



T.C.

SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ'NDE
YATAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN *ACINETOBACTER
BAUMANNII* İZOLATLARININ KLONAL İLİŞKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

SEHER DURUKAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

SIVAS 2019

T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ'NDE
YATAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN ACINETOBACTER
BAUMANNII İZOLATLARININ KLONAL İLİŞKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

SEHER DURUKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
DOÇ. DR. CEM ÇELİK

SİVAS-2019

“Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi’nde Yatan Hastalardan İzole Edilen *Acinetobacter Baumannii* İzolatlarının Klonal İlişkilerinin Değerlendirilmesi” adlı yüksek lisans tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof.Dr.Ömer POYRAZ

Üye

Prof.Dr.Mustafa YILMAZ

Üye(Danışman)

Doç.Dr.Cem ÇELİK

ONAY

Bu tez çalışması, 21.06.2019 Tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ



Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır. Bu tez çalışması Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından desteklenmiştir. (Proje No: T-784)

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Cem ÇELİK'e, çalışmamızın moleküler aşamalarında emeğini esirgemeyen Murat GÜLER'e, tüm bölüm hocalarıma, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmalarına başladığım sırada, kanserden kaybettiğim ve çok özlediğim canım babama, çalışmalarım boyunca manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan anneme, eşime ve tümaileme, oğlum Giray Kaan'a sonsuz teşekkür ederim.



ÖZET

SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ'NDE YATAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN *ACINETOBACTER BAUMANNII* İZOLATLARININ KLONAL İLİŞKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Seher DURUKAN

Yüksek Lisans Tezi

Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Cem ÇELİK

2019, 119 sayfa

Hastanede yatan hastaların kolonizasyon ve enfeksiyonunda *Acinetobacter* türlerinin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Özellikle *Acinetobacter baumannii* hastane ortamında ve genellikle yoğun bakım ünitelerinde mortalite ve morbidite artışına sebep olan, hastane kökenli enfeksiyonların en önemli nedenlerindedir. Gram negatif, non-fermentatif, oksidaz negatif, aerobik kokobasil özellikte olan *Acinetobacter baumannii*, bakteriyemi, pnömoni, idrar yolu enfeksiyonu, yara enfeksiyonu ve menenjit gibi çeşitli fırsatçı enfeksiyonlardan izole edilmektedir. Günümüzde nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* nedeniyle oluşan enfeksiyonlarındaki en önemli problem, mevcut tüm antibiyotiklere direnç suşlarının bulunması ve bu direnç oranlarının giderek artış eğiliminde olmasıdır.

Bu çalışmada Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi'nde Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 2012-2018 tarihleri içerisinde hastanenin farklı servis ve yoğun bakımlarından gönderilen ve kültürlerinde *Acinetobacter* üreyen 179 hastaya ait çeşitli klinik örnekten elde edilen izolatların, klonal ilişkilerinin ve antimikrobiyallere direnç durumlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya dâhil edilen *A. baumannii* izolatlarının tanımlanması, Mikrobiyoloji laboratuvarınca Microflex LT MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Almanya) cihazı kullanılarak matris ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ionizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi yöntemi ile yapılmıştır. Tanımlanan suşların antimikrobiyal duyarlılık testleri ise Phoenix 100® (Becton Dickinson, ABD) cihazı kullanılarak, Gram negatif test panelleri (NMIC/ID-82® ve UNMIC/ID-83®, Becton Dickinson, ABD) kullanılarak Mikrobiyoloji laboratuvarında yapılmıştır. Bu sonuçlar

laboratuvar veri kayıt sisteminden geriye dönük olarak elde edilmiştir. *Acinetobacter* izolatlarının klonal ilişkisi ve epidemiyolojik tiplendirmeleri ise repetitive extragenic palindromic (REP)-PCR yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

Çalışmada kullanılan antimikrobiyal ajanlar trimetoprim/sülfametaksazol, amikasin, gentamisin, imipenem, meropenem, siprofloksasin, sefepim ve kolistin antibiyotikleridir. 2012-2018 yılları içerisinde direnç durumlarını değerlendirdiğimizde Kolistin için % 4.4, Trimetoprim-sülfametoksazol için %88.2, Amikasin için %88.8, Gentamisin için %97.7, Sefepim için %98.3 ve İmipenem, Meropenem ve Siprofloksasin için ise %100 direnç oranları tespit edilmiştir. 179 *A.baumannii* izolatından, kalite ve kantite tayinleri uygun olduğu görülen toplam 132 DNA örneği rep-PZR uygulamaları için seçilmiş, bunlar içerisinde *A. baumannii*'ye ait 24 Cluster (Küme) tespit edilmiştir. Gruplar içerisinde Cluster 8, Cluster 15 ve Cluster 24 baskın gruplar olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda klonal ilişkileri değerlendirilen ve çoklu ilaç direncine sahip *A. baumannii* izolatlarının hastanemizde de yaygın olarak görüldüğü tespit edilmiştir. Bu bakterinin sahip olduğu direnç profillerine ve klonal ilişkilerine yönelik olarak ettiğimiz verilerin Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi'nde ileriye yönelik araştırmalar ve enfeksiyon tedavi yöntemleri açısından faydalı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca hastanemizde bu çalışmanın devamı olarak direnç mekanizmalarının araştırılması, hastalara yönelik risk faktörlerinin belirlenmesi ve epidemiyolojik verilerin daha kapsamlı bir şekilde ortaya konmasının da mortalite ve morbiditeyi azaltması açısından yararlı olacağını düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler:Sivas, *A. baumannii*, Hastane Enfeksiyonu, Antibiyotik Direnci, Klonal İlişki

ABSTRACT

EVALUATION OF CLINICAL RELATIONSHIPS OF THE ACINETOBACTER BAUMANNI ISOLATES ISOLATED FROM INPATIENTS IN SIVAS CUMHURİYET UNIVERSITY HOSPITAL

Seher DURUKAN

Master Thesis

Department of Medical Microbiology

Advisor: Doç. Dr. Cem ÇELİK

2019, 119 pages

Acinetobacter species are known to play an important role in colonization and infection of hospitalized patients. Especially, *Acinetobacter baumannii* is one of the most important causes of hospital-acquired infections that cause increased mortality and morbidity in the hospital environment and usually in intensive care units. *Acinetobacter baumannii* which has the feature of gram negative, non-fermentative, oxidase negative, aerobic cocobasil is isolated from various opportunistic infections such as bacteremia, pneumonia, urinary tract infection, wound infection and meningitis. Today, the most important problem in infections caused by nosocomial *Acinetobacter baumannii* is the presence of resistance strains to all available antibiotics and the increasing tendency of these resistance rates.

In this study, in Sivas Cumhuriyet University Hospital, evaluation of clonal relations and resistance to antimicrobials of the isolates sent to the Microbiology Laboratory between 2012 and 2018 from different service and intensive care units of the hospital and obtained from various clinical samples belonging to 179 patients who produce *Acinetobacter* in their cultures is aimed.

Identification of *A. baumannii* isolates included in the study, a matrix-assisted laser using the device Microflex LT MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Germany) by Microbiology Laboratory was made by desorption / ionization flight time mass spectrometry method. Antimicrobial susceptibility testing of identified strains using the device of Phoenix 100® (Becton Dickinson, USA) and using Gram negative test panels (NMIC / ID-82® and UNMIC / ID-83®, Becton Dickinson, USA) was made in Microbiology Laboratory. These results were obtained retrospectively from

laboratory data recording system. The clonal relationship and epidemiological typing of *Acinetobacter* isolates were performed using the repetitive extragenic palindromic (REP) -PCR method.

Antimicrobial agents used in the study are trimethoprim / sulfamethoxazole, amikacin, gentamicin, imipenem, meropenem, ciprofloxacin, cefepime and colistin antibiotics. When we evaluate the resistance status in 2012-2018, the rates of resistance were determined 4.4% for colistin, 88.2% for trimethoprim-sulfamethoxazole, 88.8% for Amikacin, 97.7% for Gentamicin, 98.3% for Cefepime and 100% for Imipenem, Meropenem and Ciprofloxacin. A total of 132 DNA samples from *A. baumannii* isolate, which were found to be suitable for quality and quantification, were selected for rep-PCR applications and 24 clusters belonging to *A. baumannii* were identified . Cluster 8, Cluster 15 and Cluster 24 were determined as predominant groups in these groups.

In conclusion, in our study, *A. baumannii* isolates evaluated clonal relationships and with multiple drug resistance were found commonly in our hospital. It is thought that the data obtained for the resistance profiles and clonal relationships of this bacterium may be useful for future research and infection treatment methods at Sivas Cumhuriyet University Hospital. In addition, we believe that investigating mechanisms of resistance as a continuation of this study in our hospital, determining risk factors for patients and revealing epidemiological data more extensively will reduce mortality and morbidity.

Keywords: Sivas, *A. baumannii*, Hospital Infection, Antibiotic Resistance, Clonal Relationship

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
GRAFİKLER DİZİNİ.....	xiv
RESİMLER DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1 Problemin Tanımı ve Önemi	1
1.2. Araştırmanın Amacı	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hastane Enfeksiyonları	3
2.1.1. Hastane Enfeksiyonlarının Tanımı	3
2.1.2. Hastane Enfeksiyonlarının Seyri ve Önemi	3
2.1.3. Sık Görülen Enfeksiyonlar ve Nedenleri	5
2.1.4. Yoğun Bakım Ünitelerinde Hastane Enfeksiyonu	7
2.2. <i>Acinetobacterbaumannii</i>	11
2.2.1. Genel Özellikleri	11
2.2.3. Epidemiyolojisi	12
2.2.4. Taksonomisi ve Türler	13
2.2.5. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri	15
2.2.6. Virülans Faktörleri.....	18
2.3. <i>Acinetobacter</i> 'lerin İdentifikasyonunda Kullanılan Testler	19
2.3.1. MacConkey Agarda Ürememe Özelliği	19
2.3.2. Glukoz Kullanımı	19
2.3.3. Pozitif Sitokrom Oksidaz Reaksiyonu.....	19
2.3.4. Hareket.....	20

2.3.5. Pigment Üretimi	20
2.3.6. Nitrat Redüksiyonu	20
2.3.7. Nitrat ve Nitritin Denitrifikasyonu	21
2.3.8. İndol Üretimi	21
2.3.9. Dekarboksilasyon	21
3. BAKTERİLERDE ANTİBİYOTİK DİRENÇ	22
3.1. Antibiyotik Direnç Nedenleri	22
3.1.1. Doğal Direnç	22
3.1.2. Kazanılmış Direnç	22
3.1.3. Çevre ve Koşullara Bağlı Direnç	22
4. ACİNETOBACTER'LERDE ANTİBİYOTİK DİRENCİ	24
5. MOLEKÜLER YÖNTEMLER	28
5.1. Mikrobiyolojide kullanılan hızlı tanı yöntemleri	28
5.2. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)	28
5.2.1. Amplifikasyonda Kullanılan Bazlı Yöntemler ve PZR Çeşitleri	33
5.2.2. Tekrarlayan Ekstragenik Elementlerin PZR ile Amplifikasyonu (Repetitive PZR yani REP-PZR)	33
5.2.3. RFLP-PZR	34
5.2.4. PZR-Ribotipleme	35
5.3. MALDI-TOF (Matriks Assisted Laser Desorption/ Matriks Destekli Lazer Desorpsiyonu)	35
5.4. Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)	35
5.4.1. PFGE Kullanım Alanları	36
5.4.2. Sonuçların Analizi ve Yorumlanması	38
6. MATERYAL VE METOD	41
6.1. Sarf Malzemeleri	41
6.2. Besiyerleri	41
6.3. Kimyasal Malzemeler	42
6.4. Araçlar	42
6.5. Yöntem	43
6.6. İdentifikasyon ve Kültür	44
6.7. DNA İzolasyonu	44

6.8. Rep-PZR Uygulamaları.....	45
7. BULGULAR.....	48
8. TARTIŞMA.....	68
9. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	82
KAYNAKLAR.....	84
ÖZGEÇMİŞ.....	102



TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Anestezi-Reanimasyon ve Nöroloji YBÜ' nde Gelişen Nozokomiyal Enfeksiyonların Değerlendirilmesi	10
Tablo 2. <i>Acinetobacter</i> türleri ve suş tipleri.....	14
Tablo 3. <i>Acinetobacter</i> kökenlerinin antibiyotik duyarlılık oranları	24
Tablo 4. <i>A. baumannii</i> direnç mekanizmaları	27
Tablo 5. Polimeraz zincir reaksiyonunun avantaj ve dezavantajları	32
Tablo 6. PFGE'de kullanılan yöntemler ve enzimler	36
Tablo 7. Kanlı agar besiyeri içeriği.	41
Tablo 8. Eosin Metilen Blue (EMB) agar besiyeri içeriği.	42
Tablo 9. Kullanılan primerlere ait diziler ve özellikleri.	45
Tablo 10. PZR reaksiyon hacminin içeriği. (50 µl için).....	46
Tablo 11. 2012-2018 yılları içerisinde izole edilen <i>Acinetobacterbaumannii</i> izolatlarının Antibiyotik Direnç Oranları.	48
Tablo 12. Jel-1 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.....	49
Tablo 13. Jel-2 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.....	50
Tablo 14. Jel-3 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.....	51
Tablo 15. Jel-4 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.....	52
Tablo 16. Jel-5 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.....	53
Tablo 17. Jel-6 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.....	54
Tablo 18. Jel-7 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.....	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Tüm örneklerin dendogram analizi.	56
Şekil 2. % 95 benzerlik oranına göre oluşan gruplara ait UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Meandendogramı-Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup Yöntemi) % 100 benzer olanlar tek bir dalda toplanmıştır.....	57
Şekil 3. % 95 benzerlik oranına göre oluşan gruplara ait UPGMA dendogramı, temsili tüm grupların gösterimi.	58
Şekil 4. % 95 benzerlik oranına göre oluşan gruplara ait UPGMA dendogramı, suşlar ile gösterimi.	59
Şekil 5. % 95 benzerlik oranına göre oluşan gruplara ait UPGMA dendogramı, yıllar ile gösterimi.....	61
Şekil 6. % 95 benzerlik oranına göre oluşan gruplara ait UPGMA dendogramı, doku ile gösterimi.	63
Şekil 7. % 95 benzerlik oranına göre oluşan gruplara ait UPGMA dendogramı, klinikgösterimi.....	65

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa No

Grafik 1. % 95 benzerlik oranına göre oluşan grupların grafiği.....	60
Grafik 2. Grupların yıllara göre dağılımı.....	62
Grafik 3. Grupların alınan numune örnek tiplerine göre dağılımı.....	64
Grafik 4. Grupların kliniklere göre dağılımı.....	65
Grafik 5. Grupların antibiyotik duyarlılığına göre dağılımı.....	67



RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Resim 1. <i>Acinetobacter baumannii</i> , Science Source	11
Resim 2.a. Besiyerine ekimi yapılan <i>Acinetobacter baumannii</i> kolonileri	12
Resim 2.b <i>Acinetobacter baumannii</i> 'nin mikroskopik görüntüsü.....	12
Resim 3. <i>Acinetobacter</i> sp. mikroskop görüntüsü ve genel özellikleri.....	13
Resim 4. OXA-karbapenemaz enzimini şifreleyen genlerin multipleks PZR ile gösterimi.....	27
Resim 5. <i>Acinetobacter</i> 'e ait PFGE görüntüsü.....	37
Resim 6. <i>A. baumannii</i> enfeksiyonu etkenlerinin “pulse-field gel electrophoresis” görüntüsü.....	38
Resim 7. PFGE yönteminde jel görünümü.....	39
Resim 8. Jel-1 görüntüsü.....	49
Resim 9. Jel-2 görüntüsü.....	50
Resim 10. Jel-3 görüntüsü.....	51
Resim 11. Jel-4 görüntüsü.....	52
Resim 12. Jel-5 görüntüsü.....	53
Resim 13. Jel-6 görüntüsü.....	54
Resim 14. Jel-7 görüntüsü.....	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

<i>A.baumannii</i>	<i>Acinetobacterbaumannii</i>
AK	Amikasin
CAZ	Seftazidim
CES	Sefaperazon-sulbaktam
CIP	Siprofloksasin
ÇİD	Çoklu ilaç direnci
dk	Dakika
EDTA	Etilendiamintetraasetat
GN	Gentamisin
g	Gram
IMP	İmipenem
COL	Kolistin
LMA	Low melting agarose (Düşük erime ısılı agaroz)
MEM	Meropenem
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MİK	Minimal inhibitör konsantrasyon
nm	Nanometre
OXA	Okzasilinaz
TPZ	Piperasilin-tazobaktam
pH	Asitlik veya bazlık derecesi
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PFGE	Pulsed Field Gel Electrophoresis
rpm	Rotation per minute (dakikadaki devir sayısı)
sn	Saniye
SAM	Sulbaktam- Ampisilin
SF	Serum fizyolojik
TE	Tetrasiklin
UV	Ultraviyole

ÜK	Üriner kateter
ÜSE	Üriner sistemenfeksiyonu
ÜSYE	Üst solunum yolu enfeksiyonu
V/cm	Volt/santimetre
VIP	Ventilatör ilişkili pnömoni
YBÜ	Yoğun bakım ünitesi



1. GİRİŞ

1.1 Problemin Tanımı ve Önemi

Sağlık alanındaki gelişmelere rağmen, günümüzde hastane ortamında gelişen enfeksiyonlar tüm dünya ülkelerini etkileyen ve giderek artan oranlarda tespit edilen bir medikal problem olarak göze çarpmaktadır[1-3]. Hem morbidite hem de mortalite açısından yüksek oranlara sahip olan hastane enfeksiyonları, toplumda gelişen enfeksiyonlarla karşılaştırıldığında daha yaygın ve risk grubu yüksek bir sorun olarak değerlendirilmektedir. Sağlık kuruluşlarının mevcut nozokomiyal enfeksiyon oranları, hastaların bakım kalitesini ifade eden en önemli kriterlerden biridir[3-4].

Hastanede yatan hastaların kolonizasyon ve enfeksiyonunda *Acinetobacter* türlerinin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir[5,6]. Bu patojen mikroorganizmaların ve hastane ortamının nozokomiyal enfeksiyonlar için önemli bir risk faktörü olmasının sebepleri arasında travma, mekanik ventilasyon ve cerrahi işlemlerin gerçekleştirilmesi gösterilebilir. *Acinetobacter baumannii*, yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere hastalık ve ölüm oranını arttıran, hastane kökenli enfeksiyonların en önemli nedenlerindedir[1,6]. Özellikle bakteriyemi, pnömoni, yara enfeksiyonu, idrar yolu enfeksiyonu ve menenjit gibi önemli enfeksiyonlardan izole edilebilmektedir [7-9].

Acinetobacter baumannii enfeksiyonlarının nozokomiyal yönden önemli kılan en önemli sorun, tüm antibiyotiklere direnç geliştirebilen suşların bulunması ve antibiyotik direnç oranlarının giderek artış eğiliminde olmasıdır[5,7]. Yapılan antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda elde edilen çoklu ilaç direncine sahip suşların genotiplendirme yöntemleri ile klonal karşılaştırma yapılması oldukça önemlidir. Bu sayede yapılan araştırmaların enfeksiyon tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi açısından yarar sağlayacaktır[1,10,11].

1.2. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmada Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi yoğun bakım üniteleri ve çeşitli servislerinde yatan hastalardan

izole edilen *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik direnç profillerinin ve klonal ilişkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi'nde 2012-2018 yılları içerisinde Yoğun Bakım Üniteleri (YBÜ) ve çeşitli servislerde yatarak tedavi gören hastaların Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli örneklerinden izole edilen *Acinetobacter baumannii* izolatları çalışmada değerlendirilmiştir. Klinik örneklerde üreyen *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıkları otomatize sistem ile Epicenter veri analiz sisteminden geriye dönük olarak, klonal ilişkileri ise repetitive extragenic palindromic (REP)-PCR yöntemi ile çalışılarak değerlendirilmiştir.

Yapılan klonal değerlendirme sonuçlarını klinik verilerle birlikte değerlendirerek, *Acinetobacter baumannii*'nin sebep olduğu nazokomiyal enfeksiyonların epidemiyolojik olarak yorumlanmasına katkı sağlanması amaçlanmaktadır. Hastane ortamında mevcut bulunan mikroorganizmaların, dirençli izolatları incelendiğinde, gösterdikleri dağılımın klonal yönden ilişki göstermesi, enfeksiyon kontrol önlemlerinin gerekliliği açısından büyük önem taşımaktadır. Rep-PZR analizleri yapılan izolatların ortak atadan köken alan, farklı sebeplerle birbirinden ayrılmış, çok yakın ilişkili suşlar oldukları ortaya konulduğu takdirde hastanede yatan hastalar için tedavi seçenekleri ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin artırılması noktasında yapılacak çalışmalar için önemli bir veri sağlaması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hastane Enfeksiyonları

2.1.1. Hastane Enfeksiyonlarının Tanımı

Tıptaki gelişmelerle birlikte hastane enfeksiyonları giderek artan ve tüm dünya ülkelerini ilgilendiren önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Önlenabilir enfeksiyonlar olan hastane enfeksiyonları, maliyeti ve mortalitesinin yüksek olması sebebiyle son yıllarda giderek önem kazanmıştır[1]. Bunun yanında hastane enfeksiyonları sağlık hizmetleri kalitesi açısından kritik bir rol oynamakta ve sağlık hizmetlerinden alınan sonuçların olumsuz etkilenmesine neden olmaktadır [2,3].

Hasta, hastaneye başvurduktan sonra hastane ortamında gelişen enfeksiyonlar hastane enfeksiyonu olarak adlandırılmaktadır. Hasta, hastaneye yatış yaptığı zaman henüz inkübasyon dönemi söz konusu değilse veya o enfeksiyonun belirti ve bulguları hastane ortamında ortaya çıkmışsa bu enfeksiyonlar hastane enfeksiyonu olarak değerlendirilmektedir[12]. Hastane enfeksiyonları yerine nozokomiyal enfeksiyonlar deyimini de kullanılmaktadır. Hastayı takip eden hekimin veya cerrahın enfeksiyon tanısı koyması yeterlidir [13].

2.1.2. Hastane Enfeksiyonlarının Seyri ve Önemi

Hastane enfeksiyonları çoğunlukla hasta, hastaneye yatış yaptıktan 48-72 saat içerisinde ya da taburcu olduktan sonraki 10 gün içinde oluşmaktadır. Günümüzde sağlık alanındaki gelişmelere rağmen yatan hastalarda enfeksiyonlar hem gelişmiş hem de az gelişmiş ülkelerde olmak üzere tüm dünyada giderek artmaktadır. Bu durumdan hastane çalışanları da etkilenmektedir ve böylece hastane enfeksiyonları hem hasta hem de halk sağlığı için bir yük oluşturmaktadır [12]. Hastane kaynaklı enfeksiyonlar hastalarda aşağıdaki sonuçlara neden olduğu için önemlidir;

- yaşam kalitesinin düşmesi
- hastanede yatış süresinin uzaması
- ilaç kullanımının artması

- fonksiyonel bozukluklar
- duygusal stres
- ölüm
- iş kaybına neden olması
- izolasyon ihtiyacı gerektirmesi
- ekstra laboratuvar ya da diğer tanı yöntemlerinin kullanımı.

Sıralanan bu etkenler sonucunda ekonomik yük deartmaktadır. Ayrıca hastane enfeksiyonuna neden olan mikroorganizmalar maalesef hastaneden taburcu olan hastalar, hastane çalışanları ya da ziyaretçiler yoluyla topluma da yayılabilmektedir. [2,12].

Endemik düzey, bir hastalığın, hastane ortamı ya da bir ülke gibi belirli bir alanda, beklenen görülme düzeyinde gerçekleşmesidir ve hastane enfeksiyonlarının büyük bölümü bu gruba girer. Bir hastalığın, bir alanda ve belirli bir zaman diliminde beklenenden fazla görülmesi ise salgın yani epidemik düzey olarak adlandırılır. Salgın enfeksiyonlar, belirli ortak özellikleri nedeniyle kümeleşme göstermektedir. Epidemik enfeksiyonlar hastane ortamında fazla görülmemekle birlikte yine de hastanede yaşanan en önemli medikal sorunları içinde yer almaktadır [13].

Hastanelerdeki enfeksiyon oranları hastaneler, coğrafik bölgeler ve ülkeler için de farklılık göstermektedir. Günümüzde birçok sağlık kuruluşunda, enfeksiyon kontrol komiteleri kurulmuş ve bu komitelerce enfeksiyon oranları izlenerek analiz edilmektedir [14]. Bu analiz ve değerlendirmeler sonucunda her hastane için enfeksiyon oranları belirlenerek yüksek riske sahip bölüm ve servisler tespit edilmektedir. Böylece her sağlık kuruluşu için gerekli enfeksiyon kontrol önlemleri alınmakta, sağlık çalışanları için eğitim programları düzenlenmekte ve hastanenin gereksinimine göre yeniden düzenlenmektedir. Bu doğrultuda hastane enfeksiyonları için oluşturulan kontrol önlemlerinin başarıya ulaşması için ön koşul, hastane enfeksiyonları sürveyans programlarının uygulanmasıdır. Bu programların amacı hastane enfeksiyon hızını en az düzeyde tutmak, oluşabilecek salgınları önlemek ve kontrol edebilmektir. Bu yüzden hastanelerin sürveyans uygulaması zorunludur [1,14].

2.1.3. Sık Görülen Enfeksiyonlar ve Nedenleri

Hastane enfeksiyonlarının sık görüldüğü alanlardaki bazı enfeksiyon çeşitleri şöyle sıralanabilir; [13].

- Üriner sistem enfeksiyonları,
- Cerrahi bölümenfeksiyonları,
- Pnömoni,
- Kan dolaşım enfeksiyonları,
- Eklem ve kemik enfeksiyonları,
- Santral sistem enfeksiyonları,
- Kardiyovasküler sistem enfeksiyonları,
- Boğaz ve ağız enfeksiyonları,
- Göz, kulak ve burun enfeksiyonları,
- Gastrointestinal sistem enfeksiyonları,
- Genital sistem enfeksiyonları,
- Sistemik enfeksiyonlar [13].

Hastanede yatan hastaların kolonizasyon ve enfeksiyonunda *Acinetobacter* türlerinin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu kolonizasyonda travma, cerrahi işlemler ve mekanik ventilasyon gibi sebepler bu mikroorganizma için nozokomiyal enfeksiyonlarda önemli risk faktörleri olarak değerlendirilmektedir [5].

Yurtdışında 75 ülkenin katıldığı EPIC II çalışmasında hastane enfeksiyonları sıralaması solunum yolu enfeksiyonları, kan dolaşım enfeksiyonları ve üriner sistem enfeksiyonu (ÜSE) olarak bildirilmiştir. Hastane enfeksiyonları üzerine ülkemizde yapılan araştırmalarda enfeksiyon sıklığı açısından en çok pnömoni, bakteriyemi ve üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYE) görüldüğü bildirilmiştir [14].

Son yıllarda Ülkemizde hastane enfeksiyonları ve risk etmenleri ile ilgili birçok çalışma yapılmaktadır. Yapılan çalışmalarda hastanelere göre farklılık göstermekle birlikte hastane enfeksiyonu oranının %3.1 ile %14.1 arasında olduğu bildirilmiştir. Hastane enfeksiyonlarının en fazla görüldüğü yerler ise yoğun bakım üniteleridir. Uygulanan invaziv girişim, kullanılan ilaçlar ve kalış süreleri hastane enfeksiyonunu etkilemektedir. Hastalar, durumları nedeni ile yoğun bakım

ünitelerinde birçok invaziv uygulamaya maruz kalmaktadır. Her bir invaziv uygulama ile enfeksiyon riski artmaktadır[15].

Hastane enfeksiyonları ülkemizde de olduğu gibi tüm dünya ülkeleri için de önemli bir problem olarak görülmektedir. 1970 yılından itibaren Türkiye'de hastane enfeksiyonlarıyla ilgili yayınlar ve bu enfeksiyonlara olan ilgi giderek artmaya başlamış ve son on yılda da oldukça hız kazanmıştır. Ülkemizde hastane enfeksiyonlarının kontrolü ile ilgili Enfeksiyon Kontrol Komitelerinin yapısına ve işleyişine yönelik ilk yasal düzenlemeler 22/05/1974 tarihli 14893 sayılı Resmi Gazete ile "Tababet Uzmanlık Yönetmeliği"nde yer almıştır. Ayrıca 13/01/1983 tarihli 17927 sayılı Resmi Gazete (değişiklik 05/05/2005 tarih ve 25806 sayılı Resmi Gazete) de yer alan "Yataklı Tedavi Kurumları İşletme Yönetmeliği" hazırlanmıştır. Ayrıca sağlık kuruluşlarınca bir enfeksiyon komitesinin kurulması, bu komitenin kimlerden oluşacağı ve çalışma alanlarına ilişkin hükümler Tababet Uzmanlık Yönetmeliği'nde yer almaktadır. Sağlık Bakanlığı bünyesinde başlatılmış olan organize çalışmaların etkin bir şekilde işbirliği içinde sürdürülmesi neticesinde hastane enfeksiyonları ile mücadelede önemli gelişmeler kaydedilecektir [12].

Nozokomiyale enfeksiyonun ilk göstergesi, genellikle klinik mikrobiyoloji laboratuvarının rutin bir kültür-identifikasyon işleminin sonucudur. Bu sebeple laboratuvar sonuçları hastanın tanı ve tedavisi ile doğrudan ilgilenen hekim kadar hastanede enfeksiyon kontrolünden sorumlu hekimi de ilgilendirir. Laboratuvar rutininde kullanılan standart işlemler genellikle bu amaç için yeterlidir, ancak nozokomiyale enfeksiyonların tesbiti, araştırılması ve önlenmesinde bazı ek işlem ve deneyime ihtiyaç duyulabilir [13,16].

2002 yılındaki verilere göre Dünya Sağlık Örgütü, hastanede yatarak tedavi gören hastaların % 10'unda hastane enfeksiyonu tespit edildiğini açıklamıştır. Toplumda hastane enfeksiyonlarının olumsuz etkilerinden bazıları, hastanede yatış süresinin uzaması, kişilere ve sağlık kuruluşlarına ek maliyet getirmesi ve ölümlere neden olmasıdır. Gelişmiş ülkelerde 2000' li yıllardan itibaren, çoklu antibiyotik direnci olan gram negatif basillerin neden olduğu hastane enfeksiyonları giderek artan oranda görülmektedir. Yapılan çalışmalarda bu enfeksiyonların % 30'dan fazlasına gram negatif mikroorganizmaların neden olduğunu ispatlanmıştır[5].

Bakterilerde dirence sebep olan genlerin son yıllarda çeşitli mekanizmalar ile bakterilerin genetik materyaline entegre olabildikleri tespit edilmiştir. Bu duruma neden olan özel site-spesifik rekombinasyon mekanizmaları ile bakteriden bakteriye direnç genlerinin aktarıldığı anlaşılmıştır. Bakterilerde bulunan ve integron adı verilen hareketli DNA elemanları izlenmiştir. Bu elemanlar isetranspozonlar veya plazmidler üzerinde yer alabilmektedirler[5].

Günümüzde enfeksiyon tedavisinde kullanılan antimikrobiyallerin çoğuna direnç gösteren *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu hastalıkların tedavisinin giderek daha da zor olacağı düşünülmektedir. Çünkü geniş spektrumlu antibiyotiklerin aşırı kullanımı tedavileri giderek zorlaştırmaktadır. Karbapenem gibi geniş spektrumlu bir beta-laktam antibiyotik grubundan olan ilaçlara direnç gelişmesi nedeniyle *Acinetobacter* enfeksiyonlarında tedavi seçenekleri giderek kısıtlanmaktadır [5,17].

2.1.4. Yoğun Bakım Ünitelerinde Hastane Enfeksiyonu

Hastane enfeksiyonlarının en fazla görüldüğü alanlar yoğun bakım üniteleridir. Yoğun bakım üniteleri, sahip olduğu özellikler açısından multidisipliner birimlerdir. Çünkü fiziksel yapısı, teknik donanımı ile gelişmiş teknolojik cihazların kullanıldığı ve profesyonel sağlık ekiplerinin çalıştırıldığı birimlerdir. Ayrıca özel bakım ve sürekli izlem gerektiren hastalar ve ileri düzeyde yardım gerektiren metabolik durumlar için hazırlanmıştır. Hastaların bu ünitelerdeki yatış süreleri, sağlık hizmetlerine daha rahat ulaşılması, tıbbi teknoloji ve imkanların gelişmesi, YBÜ sayısının ve kalitesinin artması gibi sebeplerle uzamış bulunmaktadır. YBÜ'deki yatış süreleri uzadıkça hastaya uygulanan invazif girişimler artmakta ve bunun sonucunda ise kateterle ilişkili enfeksiyon ve ventilatörle ilişkili pnömoni seviyesi de giderek yükselmektedir. YBÜ'de yatan hastalarda enfeksiyon oluşumu, tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi Türkiye'de de morbidite, mortalite ve hastane maliyeti gibi etkenlerde artışa sebep olmaktadır [18].

Kliniklerde yatan hastalarda görülen enfeksiyonların oranı %5-10 iken, YBÜ'lerinde maalesef bu oran %20-25 seviyelerine çıkmaktadır [19-21]. Hastaya

uygulanan girişimsel işlemlerin bu ünitelerde fazla olması aşağıdaki sebeplerle ilgilidir.

- Hastada başka ciddi hastalıkların bulunması.
- Bağışıklık sistemin zayıflaması.
- Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılmak zorunda kalınması.
- Hastanın, hastanede yatış sürelerinin artmış olması, bu oranın yükselmesinde etkili faktörlerdendir.

YBÜ’de görülen sağlık bakımıyla ilişkili enfeksiyonların yaklaşık yarısının ölümle sonuçlandığı bilinmektedir. Bu sebeple enfeksiyonların ortadan kaldırılmasının önemi değer kazanmaktadır [3].

Türkiye ve diğer gelişmekte olan ülkelerde en fazla görülen YBÜ enfeksiyonu etkenleri olarak *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *S. aureus*, *Klebsiella spp.* ve *E. coli* gibi mikroorganizmalar belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda çoğunlukla gram-negatif bakteriler daha sonra ise gram-pozitif bakteriler izole edilmektedir. Bu izole edilen patojenlerin arasında ise en çok sırasıyla *A. baumannii*, *S. aureus* ve *E. coli* olduğu görülmüştür. Son yıllarda yapılan araştırmalarda ise *A. baumannii*'nin ilk sırada yer alan enfeksiyon etkeni olduğu belirlenmiştir [5,19].

Enfeksiyon varlığı gerek hastalar gerekse kurumlar için birçok olumsuz sonuca neden olmaktadır. Örneğin hastanın hastanede yatış süresinin uzamasına neden olarak ilave tedaviler sonucunda maliyet artışı görülmektedir. Mevcut hastalığın seyri kötüye giderek hem morbidite hem de mortalitenin artmasına neden olmaktadır [1,22]. Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE) hastane yoğun bakım birimlerinde en çok tespit edilen enfeksiyon etkeni olduğu için üriner katater (ÜK) takılması ve hasta bakımında hijyen kurallarına uyulması noktasında daha dikkatli olunması gerekmektedir. Hastanede uygulanan her medikal girişim için izolasyon önlemlerine önem gösterilmesi, el yıkama, eldiven giyme gibi kurallara dikkat edilmelidir. YBÜ’lerinde tedavi gören hastalar uzun süre hastanede kalmak zorunda oldukları için, koruyucu amaçlı kullanılan geniş spektrumlu antibiyotik tercih edilmekte ve bunun neticesinde girişimsel işlemler daha çok uygulanmaktadır. Bunun sonucunda

özellikle YBÜ’de tedavi gören hastalarda diğer birimlere göre daha fazlavec daha dirençli enfeksiyon oranları gözlenmektedir[23].

Hastanelerde görülen bu oran hastanede yatarak tedavi almakta olan hastalarda %5-10 civarında iken YBÜ’de %20-25’lere kadar arttığı tespit edilmiştir[24,25]. Özellikle bağışıklık sistemlerinin zayıf olması sebebiyle erken yenidoğanlar, yaşlılar, akut ya da kronik hastalıkları sebebiyle tedavi görüp enfeksiyonlara eğilimi artmış hastalar, travma sonrası gözlem altında olanlar, kanser tedavisi görmüş olanlar, beslenme bozukluğu yaşayanlar ve geniş yüzeyle yanıklara sahip olan hastalarda hastane enfeksiyonlarına daha çok rastlanmaktadır. Bu hastalarda en çok saptanan enfeksiyonlar ise ÜSE, kateter enfeksiyonları, ventilatör kullanımı sonucu gelişen enfeksiyonlarve cerrahi alan enfeksiyonlarıdır [23].

Bakterilerin sahip olduğu doğal direncin yanında gram negatiflerde mutasyonlar ile oluşan antibiyotik direncide oluşabilmektedir. Bunun sonucundaözellikle gram negatif bakterilerde çoklu antibiyotik direnci (ÇİD) ortaya çıkmış ve önemi giderek artan bir sağlık sorunu haline gelmiştir[26].Geniş spektrumlu antibiyotiklerin YBÜ’lerinde giderek artan oranda kullanılması enfeksiyon oranlarını artırmaktadır. Çünkü dirençli mikroorganizmalar arasında kolonizasyon sonucufenfeksiyon oluşmakta ve bu birimlerde yatan hastalarda tedavinin zorlaşmasına sebep olmaktadır. Hatta ölüm oranının artışı söz konusudur[22,27].

Acinetobacter baumannii’nin birincil yaşam ortamı hastaneler olup, enfeksiyon ve salgınlar en çok bu sağlık kuruluşlarında görülmektedir. Hastane bünyesinde ise en fazla geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın olarak kullanıldığı ve ağır/düşkün hastaların yattığı YBÜ’lerindeortaya çıkmaktadır. Bu durum örnek tablo I’ de örneklendirilimiştir [28].Bu durum, sadece hastalarda morbidite ve mortalite artışına değil aynı zamanda salgınların oluştuğubirimlerde konvansiyonel enfeksiyon kontrollerinin yetersiz kalmasına hatta servislerin kapatılmasıyla sonuçlanan ciddi problemlere yol açmaktadır [7].

Tablo 1. Anestezi-Reanimasyon ve Nöroloji YBÜ' nde Gelişen Nozokomiyal Enfeksiyonların Değerlendirilmesi[28].

Mikroorganizma	ARYBÜ				NYBÜ			
	2005		2006		2005		2006	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Acinetobacter</i> spp.	27	20.9	50	30.1	19	21.4	31	29.8
<i>Pseudomonas</i> spp.	26	20.15	37	22.3	12	13.5	9	8.7
<i>Escherichia coli</i>	10	7.75	3	1.8	13	14.6	10	9.6
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	9.3	9	5.4	13	14.6	11	10.6
<i>Klebsiella</i> spp.	7	5.4	10	6.0	6	6.7	8	7.7
Koagülaz-negatif stafilokok	6	4.6	4	2.4	4	4.5	4	3.8
<i>Enterococcus</i> spp.	7	5.4	6	3.6	4	4.5	7	6.7
<i>Enterobacter</i> spp.	5	3.8	5	3.0	1	1.1	1	0.9
<i>Candida albicans</i>	7	5.4	8	4.8	9	10.1	3	2.9
<i>Candida</i> spp. (nonalbicans)	13	10	17	10.2	7	7.9	13	12.5
Diğerleri	9	7	17	10.2	1	1.1	7	6.7
Toplam	129	100	166	100	89	100	104	100)

ARYBÜ: Anesteziyoloji-Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi, NYBÜ: Nöroloji Yoğun Bakım Ünitesi.

Özetle YBÜ'de yatan hastaların birçok sistemik hastalıkları bulunması ve bağışıklık sistemlerinin zayıf olması sebebiyle hastane enfeksiyonlarının yayılma oranları daha yüksektir. Bunun sonucunda hastanede yatma ve enfeksiyon sonucu ölüm oranı da artmaktadır. İşte bu sebeplerden ötürü bakterilerin bulaş ve yayılımını engellemek için enfeksiyonların kontrol noktasında alınması gereken önlemlere dikkat edilmelidir. Bu amaç doğrultusunda ise devamlı yapılan kontrollerle enfeksiyon oranları belirlenmeli ve hızları değerlendirilerek başka merkezlerle karşılaştırılmalıdır [1,5,23].

Bu veriler sonucunda hastanelerin kendi bünyesinde enfeksiyon kontrol yöntemleri ve alınması gereken önlemler belirlenebilecektir. Hastane enfeksiyonlarını tanıyarak buna sebep olan mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi, tedaviyi belirleme şekline yardımcı olabileceği gibi mortalite ve morbiditeyi de azaltacağı için de önemlidir [23].

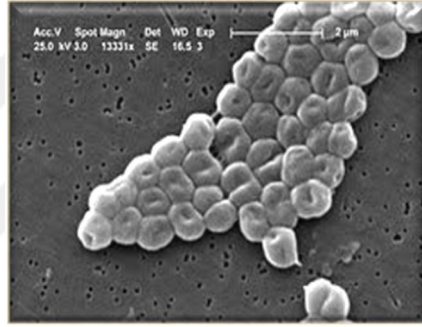
Enfeksiyon korunma önlemlerinin takibi ve bilinçli antibiyotik kullanımı hastane enfeksiyonlarının azaltılmasında önemlidir. El hijyeni, santral kateter kullanımında maksimum bariyer önlemlerinin alınması, klorheksidinle cilt temizliği, femoral kateter uygulamasının azaltılması ve endikasyonu olmayan kateterlerin

hemen çekilmesi alınacak önlemlerden bazılarıdır. Bununla birlikte ventilatör kullanımı gereken hastaların, altta yatan diğer hastalıkları da enfeksiyon riski açısından rolü göz ardı edilmemelidir [3].

2.2. *Acinetobacter baumannii*

2.2.1. Genel Özellikleri

Nonfermenter gram negatif bir bakteri olan *Acinetobacter baumannii* toprak, su gibi doğa ortamında yaygın olarak görülmesine rağmen hastane ortamından da izole edilebilmektedir. Özellikle insanda deri ve solunum yolu normal florasında bulunabilen bu mikroorganizmalar, immün sistemi baskılanmış hastalarda fırsatçı patojen olarak enfeksiyonlara sebep olurlar [29].



Resim 1. *Acinetobacter baumannii*, Science Source, Mayıs 2013

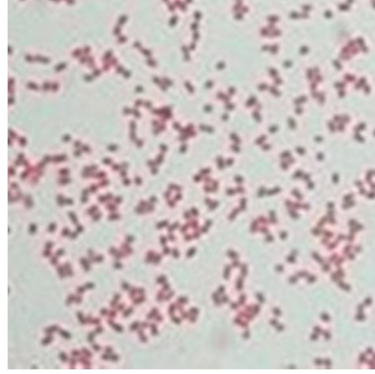
Bu enfeksiyonlar en çok YBÜ’nde yatan hastalar için bir sorun oluşturmaktadırlar. Yapılan araştırmalarda *Acinetobacter baumannii*’nin giderek artan oranlarda etkili bir fırsatçı patojen olarak enfeksiyonlara neden olduğu görülmektedir. Tedavi için kullanılan antibiyotik ve kemoterapide kullanılan ilaçların yüksek oranlarda kullanılmasının sonucunda, normal vücut florası hasar görüp bu fırsatçı patojenlerin enfeksiyon oranları da giderek artmaktadır [27,30].

Acinetobacter baumannii gibi nonfermenter Gram negatif bakterilerdeki bu durum mutasyonlar neticesinde de oluşabilmektedir. Doğal direnç dışında gelişen bu durum ile bakteriler antibiyotiklere direnç kazanabilmektedirler [29].

Resim 2.a.



Resim 2.b.



Resim 2.a. Besiyerine ekimi yapılan *Acinetobacter baumannii* kolonileri ve **Resim 2.b** *Acinetobacter baumannii*'nin mikroskopik görüntüsü [31].

2.2.3. Epidemiyolojisi

Acinetobacter'ler vücut florasında özellikle parmak araları, koltuk altı, kasıklar, gibi nemli bölgelerinden izole edilmektedir. Sağlıklı dört kişiden birinde, normal florasında *Acinetobacter*'ler tespit edilmiştir. Bunun dışında sağlıklı insanların ağız florasında ve solunum yollarında da bulunabilirler. Hastanede yatan hastalarda, sağlıklı kişilere göre taşıyıcılık daha fazladır. Sağlık kuruluşlarında tedavi gören yatan hastalarda %7-18 oranında boğaz kültürlerinde, %45 oranında ise trakeostomi sürüntü kültürlerinde *Acinetobacter* pozitif olarak tespit edilmiştir [9].

Bazı salgınlarda boğaz, cilt, solunum ve sindirim sisteminde yüksek oranda kolonizasyon gösterdikleri belirtilmiştir. Bu kolonizasyona YBÜ'lerinde mekanik ventilasyon uygulanan hastaların solunum yollarında daha çok rastlanmaktadır ve dirençli suşlar için önemli bir rezervuar olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca bu kişilerde cilt kolonizasyonu da sık gözlenmektedir. Bu nedenle sağlık personelinin el teması ile hastanede yayılabilmektedir. Bunların yanında *Acinetobacter*'in sindirim sistemindeki yayılımı daha nadir görülmektedir. Yatan hastalar ve ayakta tedavi gören hastalar karşılaştırıldığında, hastane kaynaklı enfeksiyonlarda farklılıklar görülmektedir. Bu durum yayılmanın çapraz geçişler ve hastane çevresinden de köken alabileceğini göstermektedir [32].



- Tam olarak aerobik, non-fermente
- Katalaz (+), oksidaz (-)
- Gram negatif kokobasil
- >33 genotipi mevcut

Resim 3. *Acinetobacter* sp. mikroskop görüntüsü ve genel özellikleri [33].

Nozokomiyal *Acinetobacter* enfeksiyonları farklı vücut bölgelerinde görülebildiği gibi özellikle solunum sistemi, cilt ve yaralarda yaygın olarak görülmektedir. Bu durumda deri ve solunum sisteminden ayrıştırılan mikroorganizmaların büyük kısmı enfeksiyon değil kolonizasyon olarak değerlendirilir. Son yıllarda hastalardan izole edilen *Acinetobacter* oranı gittikçe artmakta ve gelecekte hastane kökenli enfeksiyon salgınlarında daha önemli bir risk faktörü olarak karşımıza çıkacağı tahmin edilmektedir [9].

2.2.4. Taksonomisi ve Türler

Tanımlanmış 20 den fazla tür içerisinde en yaygın olarak bulunan ve klinik sorun oluşturan tür *A. baumannii*'dir [7,31].

Tablo 2. *Acinetobacter* türleri ve suş tipleri [9].

TÜR İSMİ*	ÇEŞİTLİ ARAŞTIRMACILARA GÖRE GENOMİK TÜR NUMARALARI**			SUŞ TİPİ
	Bauvet, et al	Tjernberg, et al	Nishimura, et al	
<i>A. calcoaceticus</i>	1	1	11N	ATCC 23055
<i>A. baumannii</i>	2	2	1N	CIP70.34
UN	3	3	NT	ATCC 19004
UN	UG	13TU	NT	ATCC 17903
<i>A. haemolyticus</i>	4	4	4N	ATCC 17906
<i>A. junii</i>	5	5	NT	ATCC 17908
UN	6	6	4N	ATCC 17979
<i>A. johnsonii</i>	7	7	3N	ATCC 17909
<i>A. lwoffii</i>	8	8TU	2N	ATCC 15309
UN	9	8TU	NT	ATCC 9957
UN	10	10	UG	ATCC 17924
UN	11	11	UG	ATCC 11171
<i>A. radioresistens</i>	(12)***	12	5N	IAM 13186
UN	13	14TU	NT	ATCC 17905
UN	14	NT	NT	Bauvet 382
UN	15	NT	NT	Bauvet 240
UN	16	UG	NT	ATCC 17988
UN	17	NT	NT	Bauvet 942
UN	NT	15TU	NT	Tjernberg 151a

* UN: İsimlendirilmemiş

** NT: Test edilmemiş, UG: Gruplandırılmamış

*** Yayınlanmamış sonuçlar

Acinetobacter baumannii, tüm dünyada sağlık kuruluşlarında tedavisi en zor patojenlerden biridir. Direnç genlerini yeniden düzenleme veya kazanmadaki olağanüstü yeteneği, özellikle son yıllarda, onu günümüz antibiyotik çağını tehdit eden mikroorganizmalardan biri yaparak klinik önemini artırmıştır [34,35]. Türkiye’de hastane enfeksiyonuna neden olan mikroorganizmalar içinde, gram-negatif bakteriler birinci sırada yer almaktadır. En sık görülenleri *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. Pneumoniae*, *E. coli* ve *S. aureus* bakterileridir [36, 37].

Acinetobacter cinsi içerisinde en çok izole edilen türler; *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter radioresistens*, *Acinetobacter lwoffii*, ve *Acinetobacter parvus* olmasına karşın, *Acinetobacter baumannii* insan enfeksiyonlarına neden olmasından ötürü tıbbi olarak büyük öneme sahiptir [38].

Acinetobacter baumannii farklı mekanizmaları sayesinde birçok antimikrobiyal ajana karşı direnç geliştirebilmektedir [5,39,40]. Ayrıca oluşan bu

direnç,bakterinin fenotip ve fizyolojisinde değişikliklere yol açmaktadır. Bakteride oluşan bu adaptasyon “biyolojik uyum bedeli (biological fitness cost)” olarak adlandırılmaktadır. Bu uyum bedelindeçoğunlukla üreme yeteneğinin azalma söz konusu iken, aynı zamanda antibiyotik direnci kazanan mikroorganizmanın özelliklerinin tamamının da yeterince ortaya çıkmadığı görölmektedir [41].

2.2.5. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

Tüm *Acinetobacter* türleri kesin aerop, katalaz pozitif, oksidaz negatif ve nonfermentatiftirler [9,42,43].*Acinetobacter baumannii*, saf kültür incelemeleri değerlendirildiğinde, hücre boyutları ve yerleşiminde, gram boyama yönteminde değişkenlik gözlenebilmektedir. İkili ya da küme şeklinde görülebilirler. Makroskobik değerlendirmede genelde düzgün ve bazen mukoid, soluk sarı veya yeşilimsi beyazkoloniler oluştururlar. Çevresel kökenli bazı izolatlar kahverengi pigment oluşturabilirler. Diğer nonfermentatiflere göre oksidaz testi daha kesin ve çabukayrılmalarını sağlayan testtir. *A. haemolyticus*, genomik tür 4 olarak tanımlanır vekoyun kanlı agarda hemoliz oluşturabilir. Ancak *Acinetobacter* türlerini birbirinden kesin olarak ayırabilecek metabolik bir test henüz mevcut değildir [44].

Laboratuvar ortamında en çok kullanılan besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilirler. En sık kullanılan besiyerleri Holton’s agar, Herellea agar, Leeds *Acinetobacter* Medium gibi seçici besiyerleridir. Bu besiyerleri klinik numunelerden doğrudan izolasyon sağlamak için diğer mikroorganizmaların üremelerini inhibe etmektedir.Ayrıca*Acinetobacter* salgınları söz konusu olduğunda antibiyotik ilave edilerek kullanılmasında fayda vardır. Çevre ortamlarından izole edilen kültürlerde ise az sayıda bakteri üremesi söz konusu olduğundan çoğaltıcı sıvı besiyerleri kullanılabilir. Bu besiyerleri nitrat veya amonyum tuzları içeren, pH’ı 5.5-6.0 olarak ölçülen ortamlardır.Farklı bazı türlerin 30°C’de, bazı genomik türlerin ise 37°C ya da üzerindeki sıcaklıklarda üreme özelliği gösterdikleri unutulmamalıdır [45].

Acinetobacter baumannii’nin hastane ortamında ve tıbbi cihazlarda bile zor koşullar altında yaşayabilmesi sebep olduğuenfeksiyonlarının önlenmesini ve tedavisini güçleştirmektedir. Bu durumun en önemli nedeni ise bakterinin çoklu antibiyotik direnci geliştirebilme yeteneğidir [35,46,47,48].

Enfeksiyonları yayılmasında kaynağın tesbiti son derece önemlidir. Bu tespit ise epidemik olarak suşların tiplendirilmesi ile yapılabilmektedir. *Acinetobacter* sınıfına ait türlerinin tiplendirilirken hiçbir sistem tek başına etkili olmamaktadır. Bu amaçla antibiyotik duyarlılık testleri, biyotiplendirme, serotiplendirme, protein ve plazmid profili, faj tiplendirme, bakteriyosin tiplendirme, multilokus enzim elektroforetik tiplendirme ve pulsed field jel elektroforez analizi (PFGE), ribotiplendirme ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gibi farklı sistemler kullanılmaktadır [1].

Koyun kanlı agarda hemoliz oluşturma özelliği, glukoz asidifikasyon ve tiplendirmelerinin genotipik yöntemlerle uyum sağlama yeteneği yüksektir. Karbon asimilasyon testlerine dayanan ve API 20 NE (BioMerieux) adı verilen sistem ülkemizde de en sık kullanılan veri tabanıdır. Bu sistem *Acinetobacter* grubuna ait türlerin bir çoğunun genomik türlerini kapsayan özelliktedir. Bu türler arasındaki genetik benzerliğin fazla olması nedeniyle bu sistem yeterince hassas kabul edilmemektedir. Kullanılan identifikasyon yöntemleri tamamen güvenilir olmadığından klinik olarak mikrobiyoloji laboratuvarlarında sorun olarak değerlendirilirler [49].

Bazı klonlarında ÇİD bulunan, *Acinetobacter baumannii* yapılan uluslararası değerlendirmelerde, bu direnç özelliğinin dünya genelinde yaygınlaşmasına neden olduğu bildirilmiştir [29,49,50]. Ayrıca *A.baumannii*'nin, alkol bağımlılığı tedavisi gören hastalarda toplum için önemli bir enfeksiyon kaynağı olarak özellikle pnömoni, kronik diyaliz hastalarında ise peritonit gibi enfeksiyonlara neden olduğu görülmektedir [51].

Acinetobacter baumannii sadece YBÜ'de değil bağışıklık sistemi baskılanmış tüm hastalarda ciddi hastane enfeksiyonlarına neden olabilmektedir [5,52,53]. *Acinetobacter* türleri özellikle pnömoni, septisemi, cilt, yara ve üriner sistem enfeksiyonları, endokardit ve menenjit gibi çeşitli enfeksiyonlardan izole edilebilmektedirler [7,54]. Bu duruma neden olarak uzun süre yoğun bakımda tedavi görme, uzun süreli antibiyotik kullanımı, mekanik ventilatöre bağlı kalma, damar içi kateterizasyon, idrar sondası kullanımı, endotrakeal tüp, trakeostomi, enteral beslenme ve birimde infekte veya kolonize hasta sayısının fazla olması gibi enfeksiyon için önemli risk faktörleri örnek gösterilebilir. *Acinetobacter baumannii*

türleri sadece antibiyotiklere karşı oluşturdukları direnç geliştirebilme özelliğiyle değil, aynı zamanda hastane ortamında uzun süre canlı kalabilme özellikleri sayesinde de kolaylıkla kolonize olabilmekte ve hem hastalar hem de hastane çalışanlarının kullandıkları hastane ekipmanlarıyla çevreye yayılarak epidemilere sebep olmaktadır[55,56].

Yaklaşık 50 yıl kadar önce *Acinetobacter* türleri, önemli bir nozokomiyal patojen olarak tanınmaya başlanmıştır. O zamanlar birçok türünün sahip olduğu antibiyotik duyarlığı, enfeksiyonların kolayca tedavi edilmesine olanak sağlayabilmiştir. Fakat son yıllarda izole edilen klinik suşlarda, ÇİD geliştirenlerin giderek artması sonucu, *Acinetobacter* türlerinin “yeniden önem kazanan enfeksiyon etkenleri” arasında en üst sırada yer almasına sebep olmuştur. Ekolojik yönden *A. baumannii*'nin birincil yaşam alanı hastanelerdir ve salgın enfeksiyonların genelde ağır/düşkün hastaların bulunduğu YBÜ'nde ortaya çıkmaktadır [7,55,57].

Yapılan birçok çalışmada izole edilen XDR suşlarının çoğu *Acinetobacter baumannii* olarak tespit edilmektedir [47,58]. *Acinetobacter baumannii*'nin sebep olduğu, ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) için de mortalite oranının yüksek olduğu birçok yayında yer almaktadır. Mekanik ventilatörle takip edilen hastalarda VİP oluşumuna sık rastlanmaktadır. *Acinetobacter baumannii* üreyen bazı hastalarda da VİP geliştiği görülmüştür [59].

A. baumannii sadece geniş spektrumlu antibiyotiklere değil kuru ortamlara ve dezenfektanlara karşı da direnç geliştirmiştir [37,60,61]. Bu olağan dışı direnç kabiliyeti, enfeksiyon ile mücadeleyi de olumsuz etkilemektedir. Bakterinin virülans faktörlerinin belirlenmesinin yanında enfeksiyonların hem moleküler hem de hücresel mekanizmalarının aydınlatılması önemlidir. Çünkü, bakterinin çevreye yayılmasının engellenmesi ve kontrol altına alınması tedavi protokollerinin geliştirilebilmesi yönüyle önem teşkil etmektedir. Bu yüzden, *A. baumannii*'nin temel fizyolojik yapıları, yapışma, biyofilm oluşturma ya da demir kazanım mekanizmaları amaçlanarak bakteri ile mücadele ve enfeksiyon kontrolünde başarı yüzdesi artırılabilir [7].

Yapılan çalışmalarda *A. baumannii*, *Pseudomonas spp.* ve *K. pneumoniae* en fazla izole edilen enfeksiyon etkeni olarak görülmekte ve ÇİD'ne sahip oldukları bilinmektedir. YBÜ'lerinde hastane kaynaklı pnömoniye neden olan mikroorganizmaları ve antibiyotik direnç oranlarını belirlemek, hastalığın tedavisinde önemli bir unsurdur[5,62]. Enfeksiyon belirtilerinin geç açığa çıkması hastanede yatış süresinin uzamasında etkilidir. *A.baumannii* en çok rastlanan mikroorganizma olarak tespit edilmiş olup kolistin tedavide en sık tercih edilen antibiyotik olduğu belirlenmiştir[2,39,63].Vücuda yerleşen bakterilerin zamanla enfeksiyon etkenine dönüşebileceği göz önünde tutulmalı ve bu hastalar takip edilmelidir [1,39].

Hastane enfeksiyonlarının belirteç olarak değerlendirilmesi konusunda enfeksiyonları tespit etme, tanımlama, sürveyans yöntemlerini belirleme ve hızların hesaplanması gerekmektedir. Ayrıca hastane enfeksiyonu oranları intrensek ve ekstrensek risk faktörleri de değerlendirilerek hesaplanmalıdır. Böylece hastanelerde bu yöntemlerle elde edilen veriler birbiriyle karşılaştırılarak hastane enfeksiyonlarının seyri ve takibi daha konforlu bir şekilde yapılacaktır [2,12].

2.2.6. Virülans Faktörleri

Acinetobacter kökenlerinin patojenitesi düşük olmasına rağmen, tanımlanan çeşitli virülans faktörleri şunlardır;

1. Polisakkarit kapsül varlığı
2. Bakterinin insan epitelyal hücrelerine adezyonunu sağlayan fimbriaların varlığı
3. Doku lipitlerine zarar veren enzimlerin üretimi
4. Hücre duvarı lipopolisakkarit içeriğinin potansiyel toksik rolü [44,64].

Bakterinin, insan vücudunda çoğalmak için gerekli demiri sağlama kabiliyeti de önemli bir virülans belirleyicisidir ve bazı *Acinetobacter* izolatlarının, aerobactin ve demir bağlayan dış membran reseptör proteinleri gibi sideroforları ürettiği gösterilmiştir[7,65].

2.3. *Acinetobacter*'lerin İdentifikasyonunda Kullanılan Testler

Nonfermenter bakteri türlerinin hangilerinin identifiye edileceği laboratuvarların amaçları ve büyüklüklerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. *Acinetobacter*'lerin identifikasyonunda kullanılan testler ve özellikleri kısaca şöyle sıralanabilir [66,67].

2.3.1. MacConkey Agarda Ürememe Özelliği

Gram negatif bir basil kanlı agarda ürüyor, MacConkeyde zayıf ürüyor ya da hiç üremiyorsa nonfermenterlerden şüphelenilebilir. Bakterinin Mac Conkeyde üreyebilme yeteneğini gözlemek için, agar plaklara ekim yapılır ve 24–48 saat inkübe edilir. Organizmalar 3 mm çapında ya da daha büyük koloniler oluşturması gözlemi kolaylaştırır. Zayıf üreyen suşlar ise ya geniş bir alana dağılmış, zayıf, tespit edilmesi zor koloniler oluşturur ya da hiç üremez [66,67].

2.3.2. Glukoz Kullanımı

Hugh ve Leifson tarafından tasarlanan OF (oksidatif fermentatif) ortamının pepton/karbonhidrat oranı 1/5 olarak alınmış ve oksidatif ürünlerin oluşumu minimize edilmiştir. Test için her bir karbonhidrat ortamından 2 tüpe ihtiyaç duyulur. İlk tüp aerob ortamda tutulurken, diğer tüpün yüzeyi eritilmiş parafin steril mineral yağ ile kapatılır. Oksidatif mikroorganizmalar sadece atmosferik oksijene maruz bırakılan tüpte asit üretirken, fermentatif organizmalar her iki tüpte asit üretir. Sonuçta nonsakkarolitik bakteriler bu ortamda etkisiz kalmakta ve inkübasyonun ardından alkali bir pH oluşmaktadır [67,68].

2.3.3. Pozitif Sitokrom Oksidaz Reaksiyonu

Bütün oksidaz pozitif, Gram negatif basiller nonfermenter değildir. Bu yüzden TSI ya da KIA ile glukoz kullanımı test edilmelidir. Nonfermenterlerin oksidaz aktivitesini test etmede %0,5 tetramethyl-p-phenylenediamine hydrochloride solüsyonu kullanılır. Bakteri kolonilerinin ürettiği agar besiyerinin yüzeyine bu solüsyondan birkaç damla damlatılabilir. Birkaç saniye içinde mavi bir renk oluşumu pozitif olarak kabul edilir. Negatif reaksiyon, daha duyarlı olan Kovac's yöntemiyle doğrulanabilir [68].

2.3.4. Hareket

Yarı-katı bir agar ortamı nonfermentatif organizmalar için kullanılırsa; ortamın sadece 4 mm altına kadar batırılarak inoküle edilir ve 4–6 saat içinde ilk okuma yapılır. Nonfermentatif basillerin çoğu türlerinin hareket tespitinde asılı-damla yöntemi daha net sonuç verebilmektedir. Bu yöntemde, 25°C’de 6–24 saatlik bir sıvı kültürde üreyen bakterilerden bir öze dolusu alınarak lam üzerine yayılır ve üzerine lamel kapatılır. Daha çok tercih edilen ve daha pratik bir yaklaşımda da 18–24 saatlik bir kanlı agar yüzeyinde üremiş kolonilerden küçük bir miktar alınır ve kuru bir lam merkezine bırakılır ve SF damlatılarak üzerine lamel kapatılır. Her iki yöntemde de 40’lık büyütmede, zayıf ışık ile organizmaların hareketi mikroskopik olarak incelenir [66,69].

2.3.5. Pigment Üretimi

Nonfermenterler birçok pigment ürettiğinden identifikasyon yöntemlerinde kullanılır. “Tech” ve “Flo” besiyerleri suda çözünen pigmentlerin oluşumunu saptamak amacıyla geliştirilmiştir. Suda çözünen pigmentler fluorescein (piyoverdin), piyosiyenin, piyorubin, melanin gibi pigmentler ise kültür ortamının rengini değiştirmektedir. Pigment üretimi aynı zamanda organizmaların jelâtin, patates ya da süt içeren ortamlarda, 25 °C de inkübe edilmesi ile de arttırılabilir. Piyoverdin “Flo” agarda UV ışığı altında floresan renk gözlenerek ya da görülebilir ve ışıkta besiyerindeki sarı pigment oluşumu gözlenerek tespit edilebilir [66,70].

2.3.6. Nitrat Redüksiyonu

Mikroorganizmaların oksidatif metabolizmanın bitiş noktasındaki son hidrojen alıcısı oksijendir. Oksijeni serbest bırakmak için kullandığı biyokimyasal bir yolun ilk basamağı nitratın nitrite redüksiyonudur. Nitrat redüksiyon testi diğer nonfermentatif organizmalara benzer şekilde yapılır. Kültürler nitrat içerikli besiyerinde gecelik inkübasyona bırakılır. Bekletilen kültüre sulfanilik asit ve α -naftilamin ilavesi yapılarak kırmızı bir renk oluşumu ile test değerlendirilir. Eğer kırmızı bir renk oluşmazsa ya nitrat redüklenmemiş demektir ya da redüksiyon nitrit basamağından daha ileriye devam etmiş ve başka bileşenlere veya nitrojen gazına dönüşmüş demektir. Ortama az miktarda eklenen çinko tozu ile kırmızı renk oluşumu

nitrat kalıntılarının varlığını gösterir. Bu da negatif bir test sonucu demektir. Testin pozitif olması ise renk değişiminin olmamasıyla anlaşılır ve nitratın nitrit dışındaki bileşenlere redüklendiğini gösterir [66,68,70].

2.3.7. Nitrat ve Nitritin Denitrifikasyonu

Bazı nonfermenter mikroorganizmalar nitratı ya da nitriti nitrojen gazına redükleyebilir. Bu test için ters çevrilmiş bir Durham tüpü ile nitrat-nitrit broth veya agar yüzeyi eğimli bir tüp kullanılabilir. Pozitif denitrifikasyon testinde besiyeri karbonhidrat içermediğinden nitrat ya da nitritli bir gaz oluşmaz. Ters çevrilmiş Durham tüpünde toplanan gaz kolaylıkla gözlenebildiğinden Broth testini yorumlamak daha kolaydır. Eğimli agarda gaz kabarcıkları genelde tüpün dip kısmında toplanır ve testin pozitif olduğunu gösterir [66].

2.3.8. İndol Üretimi

Bazı nonfermenterler zayıf tepkime verdiklerinden indol üretimi tespitinde kullanılan yöntemde küçük modifikasyonlara ve zenginleştirilmiş triptofan içerikli besiyerine ihtiyaç duyulur. Kültür ortamının yüzeyi az bir miktar ksilen ya da kloroform ile kaplanmalı ve Ehrlich ya da Kovac's ayracı eklenmelidir. Besiyeri yüzeyinde, fuşya rengi oluşumu testin pozitif olduğunu gösterir [66,70].

2.3.9. Dekarboksilasyon

Aminoasitlerin dekarboksilasyonunu tespit etmede kullanılan Moller Yöntemi pH değişikliği temeline dayanır. Besiyeri 35°C'de 24–48 saatlik inkübasyonunu takiben test ortamında alkali bir mor renk oluşumu pozitif test sonucunu göstermektedir [66,68].

3. BAKTERİLERDE ANTİBİYOTİK DİRENÇ

Bakterilerde oluşan ‘antibiyotik direnç’, antimikrobiyal ajanın üremeyi engelleyici ya da öldürücü etkisinden korunabilme yeteneği olarak tanımlanır. Gram negatif mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen direnç sorunu 1970’lerden itibaren günümüzde oldukça önemli bir sorun haline gelmiştir. İmmün sistemi zayıflamış ve YBÜ’lerinde yatan hasta sayısının ve antibiyotiklerin düzensiz kullanımının giderek artması, gıda sektöründe antibiyotik ve türevi ilaçların kullanımı gibi sebepler yüzünden mikroorganizmalarda meydana gelen antibiyotiklere direnç gün geçtikçe artmaktadır [71].

3.1. Antibiyotik Direnç Nedenleri

Mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara karşı oluşturduğu bu direnç aşağıda açıklanan çeşitli nedenlerden kaynaklanabilir [72].

3.1.1. Doğal Direnç

Bakterinin genetik özelliği sebebiyle bazı antibiyotikler bakteriyi etkilemez ve bakterinin doğal direnci olarak tanımlanır [73].

3.1.2. Kazanılmış Direnç

Transpozon veya plazmid DNA’sında meydana gelen mutasyonlar sonucu bakterideki genetik özelliklerin değişimi ile gerçekleşir. Yani dirençli bakteriler tarafından konjugasyon, transformasyon ya da transdüksiyon aktarımıyla meydana gelen dirençtir [66,72].

3.1.3. Çevre ve Koşullara Bağlı Direnç

Antibiyotikler in vivo ve in vitro koşullarda farklı etkinlik gösterir. Bu durum bakteride dirence sebep olur. Dokudaki pH değişiklikleri, oksijen basıncı değişiklikleri ve antibiyotiğin enfeksiyon bölgesine ulaşamaması gibi nedenlerle in vitro testlere yanıt veren antibiyotik in vivo ortamda yanıt vermeyebilir [72].

Bakterilerin antimikrobiyal ilaçlara karşısında gösterdiği biyokimyasal direnç mekanizmaları ise üç grup altında toplanmaktadır:

1. İlaç hedefindeki değişiklik
2. İlacın enzimatik inaktivasyonu
3. Hücre içindeki ilaç dozunun azaltılması
 - a) Permeabilitenin azaltılması
 - b) Aktif pompa ile ilacın dışarı atılması [74].

Kullanılan antibiyotik ile bakterilerde oluşan direnç arasında doğrudan bir ilişki söz konusudur. Bu sebeple sağlık kuruluşlarında antibiyotik kullanımının yoğun olması, bakterilerde meydana gelen antibiyotik direncinin ortaya çıkmasına ve yayılmasına zemin hazırlamaktadır. Aynı şekilde hastane ortamında oluşan enfeksiyon etkenleri hastane dışında saptanan etkenlere göre daha fazla görülmektedir[46].Aradaki bu farklılığı en belirgin bir şekilde,yoğun ilaç kullanımının yaygın olduğu YBÜ’de görülmektedir. Yoğun bakımlarda hastaların dirençli mikroorganizmalarla karşılaşma olasılığının daha fazla olması ve ampirik antimikrobiyal tedaviler, antimikrobiyallere direncin artışını etkileyen en belirgin faktörlerdendir[3].

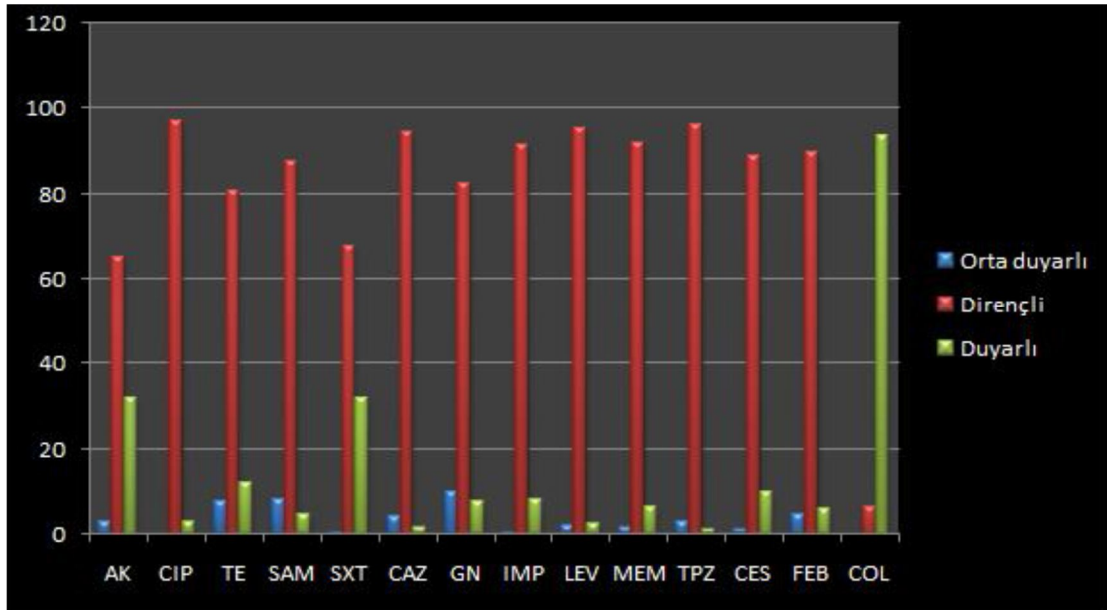
Antibiyotikleme sonuçları, ÇİD’ne sahip *Acinetobacter* izolatlarının hastane ortamında epidemilere neden olduğunu gösterse de, türler arasındaki farklılıkları ayırmak için yeterli değildir. Bu sebeple, PFGE ya da PZRgibi genotiplendirme yöntemlerinden biri ile nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* salgınları araştırılmalıdır [5].

4. ACINETOBACTER'LERDE ANTİBİYOTİK DİRENCİ

Acinetobacter türleri birçok antibiyotiğe direnç gösterme eğilimindedir[35,48,75]. *Acinetobacter*'lerde görülen, türler arasında farklı antibiyotik direnç genlerinin bulunmasının nedeni olarak konjugasyon mekanizması ile direnç genlerinin transfer olması gösterilebilir. Plazmidler ve transpozonlar çoğu prokaryot organizmalar için olduğu gibi *Acinetobacter* türlerinin biyolojisinde de önemli rol oynamaktadırlar. *Acinetobacter*'lerin farklı büyüklüklerde çok sayıda plazmid taşıdıkları bildirilmektedir. Bazıları sadece plazmid aracılığı ile transfer olmaktadır. Ayrıca kromozom üzerinde bulunan transpozonlar sayesinde ÇİD geninin taşındığı bildirilmektedir [66].

Acinetobacter türlerinde penisilin, ampisilin ve sefalotine hemen hemen tüm grup üyelerinde direnç gözlenmekte olup, suşların çoğu kloramfenikole dirençlidir [1]. İkinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlere ve trimetoprim/sulfametoksazole duyarlılıklarının değişken olduğu rapor edilmiştir. *Acinetobacter* türlerinde son dönemde aminoglikozidlere de direncin artma eğilimi gösterdiği görülmektedir. Aynı şekilde nozokomiyal epidemilerde karbapeneme direnç gösteren *Acinetobacter* türleri de giderek artan oranda ÇİD göstermektedir [77].

Tablo 3. *Acinetobacter* kökenlerinin antibiyotik duyarlılık oranları[65].



AK: Amikasin, CIP: Siprofloksasin, SXT: Trimetoprim/Sülfametoksazol, TE: Tetrasiklin, CAZ: Seftazidim, GN: Gentamisin, IMP: İmipenem, TPZ: Piperasilin/tazobaktam, LEV: Levofloksasin, COL: Kolistin, FEP: Sefepim, CES: Sefaperazon/Sulbaktam, MEM: Meropenem, SAM: Sulbaktam/Ampisilin.

Acinetobacter türlerinde en fazla imipenemduyarlılığının giderek düştüğü ve özellikle 2000'li yıllardan sonra tüm antibiyotiklere karşı direncin büyük ölçüde arttığı gözlenmektedir [79]. Amikasin direnç oranları da yüksek bulunmuştur [79,80]. Ekolojik ortamda yoğun olarak bulunması sebebiyle *A. baumannii* enfeksiyonlarının ortadan kaldırılması oldukça güçtür. Tüm antibiyotik ilaçlara karşı direnç geliştirmesine ek olarak *A. baumannii*, çoklu hücre sel mekanizmaları oluşturma ve geliştirmede yetenekli bir mikroorganizmadır [81]. *A. baumannii*'nin, YBÜ'de VİP'ye sebep oldukları belirlenen suşlarında seftazidim, imipenem, siprofloksasine direnç oranları yüksek oranda gözlenmiştir [82].

A. baumannii, aminoglikozid, penisilin, sefalosporin ve tetrasiklin gibi çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı dirençli gösteren ve immün sistemi zayıflamış hastalarda ciddi enfeksiyonlara yol açabilmektedir [83]. YBÜ'deki hastalarının alt solunum yolu numunelerinden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde de karbapenem direnci saptanmıştır [84]. *Acinetobacter* türlerinde sefalosporin direnci % 100 olarak rapor edilmiştir [84,85].

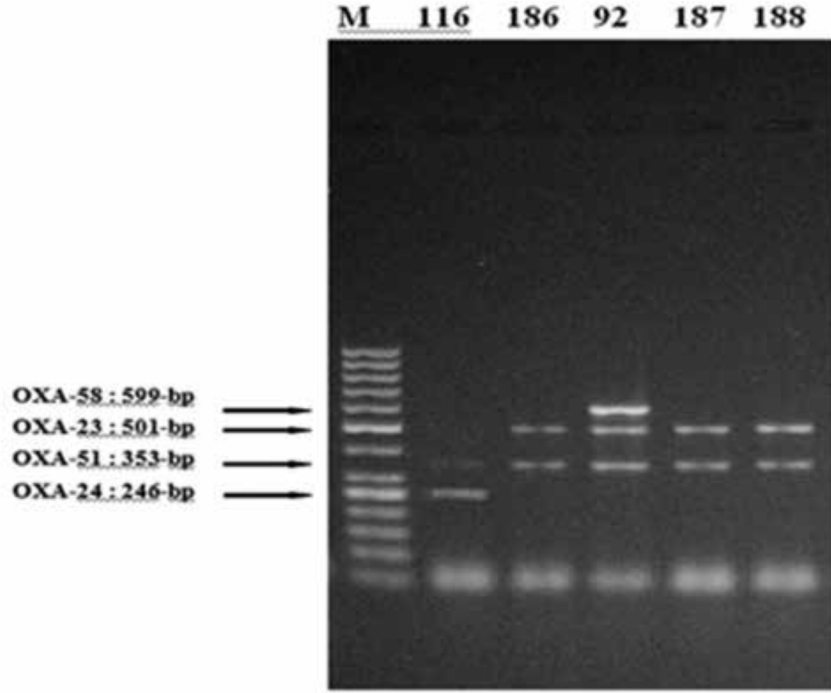
Direnç oranlarının önceki yıllara göre giderek arttığı bildirilmiştir. *Acinetobacter* suşlarında %100 karbapenem direnci çok dikkat çekicidir. Ancak kolistine direnç oranları %0 olarak belirlenmiştir. İmipenem, *A. baumannii*'nin direnç gösterdiği antibiyotiklerden biridir ve YBÜ enfeksiyonlarında tedaviyi olumsuz etkilemektedir [82,86,87]. Enfeksiyon sebepleri olan mikroorganizmaları ve bunların antibiyotik duyarlılıklarını ölçmek hastalığın tedavisinde önemli olduğu gibi mortalite ve morbiditeyi azaltmak için de yol göstericidir. Sürveyans çalışmaları ve hastane enfeksiyonlarının kontrol programlarının doğru bir şekilde uygulanması, dirençli bakterilerin kolonizasyonunun da kontrol altına tutulmasını sağlayacaktır [62]. Karbapenem ve amikasin gibi antibiyotiklere yüksek oranda direnç tespit edilen *Acinetobacter* spp.'de çoğul direncin yaygın olabileceği düşünülmektedir [86].

Dirençli *Acinetobacter* suşları artmasına rağmen tedavi seçenekleri kısıtlıdır [65,88,89].Mevcut tedavi seçeneklerine yönelik çalışmalar yetersizdir. Mevcut bilgilere göre en etkin tedavi duyarlı olan antibiyotiğin seçilmesidir. Bazı ajanlar için tek bir duyarlılık testi yanlış kararlara yol açabilir. Ampirik tedavide lokal sürveyans verileri ve etkin antibiyotiklere dair bilgi kombine edilmelidir. Kombine tedavi veya uzun süreli antibiyotik infüzyonu gibi uygulamalar umut verici olabilir, daha net ve büyük çalışmalara ihtiyaç vardır [89,90].

Kolistin vepolimiksin B, *A. baumannii* enfeksiyonlarına yönelik kullanılan en önemli antimikrobiyal ajanlar olmasına rağmen, bu ilaçlara geliştirilen direnç giderek artmaktadır[11,47]. *A. baumannii*'de diğer gram-negatif mikroorganizmalarda olduğu gibi, karbapenemleri de içeren beta-laktam antibiyotiklere direnç oluşumu tespit edilmektedir. Bakteride oluşan bu direne çeşitli nedenler sebep olmakla birlikte sıklıkla OXA türü beta-laktamazların neden olduğu bilinmektedir. Bu beta-laktamazları oluşturabilen *A. baumannii* izolatlarının bir çoğu, karbapenemler dışında, kolistin ve tigesiklin haricindeki tedavide sıklıkla kullanılan diğer antibiyotiklere de direnç oluşturma yeteneği kazanmış durumlardır[91].

Karbapenem direnci *A.baumannii* için birden çok mekanizmayla açıklanabilmesine rağmen en çok beta-laktamaz enzimleri sayesinde oluşmaktadır[92]. Söz konusu enzimler içinde D grubu beta-laktamaz sınıfına ait dört OXA alt kümesi içinde yer almaktadırlar. Bu beta-laktamazlar içinde çoğunlukla bakteride zaten mevcut bulunan OXA-51'in yanında kazanılmış olan OXA-23, OXA-24 ve OXA-58 en sık rastlananlardır [93,94]. Resim 4'te bu genlerin multipleks PZR ile gösterimi verilmiştir.

Bakterilerin hızla tanımlanması veya miktarının tespit edilebilmesi için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qPZR) kullanılmaktadır. Bu yöntemin kullanım alanları gittikçe artmakta ve antibiyotik direncinin erken tanısına olanak sağlamaktadır. Artık günümüzde hastane enfeksiyonlarına sebep olan direnç faktörlerinin belirlenmesi ve erken tanısı için birçok ticari kit geliştirilmiş olup ve sıkça kullanılmaktadır[93,94,95].



Resim 4. OXA-karbapenemaz enzimini şifreleyen genlerin multipleks PZR ile gösterimi. [Hat 1: OXA-51, OXA-24; Hat 2, 4 ve 5: OXA-23, OXA-51; Hat 3: OXA-58, OXA-23 ve OXA-51 pozitif örnekler (M: Moleküler büyüklük belirteci, 50 bp DNA Ladder) [65].

Tablo 4. *A. baumannii* direnç mekanizmaları [96].

Antibiyotik/Direnç mekanizması	Grup/Gen	Antibiyotik/Direnç mekanizması	Grup/Gen
Beta-laktamlar için		Aminoglikozidler için	
Beta-laktamaz		Enzimatik yıkım	
Doğal		Asetiltransferaz	AAC-2, -3,-6 SAT-2
Sınıf A/sık görülen	<i>ampC</i> (ADC1-7) VEB-1,-2 PER-1,-2 TEM-92,-116 SHV-5,-12 CTX-M-2-3	Nükleotidiltransferaz Fosfotransferaz	ANT-2,-3 APH(3')-I, -II,-III,-IV APH(3'')-I
Sınıf A/nadir görülen	SCO-1	Eflüks pompası	adeABC adeM
Karbapenemaz		16s rDNA metiltransferaz	armA
Sınıf D oksasilinaz	OXA-51 benzeri OXA-23 OXA-24 OXA-27 OXA-37 OXA-40 OXA-58 benzeri	Kinolonlar için	
Metallo-beta-laktamaz	VIM IMP SIM	DNA giraz/topoizomerez	gyrA/parC
Sınıf A karbapenemaz	GES-11	Eflüks pompası	adeABC adeM abeS
Dış membran proteinleri	carO HMP-AB 33-36 kDa protein 43 kDa protein	Kloramfenikol için	
Eflüks pompası	adeABC PBP2 değişimi	Eflüks pompası	adeABC adeIJK cmlA craA abeS
Tetrasiklinler için		Trimetoprim/sulfametoksazol için	
Eflüks pompası	tetA, tetB	Eflüks pompası	adeABC adeIJK
Ribozomal hedef değişimi	tetM	Dehidrofolat sentetaz Dehidrofolat reduktaz	sul-I,-II folA
		Makrolitler için	
		Eflüks pompası	adeM
		Glisilsiklin için	
		Eflüks pompası	adeABC
		Polimiksin için	
			pmrAB
		Rifampisin için	
			arr-2

5. MOLEKÜLER YÖNTEMLER

5.1. Mikrobiyolojide kullanılan hızlı tanı yöntemleri

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan yöntemler; geleneksel ve hızlı yöntemler olmak üzere iki grupta incelenir. Günümüzde hala altın standart olarak bilinen yöntemler geleneksel yöntemlerdir. Birbirinden farklı tipte birçok minyatürize biyokimyasal kitler ise hızlı yöntemler adı altında sıkça tercih edilmektedir. Bu hızlı yöntemler ayrıcanükleik asit hibridizasyonu, antikor temeline dayanan serolojik testler ve biyosensörleri de içermektedir. Kullanılan bu yöntemler ve testler manuel, yarı otomatik veya tam otomatik olarak üç farklı grupta üretilmektedir [97,98].

Mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan hızlı yöntemler, sadece klinik açıdan değil gıda ve çevresel kökenli numunelerde de bulunan bakteri, mantar, virüs ve protozoon gibi mikroorganizmalar için de kullanılmaktadır. Bu mikroorganizmalara ait metabolitlerin izolasyonunda ve idantifikasyonunda, erken tanısı, sayımı ve antimikrobiyal duyarlılıklarının tesbitinde de tercih edilmektedirler. Ayrıca kullanılan bu yöntemler hem ekonomik hem yüksek oranda duyarlılık ve özgüllük oranına sahip olmasının yanında ayrıca kısa sürede sonuçları değerlendirebilecek düzeyde olmalıdır. Laboratuvarda tercih edilen yöntemler bu özellikleri taşımalıdır [97,98,99].

Günümüzde moleküler mikrobiyoloji yöntemleri üzerine birçok kurumda eğitimler verilmektedir. Burada amaç moleküler tanımlama yöntemlerinin doğru kullanılması ve bu alanda yapılacak araştırmaların önünün açılmasıdır[98,100].

5.2. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

Kary Mullis, ilk kez 1985 yılında PZR ile ilgili çalışmaları bilim dünyasına tanıtmış ve böylece moleküler biyoloji adına önemli katkılar sağlamıştır [101]. PZR, moleküler biyoloji ve mikrobiyoloji açısından önemli buluşlardan biridir. PZR, seçilen DNA veya RNA birimlerinin, sentez içingerekli molekülleme polimeraz enzimi kullanılarak tanınması ve çoğaltılması esasına dayanan bir yöntemdir. PZR yöntemi, moleküler belirleyici çalışmalarda alternatif olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem, bakteri, virüs, mantar ve protozoa gibi mikroorganizmalardan

kaynaklanan enfeksiyon ve hastalıkların teşhisinde özellikle DNA veya RNA'nın amplifikasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. PZR biyoteknoloji, tıp, patoloji, moleküler teknolojiler, sistematik ekoloji, toprak mikrobiyolojisi gibi bilimsel alanlarda değerlendirilmektedir [98-101].

PZR, bakteri, virüs, fungus, parazit ve protozoon gibi hastalığa sebep olan canlılara ait hedef nükleik asit zincirlerinin, kullanılan primerler (özgül tamamlayıcı oligonükleotitler) ve ısıya dayanıklı enzimlerle laboratuvar koşullarında amplifikasyonunu sağlayan özgün ve güvenilir bir yöntemdir. Çalışılan genetik birim, çok az sayıda ve hatta birçok ilgisiz DNA moleküllerinin içinde olmasına rağmen çoğaltılabilir. Böylece homojen bir DNA materyaline dönüşebilir ve kolayca tanımlanabilir [102].

PZR, sadece bilimsel çalışmalarda değil klinik laboratuvarlarda da kullanımı büyük öneme sahiptir. Kary Mullis, 1993 yılında PZR alanındaki çalışmaları sayesinde Nobel Kimya Ödülü'nü almıştır. Özetle PZR, in vitro olarak yapılan bir klonlamadır [103].

Basit ve hassas bir yöntem olan PZR, temelde üç basamaktan oluşmaktadır. İlk basamakta çift iplikli kalıp DNA molekülü 90-95 °C'de denatüre edilmektedir. Bu aşamada DNA tek iplikçik halini alır. İkinci basamakta primerlerin tek iplikçikli DNA molekülüne bağlanması 37-60 °C sıcaklıklar arasında gerçekleşir. En son aşamada ise DNA zincirleri üzerine yapışan primerler ve DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polymerase) kullanılarak istenilen DNA bölgesi klonlanır. 72 °C sıcaklıkta, DNA polimeraz enzimi çok iyi çalışma performansı gösterdiği için çoğaltma işlemleri bu sıcaklıkta gerçekleştirilmektedir. Denatürasyon, annealing, ekstension olmak üzere üç aşamadan oluşan işlem bir PZR devrini ifade etmektedir. Tüm bu işlemler 25-40 kez tekrar edilir ve ilk baştaki DNA dizisinden milyonlarca yeni kopya oluşturulabilir [101].

Gerekli tüm maddelerin ve polimeraz enziminin bulunması durumunda reaksiyon başlar. DNA'nın karşıt dizisini sentezleyebilme yeteneği sayesinde çoğaltılma gerçekleşir. Bu çoğaltılma işlemi gerçekleşirken, DNA dizisinde istenmeyen diziler baskılanır. Bu sayede DNA dizisinin tanımlanması kolaylaşır [98,101].

Kalıp DNA:Çoğaltılmak istenen baz dizisine sahip genetik birimdir. Eğer DNA yerine RNA kullanılmak isteniyorsa reaksiyondan önce ters transkriptaz kullanılarak RNA, komplementer DNA'ya (cDNA) çevrilir. Bu cDNA daha sonra PZR için kalıp olarak kullanılır [104].

Primer:Belirlenen 4-10 adet işaretlenmiş nükleotitten meydana gelen, sentezde basamak oluşturan DNA'yı çoğaltmak için kullanılan kısa ve tek sarmallı DNA molekülleridir. Bunlar hedef DNA'ya özgü olduklarından ortamdaki başka DNA'lar ile çapraz reaksiyon vermezler [101,104].

Polimeraz Enzimleri:*Thermus aquaticus*'tan elde edilen, sıcaklığa dirençli DNA polimeraz enzimleri, en yaygın kullanılan polimeraz enzimidir. Yeni enzim ilavesini gerektirmediği için bu enzim diğer enzimlerden daha kullanışlı kabul edilir. Bununla beraber primerlerin bağlanması, yüksek sıcaklıkta daha özgül olmaktadır[104].

Deoksinükleotit-Trifosfat (dNTP) Karışımı: Yeni DNA sarmalının tamamlanmasında kullanılan; dATP, dTTP, dGTP ve dCTP olarak bilinen 4 tip dNTP'nin nötrale edilmiş, molaritesi belirlenmiş dördü setleridir [98,104].

DNA'nın PZR ile çoğaltılması; zaman, sıcaklık ve döngü sayısı düzenlenerek aşağıda belirtilen aşamalarla gerçekleştirilir;

Denatürasyon: Çift iplikli kalıp DNA denatüre edilir.

Bağlanma: Tek iplikli hale gelen DNA dizilimlerinden her birinin, 3' uçlarındaki nükleotitlere uygun sıcaklıkta primer bağlanır.

Uzama: Yüksek sıcaklığa dayanabilen polimeraz enzimi, primerler ve kalıp DNA'yı kullanarak yapay ortamda çift iplikli DNA sentezler[102].

Günümüzde kullanılan hızlı yöntemler, mikrobiyoloji uygulamalarında önemli bir yere sahiptir. Klinik çalışmalarla birlikte gıda ve çevresel örneklerde bulunan patojen mikroorganizmalar ve metabolitlerinin erken tespitinde, izolasyonunda, identifikasyonu ve sayımı için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. 1985 ile 1995 yılları arasında kullanılan genetik tanı yöntemleri ile birlikte PZR uygulamaları da gelişim göstermiştir. Bu yıllardan sonra ise biyosensör ve

mikroarray test sistemleri ile çeşitli örneklerde bulunan patojen mikroorganizmaların direk tanısı için geliştirilmiştir [103,105].

Genetik tanı yöntemlerinden birisi olan PZR, patojen mikroorganizmaların doğru tanısını güçlendirmek için son yıllarda daha da geliştirilmiştir. Hızlı testlerin güvenilirliği ile ilgili birçok araştırmanın sonuçları göstermiştir ki; bu testler ucuz ve hızlıdır ayrıca yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahiptirler [98,105]. Moleküler tiplendirme çalışmalarında ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan yöntemlerden bazıları şunlardır: PFGE (Pulsed-field gel electrophoresis), RFLP (Restriction fragment length polymorphism), RAPD (Random amplified polymorphic DNA) ve tekrarlayan dizi temelli polimeraz zincir reaksiyonu (Repetitive sequence-based PZR; rep-PZR) [106].

Ancak hızlı ve kolay uygulanabildiği için en çok rep-PZR yöntemi esasına göre çalışan ve yarı otomatize DiversiLab® sistemi (bioMérieux, Fransa) kullanılmaktadır. Ayrıca bu moleküler tiplendirme yöntemi altın standart kabul edilen PFGE ve f-AFLP (fluorescent amplified fragment-length polymorphism) tiplendirme yöntemleri ile karşılaştırılabilir sonuç verdiği ispatlanmıştır [5,106].

Antibiyotipleme sonuçlarına göre çok ilaca dirençli *Acinetobacter* izolatlarının hastanede oluşan epidemiler hakkında bilgi verse de, suşlar arasındaki farklılıkları ayırt edememektedir. Bu nedenle, PFGE ya da PZR gibi tabanlı genotiplendirme yöntemlerinden biri kullanılarak nozokomiyal *A. baumannii* epidemileri araştırılmalıdır [76]. Rep-PZR'nin ayırt edici gücünün, altın standart kabul edilen PFGE yöntemi ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğu belirtilmektedir. Çalışmalarda rep-PZR yöntemi, *Acinetobacter* izolatları arasındaki klonal ilişkiyi ortaya koymak amacıyla da kullanılmaktadır [5,107].

Tablo 5. Polimeraz zincir reaksiyonunun avantaj ve dezavantajları[107].

Avantajlar	Dezavantajlar
<ul style="list-style-type: none">• Hızlı ve özgüdür.• Eskimiş, kurumuş, az miktarda DNA içeren örneklerle bile uygulanabilir.• Toksin oluşturan etkenlerin, saptanması güçtoksinlerin, bakteri alt tiplerinin, laboratuvar koşullarında üretilmesi güç virüslerin teşhisine uygundur.• Antibakteriyel direnci olan bakterilerin saptanmasına uygundur.• Babalık testinden, popülasyon genetiği ve epidemiyolojik çalışmalara varıncaya geniş kullanım alanı bulunmaktadır.	<ul style="list-style-type: none">• Ortamdaki istenmeyen DNA'nın primer ile ortak dizilime sahip olma riski vardır.• Deneyimli personel gerektirir.• Cihaz ve malzemeleri pahalıdır.

Bazı durumlarda reaksiyona giren ürünlerin az veya çok olması veya ortam şartlarının optimum olmaması gibi nedenlerden dolayı primerlerin doğru bağlanmaması, istenilen bantların oluşmaması veya istenmeyen bantların açığa çıkması gibi istenmeyen durumlar oluşabilir. Ayrıca PZR aşamalarında yüksek hassasiyet için; Mg^{+2} gibi gerekli iyonlar, primerler, dNTP'ler ve DNA Polimeraz'ın en uygun yoğunlukta olması gerekir. Bunun yanında etkili denatürasyon, yüksek yapışma sıcaklığı, tek zincirin kalitesi, PZR bileşenlerinin kalite ve miktarı, döngü sayısı ve uzunluğu, PZR cihazı etkinliği için önemlidir [101,106].

PZR tekniğinin keşfinden bu güne bir çok yöntem geliştirilmiştir. Klonlanması istenilen DNA parçasının genom dizisi biliniyorsa şu yöntemler kullanılmaktadır; multipleks PZR, kantitatif PZR, revers transkriptaz PZR, kat fazlı PZR, touch down PZR, hot start PZR, asimetrik PZR ve nested PZR[101].

Genomik çalışmalarda kullanılmak üzere geliştirilmiş çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemlerden, Polimeraz Zincir Reaksiyonuna dayalı yöntemlerden bazıları aşağıdaki gibidir:

- PZR-Restriksiyon enzimleri ile kesilen parça uzunluk polimorfizm analizi (PZR-RFLP)
- Birçok kopyada bulunan dizilerin hedef olarak PZR parmak izi çalışmalarında kullanılması [tekrarlayan ekstragenik palindromik diziler - repetitive extragenic palindromic (REP) veya tekrarlayan enterobakteriyel intergenik konsensus diziler - enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC)-PZR]
- Arbitrarily primed PZR (AP-PZR)
- Rastgele amplifiye edilen polimorfik DNA (RAPD) – (Random amplified polymorphic DNA)
- Amplifiye parça uzunluk polimorfizm analizi (AFLP) – (Amplified fragment length polymorphism analysis)[98,99,108].

5.2.1. Amplifikasyonda Kullanılan Bazlı Yöntemler ve PZR Çeşitleri

Genotiplendirme yapılırken klonlanması hedeflenen DNA önce amplifiye edilir ve ardından amplifiye olan primerler ya direkt olarak ya da özel restriksiyon enzimleri kullanılarak açığa çıkan son ürünler ile çalışılır[66]. Bu son ürünler fragment uzunluklarının analizini gerçekleştirmek için agaroz jelden yararlanılarak separe edilir. Bu sayede aynı türün farklı suşları arasındaki fragment kalıplarındaki farklılıklar değerlendirilmiş olur. Yine bu değerlendirmeler için en çok REP-PZR, PZR-RFLP, PZR-ribotipleme, AP-PZR/RAPD/DAF ve AFLP yöntemleri kullanılmaktadır. Bunlardan bazılarının çalışılma yöntemi aşağıda özetlenmiştir [66,98].

5.2.2. Tekrarlayan Ekstragenik Elementlerin PZR ile Amplifikasyonu (Repetitive PZR yani REP-PZR)

Rep-PZR yöntemi, yalnızca bakteriler için değil birçok mantar türü için de kullanılmaktadır. Bu yöntemde hücrelerin kromozomlarının farklı lokuslarındaki kısa, tekrarlayan ve konservatif bölgeleri hedef alan kısa primerler kullanılır. Hedef alınan bölgelerin birbirlerine yakın olmaları nedeniyle iki ekstragenik bölge arasında kalan birimler amplifiye edilir. Daha sonra bu ampliconların sayı ve uzunlukları agaroz jel üzerinde elektroforez ile belirlenir [109].

Tekrarlayan DNA dizilerine dayalı PZR çeşidi olan rep-PZR yönteminde; çoğu mikroorganizmanın genomu üzerinde dağılım gösteren ve tekrarlanan DNA birimlerine komplementer olan primerler kullanılır [102,104]. Yapılan tekrar işlemleri sırasında kalan DNA dizilimlerinin amplifikasyonu yani çoğaltılma işlemi gerçekleştirilmektedir. Suşlar arasında tekrar elementlerinin miktar ve yerleşim farkı moleküler tiplere için gerekli olan bakteriye özgü bant profilini oluşturmaktadır. Üç grupta tanımlanan ve tekrarlayan dizilimler; *S. pneumoniae*'nin BOX elementi, REP ve ERIC dizilimleridir. rep-PZR yönteminde kültürden alınan örnekler kullanıldığı gibi direkt klinik örneklerden yapılan DNA ekstraksiyon ürünleri ile de çalışılabilir. Çalışılan elementlerin dizilimlerin ve kullanılacak primerlerin baz diziliminin bilinmesi gerekmemektedir. Çoğunlukla sadece bir primer seti kullanılarak hem gram-negatif hem de gram-pozitif bakterilerde tiplendirmeyi sağlayacak miktarda bant profili oluşturulmaktadır [110].

Çalışmalarda genellikle BOX primerleri ile çalışılmaktadır. Çünkü REP primerlerinin oluşturduğu bant profilleri hedeflenen düzeyde değildir ve ERIC primer seti de PZR için gerekli koşullardan yüksek oranda etkilenmektedir. Kullanılan bu primerler toplu halde de kullanılmaktadır. PZR bazlı tiplere yöntemlerinden, rep-PZR ve AFLP gibi moleküler yöntemler, suşlar arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmada en fazla tercih edilen yöntemlerdir. rep-PZR tiplere kolay uygulanabilmesi, fazla sayıda izolat ile çalışılabilmesi ve ayırt ediciliğinin yüksek olması nedeniyle bakteriyel popülasyonların filogenetik yapıları ve taksonomik farklılıklarını belirlemek amacıyla çalışılmaktadır [104,110].

5.2.3. RFLP-PZR

Bakteride ilk olarak kromozomunun üzerinde bulunan özel bir gen bölgesinin amplifikasyonu yapılır. Ardından amplike edilen bölge özel restriksiyon enzimlerinden yararlanılarak hazmettirilir. Bu hazım ile üretilen farklı uzunluktaki nükleik asit birimlerinin dağılımı yine en son aşamada agaroz jel elektroforez yöntemi ile araştırılır [66].

5.2.4. PZR-Ribotipleme

İlk olarak kromozomda bulunan rRNA'yı şifreleyen gen bölgesi amplifiye edilir. Ardından restriksiyon enzimleri ile RFLP analizi yapılabilir. Genellikle tip ve sub tip tespitinde kullanılmaktadır [109].

5.3. MALDI-TOF (Matriks Assisted Laser Desorption/ Matriks Destekli Lazer Desorpsiyonu)

Matriks destekli lazer desorpsiyon, proteinler, peptitler ve şekerler gibi biyomoleküllerin ve eski iyonizasyon teknikleriyle iyonize edildiğinde kırılıp parçalanmaya eğilimli olan polimerler gibi büyük organik yapıları moleküllerin analizini gerçekleştiren, kütle spektrometresinde kullanılan hassas bir yöntemdir. Her ne kadar bu teknik daha az yüklü iyonların meydana gelmesine neden olsa da hem hassasiyet hem de üretilen iyonlar açısından en çok elektrosprey iyonizasyonuna benzemektedir. Lazer ışınmasıyla iyonizasyonun sağlanması için çoğunlukla nitrojen lazer kullanılır. Doğrudan lazer ışınmasının biyomoleküle vereceği zararın engellenmesi, buharlaşma ve iyonlaşma, matriksle sağlanır [66,111].

Bakterilerin tanımlanmasında spektrumlar kullanılmaktadır. Araştırılmak istenen mikroorganizmaya ait koloni doğrudan hedef noktasının üzerine yayılır ve matriksle kaplanır. Oluşan kütle spektrumları, ilgili yazılımla araştırıldıktan sonra kayıtlı profillerle karşılaştırılır. Mikroorganizmaların bu teknik ile tanımlanması, günümüz standart immünolojik ve biyokimyasal yöntemlerden daha güvenilir ve ekonomik olmasından dolayı tercih edilmektedir [111].

5.4. Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

Altın standart olarak adlandırılan bu yöntem birçok mikroorganizma için kullanılan bir genotiplendirme yöntemidir [66]. Pulsed-field jel elektroforez (Pulsed-field gel electrophoresis, PFGE) büyük moleküllerin agaroz jelde elektroforetik ayrıştırılması için geliştirilmiştir. Bu yöntemde jele vuruşlu, dalgalı ve dikey elektrik alanları uygulanmıştır. DNA molekülü ne kadar büyükse tekrar yönleneceği o kadar uzun zaman alır. Bu şekilde büyüklüklerine göre ayrılırlar. Bu yöntemde, kromozomal DNA polimorfizmine dayalı, tüm genomu hedef alan genotiplendirme yapılmaktadır. İzolatlar arasındaki ilişkilerin belirlenmesinde, bant

paternlerinin benzerlik yüzdesine ya da bant sayısı ve büyüklüğündeki farklılıklara göre değerlendirme yapılmaktadır [112,113].

5.4.1. PFGE Kullanım Alanları

- Klinikepidemilerin araştırılması ve bulaşların kökenlerinin tespit edilmesinde,
- Toplumda besinler aracılığı ile oluşan salgınların araştırılmasında,
- Laboratuvar kontaminasyonlarının incelenmesinde,
- Hastaların ve hastalıklarının takip edilmesinde,
- Nokta mutasyon, insersiyon yada delesyon gibi rastlantısal genetik olayların tespitinde,[114].
- Bazı canlıların DNA hasarlarının tespiti gibi durumlar için kullanılabilir[116].

PFGE yönteminde hata payını azaltmak için dikkat edilmesi gereken hususlar şunlardır;

- Kullanılan kimyasal maddeler uygun şekilde depo edilmelidir.
- Hesaplamalar titizlikle yapılmalıdır.
- Maddeler doğru tartılmalıdır.
- Tampon yapılırken ultra saf su kullanılmalıdır.
- Kullanılacak tüm cam cihaz ve malzemeler temiz olmalıdır.
- Tüm cihazların doğru çalıştığı kontrol edilmelidir.
- Doğru kimyasallar (enzim, deterjan) kullanılmalıdır[66,117].

Tablo 6. PFGE’de kullanılan yöntemler ve enzimler[66,98,114].

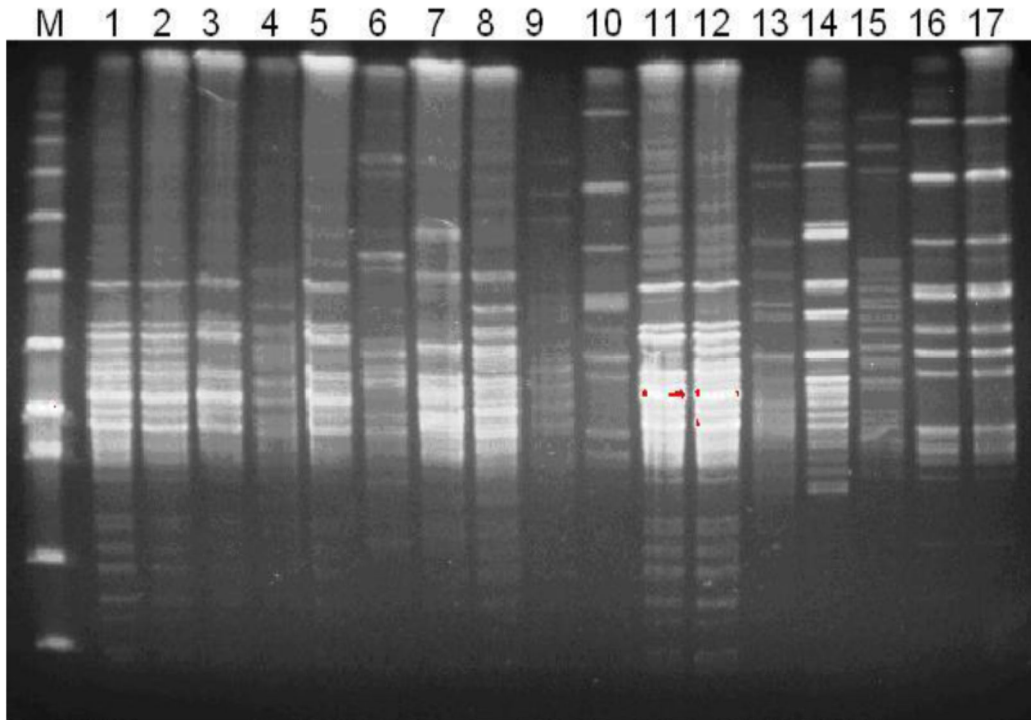
Fiziksel Yöntemler	Enzimler	Deterjanlar
Kaynatma	Proteinaz K	SDS
Dondurma	Lizozim	Tween-80
Çözme	Lysostaphin	

Araştırılmak istenen izolat sayısı arttıkça kullanılan moleküler epidemiyolojik yöntemlerde bant profillerinin değerlendirilmesi için gerekli olan bilgisayar

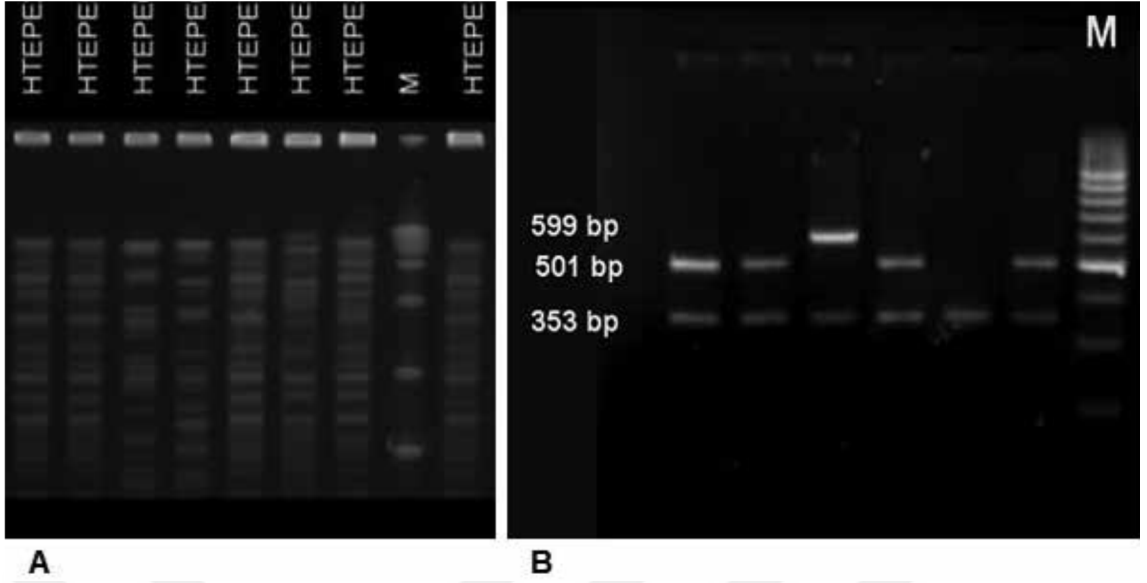
programlarının sayısı da artmaktadır[66,104].Kromozom üzerindeki tüm genom hedef alındığından DNA'yı tahrip olmadan elde etmek gerekir. Çünkü kırılmış DNA, hatalı bant profillerinin oluşmasına neden olacaktır. Kesim noktaları arasında kalan DNA fragmentleri büyüklüklerine göre elektroforetik alanda, jel içinde göç ederler. Klonal olarak ilişkili suşlar, benzer bant profilleri oluşturacaktır[118].

Tenover kriterlerine göre 4 bant farkına sahip izolatlar "olası ilişkili" olarak kabul edilmektedir.Oysa oluşan 4 bant farkı 4 genetik olay sonucu gerçekleşmiş olabilir. 5-8 bant farklılığı en az 2 genetik olay sonucunda oluşabilir ve bu durumdaki suşlarında alttip olarak ifade edilmeleri gerekir.Bu durumda 9 veya daha fazla bant farklılığı olan suşlar ise ilişkisiz olarak tanımlanabilir [114].

- Bant farkı olmayan suşlar; salgın suşu
- 1-4 arası bant farklılığı; aynı tipin subtipi
- ≥ 5 bant farkı olan izolatlar; farklı tipler[66,114,118].



Resim 5. *Acinetobacter*'e ait PFGE görüntüsü. M: Molekül ağırlık standardı, 1-12 ve 14-17: *L. garvieae*, 13: *L.lactis* spp. (Türe ve ark. 2012)



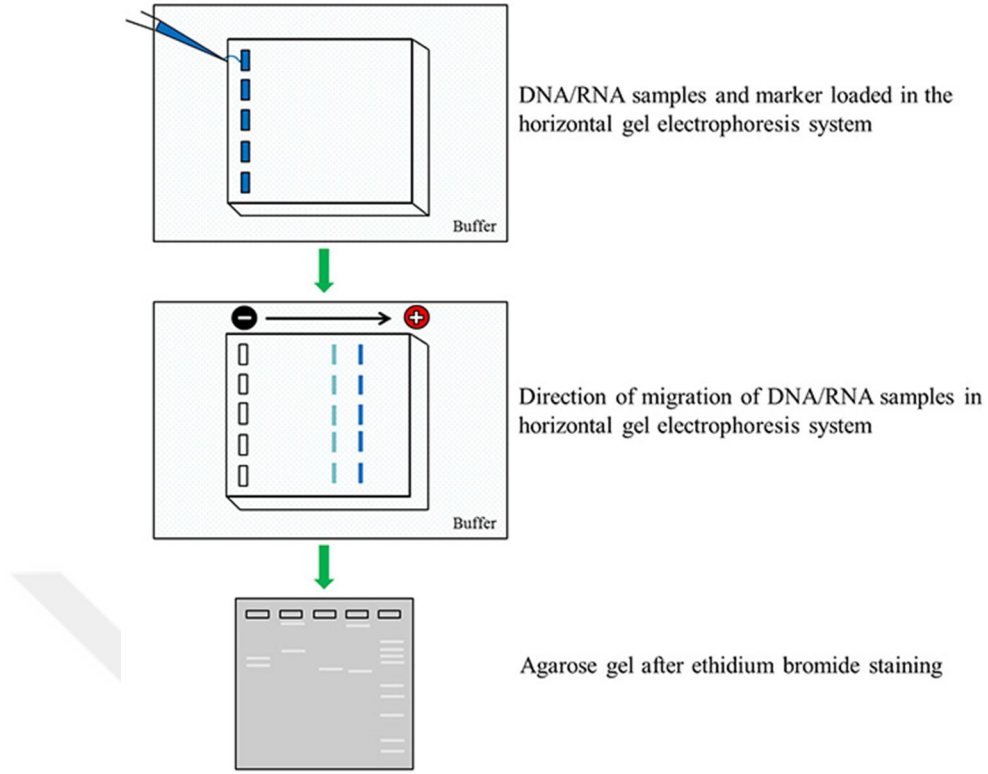
Resim 6. *A. baumannii* enfeksiyonu etkenlerinin “pulse-field gel electrophoresis” görüntüsü. M: Lambda Ladder PFG Marker (New EnglandBiolabs, Hitchin, İngiltere). Klonların sıralanışı, soldan sağa A1, A1, B, C, A1, A2, A3, M, A1. **B.** Farklı OXA karbapenemazları taşıyan kokenlerden örnekler, M: 100 bp DNA marker, OXA-51 benzeri enzim, 353 bp; OXA-23 benzeri enzim, 501 bp; OXA 58 benzeri enzim 599 bp. [112].

5.4.2. Sonuçların Analizi ve Yorumlanması

Yapılan çalışmaların ve PFGE sonuçlarının mutasyonlar ile etkilenip etkilenmediği ve tiplendirme sonuçlarına etkisi de araştırılmalıdır [114]. Bunun için belirleyici şu genellemelere göre değerlendirmeler yapılır:

- Tek bir genetik olay-----> izolatlar aynı
- İki genetik olay-----> muhtemel ilişkili
- Üç veya daha fazla genetik olay-----> ilişkisiz olarak değerlendirilir.

İnsersiyonlar, delesyonlar, yeniden düzenlenmeler ve tek baz değişiklikleri PFGE paternlerini etkileyebilecek genetik olaylardır [66,112].



Resim 7. PFGE yönteminde jel görünümü [116].

Enfeksiyon sonucu oluşan hastalıklarının tespiti ve epidemiyolojisi ile ilgili yapılan çalışmalarda özellikle son yıllarda devrim niteliğinde gelişmeler yaşanmıştır. Daha önceleri geleneksel test metotları ile yapılan epidemiyolojik çalışmalar günümüzde yeni teknikler ile gelişme göstermiş ve epidemiyolojik olarak ilişkisiz suşlar arasında eşsiz fragment desenleri sayesinde ilişki kurulabilmiştir. Yeni tekniklerin geliştirilmesi bir yandan da eski tekniklerin modifiye edilmeleri ile desteklenmiş, daha az zaman ve efor ile yüksek kalitede üretken jel görüntüleri ortaya çıkmıştır [116].

2000'li yıllarda PFGE metodu epidemiyoloji branşına altın standart olarak kabul edilmiş ve geleneksel elektroforezden farklı olarak büyük DNA moleküllerinin de eşsiz bir biçimde ayrışmasına imkan sağlamıştır. Artık bu ve benzeri yöntemlerin daha iyi anlaşılabilmesi için merkezler kurulmuş ve daha geniş fragmentlerin ayrışmaları için yeni sistemlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Aynı türün farklı bireyleri arasındaki ilişkininderecelendirilmesinde, birçok türe ait fiziksel haritalamanın gerçekleştirilmesinde PFGE metodusıkça kullanılmaktadır [66,112].

Gelecekte proteinlerin jel üzerinde ayrışmalarını ve DNA topoloji çalışmalarını hedefleyen bu teknik ile günümüzde, akuakültürde yüksek kayıplara yol açan birçok patojenin epidemiyolojisi rutin bir şekilde çalışılabilir [119].



6. MATERYAL VE METOD

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen işlemler laboratuvar ve bilgisayar tabanlı uygulamalar olarak iki ana başlık altında toplanmıştır. Gerçekleştirilen çalışmalar başlıklar halinde sunulmuş olup, kullanılan sarf malzemeler ve gereçler aşağıda verilmiştir.

6.1. Sarf Malzemeleri

Steril disposable öze (Mediko kimya, Türkiye)

Mikrosantrifüj tüpü 500 ul, 1,5 ml (Axygen, ABD)

PZR tüpü 0,2 ml (Axygen, ABD)

Otomatik pipetler (Thermo Fisher Scientific, ABD)

Steril filtreli pipet uçları 10 µl, 20 µl, 200 µl, 1000 µl (Thermo Fisher Scientific, ABD)

Lateks muayene eldiveni (DOLPHIN, Türkiye)

6.2. Besiyerleri

➤ Kanlı agar

Tablo 7. Kanlı agar besiyeri içeriği.

Kanlı Agar Bileşimi (Becton Dickinson, ABD)	g/L
Kazein pankreatik özeti	12
Hayvan dokularının peptik özeti	5
Maya özeti	3
Sığır eti özeti	3
Mısır nişastası	1
NaCl	5
Agar	13,5

Toz besiyeri 42,5 g/L olacak şekilde saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmış ve ısıtılarak eritilmiştir. pH $7,3 \pm 0,2$ 'e ayarlanmıştır. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra defibrine koyun kanından 50 ml eklenerek karıştırılıp plaklara dağıtılmıştır.

➤ **EMB agar**

Tablo 8. Eosin Metilen Blue (EMB) agar besiyeri içeriği.

EMB Agar Bileşimi (Becton Dickinson,	g/L
Jelatinin pankreatik özeti	10
Laktoz	5
Sükroz	5
K ₂ HPO ₄	2
Agar	13,5
Eosin Y	0,4
Metilen Mavisi	0,065

Dehidre besiyeri 35,965 g/L olacak şekilde saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmış ve ısıtılarak eritilmiştir. pH 7,1 ± 0,2'e ayarlanmıştır. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilerek petri kutularına dağıtılmıştır.

6.3. Kimyasal Malzemeler

Taq DNA Polimeraz (Thermo Fisher Scientific, ABD)

10X PZR Buffer (Thermo Fisher Scientific, ABD)

10 mM MgCl₂ (Thermo Fisher Scientific, ABD)

dNT Karışımı (Thermo Fisher Scientific, ABD)

Rep PZR primerleri (Prizma Laboratuar Ürünleri, Türkiye)

Moleküler grade agaroz (Vivantis, Malezya)

Etidyum bromür (Applichem, Almanya)

1X Loading Dye Solution (Thermo Fisher Scientific, ABD)

GeneRuler DNA Ladder (Thermo Scientific GeneRuler™ Katalog No: SM0331))

6.4. Araçlar

Etüv (Dedeoğlu, Türkiye)

Santrifüj (EPPENDORF, Almanya)

Vorteks (HVD, Avusturya)

Termal döngü cihazı (Bio-Rad, T100™ Thermal Cyclers)

Hassas terazi (METTLER- TOLEDO, İsviçre)

Mikrodalga fırın (VESTEL, Türkiye)

Elektroforez tankı (Thermo Fisher Scientific, ABD)

Elektroforez güç kaynağı (BIO-RAD, USA)

UV transillüminatör (VILBER -LOURMAT TFX-20.M (ETX-20 M), Fransa)

Jel Görüntüleme Sistemi (Dnr minibis, İsrail)

Nanodrop (Maestrogen mn-913, Tayvan)

Masaüstü Santrifüj (Thermo Fisher Scientific, ABD)

6.5. Yöntem

Çalışmamızda Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi'nde 2012-2018 yılları içerisinde Yoğun Bakım Üniteleri ve çeşitli servislerde yatarak tedavi gören hastaların Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli örneklerinden izole edilen *Acinetobacter baumannii* izolatlarından, tanımlama sistemlerince yeterli güvenilirlik skoru elde edilebilenler çalışmaya dahil edilmiştir. Klinik örneklerde üreyen *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıkları otomatize sistem ile Epicenter (Becton Dickinson, ABD) veri analiz sisteminden geriye dönük olarak, klonal ilişkileri ise Rep-PCR yöntemi ile çalışılarak değerlendirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastalardan birden fazla izolasyon gerçekleştirildiyse, bu hastalardan izole edilen sadece bir *Acinetobacter baumannii* izolatu çalışmaya dahil edilmiş, tekrarlayan örnekler çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmaya dahil edilen izolatların tanımlamaları Mikrobiyoloji laboratuvarınca Microflex LT MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics,Almanya) cihazı kullanılarak matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi yöntemi ile üretici firma çalışma prosedürlerine göre yapılmıştır. Tanımlanan suşların antimikrobiyal duyarlılık testleri Phoenix 100® (Becton Dickinson, ABD) cihazı kullanılarak, Gram negatif test panelleri (NMIC/ID-82® ve

UNMIC/ID-83®, Becton Dickinson, ABD) üretici firma çalışma prosedürlerine göre yine Mikrobiyoloji laboratuvarı tarafından yapılmıştır.

6.6. İdentifikasyon ve Kültür

Hastanede yatan 179 hastanın çeşitli örneklerinden MALDI-TOF MS sistemi kullanılarak *Acinetobacterbaumanni* olarak tanımlanan izolatlar, yağsız süt ve gliserol içerisinde -80 °C'de çalışmanın gerçekleştirileceği zamana kadar bekletilmiştir. Böylece DNA izolasyonu aşamasına kadar izolatların tekrar canlandırılarak üretilmesi sağlanabilmiştir. Çalışma öncesinde ise kanlı agar besiyerine ekimi yapılarak 35.5°C'de 18-24 saat etüvde bekletilerek koloni oluşumları gözlemlenmiştir. Bu aşamadan sonra üremenin gerçekleştiği izolatlar ikinci kez pasajlanarak tek koloni ekimleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kolonilerin Microflex LT MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Almanya) cihazı ile tanımlama işlemleri üretici firma çalışma prosedürlerine göre yapılarak *Acinetobacter baumannii* oldukları doğrulanmıştır. Üretici firma (Bruker Daltonics, Almanya), 1,7'nin altında elde edilen skor değerlerinin güvenilirlik seviyesini geçemediğini, 1,7-2,0 arasında elde edilen skor değerlerinin cins düzeyinde güvenilir tanımlama, 2,0-3,0 arasında elde edilen skor değerlerinin ise hem cins hem de tür düzeyinde güvenilir tanımlamaları gösterdiğini bildirmektedir. Çalışmamızda değerlendirdiğimiz *Acinetobacter baumannii* doğrulamaları 2,0 ve üzeri güvenilirlik skorları elde edilen tanımlamalardan elde edilmiştir.

6.7. DNA İzolasyonu

- Kültür ortamında taze olarak üretilen 179A. *baumanni* suşu öze yardımı ile mikrosantrifüj tüplerine alınmıştır.
- Daha sonra örneklerin üzerine 100 µl steril distile su (dH₂O) eklenerek 10 dakika kaynatılmıştır.
- 10 dksantrifüjleme (13000 xg) gerçekleştirilmiş ve süpernatant -20 °C'de PZR aşamasında kalıp DNA olarak kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir [78].
- DNA izolasyonu sonrasında izolasyonu gerçekleştirilen DNA'ların kalite ve kantite tayinleri nanodrop cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

- Bu ölçümler sonucunda DNA konsantrasyonu (ng/μl) ve olası protein kontaminasyonları için A260/A280 değerleri belirlenmiştir.
- Buradan elde edilen konsantrasyon değerleri kullanılarak PZR reaksiyonları dizayn edilmiştir.
- Her bir örnek için PZR reaksiyonu içerisine 100 ng DNA olacak şekilde uygun hacimde örnek konulmuştur. (50 μl PZR reaksiyon hacmi)
- DNA izolasyonu yapılan 179 *A. baumannii* izolatından, kalite ve kantite tayinleri uygun olduğu görülen toplam 132 DNA örneği rep-PZR uygulamaları için seçilmiştir.

6.8. Rep-PZR Uygulamaları

Total genomik DNA izolasyonu sonrasında *A. baumannii* suşlarının klonal ilişkisinin belirlenmesi amacıyla rep-PZR yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla kullanılan primerler ve özellikleri Tablo 9’ da gösterilmiştir[120].

Tablo 9. Kullanılan primerlere ait diziler ve özellikleri.

Primer Adı	Dizisi (5'→3')	T _m Değeri °C
REP 1	III GCG CCG ICA TCA GGC	58,4
REP 2	ACG TCT TAT CAG GCC TAC	53,8

Bu kapsamdan PZR reaksiyonu sırasında primer bağlanma sıcaklığı (TA, annealing) T_m değerlerinden hareket edilerek gradient PZR uygulamasına gidilerek belirlenmiştir. Tüm PZR reaksiyonları 50 μl son hacimde hazırlanmıştır. PZR uygulamalarında Bio-Rad T100™ ThermalCycler kullanılmıştır.

50 μl’lik reaksiyon hacminin içeriği ise aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Tablo 10. PZR reaksiyon hacminin içeriği. (50 µl için)

1,5 U	Taq DNA polimeraz
5 µl 10 ×	reaksiyon tamponu (100 mM Tris-HCl, pH 8,8, 500 mM KCl, %0,8 Nonidet P-40)
20 pmol	primer çiftlerinin her biri (Macrogen)
0,2 mM	her bir dNTP (MBI Fermentas)
3 mM	MgCl ₂
100 ng	kalıp DNA

PZR koşulları ve izlenen adımlar aşağıda gösterilmiştir:

- 94 °C 10 dakika başlangıç denatürasyonu
 - 94 °C 1 dakikadenatürasyon
 - 42,8 °C 1 dakika primer bağlanma (Annealing)
 - 68 °C 6 dakika uzama (Extension)
 - 68 °C 10 dakika son uzama
- } 33 Döngü

6.9. PZR ürünlerinin Görüntülenmesi ve Veri Analizleri

Tüm örneklerin PZR işlemlerinin tamamlanmasından sonra örnekler;

➤ 0.5 µg/ml etidyum bromür içeren %1'lik agaroz jele yüklenerek belirteç (ThermoScientific™ GeneRuler™ Katalog No: SM0331) varlığında cm² 4-6 V elektrik uygulanarak yürütülmüştür.

➤ PZR ürünleri jel üzerinde ¾ birim mesafe (9 cm'lik jel üzerinde) yürütüldükten sonra jel UV ışık altında görüntülenerek jel fotoğrafları tiff formatında bilgisayar ortamına aktarılmıştır.

➤ 132 örnek için 22 kuyucuk içeren elektroforez targağı kullanılarak 7 farklı jel hazırlanarak örnekler yürütülmüştür.

➤ Her sıra baş ve sonda olmak üzere 2 belirteç içermektedir.

➤ Analizler için BioNumerics V7.5 (Applied Maths) programı kullanılmıştır.

➤ Programa yüklenen fotoğraf dosyaları üzerinde marker ve PZR ürünlerinin bant profilleri otomatik olarak belirlenmiş ve bantlar kontrol edilerek düzenlenmiştir. Jel nedeniyle konumlarda oluşan hatalar iki belirtecin bir birine göre konumu ile normalize edilmiştir.

➤ Tüm örneklere ait bant paterni verileri birleştirilerek analiz edilmiştir.

➤ Daha sonra bant profillerinin karşılaştırılması benzerlik katsayısı (Similaritycoefficient) olarak Dice, optimizasyon %1, tolerans %1 ve diğer parametreler değiştirilmeden kullanılarak UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic mean; Sokal ve Michener 1958) dendogramları oluşturulmuştur.

➤ Oluşturulan dendogramlar içerisinde % 95 benzerlik gösteren gruplar Cluster 1-24 olarak adlandırılmıştır.

7. BULGULAR

Çalışmamızda 2012-2018 yılları arasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden üretilen 179 *Acinetobacterbaumannii* bakterisinin tedavide kullanılan antimikrobiyallere karşı direnç durumları belirlenmiş olup tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11. 2012-2018 yılları içerisinde izole edilen *Acinetobacterbaumannii* izolatlarının Antibiyotik Direnç Oranları.

Antimikrobiyal madde	Direnç oranı (n=179) (%)	Dirençli izolat sayısı (n=179)
Kolistin	4,4	8
Gentamisin	97,7	175
Sefepim	98,3	176
İmipenem	100	179
Meropenem	100	179
Amikasin	88,8	159
Siprofloksasin	100	179
Trimetoprim-sülfametoksazol	88,2	158

Çalışmamızda sonuçlarını değerlendirdiğimiz 179 *Acinetobacter* izolatının direnç durumlarını değerlendirdiğimizde en düşük direnç oranının % 4.4 ile Kolistin’e karşı olduğu görülürken, diğer antimikrobiyallere karşı direnç oranlarının oldukça yüksek olduğu görülmüştür.

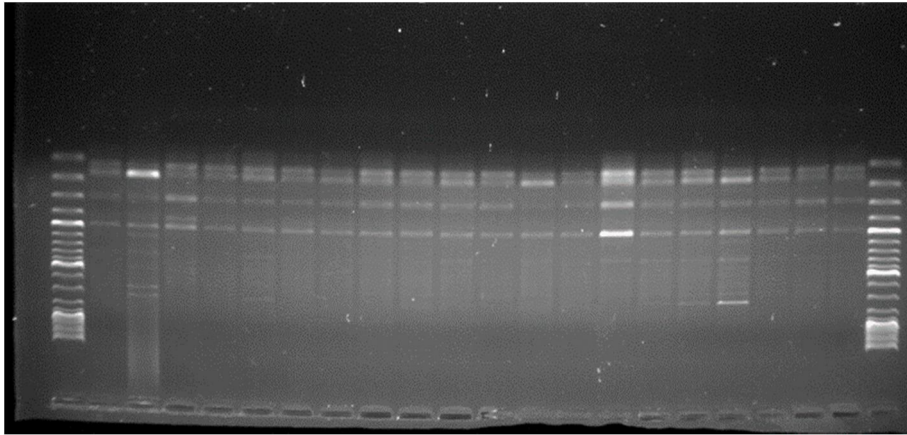
a) Jel 1

Tablo 12. Jel-1 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.

Suş numarası	Yıl	Duyarlılık	Klinik	Numune
*				
1	2013	col_tmx	AYB	Balgam
2	2013	col_tmx	AYB	Balgam
5	2013	col	AYB	Balgam
6	2013	col_amik	G	Balgam
7	2013	col_tmx	INT	Idrar
8	2013	col	G	Idrar
9	2012	col_tmx	AYB	Balgam
10	2013	col_amik_sef	AYB	Balgam
11	2013	col_amik_sef	AYB	Balgam
13	2013	col_tmx	AYB	Balgam
14	2013	col	AYB	Balgam
15	2013	col_tmx	ONK	Balgam
16	2013	col	DAH	Kan
17	2013	col_tmx	AYB	Balgam
18	2013	col	END	Idrar
19	2013	col_tmx	AYB	Idrar
20	2013	col	AYB	Balgam
23	2013	all-r	AYB	Balgam
24	2013	col	GC	Aspirat
29	2013	col_amik	AYB	Balgam
*				

* İlk ve son örnek belirteç yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir. Col: Kolistin,

tmx: Trimethoprim-Sulfametaksazol, amik: Amikasin, sef: Sefepim, all-r: Hepsi dirençli.



Resim 8. Jel-1 görüntüsü. (İlk ve son örnek belirteç, yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir.)

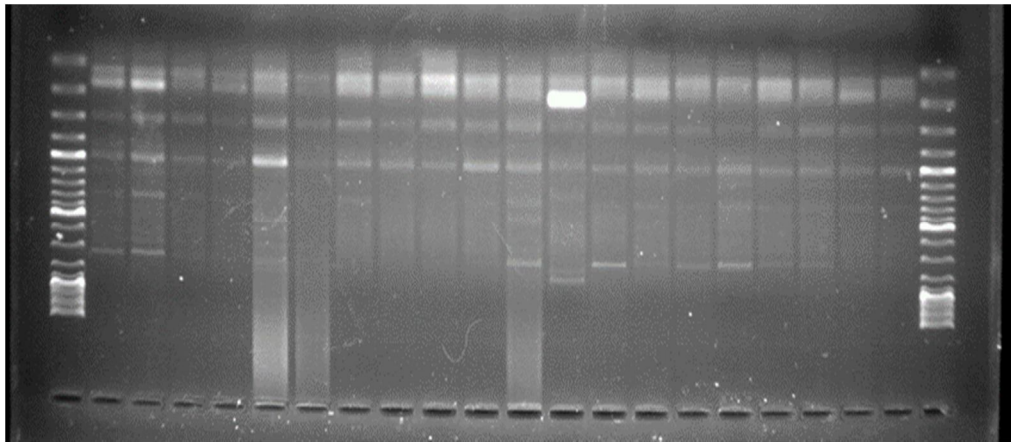
b) Jel 2

Tablo 13. Jel-2 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.

Suş numarası	Yıl	Duyarlılık	Klinik Servis	Numune
*				
36	2013	col	NFR	Balgam
37	2013	col_tmx	AYB	Balgam
38	2013	col_amik	PL	Yara
40	2013	col_tmx	AYB	Balgam
41	2013	col_amik	GC	Aspirat
42	2013	col	AYB	Balgam
44	2014	col	KVC	Balgam
45	2014	col	HM	Kan
46	2014	col_tmx_amik_genta	AYB	Balgam
47	2014	col	ONK	Balgam
48	2014	col_amik	AYB	Balgam
49	2014	all-s	DRM	Yara
50	2014	col_amik	DAH	Kan
51	2014	col	AYB	Kan
52	2014	col_amik	AYB	Balgam
54	2014	col_tmx	GSR	Kan
55	2014	col_amik	AYB	Kan
56	2014	col	NFR	Kateter
58	2014	col	AYB	Balgam
59	2014	col	AYB	Balgam
*				

* İlk ve son örnek belirteç yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir. Col: Kolistin,

tmx: Trimethoprim-Sulfametaksazol, amik: Amikasin, genta: Gentamisin, all-s: Hepsi dirençli.



Resim 9. Jel-2 görüntüsü. (İlk ve son örnek belirteç, yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir.)

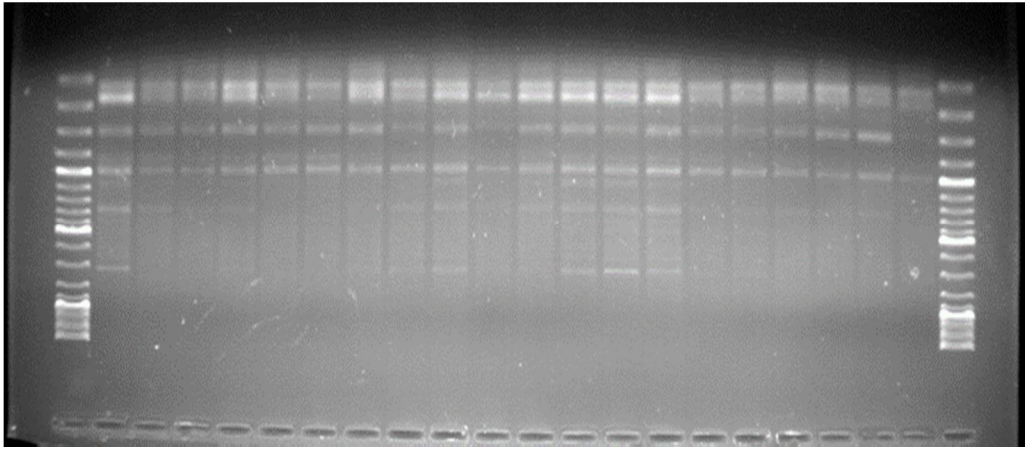
c) Jel 3

Tablo 14. Jel-3 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.

Suş numarası	Yıl	Duyarlılık	Klinik Servis	Numune
*				
60	2014	col	PL	Yara
61	2014	col	AYB	Balgam
63	2014	col	GC	Aspirat
64	2014	col_tmx	PL	Yara
65	2014	col	AYB	Balgam
66	2014	col_tmx	ORT	Yara
68	2014	col_amik	AYB	Balgam
69	2014	col	AYB	Balgam
70	2014	col_amik	AYB	Balgam
71	2014	col	AYB	Balgam
72	2014	col_tmx	AYB	Balgam
73	2014	col	AYB	Balgam
74	2014	col	AYB	Balgam
75	2014	col_tmx	AYB	Balgam
76	2014	col_amik	AYB	Balgam
78	2014	col	AYB	Balgam
80	2014	all-r	ENF	Idrar
81	2014	col_genta	AYB	Yara
82	2015	col	AYB	Balgam
83	2015	col_amik	G	Balgam
*				

* İlk ve son örnek belirteç yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir. Col: Kolistin,

tmx: Trimethoprim-Sulfametaksazol, amik: Amikasin, genta: Gentamisin, all-s: Hepsi dirençli.



Resim 10. Jel-3 görüntüsü. (İlk ve son örnek belirteç, yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir.)

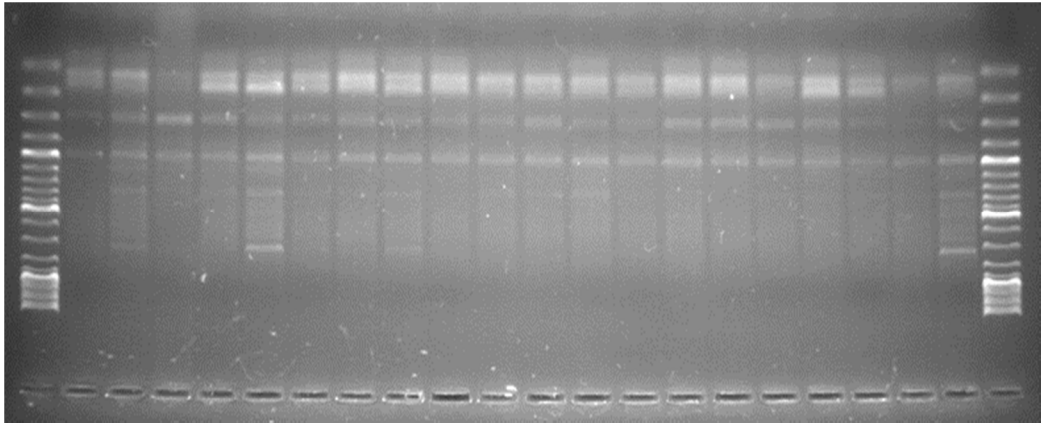
d) Jel 4

Tablo 15. Jel-4 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.

Suş numarası	Yıl	Duyarlılık	Klinik Servis	Numune
*				
84	2015	col_amik	G	Balgam
85	2015	col	ENF	Yara
86	2015	col	DAH	Aspirat
87	2015	all-r	NFR	Idrar
88	2015	all-r	AYB	Balgam
89	2015	col	GC	Yara
90	2015	col_tmx	HM	Balgam
91	2015	col_tmx	AYB	Idrar
93	2015	all-r	DAH	Idrar
94	2015	col	AYB	Balgam
95	2015	col	AYB	Balgam
96	2015	col	AYB	Balgam
98	2015	col	URO	Idrar
99	2015	col	GC	Yara
100	2015	col	AYB	Balgam
101	2015	col	AYB	Balgam
103	2015	col	AYB	Balgam
108	2016	col	AYB	Balgam
109	2016	col	GC	Yara
110	2016	col	GC	Balgam
*				

* İlk ve son örnek belirteç yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir. Col: Kolistin,

tmx: Trimethoprim-Sulfametaksazol, amik: Amikasin, all-r: Hepsi dirençli



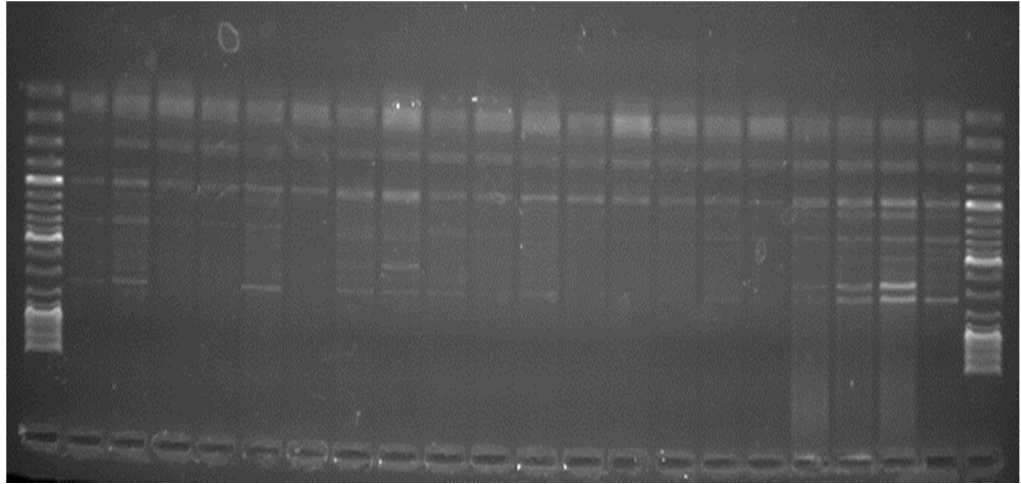
Resim 11. Jel-4 görüntüsü. (İlk ve son örnek belirteç, yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir.)

e) Jel 5

Tablo 16. Jel-5 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.

Suş numarası	Yıl	Duyarlılık	Klinik Servis	Numune
*				
111	2016	col	NOR	Idrar
112	2016	col	PL	Yara
113	2016	col	PL	Yara
114	2016	col	PL	Yara
115	2016	col	PL	Yara
116	2016	col	ENF	Yara
119	2016	col	PL	Yara
120	2016	col	PL	Yara
121	2016	col	AYB	Balgam
122	2016	col	ENF	Idrar
123	2016	col	G	Balgam
124	2016	col	DAH	Yara
125	2016	col	DAH	Yara
126	2016	col	AYB	Yara
127	2016	col	YDS	Yara
128	2017	col	AYB	Yara
129	2017	col	PL	Yara
130	2016	col	AYB	Balgam
131	2016	col	HM	Idrar
132	2016	col	AYB	Idrar
*				

* İlk ve son örnek belirteç yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir. Col: Kolistin,



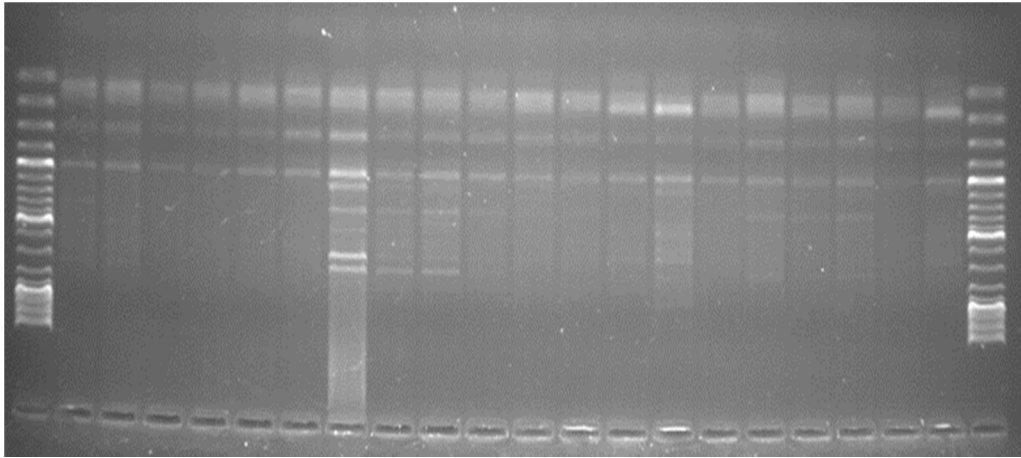
Resim 12. Jel-5 görüntüsü.(İlk ve son örnek belirteç, yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir.)

f) Jel 6

Tablo 17. Jel-6 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.

Suş numarası	Yıl	Duyarlılık	Klinik Servis	Numune
*				
135	2017	col	PL	Yara
136	2017	col_tmx	AYB	Balgam
137	2017	col	GC	Yara
138	2017	col	GC	Kan
139	2017	col	ENF	Yara
140	2017	col	AYB	Balgam
141	2017	col	GC	Yara
142	2017	col	AYB	Yara
143	2017	col	URO	İdrar
144	2017	col	AYB	Balgam
149	2017	all-r	AYB	Balgam
153	2017	col_genta	AYB	Balgam
154	2017	col	GC	Yara
155	2017	col	AYB	Balgam
156	2017	col	ENF	İdrar
157	2017	col	GC	Yara
158	2017	col	ENF	Yara
159	2017	col	GC	Yara
160	2017	col_amik	GC	Yara
161	2017	col_amik	GC	Yara
*				

* İlk ve son örnek belirteç yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir. Col: Kolistin, tmx: Trimethoprim-Sulfametaksazol, amik: Amikasin, genta: Gentamisin, all-r: Hepsini dirençli.



Resim 13. Jel-6 görüntüsü.(İlk ve son örnek belirteç, yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir.)

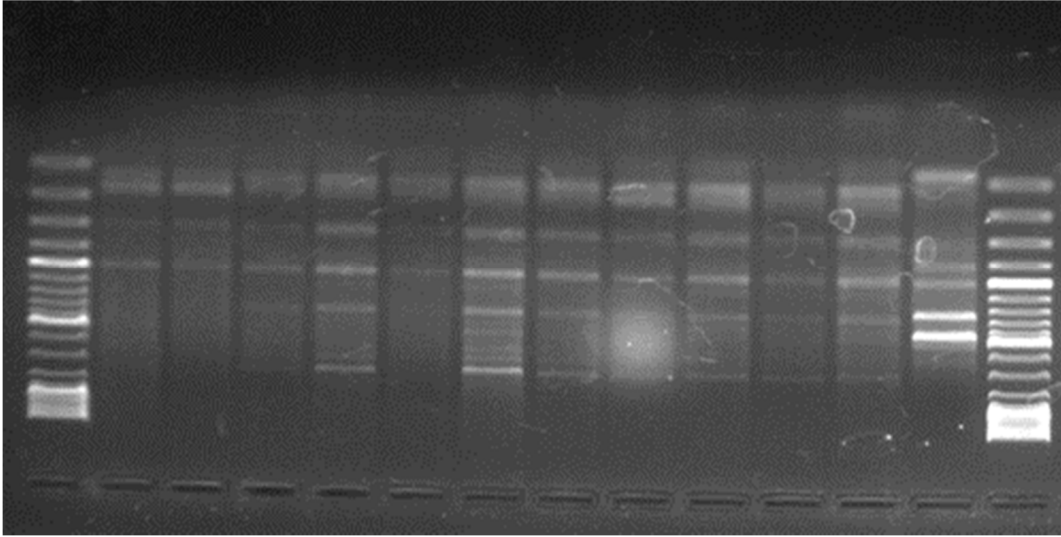
g) Jel 7

Tablo 18. Jel-7 örneklerine ait yıl, duyarlılık, klinik ve numune bilgileri.

Suş numarası	Yıl	Duyarlılık	Klinik Servis	Numune
*				
163	2017	col	AYB	Balgam
164	2017	col	AYB	Balgam
165	2017	col	GC	Yara
166	2017	col	AYB	Balgam
Erva-194	2018	all-r	PED	Balgam
167	2017	col	FTR	Balgam
168	2017	col	AYB	Balgam
173	2018	col	PED	Yara
174	2018	col	DAH	Kateter
175	2018	col	DAH	Idrar
178	2018	col	AYB	Balgam
179	2018	all-r	AYB	Balgam
*				

* İlk ve son örnek belirteç yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir. Col: Kolistin,

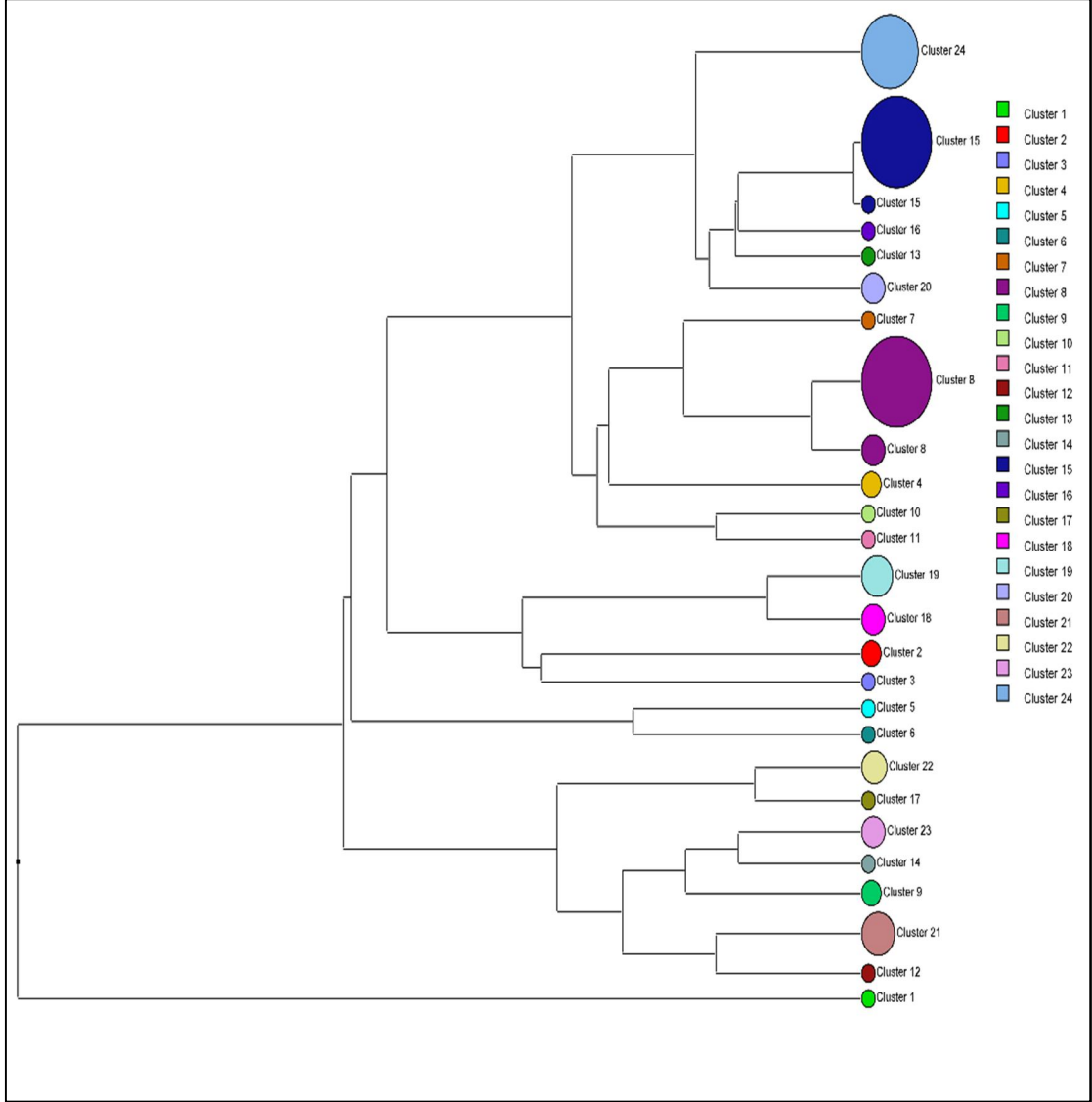
all-r: Hepsi dirençli.



Resim 14. Jel-7 görüntüsü.(İlk ve son örnek belirteç, yüklenmiş kuyuları temsil etmektedir.)

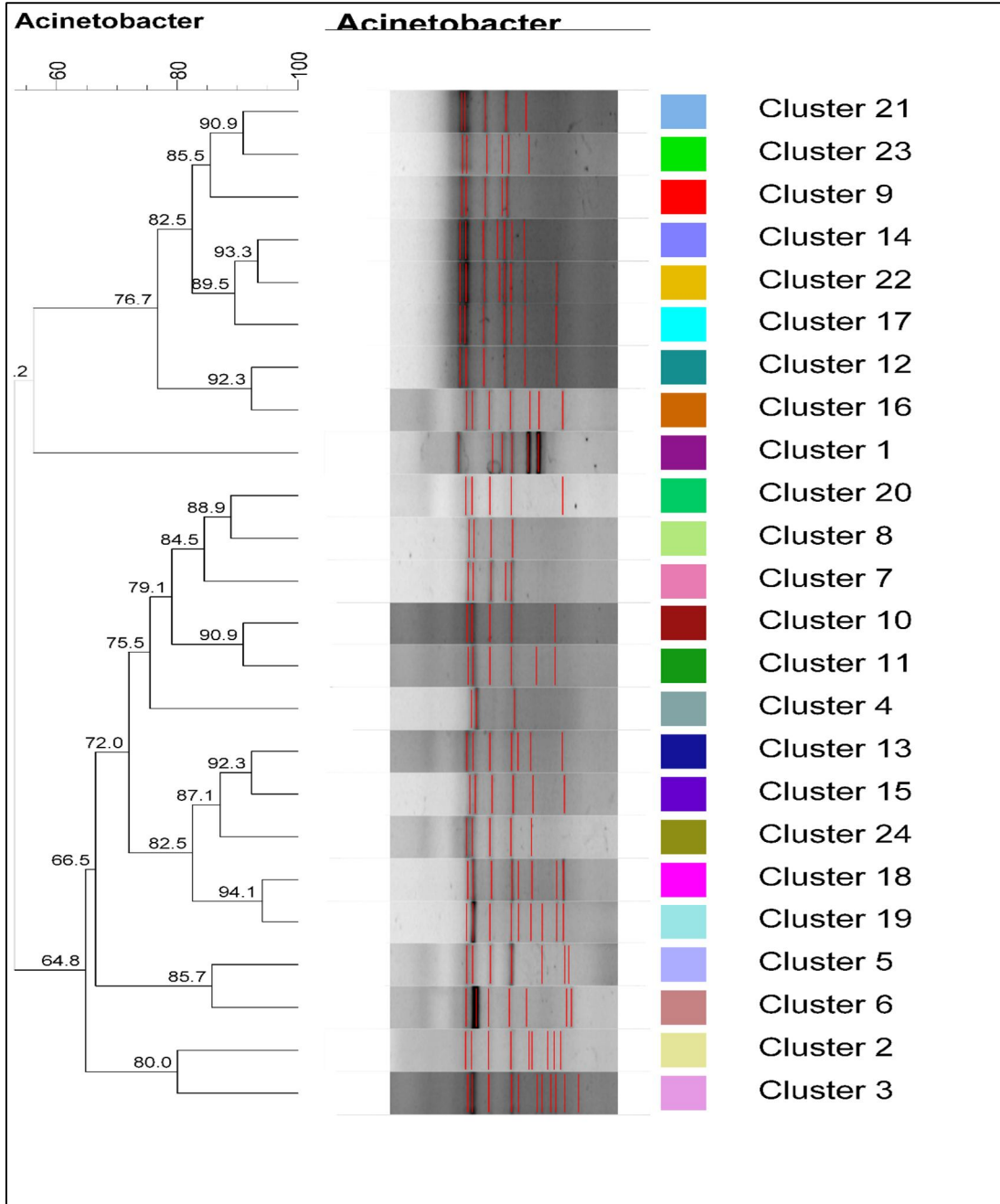
b) Özet Dendogramlar

Oluşturulan dendogram analizinde *A. baumannii*' ye ait 24 Cluster (Küme) tespit edilmiştir (Şekil 2). Gruplar içerisinde Cluster 8, Cluster 15 ve Cluster 24 baskın gruplar olarak göze çarpmaktadır.



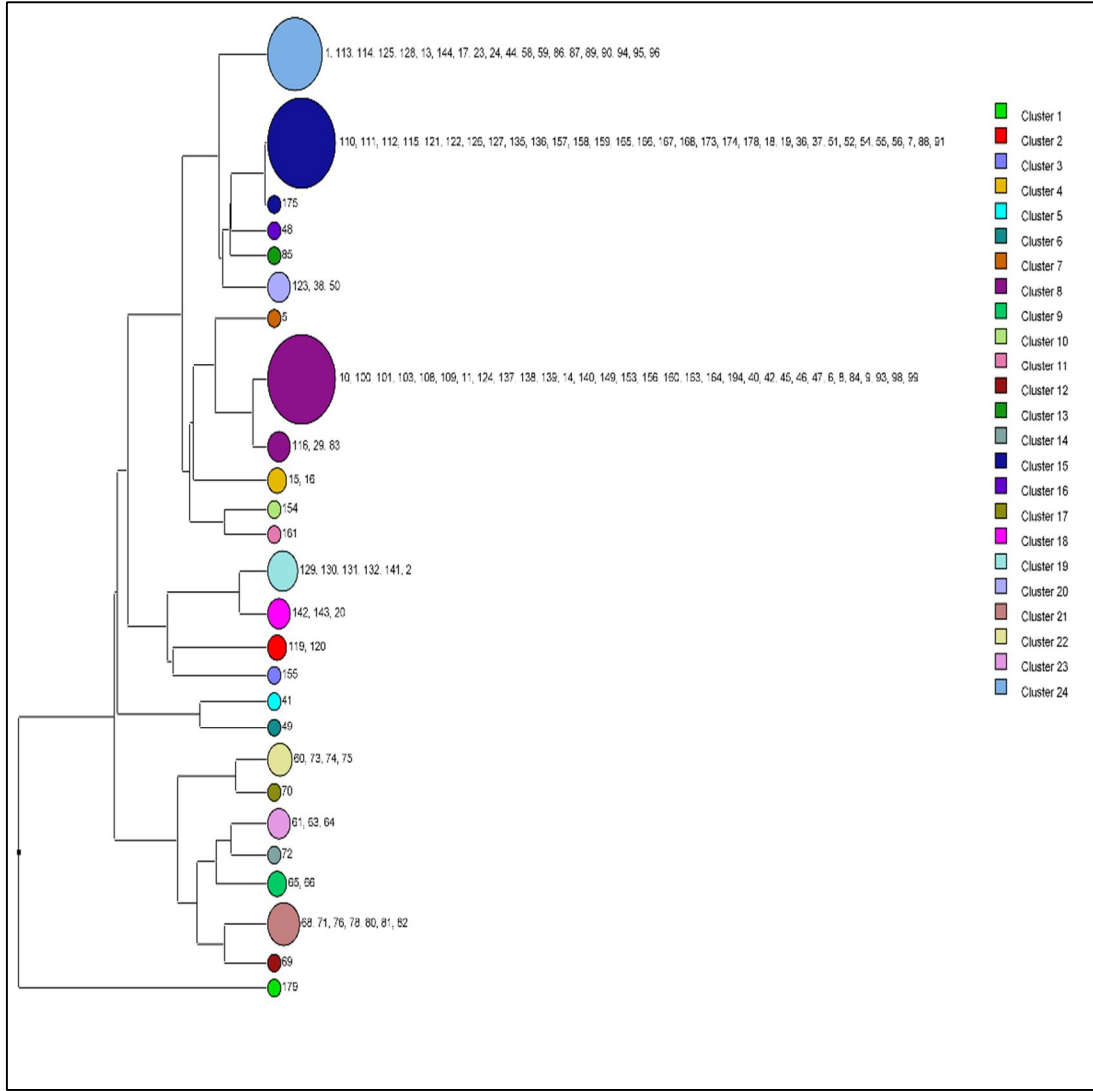
Şekil 2. % 95 benzerlik oranına göre oluşan gruplara ait UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) dendogramı-Aritmetik Ortalamayı Kullanan Ağırlıksız Çift Grup Yöntemi) % 100 benzer olanlar tek bir dalda toplanmıştır.

Aşağıdaki şemada, çalışmamız sonunda oluşturulan dendrogram ve izolatlar arasındaki epidemiyolojik ilişki bakteriler arasındaki % 95'lik benzerlik oranına bakılarak yapılmıştır. Bu benzerlik baz alınarak yapılan yapılan 24 küme ve aralarındaki benzerlik yüzdeleri şekil 3'te gösterilmiştir.

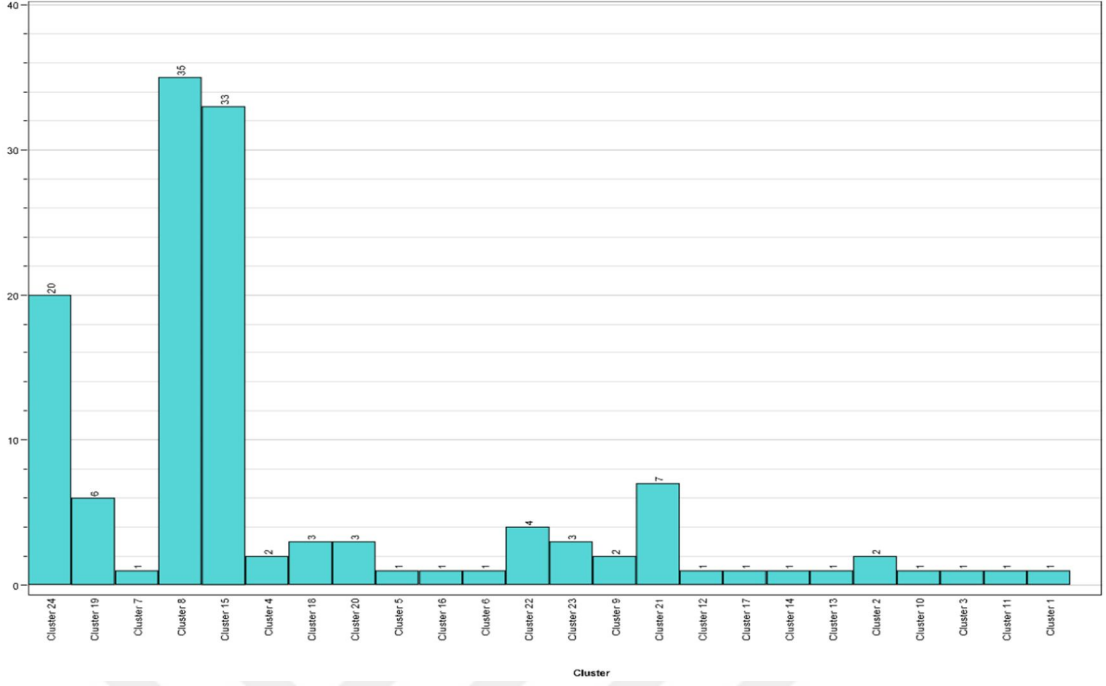


Şekil 3. % 95 benzerlik oranına göre oluşan gruplara ait UPGMA dendrogramı, temsili tüm grupların gösterimi.

Aşağıdaki dendogramda % 95 benzerlik oranlarına göre yapılan gruplandırma görülmektedir. Toplam 132 izolatin hangi kümeler içinde yer aldığı şekil 4 ve grafik 1’de ayrı ayrı gösterilmiştir. Tespit edilen 24 grup içerisinde 8. cluster 35 izolatla, 15. cluster 32 izolat ve 24. cluster ise 20 izolat ile en yoğun gruplar olarak görülmektedir.

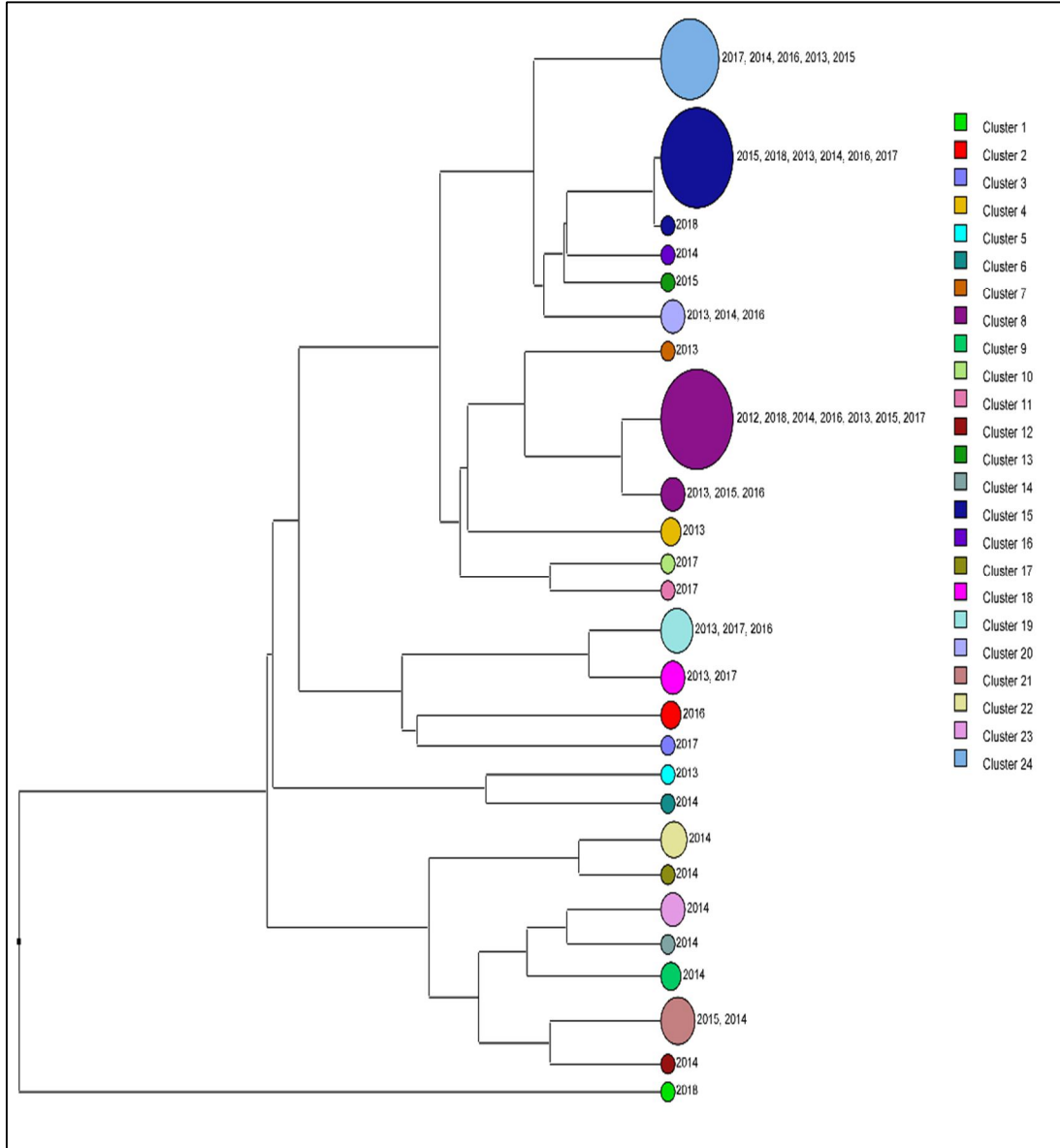


Şekil 4. % 95 benzerlik oranına göre oluşan gruplara ait UPGMA dendogramı, suşlar ile gösterimi.

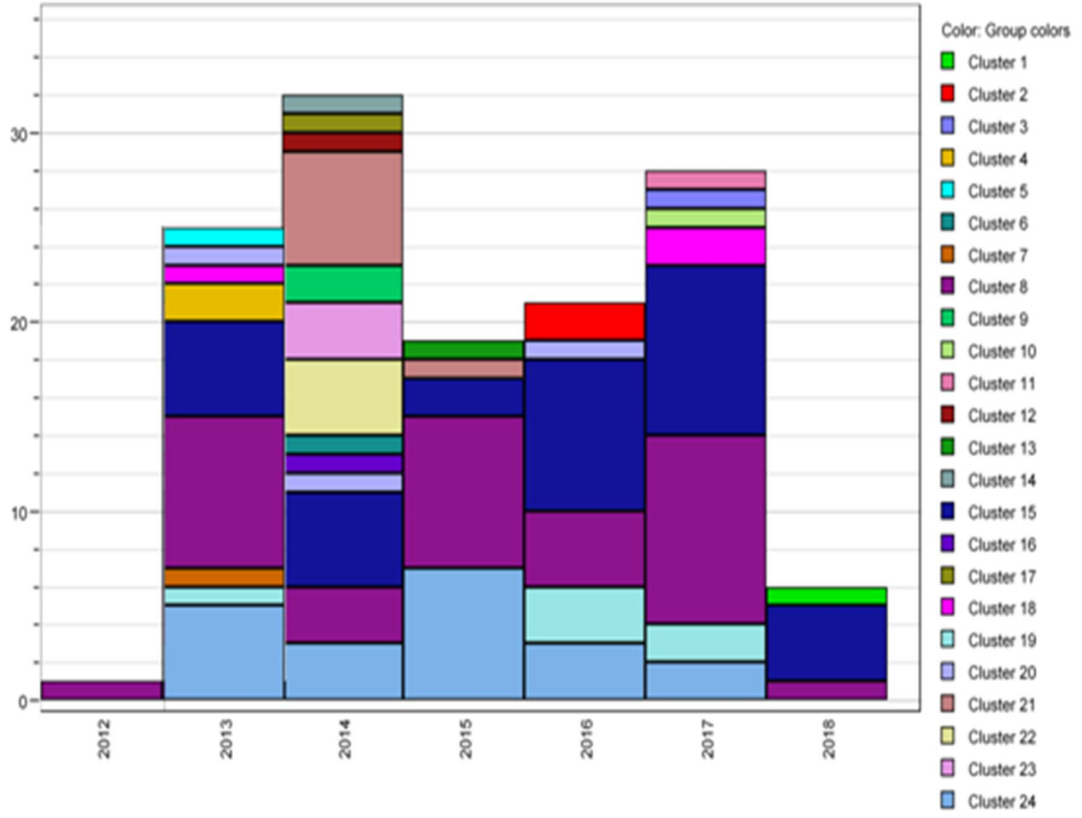


Grafik 1. % 95 benzerlik oranına göre oluşan grupların grafiği.

Aşağıdaki şekil 5 ve grafik 2’de Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi’nde 2012 ve 2018 yılları arasında çalışmaya alınan izolatların yıllara göre dağılımı görülmektedir. Yedi yıl içinde çalışmaya dâhil edilen izolatların dendogram değerlendirmesine göre üç cluster için yoğunluk görülmektedir. Özellikle 8. Sınıfa ait örneklerin 2012’den, 2018’e kadar hastanede varlığını sürdürdüğü görülmüştür.



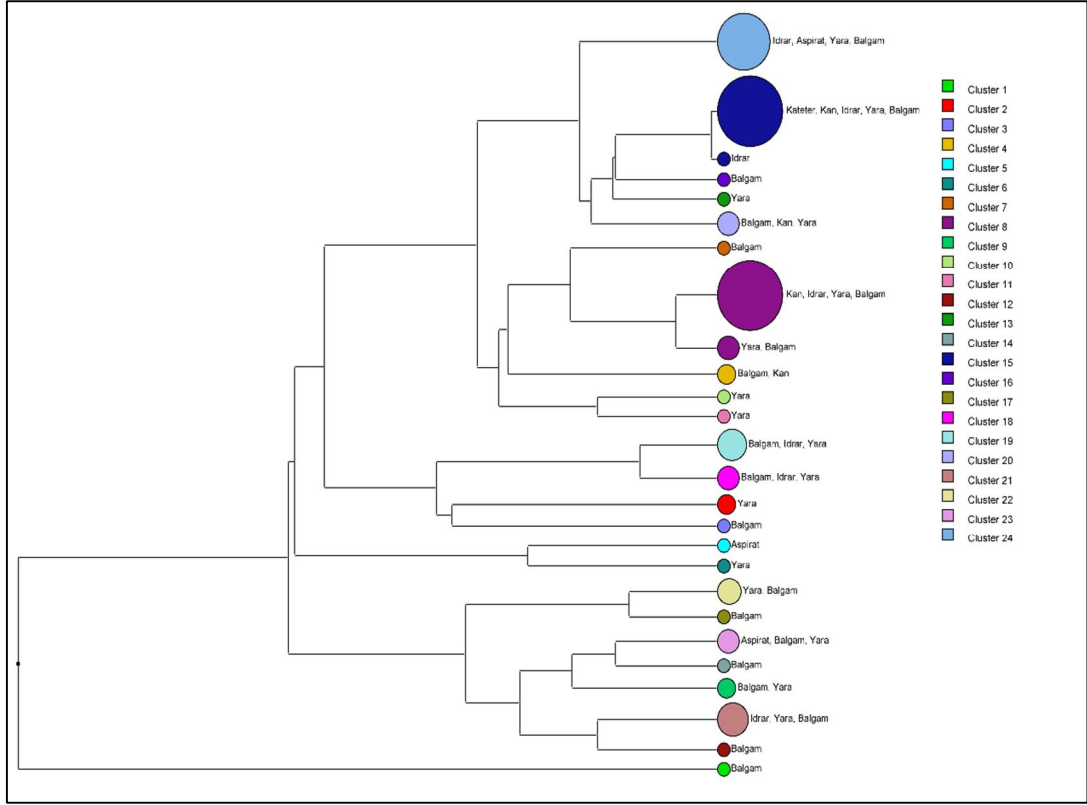
Şekil 5. % 95 benzerlik oranına göre oluşan gruplara ait UPGMA dendrogramı, yıllar ile gösterimi.



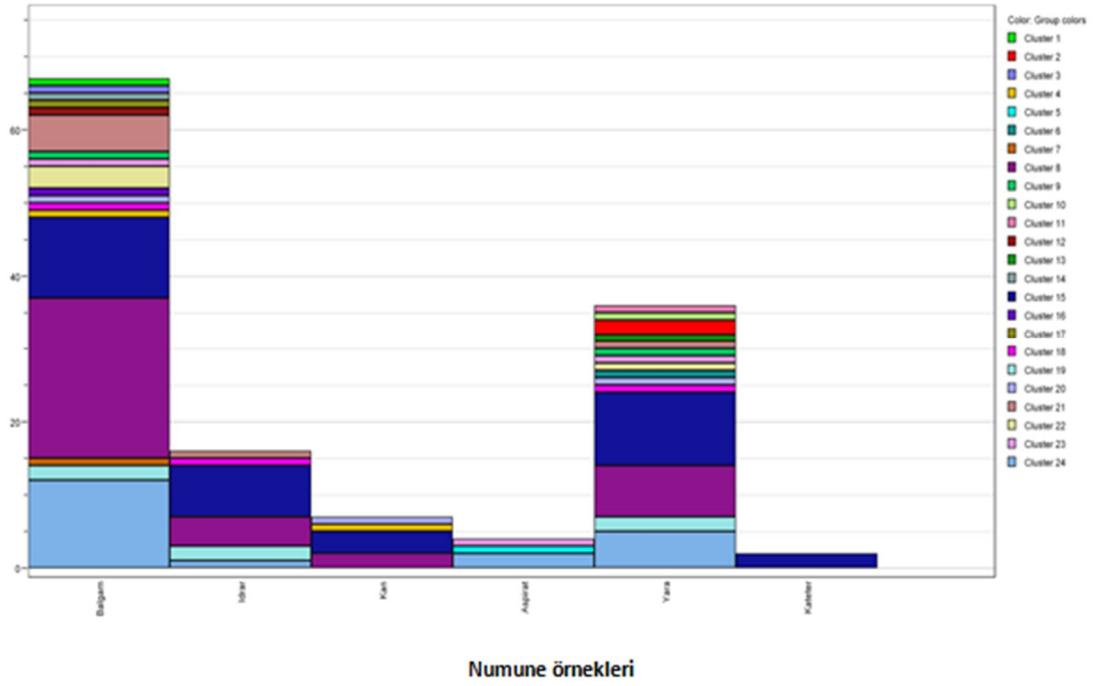
YILLAR

Grafik 2. Grupların yıllara göre dağılımı.

Aşağıdaki şekil 6 ve grafik 3’de görüldüğü gibi çalışmamızda balgam örnekleri % 50,7 (n=67) ile en çok *A. baumannii* izole edilen grubu oluşturmuştur. Diğer izolasyonlar yara, kan, idrar ve aspirat kültürlerinden elde edilmiştir. Örneklerin dağılımı şekil 6’da gösterilmiştir.

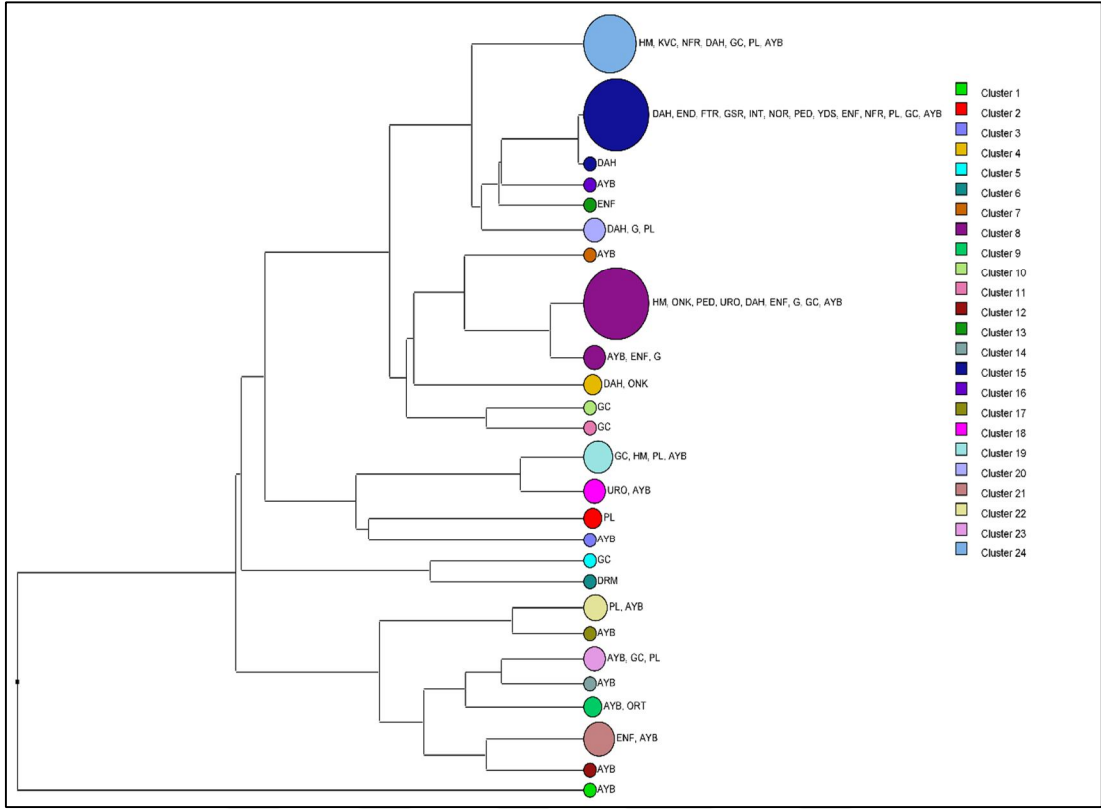


Şekil 6. % 95 benzerlik oranına göre oluşan gruplara ait UPGMA dendrogramı, doku ile gösterimi.

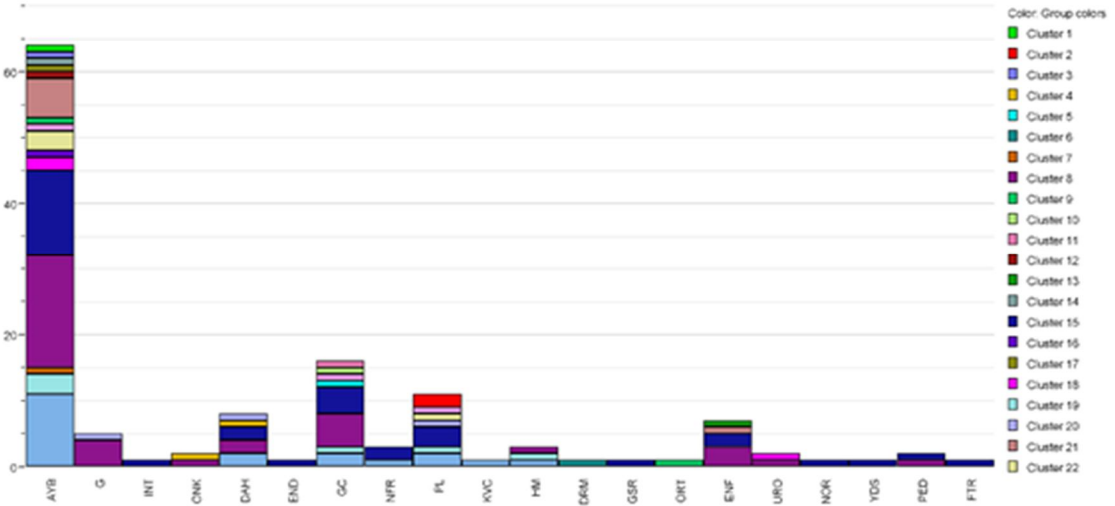


Grafik 3. Grupların alınan numune örnek tiplerine göre dağılımı.

Aşağıdaki dendogramda ise izole edilen *A. baumannii* bakterilerinin oluşturduğu grupların kliniklere göre dağılımı ele alındığında yoğun bakım ünitelerinin tüm servislerin neredeyse yarısını oluşturduğu görülmüştür. Tüm kliniklerin dağılımı şekil 7’de ve grafik 4’de ayrıntılı olarak görülmektedir.



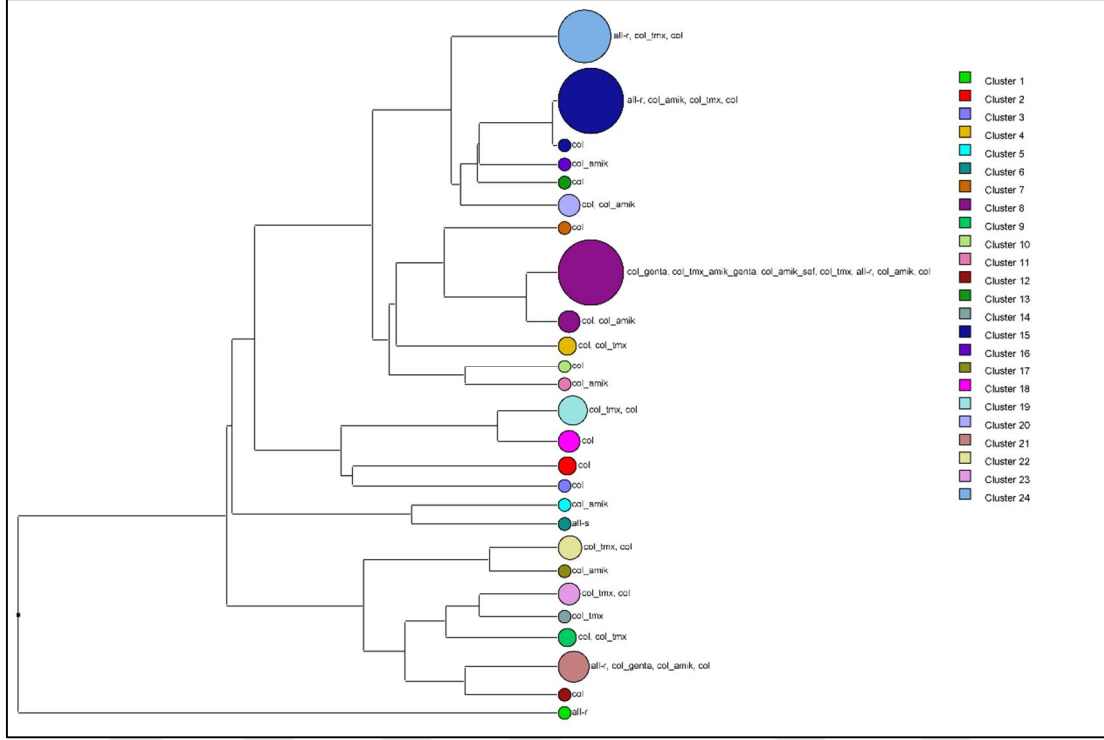
Şekil 7. % 95 benzerlik oranına göre oluşan gruplara ait UPGMA dendrogramı, klinikgösterimi.



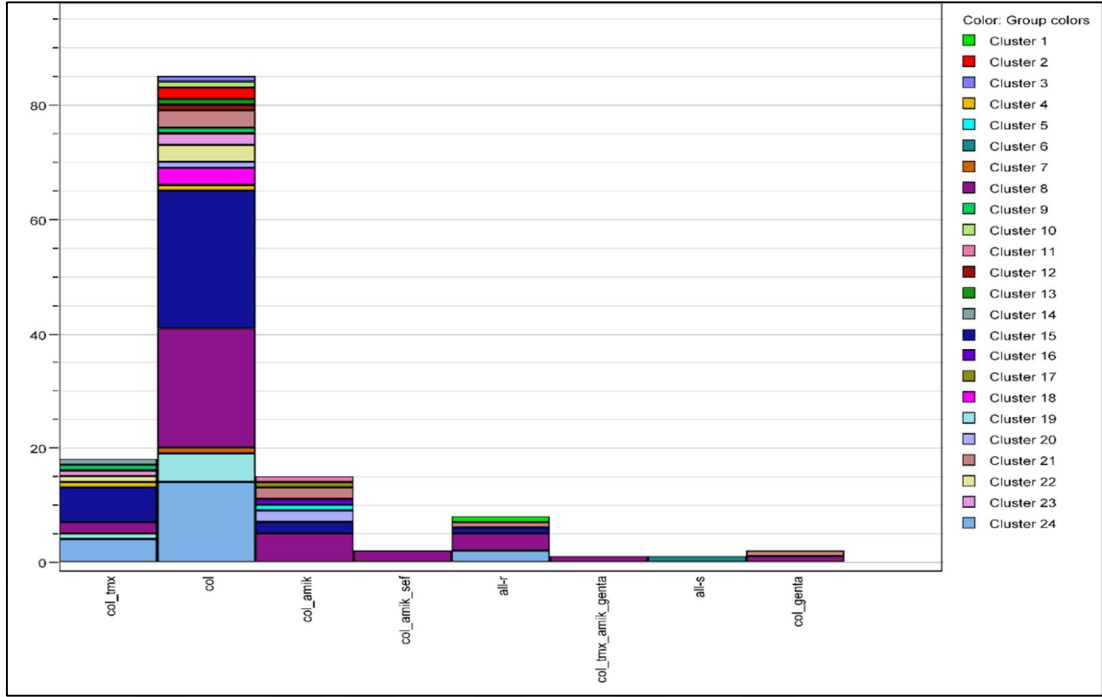
Klinikler

Grafik 4. Grupların kliniklere göre dağılımı.

Aşağıda ise oluşan 24 grubun antibiyotik duyarlılığına göre dağılımı şekil 8’de ve grafik 5’de ayrıntılı olarak verilmiştir. Çalışmada en fazla duyarlılığın kolitsin grubu antibiyotiklere olduğu görülmektedir.



Şekil 8. % 95 benzerlik oranına göre oluşan gruplara ait UPGMA dendogramı, antibiyotik duyarlılığı gösterimi.



Grafik 5. Grupların antibiyotik duyarlılığına göre dağılımı.

8. TARTIŞMA

Hastane enfeksiyonları günümüzde maliyeti ve mortalitesinin yüksek olması sebebiyle tüm dünya ülkelerini ilgilendiren önemli bir klinik sorun olarak değerlendirilmektedir[1]. Dünya Sağlık Örgütü'nün açıkladığı verilere göre, hastanede yatarak tedavi gören hastaların % 10'unda hastane enfeksiyonu görülmektedir[5].

Hastane kaynaklı enfeksiyonlar hastalarda fonksiyonel bozukluklar, yaşam kalitesinin düşmesi, hastanede yatış süresinin uzaması, ilaç kullanımının ve ekonomik yükün artmasının yanında ölüm gibi olumsuz sonuçlara neden olmaktadır [12]. Mekanik ventilasyon, travma ve cerrahi işlemler nozokomiyal enfeksiyonları için risk teşkil etmektedir [2,121]. Ayrıca hastane enfeksiyonları, taburcu olan hastalar, çalışanlar ya da ziyaretçiler yoluyla da hastane dışına ve topluma da yayılabilmektedir [12].

Hastanede yatan hastaların kolonizasyon ve enfeksiyonunda *Acinetobacter* türlerinin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir[121]. Birçok antibiyotiğe direnç göstermeleri sebebiyle *Acinetobacter* türleri hastanede yatan hastalar için ciddi risk oluşturmaktadırlar [121]. Bu direnç hastaneler ve ülkeler arasında farklılık gösterebilmektedir. Çünkü antibiyotik direnci, antibiyotik kullanma alışkanlığı ve çevresel faktörler bu farklılığa neden olmaktadır. *A. baumannii* ile kolonizasyon oranı hastanede yatan hastalarda sağlıklı bireylere kıyasla çok daha yüksek düzeyde tespit edilmektedir [4-7].

Ülkemizde ve yurtdışında yapılan çalışmalarda yatarak tedavi alan ve hastane enfeksiyonları gelişen hastalarda hem YBÜ ve hem de hastane genelinde mortalitenin artmış olduğu belirtilmiştir [3]. Yoğun antibiyotik kullanımının yarattığı seçilmeden ötürü, hastane ortamında antibiyotiğe dirençli bakteriler çok yaygındır. Bu nedenle hastane kaynaklı enfeksiyonlar, büyük olasılıkla, dirençli bakterilerce oluşturulur ve bu bakteriler çok sayıda antibiyotiğe dirençlidir. Bakterilerdeki bu direnç toplumdaki antibiyotik kullanımıyla ilişkilidir ve önce hastanelerde oluşur, sonra giderek topluma doğru yayılır[8-10].

Hastane enfeksiyonlarının kontrol programında başarıya ulaşmak için öncelikle hastane enfeksiyonları sürveyansı uygulanması geliştirilmelidir. Hastane enfeksiyon hızını en az düzeyde tutmak, salgınları önlemek ve kontrol edebilmek gibi sebeplerle hastanelerin sürveyans uygulaması zorunludur [1].

Bergogne-Berezin ve arkadaşları *Acinetobacter*'in hastane ortamına hızlı adaptasyon yeteneğine sahip, önemi giderek artan bir patojen olduğunu bildirmişlerdir[44].*A. baumannii*; bakteriyemi, üriner yol enfeksiyonları ve sekonder menenjitler gibi birçok nozokomiyal enfeksiyonlarla ilişkilendirilmiş olup, özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardaki ventilatör ilişkili pnömoni başta olmak üzere, nozokomiyal pnömoni ajanı olarak da baskın role sahiptir[44]. Kempf, Siau ve arkadaşları da pek çok merkezde *A.baumannii*'ye bağlı hastane kökenli pnömoni olgularında önemli bir artış olduğunu belirtmişlerdir [123,124]. Cisneros ve ark.'da *A. baumannii* içinyatan hastaların hemenyakınlarında ve çeşitli yüzeylerde uzun süre canlı kaldığından bu yüzeylerden hastalaradoğrudan veya hastane çalışanlarının elleriyle dolaylı olarak bulaşabileceğini belirtmişlerdir [125].

Çalışmamızda rep-PZR (tekrarlayan sekans bazlı PZR) kullanmamızın sebebi birçok çalışmada güvenilir bir metot olarak tercih edilmesidir. Rep-PZR yöntemi, bakteri suşu tiplemesi için etkili bir DNA tiplendirme yöntemi olarak kabul edilmiştir.

Iraz, Agodil ve arkadaşları, otomatize ve yarı otomatize sistemlerin, bakteri tanımlanması ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde tüm dünyada yaygın olarak kullanıldığını bildirmişlerdir[126,127]. Biz de yaptığımız çalışmada çabuk sonuç vermesi, daha az iş yükü gerektirmesi, nispeten ekonomik olması ve çoğunun laboratuvar ve hastane bilgi sistem ağıyla uyumlu olması nedeniyle çok sayıda klinik örnekle çalışılan laboratuvar sistemlerini kullanmayı tercih ettik.

Fontana, Saeed, Grisold ve arkadaşları yapılan çalışmalarda, rep-PZR ile alınan sonuçların f-AFLP yöntemi ile benzer olduğu; rep-PZR'nin ayırt edici gücünün, altın standart kabul edilen PFGE yöntemi ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu belirtmişlerdir. Biz de yaptığımız laboratuvar çalışmalarında rep-PZR yönteminin bu ayırt edici özelliğinden dolayı bu yöntemi tercih ettik [128,129,130].

Bayık ve ark. yayınlanan çalışmalarında rep-PZR yöntemini epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilecek ve enfeksiyon kontrol önlemlerine yardımcı olabilecek, hızlı, uygulaması ve değerlendirmesi kolay bir yöntem olduğu için tercih ettiklerini belirtmişlerdir [77].Bou ve ark'ı çalışmalarında rep-PZR kullanmayı tercih etmelerinin nedenini bant profilleri karşılaştırıldığında Rep-PZR'ın Arbitrary primed PZR'dan daha fazla ayırt edici olduğu ve PFGE tekniği gibi yüksek performans göstermesi olarak açıklamışlardır [76].

Reboli ve ark'ı da *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının epidemiyolojisini araştırmak amacıyla yaygın olarak uygulanan moleküler yöntemlerden birinin Rep- PZR olduğunu bildirmişlerdir. Mikroorganizmalar arasında klonal ilişkilerin belirlenmesinde PFGE yöntemi altın standart olarak kabul edilmekle birlikte; Rep-PZR, ayırım gücü yüksek, uygulaması ve yorumlaması PFGE'ye göre kolay bir genotipleme yöntemidir. Ayrıca Rep-PZR'nin PFGE ile iyi korelasyon gösterdiği bildirilmektedir[131].

Deplano ve ark. Diğer bir PZR'a dayalı tiplendirme metotlarına göre tekrarlanabilirlik ve performansın kolay olması bakımından en iyi yöntemin rep-PZR olduğunu belirtmişlerdir [132].Yine Tenover, Belkum ve ark.'da PFGE ile karşılaştırılacak olursa, rep -PZR'ın daha avantajlı olduğunu belirtmişlerdir. Bunun sebebini ise daha kolay ve hızlı performansa sahip olması şeklinde açıklamışlardır [114,118].

Yaptığımız çalışmada 132 izolat ile % 95 benzerlik oranına göre yapılan gruplandırma sonucunda oluşturulan dendogram analizinde *A. baumannii*'ye ait 24 Cluster (Küme) tespit ettik. Gruplar içerisinde Cluster 8, Cluster 15 ve Cluster 24 baskın gruplar olarak göze çarpmaktadır. Tespit edilen 24 grup içerisinde 8. cluster 35 izolatla, 15. cluster 32 izolat ve 24. cluster ise 20 izolat ile en yoğun gruplar olarak görülmektedir.

Eraç ve arkadaşları *Acinetobacter baumannii* için yaptıkları bir klonal çalışmada, inceledikleri suşların yedi ana grup altında toplandığını, bunlardan en büyüğünün 56 izolatı içeren ve dokuz alt gruba ayrılan bir klon olduğunu saptadıklarını belirtmişlerdir. Diğer klonların ise bir, iki ya da üç üyesi bulunan küçük gruplar olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmada yedi ana klon

tespit etmiş ve bir klonda yoğunluk tespit ettiklerini bildirmişlerdir [133]. Bizim çalışmamızda da 24 farklı klon içerisinde iki klonda yoğunluğun daha fazla olduğu görülmüştür.

Gülbudak ve ark. rep-PCR yöntemi kullanılarak yapılan tiplendirme sonucuna göre: 75 *Acinetobacter* izolatı için 2'si ana klon (A ve B) olmak üzere toplam 8 farklı klon (A-H) tespit etmişlerdir. A ana klonunun, 54 (%72) izolatın toplandığı en büyük kümeyi oluşturduğu ve 7 alt tipe (A1-A7) ayrıldığı belirtilmiştir. A klonundaki alt tipler A1 (n= 2), A2 (n= 1), A3 (n= 1), A4 (n= 41), A5 (n= 1), A6 (n= 3) ve A7 (n= 5) olarak kümelendiğini bildirmişlerdir. İkinci büyük klon ise 13 (%17.3) izolat içeren B ana klonuna ait alt klonlar olarak belirlediklerini bildirmişlerdir. Gülbudak ve ark. yaptığı bu çalışmada da 8 klon tespit etmiş olup bir alt klonda yoğunluk göze çarpmaktadır [5]. Daha az klon tespit etmelerinin sebebi daha az izolat kullanmış olmalarından kaynaklanıyor olabilir.

Çalışkan yaptığı çalışmada 131 *Acinetobacter* spp. suşunun 82'sinin (%62,6) küme içinde saptandığını ve bu suşların 15 küme içinde yer aldığını bildirmiştir. Kümeleşmede suş aralığının 2–27 arasında değiştiği bildirilmiştir. On beş kümeden iki tanesi aynı zamanda diğer iki kümeyle yakın, üç tanesi ise diğer üç kümeyle muhtemel ilişkili diye belirtilmiştir. Tiplendirilen suşların beş tanesi yakın ilişkili, yedisi muhtemel ilişkili olarak saptanmıştır. Yaptığı çalışma ile tiplendirilen suşların %72,3'ünün klonal yönden ilişkili olarak hesaplandığı bildirilmiştir[66].

Yaylı ve ark. ise çalışmalarında moleküler tiplendirme sonuçlarına göre izolatların dört genotip altında kümelendiğini gördüklerini açıklamışlardır; genotip A'da 29 (%14.4), genotip B'de 23 (%11.4), genotip C'de 18 (%8.9) ve genotip D'de 7 (%3.4) izolat yer aldığını bildirmişlerdir. Bu gruplarda baskın ve salgın bir izolata rastlanmadıklarını ve izolatların birbirleriyle olan benzerliğini %70'in altında tespit ettiklerini bildirmişlerdir [134]. Dolapçı ve ark. çalışmalarında izolatların tiplendirilmeleri sonucunda 13 farklı gruba ayrıldıklarını ve iki grupta yoğunlaşma olduğu gözlemlediklerini bildirmişlerdir. (grup A: 29; grup C: 21 izolat) [135].

Keskin'in yaptığı çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, izolatların dört genotip altında (A-D) kümelendiği saptanmıştır. İzolatların %14,4'ü (n=29) genotip A, %11,4'i (n=23) genotip B, %8,9'u (n=18) genotip C, %3,4'ü (n=7) genotip D

olarak kümelenmiştir. Ayrıca araştırmacılar dört gruba ait izolatların birbirleriyle olan benzerliğini %70'in altında bulunduğunu ve izolatlar içerisinde baskın izolat grubuna rastlanmadığını belirtmiştir. Bu yüzden salgın izolatı olarak değerlendirilmemiştir [65].

Yaptığımız çalışmada % 48,4 oranında (n=64) en fazla yoğun bakım servislerinden izole edilen suşlar değerlendirilmiştir. Bu durum yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların uzun süre hastanede kalmaları, bağışıklık sistemlerinin zayıflamış olması, uzun süre antibiyotik tedavisi görmeleri, hastaların immün dirençlerinin düşük olmaları gibi sebeplerle enfeksiyona daha kolay yakalanıyor olmalarından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca enfeksiyon korunma önlemlerinin takibinin yapılması da enfeksiyon riskini azaltan faktörlerdendir.

Petrosillo ve ark. günümüzde çoğul dirençli bakteri enfeksiyonlarının, özellikle yoğun bakım birimlerinde, doktorlar için çok önemli, hastaları için ise yaşamsal bir sorun durumunda olduğunu belirtmişlerdir [136]. Alpat ve ark. ise *A. baumannii*'nin neden olduğu nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonu geçiren hastaların % 88' inin yoğun bakım ünitesinde tedavi edilirken enfeksiyonların oluştuğunu bildirmişlerdir. Bu durumun nedeninin YBÜ ortamlarında çapraz geçiş sonucu meydana gelmiş olabileceğini vurgulamışlardır [137]. Biz de bu çapraz geçişlerin, enfeksiyonların YBÜ ortamında daha yoğun görülmesinin sebeplerinden biri olduğunu düşünüyoruz.

Erben ve ark. yaptıkları çalışmada *Acinetobacter* türlerinin en sık görüldüğü servisi %38 ile Anesteziyoloji ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi olarak bildirmişlerdir [138]. Koneman ve ark. da *A. baumannii* bakteremisi ve sepsisinin de yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda sık görüldüğünü bildirmişlerdir [68].

Bergogne-Berezin ve ark. göre (1996) yoğun bakım üniteleri hastane enfeksiyonlarının en sık görüldüğü birimlerdir ve buna paralel olarak *Acinetobacter* enfeksiyonları da en sık yoğun bakım ünitelerinde görülmektedir [44]. Wincent'in EPIC (European Prevalence of Infection in Intensive Care) çalışmasına (1995) 17 ülkeden farklı merkezler dâhil edilmiş, 4501 hastadan %44,8'i sağlık bakımı ilişkili enfeksiyon tanısı almış, bunların da %20,6'sının yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar olduğu belirlenmiştir [139]. Farklı ülkelerde yapılan bu

çalışmada görüldüğü gibi enfeksiyon tanısı konulmuş hastaların önemli bir bölümü yine yoğun bakım hastasıdır. Bu durum da gösteriyor ki bölgesel farklılıklara rağmen *A. baumannii* özellikle yoğun bakım ünitelerindeki hastaları etkilemektedir.

Falagas ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada *A. baumannii*'ye bağlı genel mortalite oranının, yoğun bakımlarda diğer servislere oranla daha fazla görüldüğünü belirtmişlerdir [140]. Tabah ve ark.'nın 2012'de; 24 ülke ve 167 yoğun bakımı kapsayan çalışmalarında %57.6 oranında saptanan gram negatif bakteriyemilerde en sık saptanan etken %12.2 ile *A. baumannii* olmuştur [141]. Bizim de yaptığımız çalışmada klinik servislere göre grupların dağılımında AYB kliniği 16 farklı cluster için ev sahipliği yapmıştır. Bu Cluster'lar içerisinde en baskın olanlar Cluster 8 (n=17), Cluster 15 (n=13) ve Cluster 24 (n=11) olmuştur. AYB kliniğinden sonra en çok grup Genel Cerrahi(GC) ve Plastik Cerrahi(PL) kliniklerinde görülmüştür.

Benzer şekilde A. Çalışkan tarafından yapılan bir çalışmada izolatların çoğunluğu (%55.5) yoğun bakımlardan izole edilmiştir. Araştırmacı yoğun bakım servisleri arasında en fazla (%38.7) Anestezi-Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesinden izolasyon yaptığını bildirmiştir [66].

Usluer ve arkadaşlarının 2002 yılında ülkemizde yaptıkları bir çalışmada, üniversite hastanesi ve Sağlık Bakanlığına bağlı eğitim veren 18 hastanede, yatan hastalarda antibiyotik kullanımı değerlendirilmiştir. Yatan 971 hastanın 290'nın (%30.6) antibiyotik kullandığı, kullanılan antibiyotiklerin 58'inin (%78.4) ampirik olarak başlandığı fakat çoğu tedavinin uygunsuz olduğu belirtilmiştir [142]. Biz bu durumun sebepleri arasında, hastanede yatış süreleri uzadıkça uygulanan invazif girişimlerin artması ve buna bağlı olarak da kateterle ilişkili enfeksiyonların artması, yoğun bakım ünitelerinde antibiyotik kullanımının fazla olmasının yanında ventilatörle ilişkili enfeksiyonlarında sebep olduğunu düşünüyoruz.

Yaptığımız çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen *A. baumannii* suşlarını değerlendirmeye aldık. Bu suşlar %50,7 (n=67) ile en çok balgam örneklerinden izole edilmişken diğer izolasyonlar sırası ile yara, kan, idrar ve aspirat kültürlerinden elde edilmiştir. Bu duruma etki eden faktörler arasında hastaya yapılan her türlü müdahalede el yıkama, eldiven giyme ve izolasyon önlemlerine yeterince önem verilmemesi yer alıyor olabilir. Benzer şekilde Fournier, Joly-Guillou

ve arkadaşları da günümüzdeki mevcut bulgular sonucu girişimsel işlemlerin hastane kökenli *Acinetobacter* enfeksiyonu için risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir [143,144].

Mulin ve ark. *Acinetobacter* türlerinin yoğun bakımlarda, sıklıkla kullanılan mekanik aletlerin yüzeylerinde, hastalarda ve personelde sıklıkla kolonize olmaları ve özellikle yatan hastaların çoğunlukla geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi almalarının bakterilerin bu birimlerden sıklıkla izole edilmelerine neden olduğunu bildirmişlerdir [145]. Villegas ise hastane enfeksiyon kontrol yöntemleri ile ilgili yaptığı çalışmada *A. baumannii* bulaşlarının çoğundan hasta yatakları, kapı kolları, klimalar ve mekanik ventilasyon ekipmanları gibi çevresel kaynakların sorumlu olduğunu bildirmiştir [146]. Ayrıca *A. baumannii*'nin kuru cansız yüzeylerde uzun süre canlı kalabilmesi salgınların oluşmasına katkı sağlamaktadır. Biz de salgınların oluşmasında *A. baumannii*'nin bu dayanıklı yapıya sahip olmasının rolü olduğunu düşünmekteyiz. Bu nedenle konvansiyonel enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınmasına özen gösterilmesi gerekmektedir.

Mulin ve arkadaşları elde ettikleri veriler sonucunda, hastaların servisler arası transferleri, sağlık personeli ve hastalar aracılığıyla gerçekleşen çapraz bulaşlar sonucu izolatların kolayca yayıldığı ve hastane içinde uzun süre varlığını sürdürdüğünü ortaya koymuşlardır [145]. Smith ve Massanari, 1997 yılında *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlara kontamine nemlendiriciler ve ventilatör aksamının sıklıkla neden olduğunu bildirmişlerdir [147].

Çetin ve arkadaşları gerek ampirik, gerekse kanıta dayalı etkin antibiyotik tedavisi için, hastanelerde, enfeksiyon etkenlerinin farklı vücut bölgelerine göre duyarlılık paternlerinin düzenli olarak izlenmesi ve tedavi protokollerinin bu doğrultuda güncellenmesi gerektiğini bildirmişlerdir [148]. Biz de Çetin ve ark. nın belirttiği bu güncellemenin yapılması gerektiğine inanıyoruz. Çünkü YBÜ'de yatan hastaların immün dirençlerinin düşük olmaları sonucu birçok sistemik hastalıkları bulunabilmekte ve hastane enfeksiyonlarına maruz kalma ihtimalleri artmaktadır. Bunun sonucunda da kullanılan antibiyotik miktarı artmakta, hastanede yatış süresi uzamaktadır. Bu yüzden enfeksiyon oranları ve kullanılan antibiyotikler değerlendirilmeli ve başka merkezlerle karşılaştırılmalıdır.

Lortholary ve ark'da benzer şekilde *A. baumannii* bulaşlarından genellikle hasta yatakları, kapı kolları, klimalar ve mekanik ventilasyon ekipmanları gibi çevresel faktörlerin sorumlu olduğunu bildirmişlerdir [32]. Bunun sebebi olarak da *A.baumannii*'nin kuru cansız yüzeylerde uzun süre canlı kalabilmesine ve bunun sonucunda da salgınların oluşmasına neden olmasını göstermişlerdir.

Gülbudak ve arkadaşları da elde edilen veriler ile, hastaların servisler arası transferleri, hastalar ve sağlık personeli aracılığıyla gerçekleşen çapraz bulaşlar sonucu izolatların hastane içerisinde kolayca yayıldığı ve uzun süre varlığını sürdürdüğünü bildirmişlerdir[5]. Biz de Gülbudak ve arkadaşlarının bu görüşlerine katılıyoruz. Çünkü hastalara yapılan her türlü müdahalede el yıkama, eldiven giyme ve izolasyon önlemlerine yeterince önem verilmemesi gibi sebeplerden enfeksiyon çapraz bulaşlarla hastane içinde yayılabilmektedir.

Villers ve ark. (1998) *Acinetobacter* izolatlarının sıklıkla solunum sistemi, üriner sistem, yara yeri, santral sinir sistemi ve kan dolaşım yolu enfeksiyonuna neden olduklarını ortaya koymuştur [149]. Richards ve arkadaşları ABD'de tüm hastane kökenli enfeksiyonların %77'sinin pnömoni, üriner sistem enfeksiyonu ve kan dolaşımı enfeksiyonu olduğunu bildirmişlerdir [150]. Balcı ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada *Acinetobacter* izolatlarını en sık solunum sistemi ve yara materyalinden izole etmişlerdir [48]. Bizim çalışmamızda en çok balgam örnekleri kullanılmıştır. Ancak incelediğimiz numuneler 2012-2018 yılları arasındaki tüm hasta verilerini içermediğinden yüzde olarak yanılma payı bulunmaktadır.

Keskin ve ark. *A. baumannii* izolatını sıklıkla yoğun bakımlardan gönderilmiş olan kan kültürlerinden ve trakeal aspirat örneklerinden izole etmişlerdir [65]. Elmas Dal, yaptığı çalışmada, literatürle uyumlu olarak en sık hastane kökenli enfeksiyon tipi VİP ve *Acinetobacter*'in en sık üreme bölgesi olarak ise trakeal aspirat kültürü (%63) olarak saptadığını belirtmiştir[151]. Bir diğer çalışmada ise Ponce, pnömoni (%40), üriner sistem (%26) ve yara yerlerini (%13) YBÜ'de gelişen en sık enfeksiyon bölgeleri olarak bulduklarını bildirmişlerdir[152]. Biz ise alınan suşların %50'sini balgam, %27'sini yara ve %3'ünü aspirat kültürlerinden izole ettik. Bunun nedeni hastanedeki tüm enfeksiyonlu örneklerin incelenmemesi, şehirlerarasındaki

sosyo-ekonomik farklılıklar ve mevsimsel koşulların hastalık çeşitleri üzerindeki etkisi gibi sebepler olabilir.

Özdem ve arkadaşları da *Acinetobacter* türlerini en sık yoğun bakım ünitelerinden gönderilmiş trakeal aspirat örneklerinden ve kandan izole ettiklerini, klinik örneklerde ise yara kültürlerinden izolasyonun ilk sırada olduğunu bildirmişlerdir [153]. Elmas Dal yaptığı çalışmada, *Acinetobacter* türlerinin herhangi bir bölgede hastane enfeksiyonuna neden olurken, başlıca solunum yolu enfeksiyonu, idrar yolu enfeksiyonu ve yara enfeksiyonuna neden olduğunu bildirmiştir [151].

Çalışmamızda sonuçlarını değerlendirdiğimiz 179 *Acinetobacter* izolatının 2012-2018 yılları içerisinde direnç durumlarını değerlendirdiğimizde Kolistin için % 4.4, Trimetoprim-sülfametoksazol için %88.2, Amikasin için % 88.8, Gentamisin için % 97.7, Sefepim için %98.3 ve İmipenem, Meropenem ve Siprofloksasin için ise %100 direnç oranları tespit ettik.

Petrosillo ve ark. bakterilerde antibiyotiklere karşı direncin, son 30-40 yılda giderek arttığını ve sonunda kaygı verici boyutlara ulaştığını bildirmişlerdir. *Acinetobacter* genusunda; antibiyotiklere en fazla direnç oluşturan ve insan enfeksiyonlarında en sık izole edilen tür *A.baumannii*'dir. İzole edilen türlerin %90'dan fazlasını oluşturduğunu belirtmişlerdir [136]. Ergönül ve ark. 2016 yılında yaptıkları çalışmada en fazla antibiyotik direncinin *A. baumannii*'de olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir [154]. Biz de son yıllarda artan direnç oranları sebebiyle araştırdığımız *A.baumannii* enfeksiyonu ile ilgili farklı antibiyotikler için yüksek direnç oranları tespit ettik.

Nozokomiyal *Acinetobacter* enfeksiyonlarındaki en önemli sorun, mevcut tüm antibiyotiklere dirençli suşların bulunması ve direnç oranlarının artış eğilimi göstermesidir. Sligl ve ark. 2015 yılında yaptığı bir çalışmada gram negatif bakterilerde antibiyotik direnç oranlarının tüm antibiyotik gruplarında yıllar içerisinde giderek arttığını belirtmişlerdir [155].

Villari ve arkadaşları ise *A. baumannii* izolatlarındaki antibiyotik direnç profillerindeki değişikliğin, ilaç kullanım miktarına bağlı olduğunu belirtmişlerdir [156]. Elmas Dalve arkadaşları *A. baumannii*'de de membran

hidrofobik özellikte olmasının, permeabiliteyi azaltarak bakterinin doğal direncine katkıda bulunduğunu belirtmişlerdir[151]. Burada belirtildiği üzere membran özelliği ve giderek artan ilaç kullanımına bağlı olması gibi farklı bilimsel çalışmalar sonunda elde edilen veriler *A. baumannii*'de direncin giderek artmasında etkili olmuş olabilir.

Antibiyotiklere karşı giderek artan direnç son yıllarda tüm dünyayı tehdit eder hale gelmiştir. Artan antibiyotik kullanımı bakterilerdeki antibiyotik direncindeki artışın en önemli sebeplerindendir. Çoklu antibiyotik dirençli *A. baumannii* suşlarının yol açtığı yüksek mortaliteyle seyreden enfeksiyonlarda artış görülmektedir. Örneğin Alpat ve ark. tüm *Acinetobacter* izolatlarının çok ilaca dirençli olduğunu ve *A. baumannii* ile enfekte olan hastaların kaba ölüm oranlarını da % 80.5 olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir[137]. Akalın ve arkadaşları çoklu ilaç direnci gösteren kökenlerin neden olduğu enfeksiyonlarda, sulbaktam ve amikasin kombinasyonu, kolistin, kolistin ve karbapenem kombinasyonu ya da tigesiklin'in tedavi rejimlerinde yer alan antibiyotikler olduklarını bildirmişlerdir [2]. Bazı *Acinetobacter* suşları, son seçenek olarak kabul edilen karbapenemler de dâhil, aminoglikozidler, sefalosporinler ve kinolonlara dirençlidir. *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturabilme özelliği, bakteriyi antibiyotiklere karşı koruyabilmektedir.

Acinetobacter türleri sıklıkla birçok antibiyotiğe direnç gösterdikleri için tedavide güçlüğe neden olarak hastanede yatan hastalar için ciddi tehdit oluşturmaktadırlar. Bu bakterilerde gözlenen antibiyotik direnci, antibiyotik kullanma alışkanlığı ve çevresel faktörlerin de etkisiyle çeşitli hastaneler ve ülkeler arasında farklılık gösterebilmektedir.

1997-2000 yılları arasında on bir Avrupa ülkesinin katıldığı bir izlem çalışmasında 37 hastaneden toplanan *Acinetobacter* izolatlarının %16'sı imipeneme, %14'ü meropeneme, dirençli bulunurken, piperasilin-tazobaktam %39, tobramisine %41, seftazidime %45 ve siprofloksasine %53 ile daha yüksek oranlarda direnç bulunmuştur. Ülkemizin farklı bölgelerinin de dâhil olduğu bu çalışmada, Türkiye'ye ait *Acinetobacter* izolatlarında meropenem direncinin %34, imipenem direncinin %38 olduğu ve izolatların %80'inden fazlasının piperasilin-tazobaktam, seftazidim ve siprofloksasine dirençli olduğu bildirilmiştir. Görüldüğü gibi 1997-2000 yılları arasında yapılan bu çalışmada meropenem, imipenem ve siprofloksine direnç

oranları sırası ile %34, %38 ve %80 olarak görülmekte iken Biz yaptığımız bu çalışmada üç antibiyotik grubu için de bu oranı %100 olarak tespit ettik. Bu da yıllar içinde *A. baumannii* de direnç oranlarının giderek arttığını göstermektedir.

Türkiye’de 2000-2003 yıllarını kapsayan başka bir çalışmada ise araştırmacılar izole edilen *Acinetobacter*’lerin % 42’sinin meropeneme, % 48’inin imipeneme, % 76’sının sefepime, %79’unun siprofloksasine, % 82’sinin piperasilin-tazobaktama, % 84’ünün seftazidime ve %91’inin ise sefotaksime dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Yıllara göre *A. baumannii* suşlarında antibiyotik direnç oranları incelendiğinde; 12 yıllık süreç içerisinde bakterinin tüm antibiyotiklere direnç oranlarının arttığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan gram negatif bakteriyemiler ve buna bağlı gelişen sepsisin erken tanısı, ampirik antibiyotik tedavisinin akılcı yaklaşım ile uygulanması, doğru antibiyotik yönetimi mortalite ve morbidite oranlarını önemli ölçüde azaltmaktadır. Biz de hızla artan bu direnç oranlarına karşı yürütülecek olan yeni yaklaşımlar ile enfeksiyon oranlarının azaltılabileceğini düşünüyoruz.

Şahin ve ark’ı çalışmalarına dâhil ettikleri 99 *A. baumannii* izolatında%99 oranında imipenem ve meropenem direnci bulurken kolistine dirençli suş saptamamışlardır. Araştırmacılar Piperasilin ve piperasilin-tazobaktama tüm suşların dirençli olduğunu gözlemlemişlerken, Siprofloksasin’e %99, ampisilin-sulbaktam’a %98, seftazidim’e %97, sefepim’e %96, levofloksasin’e %85, tetrasiklin’e %80, trimetoprim-sulfametoksazol’e %71, amikasin’e %59, gentamisin ve netilmisin’e ise %56 oranında direnç tespit etmişlerdir [157]. Bu çalışmada da imipenem, meropenem gibi antimikrobiyal ajanlara direnç oranı bizim çalışmamızla uyumlu olarak %99’un üzerindedir. Ancak kolistin için araştırmacılar dirençbildirmezken biz%4,4 oranında kolistin direnci tespit etmiş bulunmaktayız. Bu veriler kolistin için direnç oranlarının artma eğiliminde olduğunu göstermektedir.

Gözütok ve ark.’nın hastane enfeksiyonu etkeni olan 161 *A. baumannii* izolatını değerlendirdikleri çalışmalarında, Mart 2011 ve Kasım 2012 tarihleri arasında kolistin direnci saptanmamış olup izolatların %91’i meropenem ve

imipenem'e, %92'si siprofloksasin ve sefoperazon-sulbaktam'a, %94'ü levofloksasin'e, %97'si ise piperasilin-tazobaktam'a dirençli saptanmıştır[158].

Dursun ve ark. 2018 yılında yaptıkları bir çalışmada amikasin direnç oranını %23.7 ile en düşük dirence sahip antibiyotik oranı olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada diğer antimikrobiyaller ve direnç oranları ise; sefepim, seftazidim, meropenem, siprofloksasin ve gentamisin için sırasıyla %49.6, %53.7, %62.2, %46.7 ve %60 olarak bildirmişlerdir[159].Yeni bir çalışma olmasına rağmen antibiyotik direnç oranları bizim çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerin altında görülmektedir. Bu durumun sebebi olarak çalışmada kullanılan suşların farklı şehir ve hastanelerden elde edilmesi, sosyo ekonomik ve kültürel sebeplerin farklılığı ve hastane ortamında alınan enfeksiyon kontrol önlemleri arasındaki farklı koşullar olabileceği düşünülmektedir.

Gaynes ve ark. ABD'de 'The National Nosocomial Infections Surveillance' (NNIS) tarafından yapılan ve 1986-2003 yılları arasını kapsayan bir çalışmada *A.baumannii* için amikasin direncinin %3'den %20'ye, seftazidim direncinin %24'den %67'ye, imipenem direncinin ise %20'lere çıktığını bildirmişlerdir [160].Elmas Dal'da çalışmasında izolatların %94'ünde ÇİD tespit etmiştir [151].*Acinetobacter* türlerindeki bu antibiyotiklere karşı dirençte artış tedavi seçeneklerini kısıtlamakta ve alternatif antibiyotiklere yönelmeye yol açmaktadır. Çalışmada *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilen yeni seçenek ilaçların başında kolistin ve tigesiklin geldiği ve tigesiklin duyarlılığının %99.1 olarak bulunduğu bildirilmiştir [151].Bizim çalışmamızda belirlediğimiz kolistin yanında tigesiklin de *Acinetobacter* enfeksiyonlarında güncel olan antimikrobiyal ajan olarak görülmektedir.

A. baumannii'nin antimikrobiyal duyarlılık oranları farklılıklar göstermektedir. En sık beta-laktam antibiyotiklere, aminoglikozidlere ve florokinolonlara direnç görülmektedir. Keskin, çalışmasında test edilen tüm izolatlar için en etkili antimikrobiyal ajan olarak %93.5 duyarlılık oranı ile kolistin'i tespit ettiğini bildirmiştir [65]. Şeşen tarafından 2016 yılında yapılan çalışmada kolistin dirençli suş oranları irdelendiğinde, 2015 yılı itibarı ile belirgin artış olduğu görülmüş olup; kolistin dirençli suş oranları; *A. baumannii*' de %15.2 ve *K.*

pneumoniae' da %28.6 olarak bulunmuştur[161]. Bu durumun nedeni hastanelerin antibiyotik politikaları ve antibiyotik duyarlılık paternlerine ilişkin otomatize sistem değişikliği nedeniyle de ilgili olabilir.

Bayram ve ark'ı 2007-2011 yıllarını kapsayan, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 377 *A. baumannii* suşunun antibiyotiklere direnç oranlarını retrospektif olarak inceledikleri çalışmalarında kolistin'e direnç saptamazken, amikasin'e %64, tetrasiklin'e %55, imipenem'e %71, meropenem'e %72, sefoperazon-sulbaktam'a %89, siprofloksasin'e %92, gentamisin'e %90, seftazidim'e %94, piperasilin-tazobaktam'a %96, sefepim'e % 95 ve sefotaksim'e %96 oranında direnç saptadıklarını bildirmişlerdir [162]. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların bizim çalışmamızda olduğu gibi kolistin dışındaki diğer tedavide kullanılan antimikrobiyallere karşı yüksek direnç oranlarını gösterdiği anlaşılmaktadır. Bayram ve arkadaşları çalışmalarında kolistin'e karşı direnç saptamaz iken bizim çalışmamızda özellikle daha sonraki yıllarda izole edilen *A. baumannii* suşlarında direnç oranının yükseldiği anlaşılmaktadır [162]. Bu durumun nedeninin farklı hastane ve klinik servislerin tedavi protokolleriyle ilişkili olabileceği düşünülebilir.

Rossi ve ark. 2010-2014 yılları arasında yaptıkları çalışmada gram negatif bakterilerde (*A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae*) kolistin direncinin yıllar içerisinde arttığını ve bu durumun ciddi bir problem olduğunu vurgulamışlardır[163]. Nomanpour ve arkadaşları, son yıllarda yapılan araştırmalar sonucunda yeni direnç mekanizmaları eklendiğini bildirmişlerdir [164]. Örneğin ATPaz geni içerisine entegre olan bir direnç adasının varlığı, farklı *A. baumannii* suşlarında gösterilmiştir.

Dizbay ve arkadaşları yaptıkları çalışmada dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonları için alternatif ilaç olan kolistin duyarlılığını % 100 olarak bulduklarını bildirmiş olup bu veri ülkemizden yapılan diğer çalışma verileri ile uyumludur [28]. Bu çalışma 2009 yılında yapılmış olduğu için o günkü verilere göre değerlendirilmiştir. Ancak bu duyarlılık oranı günümüzde giderek azalmaktadır. Zira bizim çalışmamızda da 179 izolat üzerinde yapılan antibiyotik duyarlılık testinde kolistin duyarlılığı 171 izolat ile % 95.6 olarak belirlenmiştir.

Falagas ve arkadaşları da “çoklu antibiyotik dirençli *A. Baumannii* ve *P. aeruginosa* suşlarına bağlı olarak gelişen bakteriyemilerde intravenöz kolistin kullanılmasıyla %90'larda tedavi başarısına ulaşıldığı halde, pnömonilerde bu oran %75 civarındadır. İntravenöz kullanımla birlikte, aerosol şeklinde kullanım, intratekal ve intraventriküler kullanım da son dönemlerde giderek artış göstermektedir.” şeklinde belirtmektedirler [140]. Bu verilere göre intravenöz kolistin kullanımı daha etkin bir tedavi yöntemidir.

Cai ve ark.'na göre kolistin direnciyle ilgili mekanizmalar ve direncin bakteriler arasında genetik olarak geçiş yolları tam olarak aydınlatılmış değildir [165]. Bizim çalışmamızda kolistine dirençli izolatların 2 kümede daha yoğunlaştığı görülmektedir. Yıllar içindeki kolistin direncinin sebebi kliniklerde sıklıkla kullanılmaya başlanması olabilir. Bu yüzden antibiyotik duyarlılıklarının hastanelerde belirlenmiş antibiyotik tedavi protokolleriyle olan ilişkisini saptamak ve kolistin direncini tam olarak aydınlatılabilmek için epidemiyolojik ve direnç mekanizmaları açısından daha detaylı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Dünya'nın çeşitli bölgelerinde farklı hasta grupları ile yapılan çalışmalarda kolistin direnci ile ilgili değişen oranlar bildirilmektedir. Ancak kolistin günümüzde *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan en önemli antimikrobiyal ajan olma özelliğini korumaktadır. Bu nedenle kolistin kullanımının üzerinde dikkatli durulmalı ve kolistine direnç gelişiminin yavaşlatılması için gerekli önlemlerin alınması önemli olacaktır.

9. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. *Acinetobacter* enfeksiyonlarında, bakterinin çok ilaca dirençli olabilmesinenedeniyle tedavi seçenekleri oldukça kısıtlıdır. Bu durum antibiyotik kullanım stratejilerinin ve enfeksiyon kontrolünün ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Çok ilaca direncin artan sıklıkta görülmesi nedeniyle tedavi başarısızlıklarının önlenmesi için uygun antibiyotik tedavi seçimi önem taşımaktadır. Ayrıca uygunsuz antibiyotik kullanımının önlenmesi ve akılcı tedavi protokollerinin belirlenmesi de etkili bir enfeksiyon kontrolü sağlayabilir.

2. *Acinetobacter* enfeksiyonlarının hastane ortamında yayılımlarının sınırlanabilmesi için, in vitro duyarlılık profillerinin sürekli takip edilmesi gerekmektedir. Bu doğrultuda hastanelerin sürekli güncellenen sürveyans programları bulunmalıdır.

3. Yoğun bakım ünitelerinde *Acinetobacter* enfeksiyonları için bağımsız risk faktörü olarak saptanan invaziv girişimlerin ve uygulamaların enfeksiyon kontrol ve önlem standartlarına uygun olarak yapılması gerekmektedir.

4. Yaptığımız çalışma ile *Acinetobacter* sınıflarının hastanemizde 2012-2018 yılları arasında varlığını sürdürdüğü tespit edilmiştir. Özellikle dirençli salgın klonlarının önlem alınmadığı durumda hastane ortamında uzun yıllar kalabileceği ve hastadan hastaya taşınabileceği unutulmamalıdır. Bu nedenle, diğer önlemlerin yanında hasta bakımında rol alan tüm sağlık personelinin el yıkama gibi enfeksiyon kontrol protokollerine uyması önemlidir.

5. *Acinetobacter* enfeksiyonu olan hastalarda tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi için prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. Hastane enfeksiyonlarının tanınması ve buna neden olan mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi önemlidir. Böylece hem ampirik tedaviyi belirlemede, hem de mortalite ve morbiditeyi azaltma noktasında bu durum yararlı olacaktır.

7. Çalışmamız, *A. baumannii* izolatlarının hastanemiz bünyesinde klonal ilişkilerinin belirlenmesi açısından bir başlangıç niteliği taşımaktadır. Sonra ki süreçte bu bakteri ile ilgili yapılacak daha ileri araştırmalarda

epidemiyolojik verilerin, dirence sebep olan mekanizmaların ve risk faktörlerinin daha iyi bir şekilde ortaya konması sağlanabilecektir. Böylece özellikle yoğun bakım ünitelerinde enfeksiyon kontrolü ve tedavi protokolleri daha da etkin ve verimli olarak gerçekleştirilebilecektir. Yine hastanemizde bu etkene bağlı ortaya çıkabilecek enfeksiyon tablolarında bir salgın olup olmadığı ve bu etkenin hangi klondan geldiği gibi veriler elde edilebilecektir.

8. *Acinetobacter* enfeksiyonlarının kontrolü ve önlenmesi, multidisipliner katılımlı çalışma gerektirmektedir. Başta yoğun bakım ünitelerinde çalışanlar olmak üzere, tüm hastane çalışanlarına gerekli enfeksiyon kontrol eğitimlerinin verilmesi; hasta, personel, ekipman ve üniteler arası bakteri geçişinin azaltılmasında önemli ölçüde katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Karahocagil MK, Yaman G, Göktaş U, Sünnetçioğlu M, Çıkman A, Bilici A, Yapıcı K, Baran AI, Binici İ (2011). Akdeniz H. Hastane Enfeksiyon Etkenlerinin ve Direnç Profillerinin Belirlenmesi *Van Tıp Dergisi: 18 (1):27-32*.
- [2] Akalın E (2001). Kalite göstergesi olarak hastane enfeksiyonları. *Hastane İnfeks Derg; 5:169-171*.
- [3] Çoksak A, Çelik Y, Danacı C, Sökel S (2017).Yoğun Bakım Üniteleri'nde İnvaziv Uygulamalar ve Enfeksiyon İlişkisi, *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg, 5(1): 22-31*
- [4] Özkurt Z, Erol S, Parlak M, Yılmaz Ş (2000). Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri'nde Hastane Enfeksiyonları: 1998 Yılı Sonuçları. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi;4(3): 156- 9*
- [5] Gülbudak H, Aslan G, Tezcan S (2014).Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olan *Acinetobacterbaumannii* İzolatları Arasındaki Klonal İlişkinin Rep-PZR ile Araştırılması Mersin *.Mikrobiyol Bul , 48(2): 316-324*
- [6] Towner KJ (2009). *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *J Hosp Infect 73(4): 355-363*.
- [7] Aşık G (2011).*Acinetobacterbaumannii* Virülansının Açıklanmasında Güncel Yaklaşımlar. *Mikrobiyol Bul; 45(2): 371-380*
- [8] Arslan H, Gürdoğan K (1999). Yoğun bakım ünitelerinde gözlenen hastane enfeksiyonları. *Hastane İnfeks Derg; 3:165-170*.
- [9] Başustaoğlu A, Özyurt M (1998).Nozokomiyal Patojen Olarak *Acinetobacter*'lerin Mikrobiyolojik, Klinik ve Epidemiyolojik Özellikleri. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi; 2: 88-93*

- [10] Rhomberg PR, Fritsche TR, Sader HS, Jones RN (2006). Antimicrobial Susceptibility Pattern Comparisons Among Intensive Care Unit And General Ward Gram-Negative Isolates From The Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection Program (USA). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease Journal*, 56(1):57-62.
- [11] Kalem F, Ertuğrul Ö, Türk Dağı H (2017). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibiyotik direnci Abant Med J, 6(1):20-25.
- [12] Ertek M (2008). İ.Ü. Cerrahpaşa Üniversitesi Hastane enfeksiyonları sempozyum dizisi no:60; s 9-14
- [13] Türkyılmaz R, Dokuzoğuz B, Çokça F, Akdeniz S. (2004). Hastane enfeksiyonları kontrolü el kitabı, Bilimsel Tıp Yayınevi:sayfa 441 , 127/128
- [14] Akgül A F, Karataş M, Öztürk B (2014). Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Erişkin Yoğun Bakım Ünitelerinde 5 Yıllık İnvaziv Araç İlişkili Hastane Enfeksiyonları Sürveyansı. *Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi*, 12: 13-24.
- [15] Çimenci N D, Akbaş D B, Uzun N, Baş A Ö, Zübarioğlu U, Bülbül A (2015). Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde İnvaziv Araç ile İlişkili Hastane Enfeksiyon Oranları. *Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni*, 49(2):107-111.
- [16] Çelik İ, Şenol A, Kartepe Eser G, İnci Akmirza N (2009). Fırat Üniversitesi Hastanesi 2006 Yılı Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Sonuçları. *Fırat Tıp Dergisi*;14(4): 242-46.
- [17] Jawad A, Hawkey PM, Heritage J, Snelling AM (1994). 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*;32:2353-8.
- [18] Meric M, Baykara N, Aksoy S (2012). Epidemiology and risk factors of intensive care unit-acquired infections: a prospective multicentre cohort study in a middle-income country. *SingaporeMed J*; 53(4): 260-3.

- [19] Karasu D, Yılmaz C, Durmuş G, Özer D, Çağlayan Ü, Karaduman İ, Asan A (2016). Yoğun bakım ünitesinde uzun süre tedavi edilen kritik durumdaki hastalarda sağlık bakımıyla ilişkili enfeksiyonların değerlendirilmesi, *Klinik Dergisi*; 29(2): 71-6.
- [20] Curcio DJ (2011). On behalf of the Latin American antibiotic use in intensive care unit group. Antibiotic prescription in intensive care units in Latin America, *Rev Argent Microbiol*;43(3):203-11. PMID:22430995
- [21] Köksal İ (2009). Yoğun bakımda Gram pozitif bakteri sorunu, *ANKEM Derg*;23(Ek 2):143-7.
- [22] Pittet D, Tarara D, Wenzel RP (1994). Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients. Excess length of stay, extra costs, and attributable mortality. *JAMA*; 271:1598- 1601.
- [23] Eren F, Öngün G, Ural O, Öztürk Ş (2017). Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Yoğun Bakım Ünitesinde Bir Yıllık Hastane Enfeksiyonu Oranları: Patojenik ve Klinik Değerlendirme DOI:10.4274/tnd.59002 *Turk J Neurol*;23:205-210
- [24] Yılmaz GR, Çevik MA, Fiardan YÇ (2002). Hastane enfeksiyonlarının sürveyansı ve Amerika Ulusal Nozokomiyal İnfeksiyon Sürveyans Sistemi: 1. *Hastane İnfeks Derg*; 6:55-71.
- [25] Sesli Çetin E, Kaya S, Pakbaş İ, Demirci M (2007). Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları, *İnönü Üniv Tıp Fak Derg*;14(2):69-73
- [26] Çetinkaya YŞ (2002). Yoğun Bakım Ünitesi Enfeksiyonlarının İzlemi, Kontrolü ve Korunma. *Yoğun Bakım Dergisi*, 2(1):16-25.
- [27] Yalçın AN (2009). Yoğun bakım ünitesinde antibiyotik kullanımı ve direnç sorununagenel bakış. *ANKEM Derg*; 23(Ek 2): 136-42.
- [28] Dizbay M, Altunçekiç A, Kanat DÖ (2007). Anestezi-reanimasyon ve nöroloji yoğun bakım ünitelerinde gelişen nozokomiyal enfeksiyonlar: iki yılın değerlendirmesi. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*;4(3):252-7.

- [29] Altunok ES, Koç MM. (2014). Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Yoğun bakım ünitesinden izole edilen *Acinetobacter* suşlarının yıllara göre antibiyotik direnç oranlarının karşılaştırılması. doi:10.5222/ankem.2014.001 ANKEM Derg;28(1):1-7
- [30] Arda B (2011). Dirençli non-fermentatif Gram negatif bakteri infeksiyonlarının tedavi ve yönetimi, ANKEM Derg;25(Ek 2):45-9.
- [31] Altunçekiç Yıldırım A. (2016).Yoğun Bakım Ünitelerinde Dirençli Nonfermentatif Gram Negatif Enfeksiyonlar ve Tedavi Yaklaşımları, Giresun <https://slideplayer.biz.tr/slide/9663130/>
- [32] Lortholary O, Fagon JY, Buu Hoi A (1995). Nosocomial acquisition of multiresistant *Acinetobacterbaumannii*: risk factors and prognosis. Clin Infect Dis;20:790-6.
- [33] Türkoğlu M. (2019) Yoğun bakımda sıfır infeksiyon, (<http://www.dcyogunbakim.org.tr/ppt/meldaturkoglu.pdf> Erişim/01.05.2019)
- [34] Kalem F, Ertuğrul Ö, Türk Dağı H (2017). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacterbaumannii* suşlarında antibiyotik direnci Abant Med J, 6(1):20-25.
- [35] Giamarellou H, Antoniadou A, Kanellakopoulou K (2008). *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? Int J Antimicrob Agents; 32:106-19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.02.013>PMid:18571905
- [36]Mamıkoğlu L, Günseren F, Özçelik FT (1998). Akdeniz Üniversite Hastanesinde hastane enfeksiyonları: 1994-1995. Hastane İnfeks Dergisi; 2:42-45.
- [37] Chan PC, Huang LM, Lin HC (2007). Control of an outbreak of pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* colonization and infection in a neonatal intensive care unit. Infect Control Hosp Epidemiol; 28:423-9. <http://dx.doi.org/10.1086/513120> PMid:17385148
- [38] Joly-Guillou ML (2005). Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. Clin Microbiol Infect; 11(11): 868-73.

- [39] Kuşcu F, Öztürk DB, Tütüncü EE (2009). Çoklu antibiyotik dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında tigesiklin duyarlılık oranlarının Etest yöntemiyle araştırılması. *Klimik Derg*; 22:48-51.
- [40] Kurtoğlu MG, Opuş A, Kaya M, Keşli R, Güzelant A, Yüksekaya Ş (2011). Bir eğitim ve araştırma hastanesinde klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibakteriyel direnç. *Ankem Derg*; 25:35-41.
- [41] Nilsson AI, Zorzet A, Kanth A, Dahlstrom S, Berg OG, Andersson DI (2006). Reducing the fitness cost of antibiotic resistance by amplification of initiator tRNA genes. *Proc Nat Acad*, 103(18): 6976-98.
- [42] Weaver R, Actis LA(1994). Identification of *Acinetobacter* species. *J Clin Microbiol*;32:1833- 1838.
- [43] Gerner-Smidt P, Tjernberg I, Ursing J (1991). Reliability of phenotypic tests for Identification of *Acinetobacter* Species. *J Clin Microbiol*;29:277-82.
- [44] Bergogne-Berezin E, Towner KJ (1996). *Acinetobacter* spp. As Nosocomial Pathogens: Microbiological, Clinical and Epidemiological Features. *Clin Microbiol Rev*;9:148-65.
- [45] Jawad A, Hawkey PM, Heritage J, Snelling AM (1994). 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*;32:2353-8.
- [46] Towner KJ (2009). *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *J Hosp Infect* 73(4): 355-363.
- [47] Tünay H, Demirdal T, Demirtürk N (2012). *Acinetobacter* enfeksiyonlarında dirençle ilgili değişen tanımlamalar ve dirençte güncel durum. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 42(4):123-126, doi:10.5222/TMCD.2012.123
- [48] Balcı M, Bitirgen M, Kandemir B, Türk Arıbaş E, Erayman İ(2010). Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılığı. *Ankem Derg*;24(1):28-33.

- [49] Karah N, Sundsfjord A, Towner K, Samuelsen Ø (2012). Insights into the global molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible clones of *Acinetobacter baumannii*. *Drug Resist Updat*, 15(4): 237-47.
- [50] Özseven AG, Sesli Çetin E, Cicioğlu Arıdoğan B (2012).Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* şuşlarının antibiyotik direnç profilleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 42(2):55-60, doi:10.5222/TMCD.2012.055
- [51] Tomaras AP, Dorsey CW, McQueary CN, Actis LA .(2008). Molecular basis of *Acinetobacter* virulence and pathogenecity, pp: 265-97. In: Gerischer U (ed), *Acinetobacter* Molecular Biology, Caistr Academic Press, Norfolk, UK.
- [52] Talan L, Guven G, Yılmaz G, Altıntaş ND (2015). Yoğun Bakım Ünitelerinde kontrol altına alınmakta güçlük çekilen mikroorganizmalar: *Acinetobacter*. *Yoğun Bakım Derg*;6(2):44-7.
- [53] Almasaudi SB (2018). *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. *Saudi J Biol Sci*;25(3):586-96.
- [54] Jang TN, Lee SH, Huang CH, Lee CL, Chen WY (2009). Risk factors and impact of nosocomial *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections in the adult intensive care unit: a casecontrol study. *J Hosp Infect*; 73:143-50. (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2009.06.007>PMid:19716203/Erişim:25.04.2019
- [55] Cesur S, Toros GY, Altın N, Koldaş K, Solgun G, Şencan İ (2016). Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesinin Yoğun Bakım Ünitelerinde Yatan Hastalardan İzole Edilen Çoklu İlaça Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. *Ortadoğu Tıp Dergisi*; 8: 59-63.
- [56] Rhomberg PR, Fritsche TR, Sader HS, Jones RN (2006). Antimicrobial Susceptibility Pattern Comparisons Among Intensive Care Unit And General Ward Gram-Negative Isolates From The Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection Program (USA).*Diagnostic Microbiology and Infectious Disease Journal*, 56(1):57-62.

- [57] Lob SH, Hoban DJ, Sahm DF, Badal RE (2016). Regional differences and trends in antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents*;47(4):317-23
- [58] Apisarnthanarak A, Mundy LM (2009). Mortality associated with pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in Thailand. *Am J Infect Control*; 37:519-20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2008.10.024> PMID:19643284
- [59]Şahintürk H, Özdemirkan A, Kılıç F, Zeyneloğlu P, Pira A, Özalp O, Arslan H (2018). Cerrahi Yoğun Bakım Hastalarında Çoklu İlaç Dirençli Enfeksiyonların Mortalite Üzerine Etkisi. *J Turk Soc Intens Care*;16:58-63 DOI: 10.4274/tybd.73636
- [60] Ince N, Geyik MF, Ozdemir D, Oksuz S, Danis A(2014).Comparison of the Antibiotic Susceptibility Rates of *Pseudomonas aeruginosa* Strains Causing HospitalAcquired Infections According to Years. *ANKEM Dergisi*;28(3):94-9.
- [61] Fournier PE, Richet H (2006). The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis*; 42(5): 692-9.
- [62] Genç Y, Gürkan Y, Mumcuoğlu İ, Kanyılmaz D, Aksoy A, Aksu N (2016). Yoğun Bakım Hastalarında Hastane Kaynaklı Pnömoni Olgularının Değerlendirilmesi ve Sık Görülen Bakteriyel Etkenlerin Antimikrobiyallere Dirençlerinin Araştırılması. *Turk Hij Den Biyol Derg*; 73(4): 355-364 DOI: 10.5505/TurkHijyen.2016.84755
- [63] Gülhan B, Özekinci T, Atmaca S, Bilek H (2007). 2004-2006 yıllarında izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibiyotik direnci. *ANKEM Derg*; 21:32-6.
- [64] Kaplan N, Rosenberg E, Jann B, Jann K. (1985). Structural studies of the capsular polysaccharide of *Acinetobacter calcoaceticus* BD 4. *European Journal ofBiochemistry*, **152**,453-458.
- [65] Keskin H, Tekeli A, Dolapçı İ, Öcal D (2014). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacterbaumannii* Suşlarında Beta-Laktamaz Kaynaklı Direncin Moleküler Karakterizasyonu, *Mikrobiyol Bul*; 48(3): 365-376

- [66] Çalışkan A(2008).*Acinetobacter*'lerde direnç ve klonal ilişkinin araştırılması, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Malatya.
- [67] Hugh R, Leifson E (1953). The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. J Bacteriol;66:24–26.
- [68] Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Woods G(2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology; 6'th ed. Lippincott Philadelphia:316–355
- [69] Clark WA (1976). A simplified Leifson flagella stain. J Clin Micobiol;3:632–634.
- [70] King EO, Ward MK, Raney DE (1954). Two simple media for the demonstation of pyocyanin and fluorescein. J Lab CLin Med;44:301–307
- [71] Karagöl Ç (2008). Hastane Kökenli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları ve İmipenem Dirençli İzolatların Genotiplemesi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Edirne
- [72] Kayış U (2015).*Acinetobacter baumannii* izolatlarında DNA Gyrase Direnç Genleri olan gyrA, gyrB ve parCMutasyonlarının Real Time PZR Yöntemiyle Araştırılması (Tez). Trakya Üniversitesi.
- [73] Nilsson AI, Zorzet A, Kanth A, Dahlstrom S, Berg OG, Andersson DI (2006). Reducing the fitness cost of antibiotic resistance by amplification of initiator tRNA genes. Proc Nat Acad; 103(18): 6976-98.
- [74] Işık Y. *Pseudomonas aeruginosa* Kökenlerinde Kinolon Direncinin Moleküler Olarak Saptanması tez çalışması. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; Ankara.
- [75] Sargın Altunok E, Koc MM(2008).Yoğun Bakım Ünitesinden İzole Edilen *Acinetobacter* Suşlarının Yıllara Göre Antibiyotik Direnç Oranlarının Karşılaştırılması. ANKEM Derg. 2014;28(1):1-7.

- [76] Bou G, Cervero G, Dominguez MA (2000).PZR-based DNA fingerprinting (REPPZR, AP-PZR) and pulsed-field gel electrophoresis characterization of a nosocomial outbreak caused by imipenem and meropenem- resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect*;6:635–643
- [77] Bayık SA, Mumcuoğlu İ, Kurşun Ş, Aksu N (2016). Vankomisin dirençli enterokok suşlarının rep-PCR yöntemi ile klonal analizlerinin değerlendirilmesi. *Turk Hij Den Biyol Derg*; 73(1): 1-8.
- [78] Olive, D.M., Bean, P. 1999. Principles and applications of methods for DNA based typing of microbial organisms. *Journal of Clinical Microbiology* 37: 1661-1669.
- [79] Çakır Edis E, Çağlar T, Otkun M, Gürcan Ş, Hatipoğlu ON, Erkan T (2006). Hastane kökenli pnömonilerde sorumlu etkenler ve antimikrobial direnç değişimi. *İnfeksiyon Derg*; 20 (2): 107-10.
- [80] Ertürk A, Çiçek AÇ, Köksal E, Köksal ZŞ, Özyurt S (2012). Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg*; 26 (1): 1-9. doi:10.5222/ankem.2012.001.
- [81] Krizova L, Poirel L, Nordmann P, Nemeč A (2013). TEM-1 β -lactamase as a source of resistance to sulbactam in clinical strains of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*; 68(12): 2786-91.
- [82] Erdem I, Ozgultekin A, Sengoz Inan A, Dincer E, Turan G, Ceran N(2008). Incidence, etiology, and antibiotic resistance patterns of gram-negative microorganisms isolated from patients with ventilator-associated pneumonia in a medical-surgical intensive care unit of a teaching hospital in istanbul, Turkey (2004-2006). *Jpn J Infect Dis*; 61 (5): 339-42.
- [83] Wang H, Guo P, Sun H(2007). Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*; 51(11): 4022-8.

- [84] Küme G, Demirci M(2012). Yoğun bakım ünitelerindeki hastaların alt solunum yolu örneklerinden izole edilen non-fermantatif gram-negatif bakterilerin antimikrobiyal duyarlılıkları ve alt solunum yolu enfeksiyonu ile ilişkili risk faktörleri. DEÜ Tıp Fakültesi Derg;26(1):37-44
- [85] Göktaş U, Yaman G, Karahocagil MK, Bilici A, Katı İ, Berktaş M (2010). Anestezi yoğun bakım ünitesinde hastane enfeksiyonu etkenleri ve direnç profilinin değerlendirilmesi. Yoğun Bakım Derg; 8 (1): 13- 7.
- [86] Günseren F, Mamikoğlu L, Öztürk S, Yücesoy M, Biberoglu K, Yuluğ N (1999).A surveillance study of antimicrobial resistance of gram negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey, J Antimicrob Chemother; 43 (3): 373-8.
- [87] Livermore, D. M (2003). The threat from the pink corner. Ann. Med;35:226–234.
- [88] Gazi H, Tünger Ö, Vural Ş, Özbakkaloğlu B, Sürücüoğlu S (2007). Çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına in vitro etkileri. Türk Mikrobiyol Cem Derg; 37:11-4.
- [89] Rahal JJ (2006). Novel antibiotic combinations against infections with almostcompletely resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. Clin Infect Dis; 43(suppl 2):S95-9. <http://dx.doi.org/10.1086/504486> PMID:16894522
- [90] Hernan RC, Karina B, Gabriela G, Marcela N, Carlos V, Angela F (2009).Selection of colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in postneurosurgical meningitis in an intensive care unit with high presence of heteroresistance to colistin. Diagn Microbiol Infect Dis;65:188-9
- [91] Donald H M, Scaite W, Anyes S G B, Young H K (2000). Sequance analysis of ARI 1, anovel OXA blactamase responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter boumanii* 6b92 Antimicrob Agents Chemother; 44;196–199.
- [92] Akova M (2004). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) var. ANKEM Derg; 18(Ek 2): 98-103.

- [93] Çiftçi İ H, Aşık G, Karakeçe E, Öksüz L, Yağcı S, Çetin Sesli E, Özdemir M, Atasoy A R, Koçoğlu E, Gül M, Kurtoğlu M G, Çakırlar F, Seyrek A, Berktaş M, Gültepe B, Ayyıldız A (2013). *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında bla_{OXA} Genlerinin Dağılımı Mikrobiyol Bul; 47(4): 592-602
- [94] Keyik Ş, Arslan U, Türk Dağı H, Seyhan T, Fındık D (2014). Karbapenemlere Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarında OXA Tipi Beta-Laktamazların Araştırılması ve PFGE ile Genotiplendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*; 48(4): 556-565.
- [95] Zarrilli R, Casillo R, Di Popolo A (2007). Molecular epidemiology of a clonal outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Italy. *Clin Microbiol Infect*; 13(5): 481-9.
- [96] Magnet S, Courvalin P, Lambert T (2001). Resistance nodulation cell division type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. *Antimicrob Agents Chemother*; 45:3375- 3380.
- [97] Fung DY (2006). Rapid methods and automation in microbiology: 25 years of development and predictions. *Bull Tech U Ist*; 54 (4): 45-55.
- [98] Aras Z (2011). Mikrobiyolojide Kullanılan Hızlı Tanı Yöntemleri, Konya. *Türk Hij Den Biyol Der*; 68(2): 97-104
- [99] Aras Z, Uçan US, Ateş M. Brucella suşlarının identifikasyon ve biyotiplendirilmesi. *Eurasian J Vet Sci*; 25: 51-9.
- [100] Blankenfeld-Enkvist GV, Brannback M (2009). Technological trends and needs in food diagnostics. *Technol Review*, 2002; 132/2002.
- [101] Sevindik E, Abacı ZT (2013). Ardahan Üniversitesi, Nested PZR ve Kullanım Alanları *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 6 (2): 22-26.
- [102] Çetinkaya E, Ayhan K (2012). Ankara Üniversitesi Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler Teknikler. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 2 (1), 53-62.

- [103] Özmen M (2011). Tavuk Trakelerinde *Mycoplasma gallisepticum*'un Real Time PZR Tekniği ile Saptanması ve İstatistik Analizi tez çalışması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Adana.
- [104] Ishino S and Ishino Y (2014). DNA polymerases as useful reagents for biotechnology – the history of developmental research in the field. *Front Microbiol* 5: 465.
- [105] Öztürk R (2007). Hastane enfeksiyonları kontrolünde moleküler mikrobiyoloji metotlarının önemi. Ed: Durmaz R. IV. Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji Kursu, 3-7: 64-75.
- [106] Podzorski PR (2004). Gel electrophoresis, Southern hybridization and Restriction Fragment Length Polymorphism analysis. In: Persing HD editor. *Molecular Microbiology*, Washington: ASM Press; Chapter 22; 273-280.
- [107] Diallo, IO, Mackenzie, AM., Spradbrow, PB, Robinson, W. F. (1998). Field isolates of fowl poxvirus contaminated with reticuloendotheliosisvirus. *Avian Dis*, 27: 60-66.
- [108] <https://www.klimud.org/public/uploads/dosya/1352738852.pdf>
- [109] Köksal F (1999). Moleküler Biyolojik Tiplendirme Yöntemlerinin Hastane İnfeksiyonlarında Kullanımı, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana Hastane İnfeksiyonları Dergisi; 3: 189-195
- [110] Durmaz R (2005). Hastane İnfeksiyonu Salgınında Moleküler Biyolojik Yöntemler, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya, Hastane İnfeksiyonları Dergisi; 9: 196-202
- [111] Çetinkaya E, Ayhan K (2012). Ankara Üniversitesi Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler Teknikler. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 2 (1), 53-62,
- [112] Goering RV(2010). Pulsed field gel electrophoresis: a review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease. *Infect Genet Evol*;10(7):866-75. doi: 10.1016/j.meegid.2010.07.023.

- [113] Tejedor J.L, Vela, A.I, Gibello, A, Casamayor, A, Dominguez, L, Fernandez, J.F (2011). A Genetic Comparison of Pig, Cow and Trout Isolates of *Lactococcus garvieae* by PFGE Analysis. *Letters in Applied Microbiology*, 53: 614–619
- [114] Tenover, F.C., Arbeit, R.D., Goering R.E(1995). Interpreting Chromosomal DNA Restriction Pattern Produced by Pulse-Field Gel Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain Typing. *J. Clin. Microbiol.*, 33: 2233-2239
- [115] Gardiner, K (1991). Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Analytical Chemistry*, 63: 658-665
- [116] Durmaz R, Otlu B, Koksall F, Hosoglu S, Ozturk R, Ersoy Y, Aktas E, Gursoy NC, Caliskan A(2009). *Jpn J Infect Dis*;62(5):372-7.
- [117] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.
- [118] Belkum A, Tassios PT, Dijkshoorn L (2007). Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. *CMI*;13 (Suppl. 3):1-46.
- [119] Türe M, Altınok İ(2013). *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 9(1):44-54
- [120] Vila J.,M.A. Marcos andM.T. Jimenez de Anta. 1996. A comparative study of different PCR-based DNA fingerprinting techniques for typing of the *Acinetobacter calcoaceticus*- ~ *A.baumannii* complex. *J. Med. Microbiol.* 44: 482-489.
- [121] Akgül A F, Karataş M, Öztürk B (2014). Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Erişkin Yoğun Bakım Ünitelerinde 5 Yıllık İnvaziv Araç İlişkili Hastane Enfeksiyonları Sürveyansı. *Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi*, 12: 13-24.

- [122] Seifert H, Dijkshoorn L, Gerner-Smidt P (2002). Distribution of *Acinetobacter species* on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. *J Clin Microbiol* 1997; 35:2819-2825. Haşcelik G. İnfeksiyonlara ait temel özellikler, Ed: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul;3-30.
- [123] Kempf M, Rolain JM (2012). Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *International journal of antimicrobial agents*;39(2):105-14.
- [124] Siau H, Yuen KY, Ho PL, Wong SS, Woo PC (1999) *Acinetobacter* bacteremia in Hong Kong: prospective study and review. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 28(1):26-30.
- [125] Cisneros JM, Reyes MJ, Pachon J (1996). Bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical findings, and prognostic features. *Clin Infect Dis*;22:1026-32.
- [126] Agodil A, Zarrilli R, Barchitta M (2006). Alert surveillance of intensive care unit-acquired *Acinetobacter* infections in a Sicilian hospital. *Clinical Microbiology and Infection*, 12(3):241-7.
- [127] Iraz M, Ceylan A, Akkoyunlu Y (2012). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde antibiyotik direnç oranlarının incelenmesi. *ANKEM Derg*; 26(2): 80-5.
- [128] Fontana C, Favaro M, Minelli S (2008). *Acinetobacter baumannii* in intensive care unit: novel system to study clonal relationship among the isolates. *BMC Infect Dis*; 8: 79.
- [129] Saeed S, Fakhri MG, Riederer K, Shah AR, Khatib R (2006). Interinstitutional and intrainstitutional transmission of a strain of *Acinetobacter baumannii* detected by molecular analysis: comparison of pulsed-field gel electrophoresis and repetitive sequence-based polymerase chain reaction. *Infect Control Hosp Epidemiol*; 27(9): 981-3.

- [130] Grisold AJ, Zarfel G, Strenger V (2010). Use of automated repetitive-sequence based PCR for rapid laboratory confirmation of nosocomial outbreaks. *J Infect*; 60(1): 44-51.
- [131] Reboli AC, Houston ED, Monteforte JS (1994). Discrimination of epidemic and sporadic isolates of *Acinetobacter baumannii* by repetitive element PCR-mediated DNA fingerprinting. *J Clin Microbiol*; 32(11): 2635-40.
- [132] Deplano A, Denis O, Poirel L, Hocquet D, Nonhoff C, Byl B, Nordmann P, Vincent JL, Struelens MJ (2005). Molecular characterization of an epidemic clone of panantibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol*; 43:1198-204.
- [133] Eraç B, Yılmaz FF, Hoşgör Limoncu M, Öztürk İ, Aydemir Ş(2014). Çok İlaça Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Virülans Faktörlerinin Araştırılması. *Mikrobiyol Bul*; 48(1): 70-81
- [134] Yaylı G, Oltan N, Ak Ö, Gençer S, Özer S (2000). Üriner İnfeksiyon Etkeni *Escherichia coli* Suşlarında Kotrimoksazol Direnci. *Klimik Derg*; 13: 86-87.
- [135] Dolapci I, Karahan ZC, Mumcuoglu I (2010). Investigation of presence of class 1 integrons in clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Mikrobiyol Bul*; 44(4): 547-52.
- [136] Petrosillo N, Capone A, Di Bella S, Taglietti F (2010). Management of antibiotic resistance in the intensive care unit setting. *Expert Rev Anti Infect Ther*; 8:289-302.
- [137] Alpat SN, Aybey AD, Akşit F, Özgüneş İ, Kiremitçi A, Usluer G (2010). *Acinetobacter baumannii* klinik izolatlarının tigesiklin ve karbapeneme karşı in vitro duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bul*; 44: 641-5
- [138] Erben N, Kiremitçi A, Özgüneş İ (2006). Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz ve indüklenebilir beta-laktamaz sıklığının ve antimikrobiyal duyarlılığın değerlendirilmesi, *Osmangazi Tıp Derg*; 28(3):135-46.

- [139] Wincent, JL, Bihari, DJ, Suter, P.M, Bruining, H.A, White, J, Nicolas-Chanoin, M, Wolff, M, Spencer, R.C (1995). The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisor Committee. *JAMA*. 274(8):639-644
- [140] Falagas ME, Bliziotis IA, Siempos II(2006). Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Crit Care*;10 (2):R48. Review.
- [141] Alexis T (2012). Characteristics and determinants of outcome of hospital-acquired bloodstream infections in intensive care units: the EUROBACT International Cohort Study. *Intensive Care Med*, 38:1930-1945
- [142] Usluer G, Ozgunes I, Leblebicioglu H (2005). A multicenter point-prevalence study: antimicrobial prescription frequencies in hospitalized patients in Turkey. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*;4:16.
- [143] Fournier PE, Richet H (2006). The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*;42(5):692-9.
- [144] Joly-Guillou ML (2005). Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*;11(11):868-73.
- [145] Mulin B, Talon D, Viel JF (1995). Risk factors for nosocomial colonization with multiresistant *Acinetobacter baumannii*, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*;14(7):569–76.
- [146] Villegas MV, Hartstein AI (2003). *Acinetobacter* outbreaks, 1977-2000. *Infection Control and Hospital Epidemiology*;24(4):284-95.
- [147] Smith PW, Massanari RM (1977). Room humidifiers as the source of *Acinetobacter* infections. *Journal of the American Medical Association*, 237(8):795-7.

- [148] Çetin ES, Kaya S, Pakbaş İ, Demirci M (2007). Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *İnönü Üni Tıp Fak Derg*; 14(2): 69-73
- [149] Villers D, Espaze E, Coste-Burel M (1998). Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections: microbiological and clinical epidemiology, *Ann Intern Med*;129(3):182–9.
- [150] Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP (2000). Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infection control and hospital epidemiology : the official journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America*;21(8):510-5.
- [151] Elmas Dal Ş. (2013). İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Yoğun Bakımda Yatan Hastalarda Nozokomiyal Çoklu İlaç Dirençli *Acinetobacter* Enfeksiyonlarındaki Risk Faktörlerinin Belirlenmesi ve İzolatların Genotiplendirilmesi, Uzmanlık Tezi. Malatya
- [152] Ponce de Leon-Rosales SP, Molinar-Ramos F, Dominguez-Cherit G, RangelFrausto MS, Vazquez-Ramos VG. (2000). Prevalence of infections in intensive care units in Mexico: a multicenter study. *Critical care medicine*;28(5):1316-21.
- [153] Özdem B, Gürelik FÇ, Çelikkilek N, Balıkcı H, Açıkgöz ZC (2000). Çeşitli Klinik Örneklerden 2007- 2010 Yıllarında İzole Edilen *Acinetobacter* Türlerinin Antibiyotik Direnç Profilleri. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45: 526-34.
- [154] Ergönül Ö, Aydın M, Azap Ö, Başaran S (2016). Healthcare-associated Gram-negative bloodstream infections: antibiotic resistance and predictors of mortality. *Journal of Hospital Infection*, Available online 21 August
- [155] Sligl WE, Dragan T, Smith SW (2015). Nosocomial Gram-negative bacteremia in intensive care: epidemiology, antimicrobial susceptibilities, and outcomes. *International Journal of Infectious Diseases*; 37: 129–134
- [156] Villari P, Iacuzio L, Vozzella EA, Bosco U. (1999). Unusual genetic heterogeneity of *Acinetobacter baumannii* isolates in a university hospital in Italy. *Am. J. Infect. Control* 27: 247–253.

- [157] Şahin H, Önde U, Adiloğlu AK, Karakoç AE, Bulut C, Açıkgöz ZC, Erdem GB, Haşçelik G, Öztürk-Çoşkun A (2016). Ankara'daki çeşitli hastanelerden elde edilen *Acinetobacter baumannii* izolatları arasındaki klonal ilişkinin gösterilmesi ve antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg; 73(3): 199-210
- [158] Gözütok F, Sarıgüzel FM, Çelik İ, Berk E, Aydın B, Güzel D (2013). Hastane infeksiyonu etkeni *Acinetobacter baumannii* suşlarının antimikrobiyal direnç oranlarının araştırılması. ANKEM Derg;27(1):7-12.
- [159] Dursun O, Gümüş E, Turhan Ö (2011). Çocuk Yoğun Bakım Ünitesinde Alet İlişkili Hastane Enfeksiyonları. Türkiye Klinikleri J Pediatr;20(2)
- [160] Gaynes R, Edwards JR (2005). National Nosocomial Infections Surveillance System. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. Clin Infect Dis; 41: 848-54.
- [161] Şeşen ZN (2016). Gram Negatif Bakteriyemi Etkenleri ve Artan Antibiyotik Direnci, Uzmanlık Tezi, Ankara
- [162] Bayram Y, Gültepe B, Bektaş A, Parlak M, Güdücüoğlu H (2013). Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacterbaumannii*Suşlarının Antibiyotiklere Direnç Oranlarının Araştırılması Klimik Dergisi; 26(2): 49-53
- [163] Rossi F, Girardello R, Cury AP, Gioia TS, Almeida JN Jr, Duarte AJ (2016). Emergence of colistin resistance in the largest university hospital complex of São Paulo, Brazil, over five years. Braz J Infect Dis. Nov 7
- [164] Nomanpour B, Ghodousi A, Babaei A, Abtahi H, Tabrizi M, Feizabadi M (2011). Rapid, cost-effective, sensitive and quantitative detection of *Acinetobacter baumannii* from pneumonia patients.Iran J Microbiol;3(4):162-9.
- [165] Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N (2012) Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. J Antimicrob Chemother; 67(7): 1607-15.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Seher DURUKAN
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas-1979
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Mehmet Akif Ersoy Mahallesi, 38. Sokak, Zambak Sitesi, B/Blok Daire:19 58060-Sivas
E-posta Adresi	durukanseher@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Sivas Cumhuriyet Lisesi, 1996
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2000
Yüksek Lisans	Sivas Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2019
Ünvan	Biyoloji Öğretmeni

İş Tecrübesi

Milli Eğitim Bakanlığı	Sınıf Öğretmeni, 2002-2008
Milli Eğitim Bakanlığı	Biyoloji Öğretmeni, 2008-