naas, T., Wybo, I., Bauraing, C., Soetens, O., Piérard, D., Nordmann, P., & Glupczynski, Y. (2006). Outbreak of infection by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*

- producing the carbapenemase OXA-58 in Belgium. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(11), 4189–4192. <https://doi.org/10.1128/JCM.00796-06>
176. Bölükbaşı, H., Adiloğlu, A.K. & Önde, U. (2017). Hastane enfeksiyonu etkeni olan karbapenem dirençli *A. calcoaceticus*- *A. baumannii* kompleks izolatlarındaki yaygın karbapenemaz genlerinin fenotipik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. 4. *Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi*. Antalya
177. Direkel, Ş., Çiçek, A.Ç., Karagöz, A., Aydoğan, N.E., Oktay, E., Delialioğlu, N., Özgümüş, O.B. & Durmaz, R. (2016). Bir üniversite hastanesinde izole edilen çok ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılığı ve moleküler karakterizasyonu. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 50(4), 522-34.
178. Tato, M., Ruiz-Garbajosa, P., Traczewski, M., Dodgson, A., McEwan, A., Humphries, R., Hindler, J., Veltman, J., Wang, H., & Cantón, R. (2016). Multisite evaluation of cepheid xpert carba-r assay for detection of carbapenemase-producing organisms in rectal swabs. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(7), 1814–1819. <https://doi.org/10.1128/JCM.00341-16>
179. Bialvaei, A. Z., Kafil, H. S., Asgharzadeh, M., Yousef Memar, M., & Yousefi, M. (2016). Current methods for the identification of carbapenemases. *Journal of Chemotherapy*, 28(1), 1–19. <https://doi.org/10.1179/1973947815Y.0000000063>
180. Nordmann, P., Poirel, L., & Dortet, L. (2012). Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerging Infectious Diseases*, 18(9), 1503–1507. <https://doi.org/10.3201/eid1809.120355>
181. Bayramoğlu, G., Uluçam, G. & Özgür, G.Ç. (2016). Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* suşlarının saptanmasında karbapenem inaktivasyon yönteminin değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 50(3),505-507.
182. Uddin, F., McHugh, T. D., Roulston, K., Platt, G., Khan, T. A., & Sohail, M. (2018). Detection of carbapenemases, AmpC and ESBL genes in *Acinetobacter* isolates from ICUs by DNA microarray. *Journal of Microbiological Methods*, 155, 19–23. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.11.004>
183. Choquet, M., Guiheneuf, R., Castelain, S., Cattoir, V., Auzou, M., Pluquet, E., & Decroix, V. (2018). Comparison of MALDI-TOF MS with the Rapidec Carba NP test for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 37(1), 149–155. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3115-4>

EK

EK-1.Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 22.11.2021-5800



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Toplantı Tarihi : 19.11.2021
Toplantı Sayısı : 2021/35
Karar Sayısı : 35/11

Kurulumuza değerlendirilmek üzere sunulan, Prof. Dr. Orhan BAYLAN'ın sorumlu araştırmacı, Nurseda BÜRKÜK'ün yardımcı araştırmacı olduğu 21/708 kayıt numaralı "*Klinik brneklerden izole Edilen Karbapenem Diren9li Acinetobacter baumannii izolatlarında Karbapenemazların Moleküller Yontemlerle incelenmesi*" başlıklı proje önerisi kurulumuzun 19.11.2021 tarihli toplantısında değerlendirilmiş ve etik açıdan uygun bulunmuştur.

Aslı Gibidir
e-imzalıdır
Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN
Başkan

Prof. Dr. Günseli GÜVEN POLAT
Başkan Yardımcısı

Doç. Dr. Selda RIZALAR
Etik Kurul Üyesi

Doç. Dr. Erhan ALABAY
Etik Kurul Üyesi

Doç. Dr. Papatya KELEŞ
Etik Kurul Üyesi

Doç. Dr. Yasemin AYDIN KARTAL
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Banu BAYRAM
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Semra AÇIKSÖZ
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Eray Metin GÜLER
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Merve KOLCU
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Gamze TEMİZ
Etik Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Muzaffer AKDOĞAN
Etik Kurul Üyesi

19.11.2021 Memur

Ali CEYLAN

Evrakı Doğrulamak İçin : <https://www.turkiye.gov.tr/sbu-ebys?eD=BSUBLNDMA4>

