

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HASTANE KAYNAKLI ACINETOBACTER SUŞLARINDA
KARBAPENEM DİRENCİNİN MOLEKÜLER ANALİZİ VE
SUŞLAR ARASI KLONAL İLİŞKİNİN GÖSTERİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. NİHAL SARICA**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MELTEM YALINAY ÇIRAK**

**ANKARA
ARALIK 2010**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HASTANE KAYNAKLI ACINETOBACTER SUŞLARINDA
KARBAPENEM DİRENCİNİN MOLEKÜLER ANALİZİ VE
SUŞLAR ARASI KLONAL İLİŞKİNİN GÖSTERİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. NİHAL SARICA**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MELTEM YALINAY ÇIRAK**

**ANKARA
ARALIK 2010**

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında emeği geçen ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Meltem Yalınay ırak'a ve değerli hocalarım Prof. Dr. Semra Kuştımur'a, Prof. Dr. Turgut İmir'e, Prof. Dr. M. Nedim Sultan, Prof. Dr. Seyyal Rota'ya, Doç. Dr. Ayşe Kalkancı'ya, Doç. Dr. Gölendam Bozdayı'ya, Doç. Dr. Kayhan ağlar'a, Doç. Dr. Işıl Fidan'a ve Doç. Dr. Funda Doğruman Al'a ihtisas sürem boyunca bana hocalık ve rehberlik yaptıkları için, tezimde çokça emeği geçen Yrd. Doç. Dr. Doruk Evren Engin'e, Özlem Ünaldı'ya, Yasemin Işık Koç'a, Duygu Kahraman ve diğer bütün asistan ve doktora arkadaşlarıma, sevgili aileme, nişanlıma, özellikle de kardeşim Ahmet Oğuz Sarıca'ya

TEŞEKKÜR EDERİM

SİMGELER VE KISALTMALAR

AK	Amikasin
AP-PZR	Arbitrarily Primed PZR
ATCC	American Type Culture Collection
°C	Selsius
CAZ	Seftazidim
CES	Sefoperazon-sulbaktam
CIP	Siprofloksasin
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CN	Gentamisin
CT	Kolistin
ÇİD	Çoklu ilaç direnci
dk	Dakika
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat
DYBÜ	Dahiliye yoğun bakım ünitesi
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
EMB	Eozin-metilen blue
ETA	Endotrekeal Aspirat
FEB	Sefepim
g	Gram
GÜTF	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
HE	Hastane enfeksiyonu
IMP	İmipenem
Kb	Kilobaz
Kbp	Kilobaz çifti
MEM	Meropenem
ml	Mililitre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

NET	Netilmisin
NYBÜ	Nöroloji yoğun bakım ünitesi
PABA	Paraaminobenzoik asit
PFGE	Pulsed-Field Gel Electrophoresis
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
SAM	Ampisilin-sulbaktam
sn	Saniye
SXT	Trimetoprim-sülfometoksazol
TE	Tris EDTA
TOB	Tobramisin
TSI	Üç Şekerli Demirli Besiyeri
TZP	Piperasilin-tazobaktam
UV	Ultraviyole
VİP	Ventilatörle ilişkili pnömoni
YBÜ	Yoğun bakım ünitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay

Teşekkür

Kısaltmalar

İçindekiler

1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Taksonomi ve Tarihçe.....	3
2.2. Mikrobiyolojik ve Metabolik Özellikler.....	4
2.3. Patogenez ve Virulans Faktörleri.....	5
2.4. Epidemiyoloji.....	7
2.5. <i>Acinetobacter</i> Nedeniyle Oluşan Hastane Enfeksiyonları.....	9
2.5.1. Hastane Kaynaklı Pnömoni.....	11
2.5.2. Bakteriyemi.....	12
2.5.3. Menenjit.....	14
2.5.4. Üriner Sistem Enfeksiyonları.....	15
2.5.5. Yumuşak Doku Enfeksiyonları.....	15
2.5.6. Diğer Enfeksiyonlar.....	16
2.6. Tedavi.....	16
2.7. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları.....	17
2.7.1. β -laktamazlar.....	18
2.7.2. Aminoglikozid-Modifiye Edici Enzimler.....	20

2.7.3. Permeabilite Bozuklukları.....	20
2.7.4. Çoklu İlaç Efluks Sistemi.....	21
2.7.5. Diğer Direnç Mekanizmaları.....	21
2.8. Hastane Enfeksiyon Etkenlerinin Neden Olduğu Salgın Analizinde	
Kullanılan Tiplendirme Yöntemleri	22
2.8.1. Biyotiplendirme.....	23
2.8.2. Antibiyotiplendirme.....	24
2.8.3. Serotiplendirme.....	24
2.8.4. Faj Tiplendirme.....	24
2.8.5. Bakteriosin Tiplendirmesi.....	25
2.8.6. Protein Profilleri.....	25
2.8.7. Elektroforetik Multiloküs Enzim Tiplendirme (MLEE).....	26
2.8.8. Multiloküs Sekans Tiplendirme (MLST).....	26
2.8.9. Plazmid Profili.....	27
2.8.10. Ribotiplendirme.....	28
2.8.11. Değişken Alanlı (Pulsed Field) Jel Elektroforezi.....	28
2.8.12. Arbitrarily Primed PZR (AP-PZR).....	29
2.8.13. Microarray - DNA Chip Teknolojisi.....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
Besiyerleri, Kimyasal Bileşikler.....	30
Cihazlar.....	31
3.1. Bakteri İzolatları.....	32
3.2 Bakterinin Konvansiyonel Yöntemlerle Tiplendirilmesi.....	32

3.2.1. Fenotipik Yöntemler.....	33
3.2.1.1 Eozin-metilen blue agar (EMB).....	33
3.2.1.2 Üç Şekerli Demirli Besiyeri.....	33
3.2.1.3 Oksidaz Testi.....	33
3.2.1.4 Hareket besiyeri.....	34
3.2.1.5 Nitrat İndirgeme Testi.....	34
3.2.1.6 Üre Besiyeri.....	35
3.2.2 Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	36
3.3 Moleküler Yöntemler.....	37
3.3.1. <i>bla</i> _{OXA} allellerini PZR metodu ile amplifikasyonu.....	37
3.3.2. Arbitrarily Primed PZR (AP-PZR).....	39
3.3.2.1. DNA Eldesi.....	39
3.3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Hedef Bölgenin Çoğaltılması.....	40
4. BULGULAR.....	42
4.1. Suşların Antibiyotik Duyarlılık Profilleri.....	42
4.2. PZR sonuçları.....	46
4.2.1. <i>bla</i> _{OXA} Allellerinin PZR Metodu ile Amplifikasyonunun Sonuçları.....	46
4.2.2. AP-PZR Sonuçları.....	48
5. TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇLAR.....	63
7. KAYNAKLAR.....	64
8. ÖZET.....	82
9. SUMMARY.....	84

10. TABLO LİSTESİ.....	86
11. ŞEKİL LİSTESİ.....	87
12. GRAFİK LİSTESİ.....	87
13. RESİM LİSTESİ.....	87
14. ÖZGEÇMİŞ.....	88

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Acinetobacter türleri özellikle de *Acinetobacter baumannii*, yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) yatan, solunum desteği gerektiren, immün sistemi zayıf, kemoterapi veya uzun süreli antibiyotik tedavisi alan, cerrahi müdahale geçiren hastalarda fırsatçı hastane enfeksiyon etkeni olarak daha sık izole edilmeye başlanmıştır (1). *Acinetobacter* türleri artık ülkemizde de yoğun bakım servislerinde en sık izole edilen gram negatif enfeksiyon etkenleri arasındadır (2-3). Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2008-2009 verilerine göre hastane enfeksiyonlarına yol açan mikroorganizma dağılımında *Acinetobacter* spp. ilk sırayı almaktadır (4).

Acinetobacter spp. bağlı oluşan enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı giderek artan direnç hem ülkemizde hem de diğer ülkelerde önemli bir sağlık problemi haline gelmiştir (5). Taşıdıkları çoklu ilaç direnci nedeniyle de artan oranda mortalite ve morbiditeye neden olmaktadır. Karbapenemler *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilen beta laktam türü seçkin ilaçlardır ancak son zamanlarda bu antimikrobiyal ilaçlara da direnç artmaktadır (6). Bunların etkilerini azaltan en yaygın mekanizma, özellikle karbapenem hidrolize eden sınıf-D beta-laktamazlardır (7).

Acinetobacter enfeksiyonları hastane içinde, hastaneler arasında, hatta ülkeler arasında salgınlara neden olmaları açısından önemlidir. Aynı türden izolatlar arasında klonal ilişkiyi ortaya koymak amacıyla yapılan moleküler tipleme yöntemleri epidemiyolojik bilgiler eşliğinde değerlendirilmekte izolatların

aynı veya farklı kaynaktan köken aldıkları kabul edilmektedir (8). Dirençli suşlar arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesiyle epidemik izolatlar, sporadik veya endemik olanlardan ayrılmakta, salgınla ilişkili suşlar belirlenmekte, salgının kapsamı, kaynak ve rezervuarı hakkında bilgi sağlanabilmektedir. Ayrıca salgınlara ait veri bankaları oluşturulabilmekte, herhangi bir yer ve zaman içindeki enfeksiyonun özellikleri tanımlanabilmektedir (9). Bu yöntemler enfeksiyon kontrol önlemlerinin etkinliğini artırmaktadırlar.

Hastanemiz Ağustos 2007-Haziran 2010 tarihleri arasında Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesi (DYBÜ) veya Nöroloji Yoğun Bakım Ünitesinde (NYBÜ) yatan hastaların endotrekeal aspirat (ETA) veya balgam örneğinden izole edilen ve *Acinetobacter* spp. olarak tiplendirilen suşlar çalışmaya kabul edildi.

Bu çalışmanın amacı hastane enfeksiyonlarına yol açan *Acinetobacter* izolatlarında ilaç duyarlılık paternlerinin gösterilmesi, çoklu ilaç direncine sahip *Acinetobacter* suşlarının klinik izolatlarında, karbapenem direncinin en önemli nedeni olan OXA tipi beta laktamaz enzim dağılımının gösterilmesi ve Arbitrarily Primed PZR (AP-PZR) yöntemiyle izolatlar arasındaki klonal ilişkinin gösterilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Taksonomi ve Tarihçe

Acinetobacter ilk kez 1911 yılında Beijerinck tarafından topraktan izole edilmiş ve *Micrococcus calco-aceticus* olarak isimlendirilmiştir. 1939 yılında DeBord'un gram-negatif kokobasilleri üretral örnekten izole etmesiyle tanımlanmıştır. *Acinetobacter* cinsleri *Moraxellaceae* ailesinde ve *Gammaproteobacteria* sınıfında yer almaktadırlar (10). Deoksiribonükleik asit (DNA) benzerlikleri temel alınarak yapılan çalışmalarda, bu cins içinde 30'dan fazla genomik tür tanımlanmıştı, on sekizine özel isim verilmiştir (Tablo2.1) (11).

Tablo 2.1 *Acinetobacter* Cinsine ait Özel İsim Verilen Türler

A. calcoaceticus
A. baumannii
A. haemolyticus
A. junii
A. johnsonii
A. lwoffii
A. radioresistens
A. ursingii
A. schindleri
A. parvus
A. baylyi
A. bouvetii
A. townneri
A. tandoii
A. tjernbergiae
A. gernerii
A. beijerinckii
A. gyllenbergii

* Yukarıdaki türlere ilaveten çoklu suş içeren 26 adet isimlendirilmemiş grup ve kültürlerde yer alan en az 21 adet gruplandırılmamış tekli suş içeren türler bulunmaktadır.

Acinetobacter baumannii (gen sp 2) insan hastalıklarından sorumlu olan başlıca türdür. *Acinetobacter* genomik tür 3, ve *Acinetobacter* genomik tür 13TU'da insanlar için patojen olabilmektedir. Bu üç tür ve çevresel bir tür olan, genellikle su ve topraktan izole edilen *A. calcoaceticus* rutin fenotipik metotlarla birbirlerine çok benzediklerinden ayıramamaktadır. Bu nedenle bu dört tür *A.calcoaceticus-A.baumannii* kompleks adı altında incelenmektedirler. *A. baumannii*, *Acinetobacter* genomik tür 3 ve *Acinetobacter* genomik tür 13TU yerine de kullanılmaktadır. Bugünkü bilgilerimize göre *A.calcoaceticus* insanlarda ciddi bir klinik hastalığa yol açmamaktadır (12-13).

Amerikan Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezinin (Centers for Disease Control and Prevention) (CDC) sınıflamasına göre *Acinetobacter* türleri nonfermentatif gram-negatif basiller içerisinde CDC Grup EO -5, CDC Grup NO -1 ve *Bordetella* türleri ile birlikte oksidaz negatif grup içerisinde yer alırlar (14).

2.2 Mikrobiyolojik ve Metabolik Özellikler

Acinetobacter cinsi bakteriler 35-37°C'de üremeyi seven, nonfermentatif, oksidaz negatif, katalaz pozitif, indol negatif, hareketsiz, nitratları redükte etmeyen, zorunlu aerop üreyen gram negatif mikroorganizmalardır. Flajellaları yoktur, fimbriaları vardır. Üç şekerli demirli besiyeri (TSI) ve oksidatif fermentatif besiyerinde asit oluşturmazlar.

Üremenin logaritmik fazında 1-1,5 x 1,5-2,5 µm boyutlarında basil, üreme dışında ise kok şeklinde, daha çok kokobasil, ikişerli, küme halinde veya kısa

zincir olarak görüldüğünden gram boyalı preparatların incelenmesinde *Haemophylus* ve *Neisseria* türleri ile karıştırılabilir. Pozitif kan kültür şişesinden hazırlanan preparatlarda kristal violeyi tutmaya yatkındırlar ve böylece yanlışlıkla gram pozitif kok olarak tanınırlar. Koloniler düzgün, opak bazen mukoid ve *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer üyelerine göre daha küçüktür (14,15).

Klinik laboratuvarlarda nonfermantatif mikroorganizmaların izolasyonunda genellikle kanlı agar ve eozin metilen blue agar gibi besiyerleri kullanılır. Bromkrezol moru, safra tuzları, laktoz, maltoz şekerleri içeren Herellea agar klinik örneklerden ve vankomisin, sefsulodin, sefradin gibi antibiyotikleri içeren Leeds Acinetobacter Medium ise hem klinik örneklerden hem de çevreden *Acinetobacter*'lerin izole edilmesinde kullanılabilen seçici ve ayırt edici besiyeridir (16-17).

Geleneksel biyokimyasal metotlar türler arası ayırım yapmak için yeterli olmamaktadır. Ticari sitemlerden API 20 NE (bioMerieux, Fransa) beş tür, Biolog GN2 Microplate (Biolog, Hayward ABD) 15 tür tanımlayabilmektedir (18). Bu kitlerin en büyük dezavantajı bazı türlerin tablolarda yer almaması nedeniyle tüm türleri tanımlayamamasıdır.

2.3 Patogenez ve Virulans Faktörleri

Acinetobacter cinsi bakterilerin virülans potansiyelleri düşük olduğundan konak savunma mekanizması normal olanlarda enfeksiyon oluşturması oldukça

nadirdir. Genellikle fırsatçı hastane enfeksiyonlarına neden olurlar (19). *Acinetobacter*'lerin aşağıdaki özellikleri virülanslarını artırmaktadır.

1. Polisakkarit kapsül: L-ramnoz, D-glukoz, D-mannoz ve D-glukronik asitten oluşur. Büyük ihtimalle bakteri yüzeyinin daha hidrofilik olmasını sağlamaktadır ve fagositozdan korur. Damar içi kateter, trakeal kanül gibi yüzeylere tutunmayı kolaylaştırır.
2. Fimbria ve/veya polisakkarit kapsül: İnsan epitel hücrelerine adezyon özelliği kazandırır.
3. Doku lipit hasarı yapabilen enzim üretimi virülansı artırır.
4. Hücre duvarının lipopolisakkarit içeriği ayrıca hücre duvarında bulunan lipid A potansiyel toksik etki göstererek patojeniteyi artırır.
5. Aerobaktin ve siderofor gibi demir tutucu dış membran reseptör proteinlerinin üretimi ile bakteri üremesi için gerekli demiri sağlamaktadır.

Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalarda antibiyotik direnci sağlayan PER-1 enziminin virülansı arttırdığı ve klinik olarak daha ölümcül enfeksiyonlara neden olduğu gösterilmiştir (20-21).

2.4 Epidemiyoloji

Hastanelerde *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu en önemli problemler çoğunlukla yoğun bakım ünitelerdeki ciddi durumdaki hastalarıdır. Bunlar özellikle mekanik ventilasyonlu, yara veya yanığı olan hastalardır. *Acinetobacter*'le bağlantılı enfeksiyonlar ventilatöre bağlı pnömoni, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları, sekonder menenjit ve kan dolaşım sistemi enfeksiyonlarını içermektedir. Bu enfeksiyonlara çoğunlukla *A. baumannii* kompleksinin üyeleri neden olmaktadır. *A. baumannii* kompleksi dışındaki diğer türlerle hastane kaynaklı enfeksiyonlar çok daha nadir oluşur ve bunlar genelde katater bağlantılı kan dolaşımı ve bir kontaminasyonla bağlantılı salgınlarla sınırlıdır.

Hastane ortamındaki *A.baumannii* kompleksinin neden olduğu problemler bu organizmaların kuruluk ve dezenfektanlara karşı yüksek dirençli olmalarıyla artmaktadır. Bu problemler hastane ortamında uzun süreli dayanıklılığa, birçok hastayı içeren enfeksiyon salgınlarının ortaya çıkmasına ve çoklu ilaç dirençli (ÇİD) izolatlarının oranının artmasına yol açmaktadır. Birçok çalışma ÇİD *A. baumannii*'nin trendinin arttığını göstermekte ancak direnç oranları hastane şehir ya da ülkeye göre değişmektedir.

A.baumannii ile bağlantılı nazokomial enfeksiyonlarının rezervuarı kesin belli değildir ve sağlık ünitelerine göre değişkenlik göstermektedir. Salgınlar sırasında bu organizmaların izole edildiği hastane ortamlarındaki enfeksiyonların potansiyel kaynakları çeşitlidir. Bunlar arasında personelin elleri, ventilatörler ve

tüpleri, bronkoskoplar, lavabolar, sabunlar, plastik ekranlar, yatak çarşafı, yastıklar, damar içi beslenme solusyonları, eldivenler, hastalar, el kremleri, bilgisayar klavyesi gibi çok çeşitli potansiyel kaynaklar yer almaktadır. Havadan yahut hastadan hastaya da bulaş görülmüştür. Hastane personelinin elleri çevresel yüzeyin ve tıbbi ekipmanların kontaminasyonu bir salgın sırasında *A. baumannii*'nin yayılmasında rol oynasa da enfekte olmuş hasta çevreye birçok sayıda *A. baumannii* yaymakta olup enfeksiyonun temel rezervuarıdır. *A. baumannii*'nin yayılmasındaki temel faktörler arasında hastanede kalma süresinin artması, önceden alınan antibiyotikler, mekanik ventilasyon, *A. baumannii* ile enfekte ya da kolonize hastalara maruz kalma, çevresel kontaminasyon, yetersiz hastane personeli, personelin hijyene dikkat etmemesi sayılabilir.

A.baumannii salgınlar sırasında hasta ve hastane ortamlarından izole edilebilse de bu türün hastane dışında bilinen doğal ortamı yoktur. Bu tür çok nadir olarak su toprak ya da diğer çevresel ortamlardan nadiren izole edilebilir. Ayrıca salgının olmadığı durumlarda hastane içinde de nadiren izole edilir.

Özet olarak *Acinetobacter* cinsinin üç tane temel üst üste binen popülasyonu tanımlanmıştır.

1. Salgın sırasında hastanede saptanan ÇİD izolatları ki bu izolatlar genellikle *A. baumannii* ve yakın türlerini içerir ve hastanede yatan hastaları enfekte eder veya kolonize olur.

2. Genellikle *A.johnsonii*, *A.lwoffii* ve *A.radioresistens* içeren insan ve hayvan derisinde kommensal olarak bulunabilen veya çürük besin maddelerinde bulunan duyarlı izolatlardır.
3. Genellikle *A.calcoaceticus* ve *A. johnsonii* içeren çevre toprak veya atık suda bulunan duyarlı izolatlardır.

Acinetobacter cinsine ait diğer birçok türün (Tablo 2.1) doğal ortamı çok iyi bilinmemektedir. Birçok tür insanların klinik örneklerinde nadiren izole edilmekte ancak enfeksiyon kontrolü ve klinik öneminden dolayı *A.baumannii* kompleksine ait ÇİD izolatlarına dikkat edilmelidir.

Bu organizmalar yaygın bulunmamakta, kolonize yada enfekte olmuş hastalardan ya da salgınlar sırasındaki hastane ortamından izole edilmektedir (11).

2.5 *Acinetobacter* Nedeniyle Oluşan Hastane Enfeksiyonları

Hastanede alınan mikroorganizmalara bağlı olarak gelişen enfeksiyonlara hastane enfeksiyonu (HE) denir. Hastanın hastaneye yattığında inkübasyon döneminde olduğu ya da belirti ve bulguları saptanan enfeksiyonlar HE olarak kabul edilmez. Buna karşılık hastanın taburculuğundan sonra ortaya çıksa da enfeksiyonun inkübasyon süresinin başlangıcı hastanede yattığı döneme uyuyor ise HE kabul edilir.

HE genellikle hasta hastaneye yattıktan 48-72 saat sonra ortaya çıkar. Dahili hastalarda taburcu olduktan sonraki 10 gün içinde, ameliyat geçirenlerde 1

ay içinde, protez uygulananlarda ise 1 yıl içinde gelişen ilgili enfeksiyonlar HE olarak değerlendirilir (22).

Hastane enfeksiyonlarının önemi başlıca üç başlık altında toplanabilir (23).

1. Mortalitesi ve morbiditesi yüksektir.
2. Bazı uygulamalarla % 20-30 önlenabilir
3. Ekonomik yükleri fazladır.

Fırsatçı hastane enfeksiyon etkeni olarak *Acinetobacter* türleri daha fazla izole edilmeye başlanmıştır. *Acinetobacter baumannii* baskın olan türdür (12).

Acinetobacter'ler artık ülkemizde yoğun bakım servislerinde en sık izole edilen gram negatif enfeksiyon etkenleri arasındadır (2-3).

Tablo 2.2 Gazi Hastanesi Hastane Enfeksiyonlarına Yol Açan Mikroorganizma Dağılımı

İzolasyon durumu	Sayı	%	Sayı	%
	2008	2008	2009	2009
Klinik tanı	235	15.1	294	20
Polimikrobiyal	67	4.3	54	3.7
Etken izole edilen	1258	80.6	1123	76.3
İzole edilen mikroorganizma				
<i>Acinetobacter spp.</i>	313	22.5	273	22.2
<i>E.coli</i>	196	14.1	139	11.3
<i>Pseudomonas spp.</i>	172	12.4	167	13.6
<i>Koagülaz Negatif Staphylococcus</i>	160	11.5	160	13
<i>Klebsiella spp.</i>	105	7.5	105	8.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	93	6.7	57	4.6
<i>Candida nonalbicans</i>	91	6.5	80	6.5
<i>Candida albicans</i>	75	5.4	72	5.8
<i>Enterococcus spp</i>	59	4.2	68	5.5
<i>Enterobacter spp</i>	34	2.4	57	4.6
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	25	1.8	17	1.4
<i>Streptococcus spp.</i>	16	1.1	8	0.6
<i>Citrobacter spp.</i>	10	0.7	4	0.3
<i>Proteus spp.</i>	9	0.6	14	1.1
<i>Serratia spp.</i>	9	0.6	9	0.7

A.baumannii'nin neden olduğu enfeksiyonlar daha çok yoğun bakım ünitelerindeki zayıf düşmüş hastalarda görülme eğilimindedir. Uzun süreli bakım merkezlerinde, özellikle de ventilatöre bağlı hastaların bakımının yapıldığı merkezlerde bulunan hastalarda risk yüksektir. Diğer risk faktörleri arasında yakın zamanda geçirilmiş cerrahi operasyon, santral damar içi kateterizasyon, trakeostomi, mekanik ventilasyon, enteral beslenme ve üçüncü grup sefalosporin, florokinolon veya karbapenem antibiyotikleriyle tedavi bulunmaktadır (24).

Acinetobacter enfeksiyonlarının başlıca önemli nedenleri hastane enfeksiyonlarına neden olması, hastane içinde, hastaneler arasında, hatta ülkeler arasında salgınlara neden olması, antibiyotiklere yüksek oranda dirençli olmasıdır. Tablo 2.2'de de görüldüğü üzere Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde 2008-2009 verilerine göre hastane enfeksiyonlarına yol açan mikroorganizma dağılımında *Acinetobacter* spp. ilk sırayı almaktadır (4).

2.5.1 Hastane Kaynaklı Pnömoni

Hastaneye yatıştan en az 48 saat sonra gelişen akciğer enfeksiyonları olarak tanımlanır. YBÜ dahilinde en sık görülen enfeksiyonlar arasında başta gelmektedir. Hastanın yattığı kliniğe göre değişmekle birlikte, dünyanın çeşitli bölgelerinden yapılan çalışmalarda hastane kaynaklı pnömonilerin tüm hastane enfeksiyonlarının ortalama % 15'ini, ülkemizde yapılan çalışmalarda ise % 11-30'unu oluşturduğu bildirilmektedir. Araştırma sonuçları ventilatör uygulanan hastaların % 28-85'inde ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) gelişme riskinin

bulunduğunu vurgulamaktadır. (25) Ayrıca tüm nozokomiyal enfeksiyonlar göz önüne alındığında en yüksek mortalite oranının VİP'ye (% 24-71) ait olduğu, özellikle bazı etkenlerin (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp.) neden olduğu VİP'lerde uygunsuz tedavi ile birlikte bu oranın % 91'e kadar ulaşabileceği de bildirilmektedir (26).

Acinetobacter baumannii son yıllarda, başta pnömoniler olmak üzere hastane kaynaklı enfeksiyonların en önemli nedenlerinden biri haline gelmiştir (27). Taşıdıkları çoklu ilaç direnci (ÇİD) nedeniyle VİP'lerde yüksek mortaliteye neden olmaktadır (28). Birçok çalışma hastane kökenli *Acinetobacter* pnömonilerinin mekanik ventilasyonun en önemli komplikasyonu olduğunu desteklenmektedir. Alınan tüm önlemler ve etkili dezenfeksiyona rağmen insidanda artış olmuştur (12).

Ülkemizde 12 hastaneyi ve 13 yoğun bakım ünitesini kapsayan bir çalışmada VİP etkenlerinin dağılımında % 29,2 ile ilk sırayı *A. baumannii* almıştır (2). Yine Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi yoğun bakım ünitelerinde pnömoni etkenlerinin sayısal dağılımına göre % 43.97 ile ilk sırayı *Acinetobacter* türleri almaktadır (4).

2.5.2 Bakteriyemi

Acinetobacter bakteriyemisi sıklıkla pnömoni ve damar içi kateter kullanımından sonra gelişen enfeksiyonlara sekonder gelişmektedir. Üriner sistem kateterizasyonu, yaralar, deri ve abdominal enfeksiyonlar daha az sıklıkla kaynak

oluşturur (19). *Acinetobacter* ile gelişen bakteriyemi insidansı % 8,4'ün üzerinde bildirilmekte ve en sık hastaneye yatışın ikinci haftasında gelişmektedir. En sık rastlanan tür *A.baumannii*'dir. Polimikrobiyal veya tek başına bakteriyemilere neden olabilir.

Mortalite % 17-46 arasında bildirilmekle birlikte, polimikrobiyal olgularda mortalitenin arttığı, *A.baumannii* dışındaki türlerde ise klinik tablonun daha hafif seyrettiği vurgulanmaktadır (29,19). Bakteriyemisi olan yetişkin hastaların büyük çoğunluğunu immün düşkün hastalar oluşturmaktadır. Malignensi, yanık, travma en yaygın predispozan faktörlerdir. Diğer bir risk grubu ise yenidoğanlardır. Düşük doğum ağırlığı, öncesinde antibiyotik kullanımı, mekanik ventilasyon, yenidoğan konvülsiyonlarının varlığı başlıca predispozan faktörlerdir (12).

Tablo 2.3. Yoğun Bakımlarda Kan Dolaşımı Enfeksiyonu Etkenlerinin Bölümlere Göre Sayısal Dağılımı, Gazi Hastanesi 2009

YOĞUN BAKIMLAR	<i>E. coli</i>	<i>Koagulaz Negatif Staphylococcus</i>	<i>Staph. Aureus</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Klebsielle spp.</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida nonalbicans</i>	Diğer	TOPLAM
Genel Cerrahi YBÜ	3	2	8	1	1	5	2	1	-	4	-	4	31
Reanimasyon	-	1	4	4	2	7	1	2	-	-	3	-	24
Beyin Cerrahi YBÜ	1	1	1	-	-	2	2	-	-	-	1	-	8
Pediyatri YBÜ	1	4	-	3	3	1	1	1	1	1	1	1	18
KVC YBÜ	2	3	-	1	1	2	-	-	-	2	1	-	12
Nöroloji YBÜ	2	1	1	-	-	2	4	-	-	2	5	2	21
Dahiliye YBÜ	2	6	1	5	5	8	5	-	-	-	1	2	30
Göğüs Hastalıkları YBÜ	1	-	1	-	-	7	2	-	-	-	3	-	14
TOPLAM	12	18	16	14	14	34	17	4	1	9	15	9	158

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi yoğun bakımlarında kan dolaşımı enfeksiyonu etkenlerinin bölümlere göre sayısal dağılımına bakıldığı zaman, *Acinetobacter* türlerinin en başta gelen mikroorganizmalar arasında olduğu görülmektedir (Tablo 2.3).

2.5.3 Menenjit

Primer menenjitli sporadik vakalar bildirilmesine rağmen özellikle beyin cerrahisi uygulamalarından sonra, travma, lomber ponksiyon, ventrikülografi ve miyelografi sonrası gelişen sekonder menenjit olguları baskın form olarak saptanmaktadır (12). Yoğun antibiyotik kullanımı, ventrikülostomi, beş günden fazla tutulan ventriküler kateterler ve beyin omurilik sıvısı fistülleri gibi risk faktörleri menenjit gelişiminde etkilidir (29). *Acinetobacter* türleri ile gelişen nozokomiyal menenjit olgularında beyin omurilik sıvısı bulguları pürülan menenjit özelliğindedir. Klinik bulgu olarak sıklıkla konvülsiyon ve mental durumda bozulma gözlenirken, ense sertliği nispeten daha geri planda saptanan bulgudur. Mortalite oranı % 20-27 arasında bildirilmektedir.

Metan ve ark. yaptığı 1997-2007 yıllarını içeren retrospektif çalışmada sinir sistemi cerrahisi geçiren ve eksternal ventriküler dreni bulunan ve bunlara bağlı menenjit gelişen 28 hastayı çalışmaya almışlardır. Bu hastaların % 31'inde karbapenem-dirençli *A.baumannii* izole etmişler ve mortalite oranını % 70'den fazla olduğunu göstermişlerdir (30).

2.5.4 Üriner Sistem Enfeksiyonları

Genellikle immün sistemi baskılanmış, yaşlı, sürekli üriner kateteri olan ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda görülmektedir. Kalıcı olmayan üriner kateteri olan hastalarda da enfeksiyona neden olmaktadır. Prostat büyümesi nedeniyle kalıcı olmayan kateter kullanımının yüksek prevalansı vardır. *Acinetobacter*'in neden olduğu üriner sistem enfeksiyonu gelişen hastaların %80'i erkektir. Unutulmamalıdır ki üriner kateter taşıyan hastalardan izole edilen her *Acinetobacter* gerçek enfeksiyon etkeni olmayabilir ve kolonizasyonu göz ardı etmemek gerekir (12).

GÜTF hastanesi YBÜ'lerinde üriner sistem enfeksiyonu etkenlerinin bölümlere göre sayısal dağılımı bakıldığında % 8.02'sini *Acinetobacter* spp.'nin oluşturduğu görülmektedir (4).

2.5.5 Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Travmatik yaralar, yanık, cerrahi insizyon bölgeleri, damar içi kateter uygulamaları, bağışıklık sisteminin baskılanması başlıca risk faktörlerini oluşturur. Gaynes ve ark. yaptığı bir çalışmada yoğun bakımda kazanılmış cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarının % 2.1'inin *Acinetobacter* spp. ile oluştuğunu bildirmişlerdir (31). Travmatik yaralar, yanıklar ve postoperatif insizyonlar *Acinetobacter* türleri ile kolonize olabilir. Bu durum Vietnam ve Irak savaşlarında yaralanan askerlerin ekstremitelerinde gösterilmiştir (32).

GÜTF hastanesi YBÜ'lerinde cerrahi alan enfeksiyonu etkenlerinin bölümlere göre sayısal dağılımına bakıldığında, % 15.89'unu *Acinetobacter* spp. oluşturmaktadır. (4)

2.5.6 Diğer Enfeksiyonlar

Konjunktivit, endoftalmit, korneal ülserasyon ve perforasyon, prostetik kapak endokarditi, osteomyelit, artrit, pankreas ve karaciğer absesi, peritonit görülebilmektedir. Ayrıca periton diyalizi, perkutan transhepatik kolanjiografi ve perkutan safra drenajı sonrası *Acinetobacter* spp.'e bağlı enfeksiyon gelişebilmektedir (19, 15).

2.6 Tedavi

Acinetobacter ile kolonize hastaların spesifik bir tedavisi gerekmemektedir. Öte yandan *Acinetobacter* ile oluşan hastane enfeksiyonunda, patojenin duyarlı olduğu antibiyotikle tedavisi gerekmektedir. Yaygın tedavi seçenekleri arasında seftazidim, karbapenemler, sulbaktam, piperasilin/tazobaktam, aminoglikozitler, sefepim, polimiksin E ve B, minosiklin, doksisisiklin ve tigesiklin yer alır (33). Öte yandan *A. baumannii* antibiyotiklerin çoğuna dirençlidir. Bunlar arasında penisilin, ampisilin, karbenisilin, makrolitler, 2. ve 3. jenerasyon sefalosporinler, siprofloksasin ve kloramfenikol bulunmaktadır. Karbapenemler *Acinetobacter* enfeksiyonlarında tercih edilen

antibiyotiklerin başında gelmektedir (6). Tedavide karbapenemler, aminoglikozidler, rifampisin ve sulbaktam içeren kombinasyonlar da kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçlara direncin giderek artması çeşitli ilaç kombinasyonlarını gündeme getirmiştir. Beta-laktam grubu ilaçlarla aminoglikozidlerin veya florokinolonların kombinasyonunun değerlendirildiği birçok çalışmada sinerjistik veya kısmi sinerjistik etki gözlenmiştir (27). Tigesiklinin etkinliği 1997 yılından beri yapılan çok sayıdaki çalışmada araştırılmıştır. Geniş spektrumlu bu antibiyotiğin, ÇİD olan *Acinetobacter* suşlarında etkili olduğu gözlenmiştir (34). Tigesiklin içeren kombinasyonların kolistin, levofloksasin, amikasin ve imipenem ile sinerji oluşturduğu ancak piperasilin/tazobaktamla kombine edildiğinde antagonizm olduğu gözlemlenmiştir (35). ÇİD olan *Acinetobacter* suşlarının büyük çoğunluğu polimiksinlere duyarlı olup toksik etkilerine ilişkin endişelere rağmen kullanımı artmaktadır (36).

2.7 Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Antibiyotik kullanımı ile antibiyotik direnci arasında oldukça yakın ilişki olduğu bilinmektedir. Hastanelerde geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımıyla dirençli suşların seleksiyonuna bağlı olarak hızla direnç gelişebilmektedir (37). *A. baumannii* de gittikçe artan bir direnç söz konusu olup, hastanelerde önemli bir sağlık problemi haline gelmiştir (38).

2.7.1 β -laktamazlar

Beta-laktam ilaçlar, kimyasal yapılarında ortak bir beta laktam halkası taşırlar ve hücre duvar sentezini inhibe ederek etki gösterirler.

TEM-1, TEM-2, CARB-5, ve SHV-like enzimleri penisilinaz aktivitesi göstermektedirler. ACE-1, ACE-2, ACE-3 ve ACE-4 enzimleri ise sefalosporinaz ve bir miktar penisilinaz aktivitesine sahiptirler. Fakat aztreonam, seftazidim ve sefotaksimi hidrolize edici aktiviteleri yoktur. En güçlü aktiviteleri sefaloridin ve ACE-4 hariç sefradine karşı görülmektedir. ACE-1 en geniş etkili sefalosporinazdır. ARI-1 imipenem ve azlosilini parçalayabilirken sefuroksim, seftazidim ve sefotaksimi parçalayamaz (12).

Geniş spektrumlu β -laktam antibiyotikler olan karbapenemler, 1985 yılında kullanıma girmiş ve o yıllardan beri ÇİD olan *A.baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir ajan olmuşlardır. Fakat son yıllarda bu antibiyotiklere karşı dirençli suşlar giderek artmaktadır ve tüm dünyada önemli bir sağlık problemi haline gelmektedir (5).

Karbapenem hidrolize eden β -laktamazların üretimi *A.baumannii* de karbapenem direncinden sorumlu en yaygın mekanizmadır. *A.baumannii* de birçok karbapenem hidrolize eden beta laktamazlar tespit edilmiştir. Bunlar dünyanın değişik bölgelerinde rapor edilen ve sınıf 1 integronlarla bağlantılı metalobetalaktamazları (VIM-, IMP- ve SIM- tipleri) içermektedir. Yine de *A.baumannii*'de en yaygın görülen karbapenemazlar sınıf-D β -laktamazlardır. Üç temel karbapenem hidrolize eden sınıf-D oksasilinaz gen kümeleri *A.baumannii*

suşlarının kromozomlarında ya da plazmidlerinde tespit edilmiştir ki bunlar *bla*_{OXA-58}, *bla*_{OXA-23}, ve *bla*_{OXA-24-40} ile gösterilir. *bla*_{OXA-23} ve *bla*_{OXA-58} benzer genlerin sonundaki 5' ve/veya 3' de yer alan, değişik eklenen dizi elementleri (ISAbal, ISAbal2, ISAbal3 ya da IS18 gibi) onların ekspresyonunu düzenlemektedir. *A.baumannii* türlerine özgü olan *bla*_{OXA-51-like} genine ISAbal1 elementi yakın olarak yerleşirse karbapenem direnci göstermektedir (7).

Karbapenem hidrolize eden oxa enzimleri (*bla*_{OXA} genleriyle ifade edilir) 8 alt grupta sınıflandırılabilir. Bu sekiz kümenin dördü *Acinetobacter* spp. içinde tespit edilmiştir. Bu dört grup enzim OXA-23, OXA-24, OXA-58 ve OXA-51' den oluşur. (39,40)

OXA-23 (imipeneme karşı *Acinetobacter* direncinin kısaltması olan ARI-1 olarak isimlendirilir) OXA-27 ve OXA-49'la beraber ilk kümeyi oluşturur. Bu enzimler iki ile beş arasında farklı aminoasit içerirler.

İkinci küme OXA-24, 25, 26, 40 ve 72 beta-laktamazları içermekte olup 1-5 arasında farklı aminoasit içerirler.

Üçüncü aile OXA-51 olup OXA-64, 65, 66, 68, 69, 70, 71, 75, 76, 77, 78 içerirler. *bla*_{OXA-51-like} karbapenemaz geni kromozomal olarak kodlanır ve *A.baumannii*'ye özeldir. Ancak bütün izolatlarda bulunmayabilir. *bla*_{OXA-51-like} bu türe özgü olduğu için bu genin tespiti biyokimyasal tespite göre daha basit ve daha güvenilirdir (41).

Dördüncü küme tek bir enzimden oluşmakta olup OXA-58 olarak adlandırılır (40).

Bunların dışında karbapenemlere karşı azalan duyarlılığın penisilin bağlayıcı protein ve porinlerin modifikasyonu veya AdeABC efluks sisteminin artmasıyla bağlantılı olduğu görülmüş ve değişik mekanizmaların karşılıklı etkileşimlerinin *A.baumannii* de yüksek seviyede karbapenem direncine sebep olabileceği düşünülmektedir (7).

2.7.2 Aminoglikozid-Modifiye Edici Enzimler

Asetiltransferazlar, nükleotit transferazlar ve fosfat transferazlar genellikle kombinasyonlar şeklinde *A.baumannii*'de bulunurlar. Bunlar plazmidler, transpozonlar yada sınıf-1 integronlarla bağlantılıdır (42). Bu genlerin ekspresyonu farklı aminoglikozidlere karşı değişken duyarlılıklara yol açmaktadır. Diğer bir enzim kümesi olan 16SrRNA metiltransferazlarının (ArmA ve RmtA, B, C ve D) bütün formülize edilen aminoglikozidlere karşı yüksek direnç gösterdiği görülmüştür. Yine de rmt kümesinin elemanları *A.baumannii*'de bulunmasa da armA geni göreceli olarak yaygın olup genellikle *bla_{OXA-23}* ile kombinasyon halinde bulunur (43,44).

2.7.3 Permeabilite Bozuklukları

Dış zardan madde iletimini sağlayan porin gibi davranan OMP'lerin kaybolması veya azalmasından dolayı zar geçirgenliğinde meydana gelecek değişiklikler enzim direncini artırabilir. *A.baumannii* diğer gram-negatif

bakterilere göre intirinsik antimikrobiyal direnç oluşumundan kısmen sorumlu olan daha az porine sahiptir (45). Porin kaybı genellikle beta-laktam dirençte görülür (46). ÇİD suşlarda OmpA'nın β -laktam direncindeki rolü henüz tespit edilememiştir (47).

2.7.4 Çoklu İlaç Efluks Sistemi

Aktif efluks mekanizmalarıyla ilaçların dışarı atılması çoklu ilaç direncine katkıda bulunur. AdeABC ve AdeIJK efflux sistemleri *A. baumannii*'de görölmektedir. AdeABC'nin fazla ekspresyonu, aminoglikozit, β -laktam antibiyotikler, kloramfenikol, eritromisin, tetrasikline karşı direnç oluşumunda etkilidir (48). AdeIJK ise AdeABC ile sinerjik etki göstererek tigesiklin direncine neden olur (49)

2.7.5 Diğer Direnç Mekanizmaları

Penisilin bağlayıcı proteinlerin azalması (PBP), DNA giraz ve topoizomeraz IV' deki mutasyonlar, tetrasiklin ribozomal koruyucu protein ve dihidrofolat redüktaz bulunması gibi faktörler diğer direnç mekanizmalarındandır (50). ÇİD *A.baumannii* de birden fazla direnç mekanizmasıyla oluşan dirençlerde uygun tedaviyi güçleştirmektedir.

2.8 Hastane Enfeksiyon Etkenlerinin Neden Olduğu Salgın Analizinde Kullanılan Tiplendirme Yöntemleri

Başlıca kullanım amaçları; hastane enfeksiyonları etkenlerinin bulaşma yollarını, mekanizmalarını açığa çıkarma, re-aktivasyonun reinfeksiyondan ayırt edilmesi, hastane ve toplumsal kaynaklı enfeksiyonların belirlenmesi, enfeksiyonların hızlı tanısı, kökenlerin identifikasyonu ve klonal benzerliklerin saptanması, antibiyotik direncinin saptanması, izlemi ve hastane enfeksiyonları epidemiyolojisi gibi pek çok sebeple kullanılmaktadır (12).

Bu amaçla kullanılan birçok fenotipik ve genotipik tiplendirme yöntemi bulunmaktadır (Tablo 2.4).

Dirençli ve çoğunlukla nozokomiyal patojen olan bakterilerin tiplendirilmesinde en iyi yöntemler, kromozomal DNA polimorfizmine dayalı olanlardır. Ribotipleme, PFGE (pulsed-field gel electrophoresis), PZR-RFLP (polimeraz zincir reaksiyon-restriction fragment length polymorphism), rep-PZR (repetitive extagenetic palindromic element-PZR), RAPD (random amplified polymorphic DNA), ARDRA (amplified ribozomal DNA restriction analysis), AFLP (amplified fragment length polymorphism) ve MLST (multilocus sequence typing) yaygın kullanılan moleküler tiplendirme yöntemleri arasındadır. Bugün itibariyle tekrarlanabilirlik, ayırt edicilik, kolaylık, ekonomik ve karşılaştırılabilir sonuçlar bakımından gibi özelliklerin hepsini taşıyan bir yöntem yoktur (51).

Tablo 2.4. Hastane enfeksiyon etkenlerini tiplendirme metotları (52)

<p>A. Fenotipik Metotlar</p> <ul style="list-style-type: none">a) Biyotiplemeb) Serotiplemec) Antibiyotik duyarlılık paternid) Bakteriyofaj tiplemesie) Bakteriyosin tiplemesif) Protein analizi(Multilokus enzim elektroforezi, hücresel veya membran proteinlerin poliakrilamid jel elektroforezi, immün blotlama..)
<p>B. Genotipik Metotlar</p> <ul style="list-style-type: none">a) Plazmid analizib) Kromozomal DNA'nın restriksiyon enzim analizi: RFLP, PFGEc) Ribotiplemed) Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) temelli metotlar: Rep-PZR, AP-PZRe) 'Microarray - DNA chip' teknolojisi

2.8.1 Biyotipleme

Bakteri suşlarının tiplendirilmesinde biyokimyasal profiller kullanılır. Bir biyotipleme sistemi beş testten oluşur. Bu beş test esasen *A.baumannii* izolatını 19 biyotipe ayırmada kullanılırken bir çok hastane enfeksiyon salgınında da genomik tür 3 ve 13TU'yu da tiplirmede kullanılır (53). Ülkemizde de biyokimyasal testlerine dayanan API 20E (bioMerieux, Fransa) ticari sistemi kullanılmaktadır. API 20 NE beş türü (*A.baumannii*, *A.lwoffii*, *A.junii*, *A. calcoaceticus*, *A.johnsonii*) tanımlayabilmekteyken, Biolog GN2 Sistem (Biolog, Hayward ABD) 15 türü tanımlayabilmektedir (54).

2.8.2 Antibiyotipleme

Birçok çalışma oluşan direnç paternlerini tespit etmek ve benzer izolatları gruplamak için minimal inhibitör konsantrasyonu (MIC), breakpoint, veya zon difüzyon değerlerini baz alarak antibiyotik duyarlılık paternlerini kullanmaktadır. Sonuçlar genellikle duyarlı, dirençli ya da orta duyarlı olarak ifade edilir. Daha bilgilendirici bir yaklaşım küme analizi için disk difüzyon testlerindeki inhibisyon zonlarının gerçek çaplarını kullanır, bu şekildeki gruplandırmalar diğer tipler ve epidemiyolojik detayla iyi korele olduğunu göstermiştir. Ancak bu antibiyotipleme test sonuçları birbiriyle ilişkisiz suşların aynı antibiyogramı göstermesi ve enfeksiyonun değişik aşamalarında duyarlılık değişimlerinin olmasından dolayı dikkatli yorumlanmalıdır (12, 55).

2.8.3 Serotipleme

Acinetobacter suşlarının serolojik reaksiyonlarla tiplenmesi için birçok çalışma yapılsa da başarı sınırlıdır. Serotiplemenin DNA-DNA hibridizasyonu ile desteklenmesi gerekmektedir (12).

2.8.4 Faj Tipleme

Fransa ve diğer Avrupa ülkelerinde *Acinetobacter* izolatlarının farklı epidemiyolojik çalışmalarında, 2 tane bakteriyofaj seti (125 faj tipini tanımlamak

için 25 faj, 25 faj tipini tanımlamak için 14 faj) kullanılmıştır (56). Bazı salgınlarda predominant faj tipleri (17 ve 124 numaralı faj) belirlenmiştir. Ancak bu sistem sadece Paris de Pasteur enstitüsünün faj tipleme merkezinde kullanılmakta olup diğer coğrafi yerlerden alınan suşların önemli bir kısmının tiplendirilemediği görülmüştür. Sonuçların yenilenebilirliğine ilişkin bazı şüpheler ve zaman alıcı bir metot olsa da diğer tipleme metotlarıyla birlikte kullanıldığında yararı olabilir (12, 56).

2.8.5 Bakteriosin Tiplemesi

Bakteriosin tiplemesi DNA-DNA hibridizasyon tekniği ile birlikte çalışıldığında klinik olarak *Acinetobacter* suşlarının tiplendirilmesinde yararlı olabilir (12).

2.8.6 Protein Profilleri

Acinetobacter spp.'nin taksonomik ve epidemiyolojik çalışmalarda hem hücre duvarı proteini hem de tüm hücre proteini kullanılmıştır. Hücre duvarı proteinlerinin sodyum dodezil sulfat poliakrilamid jel elektroforezi ile analizi ilişkisiz suşlarda heterojenlik gösterirken hastalardan ya da salgınlardan gelen çoklu izolatlar ayırt edilememiştir. Bu metot endemik epizotlar ve hastane salgınlardaki özgül suşları takip etmede başarılıdır (56). Tüm hücre proteinlerinin elektroforetik analizi örnek hazırlamanın daha basit olmasından

dolayı hücre duvarı proteinlerine göre daha avantajlıdır. Birçok çalışmada salgınlardan elde edilen *Acinetobacter* suşları arasında benzerlik ve ilişkisiz kontrol suşları arasında farklılık rapor edilmiştir. Diğer fenotipik bazlı metotlarda olduğu gibi ortak kaynaktan gelen izolatlar arasındaki farklılıklar ihtiyatlı olarak yorumlanmalıdır (12).

2.8.7 Elektroforetik Multiloküs Enzim Tipleme (MLEE)

Multiloküs enzim elektroforetiği çok sayıdaki hücre sel enzimin göreceli elektroforetik hareketliliğini araştırmada kullanılmaktadır. Bir çalışmada her enzimin 2-17 arasındaki varyantıyla tanımlanan 81 *Acinetobacter* izolatının 27 esteraz ve iki dehidrogenaz enzimi araştırılmıştır (57). 65 *Acinetobacter* izolatındaki 13 enzimle ilgili bir çalışmada; 14 farklı tip tanımlanmış, bir numaralı tip ortak tüm hücre protein profillerini içeren 41 multiresistant izolatında bulunmuştur (58). Bu sonuçlar suşların tanımlanmasında Multiloküs Enzim elektroforetiğinin yararlı bir yöntem olarak geliştirilme potansiyeli olduğunu göstermektedir (12).

2.8.8 Multiloküs Sekans Tipleme (MLST)

Prensip olarak MLEE sistemine benzemekle beraber başta Gram pozitif koklar olmak üzere birçok bakterinin tiplendirilmesinde giderek daha fazla kullanıma giren moleküler yöntemlerden biridir. MLST sonuçlarının elektronik

ortama aktarılabilmesi, kolayca saklanabilmesi ve tiplendirilen herhangi bir suşun sonucunu daha önceden var olanlarla kıyaslama olanağının bulunması bu yöntemin MLEE'ye üstünlükleridir. MLST birçok patojenik bakterinin virülen ve/veya dirençli klonlarının tanımlanmasında kullanılan ana yöntem haline gelmiştir (51).

2.8.9 Plazmid Profili

Birçok çalışma *Acinetobacter* suşlarının tanımlanmasında hızlı ve basit bir yöntem olduğu için plazmid tipleme kullanılmaktadır. *Acinetobacter* suşlarında bulunan plazmidler hem sayı hem de büyüklük olarak çeşitlilik göstermektedir. Örneğin bir çalışmada *A. calcoaceticus-A.baumannii* kompleksine ait 13 suşta 1-4 arasında farklı büyüklüklerde plazmid bulunurken analiz edilen diğer 10 suşta plazmid bulunmamıştır (12). Ayrıca plazmid profillerinin analizi *Acinetobacter* enfeksiyonu içeren birçok salgının tanımlanmasında yararlı olmuştur. Benzer plazmid profilli suşlar plazmid parmak izinin üretilmesi için plazmid DNA'sının endonükleazlarca parçalaması ya da suşların işaretli problarla hibridizasyonu sonrasında farklılaşabilmektedir. Sonuçta diğer tipleme metotlarıyla beraber kullanıldığında ve suşun orjini bilindiğinde plazmid tipleme epidemiyolojik çalışmalarda çok yararlıdır.

2.8.10 Ribotipleme

Saflaştırılmış kromozomal DNA *EcoRI*, *ClaI*, *SalI* restriksiyon enzimleri ile kesilip elektroforeze tabi tutulup blotlandıktan sonra *E. coli* rRNA'dan elde edilen işaretli cDNA ile hibritlenmektedir. DNA üzerinde, ribozomal RNA'yı kodlayan yüksek derecede korunmuş genlerdeki polimorfizm araştırılmaktadır. (52). Bu yöntemde mükemmel tekrarlanabilirlik gözlenmiş 70 alakasız suş arasında 3 enzimin ortak kullanımıyla 52 farklı tip üretilmiştir. Salgınlardaki ribotipleme paternleri istikrarlı olup diğer tipleme metotlarıyla elde edilen sonuçlarla koreledir. Ancak *A.calcoaceticus-A.baumannii* kompleksindeki ribotiplerin çeşitliliği önemli olsada alakasız suşlarda ortak paternlerde gözlemlenmiştir. Yine bu yöntem zor olmakla beraber diğer tipleme metotlarıyla beraber kullanıldığında önemli epidemiyolojik bilgiler vermektedir.

2.8.11 Değişken Alanlı (Pulsed Field) Jel Elektroforezi

Pulsed field jel elektroforezi (PFGE) ile çok büyük DNA molekülleri, örneğin maya ve bakterinin bütün genomik DNA molekülleri ayrılabilir (59). Agaroz içine gömülü haldeki bakteriden, yapısal bütünlüğü bozulmadan elde edilen kromozomun, restriksiyon enzim (RE) ile kesim sonucu oluşan profilinin belirlenmesi esasına dayanır. 10-800 kb arasında uzunluğa sahip parçalar etkin bir şekilde göç ettirilmekte ve sonuçta yaklaşık 5-20 farklı yapıda restriksiyon enzim profili ortaya çıkmaktadır (8). Makro-restriksiyon endonükleaz enzimleriyle

oluşturulmuş kromozomal DNA parçalarının, PFGE ile ayrıştırılmasından elde edilen DNA parmak izi, birçok bakterinin klonal işkisini analiz etmede yaygın olarak kullanılan referans yöntemdir (51).

2.8.12 Arbitrarily Primed PZR (AP-PZR)

AP-PZR, epidemiyolojik olarak bağlantılı suşlar arasındaki benzerliği ortaya koymak için kullanılan PZR bazlı tiplendirme yöntemlerinden birisidir. Hedef DNA'nın baz diziliminin bilinmesine gerek kalmadan seçilen, bir veya daha fazla primer kullanılarak, dşok bağlanma derecesinde PZR amplifikasyonu gerçekleştirilir. Amplifikasyon ürününün agaroz jel elektroforezini takiben, oluşan bant profilleri karşılaştırılarak suşlar arasındaki benzerlikler değerlendirilir (8).

2.8.13 Microarray - DNA Chip Teknolojisi

Hibridizasyon esasına dayanıp, tek zincirli nükleik asit sekansları komplementerlerine bağlanır. Dizisi bilinen DNA probu cam yzylere veya kuyucuklara sabitlenir. Tür ve cins tanımlanması, duyarlılık testleri, genom ve mutasyon analizleri, yeniden dizilenme mikrobiyolojideki mikroçip uygulamalarıdır (59).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızla ilgili etik kurul kararı Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu'nun 29/09/2010-176 tarih ve numarası ile alınmıştır.

Besiyerleri, Kimyasal Bileşikler

Eozin Metilen Blue (Fluka, İspanya)

Müller Hinton Agar (Fluka, İspanya)

Üreaz Besiyeri (OXOİD)

Nitrat Besiyeri

Hareket Besiyeri

Oksidaz Testi

Üç şekerli demirli besiyesri (TSI) (Hi Media, Hindistan)

Tris base (Amiesco, ABD)

Borik asit (Scharlau, İspanya)

Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) (Carlo Erba)

MgCl₂ (Bioron, Almanya)

dNTP (Bioron, Almanya)

Primerler (Metabion, Almanya)

Buffer (Bioron,Almanya)

Taq Polimeraz (Bioron,Almanya)

Agaroz (Sigma, ABD)

Etidyum Bromid (Sigma, ABD)

Yükleme Tamponu

BBL Crystal Enteric/Nonfermenter ID Kit (Becton Dickinson, USA)

Microbank system (Pro-Lab, Kanada)

Cihazlar

Hassas Terazı (Schimadzu, Japonya)

Otoklav (Sanyo, Japonya)

Etüv (Nüve, Türkiye)

Pastör Fırını (Electro-mag, Türkiye)

Vorteks (MS2 Minishaker, IKA)

Mikropipetler (Eppendorf Research, Almanya)

Isı döngü aleti (GeneAmp PZR System 9700, Applied Biosystems, ABD)

Soğutmalı mikrosantrifüj (Hettich, Almanya)

Yatay elektroforez

Jel Görüntüleme sistemi (Syngene, Ingenius, ABD)

-80 derin dondurucu (Nuair, Japonya)

3.1 Bakteri İzolatları

Ağustos 2007 - Haziran 2010 tarihleri arasında GÜTF Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarında Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesi (DYBÜ) veya Nöroloji Yoğun Bakım Ünitesinde (NYBÜ) yatan hastaların endotrekeal aspirat (ETA) veya balgam örneğinden izole edilen ve *Acinetobacter* spp. olarak tiplendirilen suşlar çalışmaya kabul edildi.

Alınan izolatların hastane enfeksiyonu etkeni olmasına ve her birinin farklı hastalara ait olmasına dikkat edildi.

3.2 Bakterinin Konvansiyonel Yöntemlerle Tiplendirilmesi

Daha önceden ETA veya balgam kültürlerinde üreyip BBL Crystal Enteric/Nonfermenter ID Kit (Becton Dickinson, USA) ile tiplendirilerek *Acinetobacter* spp. adını almış ve -80°Cde saklanan suşların *Acinetobacter* spp. olduklarını doğrulamak için fenotipik testler yapıldı.

Stoklanmış bakteriler çalışma anında iki kez EMB agara pasajlandı ve 36°C'ye ayarlı etüvde 20-24 saat inkübe edildi. EMB besiyerinde üreyen bakterileri bakterileri tiplendirmek için üç şekerli demirli besiyeri, oksidaz testi, hareket testi, üre agar besiyeri, nitrat indirgeme testleri testleri yapıldı.

Fenotipik testler sonucunda *Acinetobacter* spp. olmadığı tespit edilen suşlar çalışma dışı bırakıldı.

3.2.1 Fenotipik Yöntemler

3.2.1.1 Eozin-metilen blue agar (EMB)

Toz EMB'den 37 gr alınarak hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Otoklavda 121°C'de 15 dk tutularak sterilizasyon sağlandı. 50°C'ye soğutulup steril petrilere dökülerek kullanıma hazır hale getirildi. Stoklar açılarak EMB agara tek koloni ekim yapıldı.

3.2.1.2 Üç Şekerli Demirli Besiyeri

Toz halindeki Triple Sugar Iron Agar (HI MEDIA) 65 gr tartıldı ve 1000 ml distile su içerisinde çözüldü. pH 7,4'e ayarlandı. 121°C'de 15 dakika steril edildikten sonra steril cam tüplere dağıtıldı, yatık olarak katılaştırıldı. Ekimi yapılan besiyerleri 35°C de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda fermantatif veya nonfermantatif olması incelendi.

3.2.1.3 Oksidaz Testi

Tetrametil parafenilen diamin hidrokloridin saf sudaki % 0,5-1'lik eriyiği hazırlanır. Besiyerindeki kolonilerden steril kürdan yardımıyla ayıraçla ıslatılmış süzgeç kağıdının üzerine bir miktar sürülür. 5-10 saniye içinde kolonilerin mor renge dönüşmesi pozitif, oluşmaması ise negatif sonuç olarak değerlendirildi.

3.2.1.4 Hareket besiyeri

Tablo 3.1'de belirtilen maddelerle hazırlanan besiyeri pH 7.0'ye ayarlandı ve cam tüplere dağıtımı yapıp 121°C'de 15 dakika steril edildi. Ekimi yapılan besiyerleri 35°C inkübe edilip besiyerinde hareketli bakterilerin inokülasyon çizgisinden yanlara doğru dağılarak bulanıklık oluşturmaları pozitif, oluşmaması negatif sonuç olarak değerlendirildi.

Tablo 3.1. Hareket besiyeri için kullanılan besiyeri bileşimi

Malzeme	Miktar
Sığır Eti Özütü	3 g
Pepton	10 g
NaCl	5 g
Agar	4 g
Distile Su	1000 ml

3.2.1.5 Nitrat İndirgeme Testi

A- Nitrat buyyon

Sığır eti özütü	3 g
Pepton	5 g
Potasyum nitrat (KNO ₃)	1 g
Distile su	1000 ml

Maddeler distile su içerisinde çözülüp ve pH 7'ye ayarlandıktan sonra cam tüplere dağıtılıp 121⁰C'de 15 dakika steril edildi.

B- Ayıraç A

α -naftil amin	5 g
Asetik asit (%30, 5N)	1000 ml

C- Ayıraç B

Sulfanilik asit	8 g
Asetik asit (%30, 5N)	1000 ml

Ekimleri yapılan besiyerleri 35⁰C'de 18-24 saat inkübasyonun sonunda önce 1ml A sonra 1ml B ayıracından besiyerine konuldu. 30 saniye sonra kırmızı renk oluşumu pozitif sonuç verir. Hiç renk oluşmaması nitratın indirgenmediğini (negatif sonuç) veya diğer nitritlere indirgenmediğini gösterir. Bu durumda az bir miktar çinko eklenir. Çinko iyonları nitratları nitrite indirger ve çinko eklenmesinden sonra kırmızı renk oluşur. Çinkodan sonra kırmızı renk oluşumu negatif sonucu gösterir.

3.2.1.6 Üre Besiyeri

2,4 gr Üre agar 95 ml distile su içerisinde çözüldü ve pH 6,8'e ayarlandı. 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edildi. Otoklavdan çıkarılan besiyeri 50-55⁰C'ye soğutulduktan sonra 5 ml distile su içerisinde çözülen 2 gr üre, filtreden

süzülerek besiyerine ilave edildi. 35°C’de 18-24 saat inkübasyonun sonunda kırmızı renk oluşması pozitif sonuç, hiç renk değişmemesi negatif sonuç olarak değerlendirildi.

3.2.2 Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Çalışmaya alınan suşların antibiyotik duyarlılıkları Kirby Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapıldı. Toz halindeki Müller-Hinton Agar besiyerinden (MHA) 38 gr alınarak hacim distile su ile 1000 ml’ye tamamlandı. Otoklavda 121°C’de 15 dk tutularak sterilizasyon sağlandı, 50°C'ye soğutulduktan sonra kalınlığı dört mm olacak şekilde steril petrilere döküldü.

Her bir suşun % 0,09'luk NaCl içerisinde 0,5 Mc Farland standardına eşdeğer koloni süspansiyonu hazırlandı. Steril eküvyonla agar yüzeyine ekim yapıldı. Antibiyotik diskleri (Oxoid, İngiltere) birbirlerine, uzaklıkları merkezden merkeze en az 24 mm olacak şekilde yerleştirildi. 35°C’de 24 saat inkübe edildikten sonra inhibisyon zon çapları ölçüldü. Ölçülen zon çapları CLSI’nın (Clinical and Laboratory Standards Institute) önerdiği sınırlara göre duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak değerlendirildi. Kalite kontrol suşu olarak *P.aeruginosa* ATCC 27853 suşu kullanıldı (60).

Kullanılan antibiyotik diskleri: İmipenem (10 µg), meropenem (10 µg), sefaperazon/sulbaktam (25 µg), amikasin (30 µg), ampisilin-sulbactam (10/10µg), siprofloksasin (5 µg), sefepim (30 µg), netilmisin (30 µg), piperasilin-tazobaktam (100/10 µg), gentamisin (10 µg), tobramisin (10 µg), seftazidim (30 µg), trimetoprim/sulfametaksazol (25 µg), kolistin(10 µg).

3.3 Moleküler Yöntemler

Acinetobacter spp.'de dünya genelinde karbapenem direncine en çok neden olan karbapenemazlar sınıf-D oksasilinaz gen kümeleridir. Bunlar *bla*_{OXA-58}, *bla*_{OXA-23}, ve *bla*_{OXA-24} ile gösterilir. *A.baumannii* türlerine özgü olan *bla*_{OXA-51} geni zayıf karbapenemaz aktivitesine sahiptir. Bu genlerin varlığını araştırmak amacıyla bu gen bölgelerine spesifik primerler kullanılarak PZR yapıldı ve görüntülendi. Daha sonra bu suşlar arasında klonal bir ilişkinin olup olmadığını göstermek için Arbitrarily Primed PZR (AP-PZR) yapılarak görüntülendi.

3.3.1. *bla*_{OXA} allellerini PZR metodu ile amplifikasyonu

PZR yöntemi, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24} ve *bla*_{OXA-51} genlerine spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirildi (Tablo 3.2).

Tablo 3.2 *bla*_{OXA-51-like}, *bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-58-like}, *bla*_{OXA-24-like} PZR Amplifikasyonunda Kullanılan Oligonükleotitlerin Nükleotit Dizisi

Primer	Nükleotid sekansı	Hedef	Amplikon boyu	Kaynak
OXA-58-likeF OXA-58-likeR	CGATCAGAATGTTCAAGCGC ACGATTCTCCCCTCTGCGC	<i>bla</i> _{OXA-58-like}	528	(61)
OXA-24-likeF OXA-24-likeR	TTAAATGATTCCAAGATTTTCTAGC ATGAAAAAATTATACCTTCCTATATTCAGC	<i>bla</i> _{OXA-24-like}	825	(62)
OXA-23-likeF OXA-23-likeR	GATGTGTCATAGTATTCGTCG TCACAACAATAAAAAGCAC	<i>bla</i> _{OXA-23-like}	1058	(62)
OXA-51-likeF OXA-51-likeR	TAATGCTTTGATCGGCCTTG TGGATTGCACTTCATCTTGC	<i>bla</i> _{OXA-51-like}	353	(63)

PZR karışımı içinde, 1X Tampon (MgCl₂'süz); 2,5 mM MgCl₂; 0,2 mM dNTP; 0,5 µM Primer çiftlerinden ve 0,25 U/µl Taq polimeraz içerir. Toplam karışım 25 µl olacak şekilde ependorflara dağıtım yapıldı. PZR için gerekli olan kalıp DNA steril kürdan kullanılarak kolonilerden alındı ve tüplerin dibindeki karışıma süspansiyon edildi. Tamamlanan ana karışım Şekil 3.1'deki sıcaklık döngüsüne tabi tutuldu.

Denatürasyon	94°C'de	2 dakika	1 döngü
Denatürasyon	94°C'de	15 saniye	35 döngü
Bağlanma	58°C'de	1 dakika	
Uzama	72°C'de	1 dakika	
	72°C'de	5 dakika	1 döngü

Şekil 3.1. *bla*_{OXA} Allellerinin PZR Metodundaki Sıcaklık Döngüleri

Isı döngü cihazında çoğaltılmış olan PZR ürünlerini görmek için, % 2'lik agaroz jel kuyucuklarına 2 µl yükleme tamponuyla ampikon ürünleri karıştırılarak yüklendi. İlk kuyucuğa standart molekül ağırlığı yüklendi. Elektroforezde yürütüldükten sonra etidyum bromür boyası ile boyanıp UV ışığı altında görüntülendi.

3.3.2. Arbitrarily Primed PZR (AP-PZR)

3.3.2.1. DNA Eldesi

Kültürden alınan bakterilere aşağıdaki adımların takip edildiği kaynatma yöntemi uygulanarak DNA'nın ekstraksiyonu yapıldı.

1. 1000 µl Tris-Edta pH 8.0 (TE) içine öze dolusu koloniler toplandı.
2. 5 dakika 6500 rpm'de santrifüj yapıldı. Üstteki sıvı döküldü.
3. Bu yıkama işlemi 3-4 kez tekrar edildi.
4. En son kalan pelletin üzerine 200 µl TE koyuldu ve vortekslendi.
5. 20 dk 95°C'de bekletilerek bakterilerin parçalanıp DNA'nın açığa çıkması sağlandı.
6. Santrifüj edilip üst sıvı alınarak yeni ependorfa aktarıldı.
7. DNA konsantrasyonu 50 ng/µl olacak şekilde ayarlandı.

3.2.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Hedef Bölgenin Çoğaltılması

Tablo 3.3'deki primerler kullanılarak AP-PZR yapıldı.

Tablo 3.3 AP-PZR için Kullanılan Primerler

Primer	Nükleotid sekansı	Kaynak
M13	5'-GTAAAACGACGGCCAGTGAA-3'	(64)
M13	5'-GGAAACAGCTATGACCATGA-3'	(64)

* **F, forward primer; R, reverse primer**

PZR karışımı içinde, 1X Tampon (MgCl₂'süz); 1,5 mM MgCl₂; 2 mM dNTP; 0,75 µM M13 primerleri ile 0,13U/µl Taq polimeraz içerir. Toplam karışım 20 µl olacak şekilde ependorflara dağıtım yapıldı ve her bir örneğe 5 µl DNA eklendi. karışım daha sonra Şekil 3.2'deki sıcaklık döngüsüne tabi tutuldu.

Denatürasyon	94°C'de	4 dakika	1 döngü
Denatürasyon	94°C'de	30 saniye	8 döngü
Bağlanma	37°C'de	1 dakika	
Uzama	72°C'de	2 dakika	
Denatürasyon	94°C'de	30 saniye	35 döngü
Bağlanma	60°C'de	1 dakika	
Uzama	72°C'de	2 dakika	
	72°C'de	5 dakika	1 döngü

Şekil 3.2 AP-PZR'ın Sıcaklık Döngüleri

Isı döngü cihazında çoğaltılmış olan PZR ürünlerini görmek için % 2'lik agaroz jel i.erisindeki kuyucuklara 3 µl yükleme tamponuyla karıştırılarak yüklendi. İlk kuyucuğa standart molekül ağırlığı yüklendi. Elektroforezde yürütüldükten sonra etidyum bromür boyası ile boyanıp ve UV ışığı altında görüntülendi.

Moleküler analiz sonuçlarının değerlendirilmesi için jel fotoğraflarından elde edilen AP-PZR verileri bantların olduğu (1) ve olmadığı (0) ikili (binary) matriks dosyasına dönüştürüldü. Bantlardan sadece tekrarlanabilir olanlar kullanıldı. Suşlar arasındaki klonal ilişkinin yorumlanmasında 'Dice similarity coefficient' (benzerlik katsayısı) esas alındı. (65). 100 suşun birbirleriyle olan benzerlik katsayısının hesabında Excel 2007 programı kullanıldı. Benzerlik katsayısı % 70'in altı olan izolatlar ayrı genotip, benzerlik katsayısı %70-95 arası olanlar alt tip, % 95-100 olanlar aynı genotip olarak değerlendirildi (66).

4. BULGULAR

Daha önceden *Acinetobacter* spp. olarak isimlendirilip saklanan suşlar, fenotipik yöntemlerle tekrar değerlendirildikten sonra, *Acinetobacter* spp. olduğu netleşen ve çalışmaya dahil edilen 100 klinik izolatin ünitelere, yıllara ve izole edildikleri örneklere göre dağılımı Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Tablo 4.1 Klinik İzolatın Ünitelere, Yıllara Ve İzole Edildikleri Örneklere Göre Dağılımı

ÜNİTE	TARİH	ÖRNEK	
		ETA	BALGAM
DYBÜ	2007	12	2
DYBÜ	2008	20	3
DYBÜ	2009	31	1
DYBÜ	2010	17	-
NYBÜ	2007	4	-
NYBÜ	2008	10	-

4.1 Suşların Antibiyotik Duyarlılık Profilleri

Çalışmaya dahil edilen 100 izolatin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları Tablo 4.2’de verilmiştir. Bu tablo incelendiğinde, Kolistin haricinde test edilen tüm antimikrobiyal ajanlara karşı yüksek düzeyde direnç olduğu tespit edilmiştir. Kolistin haricinde hastanemiz için en duyarlı antimikrobiyal ajanların tobramisin (% 52) ve netilmisin (% 51) olduğu gözlemlenmiştir. Bunları diğer aminoglikozit grubu ajanlar olan gentamisin (% 14) ve amikasinin (% 13) takip etmiştir. Tüm antibiyotiklerin duyarlılık oranları Tablo 4.3’de gösterilmektedir.

Tablo 4.2 Tüm izolatların antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

Suş No	İzolasyon Tarihi	Ünite	IMP	MEM	CT	CES	AK	NET	SAM	CIP	FEP	CAZ	TZP	CN	TOB	SXT
1	21.08.2007	DYBÜ	R	R	S	R	S	S	R	R	I	I	R	R	R	R
2	22.08.2007	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R
3	06.09.2007	DYBÜ	R	R	S	I	R	S	I	R	I	S	R	R	R	R
4	18.09.2007	DYBÜ	R	R	S	R	S	I	R	R	I	R	R	R	R	R
5	01.10.2007	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R
6	12.10.2007	DYBÜ	S	S	S	I	S	S	R	R	I	R	R	R	R	R
7	01.11.2007	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	I	S	R
8	02.11.2007	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	I	S	R
9	15.11.2007	DYBÜ	R	R	S	I	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R
10	22.11.2007	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	I	S	R
11	26.11.2007	DYBÜ	I	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	I	S	I
12	29.11.2007	DYBÜ	I	R	S	I	R	S	I	R	R	R	R	I	S	R
13	03.12.2007	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	S	I	R	R	R	R
14	15.12.2007	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	I	S	R
15	08.01.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	I	R	R	I	R	R	R	R
16	11.01.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	I	I	R	R	R	R
17	15.01.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R
18	15.01.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
19	26.02.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	I	I	R	R	R	R
20	07.03.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
21	08.03.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
22	25.03.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	I	R	R	R	R	R
23	01.04.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
24	05.04.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
25	10.04.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
26	13.04.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R
27	22.04.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
28	24.04.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R
29	03.05.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
30	01.05.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
31	03.05.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	I	R	R	R	R	R
32	29.05.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	I	R	R	R	I	I	R	R
33	07.06.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	I	R	I	R	R	R
34	28.06.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R
35	29.06.2008	DYBÜ	R	R	S	I	S	S	R	R	R	R	I	R	S	R
36	30.06.2008	DYBÜ	R	R	S	I	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R
37	30.08.2007	NYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
38	05.12.2007	NYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R
39	05.12.2007	NYBÜ	I	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R
40	06.12.2007	NYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
41	30.01.2008	NYBÜ	S	R	S	R	R	I	R	R	R	R	R	R	S	R
42	14.02.2008	NYBÜ	I	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R
43	09.03.2008	NYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	I	R	R	R	R
44	18.03.2008	NYBÜ	R	R	S	I	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R
45	24.03.2008	NYBÜ	S	S	S	S	S	R	I	R	S	S	R	R	R	R
46	28.03.2008	NYBÜ	I	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R
47	25.04.2008	NYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
48	11.06.2008	NYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	I	S	R
49	11.06.2008	NYBÜ	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
50	30.06.2008	NYBÜ	R	R	S	I	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R

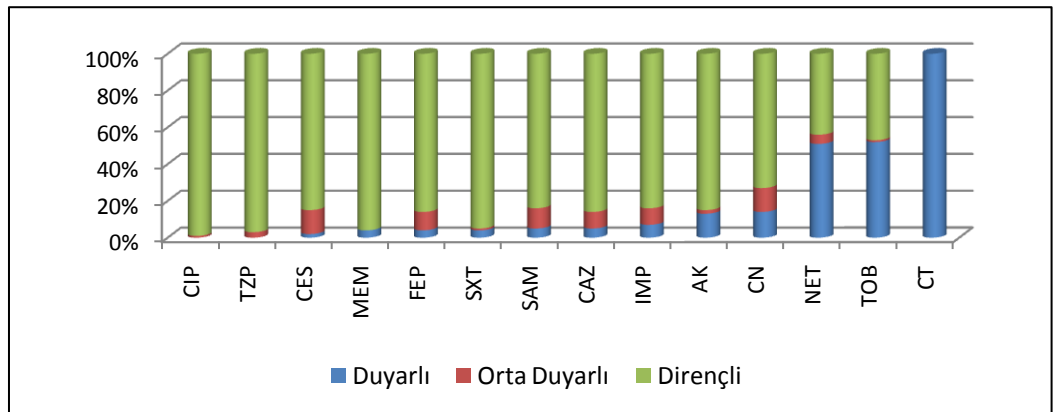
Tablo 4.2 Devamı

Suş No	İzolasyon Tarihi	Ünite	IMP	MEM	CT	CES	AK	NET	SAM	CIP	FEP	CAZ	TZP	CN	TOB	SXT
51	20.12.2008	DYBÜ	R	R	S	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R
52	03.01.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S
53	06.01.2009	DYBÜ	I	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R
54	26.01.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	I	R	R	R	R	R	R
55	20.03.2009	DYBÜ	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R
56	23.03.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
57	07.04.2009	DYBÜ	R	R	S	I	R	S	I	R	R	R	R	S	S	R
58	13.04.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
59	13.04.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
60	19.04.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	I	R	R	R	R	R	S	R
61	29.04.2009	DYBÜ	I	R	S	R	R	R	I	R	R	I	R	R	S	R
62	15.05.2009	DYBÜ	S	S	S	S	R	I	S	R	R	R	R	R	S	R
63	22.05.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R
64	12.06.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
65	19.06.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
66	29.06.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	I	R	R	R	R	R	R	S	R
67	21.07.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
68	01.08.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
69	09.08.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
70	10.08.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R
71	28.08.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
72	01.09.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	I	R	R	R	R	R	S	R
73	11.09.2009	DYBÜ	R	R	S	I	R	R	I	R	R	R	R	I	R	R
74	19.09.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R
75	11.10.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
76	12.10.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R
77	18.10.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R
78	26.10.2009	DYBÜ	S	S	S	I	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
79	25.10.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R
80	11.12.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
81	11.12.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R
82	13.12.2009	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R
83	24.12.2009	DYBÜ	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S	R
84	12.01.2010	DYBÜ	R	R	S	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
85	22.01.2010	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R
86	09.02.2010	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
87	16.02.2010	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
88	19.02.2010	DYBÜ	I	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
89	18.02.2010	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
90	24.02.2010	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R
91	26.02.2010	DYBÜ	R	R	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R
92	09.03.2010	DYBÜ	R	R	S	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
93	27.03.2010	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	I	R	S	S	S
94	21.02.2010	DYBÜ	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
95	21.02.2010	DYBÜ	R	R	S	I	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S
96	08.04.2010	DYBÜ	S	R	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R
97	09.04.2010	DYBÜ	R	R	S	I	S	S	S	R	R	I	R	S	S	S
98	11.04.2010	DYBÜ	I	R	S	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R
99	26.05.2010	DYBÜ	R	R	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R
100	01.06.2010	DYBÜ	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R

Tablo 4.3 Çalışılan *Acinetobacter* spp. İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

Antibiyotikler	Yüzde (%)			Toplam
	S	I	R	
IMP	7	9	84	100
MEM	4	0	96	100
CT	100	0	0	100
CES	2	13	85	100
AK	13	2	85	100
NET	51	5	44	100
SAM	5	11	84	100
CIP	0	1	99	100
FEP	4	10	86	100
CAZ	5	9	86	100
TZP	0	3	97	100
CN	14	13	73	100
TOB	52	1	47	100
SXT	4	1	95	100

Grafik 4.1’de de yer aldığı üzere *Acinetobacter* enfeksiyonları tedavisinde gözde ilaçlar olan karbapenem grubu antimikrobiyallere yüksek oranda direnç geliştiği görülmüştür. İmipenem direncinin % 84, merpenem direncinin ise % 96 olduğu tespit edilmiştir.

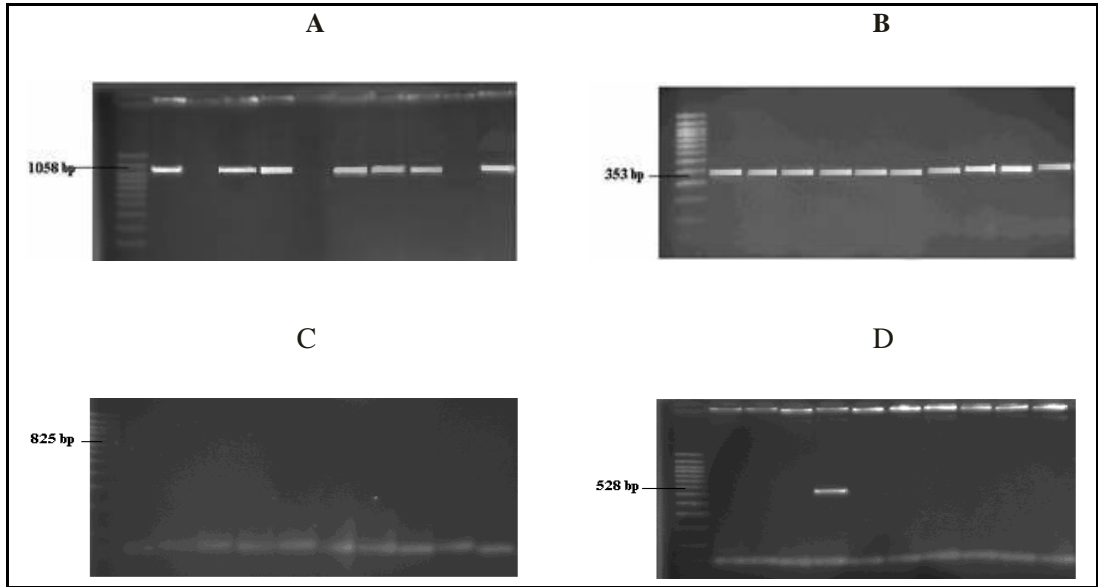


Grafik 4.1 *Acinetobacter* spp. İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Dağılımları

4.2. PZR sonuçları

4.2.1. *bla*_{OXA} Allellerinin PZR Metodu ile Amplifikasyonunun Sonuçları

*bla*_{OXA-51-like} 99 izolatta tespit edildi. *bla*_{OXA-51-like} geni *A.baumannii* türüne özgü olduğu göz önüne alınırsa çalışmaya alınan izolatların % 99'unun *A.baumannii* olduğunu tespit edildi. İzolatların % 75'inde *bla*_{OXA-23-like}, % 23'ünde *bla*_{OXA-58-like} genleri bulundu. İzolatların hiçbirinde *bla*_{OXA-24-like} tespit edilmedi. 8 izolatta hem *bla*_{OXA-23-like} hem de *bla*_{OXA-58-like} genleri beraber bulundu. Buna göre suşların %90'ında *bla*_{OXA-23-like} ya da *bla*_{OXA-58-like} genlerinin en az bir tanesi bulunmaktadır. Tablo 4.4'de imipenem ve meropenem disk difüzyon sonuçlarıyla beraber *bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-51-like}, *bla*_{OXA-24-like} ve *bla*_{OXA-58-like} sonuçları verilmiştir. *bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-51-like}, *bla*_{OXA-24-like} ve *bla*_{OXA-58-like} agaroz jel elektroforez görüntüleri Resim 4.1'de verilmiştir.



Resim 4.1 İzolatların *bla*_{OXA} allellerinin agaroz jel elektroforezinde pozitif ve negatif sonuçlarının görünümü

A: 1058 bç'de *bla*_{OXA-23-like} allel patterni

B: 353 bç'de *bla*_{OXA-51-like} allel patterni

C: 825 bç'de *bla*_{OXA-24-like} allel patterni tespit edilememiştir.

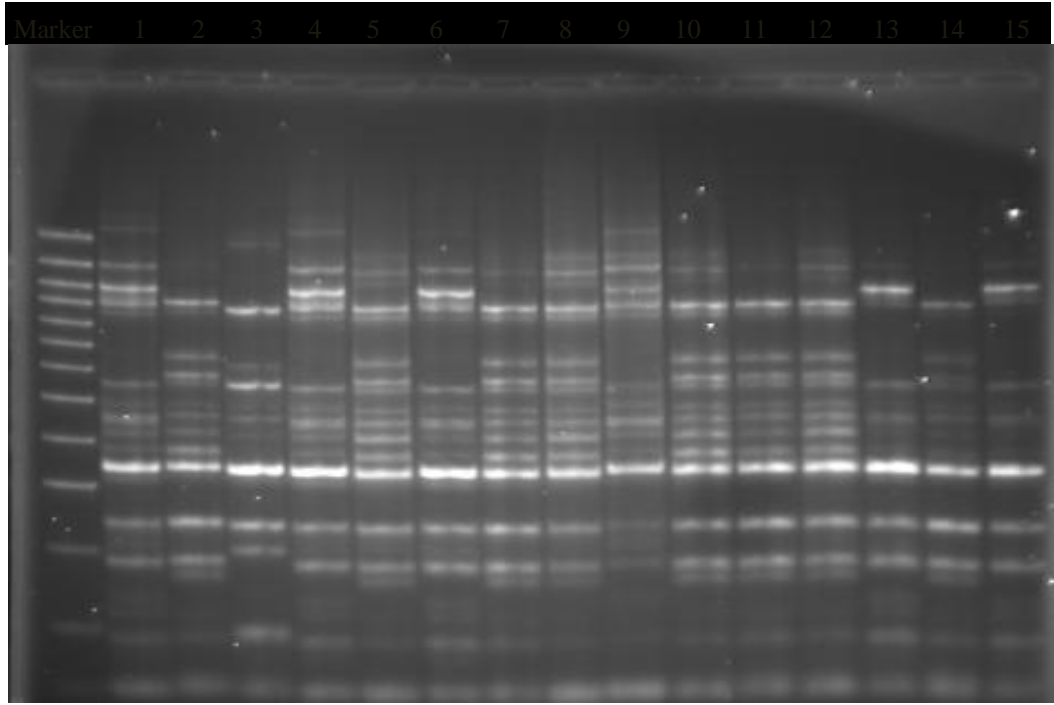
D: 528 bç'de *bla*_{OXA-58-like} allel patterni

Tablo 4.4 İmipenem ve Meropenem Disk Difüzyon Sonuçları / *bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-51-like}, *bla*_{OXA-24-like} ve *bla*_{OXA-58-like} Sonuçları

Suş No	İzolasyon Tarihi	IMP	MEM	<i>bla</i> _{OXA-23-like}	<i>bla</i> _{OXA-58-like}	<i>bla</i> _{OXA-24-like}	<i>bla</i> _{OXA-51-like}	Suş No	İzolasyon Tarihi	IMP	MEM	<i>bla</i> _{OXA-23-like}	<i>bla</i> _{OXA-58-like}	<i>bla</i> _{OXA-24-like}	<i>bla</i> _{OXA-51-like}
1	21.08.2007	R	R	-	+	-	+	51	20.12.2008	R	R	+	-	-	+
2	22.08.2007	R	R	+	-	-	+	52	03.01.2009	R	R	-	-	-	+
3	06.09.2007	R	R	+	-	-	+	53	06.01.2009	I	R	+	-	-	+
4	18.09.2007	R	R	-	+	-	+	54	26.01.2009	R	R	+	-	-	+
5	01.10.2007	R	R	+	-	-	+	55	20.03.2009	R	R	+	-	-	+
6	12.10.2007	S	S	-	-	-	+	56	23.03.2009	R	R	+	-	-	+
7	01.11.2007	R	R	+	-	-	+	57	07.04.2009	R	R	+	-	-	+
8	02.11.2007	R	R	+	-	-	+	58	13.04.2009	R	R	+	-	-	+
9	15.11.2007	R	R	-	+	-	+	59	13.04.2009	R	R	+	-	-	+
10	22.11.2007	R	R	+	-	-	+	60	19.04.2009	R	R	+	-	-	+
11	26.11.2007	I	R	+	-	-	+	61	29.04.2009	I	R	+	-	-	+
12	29.11.2007	I	R	+	-	-	+	62	15.05.2009	S	S	+	-	-	+
13	03.12.2007	R	R	-	+	-	+	63	22.05.2009	R	R	+	-	-	+
14	15.12.2007	R	R	+	-	-	+	64	12.06.2009	R	R	+	-	-	+
15	08.01.2008	R	R	+	-	-	+	65	19.06.2009	R	R	+	-	-	+
16	11.01.2008	R	R	+	+	-	+	66	29.06.2009	R	R	+	-	-	+
17	15.01.2008	R	R	+	-	-	+	67	21.07.2009	R	R	+	-	-	+
18	15.01.2008	R	R	+	-	-	+	68	01.08.2009	R	R	+	-	-	+
19	26.02.2008	R	R	+	-	-	+	69	09.08.2009	R	R	+	-	-	+
20	07.03.2008	R	R	+	-	-	+	70	10.08.2009	R	R	+	-	-	+
21	08.03.2008	R	R	+	+	-	+	71	28.08.2009	R	R	+	-	-	+
22	25.03.2008	R	R	-	+	-	+	72	01.09.2009	R	R	+	-	-	+
23	01.04.2008	R	R	+	-	-	+	73	11.09.2009	R	R	+	-	-	+
24	05.04.2008	R	R	+	-	-	+	74	19.09.2009	R	R	-	-	-	+
25	10.04.2008	R	R	+	-	-	+	75	11.10.2009	R	R	+	-	-	+
26	13.04.2008	R	R	+	-	-	+	76	12.10.2009	R	R	+	-	-	+
27	22.04.2008	R	R	+	-	-	+	77	18.10.2009	R	R	-	-	-	+
28	24.04.2008	R	R	+	-	-	+	78	26.10.2009	S	S	-	-	-	+
29	03.05.2008	R	R	+	-	-	+	79	25.10.2009	R	R	-	+	-	+
30	01.05.2008	R	R	+	-	-	+	80	11.12.2009	R	R	+	-	-	+
31	03.05.2008	R	R	-	+	-	-	81	11.12.2009	R	R	-	-	-	+
32	29.05.2008	R	R	+	-	-	+	82	13.12.2009	R	R	-	+	-	+
33	07.06.2008	R	R	-	+	-	+	83	24.12.2009	R	R	+	+	-	+
34	28.06.2008	R	R	-	+	-	+	84	12.01.2010	R	R	-	-	-	+
35	29.06.2008	R	R	+	-	-	+	85	22.01.2010	R	R	+	-	-	+
36	30.06.2008	R	R	+	-	-	+	86	09.02.2010	R	R	+	+	-	+
37	30.08.2007	R	R	+	-	-	+	87	16.02.2010	R	R	-	+	-	+
38	05.12.2007	R	R	+	-	-	+	88	19.02.2010	I	R	-	+	-	+
39	05.12.2007	I	R	+	-	-	+	89	18.02.2010	R	R	-	+	-	+
40	06.12.2007	R	R	+	+	-	+	90	24.02.2010	R	R	+	+	-	+
41	30.01.2008	S	R	+	-	-	+	91	26.02.2010	R	R	+	+	-	+
42	14.02.2008	I	R	+	-	-	+	92	09.03.2010	R	R	-	-	-	+
43	09.03.2008	R	R	+	-	-	+	93	27.03.2010	R	R	+	-	-	+
44	18.03.2008	R	R	+	-	-	+	94	21.02.2010	R	R	+	-	-	+
45	24.03.2008	S	S	-	-	-	+	95	21.02.2010	R	R	+	-	-	+
46	28.03.2008	I	R	+	-	-	+	96	08.04.2010	S	R	+	+	-	+
47	25.04.2008	R	R	+	-	-	+	97	09.04.2010	R	R	-	+	-	+
48	11.06.2008	R	R	+	-	-	+	98	11.04.2010	I	R	-	+	-	+
49	11.06.2008	S	R	+	-	-	+	99	26.05.2010	R	R	-	-	-	+
50	30.06.2008	R	R	+	-	-	+	100	01.06.2010	R	R	+	-	-	+

4.2.2 AP-PZR Sonuçları

Çalışmaya alınan 100 *Acinetobacter* suşu AP-PZR ile analiz edildi. Resim 4.2’de ilk on beş suşun jel görüntüsü verilmiştir.



Resim 4.2. 1-15 nolu *Acinetobacter* suşlarının AP-PCR Jel Görüntüsü

AP-PZR sonuçlarına göre 2 (A ve B) farklı ana klon saptandı. Bu kolonlar klonal yönden birbiriyle ilişkisiz bulundu.

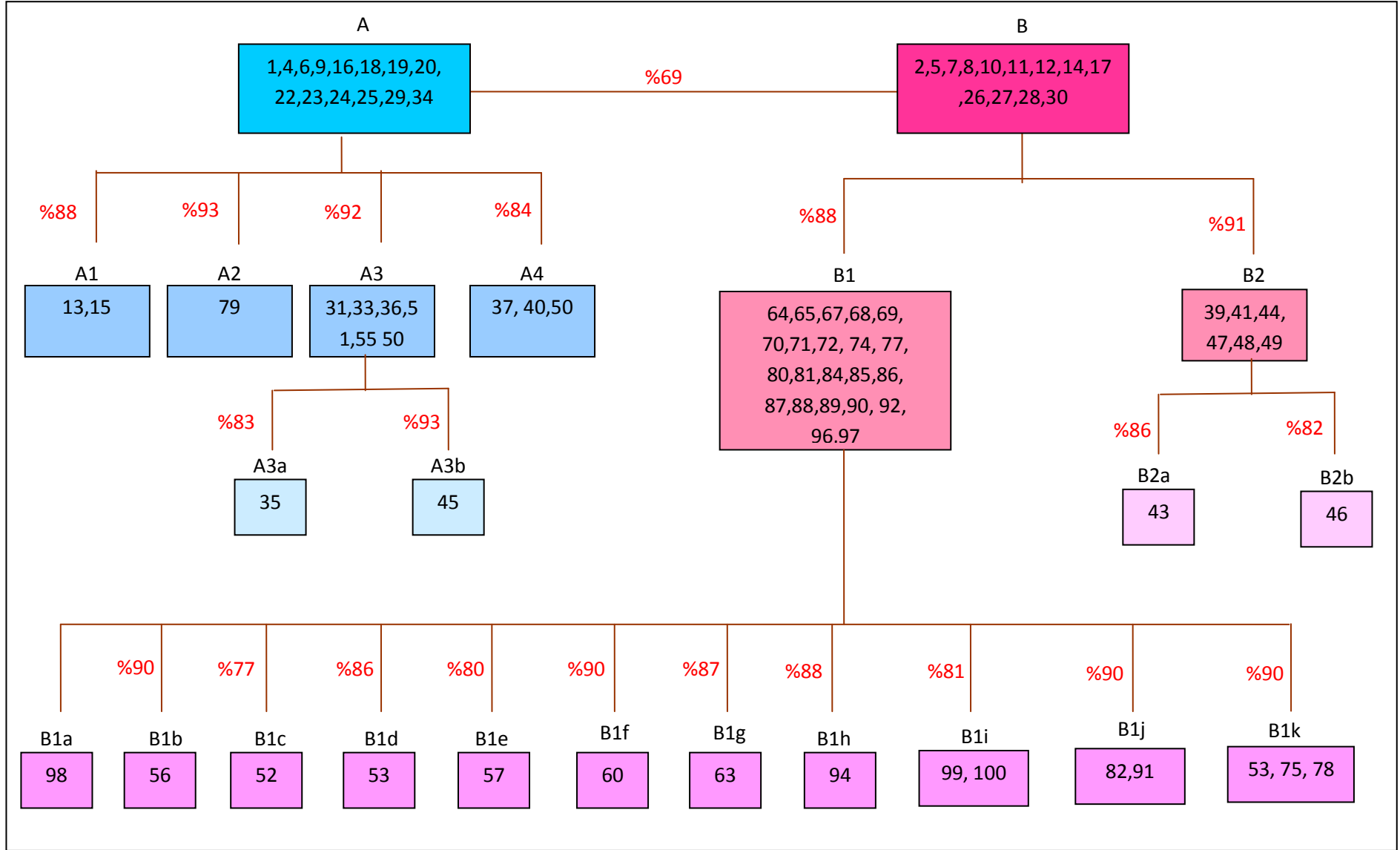
A klonunda dört alttip, B klonunda ise iki alttip olduğu tespit edildi. Suşların 14 (% 14)’sının A, 13 (% 13)’ünün B klonuna ait olduğu görüldü. Şekil 4.3’de A ve B klonları ve bunlarla klonal yönden ilişkili suşların birbirleriyle olan ilişkisi gösterilmiştir.

A klonuna ait ilk suş Ağustos 2007 tarihinde çalışmaya başlanılan ilk örnekte tespit edildi. Bu klon Haziran 2008'e kadar gözlenmiş olup 34 hastanın 14'ünde tespit edildi. A klonunun A1, A2, A3 ve A4 olmak üzere dört alttipi bulunmaktadır. A4 kümesi NYBÜ'de yatmakta olan üç hastanın örneğinden izole edilmiştir. A klonunun altiplerinden olan A3 kümesi 5 suştan oluşmakta olup A3'den klonal yönden yakın ilişkili olan iki suş ayrılmaktadır. A klonu ve altiplerini ay ve yıllara göre dağılımı tablo 12'de verilmiştir. A klonu ve altiplerinin Ağustos 2007 - Haziran 2008 döneminde yoğunlaşması dikkat çekmektedir.

B klonuna ait ilk suş da Ağustos 2007 tarihinde çalışmaya başlanılan ikinci örnekte tespit edildi. Bu ana klon Mayıs 2008'e kadar gözlenmiş olup 30 hastanın 13'ünde görüldü. B klonunu iki alttipi bulunmaktadır. B1 alttipi 19 suşu içermekte olup Mayıs 2009'dan Nisan 2010 tarihine kadar gözlenmiştir. Bu alttipe klonal yönden yakın ilişkili 15 suş tespit edilmiştir. B1 alttipi ve bu kümeyle yakın ilişkili olan suşlar özellikle 2009-2010 yıllarında yoğunlaşmaktadır. B2 alttipi ise altı suştan oluşmakta olup hepsi NYBÜ'den alınan örneklerden tespit edilmiştir. B2 ile klonal yönden yakın ilişkili olan iki suş bulunmuş olup bu suşlar da NYBÜ alınan örneklerden izole edilmiştir.

Bu klonlardan bağımsız olan 15 suş tespit edilmiştir. Bu suşlardan 91 ile 93 numaralı suşlar diğer suşlarla ilişkisiz olup aynı genotipe sahiptir. 21 ile 32 suşlar kendi aralarında yakın ilişkili suşlar olarak tespit edildi. 61 ile 76 suşlarda kendi arasında % 86 benzerlik katsayısına sahip olup yakın ilişkili suşlardır. 83, 62 ve 54 numaralı suşlar 35 numaralı suşlar da klonal yönden yakın ilişkili

suşlardır. 3, 58, 38, 42 ve 66 numaralı suşların herhangi bir suşla ilişkisi tespit edilmemiştir.



Şekil 4.3. A ve B Klonları ile Bu Klonlarla Klonal Yönden İlişkili Suşlar

Tablo 4.5. A ve B Klonları ile Bu Klonlarla Klonal Yönden İlişkili Suşların Aylara Göre Dağılımı

AP-PCR Paternleri	2007			2008						2009						2010			2007 / 2010
	Eylül Kasım		Aralık	Ocak Şubat	Mart Nisan	Mayıs Haziran	Temmuz Ağustos	Eylül Ekim	Kasım Aralık	Ocak Şubat	Mart Nisan	Mayıs Haziran	Temmuz Ağustos	Eylül Ekim	Kasım Aralık	Ocak Şubat	Mart Nisan	Mayıs Haziran	
	Ağustos	Ekim																	
A	1	2	1	3	6	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14
A1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
A3	-	-	-	-	-	3	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	5
A3a	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
A3b	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
A4	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
B	1	1	6	1	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13
B1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	5	3	2	7	3	-	22
B1a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
B1b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
B1c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
B1d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
B1e	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
B1f	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
B1g	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
B1h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
B1i	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
B1k	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	2
B1m	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	2	-	-	-	-	3
B2	-	-	1	1	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
B2a	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
B2b	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1

5. TARTIŞMA

Acinetobacter türleri aerop, hareketsiz, katalaz pozitif, oksidaz negatif, nonfermentatif, gram-negatif kokobasildir. Son 30 yıldır geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılması ve invaziv işlemlerin daha sık uygulanması ile bu fırsatçı patojen hastane ortamında, özellikle YBÜ ve cerrahi kliniklerinde HE etkeni olarak sık izole edilen bakteriler haline gelmiştir (14, 67, 68). Özellikle *Acinetobacter baumannii* diğer ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de en önemli HE etkenleri arasında yer almaktadır (2).

Hastane enfeksiyonuna Amerika'da yaklaşık 2 milyon hasta yakalanmakta ve her yıl 88.000 hastanın ölümüne yol açan bu enfeksiyonlar 4,5 milyar dolarlık ekonomik kayba neden olmaktadır (69,70,71). Hasta başına ortalama maliyet artışı 1800 dolar (1000-4500 dolar) civarındadır (72). Khan ve arkadaşları tarafından 1995 yılında hastane enfeksiyonlarının Türkiye'ye maliyetinin 48 milyon dolar olduğunu rapor etmişlerdir (73). Maliyette ki artışın en önemli nedenlerinden biri HE'lerinin hastanede kalış süresini 4 ile 33,5 gün kadar uzatması olup hastanede kalış süresinin uzaması hematolojik, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve radyolojik testler ile cerrahi girişimlerin artmasına neden olmaktadır (72). Kayıpları yükselten diğer önemli bir neden antibiyotik kullanımında ki artıştır ve tedaviye yüklediği günlük ek maliyet 48,5-111,7 dolardır (71). Neden oldukları mortalite artışı ise % 4-33 kadardır ve en yüksek mortalite oranı hastane kaynaklı pnömoni sırasında görülmektedir (71).

Acinetobacter baumannii enfeksiyonlarının tedavisinde en önemli problem ise ÇİD kökenlerin izole edilme oranlarında artma ve tedavide kullanılacak antibiyotik seçeneklerinde azalmadır (12, 68). Araştırmamız boyunca incelediğimiz *Acinetobacter* kökenlerinin tamamının antibiyotiklere çoğul dirençli olduğu belirlenmiştir. ÇİD olan *P. aeruginosa*, *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* suşları ile oluşan enfeksiyonlar sağlık kuruluşlarının yaygın bir sorunu haline gelmiştir. Bu suşların sürekli olarak antibiyotiklere direnç geliştirmeleri sadece bir tek antimikrobiyal ajana duyarlı olan ve giderek mevcut tüm ilaçlara dirençli olan “panresistance” (PDR) izolatların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Antimikrobiyallere karşı olan direnç sorunu mortalite ve morbiditeyi artırmakta ve buna ilaveten ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. PDR klinik izolatların sıklığı, bu izolatlarla ilişkili enfeksiyonların tedavi seçenekleri, mortalite ve morbidite oranlarına ilişkin veriler klinik ve halk sağlığı açısından büyük öneme sahiptir (74) Bu yüzden, hem ülkemizde hem de diğer ülkelerde *Acinetobacter* spp.’nin antimikrobiyallere karşı direnç dağılımının tespiti önemlidir.

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda *A. baumannii* için antibiyotik direnç oranları oldukça geniş aralıklarda bildirilmiştir. Ülkemizde izole edilen *Acinetobacter* türlerinin % 80-95 kadarı geniş spektrumlu sefalosporinlere dirençli bulunmuştur (75,76). Uzel ve ark. seftriaksona % 92 oranında direncin olduğunu, Erol ve ark. %93.3, Alp ve ark. % 87 oranında sefepim direnci olduğunu bildirmişlerdir (77,78,79). Yılmaz ve ark.’nın 2010 yılında yaptığı bir çalışmada seftazidim ve sefepim direnç oranlarını % 86 olarak saptamışlardır (80). Rahbar ve ark. 2010 yılında İran’da yaptıkları çalışmada seftazidim direncini %

84.1, sefepim direncini % 64.8 bulmuşlardır (81). Çalışmamızda, sefepime % 86, sefoperazon/sulbaktama % 85, seftazidime % 86 oranlarında saptanan direnç ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Yüksek oranda saptanan bu direnç, bu grup antibiyotiklerin hastanemizde sıklıkla kullanılmasına bağlanmıştır.

Florokinolonlar ülkemizde kullanıma girdikten sonra fazla miktarda tüketilmeye başlanmıştır. Yapılan çalışmalarda *A. baumannii* suşlarının bu antibiyotiklere % 32,5-100 oranında dirence sahip olduğu bildirilmektedir (78). Mansur ve ark. 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada ise siprofloksasin direncini % 89 olarak bildirmişlerdir (82). İspanya'da 1991-1996 yılları arasında yapılan bir çalışmada 1532 *Acinetobacter* izolatının siprofloksasin direncinin % 54.4' den % 90.4' e yükseldiği saptanmıştır (83). Rahbar ve ark. yaptıkları çalışmada siprofloksasin direncini % 90.9 olarak bildirmişlerdir (81). Bu çalışmada siprofloksasine direnç % 99 oranında bulunmuştur, bir suşun ise orta duyarlı olduğu saptanmıştır.

A. baumannii enfeksiyonlarının tedavisinde sık kullanılmaları sonucunda aminoglikozidlere direnç gelişimi artmaktadır. Ülkemizde yapılan birçok çalışmada bu grup antibiyotiklere direncin oldukça yüksek olduğu ve bu grup antibiyotiklerden ise genelde en etkilisinin tobramisine olduğu bildirilmiştir (84, 85). Balcı ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptığı bir çalışmada amikasin ve tobramisine için direnç oranları sırasıyla % 66 ve % 71 olarak bildirmişlerdir (86). Dai ve ark. 2010 yılında Çin'de yaptıkları bir çalışmada gentamisine % 53.85, tobramisine % 51.28, amikasinine % 20.51 oranında direnç saptamışlardır (87). Çalışmamızda

tobramisine % 47, netilmisine % 44, amikasinine % 85, gentamisine % 73 direnç saptanmıştır. Test edilen antimikrobiyaller arasında tobramisin ve netilmisinin *A. baumannii* suşlarına en etkili antibiyotikler olduğu görülmüştür.

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda trimetoprim/sulfametoksazol için direnç oranları % 70-84 olarak bildirilmiştir (88, 84). Çalışmamızda % 95 direnç oranı ile trimetoprim/sulfametoksazol'un *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde bir seçenek olmaktan uzak olduğu görülmektedir.

Eski bir ilaç olan kolistin, gram negatif bakterilerin dış membranlarında ki anyonik lipopolisakkarid moleküller ile elektrostatik ilişkiye girmek suretiyle hücre membranını bozarak etki gösterir. Ciddi yan etkisinden dolayı kullanımı kısıtlanmış olan bu ilaç sadece kolistine duyarlı suşların ortaya çıkması ile tekrar gündeme gelmiştir (89). Bu çalışmada yer alan tüm suşlar kolistine duyarlı bulunmuştur.

Acinetobacter spp. enfeksiyonlarının tedavisinde karbapenemler en etkin ilaçların başında gelmektedir. Fakat bu antibiyotiklere karşı olan direnç son yıllarda giderek artmaktadır (5, 90, 91). Arda ve arkadaşları tarafından kandan izole edilen *Acinetobacter*'lere ilişkin yapılan bir çalışmada, Türkiye'de 2002 ve 2003 yıllarında meropenem direnci oranı sırasıyla % 62.5 ve % 49.2, imipenem direnç oranı % 60.9 ve % 51.2 bulunmuştur (92). Akan ve arkadaşları nozokomiyal *Acinetobacter* izolatlarının imipenem ve netilmisin direnç oranları sırasıyla % 53.6 ve % 31.2 bulunmuştur (93). Mansur ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınladıkları çalışmada imipenem ve meropenem direnç oranları sırasıyla % 62 ve % 64 olarak bildirmişlerdir (82). Gülhan ve arkadaşları 2004 ve 2006

yıllarındaki direnç değişimlerini izlemek için yaptıkları çalışmada karbapenemde % 7'den % 25 istatistiksel olarak anlamlı direnç artışı saptamışlardır (94).

Çin'de 1996–2002 yılları arasında 19 eğitim hastanesinin yoğun bakım ünitelerinde yapılan ulusal sörveyans çalışmasında ki veriler *Acinetobacter* izolatlarının % 5'inin imipenem dirençli olduğunu göstermiştir (95). Pekin'de 1600 yataklı üçüncü basamak bir eğitim hastanesinde yapılan çalışmada 1993-2003 yılları arasında imipenem direnci % 5 iken 2004 yılında hızla artarak yoğun bakımlarda % 50'nin üzerine, yoğun bakım dışındaki servislerde % 20'ye yükselmiştir. Bu izolatlar aynı zamanda ampisilin-sulbaktam, seftazidim, sefepim, piperasilin-tazobaktam, siprofloksasin ve amikasin gibi yaygın kullanılan diğer antibiyotiklere dirençli bulunmuştur (96). Sinha ve arkadaşları, 150 klinik örnekle yaptıkları çalışmada karbapenem direncini % 14, Hindistan'da, Taneja ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları çalışmada % 20, Corbella ve arkadaşları yoğun bakım hastalarında % 36, Manikal ve arkadaşları New York Hastanesinde % 50, Rahbar ve arkadaşları % 1.1 bulmuşlardır (97, 98, 99, 100, 81). Stoeva ve arkadaşlarının Bulgaristan'da 2009'da yapmış oldukları bir çalışmada karbapenem direncinde dramatik artışlar saptanmıştır (101). Bu çalışmaya göre karbapenem direnç oranları 2003 yılında % 8, 2005 yılında % 58 ve 2006 yılında % 74 bulunmuştur.

Acinetobacter türlerinde karbapenem ve diğer antibiyotik direnç oranları ülkelere ve coğrafi bölgelere göre farklılaşmaktadır. 11 Avrupa ülkesinden (Belçika, Bulgaristan, Rusya, Türkiye, Çek Cumhuriyeti, İsveç, Almanya, İtalya, İngiltere, Polonya ve İsviçre) 37 merkez 1997-2000 yılları arasında MYSTIC

(Yıllık Meropenem Duyarlılık Test Bilgisinin Toplanması) programına katılmıştır. *A. baumannii*'nin antibiyotik duyarlılık raporlarına göre Türkiye bu çalışmaya göre en yüksek direnç seviyesine sahip olup onu İtalya ve İngiltere takip etmektedir. Bu çalışmada Türkiye'de % 35 oranında ortalama direnç oranı tespit edilmiştir (102). 2000-2003 yılları arasındaki MYSTIC çalışmasında ülkemizde ki meropenem ve imipenem direnç oranları sırasıyla % 42 ve % 48 bulunmuştur (103). Maalesef, Türkiye'de ve diğer ülkelerde bu direnç oranları son yıllarda giderek artmaktadır. Bu çalışmada imipenem direnç oranı % 84, meropenem de ise bu oran % 96'dır.

Bu çalışmada *Acinetobacter* izolatlarında kolistin haricindeki antibiyotiklere yüksek düzeyde direnç tespit edildi. Çalışmada kolistin haricindeki 13 antibiyotiğin direnç oranları % 44 (Netilmisin) ile % 99 (Siprofloksasin) arasında değişmektedir. Netilmisin direnç oranlarında 2007-2010 tarihleri arasında % 11'den % 47'ye dikkat çekici bir artış saptanmıştır. Diğer antibiyotiklere karşı direnç oranları ise yıllar itibariyle ufak farklılıklar göstermekle beraber bu periyotta devamlı yüksek seviyede seyretmiştir.

OXA-karbapenemazlar karbapenem direnciyle bağlantılı esas enzimler olup bu enzimler tüm dünyada arttığı rapor edilmektedir. Şimdiye kadar, *A. baumannii* başta olmak üzere tüm non-enterebakteriyal türlerde bu enzimler tespit edilmiştir (40). OXA-karbapenemazlarla dünya çapında salgınlar olduğu rapor edilmiş, daha nadir olarak da sporadik vakalar bildirilmiştir.

OXA tipi karbapenemazların ilk grubu olan OXA-23 1995 yılında rapor edilmiştir (104). İngiltere hastanelerinde 2003-2004 yıllarında hızla yayılan

*bla*_{OXA-23} genine sahip iki karbapenem dirençli klon saptanmıştır (105). Romanya, Brezilya, Güney Kore ve Fransız Polinezyasında OXA-23 karbapenemaz üreten *Acinetobacter* suşlarına bağlı nozokomiyal salgınlar rapor edilmiştir (106,107,62,108). Meriç ve arkadaşları Ekim 2005-Ekim 2006 zaman diliminde YBÜ’de ÇİD olan ve OXA-23 enzimi üreten *Acinetobacter baumannii* suşlarıyla meydana gelen bir salgın bildirmişlerdir (109).

OXA tipi karbapenemazların ikinci grubu olan OXA-24 özellikle İspanya ve Portekiz’ de yaygın olarak bulunduğu gösterilmiştir (110,111).

Diğer grup bir grup olan OXA-58 ise ilk olarak Fransa’da (112) tespit edilmiş ve yanık ünitesinde bir salgına neden olmuştur (61). Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda klinik örneklerdeki *A. baumannii* suşlarında *bla*_{OXA-58} geni gösterilmiştir. Bu çalışmalar farklı coğrafi bölgelerde İspanya, Türkiye, Romanya (106) Bulgaristan (113), Avusturya, İngiltere, Arjantin ve Kuveyt’den (114) bildirilmiştir. Bulgaristan’da da bir yoğun bakım ünitesinde karbapenem dirençli ve OXA-58 üreten klonlara bağlı nozokomiyal bir salgın rapor edilmiştir (113). Türkiye’de ise Külah ve arkadaşları OXA-58 tipi oksasilinaz üreten karbapenem dirençli suşların yaptığı bir salgını bildirmişlerdir (115).

Bu çalışmada, *Acinetobacter baumannii*’ye özgü olan *bla*_{OXA-51-like} geni suşların % 99’unda pozitif bulunmuştur. Karbapenem dirençli suşlarda *bla*_{OXA-23-like} oranı % 75, *bla*_{OXA-58} oranı ise % 23 olarak tespit edilmiştir. Suşların %90’ında *bla*_{OXA-23-like} ya da *bla*_{OXA-58} genlerinin en az bir tanesi bulunmaktadır. Bir suş hariç *bla*_{OXA-23-like} ,*bla*_{OXA-58} genleri taşıyan suşların hepsinde karbapenemlerin en az birine karşı azalmış duyarlılık veya direnç bulunmuştur. Yedi karbapenem

dirençli suşta *bla*_{OXA-51-like} hariç diğer gen kümeleri tespit edilememiştir. Bu çalışmada OXA tipi karbapenemazların yaygınlığı ile β-laktam antibiyotiklere karşı direncinin yüksek seviyede olması dikkat çekicidir. Bu çalışmada *Acinetobacter* suşlarında OXA-23 enzimi baskın olarak saptanırken Külah ve arkadaşları %79 oranıyla *bla*_{OXA-58} genlerinin baskın olduğunu bulmuşlardır (115).

Bu çalışmada ve diğer ülkelerde ki çalışmalarda OXA-23, OXA-24, OXA-51 and OXA-58 enzimlerinin varlığının ya da bu enzimlerin beraber bulunmasının karbapenem direncine veya ilaç duyarlılığının azalmasına neden olduğu tespit edilmiştir (116,101,108,117,107).

Bunların dışında karbapenemlere karşı azalan duyarlılığın penisilin bağlayıcı protein ve porinlerin modifikasyonu veya AdeABC efluks sisteminin artması gibi sekonder direnç mekanizmalarıyla bağlantılı olabileceği ve değişik mekanizmaların karşılıklı etkileşimlerinin *A.baumannii* de yüksek seviyede karbapenem direncine sebep olabileceği dikkate alınarak daha ileri çalışmalarda bu mekanizmaların olup olmadığının incelenmesi uygundur (7).

Hastanelerde ve toplumda dirençli klonların yayılma derecesini anlamak ve kontrol altına alınmasında moleküler yöntemler yararlı olmakta ve enfeksiyon kontrol stratejilerinin etkinliğini artırabilmektedir.

Dirençli ve çoğunlukla HE etkeni olan bakterilerin tiplendirilmesinde en iyi yöntemler kromozomal DNA polimorfizmine dayalı olanlardır. Hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın mutlaka klasik epidemiyolojik veriler dikkate alınmalıdır. Bakteriler arasındaki konal ilişkiyi araştırmada farklı moleküler tiplendirme yöntemleri denenmekle birlikte bunlar arasında ayırım gücü en yüksek olan PFGE

yöntemi altın standart olarak kabul edilmektedir (51). Ancak PFGE pahalı ve zaman alıcı bir yöntemdir. Her moleküler tanı laboratuvarında kolaylıkla uygulanabilen, klonal ilişkiyi ortaya koymada başarılı, maliyeti düşük ve kısa sürede sonuç vermesi gibi avantajları göz önünde tutularak bu çalışmada AP-PCR kullanılmıştır. Yapılan bazı salgın çalışmalarında PFGE ile AP-PZR sonuçları karşılaştırıldığında yüksek oranda paralellik saptanmıştır (118,119).

Yapılan AP-PZR sonuçlarına göre hastanemizdeki *Acinetobacter* spp. suşlarının yaklaşık % 85 gibi oldukça yüksek bir kısmının klonal yönden ilişkili oldukları saptanmıştır. A klonuna ait küme yaklaşık 11 ay varlığını sürdürürken, NYBÜ'deki üç hasta örneğinden A klonunun alttipinin tespit edilmesi dikkat çekicidir. B klonu varlığını yaklaşık on ay sürdürürken B1 alttipi ve bu klona yakın ilişkili suşlar Mayıs -2010'da tespit edilmeye başlanmış olup çalışmaya alınan son suşta da izole edilmiştir. Yine NYBÜ'de yatan altı hastanın B2 alttipinde, iki hastada da B2'ye klonal yönden yakın ilişkili iki suş bulunmaktadır. Bazı kümelerde suş sayısı 22 kadar yüksek rakamlara ulaşmaktadır. Bunun yanında DYBÜ ile NYBÜ klonal yönden yakın ilişkili suşlar tespit edilmesi çapraz bulaş derecesinin büyüklüğünü ciddi biçimde ortaya koymaktadır.

Bu veriler *A. baumannii* gibi önemli nozokomiyal patojenin hastanede kolayca yayılabildiğini ve uygun korunma ve kontrol önemlerinin alınmaması halinde yıllarca hastane ortamında kalabileceğini vurgulamaktadır. Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre de bir klonun yaklaşık 6 yıl varlığını sürdürdüğü gösterilmiştir (120).

Salgınlar sırasında çok önemli bilgiler sağlanması ve salgın yapan mikroorganizmanın rezervuarının saptanması amacıyla mutlaka çevresel örnekleme yapılmalıdır. Çalışmamızda çevre taraması yapılamadığı için herhangi bir kaynak tanımlanmamıştır. Yayılım ve bulaşın *A.baumannii* ile hasta veya kolonize hastalar arasında çapraz kontaminasyon, servisler arası hasta transferi, hastane personeli, ortak kullanılan ventilatör cihazlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

YBÜ başta olmak üzere tüm servislerde çapraz bulaş engellenmelidir. Personel eğitimine dikkat edilmeli ve hastalar arasında kullanılan ortak malzemeler mümkün olduğunca azaltılmalıdır. İyileşip servislere çıkarılacak hastalar yeni servislerinde sürveyans kültürleri sonuçlanana kadar temas izolasyonuna alınmalı ve servisteki diğer hastalara sorun mikroorganizmaların geçişi engellenmelidir. Uygun antibiyotik kullanılmalı, özellikle YBÜ’de salgınları zamanında fark edebilmek için sürveyans çalışmaları yapılmalıdır.

6. SONUÇLAR

1. Hastanemizde hastane enfeksiyonuna neden olan *Acinetobacter* suşlarının çoklu ilaç direncine sahip olduğu ve yüksek oranda karbapenem direnci gösterdiği saptanmıştır.
2. Karbapenem direnciyle ilişkili olan beta laktamazlar bu çalışmada genomik olarak incelenmiş olup % 75 oranında *bla*_{OXA-23-like} , % 23 oranında ise *bla*_{OXA-58} genleri bulunmuştur. Suşların % 90'ında bu genlerden en az biri saptanmıştır.
3. Hastane enfeksiyonlarına neden olan *Acinetobacter* suşlarının AP-PZR ile klonal incelenmesinde A ve B olmak üzere 2 ana klon saptanmıştır. B klonunun alt tiplerinden B1'in hala potansiyel hastane enfeksiyon etkeni olarak YBÜ bulunduğu düşünülmektedir.
4. AP-PZR ile yapılan klonal ilişki analizi YBÜ arasında çapraz bulaş olduğunu ortaya koymaktadır.
5. AP-PZR klonal ilişkinin değerlendirilmesi ve salgın analizinin yapılabilmesi için uygulanması kolay, maliyeti düşük, güvenilir ve kısa sürede sonuç verebilen bir yöntem olarak saptanmıştır.
6. Moleküler tiplendirme çalışmalarının desteğini alarak hastanemizde daha etkili bir korunma ve kontrol önlemlerinin alınması gerekliliği ortaya konulmuştur.

7. KAYNAKLAR

1. Chastre J. Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU. *Semin Respir Crit Care Med* 2003; 24(1): 069-078
2. Leblebicioglu H, Rosenthal VD, Arikan OA, Ozgultekin A, Yalcin AN, Koksali I, et al: Device-associated hospital-acquired infection rates in Turkish intensive care units. Findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC), *J Hosp Infect* 2007;65(3):251-7.
3. Yücesoy M, Yuluğ N, Kocagöz S, Ünal S, Çetin S, Çalangu S. Antimicrobial resistance of gram-negative isolates from intensive care units in Turkey: Comparison to previous three years. *J Chemother* 2000;12(4): 294-8.
4. Gazi Hastanesi Enfeksiyon Kontrol Komitesi 2009 Yılı Hastane Enfeksiyonları Sürveyansı ve İnvaziv Alet İlişkili Hastane Enfeksiyonları Sürveyansı Sonuçları
5. Afzal-Shah M, Livermore DM. Worldwide emergence of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. *J. Antimicrob. Chemother* 1998; 41(5): 576-7.
6. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24 179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 309–17
7. Zarrilli R, Giannouli M, Tomasone F, Triassi M, Tsakris A. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of

15. Bahar İH, Esen N. Acinetobacter türleri ve diğer gram negatif nonfermentatif basiller. İçinde: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi 2008; 2195-2201
16. Jaward A, Hawkey PM, Heritage J, Snelling AM. Description of Leeds Acinetobacter Medium, a new selective and differential medium for isolation of clinically important Acinetobacter spp. and comparison with Herellea agar and Holton's agar. J Clin Microbiol. 1994; 32 (10): 2353–8.
17. Speller DCE, Humphreys H. Hospital-acquired infection. In: Collier L, Balows A, Sussman M (Eds.). Topley&Wilson's Microbiology and microbial infections. 9th ed. London: Arnold; 1998.p.187–229.
18. Hanlon GW. The emergence of multidrug resistant Acinetobacter species: a major concern in the hospital setting. Lett Appl Microbiol. 2005; 41(5) : 375-378
19. Allen DM, Hartman BJ. Acinetobacter species. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases.6 th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005; 2 : 2632-2636
20. Goel VK, Kapil A. Monoclonal antibodies against the iron regulated outermembrane Proteins of Acinetobacter baumannii are bactericidal. BMC Microbiol. 2001; 1:16-23
21. Vahapoglu H, Coskuncan F, Tansel O, Ozturk R, Sahin N, Koksai I. Clinical importance of extended-spectrum beta-lactamase (PER-1-type) producing

Acinetobacter spp. and Pseudomonas aeruginosa strains. J Med Microbiol 2001; 50: 642-645

22. Peşken Y. Hastane infeksiyonlarının epidemiyolojisi.İçinde: Günaydın M, Esen Ş, Saniç A, Leblebicioğlu H (Editörler). Sterilizasyon, dezenfeksiyon ve hastane infeksiyonları Kitabı Samsun: Deomed Medikal Yayıncılık; 2002. s.203–13
23. Yalçın AN. İnfeksiyon kontrolünde maliyet analizi.İçinde: Doğanay M, Ünal S (Editörler). Hastane infeksiyonları 1. baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2003.s.125–34.
24. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Fernandez-Hinojosa E, Aldabo-Pallas T, Cayuela A, Marquez-Vacaro JA et al. Acinetobacterbaumannii ventilatör-associated pneumonia: epidemical and clinical findings. Intensive Care Med 2005; 31(5):649-55
25. Toraks Derneği: Erişkinlerde Hastane Kökenli Pnömoni Tanı ve Tedavi Rehberi, Ankara (2002).
26. Karaca S, Çırak K, Halilçolar H: Ventilatörle ilişkili pnömoni tanısında derin trakeal aspirat ve bronkoalveoler lavaj örneklerinin kantitatif kültürlerinin sonuçları ve karşılaştırılması, Solunum 2005; 7 (1): 13-17.
27. Ferrara AM. Potentially multidrug-resistant nonfermentative Gram-negative pathogens causing nosocomial pneumonia. Int J Antimicrob Agents 2006; 27(3): 183-195.

28. Garnacho J, Sole-Violan J, Sa-Borges M, Diaz E, Rello J. Clinical impact of pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii* in intubated patients: Amatched cohort study. *Crit Care Med* 2003; 31(10): 2478-82.
29. Taşova Y, Akgün Y, Saltoğlu N, Yılmaz G, Kara O, Dündar İH. Nozokomiyal *Acinetobacter* infeksiyonları. *Flora* 1999; 4: 170-176.
30. Metan G, Alp E, Aygen B, Sumerkan B. *Acinetobacter baumannii* meningitis in post-neurosurgical patients: clinical outcome and impact of carbapenem resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 2007 60:197–199
31. Gaynes R, Edwards JR, NNIS System. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clinical Infectious Diseases* 2005; 41: 848–54.
32. Tong MJ. Septic complications of war wounds. *JAMA* 1972; 219: 1044-1047.
33. Zhanel GG, DeCorby M, Nichol KA, Wierzbowski A, Baudry PJ, Karlowsky JA et al. Antimicrobial susceptibility of 3931 organisms isolated from intensive care units in Canada: Canadian National Intensive Care Unit Study, 2005/2006. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008;62(1):67-79.
34. Zer Y, Akin ÖFE, Namıduru M. *Acinetobacter baumannii* suşlarında tigesiklin etkinliğinin araştırılması, *İnfeksiyon Derg* 2007; 21(4): 193-6.
35. Principe L, D'Arezzo S, Capone A, Petrosillo N, Visca P. In vitro activity of tigecycline in combination with various antimicrobials against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2009; 8:18.

36. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis* 2005; 40:1333–41
37. Smolyakov R, Borer A, Riesenber K, Schlaeffer F, Alkan M, Porath A et al. Nosocomial multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection: risk factors and outcome with ampicillin-sulbactam treatment *J Hosp Infect* 2003; 54(1): 32-8.
38. Morgan DJ, Weisenberg SA, Augenbraun MH, Calfee DP, Currie BP, Furuya EY, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in New York City-10 years into the epidemic. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009; 30:196–7
39. Brown S, Young HK , Amyes SG. Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of *Acinetobacter baumannii* from Argentina. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 15–23.
40. Walther-Rasmussen J, Hoiby N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 373–383.
41. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol* 2006; 2974-2976

42. Seward RJ, Lambert T, Towner KJ. Molecular epidemiology of aminoglycoside resistance in *Acinetobacter* spp. *J Med Microbiol* 1998;47:455–62.
43. Yu YS, Zhou H, Yang Q, Chen YG, Li LJ. Widespread occurrence of aminoglycoside resistance due to ArmA methylase in imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in China. *J Antimicrob Chemother* 2007;60:454–5.
44. Kim JW, Heo ST, Jin JS, Choi CH, Lee YC, Jeong YG, et al. Characterization of *Acinetobacter baumannii* carrying blaOXA-23, blaPER-1 and armA in a Korean hospital. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:716–8.)
45. Sato K, Nakae T. Outer membrane permeability of *Acinetobacter calcoaceticus* and its implication in antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother* 1991;28:35–45.
46. Tomás M, Beceiro A, Pérez A, Velasco D, Moure R, Villanueva R, et al. Cloning and functional analysis of the gene encoding the 33- to 36-kilodalton outer membrane protein associated with carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:5172–5
47. Bratu S, Landman D, Martin DA, Georgescu C, Quale J. Correlation of antimicrobial resistance with β -lactamases, the OmpA-like porin, and efflux pumps in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* endemic to New York City. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:2999–3005.
48. Marchand I, Damier-Piolle L, Courvalin P, Lambert T. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by

the AdeRS two-component system. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:3298–304

49. Damier-Piolle L, Magnet S, Brémont S, Lambert T, Courvalin P. AdeIJK, a resistance–nodulation–cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:557–62.
50. Mak JK, Kim MJ, Pham J, Tapsall J, White PA. Antibiotic resistance determinants in nosocomial strains of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2009;63:47–54
51. Durmaz R. Dirençli bakteri suşları arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesi. *Ankem Derg* 2007;21(Ek 2):178-183
52. Durmaz R.(editör) IV.Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji Kursu Kitapçığı Malatya 3-7 Eylül 2007
53. Bouvet PJ, Jeanjean S, Vieu JF, Dijkshoorn L. Species biotype, and bacteriophage type determinations compared with cell envelope protein profiles for typing *Acinetobacter* strains. *J. Clin. Microbiol* 1990; 28(2): 170–176.
54. Haslon GW. The emergence of multidrug resistant *Acinetobacter* species: a major concern in the hospital setting. *Letters in applied Microbiology*.2005;41:375-378
55. Bergogne-Berezin E, Joly-Guillou ML. Hospital infection with *Acinetobacter* spp: an increasing problem. *J Hosp Infect* 1991; 18:250-255
56. Weernink A, Severin WP, Tjernberg I, Dijkshoorn L. Pillows, an unexpected source of *Acinetobacter*. *J. Hosp. Infect* 1995; 29:189–199.

57. Picard B, Goulet, Bouvet PJM, Decoux G, Denis JB. Characterization of bacterial genomic species by computer-assisted statistical analysis of enzyme electrophoresis data. *Electrophoresis* 1989; 10:680–685.
58. Thurm V, Ritter E. Genetic diversity and clonal relationships of *Acinetobacter baumannii* strains isolated in a neonatal ward: epidemiological investigations by allozyme, whole-cell protein and antibiotic resistance analysis. *Epidemiol Infect* 1993;111:491–498.
59. Tanısal moleküler mikrobiyoloji Teorik ve Uygulamalı Kursu 18-19-20 Aralık 2009 Ankara.Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Teorik Ders Notları
60. Clinical and Laboratory Standards Institute 2008. Performance standart for antimicrobial disk susceptibility Testing; Approved standard M2-A9 and M7-A7, 18 th ed. CLSI, Wayne, PA.
61. He´ritier C, Dubouix A, Poirel L, Marty N, Nordmann P. A nosocomial outbreak of *Acinetobacter baumannii* isolates expressing the carbapenem-hydrolysing oxacillinase OXA-58. *Antimicrobial Chemotherapy* 2005;55: 115–118.
62. Jeon BC, Jeong SH, Bae IK, Kwon SB, Lee K, Young D, Lee JH, Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 β -lactamase in Korea. *J Clin Microbiol* 2005;43(5): 2241–2245.

63. Woodford N, MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward MF, Brown S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents* 2006;27: 351–353.
64. Prashanth K, Badrinath S. Epidemiological investigation of nosocomial *Acinetobacter* infections using arbitrarily primed PCR & pulse field gel electrophoresis *Indian J Med Res* 122, 2005; 408-418
65. Rementeria A, Gallego L, Quindos G, Garaizar J. Comparative evaluation of three commercial software packages for analysis of DNA polymorphism patterns. *Clin Microbiol Infect* 2001;7:331-336
66. Ayan M, Durmaz R, Aktas E, Durmaz B. Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital-acquired *Acinetobacter Baumannii* infection in a teaching hospital. *J Hosp Infect* 2003;54:39-45
67. D'Agata EMC, Thayer V, Schaffner W. An outbreak of *Acinetobacter baumannii*: The importance of cross-transmission. *Infect Control Hosp. Epidemiol* 2000; 21: 588- 591
68. Kwon KT, Oh WS, Song JH, Chang HH, Jung SI, Kim SW et al. Impact of imipenem resistance on mortality in patients with *Acinetobacter* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother.* 2007; 59(3): 525- 30.
69. Emori TG, Gaynes RP. An Overview of Nosocomial Infections, Including the Role of the Microbiology Laboratory. *Clinical Microbiology Reviews* 1993; 428-442
70. Andrei A, Zervos MJ. The Application of Molecular Techniques to the Study of Hospital Infection. *Arch Pathol Lab Med.* 2006;130: 662-66823

71. Yalçın AN. Socioeconomic Burden Nosocomial Infections. *Ind. J. Med. Sci* 2003; 57 (10):450-6
72. Inan D, Saba R, Gunseren F, Ongut G, Turhan O, Yalcin AN et al. Daily antibiotic cost of nosocomial infections in a Turkish university hospital. *BMC Infectious Diseases* 2005; 5:5
73. Khan MM, Celik Y. Cost of Nosocomial İnfection in Turkey: An Estimate Based on the University Hospital Data. *Health Serv Manage Res.* 2001 ;14(1):49-54
74. Falagas ME, Bliziotis IA. Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: the dawn of the post-antibiotic era? *International Journal of Antimicrobial Agents* 2007;29: 630–636.
75. Günseren F, Mamikoğlu L, Öztürk S, Yücesoy M, Biberoglu K, Yuluğ N et al. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram- negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43: 373- 8
76. Aksaray S, Dokuzoğuz B, Güvener E, Yücesoy M, Yuluğ N, Kocagöz S et al. Surveillance of antimicrobial resistance among gram- negative isolates from intensive care units in eight hospitals in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 695- 9
77. Uzel S, Çağatay AA, Özsüt H, Eraksoy H, Dilmener M. Yoğun bakım biriminde ventilatörle ilişkili pnömoni etkeni olabilecek bakteriler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Klinik Dergisi* 1999; 12(2): 60- 4

78. Erol S, Yazgı H, Aktas O, Özkurt Z. Nozokomiyal Acinetobacter izolatlarında antibiyotik direnci. Hastane İnfeksiyonları Derg 2002;6:19- 23
79. Alp E, Muhammet G, Orhan Y, Soylu S. Yoğun bakım ünitelerimizde nozokomiyal pnömoni insidansı, etkenleri ve antibiyotik direnci. Flora 2004;9(2): 125- 31
80. Yılmaz N, Köse Ş, Ağuş N, Ece G, Akkoçlu G, Kıraklı C. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar, antibiyotik duyarlılıkları ve nozokomiyal bakteriyemi etkenleri. ANKEM Derg 2010; 24(1):12-19
81. Rahbar M, Mehrgan H, Aliakbari NH. Prevalence of antibiotic-resistant Acinetobacter baumannii in a 1000-bed tertiary care hospital in Tehran, Iran. Indian Journal of Pathology & Microbiology 2010 ; 53(2):290-3)
82. Mansur A, Kuzucu Ç, Ersoy Y, Yetkin F. İnönü üniversitesi turgut özal tıp merkezinde 2008 yılında yatan hastalardan izole edilen acinetobacter suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg 2009; 23(4): 177-181
ANKEM Derg 2009;23(4):177-181
83. Ruiz J, Nunez ML, Perez J, Simarro E, Martinez- Campos L, Gomez J. Evolution of resistance among clinical isolates of Acinetobacter over a 6-year period. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999; 18: 292- 5
84. Karşılıgil T, Balcı İ. Nozokomiyal Acinetobacter izolatlarında antibiyotik direnci. İnfeksiyon Dergisi 2000; 14(84): 511- 4.

85. Çolpan A, Güngör S, Baykam N, Dokuzoğuz B. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen Acinetobacter suslarının antibiyotik direnç durumlarının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 2002; 16(1): 55- 58.
86. Balcı M, Bitirgen M, Kandemir B, Arıbaş E, Erayman İ. Nozokomiyal acinetobacter baumannii suşlarının antibiyotik duyarlılığı. *ANKEM Derg* 2010;24(1):28-33
87. Dai N, Li D, Chen J, Chen Y, Geng R, Hu Y ve ark. Drug-resistant genes carried by Acinetobacter baumannii isolated from patients with lower respiratory tract infection. *Chinese Medical Journal* 2010;123(18):2571-2575
88. Yavuz MT, Sahin İ, Behçet M, Öztürk E, Kaya D. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Acinetobacter baumannii suslarının antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Dergisi* 2006; 20(2): 107- 110
89. Koomanachai P, Tiengrim S, Kiratisin P, Thamlikitkul V. Efficacy and safety of colistin (colistimethate sodium) for therapy of infections caused by multidrugresistant Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii in Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand. *Int J Infect Dis* 2007;11(5):402-406.
90. Brown S, Amyes S. OXA (beta)-lactamases in Acinetobacter: the story so far. *J. Antimicrob. Chemother.* 2006;57:1–3
91. Livermore DM. The threat from the pink corner. *Ann. Med.*2003;35:226–234
92. Arda B, Sipahi OR, Yamazhan T, Tasbakan M, Pullukcu H, Tunger A et al. Short-term effect of antibiotic control policy on the usage patterns and cost

of antimicrobials, mortality, nosocomial infection rates and antibacterial resistance. *J Infect* 2007;55(1): 41-8.

93. Akan AO. *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik direnci:2002 yılı İbni Sina Hastanesi verileri, *Mikrobiol Bült* 2003; 37(4): 241-6.
94. Gülhan B, Özekinci T, Atmaca S, Bilek H. 2004–2006 Yıllarında İzole Edilen *A.baumannii* Suşlarında Antibiyotik Direnci. *ANKEM Derg* 2007;21(1):32–36.
95. Wang H, Chen M. Surveillance for antimicrobial resistance among clinical isolates of gram-negative bacteria from intensive care unit patients in China, 1996 to 2002. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2005; 51:201–208
96. Wang H, Chen M, Ni Y, Chen D, Sun Z, Chen Y et al. Antimicrobial resistance analysis among nosocomial gram-negative bacilli from 10 teaching hospitals in China. *Chin. J. Lab. Med.* 2005;28:1295–1303
97. Sinha M, Srinivasa H. Mechanisms of resistance to carbapenems in meropenem resistant *Acinetobacter* isolates from clinical samples. *Indian Journal of Medical Microbiology.* 2007;25:121-5
98. Taneja N, Maharwal S, Sharma M. Imipenem resistance in nonfermenters causing nosocomial urinary tract infections. *Indian J Med Sci* 2003;57: 294-9.
99. Corbella X, Montero A, Pujol M, Dominguez MA, Ayats J, Argerich MJ, et al. Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol* 2000;38: 4086-95

100. Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydna E, Lal H, Quale J. Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: Citywide 84 prevalence, inter-institutional spread and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis* 2000;31:101–6.
101. Stoeva T, Higgins PG, Savov E, Markovska R, Mitov I, Seifert H. Nosocomial spread of OXA-23 and OXA-58 β -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a Bulgarian hospital. *J Antimicrob Chemother* 2009;63(3): 618-20
102. Turner PJ, Greenhalgh JM, and the MYSTIC Study Group (Europe). The activity of meropenem and comparators against *Acinetobacter* strains isolated from European hospitals (1997-2000), *Clin Microbiol Infect* 2003;9(6):563-7.
103. Korten V, Ulusoy S, Zarakolu P, Mete B, Turkish MYSTIC Study Group: Antibiotic resistance surveillance over a 4- year period (2000-2003) in Turkey: results of the MYSTIC Program, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;59(4):453-7.
104. Scaife W, Young HK, Paton RH, Amyes SG. Transferable imipenem-resistance in *Acinetobacter* species from a clinical source. *J Antimicrob Chemother* 1995; 36:585-586.
105. Turton JF, Kaufmann ME, Glover J, Coelho JM, Warner M, Pike R. et al. Detection and typing of integrons in epidemic strains of *Acinetobacter baumannii* found in the United Kingdom. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 3074–3082

106. Marqué S, Poirel L, Héritier C, Brisse S MD, Filip R et al. Regional occurrence of plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-58 in *Acinetobacter* spp. in Europe. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 4885–4888
107. Dalla-Costa LM, Coelho JM, Souza HA, Castro ME, Stier CJ, Bragagnolo KL et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 enzyme in Curitiba, Brazil. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3403–3406
108. Naas T, Levy M, Hirschauer C, Marchandin H, Nordmann P. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the carbapenemase OXA-23 in a tertiary care hospital of Papeete, French Polynesia. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 4826–4829.
109. Meric M, Kasap M, Gacar G, Budak F, Dundar D, Kolayli F. ve ark. Emergence and spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital in Turkey. *FEMS Microbiol Lett.* 2008;282(2):214-8
110. Lopez-Otsoa F, Gallego L, Towner KJ, Tysall L, Woodford N, Livermore DM. Endemic carbapenem resistance associated with OXA-40 carbapenemase among *Acinetobacter baumannii* isolates from a hospital in northern Spain. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4741–4743
111. Peixe L. Emergence of carbapenem-hydrolyzing enzymes in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2109–2110
112. Poirel L, Marqué S, Héritier C, Segonds C, Chabanon G, Nordmann P. OXA-58, a novel class D β -lactamase involved in resistance to carbapenems

in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 202–208

113. Pournaras S, Markogiannakis A, Ikonomidis A, Kondyli L, Bethimouti K, Maniatis AN et al. Outbreak of multiple clones of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing OXA-58 carbapenemase in an intensive care unit. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 557–561
114. Coelho J, Woodford N, Afzal-Shah M, Livermore D. Occurrence of OXA-58-like carbapenemases in *Acinetobacter* spp. collected over 10 years in three continents. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 756–758
115. Kulah C, Mooij MJ, Comert F, Aktas E, Celebi G, Ozlu N. Characterisation of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak strains producing OXA-58 in Turkey. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36(2):114-8
116. Carvalho KR, Carvalho-Assef AP, Peirano G, Santos LC, Pereira MJ, Asensi MD . Dissemination of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* genotypes carrying bla(OXA-23) collected from hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *Int j Antimicrob Agents*2009; 34(1): 25-8
117. Lee K, Kim MN, Choi TY, Cho SE, Lee S Whang DH et al. Wide dissemination of OXA-type carbapenemases in clinical *Acinetobacter* spp. isolates from South Korea. *Int J. Antimicrob Agents*2009; 33(6):520-4
118. Gulcan H, Kuzucu C, Durmaz R. Nosocomial *Stenotrophomonas maltophilia* cross-infection: Three newborn cases. *AJIC* 2004;32(6):365-8.
119. Kuzucu C, Cizmeci Z, Durmaz R, Durmaz B, Ozerol IH. The prevalence of fecal colonization of Enterococci, the resistance of the isolates to ampicillin,

vancomycin, and high-level aminoglycosides, and the clonal relationship among isolates. *Microbiol Drug Resistance* 2005;11: 159-164

- 120.** Wang H, Guo P, Sun H, Wang, H, Yang O, Chen, M, Xu, Y and Zhu Y. Molecular Epidemiology of Clinical Isolates of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese Hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2007;10: 4022–4028

8. ÖZET

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi’de Ağustos 2007 - Haziran 2010 tarihleri arasında Dahiliye veya Nöroloji Yoğun Bakım Ünitesinde yatan hastaların endotrakeal aspirat veya balgam örneğinden izole edilen ve *Acinetobacter* spp. olarak tiplendirilen suşlar çalışmaya alındı.

Bu çalışmanın amacı, hastane enfeksiyonlarına yol açan *Acinetobacter* izolatlarında ilaç duyarlılık paternlerinin gösterilmesi, çoklu ilaç direncine sahip *Acinetobacter* suşlarının klinik izolatlarında, karbapenem direncinin en önemli nedeni olan OXA tipi beta laktamaz enzim dağılımının gösterilmesi ve Arbitrarily Primed PZR (AP-PZR) yöntemiyle izolatlar arasındaki klonal ilişkinin gösterilmesidir.

Çalışmaya alınan suşların antibiyotik duyarlılıkları, Kirby Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapıldı. Çalışmada kolistine hepsi duyarlıyken, kolistin haricindeki 13 antibiyotiğin direnç oranları, en düşük % 44 olarak netilmisin ile en yüksek % 99 oranında siprofloksasin bulunmuştur. İmipenem direnç oranı % 84, meropenemde ise bu oran % 96’dır.

PZR yöntemiyle *bla*_{OXA} genlerine bakılmıştır ve *Acinetobacter baumannii*’ye özgü olan *bla*_{OXA-51} geni suşların % 99’unda pozitif bulunmuştur. Karbapenem dirençli suşlarda *bla*_{OXA-23} oranı % 75, *bla*_{OXA-51} oranı ise % 23 olarak saptanmıştır. Suşların %90’ında *bla*_{OXA-23-like} ya da *bla*_{OXA-58-like} genlerinin en az bir tanesi bulunmuştur.

Hastane enfeksiyonlarına neden olan *Acinetobacter* suşlarının AP-PZR ile klonal incelenmesinde A ve B olmak üzere 2 ana klon saptanmıştır. B klonunun

alttiplerinden B1'in hala potansiyel hastane enfeksiyon etkeni olarak DYBÜ'de bulunduğu düşünölmektedir ve YBÜ'leri arasında çapraz bulaş olduğu görölmüştür.

Bu alışmada OXA tipi karbapenemazların yaygınlığı ile ̢-laktam antibiyotiklere karşı direncinin yüksek seviyede olması dikkat çekmekte iken, hastane enfeksiyonu ile oluşan salgın analizinde AP-PZR yönteminin ilk incelemede klonal ilişkinin ortaya konmasında oldukça başarılı olduğu görölmektedir.

Anahtar kelimeler: *Acinetobacter* spp., karbapenem direnci, OXA-tipi karbapenemazlar, AP-PZR

9. SUMMARY

Acinetobacter spp. strains isolated from endotracheal aspirate or sputum samples of hospitalized patients from Internal Medicine or Neurology Department Intensive Care Units between August 2007 – June 2010 were included to the study.

The aim of this study is to determine drug susceptibility patterns of *Acinetobacter* isolates which cause hospital infections, and OXA type beta lactamases enzymes distribution which is the main cause of carbapenem resistance in clinical isolates of multidrug resistant *Acinetobacter* strains, and besides the clonal relationship between isolates by means of Arbitrarily Primed PZR (AP-PZR) method.

Antibiotic susceptibility of the isolated strains was performed by Kirby Bauer disk diffusion method. In this study, it is found that all strains were susceptible to colistin. When the resistant rates of other 13 antibiotics (except colistin) were compared, it is found that netilmicin had the lowest resistant rate (44%) and ciproflaxacin had the highest resistant rate (99%). The resistant rates of imipenem and meropenem was found as 84% and 96 %, respectively.

*bla*_{OXA-23} genes were examined with PZR method and *bla*_{OXA-51} gene specified to *Acinetobacter baumannii* was found positive in 99% of all strains. The ratio of *bla*_{OXA-23-like} gene and *bla*_{OXA-58} gene in carbapenem resistant strains was determined as 75% and 23%, respectively. At least one of the *bla*_{OXA-23-like} and *bla*_{OXA-58} gene was found in 90% of all strains.

With the clonal analysis of *Acinetobacter* strains causing hospital

infections by using AP-PZR method, two main clons were determined and named as A and B. It is figured out that B1 (the subtype of B clon) is still found in Internal Medicine Intensive Care Unit as potential hospital infections and it is observed as cross transmission between Intensive Care Units.

In this study, high prevalence of OXA type carbapenemases and high resistance rates to β -lactamases antibiotics were noticeable and it is observed that AP-PZR method was very successful to show the clonal relationship in epidemic analysis caused by hospital infections.

Key words: *Acinetobacter* spp., carbapenem resistance, OXA-type carbapenemases, AP-PCR

10. TABLO LİSTESİ

- Tablo 2.1.** *Acinetobacter* cinsine ait özel isim verilen türler
- Tablo 2.2.** Gazi Hastanesi Hastane Enfeksiyonlarına Yol Açan Mikroorganizma Dağılımı
- Tablo 2.3.** Yoğun Bakımlarda Kan Dolaşımı Enfeksiyonu Etkenlerinin Bölümlere Göre Sayısal Dağılımı, Gazi Hastanesi 2009
- Tablo 2.4.** Hastane enfeksiyon etkenlerini tiplendirme metotları
- Tablo 3.1.** Hareket besiyeri için kullanılan besiyeri bileşimi
- Tablo 3.2.** *bla*_{OXA-51-like}, *bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-58-like}, *bla*_{OXA-24-like} PZR Amplifikasyonunda Kullanılan Oligonükleotitlerin Nükleotit Dizisi
- Tablo 3.3.** AP-PZR için Kullanılan Primerler
- Tablo 4.1.** Klinik İzolatın Ünitelere, Yıllara Ve İzole Edildikleri Örneklerle Göre Dağılımı
- Tablo 4.2.** Tüm izolatların antibiyotik duyarlılık testi sonuçları
- Tablo 4.3.** Çalışılan *Acinetobacter* spp. İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları
- Tablo 4.4.** İmipenem ve Meropenem Disk Difüzyon Sonuçları / *bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-51-like}, *bla*_{OXA-24-like} ve *bla*_{OXA-58-like} Sonuçları
- Tablo 4.5.** A ve B Klonları ile Bu Klonlarla Klonal Yönden İlişkili Suşların Aylara Göre Dağılımı

11. ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 3.1.** *bla_{oxA}* Allellerinin PZR Metodundaki Sıcaklık Döngüleri
- Şekil 3.2.** AP-PZR'ın Sıcaklık Döngüleri
- Şekil 4.3.** A ve B Klonları ile Bu Klonlarla Klonal Yönden İlişkili Suşlar

12. GRAFİK LİSTESİ

- Grafik 4.1.** *Acinetobacter* spp. İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Dağılımları

13. RESİM LİSTESİ

- Resim 4.1.** İzolatların *bla_{oxA}* allellerinin agaroz jel elektroforezinde pozitif ve negatif sonuçlarının görünümü
- Resim 4.2.** 1-15 nolu *Acinetobacter* suşlarının AP-PCR Jel Görüntüsü

14. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Nihal

Soyadı: Sarıca

Doğum yeri ve Tarihi: Ereğli / Konya 10.05.1976

Eğitimi: 2007-2011 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
1994-2002 Erciyes Tıp Fakültesi, Kayseri
1987-1993 Ereğli Lisesi, Konya
1984-1987 Yenizengen Yatılı İlköğretim
Bölge Okulu, Konya
1982-1984 Doğanhisar Merkez İlkokulu,
Konya

Yabancı Dil: İngilizce

Üye olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği