

T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**HASTANE ENFEKSİYON ETKENİ OLARAK  
ACINETOBACTER BAUMANNII EPİDEMİYOLOJİSİNİN  
REP-PCR İLE ARAŞTIRILMASI**

Harun GÜLBUDAK  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Gönül ASLAN

MERSİN – 2012

T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**HASTANE ENFEKSİYON ETKENİ OLARAK  
ACINETOBACTER BAUMANNII EPİDEMİYOLOJİSİNİN  
REP-PCR İLE ARAŞTIRILMASI**

Harun GÜLBUDAK  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Gönül ASLAN

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
BAP-SBE TM (HG) 2011-5 YL nolu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No: 236

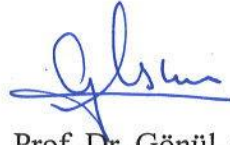
MERSİN -2012

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan “*Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olarak Acinetobacter baumannii Epidemiyolojisinin REP-PCR İle Araştırılması*” başlıklı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

21.12.2012



Prof. Dr. Gönül ASLAN

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Başkanı/Danışman



Prof. Dr. Gülden ERSÖZ

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı

Jüri Üyesi



Prof. Dr. Nuran DELİALİOĞLU

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 25/12/2012 tarih ve 2012/397 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ülku ÇÖMELEKOĞLU



## ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi, belki de bir şeyleri kendi başınıza yapmaya çalıştığınız ilk eğitim aşamasıdır. Sanki yabancı bir şehirde hatta dilini dahi bilmediğiniz bir şehirde adres aramak gibidir. Elinizde adresiniz vardır ve gitmeniz gereken bir yol gösterilmiştir. Ama hangi yöne gitmeniz gerektiği ya da kestirme bir yol olup olmadığı, hangi taşıtların sizi adresinize en yakın şekilde götürdüğü gibi birçok soru vardır cevabını bilmediğiniz. Bu yolda kendi başınıza yürürsünüz, ihtiyacınız olan tek şey kendinize güvenmektir, çünkü başkaları sizin yerinize yol alamaz. Ancak, moraliniz bozulabilir ya da güveninizi yitirebilirsiniz. Böyle zamanlarda, sizi tekrar doğru yöne yönlendirecek, yolunuza ışık tutacak ve sizi yüreklendirecek bir danışmandan daha iyisi olamaz. Ben bu yolda bana yön veren ve beni her zaman yüreklendiren Sayın Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ hocama teşekkür ederim. Bana gitmem gereken yol adresi olarak *Acinetobacter*'leri gösteren ve bu konuda her zaman destek olan danışmanım Sayın Prof. Dr. Gönül ASLAN hocama teşekkür ederim.

Mikrobiyoloji Anabilim Dalındaki hocalarım Sayın Prof. Dr. Candan ÖZTÜRK, Sayın Doç. Dr. Nuran DELİALİOĞLU, Sayın Doç. Dr. Feza OTAĞ, Sayın Yrd. Doç. Dr. Seda TEZCAN ve Öğr. Gör. Dr. Mahmut ÜLGER'e teşekkür ederim

*Acinetobacter*'ler ile çalışmayı seven ve tez çalışmamda bana yol gösterici olan Enfeksiyon Hastalıkları Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Gülden ERSÖZ hocama teşekkür ederim.

Mikrobiyoloji Anabilim Dalında çalışan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Aileme ve vazgeçmemeyi öğreten anneme sonsuz teşekkür ederim.

Harun GÜLBUDAK  
Mersin, Aralık 2012

# İÇİNDEKİLER

|   |      |
|---|------|
| <b>Kabul ve Onay</b> .....  | iii  |
| <b>ÖNSÖZ</b> .....  | iv   |
| <b>İÇİNDEKİLER</b> .....  | v    |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....  | viii |
| <b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....  | ix   |
| <b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....                                 | x    |
| <b>ÖZET</b> .....   | xi   |
| <b>ABSTRACT</b> .....   | xii  |
| <b>1. GİRİŞ</b> .....   | 1    |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....  | 4    |
| 2.1. <i>Acinetobacter</i> Cinsi .....                                       | 4    |
| 2.1.1. <i>Acinetobacter</i> Türleri ve Tarihçe .....                        | 4    |
| 2.1.2. Mikrobiyolojik Özellikleri ve Laboratuvar Tanısı .....               | 6    |
| 2.1.3. Patogenez ve Virülans Faktörleri .....                               | 9    |
| 2.1.4. Epidemiyoloji .....  | 10   |
| 2.1.4.1. <i>Acinetobacter</i> Türlerinin Klinik Örneklerdeki Dağılımı ..... | 13   |
| 2.2. Nozokomiyal Enfeksiyonlar .....  | 19   |
| 2.2.1. Hastanelerde Görülen Salgınlar .....                                 | 21   |
| 2.2.2. Yoğun Bakım Ünitelerinde Görülen Salgınlar .....                     | 21   |
| 2.2.3. <i>Acinetobacter</i> Salgınları .....                                | 23   |
| 2.3. Toplumdan Kazanılmış Enfeksiyonlar .....                               | 24   |
| 2.4. Doğal Afetler ve Savaşlar ile İlişkili Enfeksiyonlar .....             | 25   |
| 2.5. Epidemiyolojik Tiplendirme Yöntemleri .....                            | 26   |
| 2.5.1. Fenotipik Tiplendirme Yöntemleri .....                               | 26   |
| 2.5.1.1. Biyotiplendirme .....  | 27   |
| 2.5.1.2. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi .....                              | 27   |
| 2.5.1.3. Serotiplendirme Yöntemi .....                                      | 27   |
| 2.5.1.4. Bakteriyofaj ve Bakteriyosin Tiplendirmesi .....                   | 28   |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.5.2. Genotipik Tiplendirme Yöntemleri.....                          | 29        |
| 2.5.2.1. Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE).....                 | 29        |
| 2.5.2.2. Arbitrarily Primed (Random Amplified) PCR (AP-PCR).....      | 31        |
| 2.5.2.3. Repetitive Ekstragenik Palindromik PCR (Rep-PCR).....        | 32        |
| 2.5.2.4. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP).....           | 34        |
| 2.5.2.5. Multilocus sequence typing (MLST).....                       | 34        |
| 2.5.2.6. PCR-ESI-MS.....  | 35        |
| 2.6. Antimikrobiyal Direnç ve Tedavi.....                             | 35        |
| 2.6.1. Antimikrobiyal Direnç.....                                     | 35        |
| 2.6.2. Direnç Mekanizması.....  | 36        |
| 2.6.3. Tedavi.....  | 39        |
| <b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>  | <b>41</b> |
| 3.1. Örneklerin Toplanması.....                                       | 41        |
| 3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....                                 | 41        |
| 3.2.1. Kullanılan Cihazlar.....                                       | 41        |
| 3.2.2. Kullanılan Kimyasallar.....                                    | 42        |
| 3.2.3. Kullanılan Diversilab Kitleri.....                             | 42        |
| 3.2.4. Kullanılan Besiyerleri.....                                    | 43        |
| 3.2.5. Kullanılan Antibiyotik Diskleri.....                           | 43        |
| 3.3. Kullanılan Besiyerlerinin ve Kovaks Ayırıcının Hazırlanması..... | 44        |
| 3.3.1. %5 Kanlı Agar Hazırlanması.....                                | 44        |
| 3.3.2. Eosin Methylene Blue Agar (EMB) Hazırlanması.....              | 44        |
| 3.3.3. Mueller Hinton Agar (MHA) Hazırlanması.....                    | 44        |
| 3.3.4. Triple Sugar Iron Agar Hazırlanması.....                       | 45        |
| 3.3.5. Kovaks Ayırıcı (Oksidaz Testi) Hazırlanması.....               | 45        |
| 3.4. Kültür ve İdentifikasyon.....                                    | 45        |
| 3.5. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi.....                             | 46        |
| 3.5.1. Disk Difüzyon Yöntemi.....                                     | 46        |
| 3.6. Moleküler Tiplendirme.....                                       | 48        |
| 3.6.1. REP-PCR Diversilab Sistemi ile Moleküler Tiplendirme.....      | 48        |
| 3.6.1.1. DNA İzolasyonu.....  | 48        |
| 3.6.1.1.1. DNA Ekstraksiyonunun Yapılışı.....                         | 48        |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.6.1.1.2. DNA miktarının ölçülmesi.....                                     | 50        |
| 3.6.1.2. Rep-PCR Uygulaması.....   | 50        |
| 3.6.1.3. Diversilab DNA Labchip Uygulaması.....                              | 51        |
| 3.6.1.3.1. Jel-Boya Matriks Hazırlanması.....                                | 51        |
| 3.6.1.3.2. Çip Yükleme.....  | 52        |
| 3.6.1.4. İzolatların Rep-PCR Parmak İzi İlişkilerinin Değerlendirilmesi..... | 53        |
| <b>4. BULGULAR.....</b>  | <b>54</b> |
| 4.1. Örneklerin Seçimi.....  | 54        |
| 4.2. Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları.....                                   | 57        |
| 4.3. Moleküler Tiplendirme Rep-PCR Sonuçları.....                            | 58        |
| 4.3.1. Klonların Epidemiyolojik İlişkileri.....                              | 59        |
| 4.3.1.1. A Klonu.....  | 59        |
| 4.3.1.2. B Klonu.....  | 64        |
| 4.3.1.3. Diğer Klonlar.....  | 66        |
| <b>5. TARTIŞMA.....</b>  | <b>70</b> |
| <b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>   | <b>84</b> |
| <b>7. KAYNAKLAR.....</b>   | <b>85</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>   | <b>98</b> |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|  |    |
|--|----|
| Şekil 4.1. <i>Acinetobacter</i> izolatlarının kliniklere göre dağılımı oranları..... | 55 |
| Şekil 4.2. <i>Acinetobacter</i> izole edilen örneklerin dağılım oranları.....        | 56 |
| Şekil 4.3. Klonlara ait dendrogram.....  | 59 |
| Şekil 4.4 Klonların benzerlik matrisi.....   | 59 |
| Şekil 4.5. A ana klonuna ait dendrogram.....   | 61 |
| Şekil 4.6. A 4 Alt klonuna ait benzerlik matrisi.....                                | 62 |
| Şekil 4.7. B ana klonuna ait dendrogram.....   | 64 |
| Şekil 4.8. B ana klonuna ait benzerlik matrisi.....                                  | 65 |
| Şekil 4.9. C, D, E, F, G, H klonlarına ait dendrogram.....                           | 66 |



## ÇİZELGELER DİZİNİ

|   |    |
|---|----|
| <b>Çizelge 2.1.:</b> <i>Acinetobacter</i> türlerinin klinik örneklerde dağılımı.....            | 15 |
| <b>Çizelge 3.1.:</b> Disk Difüzyon testinin yorumlanmasında kullanılan zon çapları.....         | 47 |
| <b>Çizelge 3.2.</b> Rep-PCR amplifikasyonunda bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı..... | 50 |
| <b>Çizelge 3.3.</b> Rep-PCR amplifikasyon koşulları.....  | 51 |
| <b>Çizelge 4.1.</b> <i>Acinetobacter</i> izolatlarının kliniklere göre dağılımı.....            | 55 |
| <b>Çizelge 4.2.</b> <i>Acinetobacter</i> izole edilen hastaların yaş grupları.....              | 55 |
| <b>Çizelge 4.3.</b> <i>Acinetobacter</i> suşlarının izole edildiği klinik örnekler.....         | 56 |
| <b>Çizelge 4.4.</b> 75 <i>Acinetobacter</i> izolatlarının disk difüzyon testi sonucu .....      | 58 |
| <b>Çizelge 4.5.</b> Aynı klonda yer alan suşların antibiyotik duyarlılık profilleri.....        | 68 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

|                |   |
|----------------|---|
| <b>AFLP</b>    | Amplified fragment length polymorphism      |
| <b>AP-PCR</b>  | Arbitrarily primed PZR                      |
| <b>ARDRA</b>   | Amplified rDNA restriction analysis         |
| <b>CLSI</b>    | Clinical and Laboratory Standards Institute |
| <b>DNA</b>     | Deoksiribo Nükleik Asit                     |
| <b>MDR</b>     | Multi Drug Resistant                        |
| <b>MLST</b>    | Multilocus sequence typing                  |
| <b>PCR</b>     | Polimeraz Zincir Reaksiyonu                 |
| <b>PFGE</b>    | Pulsed Field Gel Electrophoresis            |
| <b>REP-PCR</b> | Repetitive Ekstragenik Palindromik          |
| <b>RE</b>      | Restriksiyon endonükleaz                    |
| <b>RNA</b>     | Ribonükleik asit                            |
| <b>RFLP</b>    | Restriction Fragment Length Polymorphism    |

## ÖZET

### Hastane Enfeksiyon Etkeni Olarak *Acinetobacter baumannii* Epidemiyolojisinin Rep-PCR ile Araştırılması

Bu çalışmada, hastane kaynaklı *Acinetobacter baumannii* suşlarının klonal yakınlıklarının, rep-PCR yöntemiyle belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya, Ekim 2011-Mayıs 2012 tarihleri arasında yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilerek saklanan olan toplam 75 *Acinetobacter* suşu dahil edilmiştir. 75 *Acinetobacter baumannii* kompleks suşunun 74 tanesi *A. baumannii* ve 1 tanesi *A. pittii* olarak tanımlandı. *Acinetobacter* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarına, CLSI önerileri doğrultusunda, Kirby Bauer disk difüzyon yöntemiyle bakıldı. Test edilen suşlara karşı en etkili antibiyotikler kolistin (%100) ve tigesiklin (%65,3) ; en fazla direncin ise piperasilin (%96), seftriakson (% 97,3), sefepim (%97,3), imipenem (%96) ve meropenem (%94,6) karşı olduğu saptandı. Üç veya daha fazla grup antibiyotiğe dirençli suş sayısı 73 (%97), kolistin ve tigesiklin hariç diğer antibiyotiklere dirençli suş sayısı 24 (%32) olarak bulundu, fakat bu 24 suşun 9'u tigesikline de orta duyarlı olarak tespit edildi. Çalışmamızda rep-PCR analizi sonucunda iki ana klon [A (7 alt tip), B (3 alt tip)] ve altı farklı klon (C-H) olmak üzere toplam 8 farklı klon tespit edilmiş; A klonunun baskın tip olduğu belirlenmiştir. 75 *Acinetobacter* suşunun %72 (n=54)'sinin A klonuna ait olduğu tespit edilmiştir; B klonuna ait 13 suş, klon C ve D 2'şer suş, diğer klonlarda (E, F, G, H) ise birer suş saptanmıştır. A klonu, reanimasyon yoğun bakım ünitesi örneklerinin % 71 (20/28)'inden, cerrahi servisinden gönderilen örneklerin %70 (7/10)'inden ve dahiliye yoğun bakım ünitesi örneklerinin (6/6) tamamından izole edilmiştir. İlk ve son suşun izolasyon tarihleri arasında 8 aylık fark olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, çalışma sürecinde hastanemizde A klonunun hakim olduğu ve *Acinetobacter* suşlarının klonal yayılım gösterdiği ortaya konmuş ve rep-PCR yönteminin epidemiyolojik çalışmalarda ve enfeksiyon kontrolünde kullanılabilecek kolay uygulanabilen, hızlı ve başarılı bir yöntem olduğu düşünülmüştür.

**Anahtar sözcükler:** *Acinetobacter baumannii*, antimikrobiyal direnç, klonal ilişki, rep-PCR, genotiplendirme.

## ABSTRACT

### Epidemiological Investigation of Nosocomial *Acinetobacter baumannii* Infection with rep-PCR

The aim of this study was to detect the clonal relationship between nosocomial *Acinetobacter baumannii* strains by using rep-PCR method. A total of 75 *Acinetobacter* strains that had been isolated from various clinical samples of hospitalized patients between October 2011-May 2012 were included in the study. Of the 75 *Acinetobacter baumannii* complex isolates, 74 were *A. baumannii* and 1 were *A. pittii*. Antibiotic susceptibilities of *Acinetobacter* isolates were investigated by Kirby Bauer disk diffusion method according to CLSI guidelines. Minimum resistance among performed strains were detected in colistin (100%) and tigecycline (65,3%), whereas maximum resistance were at piperacilline (96%), ceftriaxone (97,3%), cefepim (97,3%), imipenem (96%) and meropenem (94,6%). The number of strains that were resistant to three or more antibiotics were 73 (97%) and the number of strains that resistant to all antibiotics except colistin and tigecycline were 24 (32%), however; 9 of these 24 strains were intermediate susceptible to tigecycline. Rep-PCR analysis have shown the presence of a total 8 clones, including 2 major clones [A (7subtypes), B (3 subtypes)] and 6 unique clones (C-H). Clone A was found to be the dominant type. Seventy-two percent (n=54) of the 75 *Acinetobacter* strains belonged to clone A, 17,3% (n=13) belonged to clone B, 2 strains belonged to clone C and D and one of each belonged to the other clones (E, F, G, H). Clone A was isolated from 71% (20/28) of the samples sent from reanimation intensive care unit, from 70% (7/10) of the samples sent from surgery service ward, and all strains (6/6) of the samples sent from internal diseases intensive care unit. The isolation dates of these strains were 8 months between the first isolation and last one. In conclusion, *Acinetobacter* strains showed clonal dissemination in our hospital, clone A being the predominant one during the study period. Rep-PCR which is a rapid and reliable method, can easily be applied for molecular epidemiological purposes and aid to infection control measures.

**Key words:** *Acinetobacter baumannii*, antimicrobial resistance, clonal relationship, rep-PCR, genotyping.

# 1.GİRİŞ

*Acinetobacter* türleri *Moraxellaceae* ailesinde sınıflandırılan Gram negatif, non-fermentatif, oksidaz negatif mikroorganizmalardır (1). Bu cinse ait türlerin suda, toprakta ve kuru çevrelerde bulunması; hastane ortamından, cilt florasından, yiyeceklerden ve hayvanlardan izole edilmesi *Acinetobacter*'lerin doğada her yerde bulunabilen mikroorganizmalar olarak kabul edilmesini sağlamıştır (2, 3).

*Acinetobacter*'ler enfeksiyon hastalıklarında geniş spektrumlu olarak yayılım gösteren fırsatçı patojenlerdir ve genellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda enfeksiyonlara neden olurlar. Hastane kökenli *Acinetobacter* enfeksiyonları; ventilatör ilişkili pnömoni, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, sekonder menenjit ve dolaşım sistemi enfeksiyonlarıdır. Her ne kadar *Acinetobacter pittii* ve *A. nosocomialis* bu enfeksiyonlara neden olsa da hastane enfeksiyonları ile anılan asıl tür *A. baumannii*'dir. Diğer *Acinetobacter* türleri nadir olarak kateter ilişkili dolaşım yolu enfeksiyonlarına neden olur (4).

1970'li yıllardan önce *Acinetobacter* enfeksiyonları, cerrahi ünitelerde yatan hastalarda cerrahi müdahale sonrası gelişen idrar yolu enfeksiyonu olarak görülmüştür. Son otuz yıldaki resüsitasyon tekniklerindeki gelişmeler *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tipini değiştirmiştir. 1980'lerden beri *Acinetobacter* enfeksiyonları yoğun bakım ünitelerinde bulunan hastalar arasında hızla yayılmıştır. Günümüzde ise çoğu solunum yolu enfeksiyonu olmak üzere nozokomiyal enfeksiyonların %9'u *Acinetobacter* türleri tarafından oluşturulmaktadır ve en sık izole edilen tür *A. baumannii*'dir (5).

*A. baumannii* enfeksiyonlarının gelişmesine ya da bakterinin bulaşmasına neden olan risk faktörleri diğer çoklu ilaç direncine sahip (MDR) organizmalar ile benzerdir. Bu faktörler: i) Konak ile ilgili faktörler; altta yatan bir hastalığın olması ve immün sistemin baskılanması, cerrahi operasyon geçirmiş olmak, majör travma (özellikle yanıklar) bulunması ve prematüre yeni doğanlar. ii) Bakteriye maruz kalma ile ilgili faktörler; yoğun bakım ünitesinde tedavi görmek, *A.baumannii*'nin endemik olarak hastanede bulunması ve kontamine tıbbi ekipmanlara maruz kalmak. iii) Tedavi ile ilgili faktörler; mekanik ventilasyon, intravasküler kateter, idrar kateteri ve drenaj tüpleri gibi

vücuda kalıcı cihazların takılması ve uygulanan antimikrobiyal tedavi *A. baumannii* enfeksiyonu gelişmesinde risk faktörleri olarak sayılabilir (6).

*A. baumannii* toplumsal kökenli enfeksiyonlarda yaygın değildir, ancak önemli toplumsal kökenli pnömonileri neden olur (7). Doğal afetlerde, depremlerde, tsunamide ve savaşlarda yaralanan hastaların tedavi edildiği hastanelerde dirençli *Acinetobacter* suşlarının izole edildiği ya da mikroorganizma profilinin *Acinetobacter* yönünde değiştiği bildirilmiştir (8, 9, 10).

*A. baumannii*'nin hemen hemen mevcut tüm antibiyotiklere dirençli suşlarının bulunması ve çoklu ilaç direncine sahip suşların giderek artması *Acinetobacter*'leri dikkat çekici bir problem haline getirmiştir. Bu mikroorganizmalar genellikle yaygın olarak kullanılan aminopenisilinlere, birinci ve ikinci kuşak sefalosporinlere ve kloramfenikole karşı doğal direnç gösterir. Geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamlara, aminoglikozidlere, florokinolonlara ve tetrasiklinlere karşı direnç geliştirme mekanizmaları elde etmek için olağanüstü bir kapasiteye sahiptir (4). Direnç mekanizmaları içerisinde; antimikrobiyal hedef bölge modifikasyonu, porin proteinlerinin değişimi, enzimatik inaktivasyon, ilaçların dışa atım (efflux) pompası ile hücre dışına atılması ve ilaçların hücreye girişinin azaltılması (decreased influx) gibi bakterilerde görülen bütün direnç mekanizmaları *Acinetobacter*'lerde direnç gelişimine aracılık eder (4, 11).

*Acinetobacter*'ler bir kez hastane ortamında bulaştıktan sonra, genellikle çoklu ilaç direnci olan çeşitli suşlar, seri halde birbiriyle örtüşen epidemiyolojik paternlere neden olur. Birçok *Acinetobacter* suşunun endemikliğini takip ederek sonraki dönemlerde tek bir suşun baskın olduğu endemik suşlar ortaya çıkar (11). Hastane ortamına yayılan endemik *Acinetobacter* suşlarının 42 aya kadar hastalardan izole edilmeye devam ettiği bildirilmiştir (12).

*A. baumannii* suşlarının hastanelerdeki yayılımını kontrol edebilmek için mikroorganizmanın potansiyel rezervuarlarını ve taşınma yollarının tanımlanması gereklidir. Salgın suşlarının epidemiyolojik olarak ilişkisiz olan diğer *Acinetobacter* izolatlarından ayrılabilmesi için izolatların tür altı (subspecies) düzeyde karşılaştırılması gerekir, bu amaçla kullanılan metotlar, epidemiyolojik tiplendirme yöntemleri olarak tanımlanır (3).

Tiplendirmede kullanılan biyokimyasal özellikler, antibiyotik duyarlılık paternleri, serotiplendirme, faj tiplendirmesi ve protein profilleri gibi fenotipik tiplendirme metotları günümüzde yerlerini nükleik asit dizilerine dayanan; plazmid profilleri, ribotipleme, PFGE, RAPD analizi, REP-PCR, AFLP analizi, MLST ve PCR-ESI-MS gibi moleküler tiplendirme yöntemlerine bırakmıştır (3).

Hastane enfeksiyonuna neden olan *Acinetobacter* türlerinin erken ve doğru olarak saptanması, gerekli enfeksiyon kontrol önlemlerinin hızla alınması ve enfeksiyonun büyük çaplı bir salgına dönüşmeden önlenmesi önemlidir. Bu çalışmadaki amacımız, hastanemizin çeşitli servislerinde ve yoğun bakımlarında yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen *A. baumannii* suşlarının antibiyotik direnç profillerinin saptanması ve bu suşlarının birbirleri ile arasında klonal ilişki olup olmadığının rep-PCR ile belirlenmesidir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *Acinetobacter* Cinsi

*Acinetobacter* cinsi “Subcommittee on the Taxonomy of *Moraxella* and Allied Bacteria” tarafından 1971 yılında resmi olarak kabul edilmiş ve tek tür olarak *Acinetobacter calcoaceticus* ismiyle *Neisseriaceae* ailesinde sınıflandırılmıştır (1, 13). Daha sonra yapılan taksonomik düzenlemeler sonucunda *Acinetobacter* cinsi *Moraxellaceae* ailesinde sınıflandırılmıştır. *Acinetobacter* cinsine ait taksonomik sıralama hücresel organizmalar ile başlar ve *Bacteria*; *Proteobacteria*; *Gammaproteobacteria*; *Pseudomonadales*; *Moraxellaceae*; *Acinetobacter* şeklinde sıralanır (1, 3, 14). *Acinetobacter* cinsine ait bakteriler; Gram negatif, non-fermentatif, zorunlu aerobik, ek besleyicilere gerek duymayan, hareketsiz, katalaz pozitif, oksidaz negatif kokobasiller olarak tanımlanır ve DNA G+C içeriği %39-47’dir (1, 3). Bununla birlikte Gram boyama preparatlarında değişiklik gözlenebilir ve morfolojik karakterler büyüme fazına bağlı olarak değişiklik gösterir. 20-30°C’de kompleks besiyerlerinde büyüme faktörleri kullanılmadan kolayca üretilebilirler (1).

#### 2.1.1. *Acinetobacter* Türleri ve Tarihçe

*Acinetobacter* türleri ilk olarak Hollandalı mikrobiyolog Beijerinck tarafından 1911 yılında, kalsiyum asetatlı bir besiyeri kullanılarak topraktan izole edilmiş ve *Micrococcus calcoaceticus* olarak adlandırılmıştır (3). Sonraki yıllarda benzer mikroorganizma farklı araştırmacılar tarafından 15’ten fazla farklı cins ve tür olarak tanımlanmıştır. Bunlardan en yaygın olanları arasında *Bacterium anitratum*, *Herellea vaginicola* ve *Mima polymorpha*, *Micrococcus calcoaceticus*, *B5W*, *Moraxella glucidolytica* ve *Moraxella lwoffii* sayılabilir (1, 3).

*Acinetobacter* kelimesi, Yunanca “akinetos” kelimesinden köken alır ve hareketsiz anlamına gelmektedir. Brisou ve Prevot, 1954 yılında, *Achromobacter* cinsindeki hareketsiz (non-motile) mikroorganizmaları hareketli (motile)



mikroorganizmalardan ayırmak için *Acinetobacter* ismini cins ismi olarak önermişlerdir. Ancak bu tanım 1968 yılında Baumann ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan sonra kabul görmüştür (3). 1968 yılında Baumann ve ark. (15) çalışmasına göre; daha önce tanımlanmış farklı türlerin tek bir cinse ait olduğu ve daha ileri bir sınıflandırmanın fenotipik karakterlere göre mümkün olmadığı ortaya konmuştur. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1974 yılı baskısında, *Acinetobacter* cinsi içerisinde *Acinetobacter calcoaceticus* tek tür olarak tanımlanmış ve listelenmiştir (3).

1986'da Bouvet ve Grimont (16) deoksiribonükleik asit hibridizasyon yöntemi ile *Acinetobacter* cinsini 12 hibridizasyon grubuna (genospecies) ayırmışlardır. Elde ettikleri 12 DNA grubundan 6'sını fenotipik özelliklere göre de gruplandırabilmişlerdir. DNA hibridizasyonu ve fenotipik testler sonucunda elde edilen *Acinetobacter* türleri: *A. calcoaceticus* (*Acinetobacter* gen. sp. 1), *A. baumannii* (*Acinetobacter* gen. sp. 2), *Acinetobacter haemolyticus* (*Acinetobacter* gen. sp. 4), *Acinetobacter junii* (*Acinetobacter* gen. sp. 5), *Acinetobacter johnsonii* (*Acinetobacter* gen. sp. 7), ve *Acinetobacter lwoffii* (*Acinetobacter* gen. sp. 8). Çalışmada *Acinetobacter* gen. sp. 8 ile *Acinetobacter* gen. sp. 9'un fenotipik testler ile ayrımı yapılamamıştır. 1988 yılında radyasyona dirençli bir *Acinetobacter* türü izole edilmiştir ve uygulanan fenotipik ve genotipik testler sonucunda *Acinetobacter radioresistens* olarak isimlendirilmiştir (17). 1989'da Bouvet ve Jeanjean (18) proteolitik *Acinetobacter* genomik türlerinden oluşan ve 13–17 arasında numaralandırılan 5 DNA grubu (*Acinetobacter* gen. sp.) tanımlamışlardır. Bunu takiben Tjernberg ve Ursing (19) 13–15 (*Acinetobacter* gen. sp.) olarak numaralandırılan 3 DNA grubu tanımlamışlar ve 12 numaralı DNA grubunun *Acinetobacter radioresistens* ile aynı olduğunu göstermişlerdir. Ancak, daha sonra yapılan çalışmalarda Tjernberg ve Ursing'in tanımladığı DNA grubu 14 (*Acinetobacter* gen. sp. 14TU) ile Bouvet ve Jeanjean' in tanımladığı DNA grubu 13 (*Acinetobacter* gen. sp. 13BJ) 'ün aynı olduğu gösterilmiştir (20). Ayrıca tanımlanan *Acinetobacter* türlerinden *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *Acinetobacter* gen. sp. 3 ve *Acinetobacter* gen. sp. 13TU'nun birbirlerine genetik olarak yakın türler olduğu ve fenotipik testlerle tür düzeyinde ayrılmasının zor olduğu belirtilmiş ve bu türler *A.calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks olarak adlandırılmıştır (20).

2001 ve 2003 yıllarında Nemec ve ark. (21, 22) klinik örneklerden izole edilen (*Acinetobacter ursingii*, *Acinetobacter schindleri* ve *Acinetobacter parvus*) 3 yeni

*Acinetobacter* türü tanımlamışlardır. Aynı zamanda atık su arıtma (aktif çamur; activated sludge) tesislerinden izole edilen (*Acinetobacter baylyi*, *Acinetobacter bouvetii*, *Acinetobacter grimontii*, *Acinetobacter tjernbergiae*, *Acinetobacter towneri*, *Acinetobacter tandoii* ve *Acinetobacter gernerii*) 7 yeni *Acinetobacter* türü bildirilmiştir (23). Ancak, daha sonra yapılan moleküler çalışmalarda *Acinetobacter grimontii* ile *Acinetobacter junii* suşunun aynı olduğu tespit edilmiş ve sinonim olarak sınıflandırılmıştır (24). 2008 yılında orman toprağından izole edilen (*Acinetobacter soli*) bir tür ve 2009 yılında ise insan ve hayvan örneklerinden ve klinik örnekten izole edilen 2 yeni tür (*A. Beijerinckii* ve *A. gyllenbergii*) bildirilmiştir (25, 26). DNA hibridizasyon grubu olarak numaralandırılan *Acinetobacter* gen. sp. 10, *Acinetobacter* gen. sp. 11, *A. calcoaceticuse*-*A. baumannii* kompleks içerisinde bulunan *Acinetobacter* gen. sp 3 ve *Acinetobacter* gen. sp 13TU fenotipik olarak diğer *Acinetobacter*'lerden ayrımı yapılarak sırasıyla *Acinetobacter berezinae*, *Acinetobacter guillouiae*, *Acinetobacter pittii* ve *Acinetobacter nosocomialis* olarak adlandırılmıştır (27, 28).

### 2.1.2. Mikrobiyolojik Özellikleri ve Laboratuvar Tanısı

*Acinetobacter* cinsi, zorunlu aerob, Gram negatif, katalaz pozitif, oksidaz negatif, hareketsiz, genellikle nitrat negatif ve nonfermentatif kokobasillerden oluşan mikroorganizmaları içerir. Bakteri hücreleri tipik olarak 1-1.5 ile 1.5-2.5 µm ölçümlerinde, bazen zor dekolarize olur ve genellikle çiftler halinde yerleşim gösterir. *Acinetobacter*'ler logaritmik üreme fazında basil şeklinde görülürken, sabit fazda hücreler kokobasil ya da kok şeklindedir. Pozitif kan kültür şişelerinden hazırlanan doğrudan yaymalarda Gram pozitif kok görünümde olabileceği konusu vurgulanmaktadır (1, 3, 29, 30).

*Acinetobacter*'ler nutrient agar, triptik soy agar ve koyun kanlı agar gibi genel laboratuvar besiyerlerinde 35-37°C'de kolayca üretilebilirler (1). *Acinetobacter* kolonileri düzgün S tipi kolonilerdir, ancak bazen mukoid koloniler oluşturabilirler. Koloniler opak ve *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerine göre daha küçüktür. Birçok suş, MacConkey agarda renksiz veya hafif pembe renkte koloniler oluşturur. Mikroorganizmanın, besiyeri içeriğinde bulunan kristal viyoleyi absorblaması sonucu

koloniler mor renkte görülebilir. Bazı *Acinetobacter* suşları daha zor ürer. Kanlı agarda ortası delik görünümde, beyaz koloniler meydana getirir (3, 29).

*Acinetobacter*'leri diğer Gram negatif nonfermentatif bakterilerden ayıran kesin bir metabolik test yoktur. Mutant *A. baylyi* BD13 trp E27 suşunun DNA transformasyonu ile *Acinetobacter*'ler cins düzeyinde tanımlanabilir (3, 30, 31).

Oksidaz testi, *Acinetobacter* türlerini diğer nonfermentatif bakterilerden ayırmayı sağlayan hızlı bir testtir. Bunun dışında klinik örneklerden doğrudan *Acinetobacter spp.* izolasyonunu sağlayan seçici besiyerleri tanımlanmıştır. Seçici ve ayırıcı besiyeri olarak tanımlanan Herellea agar; pepton, kazein, sodyum klorür, safra tuzu, maltoz, laktoz ve bromkresol moru içerir. *Acinetobacter*'lerin klinik ve çevresel örneklerden izolasyonunda kolaylık sağlayan diğer besiyeri ise Leeds *Acinetobacter* Medium'dur (1, 32). Çevre tarama örneklerinde ya da *Acinetobacter* sayısının az olabileceği örneklerde, sıvı besiyerinde zenginleştirme kültürü yapılması yararlıdır. Örnekler tek karbon kaynağı ve enerji kaynağı içeren, azot kaynağı olarak nitrat tuzu bulunan mineralli sıvı besiyerlerinde 24 ile 48 saat 35-37°C inkübe edilir. İnkübasyon sonunda katı besiyerlerine pasajlanır ve üreyen kolonilerden tür identifikasyonu yapılır (1).

*Acinetobacter* türlerinden *A. haemolyticus* ve *Acinetobacter* gen. sp. 6, 13BJ, 14BJ, 15BJ, 16 ve 17 koyun kanlı agarda hemoliz oluşmasına neden olur. Ancak, *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks hemoliz oluşturmaz (3). Glikozu okside eden bazı *Acinetobacter* türleri, tirozin içeren kalp infüzyon agarda veya glikoz eklenmiş kanlı agarda kahverengi renk değişimine neden olmaktadır. Bu fenomen, MacConkey ve Mueller-Hinton besiyerlerinde de gözlenmiştir (29).

*Acinetobacter* türlerinin fenotipik olarak identifikasyonu için geliştirilen identifikasyon şeması *Acinetobacter* türlerinin çoğunun ayrımını sağlamasına rağmen bütün türlerin ayrımı için yeterli değildir (4). *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks olarak adlandırılan 4 *Acinetobacter* türünün (*A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *Acinetobacter* genomic species 3 ve *Acinetobacter* genomic species 13TU) fenotipik olarak benzer özelliklere sahip olmasından dolayı fizyolojik ve biyokimyasal testlerle ayırt edilmeleri zordur (4, 20, 30). Bu kompleks içerisinde yer alan türlerden *A. baumannii*, *Acinetobacter* gen. sp. 3 ve *Acinetobacter* gen. sp. 13TU, klinik örneklerden izole edilmesi anlamlı olan *Acinetobacter* türleridir ve nozokomiyal

enfeksiyonlara neden olurlar. Kompleks içerisinde yer alan *A. calcoaceticus* ise çevresel kaynaklı bir türdür (4, 30).

*Acinetobacter*'lerin tür düzeyinde sınıflandırılmasında DNA-DNA hibridizasyon yöntemi, referans standart yöntem olarak kabul edilir. Ancak, hem DNA-DNA hibridizasyon yöntemi hem de fenotipik yöntemler çok emek isteyen yöntemlerdir ve rutin mikrobiyolojik laboratuvar işlemleri için kullanışlı değildir (3).

Bu yöntemlerin dışında *Acinetobacter*'lerin tür düzeyinde identifikasyonunu sağlayacak çeşitli moleküler yöntemler geliştirilmiştir.

- Genom DNA-DNA hibridizasyonu (16).
- Genom parmak izi analizi: Amplified fragment length polymorphism (AFLP) (33).
- Restriksiyon enzim analizi: Amplified ribosomal DNA (16S rDNA) restriction analysis (ARDRA) (34).
- Restriksiyon enzim analizi: *16S-23S rRNA* intergenic spacer sequences (35).
- Ribotiplendirme (36).
- Sekans analizi: *16S-23S rRNA* Gene Spacer Region (37).
- Sekans analizi: RNA polimeraz subunit gen (*rpoB*) ve flanking spacers (38).
- Bazı gen kompozisyonların amplikon bazı analizi: Multilocus PCR, electrospray ionization mass spectrometry (PCR/ESI-MS) (39).

ARDRA ve AFLP analizi *Acinetobacter* türlerinin identifikasyonunda yaygın olarak kullanılan yöntemler haline gelmiştir. Bütün bu moleküler yöntemler *Acinetobacter* türlerinin epidemiyolojisinin ve klinik öneminin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamıştır. Ancak, bu yöntemlerin tanısal mikrobiyolojide günlük uygulaması çok zahmetlidir, ayrıca bu yöntemlerin kullanımı referans laboratuvarlarıyla sınırlıdır (3). Turton ve ark. (40) yaptıkları çalışmada, *Acinetobacter spp.* izolatlarında *bla<sub>OXA-51-like</sub>* karbapenemaz geni tespit edilen suşların *A.baumannii* olarak tanımlandığını bildirmişlerdir.

Tür identifikasyonunda kullanılmakta olan API 20 NE, Vitek 2, Phoenix ve MicroScan WalkAway gibi manuel ve yarı otomatik ticari identifikasyon sistemlerinin, tür identifikasyonunda halen problemleri vardır. Özellikle klinik olarak önemli olan ve

*A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks içerisinde yer alan 3 *Acinetobacter* türü (*A. baumannii*, *Acinetobacter* gen. sp. 3 ve *Acinetobacter* gen. sp.13TU) ticari identifikasyon sistemleri ile ayırt edilememiştir (3).

### 2.1.3. Patogenez ve Virülans Faktörleri

*Acinetobacter baumannii* fırsatçı bir patojendir ve sıklıkla nozokomiyal enfeksiyonlara neden olur. *A. baumannii* kolonizasyonları neden olduğu enfeksiyonlara göre daha fazladır ve duyarlı hasta gruplarında dahi patojenitesi düşüktür. Ancak, enfeksiyon gelişirse ağır seyreder (4). *Acinetobacter*'lerin virülans potansiyelleri ile ilgili geniş çaplı araştırmalar yapılmasına rağmen gerçek patojenite potansiyelleri ve virülans repertuarları hakkındaki bilgiler azdır (30, 41).

DNA sekans analizi çalışmalarında *Acinetobacter baumannii* virülansı ile ilgili 16 gen adası tanımlanmıştır. Bu genlerden bazıları, hücre-zarf biyogenezi, antibiyotik direnci, pilus biyogenezi, otoindüktör üretimi ve lipid metabolizması ile ilgili genleridir (4).

Kuruluğa, dezenfektanlara ve antibiyotiklere karşı direnç gelişimi bakterilerin çevresel şartlarda hayatta kalmasını sağlar. *A. baumannii* olağanüstü metabolik değişkenliği sayesinde hastalarda ve hasta odalarında çoğalır. Tıbbi cihazlarda, endotrakeal tüplerde ya da intravasküler kataterlerde biyofilm oluşumu gözlenirse; bu biyofilmler bakterilerin hastalarda kolonize olmasına neden olur ve hastaların solunum yolunda ya da dolaşım sisteminde enfeksiyon riskini artırır (4).

Antibiyotiklere, cildin koruyucu şartlarına (kuruluk, düşük pH, normal flora ve toksik lipidler) ve mukoz membranlara (mukus, laktoferrin, laktoperoksidaz ve hücre dökülmesi) karşı direnç, antibiyotik tedavisi alan konaklarda bakterilerin hayatta kalabilme ön koşuludur. İn vitro ve hayvan deneylerinde *A. baumannii* enfeksiyonlarında rol oynayan çeşitli faktörler tanımlanmıştır. Dış membran protein A (OmpA)'nın sitotoksik etkisi, demir kazanma mekanizması ve serum direnci bakterilerin dolaşım sisteminde hayatta kalmasını sağlayan özellikleridir (4). *A. baumannii* dış membran proteini (OMP38) OmpA, bakterinin hastalık oluşturabilmesinde önemli etkisi vardır. İnsan laringeal epitel hücresi *Hep-2* ve

*A.baumannii* ile yapılan çalışmada OmpA'nın konak epitel hücresinde apoptozisi indüklediği gösterilmiştir. OmpA'nın hücre mitokondrisini parçalayarak sitokrom c ve apoptozis indükleyici faktörün (AIF) sitozole geçerek hücre apoptozisini indüklediği bildirilmiştir (30, 41). OmpA, hücre yüzeyinde en fazla bulunan proteindir ve biyofilm oluşumunda ve dirençte yer alır (30).

*A. baumannii*, cam ve yoğun bakım ünitesinde kullanılan ekipmanlar gibi cansız yüzeylerde ya da epitel hücreleri gibi canlı yüzeylerde biyofilm oluşturur. Biyofilm oluşumunu kontrol eden faktörler arasında besin durumu, pili bulunması, yüzey membran proteini ve makromoleküler salgılar yer alır. *A. baumannii*'nin belirli bir yüzeye tutunmasından sonra pili ve biyofilm ilişkili protein (BAP) biyofilm üretimini başlatır. Pili cansız bir yüzeye tutunduğu zaman önce mikro koloniler oluşur ve bunu biyofilm yapısının gelişmesi takip eder. BAP bakteri hücresinin yüzeyinde bulunur, canlı ve cansız yüzeylerde üretilen biyofilmlerin stabilizasyonunu sağlar. Çevrede bulunan metal katyonlar da *A. baumannii*'nin yüzeylere tutunma yeteneğini arttırarak biyofilm kontrolünde rol oynar (30). Quorum sensing ise biyofilm oluşturma sürecinde, bakterilerin metabolik olayların kontrolünde önemlidir (4).

*A. baumannii*'nin virülans özelliğini sağlayan diğer önemli protein ise fosfolipaz D ve C'dir. Fosfolipaz D bakteri hücresinin insan serumuna direnç göstermesini sağlar ve patogeneze rol oynar. Fosfolipaz C epitel hücrelere karşı toksisite geliştirir. OmpA ile birlikte hücre yüzeyinde eksprese edilen fimbrialar ise bakterinin konak epiteline tutunmasına ve patogeneze katkı sağlar (30). Çevresel bulaştan kolonizasyona ve enfeksiyona doğru giden olaylar zincirinde *A. baumannii*'nin başarılı olması, çeşitli koşullara adaptasyon yeteneği ve antibiyotiklere direnç geliştirmesi ile açıklanabilir (4).

#### **2.1.4. Epidemiyoloji**

*Acinetobacter* türlerinin sıklıkla toprakta, suda ve kuru çevrelerde bulunması; hastane ortamından, yiyeceklerden ve hayvanlardan izole edilmesi, bu cinse ait üyelerin her yerde bulunabilen mikroorganizmalar olarak kabul edilmesini sağlamıştır. *Acinetobacter* türleri Gram negatif bakteriler arasında insan cildinde doğal olarak bulunan tek grup olarak görülmektedir (2).

Almanya’da yapılan bir çalışmada deri ve mukozal membranlarda *Acinetobacter spp.* taşıyıcılığının hastalarda (%75) ve kontrol grubunda (%42,5) yüksek olduğu bildirilmiştir (2). Örnekleme, vücudun dokuz farklı bölgesinden yapılmış ve ellerde %26, kasıkta %25, ayak parmak arasında %24, alında %23 ve kulakta %21 oranında *Acinetobacter spp.* izole edilmiştir. Çalışmada izole edilen türler *Acinetobacter lwoffii* %47, *A. johnsonii* %21, *A. radioresistens* % 12 ve *Acinetobacter gen. sp.* 3 %11 olarak bulunmuştur. Ancak, klinik olarak önemli olan *A. baumannii* ve *A. nosocomialis* (DNA grup 13TU) türlerinin nadiren kolonize olduğu (sırasıyla %0,5 ve 1) bildirilmiştir (2). Benzer bir çalışmada, sağlıklı gönüllülerde *Acinetobacter spp.* taşıyıcılığı %44 olarak bildirilmiştir. Çalışmada, bakterilerin en sık izole edildiği vücut bölgeleri ön kol %51, alın %47 ve ayak parmak arası %34 ve izole edilen türler *A. lwoffii* %61, *Acinetobacter gen. sp.* 15BJ %12,5 ve *A. radioresistens* %8 oranında raporlanmıştır. *A.baumannii-A. calcoaceticus* kompleks ise sadece 1 sağlıklı gönüllüden bildirilmiştir (42).

Hong Kong’tan bildirilen çalışmada, deri ve mukozal membran taşıyıcılığı Avrupa’dan farklı olarak *A. pittii* %32, *A. nosocomialis* %14 ve *A.baumannii* %4 bulunmuştur. Ayrıca, *Acinetobacter spp.* taşıyıcılığının mevsimlere göre değiştiği ve yaz mevsiminde taşıyıcılığın anlamlı bir şekilde arttığı belirtilmiştir (43).

Dijkshoorn ve ark. (44) sağlıklı bireylerin gaita örneklerinde Hollanda’da %24,6, Birleşik Krallık’ta ise %3 oranında *Acinetobacter spp.* taşıyıcılığı bildirmişlerdir. Hollanda’da izole edilen türler sırasıyla; *A. Johnsonii* %17,5, *A. guillouiae* %4,0, *A. junii* %1,6, *A. ursingii* %1,6, *A. baumannii* %0,8, *A. lwoffii* %0,8, *A. berezinae* %0,8 ve *A. pittii* %0,8 olarak bildirilmiştir. *A. johnsonii* sindirim sisteminde baskın tür olarak görülürken klinik olarak önemli olan *A. baumannii* insan bağırsağında önemli bir yer teşkil etmez ve toplumsal bir rezervuar oluşturmaz. İspanya’da yoğun bakım ünitesinde çoklu ilaç direnci olan *A. baumannii* fekal kolonizasyonu %41 olarak bildirilmiştir ve fekal çoklu ilaç direnci olan *A. baumannii* kolonizasyonu olan hastaların kolonizasyon olmayanlara göre klinik enfeksiyon sıklığının daha yüksek olduğu (sırası ile %26 ve %5) belirtilmiştir. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda, sindirim sistemi dirençli *A. baumannii* için epidemiyolojik rezervuar görevi oluşturabilir (45).

Bir çalışmada, imipenem dirençli *A. baumannii* bakteriyemisi olan 7 hastanın 6'sından elde edilen perirektal kolonizasyon izolatları kan kültür izolatları ile genetik olarak benzer olduğu tespit edilmiştir (46).

Berlau ve ark. (47) *Acinetobacter* türlerinin sebzelerdeki dağılımını araştırmışlar ve 177 örnekten 30'unda (%17) pozitif sonuç elde etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçta *A. baumannii* %27 ve *A. guillouiae* %27 oranında baskın türler olduğu ve *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks içerisinde bulunan *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. pittii* ve *A. nosocomialis*'in izole edilen diğer türlere göre siprofloksasin ve gentamisine daha dirençli olduğu bulunmuştur. Ayrıca, sebzelerin *A. baumannii* için rezervuar ortam sağladığı bildirilmiştir.

Houang ve ark. (48) 41 sebze örneğinin 21 (%51)'inde pozitif sonuç elde etmişler ve en sık *A. pittii* (15 izolat) izole edildiğini ve *A. baumannii*'nin sadece 1 örnekte görüldüğünü bildirmişlerdir. Balık ve etlerden yapılan kültürlerde (53/74) %74 oranında pozitiflik saptanmış, ancak sadece 1 örnekte *A. baumannii* izole edilmiştir (48).

Bir veteriner hastanesinde geriye dönük yapılan moleküler tiplendirme çalışmasında *A. baumannii*'nin kedi ve köpeklerde nozokomiyal enfeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir (49).

Fransa'da evsiz kişilerin vücut bitlerinde *Bartonella quintana* araştırması sırasında *A. baumannii* izole edildiği raporlanmıştır. Çalışmanın devamında dünyanın farklı bölgelerinden 622 insan vücudu biti toplanmış ve 130 (%21) *A. baumannii* izole edildiği bildirilmiştir (50).

*Acinetobacter* türleri doğada geniş bir yayılım alanına sahiptir (3).

- *A. calcoaceticus*: Su, toprak ve sebzeler
- *A. pittii*: Su, toprak, sebzeler ve insan cildi
- *A. johnsonii*: Su, toprak, insan cildi ve gaita
- *A. lwoffii*: İnsan cildi
- *A. radioresistens*: İnsan cildi
- *A. guillouiae*: Su, toprak, sebzeler ve insan sindirim sistemi
- *A. nosocomialis*: İnsan cildi



- *A. baumannii*: Toplumda taşıyıcılık oranı daha azdır. Toprakta ve sebzelerde izole edilmiş olmasına rağmen tipik bir çevresel organizma olarak görülmez. Toplumsal kaynaklı enfeksiyonlar tropikal iklimlerde belki çevresel kaynaklı olarak meydana gelebilir.

#### 2.1.4.1. *Acinetobacter* Türlerinin Klinik Örneklerdeki Dağılımı

*A. baumannii*, *Acinetobacter* türleri arasında nozokomiyal enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan tür olduğu birçok çalışmada raporlanmış ve desteklenmiştir (1). İnsan klinik örneklerinden izole edilen *Acinetobacter spp.* dağılımını gösteren ilk çalışmalardan birisinde; 584 *Acinetobacter* suşunun tür identifikasyonu yapıldığında en sık izole edilen türün (n= 426; %72.9) *A. baumannii* olduğu ve diğer türlerin (%27.1) sırasıyla *A. pittii* (n=55), *A. johnsonii* (n=29) ve *A. lwoffii* (n=21) olduğu bildirilmiştir. Ayrıca suşların izole edildiği örnek dağılımına bakıldığında; en fazla izolatin solunum yolu örneklerinden (n=251; %42,9) sağlandığı ve sırasıyla kan kültürleri (n=116; %19,9), yara örnekleri (n=90; %15,4), kateter ucu (n=75; %12,8) ve idrar örnekleri (n=20; %3,4) *Acinetobacter spp.* izole edilen klinik örnekler olarak belirtilmiştir. *A. baumannii* dışındaki türlerin sıklıkla kan kültürlerinden, solunum yolu örneklerinden ve santral venöz kateterlerinden izole edildiği gösterilmiştir (51).

Danimarka'dan, 23 *A. calcoaceticus-A.baumannii* kompleks klinik izolatu 8 *A. pittii*, 6 *A. nosocomiali* ve 5 *A. baumannii* şeklinde yakın değerlerde dağılım gösterdiği bildirilmiştir (52). Hollanda'dan bir çalışmada, 5 *Acinetobacter spp.* nozokomiyal epidemisinde en sık *A. baumannii* (3 salgın) etken olarak izole edilmiştir, *A. pittii* (1 salgın) ve *Acinetobacter gen. sp.* 13TU (1 salgın) salgınlara neden olan diğer türlerdir (53). Daha sonra yapılan birçok çalışmada klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde *A. baumannii* hâkimiyeti olduğu gösterilmiştir (54) (Çizelge 2.1.).

Hollanda, Hong Kong ve İrlanda'dan bildirilen çalışmalarda *A. pittii* (*Acinetobacter gen. sp.* 3) hakimiyeti görülmüştür (43, 55, 56). Birleşik Krallık'tan *A. baumannii* haricindeki türlerin sıklığına bakıldığında *A.lwoffii* en sık görülen tür olarak raporlanmıştır (57). *A. calcoaceticus-A. baumannii* kompleks dışında kalan *A. lwoffii*, *A. ursingii*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii*, *A. parvus*,

*A. radioresistens* ve *A. beijerinckii* gibi *Acinetobacter* türleri nozokomiyal enfeksiyonlarda daha az izole edilir ve genellikle olgu raporları şeklinde bildirilmektedir. *Non-A.baumannii* izolatları çoğunlukla kan kültürlerinden sepsisemi, endokardit, kateter ilişkili bakteriyemi ve solunum yolu enfeksiyonlarında izole edilirler (51, 57).

**Çizelge 2.1.** *Acinetobacter* türlerinin klinik örneklerde dağılımı (58)

| Ülke-Yıl          | Toplam <i>Acinetobacter</i> suşu   | Tür Dağılımı  | Yöntem                                       | Sonuç   | Kaynak |
|-------------------|--|---|--|---|--------|
| Fransa<br>1986    | 181 suş klinik örneklerden ve farklı kaynaklardan izole edilmiş  | <i>A. baumannii</i> (n=100)<br><i>A. lwoffii</i> (n=25)<br><i>A. haemolyticus</i> (n=13)<br><i>A. junii</i> (n=13)<br><i>A. pittii</i> (n=11)<br><i>A. johnsonii</i> (n=11)<br><i>A. calcoaceticus</i> (n=5)<br><i>Acinetobacter</i> gen. sp. 6 (n=1)<br><i>A. guillouiae</i> (n=1)<br><i>A. radioresistens</i> (n=1)                         | Fenotipik ve biyokimyasal                    | <i>A. calcoaceticus</i> topraktan izole edilmiş. Gen. sp 1-3 fenotipik olarak yakın bulunmuştur ve gen. sp. 1 ve 2 41 ve 44°C'de üreme özelliğine göre ayrılabilir. | (16)   |
| Danimarka<br>1993 | 23 klinik izolat fenotipik olarak <i>A. calcoaceticus</i> - <i>A. baumannii</i> kompleks olarak tanımlanmış. | <i>A. pittii</i> (n=8)<br><i>A. nosocomialis</i> (n=6)<br><i>A. baumannii</i> (n=5)<br><i>Acinetobacter</i> gen. sp. 13TU benzeri (n=2)<br><i>Acinetobacter</i> gen. sp. 1 ve 3 benzeri (n=2)   | DNA-DNA Hibridizasyonu                       |   | (52)   |
| Almanya<br>1993   | 584 <i>Acinetobacter</i> , 12 hastanedeki 420 hastadan izole edilmiş.  | <i>A. baumannii</i> (n=426)<br><i>A. pittii</i> (n=55)<br><i>A. johnsonii</i> (n=29)<br><i>A. lwoffii</i> (n=21)<br><i>A. junii</i> (n=11)<br><i>A. haemolyticus</i> (n=9)<br><i>A. berezinae</i> (n=9)<br><i>A. guillouiae</i> (n=4)<br><i>A. radioresistens</i> (n=3)<br><i>Acinetobacter</i> gen. sp. 6 (n=1)<br>Sınıflandırılmayan (n=16) | Fenotipik ve biyokimyasal tiplendirme şeması | En sık izolasyon solunum yolu (%42.9), kan kültürleri (%19.9), yara (%15.4) ve katater ucu (%12.8) örneklerinden elde edilmiştir.                                   | (51)   |

**Çizelge 2.1.** *Acinetobacter* türlerinin klinik örneklerde dağılımı (devamı)

| Ülke-Yıl              | Toplam <i>Acinetobacter</i> suşu   | Tür Dağılımı   | Yöntem                                 | Sonuç  | Kaynak |
|-----------------------|--|--|--|--|--------|
| Hollanda<br>1989/1990 | 38 <i>Acinetobacter</i> izolatının 6'sı çevreden 32'si (3 hastadan 1988; 29 izolat 21 hastadan 1989/1990) klinik örneklerden elde edilmiş. | <i>A. pittii</i> (n=29)<br><i>A. baumannii</i> (n=3)<br><i>Acinetobacter</i> gen.sp.<br>14TU(n=3)<br><i>A. junii</i> (n=1)<br>Sınıflandırılmayan (n=2)   | DNA-DNA<br>hibridizasyon               | Gen. sp. 3 ( <i>A. pittii</i> ) nozokomiyal enfeksiyonlara neden olarak salgınlar oluşturabilir.   | (56)   |
| A.B.D<br>1995/1998    | 129 kan kültür suşu, 24 hastaneden elde edilmiş.   | <i>A. baumannii</i> (n=111)<br><i>A. pittii</i> (n=11)<br><i>A. radioresistens</i> (n=4)<br><i>A. junii</i> (n=2)<br><i>A. guillouiae</i> (n=1)  | Fenotipik ve<br>biyokimyasal<br>yöntem | <i>Acinetobacter</i> spp. nozokomiyal dolaşım sistemi enfeksiyonlarının %1.5'ini oluşturmaktadır ve yoğun bakım ünitelerinde diğer Gram negatiflerden daha yüksek oranda etken olarak görülmektedir. | (59)   |
| İspanya<br>2000       | 244 suş 28 hastaneden elde edilmiş.  | <i>A. baumannii</i> (n=226)<br><i>A. pittii</i> (n=15)<br>Sınıflandırılmayan (n=3)   | ARDRA                                  | <i>Acinetobacter</i> gen. sp 3 ( <i>A. pittii</i> ) 44°C'de %46.6 (7/15) oranında üreme gösterdiği tespit edilmiştir.  | (60)   |
| Kore<br>2004/2005     | 232 suş, 2 hastaneden elde edilmiş.  | <i>A. baumannii</i> (n=142)<br><i>A. nosocomialis</i> (n=60)<br><i>A. pittii</i> (n=14)<br><i>A. berezinae</i> (n=4)<br><i>A. junii</i> (n=2)<br><i>A. johnsonii</i> (n=1)<br><i>Acinetobacter</i> gen. sp. 14BJ (n=1)<br>Sınıflandırılmayan (n=8) | ARDRA                                  | En fazla antibiyotik direnci gösteren tür <i>A.baumannii</i> olarak bulunurken; <i>A. nosocomialis</i> en fazla imipenem direnci gösteren tür olarak tespit edilmiştir.                              | (61)   |
| Kore<br>2004/2005     | 58 suş Vitek 2 GNI kart ile <i>A.calcoaceticus</i> - <i>A.baumannii</i> kompleks olarak tanımlanmış.                                       | <i>A. baumannii</i> (n=40)<br><i>A. nosocomialis</i> (n=9)<br><i>Acinetobacter</i> gen. sp. 13TU benzeri (n=5)<br><i>A. pittii</i> (n=4)   | ARDRA                                  |  | (62)   |

**Çizelge 2.1.** *Acinetobacter* türlerinin klinik örneklerde dağılımı (devamı)

| Ülke-Yıl                 | Toplam <i>Acinetobacter</i> suşu   | Tür Dağılımı   | Yöntem                         | Sonuç  | Kaynak |
|--------------------------|--|--|--------------------------------|--|--------|
| Teksas, ABD<br>2005/2006 | 107 suş, 107 hastandan elde edilmiş ve <i>A. calcoaceticus</i> - <i>A. baumannii</i> kompleks olarak tanımlanmış.                                    | <i>A. baumannii</i> (n=87)<br><i>A. pittii</i> (n=15)<br><i>A. nosocomialis</i> (n=3)<br>Sınıflandırılmayan (n=2)  | ARDRA                          | <i>A. baumannii</i> 63 olgunun 61'inden ve 44 kolonizasyonun 26'sından izole edilmiştir ve %90'dan fazlası çoklu ilaç direncine sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, PFGE ile 87 <i>A.baumannii</i> izolatının 44'ü A ve 20'si B ana klonunu oluşturmuştur. | (63)   |
| Fransa<br>2001/2005      | 99 suş, çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş.  | <i>A. baumannii</i> (n=52)<br><i>A. pittii</i> (n=27)<br><i>A. haemolyticus</i> (n=10)<br><i>A. schindleri</i> (n=5)<br><i>A. lwoffii</i> (n=1)<br><i>A. nosocomialis</i> (n=1)<br><i>A.gen.sp.9</i> (n=3)   | 350 bp rpoB gen sekans analizi | <i>A. pittii</i> , <i>A. baumannii</i> 'den sonra en sık izole edilen tür olurken <i>A. schindleri</i> de <i>Acinetobacter</i> ilişkili enfeksiyonlardan izole edilebileceği vurgulanmıştır.   | (54)   |
| İrlanda<br>2005/2007     | 114 suş, Vitek 2 GNI kart ile <i>A.baumannii</i> (77), <i>A. lwoffii</i> (31), <i>A. junii</i> (2) ve <i>A. haemolyticus</i> (4) olarak tanımlanmış. | <i>A. pittii</i> (n=45)<br><i>A. baumannii</i> (n=25)<br><i>A. johnsonii</i> (n=12)<br><i>A. ursingii</i> (n=8)<br><i>A. lwoffii</i> (n=7)<br><i>A. calcoaceticus</i> (n=5)<br><i>A. guillouiae</i> (n=4)<br><i>A. nosocomialis</i> (n=2)<br><i>A. radioresistens</i> (n=2)<br><i>A. berezinae</i> (n=1)<br><i>A. haemolyticus</i> (n=1)<br><i>A. schindleri</i> (n=1)<br><i>A. tjernbergiae</i> (n=1) | 500bp rpoB gen sekans analizi  | Vitek 2 GNI kart ile <i>A.baumannii</i> 77/114 bulunurken rpoB sekans analizi ile 25/114 bulunmuş ve vitek 2 GNI kartı ile izolatların %75'i yanlış <i>Acinetobacter</i> türü olarak tanımlanmış.  | (55)   |

Çizelge 2.1. *Acinetobacter* türlerinin klinik örneklerde dağılımı (devamı)

| Ülke-Yıl                      | Toplam <i>Acinetobacter</i> suşu      | Tür Dağılımı  | Yöntem   | Sonuç   | Referans |
|-------------------------------|---------------------------------------|---|--|---|----------|
| Birleşik Krallık<br>2008/2009 | 690 suş, 135 hastaneden elde edilmiş. | <i>A. baumannii</i> (n = 538)<br><i>A. lwoffii</i> (n =61)<br><i>A. ursingii</i> (n =28)<br><i>A. pittii</i> (n=12)<br><i>A. johnsonii</i> (n=11)<br><i>A. parvus</i> (n=9)<br><i>Acinetobacter</i> gen. sp. 13BJ (n=6)<br><i>A. radioresistens</i> (n =4)<br><i>A. baylyi/A guillouiae</i> (n=3)<br><i>A. calcoaceticus</i> (n=3)<br><i>A. nosocomialis</i> (n=2)<br><i>A. haemolyticus</i> (n=2)<br><i>A. junii</i> (n=2)<br><i>A. beijerinckii</i> (n=1)<br><i>A. bereziniae</i> (n=1)<br><i>A. gyllenbergii</i> (n=1)<br><i>A. schindleri</i> (n=1)<br><i>Acinetobacter</i> gen. sp. 15TU (n=1)<br><i>Acinetobacter</i> gen. sp. 16 (n=1)<br>tanımlanamayan (n=3) | <i>rpoB</i> sekans analizi   | <i>A. baumannii</i> dışındaki izolatların çoğu bakteriyemi ya da septisemi ilişkili ve bazı türler ( <i>A. johnsonii</i> , genomic species 13 ve <i>A. beijerinckii</i> ) endokardit etkeni olarak tanımlanmış. | (57)     |
| Kore-2008                     | 547 suş, 19 hastaneden elde edilmiş.  | <i>A. baumannii</i> (n= 388)<br><i>A. nosocomialis</i> (n=82)<br><i>A. pittii</i> (n=62)<br><i>A. bereziniae</i> (n=13)<br><i>Acinetobacter</i> gen. sp. 14 TU (n=2)  | ATB 32 GN Sistem ve 16S–23S rRNA intergenik spacer region sekans analizi |   | (64)     |

ARDRA: Amplified ribosomal DNA restriction analysis

## 2.2. Nozokomiyal Enfeksiyonlar

*Acinetobacter*'ler fırsatçı patojenlerdir ve genellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda enfeksiyonlara neden olurlar. Hastane kökenli *Acinetobacter* enfeksiyonları; ventilatör ilişkili pnömoni, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, sekonder menenjit ve dolaşım sistemi enfeksiyonlarıdır. Her ne kadar *A. pittii* ve *A. nosocomialis* bu enfeksiyonlara neden olsa da hastane enfeksiyonları ile anılan asıl tür *A. baumannii*'dir. Hastane enfeksiyonlarında görülen diğer *Acinetobacter* türleri, *A. johnsonii*, *A. junii*, *A. lwoffii*, *A. parvus*, *A. radioresistens*, *A. schindleri* ve *A. ursingii* nadir olarak kateter ilişkili dolaşım yolu enfeksiyonlarına neden olur. Hayati tehlikeye neden olabilecek sepsisler dışında bu enfeksiyonların mortalite oranı düşüktür ve klinik seyri iyidir. Bu türler, kontamine infüzyon sıvıları ile ilişkili olarak nadiren salgınlara neden olmuşlardır (4).

*A. baumannii* enfeksiyonlarının gelişmesine ya da bakterinin bulaşmasına neden olan risk faktörleri diğer MDR organizmalar ile benzerdir. Bu faktörler: i) Konak ile ilgili faktörler; altta yatan bir hastalığın olması ve immün sistemin baskılanması, cerrahi operasyon geçirmiş olmak, majör travma (özellikle yanıklar) bulunması ve prematüre yenidoğanlar, solunum yetmezliği ve organ yetmezliği *A. baumannii* ile fırsatçı enfeksiyon riski daha fazla olan hasta grubunu oluşturur. ii) Bakteriye maruz kalma ile ilgili faktörler; yoğun bakım ünitesinde kalmış olmak, hastanede ya da yoğun bakım ünitesinde kalış süresinin uzunluğu, enfeksiyon kontrol önlemlerinin düşük olması, *A. baumannii*'nin endemik olarak hastanede bulunması ve kontamine tıbbi ekipmanlara maruz kalmak bakteri bulaşımı arttıran risk faktörleridir. iii) Tedavi ile ilgili faktörler; mekanik ventilasyon, intravasküler kateter, idrar kateteri ve drenaj tüpleri gibi vücuda kalıcı cihazların takılması, invaziv prosedürlerin sayısı ve daha önce uygulanan antimikrobiyal tedavi risk faktörleri arasındadır (6). Yanık tedavisinde kullanılan hidroterapi ve yara debridmanında kullanılan pulsatil lavaj tedavisi gibi bazı durumlara özgü risk faktörleri de tespit edilmiştir (65, 66).

*A. baumannii* nozokomiyal enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan klinik bulgular, dolaşım yolu ve solunum yolu enfeksiyonlarıdır. Her iki durum da ciddi morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Yoğun bakım, intravasküler kateter, geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi, mekanik ventilasyon, yanıklar ve cerrahi işlemler bu enfeksiyonları

arttırmaktadır (67, 68). Enfeksiyonun başlangıcındaki septik şok, altta yatan hastalık, hastalığın şiddeti ve mekanik ventilasyon ölümüne neden olan risk faktörlerdir. Bakteriyemik *A.baumannii* pnömonisi özellikle kötü prognoza sahiptir (67, 68). *A.baumannii* sinir sistemi enfeksiyonlarında, sinir sistemi cerrahisi geçirmiş hastalarda karakteristik klinik bulgu serebrospinal şant-ilişkili menenjitidir (69). Yara enfeksiyonları, ciddi yanıkları ya da travmaları olan hastalarda ve yaralanan askerlerde raporlanmıştır (10, 65). İdrar yolu enfeksiyonları, kalıcı idrar yolu kateterleri ile ilişkilidir ve klinik seyri daha iyidir. Ayrıca rehabilitasyon merkezlerinde görülen enfeksiyon sıklığı yoğun bakımlardakinden daha fazladır (4).

Nozokomial *A. baumannii* enfeksiyonlarının klinik etkisi tartışılmaya devam eden bir sorundur. Birçok çalışmada, *A. baumannii* bakteriyemisi ya da pnömonisine bağlı yüksek mortalite oranları raporlanmıştır. Fakat, *A. baumannii* alta yatan ciddi hastalığı olan ve kötü prognoz gösteren hastalarda etkilidir. Bu yüzden *A.baumannii* enfeksiyonuna bağlı olarak belirtilen mortaliteler *A. baumannii* enfeksiyonları sonucuna bağlı olmaktan çok altta yatan hastalıkların sonucudur (4).

Blot ve ark. (70) *A. baumannii*'nin bağımsız olarak mortaliteye etkisini araştırdıkları çalışmada; *A. baumannii* enfeksiyonuna sahip hastaların yoğun bakımda kalış sürelerinin ve ventilatöre bağlı kalma sürelerinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu ve mortalite oranlarının da olgularda ve kontrollerde sırasıyla % 42,2 ve %34,4 olduğunu bulmuşlardır. Ancak, *A. baumannii* bakteriyemisinin mortalite artışında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olmadığı sonucuna varmışlardır. Benzer bulgular *A. baumannii* pnömonisi için de Garnacho ve ark. (71) tarafından bildirilmiştir. Fakat, Falagas ve ark (72) ‘‘PubMed’’ ve ‘‘Cochrane Library’’ veritabanlarında bulunan kohort ve olgu kontrol çalışmalarını tarayarak yaptıkları çalışmada *A. baumannii* enfeksiyonlarının, mikroorganizma ile enfekte olmayan kontrol grubuna göre, mortaliteyi artırıcı etkisinin %7.8 ile %23 oranında değiştiği sonucuna varmışlardır. Ayrıca, bu oranın yoğun bakımlarda %10 ile %43 arasında değiştiği bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre *A. baumannii*'nin klinik etkisi önemli bir problem olarak devam etmektedir.



### 2.2.1 Hastanelerde Görülen Salgınlar

2010 yılında Vonber ve arkadaşlarının (73) salgın veri tabanında (Worldwide Outbreak Database) bulunan yayınlarla ilgili incelemelerine göre; 2.322 salgından 1.010'u yoğun bakım ünitelerinde, 1.309'u diğer hastane ünitelerinde, 195'i ayakta tedavi alan hastalarda ve 157'si bakımevlerinde tespit edilen salgın raporlarından oluştuğu belirtilmiştir. Bir salgında ortalama 27,9 hastanın etkilendiği ve salgınların %31,2'sinde (724) hastane personelinin de enfekte olduğu ya da patojeni taşıdığı görülmüştür. Salgınlara neden olan 240 farklı patojen (bakteri, virüs, mantar ve parazit) tespit edilmiş ve en fazla salgına neden olan 5 tür; *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *A. baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Serratia marcescens* olarak bildirilmiştir.

Verilere göre hastanelerde salgına neden olan patojenlerin hastane ortamında yayılmasındaki temel kaynağı hastalar (%24,6) oluşturmaktadır. Bunun dışında çevre (%11,7), personel (%10), tıbbi ekipmanlar ve cihazlar (%9,2), ilaçlar (%5), yiyecekler (%3), tedavi ekipmanları (%1,6) salgına kaynak oluştururken, salgınların çoğunda (%39,7) kaynağın ne olduğu tespit edilememiştir. Salgınlara neden olan mekanizmanın temelinde ise temas sonucu yayılım vardır. Bunu invaziv teknikler, havadan solunum ile yayılım ve yemek sonucu gastrointestinal sistem yolu ile yayılım izler (73).

### 2.2.2. Yoğun Bakım Ünitelerinde Görülen Salgınlar

Yoğun bakım ünitelerindeki salgın raporları incelendiğinde hastanelerde en fazla salgının (%37,9) yeni doğan yoğun bakım ünitesinde (YDYBÜ) görüldüğü bildirilmiştir. Yeni doğan yoğun bakım ünitelerindeki salgınlarda raporlanan başlıca patojenler; *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus spp.* ve *Serratia spp.* türleridir. *Enterobacteriaceae* grubuna ait türler (*Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia spp.*, *Salmonella spp.*, ve *Citrobacter spp.*) YDYBÜ salgınlarının % 52,9'unda tespit edilirken erişkin yoğun bakım ünitelerindeki salgınların %19,6'sında raporlanmıştır (74).

*Enterobacteriaceae* grubunun YDYBÜ salgınlarında daha sık görülmesi şaşırtıcı bir durum değildir. Bakteriler doğum sırasında ya da hastanede kalış süresi içerisinde bulaşır. Yeni doğan bebeklerin yoğun bakımda kalmaları ve anne ile temasının azalması, antibiyotik tedavisi, beslenmenin ertelenmesi ve yoğun bakım florasına maruz kalmaları bebeklerin flora kolonizasyon paternini değiştirir. *Klebsiella* ve *Enterobacter spp.* kolonizasyonu artar. *Serratia spp.* YDYB ünitelerinde endemik ve epidemik enfeksiyon etkenidir. *Enterobacteriaceae*'nin hastadan hastaya taşınması sağlık çalışanlarının elleri yoluyla gerçekleşir ve yeni doğanların immün sisteminin gelişmemiş olması, düşük ağırlıklı doğum, invaziv girişimler ve antibiyotik kullanımı yeni doğanları duyarlı bir konak haline getirir. Erişkin yoğun bakımlardaki salgınlarda *Acinetobacter spp.* ve *Pseudomonas spp.* en sık görülen patojenlerdir. Bunun nedeni ise yetişkin hastalarda salgınların daha sık olarak çevre kaynaklı olması olabilir (74).

Salgın sırasında bazı patojenler birden fazla enfeksiyona neden olabilir. Hem yeni doğan yoğun bakım ünitelerinde hem de diğer yoğun bakımlarda meydana gelen salgınlarda en sık görülen enfeksiyon sepsis (YDYBÜ %62.7, diğer ünitelerde 46.8%) olarak bildirilmiştir. Kalıcı kateter ve yeni doğanlarda uzun süre parenteral beslenme sepsise neden olan etkenlerdir. Salgınlarda görülen pnömoni, idrar yolu enfeksiyonu ve cerrahi alan enfeksiyonu erişkin yoğun bakımlarda daha sıktır (74).

Salgınları durdurmak için birçok önlem alınır. Hasta taraması, el hijyeninin zorunlu hale getirilmesi, izolasyon ve koruyucu giysi kullanımı YDYB ünitelerinde diğer yoğun bakımlara göre hastane kaynaklı salgınların önlenmesinde daha sık uygulandığı bildirilmiştir. YDYBÜ %16,3 ve diğer YBÜ %12,6 oranında salgınları durdurmak için alınan önlem ünitenin kapatılması olmuştur (74).

Hastane personelinin salgın sırasında taranması ve personel arasında taşıyıcıların bulunması salgının kaynağı olduğunu kanıtlamaz, çünkü sağlık personeli hasta ile ilgilendiği sırada hastadan bulaşması sonucu kolonize ya da enfekte olmuş olabilir. Salgın araştırmalarında hastanın salgın patojeninden mi ya da altta yatan hastalıktan dolayı mı öldüğünün tespit edilmesi zordur. Yine de enfeksiyon kontrol personeli salgın patojeninin yayılmasını en kısa sürede durdurmaya amaçlar. Her salgın şüphesinde enfeksiyon kontrol prosedürleri, el dezenfeksiyonu, invaziv prosedürlerde kullanılan aseptik teknikler gözden geçirilir. Hastane salgınlarını azaltmak için; antibiyotik kullanımını sınırlandırmak, invaziv prosedürleri (santral venöz kateter ve endotrakeal

entübasyon) azaltmak ve eğitim programları yoğun bakım ünitelerindeki salgınları azaltma yönünde etkin bulunan uygulamalardır (74).

### 2.2.3. *Acinetobacter* Salgınları

Nozokomiyal *A. Baumannii* enfeksiyonları çoğunlukla yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda görülme eğilimindedir (11). Uzun süre bakım merkezlerinde tedavi gören ve özellikle ventilatöre bağlı olan hastalarda enfeksiyon riski yüksektir. Yoğun bakım ünitesinde kalmanın dışında, kolonizasyon ve enfeksiyona neden olabilecek diğer risk faktörleri; yeni geçirilmiş cerrahi operasyon, santral vasküler kateterizasyon, trakeostomi, entübasyon ve reentübasyon, mekanik ventilasyon, parenteral beslenme, yeni doğanlarda düşük doğum ağırlığı ve üçüncü nesil sefalosporin, florokinolon veya karbapenem antibiyotikleri ile tedavi risk faktörleri arasında yer alır (75, 76). *Acinetobacter*'lerin kuruluk dahil dış ortam koşullarına dayanıklı olması ve birçok antibiyotiğe direnç geliştirmesi salgınların temelini oluşturur (77).

*Acinetobacter* salgınları, ventilatör ekipmanları, spirometre, resüsitasyon çantası, kontamine sıvılar, nemli eşyalar gibi genel kaynakların kontaminasyonunu takip eder, özellikle solunum cihazına bağlı hastalarda ventilatör ekipmanlarının kontaminasyonu, sağlık personelinin elleri ile kolonize ya da enfekte hastalardan ya da kontamine eşyalardan taşınan mikroorganizmalar sonucu çapraz enfeksiyonlar meydana gelerek salgınlara neden olabilir (76). *Acinetobacter*'ler bir kez hastane ortamında görüldükten sonra, genellikle çoklu ilaç direnci olan çeşitli suşlar, seri halde birbiriyle örtüşen epidemiyolojik paternlere neden olur. Birçok *Acinetobacter* suşunun endemikliğini takiben sonraki dönemlerde tek bir suşun baskın olduğu endemik suşlar ortaya çıkar (11).

Bir çalışmada, hastalarda *Acinetobacter* taşıyıcılığının 42 aya kadar uzayabildiği gösterilmiştir ve bu durum salgınlardan sonra endemik suşların oluşmasını desteklemektedir. Ayrıca, hastanın fonksiyonel olarak yatağa bağlı olması, oryantasyon bozukluğu ya da koroner bypass operasyonu geçirmiş olmasının taşıyıcılık süresini arttırdığı tespit edilmiştir. *Acinetobacter* taşıyıcılığının tespit edilmesinde burun, farinks, deri (aksilla, antekubital fossa ve kasık bölgesi), rektum, yara ve endotrakeal

aspirat gibi farklı vücut bölgelerinden çoklu örneklemenin duyarlılığı arttırdığı gösterilmiştir (12).

Şikago ve Indiana'nın kuzey batı bölgesindeki 8 merkezden elde edilen,  $\beta$ -laktamaz OXA-40 aktivitesine sahip *A. baumannii* izolatlarının PFGE ile tiplendirilmesi sonucunda %97'sinin aynı klona ait monoklonal, tek suş salgınına neden olduğu gösterilmiştir ve *Acinetobacter*'lerin geniş coğrafik dağılım gösteren salgınlara neden olabildiği bildirilmiştir (78).

Fransa'da çoklu ilaç direncine sahip *A. baumannii* epidemisinde Nisan 2003 ile Haziran 2004 tarihleri arasında 15 farklı bölgeye ait 53 hastaneden 290 *A. baumannii* izolatu elde edilmiştir. İzolatların (275) % 95'inin VEB-1 geniş spektrumlu beta laktamaz aktivitesine sahip olduğu ve epidemik olarak ilişkili suşlar olduğu tespit edilmiştir. En fazla etkilenen hastaların yoğun bakım ünitelerinde, tıbbi servislerde ve sağlık merkezlerinde uzun süre bulunan hastalar olduğu belirtilmiştir (79).

Birden fazla hastanede monoklonal salgınlara görülmesi, muhtemelen hastaların ya da personelin hastaneler arası hareketleri veya gıda ve ekipman gibi ortak kaynakların kontaminasyonuna maruz kalınması gibi kurumlar arası bir yayılım olduğunu gösterir. Bu tür salgınlara, sürekli olan sürveyansın önemini, kurumlar arası iletişimi ve *Acinetobacter*'lerin bakımevlerine bulaşması ve buradan geniş çevrelere yayılımının önlenmesine yönelik önlem alınmasının önemli olduğunu gösterir (11).

### 2.3. Toplumdan Kazanılmış Enfeksiyonlar

*A. baumannii* toplumsal kökenli enfeksiyonlarda yaygın olmayan bir patojen olarak bilinir, ancak önemli toplumsal kökenli pnömonilere neden olur. Bildirilen olguların çoğunda alkolizm, özellikle genç hastalarda alkol duyarlılığı arttırmaktadır. Sigara, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, ileri yaş ve diyabet gibi altta yatan etkenler söz konusudur. Toplum kökenli *A. baumannii* pnömonisi, tek klinik bulgu olarak görülür ve bakteriyemi insidansı yüksek, klinik seyri şiddetli ve mortalite oranı (%40-65) yüksektir. Nefes darlığı, öksürük, ateş ve bunu takip eden solunum yetmezliği ve şok gelişir. Enfeksiyonların tamamına yakını Güneydoğu Asya ve tropikal Avustralya gibi tropikal iklime sahip bölgelerde ya da sıcak ve nemli subtropikal ülkelerde

(Avustralya, Kuveyt, Türkiye, Tayvan, Tayland ve Papua Yeni Gine) görülmüştür. Olguların, sıcaklığın ve nemin yüksek olduğu Nisan ve Ekim ayları arasında görüldüğü bildirilmiştir. Konak faktörleri ya da belirli virülans faktörlerinin bu şiddetli enfeksiyonlarla ilişkisi olup olmadığı bilinmiyor. Çoklu ilaç direnci bu mikroorganizmalarda yaygın değildir ve sefalosporin ya da aminoglikozidlerle tedavi edilebilir. Diğer toplum kökenli *A. baumannii* enfeksiyonu bulguları nadirdir (7).

#### **2.4. Doğal Afetler ve Savaşlar ile ilişkili Enfeksiyonlar**

Doğal afetler ya da insanların neden olduğu yıkımlarda, karakteristik nozokomiyal *A. baumannii* bulgusu yara enfeksiyonlarıdır. 1999 yılında Türkiye’de meydana gelen Marmara depremi sonrası, depremde yaralanan hastaların tedavi edildiği dönemde yoğun bakım ünitelerinden izole edilen mikroorganizma profilinin *A. baumannii* yönünde değiştiği görülmüştür (8). 2002’de Bali’nin bombalanmasından sonra yanık ünitesine transfer edilen hastalarda enfeksiyona neden olan *A. baumannii* izolatlarının daha sonraki dönemlerde hastane salgınlarına neden olduğu bildirilmiştir (79). Güneydoğu Asya’da 2004 yılında meydana gelen tsunamide yaralanan turistler Avrupa’daki çeşitli hastanelere transfer edilmiş, Almanya’daki bir hastaneye transfer edilen genel durumu kritik 17 hastanın örneklerinden çoklu ilaç direncine sahip *A. baumannii* izole edilmiştir (9).

Irak’taki çatışmalardan geri gönderilenlerde çarpıcı derecede çok sayıda derin yara enfeksiyonları, yanık-yara enfeksiyonları ve osteomyelit olguları raporlanmıştır ve izole edilen *A. baumannii* mikroorganizmaları sıklıkla çoklu ilaç direncine sahip olarak bulunmuştur (10).

Scott ve arkadaşlarının (81) raporlarında; Irak’ta yaralanan askerlere kırık fiksasyonu (%50), laparotomi (%25), amputasyon (%20) gibi cerrahi müdahalelerin yapıldığını ve hastalara (%54) yaralanma sonrası ya da hastanede kaldığı süre içerisinde mekanik ventilasyon uygulandığı belirtilmiştir. Hasta askerlerden en sık, ekstremitelerden alınan yara örneklerinden (%32), balgam, trakeal aspirat ve bronkoalveolar lavaj sıvısı gibi solunum yolu örneklerinden (%24) *A. baumannii* izole edilmiştir.

*A. baumannii*'nin her yerde bulunabileceği yanlış kanısına bağlı olarak, mikroorganizmanın yaralanma sırasında cilt florasından ya da yaralanma sırasında kontamine topraktan inoküle olmuş olabileceği ya da yaralıların sağlık merkezinde tedavileri sırasında mikroorganizmanın sağlık hizmetine bağlı olarak bulaştığı tartışmalı bir konudur. Çoklu ilaç direncine sahip *A. baumannii* enfeksiyon salgınları bir çok faktöre bağlı olsa da primer kaynak hastane ortamında görülen nozokomiyal bulaşlardır (81). Bir çalışmada askerlerdeki cilt kolonizasyonu taramasında 160 askerden birinde *A. baumannii* izole edilmiş ve cilt kolonizasyonunun salgınlara kaynak olmadığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca, Irak ve Kuveyt'ten elde edilen 49 toprak örneğinden 1 *A. baumannii* izole edilmiş ve bu izolatin klinik örneklerden elde edilen izolatlar ile genetik olarak ilişkisiz olduğu tespit edilmiştir. Ancak Irak ve Kuveyt'teki 7 askeri tedavi merkezinden elde edilen çevresel tarama örneklerinin hasta örnekleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (80). Savaşlarda yaralı asker sayısının fazla olması ve bu askerlerin bir tedavi merkezinden diğerine taşınması, dirençli *A. baumannii* suşlarının gelişmesine ve mikroorganizma bulaşmasına katkı sağlayan önemli etkenlerdir (81).

## **2.5. Epidemiyolojik Tiplendirme Yöntemleri**

*A. baumannii* suşlarının hastanelerdeki yayılımını kontrol edebilmek için mikroorganizmanın potansiyel rezervuarlarını ve taşınma yollarının tanımlanması gereklidir. Salgın suşlarının epidemiyolojik olarak ilişkisiz olan diğer *Acinetobacter* izolatlarından ayrılabilmesi için izolatların tür altı (subspecies) düzeyde karşılaştırılması gerekir, bu amaçla kullanılan metotlar, epidemiyolojik tiplendirme metodları olarak tanımlanır (3).

### **2.5.1. Fenotipik Tiplendirme Yöntemleri**

Fenotipik tiplendirme sistemleri biyokimyasal özelliklere, antibiyotik duyarlılık paternlerine, serolojik reaksiyonlara (serotiplendirme), faj tiplendirmesine ve protein profillerine dayanır (3).

### **2.5.1.1. Biyotiplendirme**

En yaygın kullanılan tekniklerden birisidir. Suşların farklı biyokimyasal reaksiyonlarına, morfolojilerine ve çevre toleranslarına göre ayırımına dayanır. Biyotiplendirme yönteminde, mikroorganizma türleri farklı büyüme ortamlarındaki bileşenleri kullanabilmesine ve bazı kimyasal reaksiyonları gerçekleştirebilmesine göre tanımlanır, aynı zamanda belirli bir türün üyerini biyokimyasal farklılıklara göre ayırmada kullanılabilir. Biyotiplendirme, günümüzde tür identifikasyonu için tasarlanmış otomatik sistemler ile laboratuvarlarda rutin olarak kullanılmaktadır (82).

### **2.5.1.2. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi**

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında yaygın olarak uygulanan bir testtir. Antimikrobiyal duyarlılık testi otomatize broth mikrodilüsyon ya da disk difüzyon yöntemleri kullanılarak yapılır. Hem disk difüzyon hem de sıvı dilüsyon yöntemi dikkatli bir şekilde standardize edilmekte olup, laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası tekrarlanabilirliği yüksektir. Testlerden elde edilen MIC değerleri ya da difüzyon zon çapları epidemik küme analizlerinde, diğer epidemiyolojik testlerle uyumlu sonuçlar verir. Ancak; genetik ve epidemiyolojik olarak ilişkili olmayan izolatlar da aynı duyarlılık paternini verebilirler. Bu yüzden epidemiyolojik çalışmalarda antibiyogram tiplendirmesinin değeri sınırlıdır (1, 82).

### **2.5.1.3. Serotiplendirme Yöntemi**

Bir antikor dizisi kullanılarak bakterilerin yüzeyindeki antijenlerin tespit edilmesi sonucu antijenik çeşitliliğin gösterilmesine dayanır. Serotiplendirme metotları bazı bakteriyel patojen türlerinin taksonomik sınıflandırılmasında kullanılmaktadır. *Klebsiella* ve *Pseudomonas* gibi nozokomiyal patojenlerin tür içi suş ayırımında epidemiyolojik değere sahiptir. Serotipleme birkaç farklı yolla uygulanabilir. En sık bakteriyel hücre süspansiyonunun antikor paneli ile karıştırıldığı doğrudan antijen-

antikor aglütinasyon yöntemi kullanılır. Aglütinasyon profillerine bağlı olarak serotipler belirlenir (82).

#### **2.5.1.4. Bakteriyofaj ve Bakteriyosin Tiplendirmesi**

Epidemiyolojik araç olarak kullanımı bakteriler ile sınırlıdır. Bakteriyofaj tiplemesi, bakterilerin belirli bir grup faja dirençli ya da duyarlılık paternine göre sınıflandırılmasına dayanır. Bakteriyofajlar, belirli bakterilerin hücre duvarlarına tutunabilen, hücre içerisine girip, çoğalan ve hücreyi lizise uğratabilen virüslerdir. Fajın hücreyi enfekte etme yeteneği, bağlanacağı hücre yüzeyindeki reseptörün uygunluğuna bağlıdır. Sıklıkla patojenlerin farklı suşları farklı reseptörlere sahiptir, bu da farklı lizis profillerine yol açar. Bakteriyofaj tiplemesi, biyolojik olarak aktif fajların geniş yayılıma sahip olmaması ve yöntemin uygulanmasındaki teknik zorluklar, kullanımını sınırlayan etkenlerdir. Yöntem *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi nozokomiyal enfeksiyonlar ile ilişkili bazı bakterilere uygulanmaktadır (82).

Bu yöntem dışında, bakteri suşları, diğer bakteriler tarafından üretilen, protein yapısındaki bir grup heterojen maddeye karşı gösterdiği duyarlılık paternine göre tiplendirilebilir. Bu inhibitör bileşikler ya da bakteriyosinler, çoğunlukla yakın ilişkili türlerin gelişmesini sınırlandırır. Bakteriyosin tiplendirme, faj tiplendirmedeki gibi benzer nedenlerden dolayı kullanımı sınırlıdır. Fakat, *P.aeruginosa* tiplendirmesinde kullanılmaktadır (82).

Bu yöntemler, nozokomiyal patojenlerin karakterizasyonunda yararlı olurken mikroorganizma tiplendirmesinde ayırım gücünün sınırlı olması dezavantaj oluşturmaktadır. Serotiplemenin kısıtlayıcı olması, gen ekspresyonu ve rastgele mutasyonlar sonucu meydana gelen varyasyonlar, mikroorganizmaların biyolojik özelliklerini değiştirebilir ve sonuçta biyotiplendirmenin ayırım gücünü azaltır. Biyotiplendirme yöntemi, enterokoklarda olduğu gibi biyokimyasal çeşitliliği yaygın olmayan suşların ayırt edilmesini sağlamaz, bu nedenle epidemiyolojik çalışmalarda kullanımı yetersizdir. Bakteriyofaj tipleme, yoğun emek gerektiren bir yöntemdir ve tekrarlanabilirliğinin düşük olması, standardizasyonunun yetersiz olması kullanımını sınırlamaktadır. Fenotipik yöntemlerin başarısız olduğu durumlarda bakteriyosin



tiplendirmesi *P. aeruginosa* ve *Candida* türleri gibi kolaylıkla tiplendirilemeyen organizmalar için yararlı olabilir. Bütün bu sınırlandırmalara rağmen fenotipik yöntemler enfeksiyon hastalıkları yönetiminde hayati rol oynamaya devam etmektedir (82).

## **2.5.2. Genotipik Tiplendirme Yöntemleri**

Genotiplendirme sistemleri, plazmid profileme, ribotipleme, Pulsed field jel elektroforezi (PFGE), random polimorfik DNA amplifikasyon (RAPD) analizi, rep-PCR, amplifiye fragment uzunluk polimorfizm (AFLP) analizi, Multilokus sekans tiplendirmesi (MLST) ve PCR-Electrospray iyonizasyon/kütle spektrometre (PCR-ESI-MS) gibi yöntemleri içerir (3).

### **2.5.2.1. Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)**

PFGE moleküler tiplendirme yöntemleri arasında altın standart kabul edilir. Bu yöntemde kromozomal DNA karşılaştırılır. Kromozomal DNA'nın restriksiyon enzimleri ile kesilmesi sonucu farklı boyutlarda bir dizi fragment oluşur, bu fragmentler agaroz jel elektroforezi ile incelendiğinde farklı paternler elde edilir. Paternlerdeki farklılıklar restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmini (RFLP) gösterir. Enzimler bakteriyel kromozom üzerinde çok sayıda tanınmış bölgelerde bulunan DNA'yı kesmek için kullanılır, elde edilen çok sayıda bant fragmentleri agaroz jel elektroforezi ile karşılaştırılır. Son zamanlarda analiz için DNA'yı daha az sıklıkta kesen restriksiyon enzimleri kullanılmaktadır. Elde edilen DNA fragmentleri konvensiyonel agaroz jel elektroforezi ile ayıramayacak kadar büyüktür. PFGE olarak sınıflandırılan birkaç alternatif metot bu DNA fragmentlerini ayırabilmektedir (82).

Klasik sürekli agaroz jel elektroforezinde ancak 30–50 kb uzunluğundaki DNA moleküllerinin ayrımı yapılabilmektedir. 50 kb'dan daha uzun DNA parçaları tek yönlü akım ile jel üzerinde yoğun tek bir bant şeklinde hareket eder ve verimli bir sonuç elde edilmez (83). Ancak, elektriksel akımın yönü periyodik olarak değiştirilirse, PFGE ile 1000kbp'dan daha uzun DNA molekülleri ayırtedilebilir. Elektrikli alanın yönü ve

açısında yapılan her değişiklik sonucunda, küçük parçalar yeni komutlar doğrultusunda daha hızlı hareket ederek büyük parçalardan kopacaktır ve büyük parçalar geride, küçük parçalar ise önde olacak şekilde yeni bir dizilim ortaya çıkacaktır (82, 83).

Bu yöntem için özel cihazlar kullanılır ve en yaygın kullanılan iki tip cihaz vardır; CHEF (contour-clamped homogenous electric field) ve FIGE (field inversion (alan değiştirme) gel electrophoresis). FIGE yönteminde, elektriksel alanın yönünü periyodik olarak 180° tersine çevrilmesini sağlayan bir elektroforez tankı kullanılır. CHEF yönteminde ise çoklu elektrotlara sahip daha kompleks bir elektroforez tankı kullanılır ve ayırım için etkili bir elektrik alan şartları oluşturulur. Tipik olarak elektroforez cihazı elektrik alanının yönünü 120° açılarla değiştirerek DNA moleküllerinin yönünü değiştirir. Bu yöntemde DNA parçaları jel üzerinde sürekli olarak zikzak çizerek hareket eder ve kısa sürede çok sayıda bant oluşturur. CHEF çeşitli antimikrobiyal-dirençli bakterilerin yayılımını değerlendirmede kullanılır. İzolatlardan elde edilen bulgular, aynı ya da ilişkili restriksiyon endonükleaz paterni şeklinde tek bir suştan yayılım gösterdiği ya da farklı klon olduğu tespit edilir (82, 83).

PFGE ile elde edilen bant paternlerine göre izolatlar arasındaki ilişkiyi yorumlamada standardizasyon sağlamak için kullanılan yöntem, Tenover ve ark. (84) ortaya koyduğu PFGE patern şemasıdır. Bu şemaya göre, aynı bant paternine sahip izolatlar aynı suş olarak değerlendirilir. Bakteriyel izolatlar bir genetik farklılık içeriyorsa 1-3 bant farkına sahip olabilir ve suşlar yakın ilişkilidir. İzolatlarda 4-6 bant farklılığının oluşması iki bağımsız genetik değişiklik sonucundadır ve suşlar olası ilişkilidir. Bakteriyel izolatlarda 7 ya da daha fazla bant farklılığı bulunması üç ya da daha fazla genetik değişikliği ifade eder ve ilişkisiz suş olarak değerlendirilir. Bu kriterler küçük ve yerel çalışmalar için kabul edilebilir değerlerdir.

PFGE ve diğer tiplleme metotları ile yapılan bazı çalışmalar, restriksiyon endonükleaz (RE) bölgesini değiştirebilen, yeni bir RE bölgesi oluşturabilen ya da DNA insersiyon/delesyon ilişkili plazmidler ile bakteriyofaj ya da insersiyon sekansları gibi tek genetik olayların, tahmin edilemeyecek kadar kısa sürede olabileceği salgınlarda (1–3 ay) gösterilmiştir. Fragment paternlerinin salgın suşu ile karşılaştırılarak iki genetik varyasyonun tespiti ve salgın ile ilişkisinin belirlenmesi kolay değildir. Sonuçların izolatların ilişkili olduğunu gösterdiği durumlarda (özellikle izolatlar 3-6 aylık zaman periyodunda toplandıysa) suşların ilişkisiz ve salgının bir parçası olmama olasılığı

vardır. Genellikle nozokomiyal salgınlarda, PFGE patern analizi “BioNumerics” gibi yazılım programları kullanılarak yapılır ya da DNA parmak izi verilerinin analizi için kullanılan diğer programlardan seçilebilir (82).

#### **2.5.2.2. Arbitrarily Primed (Random Amplified) PCR (AP-PCR)**

AP-PCR yönteminde primerler rastgele seçilir, bilinen belirli bir DNA sekansı hedeflemez. Bu yöntemde randomize seçilen bir veya daha fazla primer ile DNA'daki birçok bölge çoğaltılır (82, 85). Kullanılan primerlerin uzunluğuna göre yöntem farklı isimler alır. AP-PCR'de kullanılan primerler klasik PCR'dekine benzer şekilde 18-24 bp olarak tasarlanmıştır. RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) yönteminde kullanılan primerler 8-10 bp ve DAF (DNA amplifikasyon fingerprinting) yönteminde kullanılan primerler 4-5 bp uzunluğunda dizayn edilir (83). Bu kısa primerlerde G-C bazları fazladır (84). Bu yöntemlerde primerin rastgele bağlanmasındaki kilit nokta düşük “annealing” ısısı kullanılmasıdır, bağlanma ısısı 40-50°C'ye düşürülerek primerlerin kromozom üzerinde hem kendilerine özgü bölgelere hem de özgü olmayan bölgelere bağlanması sağlanır ve DNA sentezi gerçekleşir (82, 85). Aynı tür içerisindeki farklı suşların belirlenmesi amplifikasyon sonucu elde edilen ürünlerin agaroz jelde yürütülmesiyle elde edilen bantların sayısı ve büyüklüğü değerlendirilir ve her izolata ait bant profilleri karşılaştırılarak suşların ilişkileri belirlenir (83).

AP-PCR ve RAPD yöntemi, nozokomiyal patojenlerin tiplendirilmesinde diğer tiplendirme yöntemlerine göre daha hızlı olmasına rağmen, teknik varyasyonlara duyarlılığı daha fazladır. Reaksiyon şartlarında ya da reaktiflerdeki küçük değişiklikler sonuçların tekrarlanabilirliğini zorlaştırır ve elde edilen bant paternlerinin değişmesine neden olur. Bu yüzden, olası salgın suşlarını karşılaştırmak problemli olabilir. Sıkı kontrol edildiği zaman, özellikle farklı primerler kullanılarak multiple amplifikasyon yapıldığında AP-PCR yüksek seviyede ayırım sağlayabilir (82).

Laboratuvarlar arası standardizasyonu sağlamak için, M13 gibi evrensel primer kullanılması, sonuçların güvenilirliğini arttırmak için standardize edilmiş amplifikasyon karışımı ve standart bir amplifikasyon protokolü uygulanmalıdır. Ayrıca, tüm salgın izolatları aynı anda çalışılmalıdır (85).

AP-PCR sonuçlarının yorumlanması bazen zordur, çünkü AP-PCR varyasyonları spesifik genetik olaylar ile sıkı bir şekilde eşleşmez. Bu yüzden PFGE için tanımlanan prensipler tipik AP-PCR paternleri için uygulanamaz. Eğer suşlar aynı fragment paternine sahipse ya da paternler 3 ya da daha fazla fragment farklılığı içeriyorsa tiplendirmenin yorumlanması daha kolaydır; sırasıyla suşlar ya klonal ya da ilişkisiz olarak değerlendirilir. Fakat tek bir bant büyüklüğündeki bir değişikliği ya da birkaç bant yoğunluğunu yorumlamak için bir ölçüt yoktur (82).

### 2.5.2.3. Repetitive Extragenic Palindromic Elements PCR (Rep-PCR)

Genom içerisinde serpiştirilmiş tekrarlayan DNA sekans elementleri ökaryotlarda yaygın olarak bulunur ve en iyi bilineni memelilerde tanımlanan *Alu* sekans ailesidir. *Alu* PCR tekniğinde, *Alu* tekrarlarının genom içerisindeki serpiştirilmiş dağılımı, *Alu* tekrar sekansları arasındaki özgün dizilerin amplifikasyonunda kullanılır. Tür özellikli tekrarlayan DNA elementleri yakın ilişkili türlerin ayrımında kullanılır (86). Versalovic ve ark. (86) tarafından tanımlanan bakteriyel genom parmakizi analizi yönteminde, bakteri genomundaki tekrarlayan DNA elementleri PCR ile amplifikasyon sonucu elde edilen suşa özgü paternler incelenir.

Tiplendirme için iki set tekrarlayan element (repetitive element) kümesi kullanılır. Bunlardan birincisi REP (repetitive extragenic palindromic elements, REP), 38 bp diziye sahiptir ve korunmuş palindromik kökler arasında 6 dejenere pozisyon ve 5 bp değişken looptan oluşur (86, 87). Tiplendirmede kullanılan diğer DNA sekansı ERIC (enterobacterial repetitive intergenic consensus sequences, ERIC)'tir. ERIC sekansı 126 bp elementten oluşur ve yüksek oranda korunmuş ekstragenik ters tekrar dizileri içerir. Bu bölgeler *Escherichia coli* ve *Salmonella Typhimurium*'dan elde edilen sekans verileriyle tanımlanmıştır (86, 87). Rep-PCR bakteriyel kolonilerden DNA ekstraksiyonu ile uygulanabilir. REP ve ERIC amplifikasyonu tek primerle, bir set primerle ya da çoklu primer setiyle uygulanabilir. REP paternleri ERIC paternlerine göre daha komplekstir, fakat iki yöntemde suş düzeyinde iyi ayrım sağlar. REP ve ERIC PCR teknikleri tek başına kullanılarak örneklerin ayrımı sağlanabilir. Rep-PCR DNA tiplendirmesinde, hızla yaygın kullanım alanı bulan bir teknik olmaya başlamıştır (87).

Rep-PCR primerleri REP ve ERIC sekansına dayalı olarak başarılı bir şekilde *Bartonella*, *Bacillus subtilis*, *Citrobacter diversus*, *Enterobacter aerogenes*, *Rhizobium meliloti*, metisilin dirençli *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *A. baumannii*, *Buerkholderia cepacia*, *Legionella pneumophila*, *Helicobacter pylori*, *Neisseria gonorrhoeae* ve *Neisseria meningitidis* gibi suşların ayırımında kullanılmaktadır. Yöntem, çok sayıda ya da küçük miktarlardaki izolatlarla kolayca uygulanabilir. Ayrıca Rep-PCR çok sayıda türe uygulanabilirlik yelpazesine sahiptir ve diğer genomik parmak izi analizleri ya da plazmid profili analizine göre daha iyi ayırma gücü gösterir (87). Rep-PCR, 16S-23S spacer region ya da 16S rRNA restriksiyon analizine göre daha iyi ayırım gücüne sahiptir (87, 88). Rep-PCR, multilokus enzim elektroforezi, biyokimyasal karakterizasyon ve ribotiplendirme gibi diğer tiplendirme metotları ile karşılaştırıldığında daha üstün bir metot olduğu gösterilmiştir (87, 88, 89). Rep-PCR'nin PFGE ile korelasyon gösterdiği ancak tiplendirmede ayırma gücünün PFGE'ye göre daha az olduğu gösterilmiştir (90).

Rep-PCR yöntemi son yıllarda Diversilab sistemi olarak bilinen otomatize bir sistem haline getirilmiştir. Diversilab sistemi klinik laboratuvarlar için güvenilir PCR tabanlı tiplendirme olanağı sağlamaktadır. Otomatize Rep-PCR sisteminin standardize, tekrarlanabilirliği yüksek, hızlı ve kullanışlı bir tiplendirme metodu olduğu belirtilmektedir (91). Rep-PCR Diversilab sisteminde, genom üzerinde kodlanmayan tekrarlayan sekansları hedef alan primerler kullanılarak amplifikasyon yapılır ve elde edilen verilerin dijitalize edilmesi ve hızlı tespit edilmesi için mikro akışkan çip ve bilgisayar yazılımı kullanılır. Ayrıca elde edilen verilerden program yardımı ile hem rapor hazırlanır hem de sonuçlar veri tabanında arşivlenerek daha sonra tekrar kullanılabilir (91).

Diversilab sistemi bileşenleri; (a) Agilent 2100 bioanalizer; amplifiye fragmentleri mikroakışkan bir çip üzerinde ayırır ve örnekleri floresans yoğunluğu ve göç süresine göre tespit eder, (b) Rep-PCR reaktif kitleri ve (c) web tabanlı DiversiLab yazılımıdır. Diversilab yazılımı analiz sonuçları, test edilen bütün örnekler arasında pair-wise (eşleşme) benzerliği hesaplamak için Pearson correlation'u kullanarak proximity matrix'ini oluşturmaktadır. DiversiLab sistemi tarafında oluşturulan sonuçlar, dendrogram (izolatlar arasında hiyerarşik olarak ilişkiyi göstermektedir) ve scatter plot (grafiksel çizim, ilişkinin spatial (boyutsal), non-hiyerarşik görüntüsünü sağlamaktadır);

jel-benzeri görüntü ve/veya elektroferogramdır. Ticari olarak temin edilebilen bu bileşenler, otomasyon, teknik kolaylık, hızlilik ve yoğun mikrobiyoloji laboratuvarlarında çalışanlar için kullanışlı olduğu bildirilmektedir (92).

İzololatlar analiz sonrası farksız (ayırt edilemez şekilde benzer), benzer veya farklı olarak kategorize edilmektedir. Üretici, izolatlar ve salgınların birçok grubunu karşılatırmış ve kategorileri altın standart analiz ile ortaya koymuştur. Genel olarak “farklı” kategorisi; <%95 benzerlik ve homojen organizmalar için  $\geq 2$  bant farklılığı veya heterojen organizmalar için  $\geq 3$  bant farklılığı olarak tanımlanmış. “Benzer” kategorisi; <%97 benzerlik ve homojen organizmalar için 1 bant farklılığı veya heterojen organizmalar için 2 bant farklılığı olarak tanımlanmış. “Farksız” kategorisi >%95 benzerlik ve hiç farklı bant olmadığı yani bireysel bantların yoğunluğunda hiçbir varyasyon olmadığı durumlar olarak tanımlanmıştır (92).

#### **2.5.2.4. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)**

AFLP, genom parmak izi tekniği, RE ile kesim sonucu elde edilen DNA fragment kümesinin selektif amplifikasyonuna dayanır. AFLP, ilk olarak bitki genomu karakterizasyonunda kullanılan bir yöntemdir, daha sonra bakteriyel tiplendirmede de kullanılmıştır. İki tip AFLP yöntemi tanımlanmıştır, bunlardan ilki, 2 farklı RE ve amplifikasyon için 2 primer içeren yöntemdir. İkincisinde ise bir primer ve bir RE kullanılmaktadır. En yaygın kullanılan şekilde bakteriyel DNA ekstrakte edilir, saflaştırılır ve *EcoRI* ve *MseI* gibi 2 enzim ile kesilir. Kesilen fragmentler 3' ucundan selektif baz içeren primerler ile amplifiye edilir. AFLP yönteminin ayırım gücü PCR bazlı ribotiplendirmeden daha iyidir, fakat Rep-PCR ya da PFGE ile karşılaştırılmamıştır (87).

#### **2.5.2.5. Multilocus sequence typing (MLST)**

MLST ayırım gücü yüksek bir tiplendirme metodudur, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* ve *S. aureus* gibi çeşitli patojenler için kullanılır (3). *A. baumannii* için

MLST şeması Bartual ve ark. (93) tarafından geliştirilmiştir. *A. baumannii* MLST şeması, 305-513 bp sekansında korunmuş 7 housekeeping genlere (*gltA*, *gyrB*, *gdhB*, *recA*, *cpn60*, *gpi*, and *rpoD*) dayanmaktadır. MLST yönteminin, PFGE ve AFLP yöntemleri ile iyi korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Yöntemin ayırım gücü PFGE ve AFLP analizi ile karşılaştırılabilir düzeyde olmasına rağmen, MLST yönteminin pahalı ve zahmetli bir yöntem olması, rutin salgın analizleri için ya da *A. baumannii* epidemiyolojik analizleri için kısıtlamalarından dolayı uygun bulunmamıştır. MLST kütüphanesi olan, birkaç epidemiyolojik tiplendirme sisteminden birisidir. Global epidemiyolojik çalışmalara uygun olduğu ve epidemilerin gösterilmesine, çoklu dirençli *A. baumannii* klonlarının ulusal ve uluslar arası dağılımını araştırmada kullanışlıdır (3).

#### **2.5.2.6. Electrospray Ionization Mass Spectrometry (PCR-ESI-MS)**

PCR-ESI-MS, MLST yönteminin daha yüksek veri sağlayan formudur. *A. baumannii*, *Acinetobacter* gen. sp. 3 ve 13TU'nun tür identifikasyonunda ve klonal analizlerde kullanılabilir. Altı bakteriyel housekeeping genlerinin korunmuş bölgeleri, her izolatta amplifiye edilir, amplifikasyon ürünleri tuzdan arındırılır, saflaştırılır ve kütle spektrumları (mass spectra) elde edilir. Sistem 267 *Acinetobacter* izolatu (enfeksiyonlardan, askeri ve toplumsal kolonizasyonlardan ve salgınlardan elde edilen) ile oluşturulmuş ve PFGE ile karşılaştırıldığında iyi korelasyon verdiği belirtilmiştir. PCR-ESI-MS genotiplendirme metodunun en büyük avantajı hızlı sonuç vermesidir (3).

### **2.6. Antimikrobiyal Direnç ve Tedavi**

#### **2.6.1. Antimikrobiyal Direnç**

*A. baumannii*, hemen hemen mevcut tüm antibiyotiklere dirençli suşların bulunması ve dirençli suşların artması ile dikkat çekmektedir. Bu mikroorganizmalar genellikle yaygın olarak kullanılan aminopenisilinlere, birinci ve ikinci kuşak

sefalosporinlere ve kloramfenikole karşı doğal direnç gösterir. Geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamlara, aminoglikozidlere, florokinolonlara ve tetrasiklinlere karşı direnç geliştirme mekanizmaları elde etmek için olağanüstü bir kapasiteye sahiptir. Birçok çalışmada bu ajanlara dirençli *A.baumannii* suşlarının artış eğilimi gösterdiği belirtilmiştir. Fakat, 1970 ile 1990 yılları arasında büyük ölçekli süreyans çalışmalarının az olması ve lokal raporların karşılaştırılmasındaki zorluklar, bu tür eğilimlerin küresel düzeyde ölçülmesini zorlaştırır. Direnç oranları ülkelere göre ya da her bir hastaneye göre, kullanılan biyolojik, epidemiyolojik ve metodolojik faktörlere bağlı olarak değişebilir (4). Örneğin, lokal duyarlılık testleri sonucu elde edilen çoklu dirence sahip izolatların genotiplendirme testleri ile klon karşılaştırması yapılmamış ise, epidemiyolojik olarak baskın MDR suşları, direnç seviyesini artırma eğilimindedir (94). Farklı coğrafik bölgelerden elde edilen MDR izolatları klonal olarak ilişkili olabilir, fakat duyarlı suşlar genotipik olarak heterojendir. Bu sonuçlara göre direnç probleminin sınırlı sayıda başarılı *A. baumannii* soyu ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (4, 95).

Direnç gelişim eğilimi ile ilgili tahminin zor olmasına rağmen, *A. baumannii*'nin mevcut tüm antibiyotiklere karşı direnç geliştirme potansiyeli tartışılmazdır. Özellikle kaygı verici durum karbapenemlere karşı dirençtir, geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamlar 1985 yılında tanıtılmış ve yıllarca MDR *A. baumannii* enfeksiyonları için en önemli tedavi seçeneği olarak kullanılmıştır. İlk yıllarda klinik *A. baumannii* izolatları bu ilaçlara karşı değişmeyen bir duyarlılık profili göstermesine rağmen, 1990'lı yılların başında hastane salgınlarında karbapenem dirençli suşlar izole edilmiştir (4, 96, 97, 98). Sonraki yıllarda, polimiksinlere ve tigesiklinlere karşı direnç geliştiği bildirilmiştir, bu durum gösteriyor ki *A. baumannii*, mevcut antibiyotiklere tamamen dirençli enfeksiyonlara neden olabilir (4).

### **2.6.2. Direnç Mekanizması**

*Acinetobacter*'lerde direnç sıklıkla nozokomiyal *A. baumannii* suşlarında gelişir. Direnç mekanizmaları içerisinde antimikrobiyal hedef bölge modifikasyonu, porin proteinlerinin değişimi, enzimatik inaktivasyon, ilaçların dışı atım (efflux) pompası ile



hücre dışına atılması ve ilaçların hücreye girişinin azaltılması (decreased influx) gibi bakterilerde görülen bütün direnç mekanizmaları aracılık eder.  $\beta$ -laktamazlar, dirençle ilişkili en çok çeşitlilik içeren enzim grubudur ve 50'den fazla farklı enzim ya da bunların alel formları, *A. baumannii*'de bulunur (4, 11)

*A. baumannii* suşları, aminoglikozid modifiye enzimler eksprese ederek aminoglikozidlere dirençli olabilir. Aminoglikozid direnci için en az 9 farklı enzim tanımlanmıştır ve bu enzimler bazı suşlarda farklı kombinasyonlarda bulunabilir (4, 99).

DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimlerini kodlayan *gyrA* ve *parC* genlerindeki spesifik nokta mutasyonlar sonucu *A. baumannii* kinolonlara karşı dirençli hale gelebilir (100). Tetrasiklinlerdeki direnç dışa atım pompasını kodlayan genlerle ilişkilidir (4).

Bazı suşlarda bulunan ve transpozon, integron ya da plazmid gibi genetik elementler ile ilişkili olarak horizontal şekilde transfer edilen çoğu gen, enzimleri ve spesifik dışa atım pompasını kodlar. Bu genlerin bazıları diğer bakteri cinslerinde de yaygındır, ancak ağırlıklı olarak *Acinetobacter* cinsine ait üyeler ile ya da OXA-tip karbapenemazlar gibi *A. baumannii* ile ilişkilidir. Bazı kromozomal direnç genleri *A. baumannii* suşlarında bulunur ve normalde düşük seviyede kodlanır. Ancak, genetik olaylar sonucunda kodlanma miktarı artabilir. Kromozomal (*AmpC*) ADC-tip  $\beta$ -laktamazlar, etkin promotor sağlayan *ISAbal* sekansının insersiyonu sonucu sentez artışı meydana gelebilir ve promotor insersiyon sekansı *ISAbal*, *ampC* geninin yanında bulunduğu zaman B-laktamaz ürünlerini artırır ve sefalosporin direncine neden olur (4, 101). Bu insersiyon sekansı *A. baumannii*'de geniş yayılma sahiptir ve yan yana bulunduğu genlerde anahtar rolü oynayarak genlerin ekspresyonunu artırır. Ayrıca, *ISAbal* doğal OXA-51-like karbapenemazların ekspresyonunu arttırarak karbapenem dirençli suşlarda önemli rol oynadığı belirtilmiştir (4, 102).

*A. baumannii* için tipik olan ve kromozomal genlerle kodlanan direnç sistemi AdeABC dışa atım sistemidir. AdeABC genleri, *adeS* ya da *adeR* genleri ile kontrol edilir ve bu genlerde meydana gelen mutasyonlar sonucu AdeABC'nin ekspresyonundaki artış, antibiyotik sınıflarına karşı çoklu ilaç direnci gelişmesine neden olur. AdeABC dışa atım pompası geniş spektrumlu etki ederek tetrasiklinler, aminoglikozidler, florokinolonlar, kloramfenikol, tigesiklin ve bazı  $\beta$ -laktamlara karşı direnç sağlar (103).

Determinantların çeşitliliği, *A.baumannii* suşlarına karbapenem direnci ile ilişkili mekanizmalar belirli gruptaki antibiyotiklere de direnç sunar. Bunlar arasında metallo- $\beta$ -laktamazlar (VIM-, IMP- ve SIM-tipleri) bulunur. Metallo- $\beta$ -laktamazlar, özellikle Asya ve Batı Avrupa olmak üzere dünyanın her yerinden yaygın olarak raporlanmıştır ve monobaktamlar (aztreonam) hariç diğer bütün  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklere direnç sunmaktadır. Buna rağmen *A. baumannii*'de bulunan en yaygın karbapenemaz, karbapenem hidroliz eden D sınıfı  $\beta$ -laktamazlardır. Doğal OXA-51-like enzimler, karbapenem hidroliz eden oksasilinazlar; OXA-23, OXA24, OXA-58'den oluşan üç bağımsız gruba ayrılır. Karbapenemlere karşı duyarlılığın azalması penisilin bağlayan proteinler ve porinler ya da AdeABC dışa atım sistemi ile ilişkili olarak meydana gelmektedir ve *A.baumannii*'nin yüksek seviyede karbapenem direnci geliştirmesi farklı mekanizmaların etkileşimi sonucu olabileceği belirtilmektedir (4, 104).

Belirli direnç mekanizmalarının genetik temellerinin ve fonksiyonlarının açıklanmasında ilerleme olmasına rağmen, MDR *A. baumannii* suşlarına genetik faktörlerin katkısı ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Çoklu ilaç direnci gelişmesi epidemik soylarla ilişkili olmasına rağmen, yakın ilişkili MDR suşları, belirli direnç determinantları ve bunların kombinasyonları yönünden büyük farklılık gösterebilir (4, 95, 105).

Fournier ve ark. (106) Fransa'da salgına neden olan MDR *A. baumannii* suşu (AYE) ile tamamen duyarlı insan biti ile ilişkili *A. baumannii* suşlarının (SDF) genom sekanslarını karşılaştırmışlar. AYE suşlarından 86 kb direnç adası olarak tanımlanan bir genomik bölge tespit etmişler (tanımlanan büyük direnç adası) ve bu bölgede 45 direnç geni elde ettiklerini belirtmişlerdir. SDF suşlarının bu bölgeye homolog olan kısmında 20 kb genom adası sergilendiğini ve bu genlerin transpozanlar tarafından kodlandığı ve direnç içermediğini bildirmişlerdir. Bu tür genomik yapılar, direnç genlerinin horizontal olarak kazanılmasını kolaylaştırır ve *A.baumannii* suşlarında çoklu ilaç direncinin gelişmesinde kritik rol oynar (106).

*Acinetobacter*'ler de çoklu ilaç direncine sahip "multidrug resistance" suşlar için yapılan tanım 3 ya da daha fazla (kinolon, sefalosporin ve karbapenem) antibiyotik sınıfına dirençli suşları belirtmek için kullanılır. "Panresistance" terimi ise kolistin hariç test edilen bütün standart antibiyotiklere karşı direnci tanımlar (11).

### 2.6.3. Tedavi

Enfeksiyonlara, antibiyotiklere duyarlı *Acinetobacter* izolatları neden olduğu zaman tedavi için; geniş spektrumlu sefalosporinler,  $\beta$ -laktamaz inhibitörü ile kombine edilmiş  $\beta$ -laktamlar (sulbaktam ile kombine) ya da karbapenemler (imipenem, meropenem) tek ilaç olarak ya da aminoglikozitler ile kombine edilerek tedavide kullanılabilir (11). Tedavi süresi Gram negatif basiller ile benzerdir, büyük ölçüde enfeksiyon bölgesine bağlı empirik tedavi uygulanır. Enfeksiyona, çoklu ilaç direncine sahip izolatlar neden olmuşsa, antibiyotik seçeneği sınırlıdır. İn vitro olarak en aktif ajanlar polimiksin grubundaki polimiksin B ve polimiksin E (kolistin)'dir (11, 107, 108).

Polimiksinler katyonik deterjanlardan oluşur ve bakteri sitoplazmik membranını parçalayarak hücre içeriğinin dışarı çıkmasına neden olur (11). 1960 ve 1970'lerde klinisyenler, polimiksinleri nörotoksik ve nefrotoksik etkilerinden dolayı bırakmışlardır. Gram negatif basillerde çoklu ilaç direnci gelişimi, son yıllarda polimiksinleri tekrar kullanıma getirmiştir; yapılan çalışmalarda farklı ilaç formülasyonları, daha düşük doz ve yoğun bakım takibinin iyi olması sayesinde toksisite azaltılmıştır (11, 109). Nefrotoksisite oranları %36'ya kadar değişmekte ve nörotoksisite ise yaygın görülmemektedir (109).

İnhale kolistinin başlıca yan etkisi (önceden korunma için ya da sonradan ventilator ilişkili pnömoni tedavisi için kullanılan) bronkokonstiksiyondur (107, 109).

Tigesiklin, MDR *A. baumannii* suşlarının bir kısmına in vitro olarak etkili yeni bir glisiklin antibiyotiktir. Fakat, son yıllarda tigesikline de direnç gelişmiştir. Ayrıca bazı *Acinetobacter* salgınlarında çoğu suşun tigesikline duyarlı olmadığı bildirilmiştir (11, 110). Birçok seride, pnömoni tedavisinde intravenöz kolistinin %50 ve üzeri başarı sağladığı gösterilmiştir. Ancak, 20 olguluk bir seride başarı oranı %25 olarak raporlanmıştır (11, 111). Kwa ve ark. (112) 17 *Acinetobacter* pnömonisi olan hastada inhale kolistin tedavisi uygulamışlar ve %57,1 klinik iyileşme raporlamışlardır. Dolaşım sistemi enfeksiyonları tedavisi ile ilgili veriler daha azdır. Şikago ve Kuzeybatı Indiana'daki *Acinetobacter* salgını sırasında 81 dolaşım yolu enfeksiyonunun tedavisi edildiği bildirilmiştir. Olguların üçte ikisinde sadece tek kan kültürü pozitifliği elde edilmiş, hastaların %25'inde negatif kan kültürü sonucu elde edilmeden önce vasküler

kateterleri değiştirilerek kateter ilişkili enfeksiyonlar önlenmiştir. Olguların %49'una aktif antibiyotik tedavi verilmemiş ya da olguların %22'sinin kan kültürü negatif olduktan sonra antibiyotik verilmiştir (11).

*Acinetobacter*'lerin neden olduğu merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarının tedavisinde intravenöz ya da intratekal kolistin başarıyla kullanılmıştır. İntravenöz ilaç uygulaması sonucunda, serumdaki ilaç seviyesinin yaklaşık olarak %25'i serebrospinal sıvı ile enfekte meninkslere ılımlı seviyede penetre olmaktadır (11, 113).

Klinisyenler MDR bakteri enfeksiyonları ile karşılaştıkları zaman sıklıkla kombine antibiyotik kullanmaktadırlar. İn vitro çalışmalarda polimiksinin imipenem, rifampin ya da azitromisin ile birlikte kullanımının MDR *Acinetobacter*'lere karşı sinerjik ya da aditif etki oluşturduğu gösterilmiştir (11, 114).

## 3. GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Örneklerin Toplanması

Bu tez çalışması, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Etik Kurul Başkanlığı'nın 08.03.2012 tarih ve 2012/113 sayılı kararı ile "Etik Kurul Onayı"nı almıştır.

Çalışma için toplanan örnekler, Ekim 2011- Mayıs 2012 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi servislerinde ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların, mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen, çeşitli klinik örneklerde üreyen *Acinetobacter baumannii* kompleks izolatları, Rep-PCR çalışma yapıncaya kadar %10 gliserollü buyyona alınarak -30°C'de saklandı. Çalışmaya dahil edilen hastaların örneklerinden birden fazla izolasyon gerçekleştirildiyse, bu hastalardan izole edilen sadece bir *A. baumannii* kompleks suşu çalışmaya dahil edildi. Çalışmada 75 hastadan izole edilen 75 *A.baumannii* kompleks kullanıldı.

### 3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

#### 3.2.1. Kullanılan Cihazlar

- Etüv (Memmert, İngiltere)
- Derin dondurucu (Uğur, Türkiye)
- Buzdolabı (Ariston)
- Pasteur fırını (Memmert UE 500, İngiltere)
- Işık mikroskobu (Olympus, Japonya)
- Bulaşık makinası (Beko, Türkiye)
- PH metre (Hanna, İtalya)
- Mikropipet seti (HTL LAB, Discovery comfort, 1000µl, 200µl, 100µl, 10µl)
- Vitek 2 cihazı (BioMerieux, Fransa)

- Vitek 2 GN tanımlama kartı
- Otoklav (Hirayama HV-L Series 50L)
- Hassas Terazı (Scaltec)
- Buzdolabı (Indesit)
- Distile su cihazı (GFL-2104, Almanya)
- Nanodrop (NANODROP 2000, Thermo scientific)
- PCR Cihazı (Thermal Cycler, Eppendorf Mastercycler personal)
- Diversilab Sistemi ve yazılımı (BioMerieux, Fransa )
- Vortex (Vortex Genie 2)
- Vortex başlığı (MO BIO Vortex Adapter)
- Agilent chip yükleme istasyonu
- Chip vorteksi (IKA MS 3 Vortexer)
- Agilent 2100 Bioanalyzer

### 3.2.2. Kullanılan Kimyasallar

- N, N, N, N-Tetrametil-p-fenilendiamin hidroklorid (Merck,Germany)
- Steril Distile Su
- Nuclease Free Su (Fermentas, #R0582)

### 3.2.3. Kullanılan Diversilab Kitleri

- DiversiLab DNA Ekstraksiyon Kiti (UltraClean Microbial DNA isolation Kit 50 Purifications) (Catalog: BMX12224-50, LOT: BX11H15, MO BIO Laboratories, BioMerieux SA, Fransa)
- DiversiLab *Acinetobacter* Kiti (Rep-PCR Reagents for DNA Fingerprinting, Lot: AC061101, BioMerieux SA, Fransa)  
Kit içeriği: Primer MixA, Rep-PCR MM1, Pozitif kontrol C3, Negatif kontrol AmpliTaq DNA polymerase, 10X PCR Buffer (Applied Biosystems, Lot: N13173, Roche)

- DNA Reagent ve Supplies  
DiversiLab System 25 Chip Kits (Lot: NM06RK01, BioMerieux SA, Fransa )  
Kit içeriği: DNA Dye Concentrate, DNA gel matrix, DNA ladder, DNA marker  
DiversiLab System labchip (Lot No: ND12BK02, BioMerieux SA, Fransa )

#### **3.2.4. Kullanılan Besiyerleri**

Hazır toz besiyerleridir. Belirtilen miktarlarda pH'sı 7.4 olan distile suda eritildikten sonra otoklavda 121°C-15 dakika steril edilerek hazırlanır.

- Blood Agar Base (Titan Media, lot: M3G0CG01, Hindistan)
- Eosin Methylene Blue Agar (EMB) (BioMerieux SA, lot: 866855801, Fransa)
- Mueller Hinton agar (MHA)(OXOID, lot: 654362, İngiltere)
- Triple Sugar Iron Agar (TSI) (HIMEDIA, lot: 15813, Hindistan)

#### **3.2.5. Kullanılan Antibiyotik Diskleri**

Kullanılan antibiyotik diskler 6 mm çapında ve parantez içinde belirtilen miktarlarda etkili madde emdirilmiş hazır ticari (OXOID, İngiltere) disklerdir. Kullanılan antibiyotik diskleri: Piperasilin-tazobaktam (100/10 µg), Sefepim (30µg), Seftazidim (30µg), İmipenem (10 µg), Meropenem (10 µg), Kolistin (10 µg), Gentamisin (10 µg), Amikasin (30 µg), Tetrasiklin (30 µg), Levofloksasin (5µg), Siprofloksasin (5µg), Trimetoprim-sulfametoksazol (25µg), Tigesiklin (15µg).

### **3.3. Kullanılan Besiyerlerinin ve Kovaks Ayırıcının Hazırlanması**

#### **3.3.1. %5 Kanlı Agar Hazırlanması**

Besiyeri içeriğinde sıgır kalp infüzyonu (500 gr/L), agar (15gr/L), triptoz (10 gr/L) ve sodyum klorür (5 gr/L) bulunur. Toz besiyerinden 40 gr tartılarak 950 ml distile su içerisinde erimesi sağlandı. 121 °C’de 15 dak otoklav işleminin ardından besiyeri 45-50°C’ye kadar soğuması için beklendi ve üzerine 50 ml steril defibrine insan kanı eklendi. Çalkalanarak karışması sağlandı ve hemen ardından 90 mm çapındaki steril plastik petri kaplarına, kalınlığı 4 mm olacak şekilde döküldü ve kullanım süresine kadar buzdolabında (+ 4°C) saklandı. . Besiyeri pH değeri 7,3’tür.

#### **3.3.2. Eosin Methylene Blue Agar (EMB) Hazırlanması**

EMB agar, klinik materyallerden Gram negatif patojenlerin izole edilmesinde kullanılan seçici ve ayırıcı bir besiyeridir. Toz haldeki EMB agardan 36 gr tartılarak 1000 ml distile su içersinde eritildi. Besiyeri, 121°C’de 15 dak otoklav işleminden geçirilerek sterilizasyonu sağlandı. Otoklav işleminden sonra besiyeri 50°C’ye kadar soğuması için su banyosunda bekletildi ve 90 mm çapındaki steril plastik petri kaplarına, kalınlığı 4 mm olacak şekilde döküldükten sonra kullanım süresine kadar buzdolabında (+ 4°C) saklandı.

#### **3.3.3. Mueller Hinton Agar (MHA) Hazırlanması**

Toz haldeki MHA’dan 38 gr tartılarak 1000 ml distile su içersinde eritildi. Besiyeri, 121°C’de 15 dak otoklav işleminden geçirilerek sterilizasyonu sağlandı. Otoklav işleminden sonra besiyeri 50°C’ye kadar soğuması için su banyosunda bekletildi. MHA besiyeri, 90 mm çapındaki steril plastik petri kaplarına, kalınlığı 4 mm olacak şekilde döküldükten kullanım süresine kadar buzdolabında (+ 4°C) saklandı.



### 3.3.4. Triple Sugar Iron Agar Hazırlanması

Dehydrate TSI agar besiyerinden 65 gr tartılarak 1000 ml distile su içersine eklendi. Besiyeri kaynatılarak homojen hale getirildi ve 50°C'ye kadar soğuması için su banyosunda bekletildi. Daha sonra besiyeri 7-8 ml olacak şekilde deney tüplerine dağıtıldı. Besiyeri içeren tüpler, 121°C'de 15 dakika otoklav işleminden geçirilerek sterilizasyonu sağlandı. Otoklav işleminden sonra tüpler 45° açı oluşturacak şekilde yatık pozisyonda oda ısında bekletilerek besiyerinin katılaşması sağlandı ve kullanım süresine kadar +4°C'de buzdolabında saklandı.

### 3.3.5. Kovaks Ayıracağı (Oksidaz testi)

1 gr N, N, N, N-Tetrametil-p-fenilendiamin hidrokloridin distile sudaki %1'lik eriyiği ile hazırlandı.

## 3.4. Kültür ve İdentifikasyon

Hastanede yatan hastalardan gönderilen klinik örnekler, %5 kanlı agara ve EMB agara ekimi yapılarak 35°C'de 24 saat etüvde bekletildi. 24 saatlik inkübasyon sonunda koloni morfolojileri *Acinetobacter* olabileceği düşünülen (Kanlı agarda beyaz parlak, opak koloniler ve EMB agarda laktoz negatif, renksiz koloniler) tipik kolonilerin Gram boyama görüntülerine bakıldı. Gram boyamada kokobasil şeklinde ve çiftler halinde görülen mikroorganizmaların *Acinetobacter* olabileceği düşünüldü. Bu mikroorganizmaların identifikasyonu için sırasıyla oksidaz, katalaz ve karbonhidrat fermantasyon testleri yapıldı.

Oksidaz testi, hazırlanan Kovaks ayıracağından birkaç damla filtre kâğıdına damlatıldı. Platin öze ile koloniden bir miktar mikroorganizma alınıp kâğıt üzerine sürüldü ve 10-15 sn beklendi. Bu süre içerisinde renk değişimi olmayan örnekler negatif; mor renk oluşturan örnekler ise pozitif olarak değerlendirildi.

Katalaz testi, kanlı agar dışındaki katı besiyerinde üremiş olan mikroorganizma kolonilerinden platin öze yardımı ile yeterli miktarda alınarak temiz bir lamın üzerine

konuldu. Sonra buna %30 luk hidrojen peroksidden bir damla damlatıldı. Hidrojen peroksid eklenmesinden sonra kabarcık oluşması pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi.

Triple sugar iron agar besiyeri ile laktoz, sükröz ve glukoz fermentasyonları değerlendirildi. Petride tek düşen kolonilerden iğne yardımıyla ile alınan bakteriler, önce besiyerinin dik kısmına batırılarak; besiyerinin yatık kısmına ise yüzeye zikzak çizilerek ekim yapıldı. 35 °C'de 24 saatlik inkübasyon sonunda, tüp besiyerinin dik ve yatık kısımlarındaki renk değişimlerine göre değerlendirildi. Besiyerinde renk değişimine neden olmayan bakteriler nonfermantatif olarak değerlendirildi.

Oksidaz negatif, nonfermantatif ve katalaz pozitif mikroorganizmalar Vitek 2 GN kart ile tür düzeyinde tanımlandı.

İzolatların tür düzeyinde identifikasyonları Vitek 2 sistemi ile yapıldı. Saf kolonilerden steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 McFarland bulanıklık değerinde bakteri süspansiyonları hazırlandı. Üretici firmadan sağlanan (Vitek 2 GN kart) identifikasyon kartları kullanılarak bakteri identifikasyonu sağlandı.

### **3.5. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi**

#### **3.5.1. Disk Difüzyon Yöntemi**

Klinik örneklerden izole edilen *A. baumannii complex* izolatlarının antibiyotiklere karşı duyarlılığı, Mueller-Hinton Agar ve standart antibiyotik diskleri kullanılarak Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) standartları doğrultusunda yapıldı (115).

Antibiyotik duyarlılık testi için ticari olarak temin edilen şu antibiyotik diskleri kullanıldı: Piperasilin (100 µg), piperasilin-tazobaktam (100/10 µg), sefepim (30 µg), seftazidim (30 µg), imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), kolistin (10 µg), gentamisin (10 µg), amikasin (30 µg), tetrasiklin (30 µg), levofloksasin (5 µg), siprofloksasin (5 µg), trimetoprim-sulfametoksazol (25 µg) ve tigesiklin (15µg).

Kanlı agarda saf olarak üreyen *A. baumannii* kompleks kolonilerinden steril öze ile bir miktar bakteri alınarak steril %0.9 serum fizyolojik içerisinde 0.5 McFarland

bulanıklık değeri olacak şekilde homojenize edildi. Elde edilen bakteri süspansiyonu steril eküvyon yardımı ile oda sıcaklığında bekletilmiş MHA besiyerlerine bütün yüzeyi kaplayacak şekilde ekildi. Plakların kuruması için bir süre beklendikten sonra antibiyotik diskleri (merkezden merkeze) en az 24 mm aralıklı olacak şekilde yerleştirildi ve 35°C’de 18-24 saat etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda inhibisyon zon çapları bir cetvel yardımıyla ölçülerek CLSI (M100-SS22 2012) kılavuzuna göre; duyarlı (S; Du), orta duyarlı (I; OD) veya dirençli (R; Di) olarak yorumlandı (Çizelge 3.1.) (115). Kolistin ve tigesiklin için zon çapları CLSI kılavuzunda bulunmamaktadır. Bu çalışmada tigesiklin zon çapları Jones ve ark. (116) yaptığı çalışma referans alınarak değerlendirildi. Kolistin zon çapları ise Galani ve ark. (117) yaptığı çalışma referans alınarak değerlendirildi (Çizelge 3.1.). Çalışmadaki 53 süşun antibiyotik duyarlılıkları Vitek 2 sistemi ile değerlendirilmiştir. Vitek 2 sistemi ile elde edilen kolistin, tigesiklin ve karbapenem sonuçları bulgulara verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Disk difüzyon testinin yorumlanmasında kullanılan zon çapları (115, 116, 117)

| <b>Antibiyotik</b>          | <b>Duyarlı (S) (mm)</b> | <b>Orta Duyarlı (I) (mm)</b> | <b>Dirençli (R) (mm)</b> |
|-----------------------------|-------------------------|------------------------------|--------------------------|
| Piperasilin                 | ≥ 21                    | 18-20                        | ≤ 17                     |
| Piperasilin-tazobaktam      | ≥ 21                    | 18-20                        | ≤ 17                     |
| Sefepim                     | ≥18                     | 15-17                        | ≤14                      |
| Seftazidim                  | ≥18                     | 15-17                        | ≤14                      |
| İmipenem                    | ≥16                     | 14-15                        | ≤13                      |
| Meropenem                   | ≥16                     | 14-15                        | ≤13                      |
| Gentamisin                  | ≥15                     | 13-14                        | ≤12                      |
| Amikasin                    | ≥17                     | 15-16                        | ≤14                      |
| Tetrasiklin                 | ≥15                     | 12-14                        | ≤11                      |
| Levofloksasin               | ≥17                     | 14-16                        | ≤13                      |
| Siprofloksasin              | ≥21                     | 16-20                        | ≤15                      |
| Trimetoprim-sulfametoksazol | ≥16                     | 11-15                        | ≤10                      |
| Tigesiklin                  | ≥16                     | 13-15                        | ≤12                      |
| Kolistin                    | ≥14                     | 13                           | ≤12                      |

### **3.6. Moleküler Tiplendirme**

Çalışmaya dahil edilen hasta örneklerinden izole edilen 75 *A. baumannii* kompleks suşu arasındaki klonal ilişkinin varlığı Rep-PCR Diversilab sistemi ile araştırıldı.

#### **3.6.1. REP-PCR Diversilab Sistemi ile Moleküler Tiplendirme**

REP (Repetitive Extragenic Palindromic Element) PCR yönteminde, epidemiyolojisi araştırılan mikroorganizmaların kromozomları üzerinde bulunan, kısa, tekrarlayan ve konservatif yapıları hedef alan kısa primerler kullanılır. Bu bölgelerin birbirlerine yakınlığına bağlı olarak iki ekstragenik bölge arasında kalan kısım amplifiye edilir ve elde edilen PCR ürünleri agaroz jel elektroforezinde değerlendirilir. Diversilab sistemine bağlı Rep-PCR uygulaması aşamaları; koloniden DNA ekstraksiyonu, DNA miktarının ölçülmesi, diversilab parmak izi kitleri ile Rep-PCR; diversilab çipleri ile mikro akışkan elektroforez ve internet tabanlı yazılım programı ile sonuçların değerlendirilmesini takip eden aşamalardan oluşur.

##### **3.6.1.1. DNA İzolasyonu**

DNA izolasyonu UltraClean Microbial DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories, ABD) ile üretici firmanın önerdiği DNA izolasyon protokolüne göre yapıldı. DNA izolasyonu yapılacak örnekler kanlı agara tek koloni ekimi yapılarak 35°C'de 18-24 inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda örnekler ikinci kez pasajlanarak elde edilen kültürlerden DNA izolasyonu yapıldı.

###### **3.6.1.1.1. DNA izolasyonunun yapılışı:**

- 300 µl MicroBead çözeltisi, çalışılacak örnek sayısı kadar çıkarılan MicroBead tüplerine dağıldı.

- Besiyerindeki bakterilerden 1 µL'lik steril öze ile 2 öze dolusu örnek MicroBead tüpü içerisine alınarak tüp içerisinde bulunan kum taneleri ile karışması sağlandı.
- MicroBead tüpüne 50 µl MD1 çözeltisi eklendi.
- İçerisinde bakteri süspansiyonu bulunan MicroBead tüpleri, MOBIO vorteks adaptörüne takılarak 10 dak boyunca maksimum hızda vortekslendi.
- Vorteksleme işleminden sonra tüpler 10.000 g'de 30 sn. çevrildi.
- Temiz tüplere 100 µl MD2 çözeltisi kondu.
- Santrifüj işlemi sonunda elde edilen tüm süpernatant 100 µl MD2 çözeltisine aktarıldı. Bu aşamada süpernatant ile birlikte MicroBead tüplerindeki kum tanelerinin taşınmamasına dikkat edildi.
- Örnekler kısa bir süre vortekslendi ve 15 dak veya yeterli soğukluğa ulaşıncaya kadar buzdolabına bırakıldı.
- Buz dolabından çıkarılan örnekler 1 dak 10.000 g'de santrifüj edildi.
- Temiz tüplere 450 µl MD3 çözeltisi eklendi.
- Santrifüj sonunda örneklerden 200 µl süpernatant 450 µl MD3 çözeltisine aktarıldı.
- Tüpler kısa bir süre vortekslendi ve çevrildi.
- Süpernatant (yaklaşık 650 µl) temiz bir spin filtreye transfer edildi.
- Spin filtreli tüpler 30 saniye boyunca 10.000 g'de santrifüj edildi. Toplama tüpüne akan sıvı atıldı.
- 300 µl MD4 çözeltisi spin filtreye boşaltıldı.
- Spin filtreli tüpler 30 saniye boyunca 10.000 x g'de santrifüj edildi ve toplama tüpüne akan sıvı atıldı.
- Tüpler, 1 dak 10.000 g'de kuru olarak santrifüj edildi.
- Spin filtreler temiz bir tüpe aktarıldı.
- 35 µl MD5 çözeltisi spin filtrenin ortasına gelecek şekilde boşaltıldı ve 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- İnkübasyon sonunda spin filtre içeren 30 sn.10.000 g'de santrifüj edildi.
- Santrifüj işleminden sonra DNA'lar toplama tüpüne aktarıldı ve spin filtre atıldı.

- Toplama tüpünde elde edilen DNA'lar Rep-PCR uygulamasına kadar - 20°C'de bekletildi.

### 3.6.1.1.2. DNA miktarlarının ölçülmesi

İzole edilen DNA'ların miktarları nanodrop cihazı ile ölçüldü. Miktarı fazla olan örneklerin DNA'ları, Diversilab dilüsyon hesaplama (dilution calculator) programı ile dilüsyon için gereken DNA ve su miktarları hesaplanarak, nükleaz içermeyen steril su ile 35 ng/µL olacak şekilde seyreltildi.

### 3.6.1.2. Rep-PCR Uygulaması

Rep-PCR uygulaması Diversilab *Acinetobacter* DNA parmak izi kit ile yapıldı. Reaksiyon bileşenlerinin hazırlanması ve termal cyclus programının oluşturulması Diversilab sistemi Rep-PCR iş akışı programında belirtildiği gibi uygulandı (çizelge 3.2. ve çizelge 3.3.).

**Çizelge 3.2.** Rep-PCR amplifikasyonunda bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı

| <b>Reaksiyon Bileşenleri</b> | <b>Miktar</b> |
|------------------------------|---------------|
| Rep-PCR MM1                  | 18 µL         |
| GeneAmp 10X PCR Buffer       | 2,5 µL        |
| Primer Mix                   | 2 µL          |
| AmpliTaq DNA polimeraz       | 0,5 µL        |
| Ekstraksiyon ürünü 35ng/µL   | 2 µL          |
| <b>Toplam</b>                | <b>25 µL</b>  |

**Çizelge 3.3.** Rep-PCR amplifikasyon koşulları

| Reaksiyon Aşaması                   | Sıcaklık (°C) | Süre (saniye) | Döngü Sayısı |
|-------------------------------------|---------------|---------------|--------------|
| Ön ısıtma (Başlangıç denatürasyonu) | 94            | 120           | 1            |
| Denatürasyon                        | 94            | 30            | 35           |
| Primer bağlanması (annealing)       | 50            | 30            |              |
| Zincir uzaması (extension)          | 70            | 90            |              |
| Son uzama (Final extension)         | 70            | 180           | 1            |
| Muhafaza                            | 4             | ∞             | ∞            |

### 3.6.1.3. Diversilab DNA Labchip Uygulaması

Rep-PCR ile amplifiye edilen *Acinetobacter* DNA'ları Diversilab labchip kitine (BioMerieux Sa-Fransa) yüklenerek Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, A.B.D.) ile mikroakışkan elektroforez uygulandı. Labchip elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra elde edilen ham grafikler internet tabanlı Diversilab yorumlama ve yazılım programı (DiversiLab, version 3.4, BioMerieux, Fransa) ile değerlendirildi.

#### 3.6.1.3.1. Jel-Boya Matriks Hazırlanması

- Diversilab DNA chip kiti ile birlikte kullanılan ve buzdolabında muhafaza edilen DNA Reagent & Supplies kiti jel matriksi hazırlamak için buzdolabından çıkartıldı ve oda ısısına gelinceye kadar beklendi.
- Jel ve boya vortekslendi ve kısa süreli spin yapıldı.
- 1.5 ml'lik bir tüpe 200 µl jel yavaşça pipetlendi ve üzerine 10 µl boya eklendi.
- Karışım homojen olana kadar vortekslendi.
- Karışım kit içinde bulunan spin filtreye transfer edildi.
- Spin filtre 1500 g'de 10 dak santrifüj edildi.
- Santrifüj işleminden sonra filtre atılarak toplama tüpündeki jel-boya çip yükleme aşamasında kullanıldı.

### 3.6.1.3.2. ip Yükleme

- DNA Reagent & Supplies kiti oda ısısına gelinceye kadar bekletildi.
- Kit içerisinde bulunan DNA marker ve ladder kısaca vortekslendi, jel boya karışımını vortekslenmeden kullanıldı.
- 9 µl jel boya karışımı çipin üzerindeki siyah daireye alınmış G yükleme kuyusuna pipetlendi.
- ip yükleme istasyonu şırıngası 1 ml’de iken ip istasyona yerleştirildi ve ipe 30 sn. basınç uygulandı.
- Kalan G kuyularına 9 µl jel boya karışımı pipetlendi.
- Her bir numune kuyusuna 5 µl DNA marker pipetlendi.
- İlgili numune kuyularına 1 µl PCR ürünü eklendi.
- Örnekler ipe yüklendikten sonra ip 1 dak vortekslendi.

ip vorteks işleminden sonra Agilent 2100 Bioanalyzer cihazına yerleştirildi ve cihazın programına ip numarası girilerek mikroakışkan ip elektroforezi başlatıldı. ip elektroforezi sonucunda Rep-PCR parmak izi grafikleri ve bant kalıpları internet tabanlı yazılım programı ile elde edildi. Örneklerin Rep-PCR profil benzerliklerinin hesaplanması, DiversiLab yazılımı üzerinde Pearson korelasyon katsayısı ve UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) yöntemi kullanılarak yapıldı. Verilerin analizinde, her bir suş için jel profil görüntüsü, yüzde benzerlik oranları ve dendrogram raporu oluşturuldu.

Rep-PCR parmak izi profil benzerliklerinin yorumlanması Diversilab rehberinde verilen kriterler referans alınarak yapıldı (118).



#### **3.6.1.4. Suşların Rep-PCR Parmak İzi İlişkilerinin Değerlendirilmesi (118)**

- 1) Ayırt edilemez örneklerin benzerlik yüzdeleri (benzerlik > %97) yüksektir. Bu grupta yer alan örnekler genellikle %97'nin üzerinde benzerlik gösterirler ve bant farklılığı yoktur. Çalışmada bu grupta yer alan örnekler ana klonun alt tipi olarak (alt klon) olarak değerlendirildi
- 2) Benzer örneklerin benzerlik oranları (benzerlik %95-97 arasında, 1-2 bant farkı) biraz düşüktür. Genellikle % 95'in üzerinde benzerlik gösterirler ve 1-2 bant farklılığı vardır. Çalışmada bu özelliğe sahip örnekler ana olarak değerlendirildi.
- 3) Farklı örnekler düşük benzerlik oranına (benzerlik < %95 ve > 2 bant farkı) sahiptir. Benzerlik oranı genellikle %95'in altındadır ve bant farklılığı fazladır. Bu grupta yer alan örnekler çalışmada farklı klon olarak değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Örneklerin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde, Ekim 2011-Mayıs 2012 tarihleri arasında, 75 hastanın çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 75 *Acinetobacter baumannii complex* suşu çalışmaya alındı. Kompleks içerisinde bulunan suşların tür ayrımı için ileri bir moleküler yöntem kullanılmadı, ancak Rep-PCR profilleri Diversilab kütüphanesi ile karşılaştırıldığında suşların 74 tanesi *A.baumannii* ve 1 tanesi *A.pitti* olarak tanımlandı.

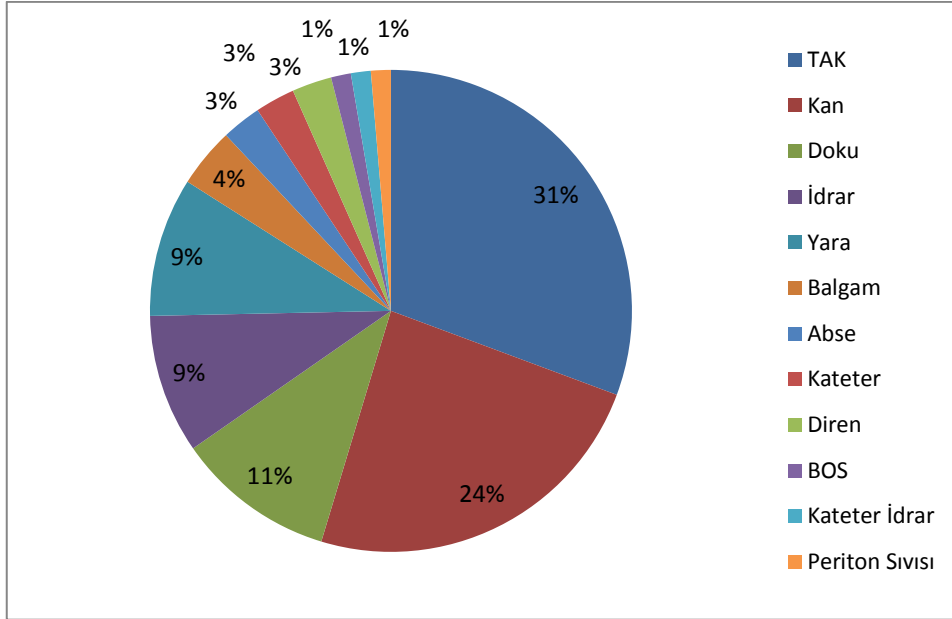
Çalışmaya dahil edilen *Acinetobacter* suşlarının izole edildiği klinik örnekler ve sayıları şu şekildedir: Trakeal aspirat 23 (%30,6), kan 18 (%24), doku 8 (%10,6), idrar 7 (%9,4), yara 7 (%9,4), balgam 3 (%4), abse 2 (%2,7), kateter 2 (%2,7), diren 2 (%2,7), BOS 1 (%1,3), kateter idrar 1 (%1,3) ve periton sıvısı 1 (%1,3) (Çizelge 4.1.) (Şekil 4.1.).

Çalışmaya dahil edilen *Acinetobacter* suşlarının izole edildiği hastaların 49 (%65,3)'u erkek ve 26 (%34,7)'si kadın hastalardı. Hastaların yaş ortalaması 48,4'tü ve yaş aralığı 1 ay ile 83 yıl arasında değişmekteydi. Erkek hastaların yaş ortalaması 44,5 (minimum: 1ay, maksimum:83), kadın hastaların yaş ortalaması 52,6 (minumum:1 ay, maksimum:77). *Acinetobacter*'lerin izole edildiği yaş gruplarına bakıldığında daha sık olarak 41-60 yaş grubu ve 60 yaş üzeri hastalardan izole edildiği görülmüştür (Çizelge 4.2.).

Örneklerin 36 (%48) tanesi 2011, 39 (%52) tanesi de 2012 yılına ait izolatlardı. Suşların 50 (%67)'si yoğun bakımlarda yatan hasta örneklerinden, 25 (%33)'i ise diğer servislerden izole edilmiştir. Suşların izole edildiği servislere göre dağılımı; anestezi reanimasyon ünitesinden 28 (%37,3), yenidoğan YBÜ 6 (%8), dahiliye YBÜ 6 (%8), cerrahi YBÜ 4 (%5,3), pediatri YBÜ 3 (%4) *Acinetobacter* izole edilmiştir. Diğer servislerdeki dağılım ise genel cerrahi servisinden 10 (%13,3), ortopedi servisinden 5 (%6,7), plastik cerrahi, hematoloji, üroloji ve nefroloji servislerinden 2 (%2,7)'şer tane, KBB ve göğüs hastalıkları servisinden 1 (%1,3)'er tane *Acinetobacter* suşu izole edilmiştir (Çizelge 4.3.) (Şekil 4.2.).

**Çizelge 4.1.** *Acinetobacter* suşlarının izole edildiği klinik örnekler

| Örnek Türü      | Sayı | Yüzde (%) |
|-----------------|------|-----------|
| Trakeal aspirat | 23   | 30,6      |
| Kan             | 18   | 24        |
| Doku            | 8    | 10,6      |
| İdrar           | 7    | 9,4       |
| Yara            | 7    | 9,4       |
| Balgam          | 3    | 4         |
| Abse            | 2    | 2,7       |
| Kateter         | 2    | 2,7       |
| Diren           | 2    | 2,7       |
| BOS             | 1    | 1,3       |
| Kateter idrar   | 1    | 1,3       |
| Periton Sıvısı  | 1    | 1,3       |
| Toplam          | 75   | 100       |



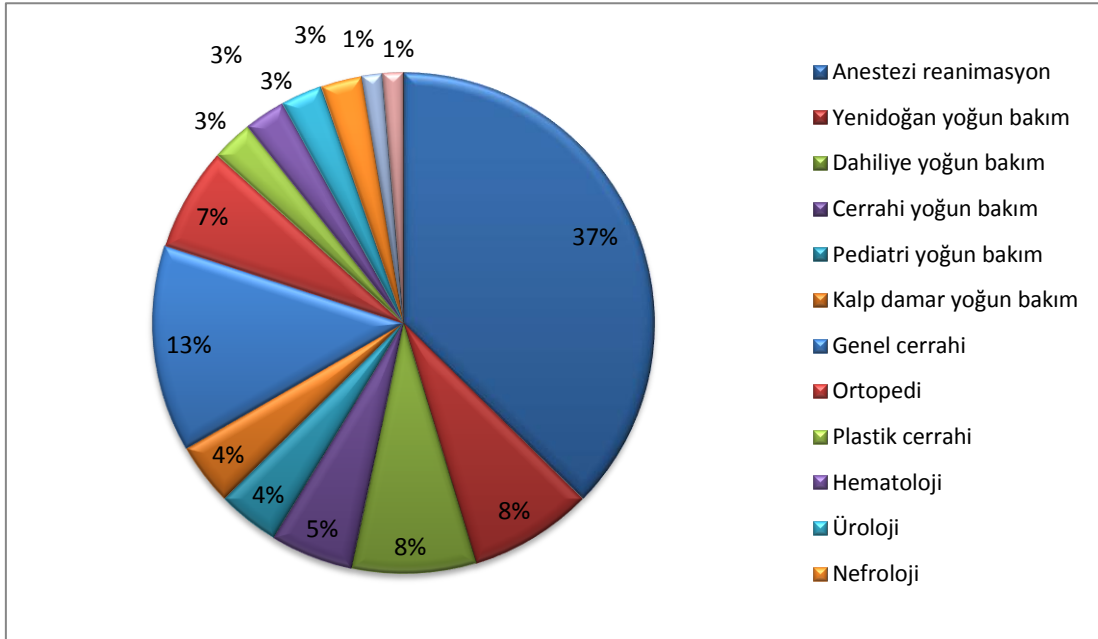
**Şekil 4.1.** *Acinetobacter* izole edilen örneklerin dağılım oranları

**Çizelge 4.2.** *Acinetobacter* izole edilen hastaların yaş grupları

|           | Yaş aralığı |           |           |           |              |
|-----------|-------------|-----------|-----------|-----------|--------------|
|           | 0-20 yaş    | 21-40 yaş | 41-60 yaş | 61-80 yaş | 80 yaş üzeri |
| Sayı      | 11          | 14        | 24        | 24        | 2            |
| Yüzde (%) | 14,6        | 18,7      | 32        | 32        | 2,7          |

**Çizelge 4.3.** *Acinetobacter* izolatlarının kliniklere göre dağılımı

| Bölümler    |                        | Hasta Sayısı | Toplam     |
|-------------|------------------------|--------------|------------|
| Yoğun Bakım | Anestezi reanimasyon   | 28 (%37,3)   | 50 (%67)   |
|             | Yenidoğan yoğun bakım  | 6 (%8)       |            |
|             | Dahiliye yoğun bakım   | 6 (%8)       |            |
|             | Cerrahi yoğun bakım    | 4 (%5,3)     |            |
|             | Pediyatri yoğun bakım  | 3 (%4)       |            |
|             | Kalp damar yoğun bakım | 3 (%4)       |            |
| Servis      | Genel cerrahi          | 10 (%13,3)   | 25 (%33,3) |
|             | Ortopedi               | 5 (%6,7)     |            |
|             | Plastik cerrahi        | 2 (%2,7)     |            |
|             | Hematoloji             | 2 (%2,7)     |            |
|             | Üroloji                | 2 (%2,7)     |            |
|             | Nefroloji              | 2 (%2,7)     |            |
|             | KBB                    | 1 (%1,3)     |            |
|             | Göğüs hastalıkları     | 1 (%1,3)     |            |



**Şekil 4.2.** *Acinetobacter* izolatlarının kliniklere göre dağılım oranları

Çalışmaya dahil edilen hastalardan ilk *Acinetobacter* izolasyonu hastaneye yatışlarından ortalama 13,7 (minimum:1 maksimum: 105) gün sonra elde edildi. Çalışmaya dahil edilen hastalardan 5'inde hastaneye yattığı ilk gün alınan klinik örneklerinde izolasyon sağlandı. Bu hastaların kayıtları incelendiğinde hastalardan 3'ünün başka bir sağlık merkezinden transfer edildiği, bir hastanın 4 gün önce taburcu

olup tekrar hastaneye başvurduğu ve bir hastanın 2 gün arayla hastaneye tekrar başvurduğu görülmüştür.

#### **4.2. Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları**

Disk Difüzyon testi sonuçlarına göre, bütün suşlar (%100) kolistine duyarlı bulundu. Suşların 49 (%65,3)'u tigesikline duyarlı iken 26 (%34,7)'sı orta duyarlı olarak bulundu. Yapılan antibiyogram sonuçlarına göre test edilen suşların en fazla direnç gösterdiği antibiyotikler şu şekildedir: Suşların %97,3'ü siprofloksasine, %97,3'ü sefepime, %96'sı piperasiline, %96'sı piperasilin-tazobaktama, %96'sı imipeneme ve %94,6'sı meropeneme dirençli olarak tespit edilmiştir. Suşların antibiyotik duyarlılık paternleri duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak Çizelge 4.4.'te verilmiştir.

Test edilen 75 suştan 73(%97)'ü 3 ya da daha fazla grup antibiyotiğe dirençli (MDR) bulunmuştur. Duyarlı 2 suştan birisi *A.pitti*'dir. Suşlardan 24 (%32) tanesi kolistin ve tigesiklin dışında, test edilen bütün antibiyotiklere dirençli bulunmuştur ve bu 24 suşun 9'ünde tigesiklin orta duyarlı sonuç vermiştir.

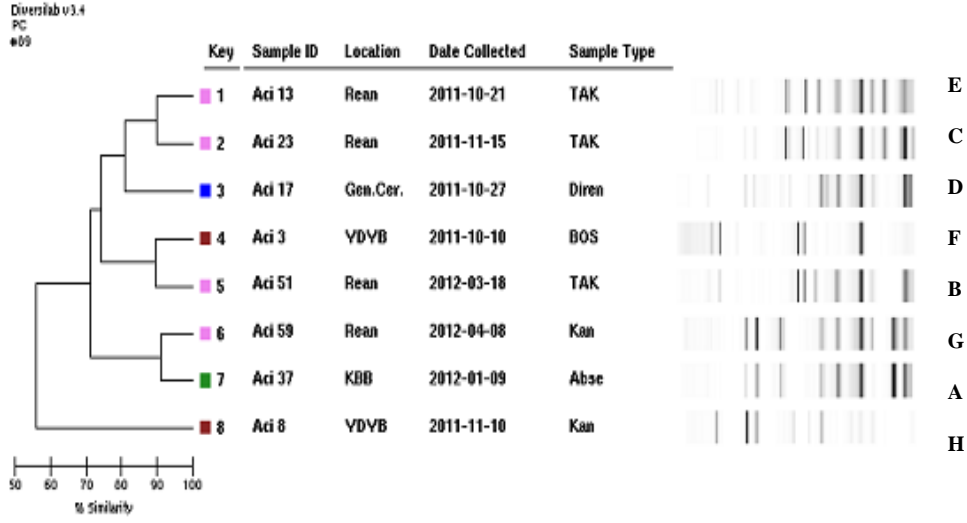
Vitek 2 sistemi ile test edilen örneklerin antibiyogram sonuçları; 50 örnekte kolistin test edildi ve %100 (50/50) duyarlı bulundu. Tigesiklin 53 örnekte test edildi ve %94,4 (50/53) duyarlı, %5,6 (3/53) orta duyarlı bulundu. Meropenem 53 örnekte %3,8 (2/53) duyarlı, %1,8 (1/53) orta duyarlı, %94,4 (50/53) dirençli bulundu. İmipenem ise 53 örnekte %3,8 (2/53) duyarlı, %96,2 (51/53) dirençli bulundu. Vitek sonuçlarında elde edilen karbapenem grubu antibiyotikler ve kolistin direnç oranları disk difüzyon sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Tigesiklin sonuçlarında ise disk difüzyon testi ile orta duyarlı bulunan 9 suş vitek ile duyarlı bulunmuştur.

**Çizelge 4.4.** Çalışmaya dahil edilen 75 *Acinetobacter* izolatlarının disk difüzyon testi sonucu

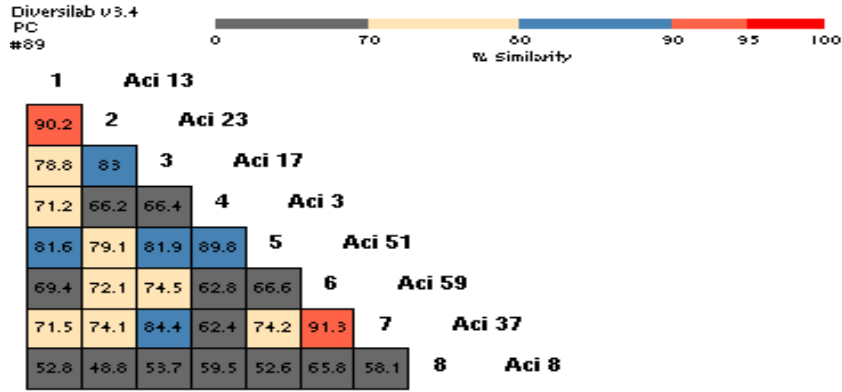
| Antibiyotik                 | Duyarlı |           | Orta Duyarlı |           | Dirençli |           |
|-----------------------------|---------|-----------|--------------|-----------|----------|-----------|
|                             | Sayı    | Yüzde (%) | Sayı         | Yüzde (%) | Sayı     | Yüzde (%) |
| Piperasilin                 | 1       | 1,3       | 2            | 2,7       | 72       | 96        |
| Piperasilin-tazobaktam      | 1       | 1,3       | 2            | 2,7       | 72       | 96        |
| Sefepim                     | 1       | 1,3       | 1            | 1,3       | 73       | 97,3      |
| Seftazidim                  | 5       | 6,7       | 3            | 4         | 67       | 89,3      |
| İmipenem                    | 2       | 2,7       | 1            | 1,3       | 72       | 96        |
| Meropenem                   | 2       | 2,7       | 2            | 2,7       | 71       | 94,6      |
| Gentamisin                  | 21      | 28        | 4            | 5,3       | 50       | 66,7      |
| Amikasin                    | 8       | 10,7      | 3            | 4         | 64       | 85,3      |
| Tetrasiklin                 | 7       | 9,3       | 17           | 22,7      | 51       | 68        |
| Levofloksasin               | 2       | 2,7       | 11           | 14,6      | 62       | 82,7      |
| Siprofloksasin              | 2       | 2,7       | 0            | 0         | 73       | 97,3      |
| Trimetoprim-sulfametoksazol | 6       | 8         | 2            | 2,7       | 67       | 89,3      |
| Tigesiklin                  | 49      | 65,3      | 26           | 34,7      | 0        | -         |
| Kolistin                    | 75      | 100       | 0            | -         | 0        | -         |

### 4.3. Moleküler Tiplendirme Rep-PCR Sonuçları

Çalışmada Rep-PCR Diversilab yöntemi ile tiplendirilen 75 *Acinetobacter* izolatından ikisi ana klon (A ve B) olmak üzere toplam 8 farklı klon (A-H) elde edildi. A ana klonu *Acinetobacter*'lerin 54 (%72)'ünün toplandığı en büyük klon olarak tespit edildi. B ana klonu 13 suş (%17,3) ile ikinci büyük klondur. Diğer klonlar; C ve D 2 (%2,7)'şer suş; E, F, G ve H 1 (%1,3)'er suş içermektedir. Her klondan bir suş seçilerek klonların birbirlerine benzerlik oranları, dendrogram (Şekil 4.3.) ve benzerlik matrisinde (Şekil 4.4.) gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Klonlara ait dendrogram



Şekil 4.4. Klonların benzerlik matrisi

### 4.3.1. Klonların Epidemiyolojik İlişkileri

#### 4.3.1.1. A Klonu

A ana klonu 54 suşla en büyük klonu oluşturmuştur ve klonun içerisinde %97 benzerlik oranına sahip aynı bant paterni gösteren 7 alt klon tespit edilmiştir.

Klondaki ilk suşlar 09.10.2011 tarihinde 2 hastanın trakeal aspirat kültüründen izole edilmiştir. Hastalardan biri reanimasyon ünitesinde diğeri ise genel cerrahi

servisinde yatan hastalardır. Klondaki son suş ise 20.05.2012 tarihinde yine reanimasyon ünitesinde yatan bir hastanın trakeal aspirat kültüründen izole edilmiştir.

Bu klonu oluşturan *Acinetobacter* suşu, reanimasyon ünitesi (n=20), genel cerrahi servisi (n=7), dahiliye yoğun bakım (n=6) ve diğer servislerde (n=21) 8 ay boyunca varlığını sürdürmüştür (Şekil 4.5.).

- **A 1 alt klonu:**

İki suş (29 ve 65 numaralı hasta) içermektedir. İlk suş 27.11.2011 tarihinde reanimasyon ünitesinde yatan hastanın trakeal aspirat kültüründen, diğer suş ise 04.05.2012 tarihinde genel cerrahi servisinde yatan hastanın abse kültüründen izole edildi. Genel cerrahi servisinde yatan hasta reanimasyon ünitesinde tedavi gördükten sonra servis değişikliği olmuştur.

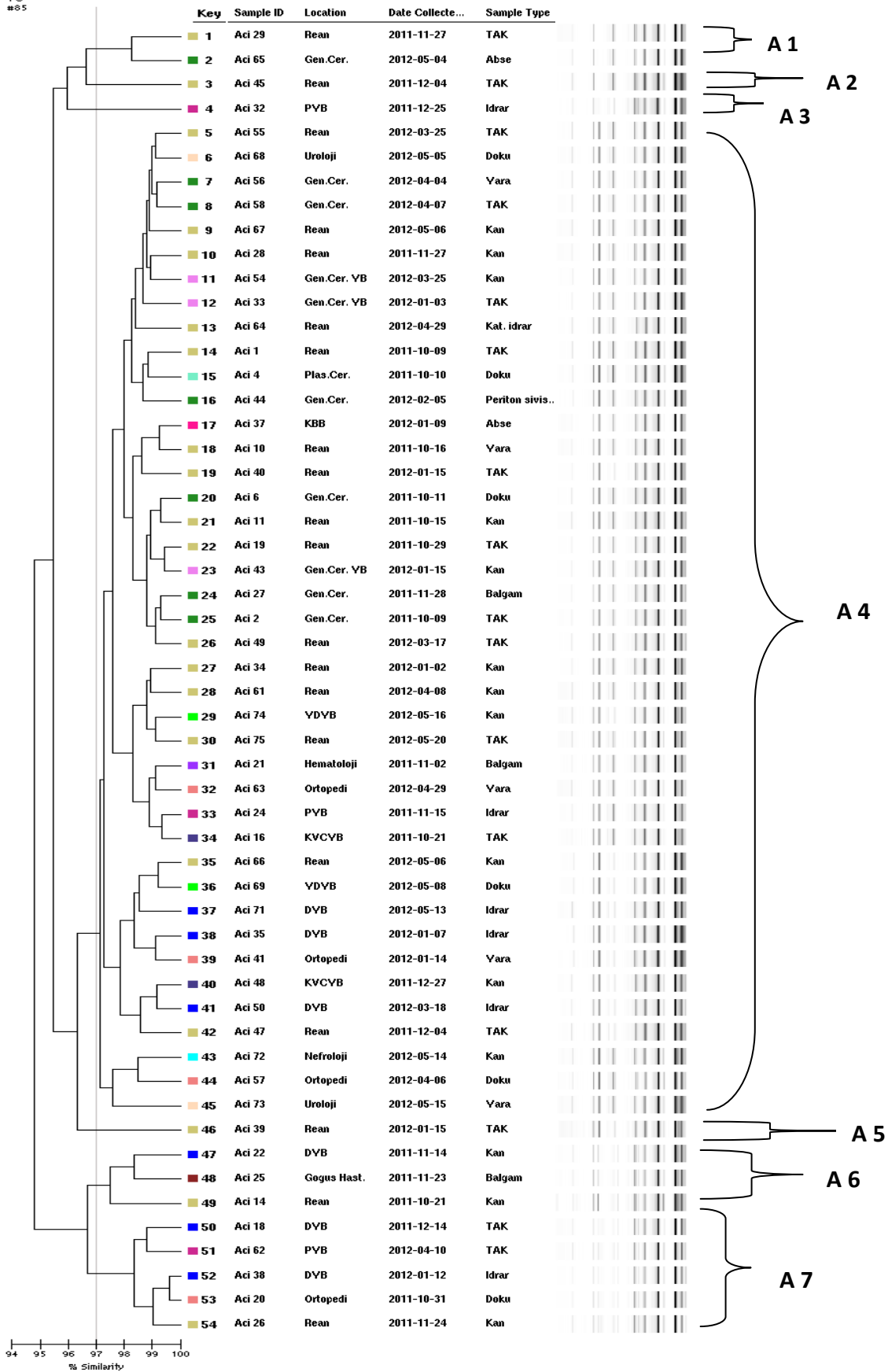
- **A 2 alt klonu**

Bir suştan (45 numaralı hasta) oluşmaktadır, 04.12.2011 tarihinde reanimasyon ünitesinde yatan hastanın trakeal aspirat kültüründen izole edilmiştir. A1 alt klonu ile yakın ilişkilidir. Hasta genel cerrahi servisinden reanimasyona transfer edilmiştir.

- **A 3 alt klonu**

Bir suştan (32 numaralı hasta) oluşmaktadır, 25.12.2011 tarihinde pediatri YBÜ'de yatan hastanın idrar kültüründen izole edildi.

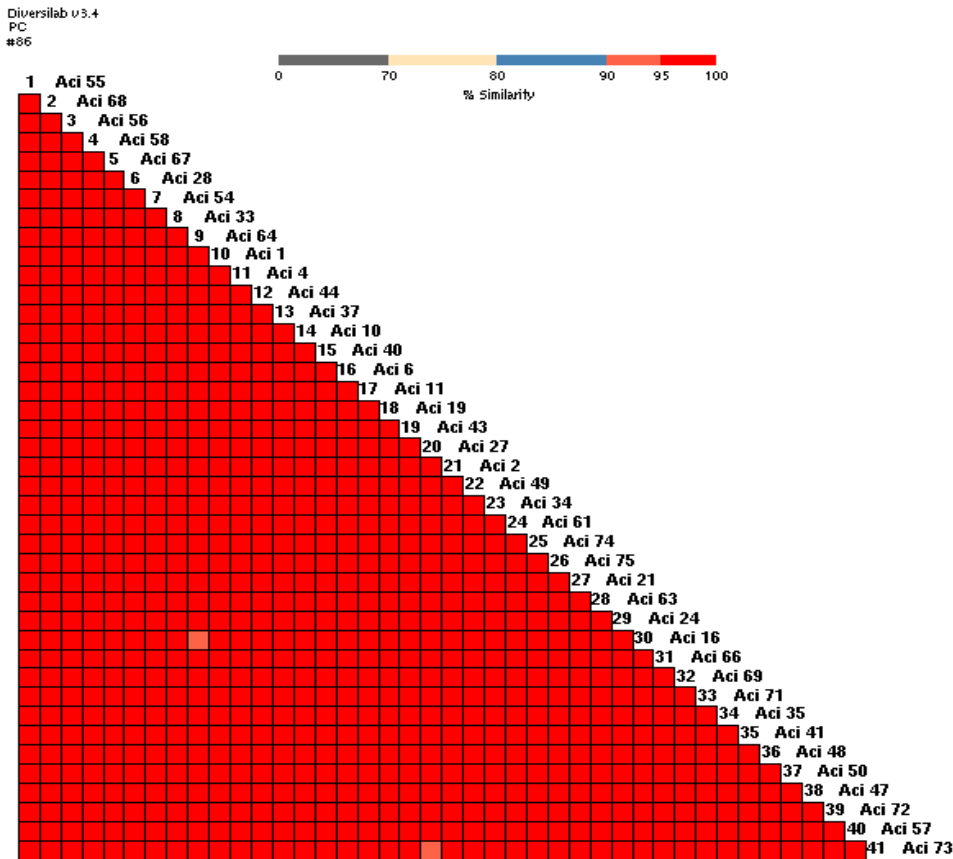




Şekil 4.5. A ana klonuna ait dendrogram

- **A 4 alt klonu**

Bu küme 41(%54) suşla en büyük alt klonu oluşturmuştur ve 8 ay boyunca izole edilmiştir (Şekil 4.5. ve Şekil 4.6). Kümedeki ilk suş (1 numaralı hasta) 09.10.2011 tarihinde reanimasyon ünitesinde yatan hastanın trakeal aspirat kültüründen izole edildi. Son suş (75 numaralı hasta) ise 20.05.2012 tarihinde yine reanimasyon ünitesi yatan bir hastanın trakeal aspirat kültüründen izole edildi. Suşların kliniklere göre dağılımına bakıldığında örneklerin 26'sı yoğun bakımlardan ve bunların 15'i reanimasyonda yatan hastalardan izole edildi. Bu suşun kliniklerdeki dağılımı ise reanimasyon, genel cerrahi yoğun bakım ünitesi, yenidoğan YBÜ, pediatri YBÜ, kardiyovasküler cerrahi YBÜ, dahiliye YBÜ, üroloji servisi, genel cerrahi servisi, plastik cerrahi servisi, KBB, hematoloji servisi, ortopedi servisi ve nefroloji servisi olarak bulundu.



Şekil 4.6. A 4 Alt klonuna ait benzerlik matrisi

- **A 5 alt klonu**

Bir suştan (39 numaralı hasta) oluşmaktadır. Çalışmaya dahil edilen örnek 15.01.2012 tarihinde reanimasyonda yatan hastanın trakeal aspirat kültüründen izole edilmiştir. Hasta 26.12. 2011 tarihinde dış merkezden transfer edilmiştir ve yoğun bakıma alındığı ilk günden itibaren trakeal aspirat kültürlerinde *Acinetobacter* ürediği tespit edildi.

- **A 6 alt klonu**

Üç suştan oluşmaktadır. A 7 alt klonu ile yakın ilişkilidir. Diğer A alt klonlarına benzerliği %94,8'dir ve 2 bant farklılığı vardır. İlk suş (14 numaralı hasta) 21.10.2011 reanimasyon ünitesinde yatan hastanın kan kültüründen izole edildi. Son izolasyon ise 23.11.2011 tarihinde göğüs hastalıkları servisinde yatan bir hastanın (25 numaralı hasta) balgam kültüründen izole edildi. Bu klonun izole edildiği hastaların bilgilerinde üç hastanın da dâhiliye YBÜ'de yattığı ve iki hastanın tedavisi için servis değişikliği yapıldığı tespit edilmiştir.

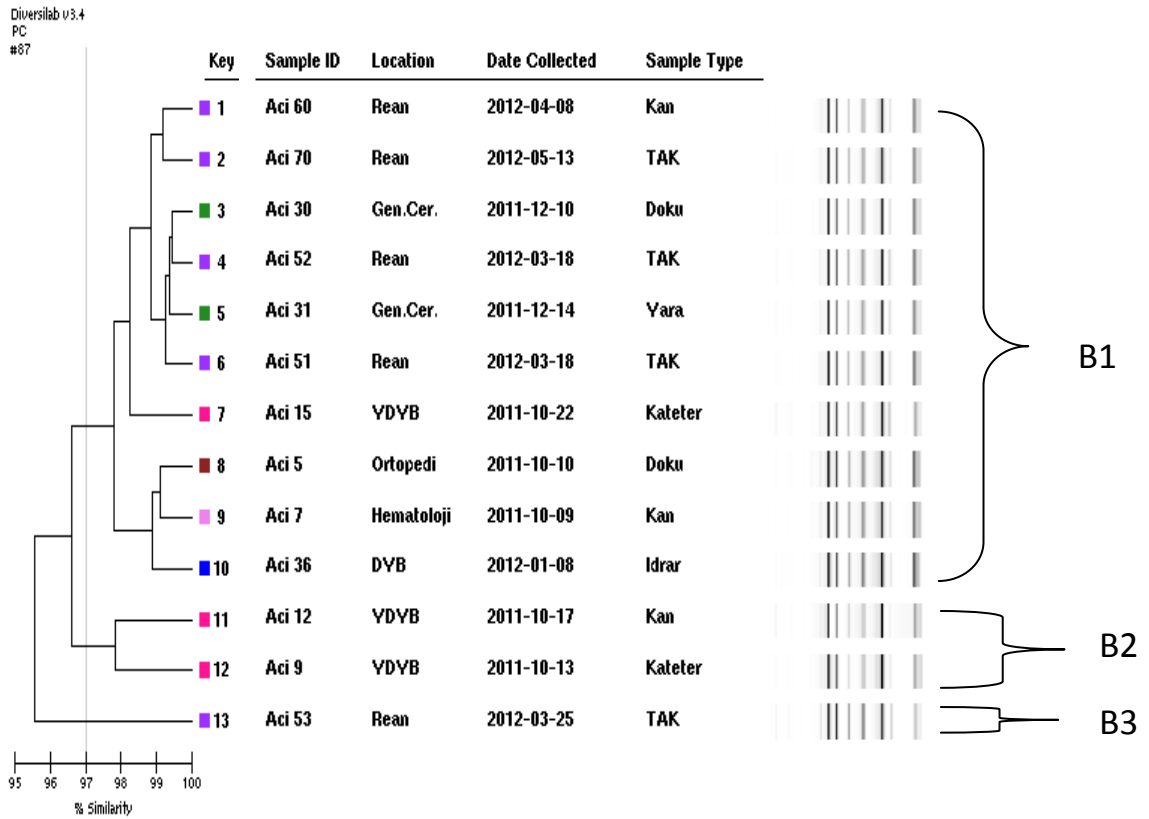
- **A 7 alt klonu**

Beş suş içermektedir. A 6 alt klonu ile yakın ilişkilidir. Diğer A alt klonlarına benzerliği %94,8'dir ve 2 bant farklılığı vardır. Bu kümedeki ilk suş (20 numaralı hasta) 31.10.2011 tarihinde ortopedi servisindeki bir hastanın doku kültüründen izole edildi. Son suş ise 10.04.2012 tarihinde pediatri YBÜ'de yatan hastanın trakeal aspirat kültüründen izole edildi. Diğer suşlar reanimasyon ünitesinden ve dâhiliye YBÜ'den izole edilmiştir. Suş beş aydan fazla süre hastane ortamında bulunmuştur.

#### 4.3.1.2. B Klonu

B ana klonu 13 suş içermektedir ve Rep-PCR sonucunda elde edilen en büyük ikinci ana klondur. Bu klon içerisinde % 97 benzerlik oranına sahip, aynı bant paterni gösteren 3 alt klon elde edildi (Şekil 4.7. ve şekil 4.8.)

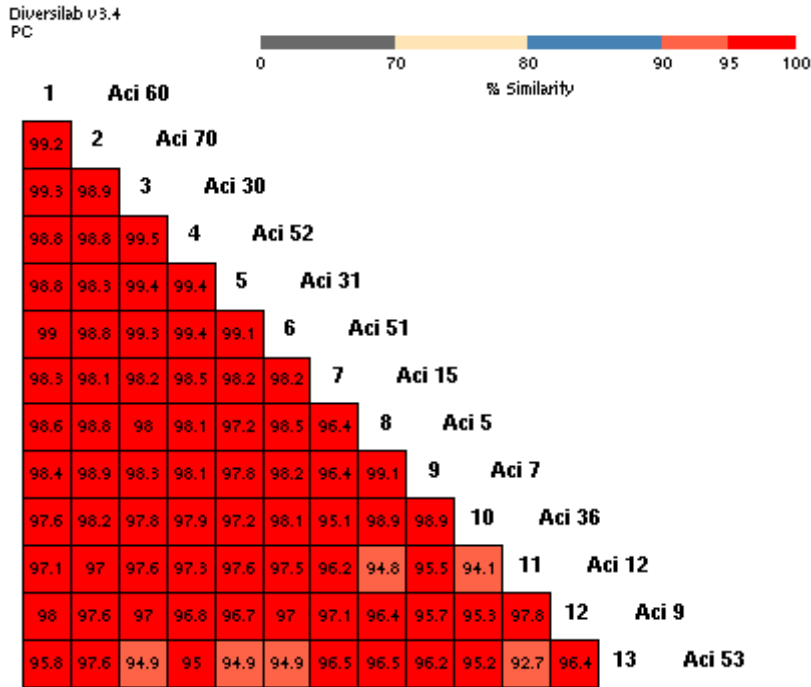
Klondaki ilk suş 09.10.2011 tarihinde hematoloji servisinde yatan izole edildi. Bu klona ait son suş ise yaklaşık 8 ay sonra 13.05.2012 tarihinde reanimasyon ünitesinden izole edildi. Suşların kliniklere göre dağılımına bakıldığında en sık reanimasyon ünitesinden (6) ve yeni doğanYBÜ'den (3) izole edilmiştir. Bu klonun görüldüğü diğer klinikler ise genel cerrahi servisi, ortopedi servisi, hematoloji servisi ve dâhiliye yoğun bakım ünitesidir.



Şekil 4.7. B ana klonuna ait dendrogramı

- **B 1 alt klonu**

On suş içermektedir. Kümedeki ilk suş (7 numaralı hasta) 09.10.2011 tarihin hematoloji servisinde yatan hastanın kan kültüründen elde edildi. Son suş (70 numaralı hasta) 13.05.2012 tarihinde reanimasyonda yatan hastanın trakeal aspirat kültüründe izole edildi. Suşların kliniklere göre dağılımı, reanimasyon ünitesi 4, genel cerrahi servisi 2, hematoloji servisi, dahiliye YBÜ, ortopedi ve yenidoğan YBÜ’de yatan hastalardan birer suş izole edildi. 4 hastanın servis değiştirilerek tedavi edildiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.8. B ana klonuna ait benzerlik matrisi

- **B2 alt klonu**

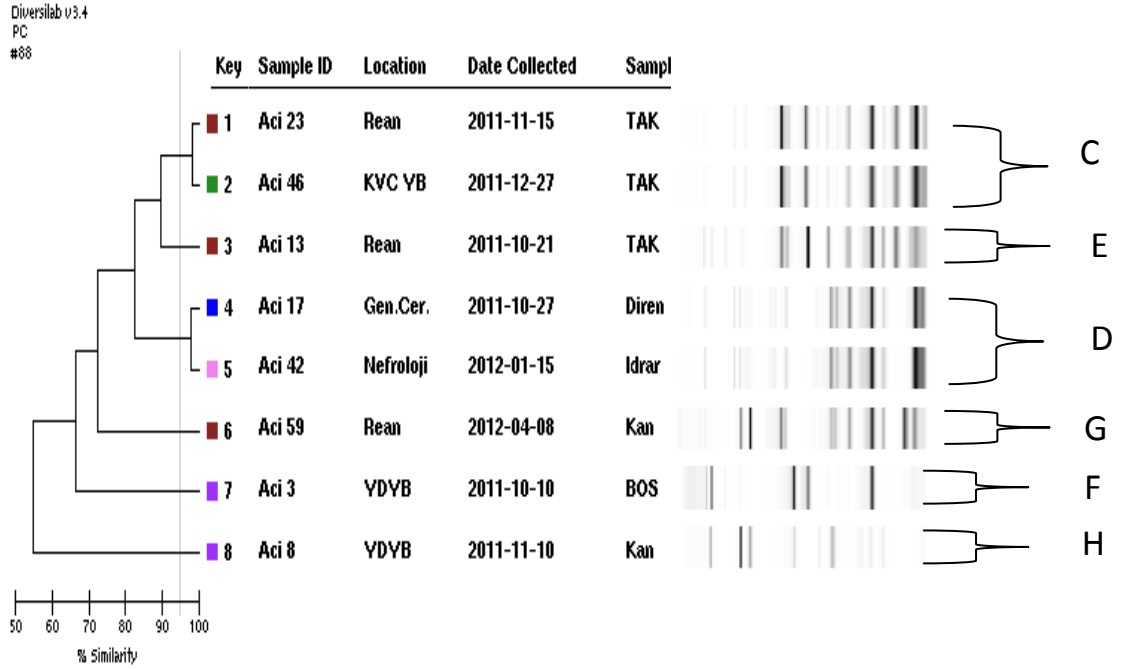
İki suş içermektedir. İki suşa yeni doğan yoğun ünitesinden yakın tarihlerde izole edildi. İlk suş (9 numaralı hasta) 13.10.2011 tarihinde hastanın kateter kültüründen, ikinci suş ise (12 numaralı hasta) 17.10.2011 tarihinde hastanın kan kültüründen izole edildi. B 1 alt klonunda yer alan bir suş da (15 numaralı hasta) bu izolatlara yakın tarihte yeni doğan YBÜ’den izole edilmiştir.

- **B 3 alt klonu**

Bir suştan oluşan bir alt klondur ve 25.03.2012 tarihinde reanimasyon ünitesinde yatan hastanın (53 numaralı hasta) trakeal aspirat kültüründen izole edilmiştir.

#### 4.3.1.3. Diğer Klonlar

A ve B ana klonları dışındaki diğer klonlar (C, D, E, F, G, H) bir veya iki suştan oluşan bağımsız klonlar şeklinde tipler oluşturdu (şekil 4.9.).



**Şekil 4.9.** C, D, E, F, G, H klonlarına ait dendrogram

C klonunda iki suş bulunmaktadır. Bu suşlardan ilki 15.11.2011 tarihinde reanimasyon ünitesinde yatan hastanın (23 numaralı hasta) trakeal aspirat kültüründen izole edildi. Diğer suş ise 27.12.2011 tarihinde kardiyovasküler cerrahi yoğun bakım ünitesinde yatan hastanın (46 numaralı hasta) trakeal aspirat kültüründen izole edildi. Hasta bilgilerine bakıldığında 23 numaralı hastanın dış merkezden transfer olduğu ve hastaneye yattığı ilk gün alınan örneğinde *Acinetobacter* ürediği tespit edildi.

D klonu iki suş içermektedir. İlk suş 27.10.2011 tarihinde genel cerrahi servisinde (17 numaralı hasta) yatan hastanın diren kültüründen izole edilmiştir. Diğer suş ise 15.01.2012 tarihinde nefroloji servisinde yatan hastanın (42 numaralı hasta) idrar kültüründen izole edilmiştir. Her iki hasta da farklı tarihlerde dâhiliye yoğun bakım ünitesinde tedavi görmüştür.

E klonu bir suştan oluşmaktadır ve 21.10.2011 tarihinde reanimasyon ünitesinde yatan hastanın (13 numaralı hasta) trakeal aspirat kültüründen izole edildi. F klonu bir suş içermektedir ve 10.10.2011 tarihinde yeni doğan YBÜ'de yatan hastanın BOS kültüründen elde edildi. G klonu bir suştan oluşmaktadır ve 08.04.2012 tarihinde reanimasyon ünitesinde yatan hastanın (59 numaralı hasta) kan kültüründen izole edilmiştir. H klonu tek suştan oluşmaktadır ve 10.11.2011 tarihinde yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan hastanın (8 numaralı hasta) kan kültüründen izole edilmiştir.

Aynı klonda yer alan suşların antibiyotik profilleri büyük oranda aynı olmakla birlikte farklı profillere sahip suşlar da görülmektedir. Ayrıca farklı klonda yer alan suşlar arasında da benzer antibiyotik profilleri elde edilmiştir. (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Aynı klonda yer alan suşların antibiyotik duyarlılık profilleri

| örnek no | PRL | TZP | FEB | CAZ | IPM | MEM | CN | AK | TE | LEV | CIP | SXT | TGC | AB Tip | REP PCR |
|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|--------|---------|
| 29       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | S  | R  | R  | İ   | R   | R   | S   | 1      | A1      |
| 65       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | S   | 2      | A1      |
| 45       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | S  | R  | R  | İ   | R   | R   | İ   | 1a     | A2      |
| 32       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | İ  | R  | S  | R   | R   | R   | S   | 3      | A3      |
| 1        | R   | R   | R   | R   | R   | R   | S  | R  | R  | İ   | R   | R   | S   | 1      | A4      |
| 2        | R   | R   | R   | R   | R   | R   | S  | S  | R  | R   | R   | R   | S   | 4      | A4      |
| 4        | R   | R   | R   | R   | R   | R   | S  | R  | R  | R   | R   | R   | İ   | 5      | A4      |
| 6        | R   | R   | R   | R   | R   | R   | İ  | R  | İ  | R   | R   | R   | S   | 3a     | A4      |
| 10       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | S  | R  | R  | R   | R   | R   | İ   | 5      | A4      |
| 11       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | S  | R  | R  | R   | R   | R   | S   | 5a     | A4      |
| 16       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | S   | 2      | A4      |
| 34       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | İ   | R   | R   | S   | 6      | A4      |
| 21       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | S   | 2      | A4      |
| 24       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | S   | 2      | A4      |
| 27       | R   | R   | R   | R   | R   | İ   | S  | S  | R  | R   | R   | R   | S   | 4a     | A4      |
| 28       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | S   | 2      | A4      |
| 33       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | S   | 2      | A4      |
| 19       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | S  | R  | R   | R   | R   | S   | 7      | A4      |
| 35       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | S  | R  | R  | İ   | R   | R   | İ   | 1a     | A4      |
| 37       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | S  | R  | R  | R   | R   | R   | S   | 5a     | A4      |
| 40       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | İ   | R   | R   | İ   | 6a     | A4      |
| 41       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | İ   | R   | R   | S   | 6      | A4      |
| 43       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | İ  | R  | R   | R   | R   | S   | 7a     | A4      |
| 44       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | S   | 2      | A4      |
| 47       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | İ   | 2a     | A4      |
| 48       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | İ   | R   | R   | S   | 6      | A4      |
| 49       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | S  | R  | R  | R   | R   | S   | İ   | 8      | A4      |
| 50       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | İ   | R   | R   | İ   | 6a     | A4      |
| 54       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | S   | 2      | A4      |
| 55       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | İ   | 2a     | A4      |
| 56       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | İ  | R  | R  | R   | R   | R   | İ   | 5b     | A4      |
| 57       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | İ   | 2a     | A4      |
| 58       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | S   | S   | 9      | A4      |
| 61       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | S  | R  | R  | R   | R   | R   | İ   | 5      | A4      |
| 63       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | S   | 2      | A4      |
| 64       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | S  | İ  | R  | R   | R   | S   | İ   | 8a     | A4      |
| 66       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | İ   | 2a     | A4      |
| 67       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | S  | R  | R  | R   | R   | S   | S   | 8b     | A4      |
| 68       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | İ   | 2a     | A4      |
| 69       | R   | R   | R   | R   | R   | R   | R  | R  | R  | R   | R   | R   | S   | 2      | A4      |



|    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |     |    |    |
|----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|-----|----|----|
| 71 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | 2   | A4 |    |
| 72 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | 2a  | A4 |    |
| 73 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | 2   | A4 |    |
| 74 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | 2a  | A4 |    |
| 75 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | 2a  | A4 |    |
| 39 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R | S | 6   | A5 |    |
| 22 | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R | S | 9   | A6 |    |
| 14 | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R | S | 9   | A6 |    |
| 25 | R | R | R | R | R | R | S | R | I | R | R | R | S | 3b  | A6 |    |
| 18 | R | R | R | R | R | R | S | R | I | R | R | R | S | 3b  | A7 |    |
| 62 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | 2   | A7 |    |
| 38 | R | R | R | R | R | R | S | R | I | R | R | R | S | 3b  | A7 |    |
| 20 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | 2   | A7 |    |
| 26 | R | R | R | R | R | R | S | R | S | R | R | R | S | 3c  | A7 |    |
| 5  | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R | S | 9   | B1 |    |
| 7  | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R | I | 9a  | B1 |    |
| 15 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | 2   | B1 |    |
| 30 | R | R | R | S | R | R | R | R | S | R | R | R | S | 10  | B1 |    |
| 31 | R | R | R | S | R | R | R | R | S | R | R | R | S | 10  | B1 |    |
| 36 | R | R | R | S | R | R | R | R | I | R | R | R | S | 10a | B1 |    |
| 51 | R | R | R | R | R | R | R | R | I | I | R | R | R | S   | 11 | B1 |
| 52 | R | R | R | R | R | R | R | S | I | R | R | R | S | 11a | B1 |    |
| 60 | I | I | R | I | I | I | I | R | I | I | R | I | I | 12  | B1 |    |
| 70 | R | R | R | I | R | R | R | R | R | R | R | R | I | 13  | B1 |    |
| 9  | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R | I | 9a  | B2 |    |
| 12 | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | S | 9b  | B2 |    |
| 53 | R | R | R | I | R | R | R | R | I | R | R | R | S | 10b | B3 |    |
| 23 | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | R | I | 7b  | C  |    |
| 46 | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | 2a  | C  |    |
| 17 | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R | S | 9   | D  |    |
| 42 | R | R | R | R | R | R | R | S | I | R | R | R | S | 11a | D  |    |
| 13 | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | 14  | E  |    |
| 3  | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R | I | 9a  | F  |    |
| 59 | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | R | I | I | 15  | G  |    |
| 8  | I | I | I | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | 16  | H  |    |

PRL: Piperasilin, TZP: Piperasilin tazobaktam, FEB: Sefepim, CAZ: Seftazidim, IPM: İmipenem, MEM: Meropenem, CN: Gentamisin, AK: Amikasin, TE: Tetrasiklin, LEV: Levofloksasin, CIP: Siprofloksasin, SXT: Sülfametoksazol trimetoprim, TGC: Tigesiklin.

### 3. TARTIŞMA

*Acinetobacter*'ler fırsatçı patojenlerdir ve genellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda enfeksiyonlara neden olurlar. Hastane kökenli *Acinetobacter* enfeksiyonları; ventilatör ilişkili pnömoni, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, sekonder menenjit ve dolaşım sistemi enfeksiyonlarıdır. *A. baumannii* kompleks içerisinde gruplandırılan *A. pittii* (*gen. sp. 3*) ve *A. nosocomialis* de bu enfeksiyonlara neden olsa da hastane enfeksiyonları ile anılan asıl tür *A. baumannii*'dir. Hastane enfeksiyonlarında görülen diğer *Acinetobacter* türleri, *A. johnsonii*, *A. junii*, *A. lwoffii*, *A. parvus*, *A. radioresistens*, *A. schindleri* ve *A. ursingii*, nadir olarak kateter ilişkili dolaşım yolu enfeksiyonlarına neden olur (4). *A. baumannii* enfeksiyonlarının gelişmesine ya da bakterinin bulaşmasına neden olan risk faktörleri: i) Konak ile ilgili faktörler; alta yatan bir hastalığın olması ve immün sistemin baskılanması, cerrahi operasyon geçirmiş olmak, majör travma (özellikle yanıklar) bulunması ve prematüre yeni doğanlar, solunum yetmezliği ve organ yetmezliği *A.baumannii* ile fırsatçı enfeksiyon riski daha fazla olan hasta grubunu oluşturur. ii) Bakteriye maruz kalma ile ilgili faktörler; yoğun bakım ünitesinde kalmış olmak, hastanede ya da yoğun bakım ünitesinde kalış süresinin uzunluğu, enfeksiyon kontrol önlemlerinin düşük olması, *A.baumannii*'nin endemik olarak hastanede bulunması ve kontamine tıbbi ekipmanlara maruz kalmak bakteri bulaşını arttıran risk faktörleridir. iii) Tedavi ile ilgili faktörler; mekanik ventilasyon, intravasküler kateter, idrar kateteri ve drenaj tüpleri gibi vücuda kalıcı cihazların takılması, invaziv prosedürlerin sayısı ve daha önce uygulanan antimikrobiyal tedavi risk faktörleri arasındadır (6). Bütün bu risk faktörleri yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların içinde bulunduğu durumlardır ve bu yüzden *A. baumannii*'nin yoğun bakım ünitelerinden daha fazla izole edilmesi şaşırtıcı bir durum değildir. Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* suşlarının antimikrobiyal direnç profilleri ve klonal ilişkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 73 suş üç veya daha fazla grup antibiyotiğe dirençli bulundu Rep-PCR analizi ile iki ana klon [A (7 alt tip), B (3 alt tip)] ve altı farklı klon (C-H) olmak üzere toplam 8 farklı klon tespit edildi.

*A.baumannii*'nin *Acinetobacter* türleri arasında nozokomiyal enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan tür olduğu birçok çalışmada raporlanmış ve desteklenmiştir.

Almanya'dan bildirilen bir çalışmada, klinik örneklerden izole edilen 584 *Acinetobacter* suşunun tür identifikasyonu yapıldığında en sık izole edilen türün (n= 426; %72,9) *A.baumannii* olduğu ve diğer türlerin (%27,1) sırasıyla; *A. pittii* (n=55), *A. johnsonii* (n=29) ve *A. lwoffii* (n=21) olduğu bildirilmiştir (51). İspanya'da yapılan bir çalışmada 28 hastanede klinik örneklerden elde edilen 244 *Acinetobacter* suşunun 226'sı *A. baumannii* ve 15'i *A.pittii* olarak tanımlanmıştır (60). Turton ve ark. (57), Birleşik Krallık'ta 135 hastaneden elde edilen 690 *Acinetobacter* izolatının 538'ini (%78) *A. baumannii* olarak tanımlamışlardır. *A.baumannii*'den sonra en sık izole ettikleri türleri ise 61(%8.8) *A. lwoffii*, 28(%4) *A. ursingii* ve 12 (% 1,7) *A. pittii* olarak bildirmişlerdir.

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında tür identifikasyonu için kullanılan API 20NE, Vitek 2, Phoenix ve MicroScan WalkAway gibi identifikasyon sistemlerinin, klinik olarak önemli olan ve *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks içerisinde yer alan 3 *Acinetobacter* türünü (*A. baumannii*, *Acinetobacter gen. sp. 3* ve *Acinetobacter gen. sp.13TU*), ayırt edemediği bazı çalışmalarda bildirilmiştir (3, 55, 62, 63). Boo ve ark. (55) Vitek 2 ile *A.baumannii* olarak tanımlanan 77 izolatı rpoB gen sekans analizi ile 25'ini *A.baumannii* ve 45'ini *A.pittii* olarak tanımlamışlardır. A.B.D.'nden bildirilen bir çalışmada 107 *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks izolatı, ARDR analizi sonucunda 87 *A. baumannii*, 15 *A. pittii* ve 3 *A. nosocomialis* olarak tanımlanmıştır (63). Kore'den bildirilen bir çalışmada 58 *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks izolatı ARDR analizi ile 40 *A. baumannii*, 9 *A. nosocomialis*, 5 *Acinetobacter gen. sp. 13TU* benzeri ve 4 *A. pittii* olarak tanımlanmıştır (62). Bizim çalışmamızda her biri farklı hastaya ait klinik örneklerinden izole edilen, 75 *Acinetobacter baumannii* kompleks izolatı Vitek 2 ile tanımlandı. Suşların tür ayrımı için ileri bir moleküler test yapılmadı. Ancak, klonlar Rep-PCR Diversilab sistemi kütüphanesi ile karşılaştırıldığında tek örnekten oluşan bir klon *A. pittii* olarak, diğer klonlar ise (74 suş) *A. baumannii* olarak tanımlandı.

Hastane ortamı metisine dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), vankomisine dirençli *Enterococcus* (VRE), *P. aeruginosa*, *Clostridium difficile* ve *A. baumannii* gibi mikroorganizmalar için potansiyel rezervuar ortamı sağlar. Yoğun bakım ünitelerinde bu mikroorganizmaların daha fazla görülmesi, ünitenin fiziki yapısı, çok sayıda ekipman gereksinimi, yoğun bakım gerektiren hastaların stabil olmayan klinik durumu ve çok sayıda faktör hastane kaynaklı mikroorganizmaların yayılımına neden olur (119).

*Acinetobacter* enfeksiyonlarının görüldüğü hastaların klinik birimlerine göre dağılımına bakıldığında, en sık *Acinetobacter* izolasyonunun yoğun bakım ünitelerinden yapıldığı çok sayıda çalışmada raporlanmıştır. Iraz ve ark. (120) %68'ini yoğun bakım ünitelerinden ve en sık göğüs hastalıkları yoğun bakım ünitesinden, Özdem ve ark. (120) %58,9'unu yoğun bakım ünitelerinden, %30,3'ünü servislerden, %10,5'ini polikliniklerden izole etmişlerdir.

Bu çalışmada *Acinetobacter* suşlarının %67'si yoğun bakım ünitelerinde yatan hasta örneklerinden izole edilmiştir. En sık *Acinetobacter* izole edilen birimler ise reanimasyon ünitesi (%37,3) ve genel cerrahi servisi (%13,3)'dir.

*Acinetobacter baumannii* cam ve yoğun bakım ünitesinde kullanılan ekipmanlar gibi cansız yüzeylerde ya da epitel hücreleri gibi canlı yüzeylerde biyofilm oluşturur (30). Çevresel bulaştan kolonizasyona ve enfeksiyona doğru giden olaylar zincirinde *A.baumannii*'nin başarılı olması, çeşitli koşullara adaptasyon yeteneği ve antibiyotiklere direnç geliştirmesi ile açıklanabilir (4). Kuruluğa, dezenfektanlara ve antibiyotiklere karşı direnç gelişimi bakterilerin çevresel şartlarda hayatta kalmasını sağlar. *A. baumannii* olağanüstü metabolik değişkenliği sayesinde hastalarda ve hasta odalarında çoğalır. Tıbbi cihazlarda, endotrakeal tüplerde ya da intravasküler kataterlerde biyofilm oluşabilir; bu biyofilmler bakterilerin hastalarda kolonize olmasına neden olur ve hastaların solunum yolunda ya da dolaşım sisteminde enfeksiyon riskini artırır (4). Bu duruma bağlı olarak *Acinetobacter*'lerin izole edildiği klinik örneklerin dağılımına bakıldığında birçok çalışmada kültür pozitifliğinin en sık solunum yolu örneklerinden olduğu desteklenmektedir. Almanya'dan bildirilen çalışmada 584 *Acinetobacter* izolatının en fazla solunum yolu örneklerinden (n=251; %42,9) sağlandığı ve sırasıyla kan kültürleri (n=116; %19,9), yara örnekleri (n=90;%15,4), kateter ucu (n=75;%12,8) ve idrar örnekleri (n=20; %3,4) *Acinetobacter spp.* izole edilen klinik örnekler olarak bildirilmiştir (51). Akın ve ark. (122) 200 *A. baumannii* izolatını en sık trakeal aspirat (n=85; %42,5) kültürlerinden izole elde etmişler ve diğer klinik örnekler sırasıyla, kan kültürü (32; %16), balgam (20; %10), cerrahi yara örneği (20; %10), kateter (16; %8), plevral sıvı (13; %6,5), idrar (13; %6,5) ve diğer klinik örnekler (14;%7) olarak bildirilmiştir. Başka bir çalışmada Özdem ve ark.(121) 465 *Acinetobacter* suşunu en sık trakeal aspirat (184; %39,5), kan (70; %15,3) ve yara yeri örneği (92; %19,8) kültürlerinden izole etmişlerdir. Bizim çalışmamızdaki *Acinetobacter* suşlarının

örneklere göre dağılımı da en sık solunum yolu örneği olan trakeal aspirattan (23; %30,6), ikinci sıklıkta ise kan (18; %24) kültürlerinden elde edilmiştir. Diğer örneklerin dağılımı ise sırasıyla; doku (8; %10,6), idrar (7; %9,4), yara yeri örneği (7; %9,4), balgam (3; %4), abse, kateter, diren (2; %2,7), BOS, kateter idrar ve periton sıvısı (1; %1,3) şeklinde sıralanmaktadır.

*A.baumannii* nozokomiyal enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan klinik bulgular, dolaşım yolu ve solunum yolu enfeksiyonlarıdır. Her iki durumda ciddi morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Yoğun bakım, intravasküler kateter, geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi, mekanik ventilasyon, yanıklar ve cerrahi işlemler bu enfeksiyonları arttırmaktadır (67, 68). Enfeksiyonun başlangıcındaki septik şok, altta yatan hastalık, hastalığın şiddeti ve mekanik ventilasyon ölümüne neden olan risk faktörlerdir. Bakteriyemik *A.baumannii* pnömonisi özellikle kötü prognoza sahiptir (67, 68).

Nozokomiyal *A.baumannii* enfeksiyonlarının klinik etkisi tartışılmaya devam eden bir sorundur. Birçok çalışmada, *A.baumannii* bakteriyemisi ya da pnömonisine bağlı yüksek mortalite oranları raporlanmıştır. Fakat, *A.baumannii* alta yatan ciddi hastalığı olan ve kötü prognoz gösteren hastalarda etkilidir. Bu yüzden *A.baumannii* enfeksiyonuna bağlı olarak belirtilen mortaliteler *A. baumannii* enfeksiyonları sonucuna bağlı olmaktan çok altta yatan hastalıkların sonucudur (4).

Blot ve ark. (70) yaptığı çalışmada *A. baumannii*'nin bağımsız olarak mortaliteye etkisini araştırmışlar. *A.baumannii* enfeksiyonuna sahip hastaların yoğun bakımda kalış sürelerinin ve ventilatöre bağlı kalma sürelerinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu ve mortalite oranlarının da olgularda ve kontrollerde sırasıyla %42,2 ve %34,4 olduğunu bulmuşlardır. Ancak, *A. baumannii* bakteriyemisinin mortalite artışında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olmadığı sonucuna varmışlardır. Benzer bulgular *A.baumannii* pnömonisi için de Garnacho ve ark. (71) tarafından raporlanmıştır. Fakat Falagas ve ark. (72)“PubMed” ve “Cochrane Library” veritabanlarında bulunan kohort ve olgu kontrol çalışmalarını tarayarak yaptıkları çalışmada *A.baumannii* enfeksiyonlarının, mikroorganizma ile enfekte olmayan kontrol grubuna göre, mortaliteyi artırıcı etkisinin %7,8 ile %23 oranında değiştiği sonucuna varmışlardır. Ayrıca, bu oranın yoğun bakımlarda %10 ile %43 arasında değiştiği bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre *A.baumannii*'nin klinik etkisinin önemli bir problem olmaya devam ettiği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda

*Acinetobacter* suşu izole edilen hastalardaki mortalite oranlarına baktığımızda; hastadan izolasyonun gerçekleştiği ilk bir aylık süre içerisinde gerçekleşen mortalite oranının %45 (34/75); iki ay ve daha uzun süre sonrası dahil edildiğinde bu oranın %56 (42/75)'ya çıktığı belirlenmiştir. Mortalite oranlarının fazla olmasının ya da zaman içerisinde artmasının hastaların yoğun bakım ünitelerinde kalış süresine bağlı olarak değiştiğini düşünmekteyiz.

*A.baumannii*, hemen hemen mevcut tüm antibiyotiklere dirençli suşların bulunması ve dirençli suşların artmaya devam etmesi ile dikkat çekmektedir. Bu mikroorganizmalar genellikle yaygın olarak kullanılan aminopenisilinlere, birinci ve ikinci kuşak sefalosporinlere ve kloromfenikole karşı doğal direnç gösterir. Geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamlara, aminoglikozidlere, florokinolonlara ve tetrasiklinlere karşı direnç geliştirme mekanizmaları elde etmek için olağanüstü bir kapasiteye sahiptir. Birçok çalışmada bu ajanlara dirençli *A.baumannii* suşlarının artış eğilimi gösterdiği belirtilmiştir. Ancak, direnç oranları ülkelere göre ya da her bir hastaneye göre, kullanılan biyolojik, epidemiyolojik ve metodolojik faktörlere bağlı olarak değişmektedir (4).

Ülkemizden 2012 yılında bildirilen *A.baumannii* antimikrobiyal çalışmalarına bakıldığında, Uzun ve ark. (123) 161 *A.baumannii* suşuna en etkili antibiyotiği %100 duyarlılık gösteren tigesiklin ve kolistin; bunları takip eden %68 duyarlılık oranıyla amikasin olarak bulmuşlardır. Bunların dışındaki antibiyotikler için siprofiloksasin %81, imipenem/meropenem %86 ve diğer antibiyotikler için %90'ın üzerinde direnç bildirmişlerdir. Iraz ve ark. (120) kolistin %99, netilmisini %85 ve tigesiklini %53 duyarlılık oranıyla en etkili antibiyotik olarak bulmuşlardır. Gentamisin (%54) trimetropim-sulfametoksazol (%65), amikasin (%69) direnç oranları %90'ın altında bulunan antibiyotiklerdir ve imipenem/meropenem için %92 direnç bildirilmiştir. Yine 2012'de Ertürk ve ark. (124)'nın yaptıkları çalışmada %56 duyarlılık ile levofloksasini en etkili antibiyotik olarak bulmuşlar, gentamisin ve meropenem ise %76 direnç oranı ile levofloksasinden sonraki en etkili antimikrobiyal ajan olarak tespit etmişlerdir ancak; imipenem için %92 direnç bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise izole edilen suşların tamamının (%100) duyarlı olduğu kolistin en etkili antibiyotik olarak tespit edildi. Çalışmaya dahil edilen suşların hiç birinde tigesikline tam direnç saptanmazken suşların %34,7'si disk difüzyon testi ile tigesikline orta duyarlı ve %65,3'ünün ise duyarlı

olduğu tespit edildi. Gentamisin (%28 duyarlı) dışındaki test edilen diğer antibiyotiklerde ise %90 ve üzerinde direnç saptandı.

*Acinetobacter*'ler aminoglikozitlere, kinolonlara ve geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamlara dirençli hale gelmiş ve birçok *Acinetobacter* suşu sefalosporinlere direnç geliştirmiştir. Ayrıca, karbapenem dirençli suşların oranı ülkemizde ve dünya genelinde giderek artmaktadır (120, 125). *Acinetobacter*'lerde karbapenemlere karşı gelişen direnç kaygı verici bir durumdur, geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamlar, yıllarca çoklu ilaç direncine sahip (MDR) *A.baumannii* enfeksiyonları için en önemli tedavi seçeneği olarak kullanılmıştır. İlk yıllarda klinik *A.baumannii* izolatları bu ilaçlara karşı değişmeyen bir duyarlılık profili göstermesine rağmen, 1990'lı yılların başında hastane salgınlarında karbapenem dirençli suşlar izole edilmiştir (4, 96, 97, 98).

Özdem ve ark. (121)'nin Ankara'dan bildirdiği çalışma, direnç oranlarının yoğun bakım ünitesinde daha yüksek olduğunu ve ilaç direncinin yıllara göre artarak değiştiğini göstermektedir. 2007-2010 yılları arasındaki *A.baumannii* karbapenem duyarlılığı oranları: 2007 yılı YBÜ suşlarında imipenem ve meropenem %54 dirençliyken tüm örneklerde imipenem %32,7 meropenem %32,8 dirençli bulunmuş. 2008 yılında YBÜ'de imipenem %50, meropenem %66,6 dirençli; tüm örneklerde imipenem %39,3 meropenem %53,2 dirençli bulunmuş. 2009 yılında YBÜ'de imipenem %73,9, meropenem %87,3 dirençli; tüm örneklerde imipenem % 64 meropenem %77,3 dirençli, 2010 yılında ise YBÜ'de imipenem %77,5, meropenem %85,8 dirençli; tüm örneklerde ise imipenem %74 meropenem %80,3 dirençli bulunmuştur. Diğer antibiyotiklerin yıllara göre direnç değişimine bakıldığında netilmisin %7,1'den %60,2'ye çıktığı, tobramisin %38,1-%40,2 ve %19 gibi yıllara göre farklı direnç oranları gösterdiği tespit edilmiştir, tigesikline direncini ise sadece 2010 yılında %5,5 oranında elde etmişlerdir.

Benzer bir çalışmada Konya'dan Kurtoğlu ve ark. (126) 2008-2010 yılları arasında izole ettikleri *A.baumannii* suşlarında 2008 yılında imipenem %50, meropenem %53 dirençli; 2009 yılında imipenem ve meropenem %66 direnç oranı ile eşit; 2010 yılında ise imipenem ve meropenem %83 dirençli bulunmuş ve 2010 yılına gelindiğinde direnç artışı meydana geldiği tespit edilmiştir. Çalışmada bildirilen diğer antibiyotikler arasındaki direnç oranlarının sefaperazon-sulbaktamın %11'den %42'ye, tetrasiklinin %53'ten %86'ya çıktığı ve ilginç olarak amikasinin %71'den %44'e düştüğü

bildirilmiştir, tigesiklin ve kolistin için bildirdikleri toplam direnç oranları ise sırasıyla %16 ve %5'tir.

Eskişehir'den Alpat ve ark. (127) 2006-2007 yılları arasında izole ettikleri *A.baumannii* suşlarında imipenem için (%18,9 orta derece duyarlı, %43,2 dirençli) %62,1, meropenem için (%10,3 orta derece duyarlı, %64,4 dirençli) %74,7 direnç oranı tespit etmişler ve tigesiklini %100 duyarlı bulmuşlardır. Gaziantep'ten Akın ve ark. (122) 2006-2008 yıllarında izole ettikleri 200 *A.baumannii* suşunda imipenem (%2 orta duyarlı, % 53,5 dirençli) %55,5 ve meropenem (%5 orta duyarlı, 45,5 dirençli) %50,5 direnç bildirmişlerdir, tigesiklin için %12,6, kolistin için %3,2 direnç oranı tespit etmişlerdir. Van'dan Çıkman ve ark.(128) %50 imipenem direnci ve %14 tigesiklin direnci tespit etmişler, tetrasiklini %81 duyarlı bulmuşlardır. Ülkemizden bildirilen HITIT 2 surveyans çalışmasında *A.baumannii* suşlarının antimikrobiyallere yüksek direnç gösterdiği ve en etkili antibiyotiklerin sefaperazon-sulbaktam (%52 dirençli) ve imipenem (%55,5 dirençli) olduğu belirtilmiştir (129). Ulusal verilere göre ülkemizdeki karbapenem dirençli *A. baumannii* oranları; 2008 yılında 59 birimin ortalaması %47, 2009 yılında 95 birimin ortalaması %62,8, 2010 yılında 130 birimin ortalaması %69 dirençli olarak tespit edilmiştir (130, 131). Bizim çalışmamızda, karbapenem grubu antibiyotiklerde imipenem (%96 dirençli, %1,3 orta duyarlı) %97,3 ve meropenem (%94,6 dirençli, %2,7 orta duyarlı) %97,3 dirençli bulundu. Tigesiklin (%34,7 orta duyarlı) % 34,7 dirençli bulunurken kolistin direnci saptanmadı.

Yurtdışından bildirilen yayınlara baktığımızda, Japonya'da 2009 yılında elde edilen *A.baumannii* suşlarında meropenem %18, siprofloksasin %41, amikasin %14 dirençli bulunmuş ve suşların % 4,3'ü MDR olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, bütün suşlarda  $\beta$ -laktamaz sınıf B, D ve *ISAbal* genleri; karbapenem dirençli suşlarda ise bla<sub>oxa-51-like</sub> karbapenemaz ve *ISAbal* genleri tespit edilmiştir (132).

Kore'den bildirilen bir çalışmada Lee ve ark. (133) *A.baumannii* suşlarında 2003 yılında imipenem için %13 direnç tespit ederken, 2009 yılında direncin %51'e çıktığını bildirmişlerdir. Ancak, amikasin direncini 2003 yılında %55, 2009 yılında %48 olarak saptamışlardır.

Hindistan'da 2008-2010 yılında izole edilen *A.baumannii* suşlarında %89,6 oranında imipenem ve meropenem direnci tespit edilmiştir. Ayrıca, polimiksin B için



%1,9, kolistin için % 1,2 ve tigesiklin için %74 oranında direnç tespit edilmiş ve diğer antibiyotikler için de yüksek direnç oranları bildirilmiştir (134).

2012 yılında bildirilen Asya-Pasifik bölgesinde 5 ülkeyi kapsayan ve karbapenemlerin karşılaştırmalı aktivitesinin incelendiği (COMPACT) çalışmada, *A.baumannii* suşların %73'ü en az bir karbapeneme (doripenem, imipenem, meropenem) dirençli bulunurken *Enterobacteriaceae* ailesinde bakteriler bütün karbapenemlere %97,2 oranında duyarlı bulunmuştur (135). İran'dan 2007-2009 yıllarında elde edilen *A.baumannii* suşlarında imipenem direnci %19, amikasin direnci % 58 ve gentamisin direnci % 68 olarak tespit edilmiştir (136).

Latin Amerika'da 2004-2010 yılları arasında 12 ülkeyi kapsayan çalışmada Gram negatif bakterilerin antimikrobiyal duyarlılık değerleri araştırılmış. *A.baumannii* suşlarında meropenem direnci 1499 suşta (%5.5 orta duyarlı, %60,6 dirençli) % 66,1, imipenem direnci ise 307 suşta (%3,9 orta duyarlı, 33,6 dirençli) %37,5 oranında tespit edilmiştir. Çalışmada %89,4 duyarlılık oranı ile minosiklin en etkili antimikrobiyal olarak bulunmuştur (137).

İsrail'den bildirilen bir çalışmada 2003-2008 yılları arasındaki *A.baumannii* antimikrobiyal duyarlılık oranlarında imipenem 2003 yılında %99 oranında duyarlı bulunurken, 2007'de %65 oranında duyarlı, 2008'de ise %42 duyarlılık ile artan bir direnç oranı göstermiştir. Ayrıca, amikasin duyarlılığı %90'dan %30'a, ampisilin-sulbaktam duyarlılığı %89'dan %40'a gerileyerek direnç oranları artmıştır. Ancak, çalışmada tobramisin duyarlılığı ilginç olarak % 41'den % 65'e çıkarak direnç oranında azalma bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada 2008 yılında izole edilen 348 MDR *A.baumannii* suşunun %80,4 (280)'ü tigesikline dirençli, %2,7 (8)'si kolistine dirençli ve %0,86 (3)'sü her iki antibiyotiğe de dirençli bulunmuştur (138).

SENTRY global antimikrobiyal surveyans programı 2001-2004 sonucuna göre *A.baumannii* suşlarında imipenem %17 ve meropenem %15,8 dirençli bulunmuştur, karbapenemlerin dışındaki antibiyotiklere bakıldığında amikasin %35,8 direnç oranı ile etkili antibiyotik olarak tespit edilmiştir. Sonuçların bölgelere göre dağılımına bakıldığında Avrupa'da imipenem %73,7, meropenem %70,4 duyarlı; Kuzey Amerika'da imipenem %89,4, meropenem %83,7 duyarlı; Latin Amerika'da imipenem %86,4, meropenem 83,6 duyarlı; Asya-Pasifik'te imipenem %73,7, meropenem %73 duyarlı bulunmuştur. Karbapenemler dışındaki en etkili bulunan antibiyotik Kuzey

Amerika'da ve Asya-Pasifikte amikasin (%83,2; %64) olmuştur. SENTRY surveyans sistemi sonucunda polimiksin duyarlılığı Asya-Pasifik'te %98,1, Avrupa'da %97,3, Latin Amerika'da ve Kuzey Amerika'da %98,3 olarak bulunurken; global oran %97,9 duyarlılık oranı ile etkili bulunmuştur (139). Avrupa'da 30 merkezi içeren surveyans çalışmasında %2,7 polimiksin B direnci bildirilmiştir (140).

Yunanistan'da 2004-2009 yılları arasında izole edilen MDR Gram negatif mikroorganizmaların %11,9'unun *A.baumannii* suşları olduğu ve bu suşların sadece kolisine (%94) duyarlı olduğu bildirilmiştir (141).

Bildirilen antimikrobiyal duyarlılık çalışmalarına baktığımızda *A.baumannii* suşları için 2000'li yılların başında etkili olan antibiyotiklerde, özellikle son yıllarda (2009-2011 yılları) bütün antimikrobiyal gruplarda direnç oranlarının artış eğilimi gösterdiği tespit edildi. Karbapenem direnci, ülkelere ve hastanelere göre değişik oranlar sergilese de, son dönemdeki çalışmalarda direnç oranlarının oldukça yüksek seviyeye ulaştığı görülmektedir. Bu durumun, MDR *A.baumannii* suşlarının oranlarının arttığını; tigesiklin ve kolistin gibi antibiyotiklerin daha sık kullanıldığına bir gösterge olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, son yıllarda bildirilen çalışmalarda tigesiklin direncinde de artma eğilimi olduğu görülmektedir.

*Acinetobacter baumannii* suşlarının antimikrobiyal ajanlara direnç geliştirmesini sahip olduğu direnç mekanizması ve direnç geliştirme kapasitesi ile açıklayabiliriz. *Acinetobacter baumannii*, beta laktamazlar ile, penisilin bağlayan proteinlerin (PBPs) değişimi ile, dışa atım pompası aktivitesiyle  $\beta$ -laktam antibiyotiklere direnç sağlar (142).

*A.baumannii* suşlarında B sınıfı  $\beta$ -laktamazları oluşturan metallo- $\beta$ -laktamazlar, (VIM-, IMP- ve SIM- tipleri) karbapenemlere ve aztreonam hariç, bütün  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklere direnç sunar (104).

Kromozomal (*AmpC*) ADC-tip B-laktamazlar, etkin promotör sağlayan *ISAbal* sekansının insersiyonu ile B-laktamaz sentezini arttırarak sefalosporin direncine neden olur. Sefalosporinazlar penisilinleri ve sefalosporinleri hidroliz edebilirken; sefepim ve karbapenemlere etkisizdir (104, 142). *A.baumannii* suşlarının sahip olduğu OXA  $\beta$ -laktamazlar ile aminopenisilinleri ve karboksipenisilinleri hidroliz eder. OXA tip karbapenemazlar OXA23 (ARI-1), OXA24, OXA51 ve OXA58 *A.baumannii* suşlarını karbapenemlere dirençli hale getirir (143).

*A.baumannii* için tipik olan ve kromozomal genlerle kodlanan direnç sistemi AdeABC-dışa atım sistemidir. AdeABC-dışa atım pompası geniş spektrumlu etki ederek tetrasiklinler, aminoglikozidler, florokinolonlar, kloromfenikol, tigesiklin ve bazı  $\beta$ -laktamlara karşı direnç sağlar (103,142). DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimlerini kodlayan *gyrA* ve *parC* genlerindeki spesifik nokta mutasyonlar sonucu *A.baumannii* kinolonlara karşı dirençli hale gelebilir (100). Malezya'dan bildirilen bir çalışmada karbapenemlere ve polimiksine dirençli *A.baumannii* AC12 suşunun genom sekansı analiz edilmiş ve antibiyotik direncinde rol alan *adeABC*, *blaTEM*, *tetA*, *aphA1*, and *uppP* gibi çeşitli genler, kolistin ve diğer polimiksinlerin direncinde rol alan proteinleri kodlayan *pmrCAB* operonu bulunduğunu bildirilmiştir (144).

*Acinetobacter*'ler de çoklu ilaç direncine sahip (multidrug resistance, MDR) suşlar için yapılan tanım, 3 ya da daha fazla (geniş spektrumlu penisilinler, sefalosporinler,  $\beta$ -laktam/ $\beta$ -laktamaz inhibitör kombinasyonları, florokinolonlar, karbapenemler, aminoglikozidler) antibiyotik sınıfına dirençli suşları belirtmek için kullanılır. Çoklu ilaç direnci görülen *A.baumannii* suşlarında tedavi seçeneği tigesiklin ve kolistin ile sınırlıdır (11, 138, 140). Tigesiklin, MDR *A.baumannii* suşlarının bir kısmına in vitro olarak etkili yeni bir glisiklin antibiyotiktir. Fakat, son yıllarda tigesikline de direnç gelişmiştir. Ayrıca bazı *Acinetobacter* salgınlarında çoğu izolatin tigesikline duyarlı olmadığı bildirilmiştir (11, 78). MDR *Acinetobacter baumannii* suşlarında en aktif ajanlar polimiksin grubundaki polimiksin B ve polimiksin E (kolistin)'dir (11). 1960 ve 1970'lerde klinisyenler, polimiksinleri nörotoksik ve nefrotoksik etkilerinden dolayı bırakmışlardır. Gram negatif basillerde çoklu ilaç direnci gelişimi, son yıllarda polimiksinleri tekrar kullanıma getirmiştir; yapılan çalışmalarda farklı ilaç formülasyonları, daha düşük doz ve yoğun bakım takibinin iyi olması sayesinde toksisite azaltılmıştır (11, 72).

Lokal duyarlılık testleri sonucu elde edilen çoklu dirence sahip izolatların genotiplendirme testleri ile klon karşılaştırması yapılmamış ise, epidemiyolojik olarak baskın MDR suşları, direnç seviyesini artırma eğilimindedir (94). Bizim çalışmamızdaki suşların %97'si çoklu ilaç direncine sahip suşlardı ve direnç oranları oldukça yüksekti.

Antibiyotipleme sonuçları bize MDR *Acinetobacter* suşlarının hastane salgına neden olabileceği uyarısını verse de; suşlar arasındaki farklılıkları ayırt etmede yeterli

değildir. Bu yüzden plazmit profili, ribotiplendirme, PFGE ya da PCR bazlı genotiplendirme yöntemlerinden birini kullanılarak nozokomiyal *Acinetobacter* salgınları araştırılmalıdır (145).

PFGE moleküler tiplendirme metodları arasında altın standart olarak kabul edilir ve birçok bakteri türünün tiplendirilmesinde kullanılabilen bir metottur. Ayrım gücü çok iyidir. Protokol ve yorumlama standardizasyonu olması, PFGE yöntemini laboratuvarlar arası tekrarlanabilirliği olan bir yöntem haline getirmektedir. Ancak, tiplendirme sonuçlarının elde edilmesi için 2-4 gün gibi bir süre gerektirmesi önemli bir dezavantajdır (146). Moleküler yöntemlerle çalışma kapasitesine sahip laboratuvarlar gerekli ekipmana ve eğitilmiş personele sahip olmalarından dolayı PCR bazlı metotlar cazip hale gelmektedir. Bu yöntemler PFGE'ye göre daha hızlı, daha kolay uygulanabilen ve daha ucuz yöntemlerdir (146).

Bou ve ark. (145) İspanya'dan bildirdikleri çalışmada, klinik örneklerden izole ettikleri 30 imipenem dirençli *A.baumannii* (IMRAB) ile 10 imipenem duyarlı *A.baumannii* (IMSAB) suşlarında klonal ilişkiyi araştırmak için Rep-PCR, AP-PCR ve PFGE yöntemlerini kullanmışlar; Rep-PCR ve AP-PCR yöntemlerini referans yöntem olan PFGE ile karşılaştırmışlardır. Her üç yöntem ile de dirençli suşları klonal olarak ilişkili bulunmuştur. Salgın döneminde izole edilen 3 duyarlı suş AP-PCR yöntemi sonucunda dirençli suşlarla aynı klonda yer alırken; PFGE ve Rep-PCR sonucunda dirençli gruptan farklı bant paterni oluşturmuş, ancak; dirençli gruba göre sırasıyla 3 ve 6 banttan daha az fark oluştuğu için elde salgın grubu ile ilişkili bulunmuş. OMP analizi sonucunda dirençli suşların porin proteinlerinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Çalışmaya göre Rep-PCR yönteminin PFGE yöntemi ile uyumlu sonuç verdiği ve ayrım gücünün AP-PCR'dan daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, salgın ile ilgili belirtilen hipotez ise salgına neden olan suşun başka bir hastanede tedavi olan bir hastanın yoğun bakım ünitesine transfer olması ile taşındığı ve yayıldığı şeklindedir (145).

Rep-PCR yöntemi son yıllarda Diversilab sistemi ile otomatik formata adapte edilmiştir. Bu sayede veri hazırlama, raporlama ve arşivleme kolaylığı sağlanmıştır (147) Fontana ve ark. (147) İtalya'dan bildirdikleri çalışmada, 11 aylık dönemde, yoğun bakım ünitesinde yatan 13 hastadan elde ettikleri 56 *A.baumannii* suşunu ve çevre örneklerinden izole ettikleri 15 *A.baumannii* suşunu Rep-PCR Diversilab sistemi ile

%97 ve üzeri benzerlik oranında alt klon olarak tanımlamışlardır. Klonal ilişki elde edilen izolatların ilk izolasyonu başka bir hastaneden yoğun bakıma transfer edilen bir hastadan olduğu ve çapraz bulaşla patojenin yayıldığı belirtilmiştir. Ayrıca, araştırmacılar, aynı izolatları f-AFLP yöntemi ile tiplendirdiklerinde de benzer sonuçların elde edildiğini bildirmişlerdir (147).

Hollanda'dan (148) bildirilen bir çalışmada 26 *Acinetobacter* suşu Rep-PCR Diversilab sistemi ve PFGE yöntemi ile tiplendirilmiş. Elde edilen sonuçlarda 2 izolattan oluşan 5 PFGE paterni Diversilab ile doğru tiplendirilmiş, 3 izolat PFGE ile farklı patern oluştururken Diversilab sistemi ile ayırt edilemez bant paterni oluşturmuş; yine 2 suş benzer şekilde Diversilab sistemi ile aynı bant paternine sahipken PFGE ile farklı tiplendirilmiştir. Diğer izolatlar her iki yöntemde de uyumlu olarak farklı klonlar olarak tiplendirilmiştir. Çalışmaya göre Diversilab sistemi ve PFGE yöntemi *Acinetobacter* salgınlarının araştırmasında uyumlu sonuç verdiği ve Diversilab sisteminin salgın tespitinde kullanılabileceği belirtilmiştir (148).

Avusturya'dan bildirilen bir çalışmada, 31 *A.baumannii* suşu Rep-PCR Diversilab sistemi ve PFGE yöntemi ile tiplendirilmiş, elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında iki yöntemin birbiri ile %100 uyumlu sonuç verdiği belirtilmiştir. İki farklı cerrahi yoğun bakım ünitesinden elde edilen 11 MDR *A. baumannii* suşunun %97 ve üzeri (ayırt edilemez) benzerlik oranı ile salgına neden olduğu ve bu suşun 8 ay boyunca izole edildiği tespit edilmiştir. Ayrıca, 6 suştan ve 2 suştan oluşan salgın klonlarının belirlendiği ve diğer suşların bağımsız klonlar oluşturduğu tespit edilmiştir (149).

Belçika'dan bildirilen bir çalışmada, Yunanistan'dan Belçika'daki üniversite hastanesine transfer edilen 2 travmalı hastanın MDR *A. baumannii* taşıdığı tespit edilmiştir. Sonraki 11 aylık periyotta MDR karbapenem dirençli *A.baumannii* suşları 26 hastanın klinik örneğinden izole edilmiş ve 24 solunum yolu örneği pozitif bulunmuştur (150).

Amerika Birleşik Devletleri'nde Şikago şehrinde ve İndiana eyaletinin kuzey batı bölgesindeki 8 merkezden elde edilen, 100 *A.baumannii* suşunun (42 izolat yüksek karbapenem direncine sahip; 8 suş çevre örneklerinden izole edilmiş) PFGE ile tiplendirilmesi sonucunda %97'sinin aynı klona ait monoklonal, tek suş salgınına neden

olduğu gösterilmiştir ve *Acinetobacter*'lerin geniş coğrafik dağılım gösteren salgınlara neden olabildiği bildirilmiştir (78).

Fransa'da MDR *A.baumannii* epidemisinde Nisan 2003 ile Haziran 2004 tarihleri arasında 15 farklı bölgeye ait 53 hastaneden 290 *A.baumannii* suşu elde edilmiş ve PFGE yöntemi ile klonal ilişkileri araştırılmıştır. İzolatların (275) % 95'inin VEB-1 geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz aktivitesine sahip olduğu ve epidemik olarak ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Epidemiye neden olan suşların 2001 yılında salgına neden olan VEB-1 pozitif AYE suşları ile klonal ilişkili olduğu ve bazı hastanelerde bu klona ait suşların endemik olarak görüldüğü bildirilmiştir (79).

Bu alışmada Rep-PCR yöntemi, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* suşları arasındaki klonal ilişkiyi ortaya koymak amacıyla kullanıldı. Araştırmamızda, *Acinetobacter* suşlarının klonal yakınlıkları incelendiğinde, iki ana klon (A ve B) olmak üzere 8 farklı klon elde edildi ve A ana klonunun hakim tip (n=54; %72) olduğu saptandı. Klonal ilişkili suşlar, solunum yolu örneklerinden izole edilen bakterilerin %73 (19/26)'n ve kan kültürü izolatlarının %77 (14/18)'sini içermektedir. Klondaki ilk suşlar 09.10.2011 tarihinde 2 hastanın trakeal aspirat kültüründen izole edilmiştir. Hastalardan biri reanimasyon ünitesinde diğerisi ise genel cerrahi servisinde yatan hastalardır. Klondaki son suş ise 20.05.2012 tarihinde yine reanimasyon ünitesinde yatan bir hastanın trakeal aspirat kültüründen izole edildi. A klonu, reanimasyon YB'den elde edilen örneklerin % 71(20/28)'inden, cerrahi servisinden gönderilen örneklerin %70 (7/10)'inden ve dahiliye YB rneklerinin (6/6) tamamından izole edilmiştir. %97 benzerlik oranıyla ayırt edilemez benzerlik profiline sahip A4 alt klonu 41 suş ile hastanemizde büyük bir salgın kümesinin varlığını ortaya koymuştur ve bu küme çalışmanın yapıldığı 8 ay boyunca hastalardan izole edilmiştir.

in'den bildirilen bir çalışmada, bir klonun 6 yıl boyunca devamlılık gösterdiği tespit edilmiştir, ayrıca bu klona ait suşlar üç farklı Őehirdeki 3 hastaneden elde edilen suşlarla klonal ilişkili bulunmuştur (151).

Malatya'dan bildirilen bir çalışmada PFGE yöntemiyle 131 *Acinetobacter* suşu değerlendirilmiştir. PFGE sonucunda suşların 82 (%62,6)'sinin küme içinde yer aldığı ve 15 küme oluştuğu tespit edilmiştir. Kümelerdeki suşların 2-27 arasında değiştiği ve tiplendirilen suşların %72,3'ünün klonal yönden ilişkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *Acinetobacter* suşlarının 27 aya kadar hastane ortamında kaldığı belirtilmiştir (152).

Edirne'den bildirilen bir çalışma'da imipenem dirençli 59 *Acinetobacter* suşu PFGE ile tiplendirildiğinde bütün suşların klonal yönden ilişkili olduğu ve 4 alt klon elde edildiği belirtilmiştir. Klonların sıklıkla reanimasyon ünitesinde toplandığı tespit edilmiştir (153).

Çalışmamızda ikinci hakim klon olarak belirlenen B klonu 13 (%17,3) suş içermektedir ve B klonu da 8 boyunca hastanede varlığını sürdürmüştür. Bu durum hastanemizde ciddi bir çapraz bulaş olduğunu ortaya koymaktadır. Elde edilen veriler, *Acinetobacter* suşlarının hastane içerisinde kolayca yayıldığını ve uzun süre varlığını sürdürdüğünü göstermektedir. Aynı klona ait izolatların farklı antibiyotik paterni göstermeleri ya da farklı klonlardaki izolatların aynı direnç paternine sahip olmaları, direncin porin proteinleri mutasyonları ile ya da plazmit aracılığı ile kazanılmasından kaynaklanabilir (79).

Dış merkezden transfer edilen 3 hastandan 2'sinin izolatları A klonu içerisinde küme oluşturduğu görülmüştür. Bu suşlardan birisi A4 alt klonunda diğeri ise A5 klonunda yer almıştır. Salgınla ilişkili bulunan bu izolatlar, hastalar hastaneye başvurduktan sonra çapraz kontaminasyonla bulaşmış olabilir ya da hastaneler arası hasta transferler sonucu bakteriler taşınarak merkezler arası yayılım göstermiş olabilir. Üçüncü hastanın izolatu ise salgına neden olan ana klonlardan bağımsız olarak C klonunda küme oluşturmuştur.

Sonuç olarak, elde ettiğimiz verilere göre hastanemizdeki *Acinetobacter* enfeksiyonlarının ya da hasta kontaminasyonların sıklıkla aynı klona ait suşlar tarafından gerçekleştirildiği ortaya konmuştur. Servisler arasında ya da servis ve yoğun bakım üniteleri arasında hasta transferlerinin sık olması *Acinetobacter* klonlarının yayılmasını arttırmaktadır. A ve B klonuna ait izolatların 8 ay boyunca hastanemizde yaygın olduğu özellikle yoğun bakım ünitelerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Klonal ilişkiyi araştırmak için kullandığımız Rep-PCR Diversilab sistemi epidemiyolojik çalışmalarda klonal ilişkili izolatların yakınlığını belirlemede; klonal olarak birbirinden uzak suşları ayırmada başarılı olduğu düşünülmüştür. Salgınların erken tespit edilmesi, patojenlerin yayılmadan gerekli önlemlerin alınması için önemlidir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, yaptığımız bu çalışma ile hastanemizdeki *Acinetobacter* suşlarının direncini, farklı servislerden ve yoğun bakım ünitelerinden izole edilen suşların klon dağılımını tespit ettik. Rep-PCR analizi ile bu çalışmanın yapıldığı 8 aylık süre boyunca aynı *A.baumannii* suşuna ait klonların hastane enfeksiyonlarına neden olduğunu ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde bu klona ait suşların kümелendiğini tespit ettik. Hastanemizden izole edilen *Acinetobacter* suşları arasında yüksek oranda antibiyotik direnci bulunması, özellikle çok ilaca dirençli MDR suşlarının yaygın olması dikkat çekicidir. Çalışmadaki suşlar arasında kolistin direncinin görülmemesi olumlu bir veri olarak düşünülmektedir. Elde edilen klonlara göre hastalar arası suşların bulaş derecesinin yüksek olduğu ve aynı klonun hastanede ortamında uzun süre kalabildiği görülmektedir. Yaptığımız moleküler tiplendirme ile hastanemizde daha etkili bir korunma ve kontrol önlemlerinin alınması gerekliliği ortaya konulmuştur.

Daha sonra yapılacak çalışmalar ile hastanedeki direnç profili ve *Acinetobacter* klonlarının dağılımı izlenmeli ve önceki klonlar ile karşılaştırarak endemik klonların oluşması engellenmelidir.

Moleküler tiplendirme yöntemleri rutin uygulamada kullanımı, genellikle bu yöntemlerin uzun zaman alması, yoğun emek gerektirmesi ve maliyetinin yüksek olmasından dolayı yaygın değildir. Rep-PCR Diversilab yöntemi uygulaması kolay, zaman yönünden diğer yöntemlere göre daha kısa sürede sonuç verebilen bir yöntemdir, sonuçların değerlendirilmesi ve klonların yorumlanması kolaydır. Ayrıca, elde edilen verilerin veritabanı oluşturularak sonraki çalışmalarla karşılaştırılma imkanı vardır. Ancak, maliyetinin yüksek olması önemli bir dezavantajdır.



## 7. KAYNAKLAR

1. **Bergogne-Berezin E, Towner KJ.** *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev*, **1996**; 9(2): 148-165.
2. **Seifert H, Dijkshoorn L, Gerner-Smidt P, Pelzer N, Tjernberg I, Vaneechoutte M.** Distribution of *Acinetobacter* Species on Human Skin: Comparison of Phenotypic and Genotypic Identification Methods. *J Clin Microbiol*, **1997**; 35(11):2819-2825.
3. **Peleg AY, Seifert H, Paterson DL.** *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev*, **2008**; 21(3): 538-582.
4. **Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H.** An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol*, **2007**; 5(12):939-951.
5. **Joly-Guillou ML.** Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clin Microbiol Infect*, **2005**; 11(11):868-873.
6. **García-Garmendia JL, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J, Jiménez-Jiménez FJ, Pérez-Paredes C, Barrero-Almodóvar AE, Gili-Miner M.** Risk factors for *Acinetobacter baumannii* nosocomial bacteremia in critically ill patients: a cohort study. *Clin Infect Dis*, **2001**; 33(7):939-946.
7. **Chen MZ, Hsueh PR, Lee LN, Yu CJ, Yang PC, Luh KT.** Severe community-acquired pneumonia due to *Acinetobacter baumannii*. *Chest*, **2001**; 120(4):1072-1077.
8. **Oncül O, Keskin O, Acar HV, Küçükardali Y, Evrenkaya R, Atasoyu EM, Top C, Nalbant S, Ozkan S, Emekdaş G, Cavuşlu S, Us MH, Pahsa A, Gökben M.** Hospital acquired infections following the 1999 Marmara earthquake. *J Hosp Infect*, **2002**; 51(1):47-51.
9. **Maegle M, Gregor S, Steinhausen E, Bouillon B, Heiss MM, Perbix W, Wappler F, Rixen D, Geisen J, Berger-Schreck B, Schwarz R.** The long distance tertiary air transfer and care of tsunami victims: injury pattern and microbiological and psychological aspects. *Crit Care Med*, **2005**; 33(5):1136-1140.
10. **Davis KA, Moran KA, McAllister CK, Gray PJ.** Multidrug-resistant *Acinetobacter* extremity infections in soldiers. *Emerg Infect Dis*, **2005**; 11(8):1218-1224.
11. **Munoz-Price LS, Weinstein RA.** *Acinetobacter* infection. *N Engl J Med*, **2008**; 358(12):1271-1281.
12. **Marchaim D, Navon-Venezia S, Schwartz D, Tarabeia J, Fefer I, Schwaber MJ, Carmeli Y.** Surveillance cultures and duration of carriage of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*, **2007**; 45(5):1551-1555.

13. **Lessel, EF.** Minutes of the Subcommittee on the Taxonomy of *Moraxella* and Allied Bacteria. *International Journal Of Systematic Bacteriology*, **1971**; 21(2):213–214
14. NCBI, Taxonomy Browser. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=469> Erişim tarihi: 15.08.2012
15. **Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY.** A study of the *Moraxella* group II. Oxidative-negative Species (Genus *Acinetobacter*). *J Bacteriol*, **1968**; 95(5):1520–1541.
16. **Bouvet PJM, Grimont PAD.** Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov. and emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. *International Journal Of Systematic Bacteriology*, **1986**; 36(2): 228-240.
17. **Nishimura Y, Ino T, Iizuka H.** *Acinetobacter radioresistens* sp. nov. isolated from cotton and soil. *International Journal Of Systematic Bacteriology*, **1988**; 38(2): 209-211.
18. **Bouvet PJ, Jeanjean S.** Delineation of new proteolytic genomic species in the genus *Acinetobacter*. *Res Microbiol*, **1989**; 140(4-5):291-299.
19. **Tjernberg I, Ursing J.** Clinical strains of *Acinetobacter* classified by DNA-DNA hybridization. *APMIS*, **1989**; 97(7):595-605.
20. **Gerner-Smidt P, Tjernberg I, Ursing J.** Reliability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. *J Clin Microbiol*, **1991**; 29(2):277-282.
21. **Nemec A, De Baere T, Tjernberg I, Vanechoutte M, van der Reijden TJ, Dijkshoorn L.** *Acinetobacter ursingii* sp. nov. and *Acinetobacter schindleri* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2001**; 51(Pt 5):1891-1899.
22. **Nemec A, Dijkshoorn L, Cleenwerck I, De Baere T, Janssens D, Van Der Reijden TJ, Jezek P, Vanechoutte M.** *Acinetobacter parvus* sp. nov., a small-colony-forming species isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2003**; 53(Pt 5):1563-1567.
23. **Carr EL, Kampfer P, Patel BK, Gurtler V, Seviour RJ.** Seven novel species of *Acinetobacter* isolated from activated sludge. *Int J Syst Evol Microbiol*, **2003**; 53(Pt 4):953-963.
24. **Vanechoutte M, De Baere T, Nemec A, Musilek M, van der Reijden TJ, Dijkshoorn L.** Reclassification of *Acinetobacter grimontii* Carr *et al.* 2003 as a later synonym of *Acinetobacter junii* Bouvet and Grimont 1986. . *Int J Syst Evol Microbiol*, **2008**; 58(Pt 4):937-940.
25. **Kim D, Baik KS, Kim MS, Park SC, Kim SS, Rhee MS, Kwak YS, Seong CN.** *Acinetobacter soli* sp. nov., isolated from forest soil. *J Microbiol*, **2008**; 46(4):396-401.

26. Nemeč A, Musilek M, Maixnerova M, De Baere T, van der Reijden TJ, Vaneechoutte M, Dijkshoorn L. *Acinetobacter beijerinckii* sp. nov. and *Acinetobacter gyllenbergii* sp. nov., haemolytic organisms isolated from humans. . *Int J Syst Evol Microbiol*, **2009**; 59(Pt 1):118-124.
27. Nemeč A, Musilek M, Sedo O, De Baere T, Maixnerova M, van der Reijden TJ, Zdrahal Z, Vaneechoutte M, Dijkshoorn L. *Acinetobacter bereziniae* sp. nov. and *Acinetobacter guillouiae* sp. nov., to accommodate *Acinetobacter* genomic species 10 and 11, respectively. . *Int J Syst Evol Microbiol*, **2010**; 60(Pt 4):896-903.
28. Nemeč A, Krizova L, Maixnerova M, van der Reijden TJ, Deschaght P, Passet V, Vaneechoutte M, Brisse S, Dijkshoorn L. Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 13TU). *Res Microbiol*, **2011**; 162(4):393-404
29. Schreckenberger PC, Daneshvar MI, Hollis DG. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella* and other nonfermentative Gram negative rods. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Eds. *Manuel of Clinical Microbiology*. 9<sup>nd</sup> Ed. Washington DC: American Society for Microbiology **2007**:770-802.
30. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, **2012**; 3(3):243-250.
31. Juni E. Interspecies transformation of *Acinetobacter*: Genetic Evidence for a Ubiquitous Genus. *J Bacteriol*, **1972**; 112(2):917-931.
32. Jawad 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):2353-2358.
33. Janssen P, Maquelin K, Coopman R, Tjernberg I, Bouvet P, Kersters K, Dijkshoorn L. Discrimination of *Acinetobacter* genomic species by AFLP fingerprinting. *Int J Syst Bacteriol*, **1997**; 47(4):1179-1187.
34. Vaneechoutte M, Dijkshoorn L, Tjernberg I, Elaichouni A, de Vos P, Claeys G, Verschraegen G. Identification of *Acinetobacter* genomic species by amplified ribosomal DNA restriction analysis. *J Clin Microbiol*, **1995**; 33(1):11-15.
35. Dolzani L, Tonin E, Lagatolla C, Prandin L, Monti-Bragadin C. identification of *Acinetobacter* isolates in the *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* complex by restriction analysis of the 16S-23S rRNA intergenic-spacer sequences. *J Clin Microbiol*, **1995**; 33(5):1108-1113.
36. Gerner-Smidt P. Ribotyping of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* Complex. *J Clin Microbiol*, **1992**; 30(10):2680-2685.

37. **Chang HC, Wei YF, Dijkshoorn L, Vaneechoutte M, Tang CT, Chang TC.** Species-Level Identification of Isolates of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* Complex by Sequence Analysis of the 16S-23S rRNA Gene Spacer Region. *J Clin Microbiol*, **2005**; 43(4):1632-1639.
38. **La Scola B, Gundi VA, Khamis A, Raoult D.** Sequencing of the *rpoB* Gene and Flanking Spacers for Molecular Identification of *Acinetobacter* Species. *J Clin Microbiol*, **2006**; 44(3):827-832.
39. **Ecker JA, Massire C, Hall TA, Ranken R, Pennella TT, Agasino Ivy C, Blyn LB, Hofstadler SA, Endy TP, Scott PT, Lindler L, Hamilton T, Gaddy C, Snow K, Pe M, Fishbain J, Craft D, Deye G, Riddell S, Milstrey E, Petruccelli B, Brisse S, Harpin V, Schink A, Ecker DJ, Sampath R, Eshoo MW.** Identification of *Acinetobacter* Species and Genotyping of *Acinetobacter baumannii* by Multilocus PCR and Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol*, **2006**; 44(8):2921-2932.
40. **Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL.** Identification of *Acinetobacter baumannii* by Detection of the *bla*OXA-51-like Carbapenemase Gene Intrinsic to This Species. *J Clin Microbiol*, **2006**; 44(8):2974-2976
41. **Choi CH, Lee EY, Lee YC, Park TI, Kim HJ, Hyun SH, Kim SA, Lee SK, Lee JC.** Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. *Cell Microbiol*, **2005**; 7(8):1127-1138.
42. **Berlau J, Aucken H, Malnick H, Pitt T.** Distribution of *Acinetobacter* species on skin of healthy humans. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **1999**; 18(3):179-183.
43. **Chu YW, Leung CM, Houang ET, Ng KC, Leung CB, Leung HY, Cheng AF.** Skin Carriage of *Acinetobacter* in Hong Kong. *J Clin Microbiol*, **1999**; 37(9):2962-2967.
44. **Dijkshoorn L, van Aken E, Shunburne L, van der Reijden TJ, Bernardis AT, Nemeč A, Towner KJ.** Prevalence of *Acinetobacter baumannii* and other *Acinetobacter* spp. in faecal samples from non-hospitalised individuals. *Clin Microbiol Infect*, **2005**; 11(4):329-332.
45. **Corbella X, Pujol M, Ayats J, Sendra M, Ardanuy C, Dominguez MA, Linares J, Ariza J, Gudiol F.** Relevance of Digestive Tract Colonization in the Epidemiology of Nosocomial Infections Due to Multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis*, **1996**; 23(2):329-334.
46. **Thom KA, Hsiao WW, Harris AD, Stine OC, Rasko DA, Johnson JK.** Patients with *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections are colonized in the gastrointestinal tract with identical strains. *Am J Infect Control*, **2010**; 38(9):751-753.
47. **Berlau J, Aucken HM, Houang E, Pitt TL.** Isolation of *Acinetobacter* spp. including *A.baumannii* from vegetables: implication for hospital acquired infections. *J Hosp Infect*, **1999**; 42(3):201-204.

48. **Houang ET, Chu YW, Leung CM, Chu KY, Berlau J, Ng KC, Cheng AF.** Epidemiology and Infection Control Implications of *Acinetobacter* spp. in Hong Kong. *J Clin Microbiol*, 2001 Jan;39(1):228-234.
49. **Francey T, Gaschen F, Nicolet J, Burnens AP.** The role of *Acinetobacter baumannii* as a nosocomial pathogen for dogs and cats in an intensive care unit. *J Vet Intern Med*, 2000; 14(2):177-183.
50. **La Scola B, Raoult D.** *Acinetobacter baumannii* in human body louse. *Emerg Infect Dis*, 2004; 10(9):1671-1673.
51. **Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G.** The distribution of *Acinetobacter* species in clinical culture materials. *Zentralbl Bakteriolog*, 1993; 279(4):544-552.
52. **Gerner-Smidt P, Tjernberg I.** *Acinetobacter* in Denmark: II. Molecular studies of the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex. *APMIS*, 1993; 101(11):826-832.
53. **Dijkshoorn L, Aucke HM, Gerner-Smidt P, Kaufmann ME, Ursing J, Pitt TL.** Correlation of typing methods for *Acinetobacter* isolates from hospital outbreaks. *J Clin Microbiol*, 1993; 31(3):702-705.
54. **Gundi VA, Dijkshoorn L, Burignat S, Raoult D, La Scola B.** Validation of partial *rpoB* gene sequence analysis for the identification of clinically important and emerging *Acinetobacter* species. *Microbiology*, 2009;155(Pt 7):2333-2341
55. **Boo TW, Walsh F, Crowley B.** Molecular characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in an Irish university hospital: predominance of *Acinetobacter* genomic species 3. *J Med Microbiol*, 2009; 58(Pt 2):209-216.
56. **Horrevorts A, Bergman K, Kollee L, Breuker I, Tjernberg I, Dijkshoorn L.** Clinical and Epidemiological Investigations of *Acinetobacter* Genomospecies 3 in a Neonatal Intensive Care Unit. *J Clin Microbiol*, 1995; 33(6):1567-1572.
57. **Turton JF, Shah J, Ozongwu C, Pike R.** Incidence of *Acinetobacter* Species Other than *A. baumannii* among Clinical Isolates of *Acinetobacter*: Evidence for Emerging Species. *J Clin Microbiol*, 2010; 48(4):1445-1449.
58. **Karah N.** Identification, molecular epidemiology, and antibiotic resistance characterization of *Acinetobacter* spp. clinical isolates. A dissertation for the degree of Philosophiae Doctor, University of Tromsø, Norveç, 2011
59. **Wisplinghoff H, Edmond MB, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP, Seifert H.** Nosocomial Bloodstream Infections Caused by *Acinetobacter* Species in United States Hospitals: Clinical Features, Molecular Epidemiology and Antimicrobial Susceptibility. *Clin Infect Dis*, 2000; 31(3):690-697.

60. Ribera A, Fernandez-Cuenca F, Beceiro A, Bou G, Martinez-Martinez L, Pascual A, Cisneros JM, Rodriguez-Bano J, Pachon J, Vila J. Antimicrobial susceptibility and mechanisms of resistance to quinolones and  $\beta$ -lactams in *Acinetobacter* genospecies 3. *Antimicrob Agents Chemother*, **2004**; 48(4):1430-1432.
61. Lee JH, Choi CH, Kang HY, Lee JY, Kim J, Lee YC, Seol SY, Cho DT, Kim KW, Song do Y, Lee JC. Differences in phenotypic and genotypic traits against antimicrobial agents between *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomic species 13TU. *J Antimicrob Chemother*, **2007**; 59(4):633-639.
62. Lim YM, Shin KS, Kim J. Distinct antimicrobial resistance patterns and antimicrobial resistance-harboring genes according to genomic species of *Acinetobacter* isolates. *J Clin Microbiol*, **2007**; 45(3):902-905.
63. Shelburne SA, 3rd, Singh KV, White AC, Jr., Byrne L, Carmer A, Austin C, Graviss E, Stager C, Murray BE, Atmar RL. Sequential outbreaks of infections by distinct *Acinetobacter baumannii* strains in a public teaching hospital in Houston, Texas. *J Clin Microbiol*, **2008**; 46(1):198-205.
64. Lee Y, Lee J, Jeong SH, Bae IK, Lee K. Carbapenem-non-susceptible *Acinetobacter baumannii* of sequence type 92 or its single-locus variants with a G428T substitution in zone 2 of the *rpoB* gene. *J Antimicrob Chemother*, **2011**; 66(1):66-72.
65. Wisplinghoff H, Perbix W, Seifert H. Risk factors for nosocomial bloodstream infections due to *Acinetobacter baumannii*: a case-control study of adult burn patients. *Clin Infect Dis*, **1999**; 28(1):59-66.
66. Maragakis LL, Cosgrove SE, Song X, Kim D, Rosenbaum P, Ciesla N, Srinivasan A, Ross T, Carroll K, Perl TM. An outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* associated with pulsatile lavage wound treatment. *JAMA*, **2004**; 292(24):3006-3011.
67. Cisneros JM, Reyes MJ, Pachón J, Becerril B, Caballero FJ, García-Garmendía JL, Ortiz C, Cobacho AR. Bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical findings, and prognostic features. *Clin Infect Dis*, **1996**; 22(6):1026-1032.
68. Seifert H, Strate A, Pulverer G. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*. Clinical features, epidemiology, and predictors of mortality. *Medicine (Baltimore)*, **1995**; 74(6):340-349.
69. Krol V, Hamid NS, Cunha BA. Neurosurgically related nosocomial *Acinetobacter baumannii* meningitis: report of two cases and literature review. *J Hosp Infect*, **2009**; 71(2):176-180.
70. Blot S, Vandewoude K, Colardyn F. Nosocomial bacteremia involving *Acinetobacter baumannii* in critically ill patients: a matched cohort study. *Intensive Care Med*, **2003**; 29(3):471-475.

71. **Garnacho J, Sole-Violan J, Sa-Borges M, Diaz E, Rello J.** Clinical impact of pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii* in intubated patients: a matched cohort study. *Crit Care Med*, **2003**; 31(10):2478-2482.
72. **Falagas ME, Bliziotis IA, Siempos II.** Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Crit Care*, **2006**; 10(2):R48.
73. **Vonberg RP, Weitzel-Kage D, Behnke M, Gastmeier P.** Worldwide Outbreak Database: the largest collection of nosocomial outbreaks. *Infection*, **2011**; 39(1):29-34.
74. **Gastmeier P, Loui A, Stamm-Balderjahn S, Hansen S, Zuschneid I, Sohr D, Behnke M, Obladen M, Vonberg RP, Rüden H.** Outbreaks in neonatal intensive care units - they are not like others. *Am J Infect Control*, **2007**; 35(3):172-176.
75. **Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Fernández-Hinojosa E, Aldabó-Pallás T, Cayuela A, Marquez-Vácaro JA, Garcia-Curiel A, Jiménez-Jiménez FJ.** *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: epidemiological and clinical findings. *Intensive Care Med*, **2005**; 31(5):649-655.
76. **Villegas MV, Hartstein AI.** *Acinetobacter* outbreaks, 1977-2000. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2003**; 24(4):284-295.
77. **Azap Ö.** MDR-*Acinetobacter* Infeksiyonlarında Epidemiyolojik Anlamda Güncel Durum. *ANKEM Derg*, **2012**; 26(Ek 2):283-286.
78. **Lolans K, Rice TW, Munoz-Price LS, Quinn JP.** Multicity outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing the carbapenemase OXA-40. *Antimicrob Agents Chemother*, **2006**; 50(9):2941-2945.
79. **Naas T, Coignard B, Carbonne A, Blanckaert K, Bajolet O, Bernet C, Verdeil X, Astagneau P, Desenclos JC, Nordmann P.** VEB-1 Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*, France. *Emerg Infect Dis*, **2006**; 12(8):1214-1222.
80. **Zanetti G, Blanc DS, Federli I, Raffoul W, Petignat C, Maravic P, Francioli P, Berger MM.** Importation of *Acinetobacter baumannii* into a burn unit: a recurrent outbreak of infection associated with widespread environmental contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2007**; 28(6):723-725.
81. **Scott P, Deye G, Srinivasan A, Murray C, Moran K, Hulten E, Fishbain J, Craft D, Riddell S, Lindler L, Mancuso J, Milstrey E, Bautista CT, Patel J, Ewell A, Hamilton T, Gaddy C, Tenney M, Christopher G, Petersen K, Endy T, Petrucci B.** An outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* complex infection in the US military health care system associated with military operations in Iraq. *Clin Infect Dis*, **2007**; 44(12):1577-1584.
82. **Singh A, Goering RV, Simjee S, Foley SL, Zervos MJ.** Application of molecular techniques to the study of hospital infection. *Clin Microbiol Rev*, **2006**; 19(3):512-530.

- 83. Köksal F.** Moleküler Epidemiyolojik Tiplendirme Yöntemlerinin Hastane Enfeksiyonlarında Kullanımı. In: Doğanay M., Ünal S. *Hastane Enfeksiyonları*. 1. Baskı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, **2003**:235-246.
- 84. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B.** Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol*, **1995**;33(9): 2233-2239.
- 85. Durmaz R.** Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitap Evleri, İstanbul, **2001**.
- 86. Versalovic J, Koeuth T, Lupski JR.** Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to finger printing of bacterial genomes. *Nucleic Acids Res*, **1991**; 19(24):6823-6831.
- 87. Olive DM, Bean P.** Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *J Clin Microbiol*, **1999**; 37(6):1661-1669.
- 88. Vila J, Marcos MA, Jimenez de Anta MT.** A comparative study of different PCR-based DNA finger printing techniques for typing of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*A. baumannii* complex. *J Med Microbiol*, **1996**; 44(6):482-489.
- 89. Woods CR Jr, Versalovic J, Koeuth T, Lupski JR.** Analysis of relationship among isolates of *Citrobacter diversus* by using DNA finger prints generated by repetitive sequence-based primers in the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*, **1992**; 30(11):2921-2929.
- 90. Chuang YC, Wang JT, Chen ML, Chen YC.** Comparison of an automated repetitive-sequence-based PCR microbial typing system with pulsed-field gel electrophoresis for molecular typing of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol*, **2010**; 48(8):2897-2901.
- 91. Healy M, Huong J, Bittner T, Lising M, Frye S, Raza S, Schrock R, Manry J, Renwick A, Nieto R, Woods C, Versalovic J, Lupski JR.** Microbial DNA typing by automated repetitive-sequence-based PCR. *J Clin Microbiol*, **2005**;43(1):199-207.
- 92. Shutt CK, Pounder JI, Page SR, Schaecher BJ, Woods GL.** Clinical evaluation of the Diversilab microbial typing system using repetitive-sequence-based PCR for characterization of *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol*, **2005**; 43(3):1187-1192.
- 93. Bartual SG, Seifert H, Hippler C, Luzon MA, Wisplinghoff H, Rodríguez-Valera F.** Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*, **2005**; 43(9):4382-4390.
- 94. Seifert H, Stefanik D, Wisplinghoff H.** Comparative in vitro activities of tigecycline and 11 other antimicrobial agents against 215 epidemiologically defined multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. *J Antimicrob Chemother*, **2006**; 58(5):1099-1100.



- 95. Dijkshoorn L, Aucken H, Gerner-Smidt P, Janssen P, Kaufmann ME, Garaizar J, Ursing J, Pitt TL.** Comparison of outbreak and non outbreak *Acinetobacter baumannii* strains by genotypic and phenotypic methods. *J Clin Microbiol*, **1996**; 34(6):1519-1525.
- 96. Vila J, Marcos A, Marco F, Abdalla S, Vergara Y, Reig R, Gomez-Lus R, De Anta TJ.** In vitro antimicrobial production of beta-lactamases, aminoglycoside-modifying enzymes, and chloramphenicol acetyltransferase by and susceptibility of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, **1993**; 37(1): 138–141.
- 97. Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G.** Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* species. *Antimicrob Agents Chemother*, **1993**; 37(4): 750–753.
- 98. Tankovic J, Legrand P, De Gatines G, Chemineau V, Brun-Buisson C, Duval J.** Characterization of a hospital outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* by phenotypic and genotypic typing methods. *J Clin Microbiol*, **1994**; 32(11): 2677–2681.
- 99. Bonomo RA, Szabo D.** Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis*, **2006**; 43 Suppl 2:S49-56.
- 100. Vila J, Ruiz J, Goñi P, Jimenez de Anta T.** Quinolone-resistance mutations in the topoisomerase IV parC gene of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, **1997**; 39(6):757-762.
- 101. Héritier C, Poirel L, Nordmann P.** Cephalosporinase over expression resulting from insertion of ISAbal in *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect*, **2006**; 12(2):123-130.
- 102. Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM, Pitt TL.** The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett*, **2006**; 258(1):72-77.
- 103. Peleg AY, Adams J, Paterson DL.** Tigecycline Efflux as a Mechanism for Nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, **2007**; 51(6):2065-2069.
- 104. Poirel L, Nordmann P.** Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect*, **2006**; 12(9):826-836.
- 105. Nemeč A, Dijkshoorn L, van der Reijden TJ.** Long-term predominance of two pan European clones among multi-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in the Czech Republic. *J Med Microbiol*, **2004**; 53(Pt 2):147-153.
- 106. Fournier PE, Vallenet D, Barbe V, Audic S, Ogata H, Poirel L, Richet H, Robert C, Mangenot S, Abergel C, Nordmann P, Weissenbach J, Raoult D, Claverie JM.** Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Genet*, **2006**; 2(1):e7.

- 107.Linden PK, Paterson DL.** Parenteral and inhaled colistin for treatment of ventilator-associated pneumonia. *Clin Infect Dis*, **2006**; 43 Suppl 2:S89-94.
- 108.Urban C, Segal-Maurer S, Rahal JJ.** Considerations in control and treatment of nosocomial infections due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis*, **2003**; 36(10):1268-1274
- 109.Falagas ME, Kasiakou SK.** Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Crit Care*, **2006**;10(1):R27
- 110.Lolans K, Rice TW, Munoz-Price LS, Quinn JP.** Multicity outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing the carbapenemase OXA-40. *Antimicrob Agents Chemother*, **2006**; 50(9):2941-2945.
- 111.Levin AS, Barone AA, Penço J, Santos MV, Marinho IS, Arruda EA, Manrique EI, Costa SF.** Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis*, **1999**; 28(5):1008-1011.
- 112.Kwa AL, Loh C, Low JG, Kurup A, Tam VH.** Nebulized colistin in the treatment of pneumonia due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis*, **2005**; 41(5):754-757.
- 113.Jiménez-Mejías ME, Pichardo-Guerrero C, Márquez-Rivas FJ, Martín-Lozano D, Prados T, Pachón J.** Cerebrospinal fluid penetration and pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters of intravenously administered colistin in a case of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. **2002**; 21(3):212-214.
- 114.Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydna E, Lal H, Quale J.** Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: city wide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis*, **2000**; 31(1):101-106.
- 115.Clinical Laboratory Standards Institute.** *Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement*. CLSI document M100-S22, **2012**.
- 116.Jones RN, Ferraro MJ, Reller LB, Schreckenberger PC, Swenson JM, Sader HS.** Multicenter Studies of Tigecycline Disk Diffusion Susceptibility Results for *Acinetobacter* spp. *Int J Infect Dis*, **2009**; 13(5):623-628.
- 117.Galani I, Kontopidou F, Souli M, Rekatsina PD, Koratzanis E, Deliolanis J, Giamarellou H.** Colistin susceptibility testing by Etest and disk diffusion methods. *Int J Antimicrob Agents*, **2008**;31(5):434-439.
- 118.Diversilab strain typing analysis guide for software version 3.4, BioMerieux, France, 2010**

- 119.De Oliveira AC, Damasceno QS.** Surfaces of the hospital environment as possible deposits of resistant bacteria: a review *Rev Esc Enferm USP.* 2010; 44(4):1118-1123.
- 120. Iraz M, Ceylan A, Akkoyunlu Y.** Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter* Türlerinde Antibiyotik Direnç Oranlarının İncelenmesi. *ANKEM Derg* **2012**; 26(2):80-85.
- 121.Ozdem B, Gürelik FC, Celikbilek N, Balıkcı H, Açıkgöz ZC.** Antibiotic resistance profiles of *Acinetobacter* species isolated from several clinical samples between 2007-2010. *Mikrobiyol Bul.* **2011**; 45(3):526-534.
- 122.Akin FE, Bayram A, Balcı I.** Comparison of disc diffusion, E-test, and broth microdilution methods for the determination of resistance to colistin, polymyxin B, and tigecycline in multi-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. *Mikrobiyol Bul.* **2010**; 44(2):203-210.
- 123. Uzun B, Güngör S, Yurtsever SG, Afşar İ, Demirci M.** Yoğun Bakım Hastalarının Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Çeşitli Antibiyotiklere Direnç Durumları. *ANKEM Derg* , **2012**; 26(2):55-60
- 124.Ertürk A, Çiçek AÇ, Köksal E, Köksal ZŞ, Özyurt S.** Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastaların Çeşitli Klinik Örneklerinden İzole Edilen Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Duyarlılıkları. *ANKEM Derg* **2012**; 26(1):1-9.
- 125.Van Looveren M, Goossens H; ARPAC Steering Group.**Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. *Clin Microbiol Infect*, **2004**;10(8):684-704.
- 126.Kurtoğlu MG, Opuş A, Kaya M, Keşli R, Güzelant A, Yüksekaya Ş.** Bir Eğitim Ve Araştırma Hastanesinde Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Antibakteriyel Direnç (2008-2010). *ANKEM Derg*, **2011**; 25(1):35-41
- 127.Nayman Alpat S, Aybey AD, Akşit F, Özgüneş I, Kiremitçi A, Usluer G.** In vitro tigecycline and carbapenem susceptibilities of clinical *Acinetobacter baumannii* isolates. *Mikrobiyol Bul*, **2010**; 44(4):641-645
- 128.Çıkman A, Parlak M, Gültepe B, Güdücüoğlu H, Berktaş M.** Hastane Kökenli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Tigesiklin Duyarlılığının E-Test Yöntemiyle Araştırılması. *ANKEM Derg*, **2011**; 25(2):79-83
- 129.Gur D, Hascelik G, Aydın N, Telli M, Gültekin M, Ogünç D, Arikan OA, Uysal S, Yaman A, Kibar F, Gülay Z, Sumerkan B, Esel D, Kayacan CB, Aktas Z, Soyletir G, Altinkanat G, Durupinar B, Darka O, Akgün Y, Yayla B, Gedikoglu S, Sinirtas M, Berktaş M, Yaman G.** Antimicrobial resistance in gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007. *J Chemother*, **2009**;21(4):383-389.
- 130.Ertek M, Müezzinoğlu İA, Kurtoğlu D, Aranacı T, Aşçıoğlu S, Şardan YÇ.** Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı (UHESA) Raporu Özet Veri, 2008-2009. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ve Kontrol Birimi, **2010**

- 131. Ertek M, Müezzinoğlu İA, Kurtoğlu D, Aranacı T, Aşcıoğlu S, Şardan YÇ.** Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı (UHESA) Raporu Özet Veri, 2010. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ve Kontrol Birimi, **2011**
- 132. Ikeda F, Amano A, Iyoda T, Matsuzaki K, Hasegawa M, Saika T, Kanayama A, Kobayashi I.** Antimicrobial susceptibility profile of *Acinetobacter baumannii* complex isolates in Japan. *Kansenshogaku Zasshi*, **2011**; 85(5):501-507.
- 133. Lee K, Yong D, Jeong SH, Chong Y.** Multidrug-resistant *Acinetobacter* spp.: increasingly problematic nosocomial pathogens. *Yonsei Med J*, **2011**; 52(6):879-891.
- 134. Jaggi N, Sissodia P, Sharma L.** *Acinetobacter baumannii* isolates in a tertiary care hospital: Antimicrobial resistance and clinical significance. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, **2012**; 2 (2): 57-63.
- 135. Kiratisin P, Chongthaleong A, Tan TY, Lagamayo E, Roberts S, Garcia J, Davies T.** Comparative in vitro activity of carbapenems against major Gram-negative pathogens: results of Asia-Pacific surveillance from the COMPACT II study. *Int J Antimicrob Agents*, **2012**; 39(4):311-316.
- 136. Vahdani P, Yaghoubi T, Aminzadeh Z.** Hospital acquired antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in a 400-bed hospital in Tehran, Iran. *Int J Prev Med*, **2011**; 2(3):127-130.
- 137. Fernández-Canigia L, Dowzicky MJ.** Susceptibility of important Gram-negative pathogens to tigecycline and other antibiotics in Latin America between 2004 and 2010. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, **2012**; 11:29
- 138. Reddy T, Chopra T, Marchaim D, Pogue JM, Alangaden G, Salimnia H, Boikov D, Navon-Venezia S, Akins R, Selman P, Dhar S, Kaye KS** Trends in antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* isolates from a metropolitan Detroit health system. *Antimicrob Agents Chemother*, **2010**; 54(5):2235-2238
- 139. Gales AC, Jones RN, Sader HS.** Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54 731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). *Clin Microbiol Infect*, **2006**; 12(4):315-321.
- 140. Souli M, Galani I, Giamarellou H.** Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. *Euro Surveill*, **2008**; 13(47)
- 141. Maraki S, Mavros MN, Kofteridis DP, Samonis G, Falagas ME.** Epidemiology and antimicrobial sensitivities of 536 multi-drug-resistant gram-negative bacilli isolated from patients treated on surgical wards. *Surg Infect (Larchmt)*, **2012**; 13(5):326-331.
- 142. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA.** Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, **2007**; 51(10):3471-3484.

- 143. Walther-Rasmussen J, Høiby N.** OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*, **2006**; 57(3):373-383
- 144. Gan HM, Lean SS, Suhaili Z, Thong KL, Yeo CC.** Genome sequence of *Acinetobacter baumannii* AC12, a polymyxin-resistant strain isolated from Terengganu, Malaysia. *J Bacteriol*, **2012**; 194(21):5979-5980.
- 145. Bou G, Cerveró G, Domínguez MA, Quereda C, Martínez-Beltrán J.** PCR-based DNA fingerprinting (REP-PCR, AP-PCR) and pulsed-field gel electrophoresis characterization of a nosocomial outbreak caused by imipenem- and meropenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect*, **2000**; 6(12):635-643.
- 146. Ross TL, Merz WG, Farkosh M, Carroll KC.** Comparison of an automated repetitive sequence-based PCR microbial typing system to pulsed-field gel electrophoresis for analysis of outbreaks of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, **2005**; 43(11):5642-5647.
- 147. Fontana C, Favaro M, Minelli S, Bossa MC, Testore GP, Leonardis F, Natoli S, Favalli C.** *Acinetobacter baumannii* in intensive care unit: novel system to study clonal relationship among the isolates. *BMC Infect Dis*, **2008**; 8:79.
- 148. Fluit AC, Terlingen AM, Andriessen L, Ikawaty R, van Mansfeld R, Top J, Cohen Stuart JW, Leverstein-van Hall MA, Boel CH.** Evaluation of the DiversiLab system for detection of hospital outbreaks of infections by different bacterial species *J Clin Microbiol*, **2010**; 48(11):3979-3989.
- 149. Grisold AJ, Zarfel G, Strenger V, Feierl G, Leitner E, Masoud L, Hoenigl M, Raggam RB, Dosch V, Marth E.** Use of automated repetitive-sequence based PCR for rapid laboratory confirmation of nosocomial outbreaks. *J Infect*, **2010**; 60(1):44-51
- 150. Wybo I, Blommaert L, De Beer T, Soetens O, De Regt J, Lacor P, Piérard D, Lauwers S.** Outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a Belgian university hospital after transfer of patients from Greece. *J Hosp Infect*, **2007**; 67(4):374-380.
- 151. Wang H, Guo P, Sun H, Wang H, Yang Q, Chen M, Xu Y, Zhu Y.** Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*, **2007**; 51(11):4022-4028.
- 152. Çalışkan A.** *Acinetobacter* 'lerde direnç ve klonal ilişkisinin araştırılması. Uzmanlık tezi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Malatya, **2008**
- 153. Karagöl Ç.** Hastane kökenli *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları ve imipenem dirençli izolatların genotiplenmesi. Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Edirne, **2008**

## ÖZGEÇMİŞ

01.09.1985 tarihinde Isparta ilinin Sütçüler ilçesinde doğdu. Liseyi 2004 yılında Isparta Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2004 yılında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünde lisans eğitime başladı ve 2009 yılında mezun oldu. 2010 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitime başladı.

Halen Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrencisi olarak öğrenimine devam etmektedir.