



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
Ankara İli 1. Bölge Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği
ANKARA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ BÖLÜMÜ

**HASTANE ENFEKSİYONU ETKENİ OLAN KARBAPENEM
DİRENÇLİ *A. CALCOACETICUS*-*A. BAUMANNII* KOMPLEKS
İZOLATLARINDAKİ YAYGIN KARBAPENEMAZ
GENLERİNİN IN HOUSE MULTİPLEKS PCR İLE
ARAŞTIRILMASI VE METALLOBETALAKTAMAZ
ÜRETİMİNİN FENOTİPİK YÖNTEMLE SAPTANMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hilal BÖLÜKBAŞI

ANKARA-2017



T.C.

SAĞLIK BAKANLIĞI

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU

Ankara İli 1. Bölge Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği

ANKARA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ BÖLÜMÜ

**HASTANE ENFEKSİYONU ETKENİ OLAN KARBAPENEM
DİRENÇLİ *A. CALCOACETICUS*-*A. BAUMANNII* KOMPLEKS
İZOLATLARINDAKİ YAYGIN KARBAPENEMAZ
GENLERİNİN IN HOUSE MULTİPLEKS PCR İLE
ARAŞTIRILMASI VE METALLOBETALAKTAMAZ
ÜRETİMİNİN FENOTİPİK YÖNTEMLE SAPTANMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hilal BÖLÜKBAŞI

TEZ DANIŞMANLARI

Prof. Dr. Ali Kudret ADİLOĞLU

Uzm. Dr. Ufuk ÖNDE

ANKARA-2017

TEŞEKKÜR

Tez danışmanlarım Prof. Dr. Ali Kudret Adiloğlu ve Uzm. Dr. Ufuk Önde'ye; değerli hocalarım Doç Dr. Bedia Dinç ve Doç. Dr. Berrin Esen'e; uzman, asistan ve teknisyen arkadaşlarıma,

Kalite kontrol suşlarını sağlayan Prof. Dr. Zeynep Gülay ve Doç. Dr. Ayşegül Çopur Çiçek'e; Yrd. Doç. Dr. Evren Doruk Engin'e; yardımcımdan dolayı asistan arkadaşım Sefer Erman Yılmaz'a,

Asistanlık hayatım boyunca her zaman yanımda hissettiğim sevgili hocam Doç. Dr. Ayşe Esra Karakoç'a; Uzm. Dr. Rukiye Berkem'e; dostluklarımı her daim yaşatan arkadaşlarım Hilal Gürbüz ve Fatime Merdan'a; bana ablalık yapan Ceyda Şahin'e; sevgili arkadaşlarım Yasemin Derya Gülseren, Gamze Türkoğlu, Sedat Vezir, Demet Furkan Sevindi, Emek Türkekul Şen, Rabia Çalı ve Sedef Yurdakul'a teşekkür ederim.

Tezimi biricik annem Pakize Bölükbaşı, babam Mustafa Bölükbaşı, ablalarım; Maide Çalışkan, Cahide Aras, Zahide Karlık, ağabeyim Özşir Bölükbaşı, yeğenlerim; Burçin Dursun, Tuğçe Çengel, Bengisu Nisa Aras, Elif Yaren Aras, Dicle Karlık, sevgisinde ve bana verdiği pozitif enerjide sınır tanımayan, bir tanem Nil Birce Karlık'a ithaf ediyorum. İyi ki ailem oldunuz, hepinize sonsuz teşekkür ve sevgimle.

Dr. Hilal BÖLÜKBAŞI

ÖZET

HASTANE ENFEKSİYONU ETKENİ OLAN KARBAPENEM DİRENÇLİ *A. CALCOACETICUS*-*A. BAUMANNII* KOMPLEKS İZOLATLARINDAKİ YAYGIN KARBAPENEMAZ GENLERİNİN IN HOUSE MULTİPLEKS PCR İLE ARAŞTIRILMASI VE METALLOBETALAKTAMAZ ÜRETİMİNİN FENOTİPİK YÖNTEMLE SAPTANMASI

Acinetobacter calcoaceticus-*Acinetobacter baumannii* kompleks (ACB) içinde yer alan ve en sık izole edilen *Acinetobacter baumannii*, yoğun bakım üniteleri (YBÜ) başta olmak üzere hastane enfeksiyonlarının önde gelen etkenlerinden biridir. Çoklu ilaç dirençli (ÇİD) suşların artması, mortalite ve morbiditesi yüksek, tedavisi güç enfeksiyonların görülmesine sebep olmaktadır.

Karbapenem direncinin de son yıllarda büyük oranda artış göstermesi, ÇİD *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde karbapenem grubu dışında başka ilaç arayışlarına sebep olmuştur. Günümüzde bu enfeksiyonların tedavisinde çeşitli kombinasyon tedavileri denenmektedir. Tekrar gündeme gelen kolistin bu amaçla, tek başına ya da kombine terapi şeklinde kullanılmaktadır. Ancak kolistine direnç dünyanın birçok yerinden bildirilmeye başlanmıştır. Yeni antibiyotiklerin keşfine kadar, *A. baumannii* enfeksiyonları önemli halk sağlığı problemi olmaya devam edecektir.

Çalışmamızda, Ocak 2014-Ağustos 2016 tarihleri arasında Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi servis ve yoğun bakım ünitelerinde yatmış olup hastane enfeksiyonu tanısı konulmuş hastaların, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilmiş çeşitli klinik örneklerinden elde edilen 142 karbapenem dirençli ACB izolatının antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon ve kolistin duyarlılığı gradient strip test yöntemiyle değerlendirildi. Bu amaçla EUCAST'ın duyarlılık bakılmasını önerdiği antibiyotikler test edildi. Karbapenemlere orta duyarlı veya dirençli olma kriterini sağlayıp çalışmaya dahil edilen tüm izolatlar, imipenem ve meropenem antibiyotiklerine %100 dirençli bulundu. Siprofloksasin ve levofloksasin antibiyotiklerinin ikisine de 142 izolatın 133 (%93,7)'ü dirençli, dokuzu (%6,3) duyarlı bulundu. Aminoglikozitlerden en fazla direnç amikasinde görüldü. Amikasin için 142 izolatın 133 (%93,7)'ü dirençli, dokuzu (%6,3) duyarlı bulundu. Netilmisin,

gentamisin ve tobramisin antibiyotiklerinde direnç; sırasıyla 107 (%75), 104 (%73), 100 (%70) izolat olarak bulundu. Trimetoprim-sülfametoksazola izolatların 87 (%61,3)'si dirençli, 16 (%11,3)'sı orta duyarlı ve 39 (%27,4)'u duyarlı bulundu. Kolistin direnci iki (%1,4) izolatta saptandı.

Çalışmamızda *A. baumannii*'de karşılaşılan OXA-51, OXA-23, OXA-24, OXA-58, GES, VIM, IMP, NDM, SIM karbapenem direnç genleri, in house multipleks PCR yöntemiyle araştırıldı. Kombine disk testi, metallo-beta-laktamaz (MBL) üretimini saptamak için yapıldı ve test sonuçları PCR yöntemiyle elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı.

Çalışmamıza dahil edilen karbapenem dirençli 142 ACB izolatının 137 (%96,5)'sinde OXA-51 pozitif bulundu. İzolatların üç (%2,1) tanesinde hiçbir gen bölgesi saptanmadı. OXA-23 toplam 134 (%94,4) izolatta, OXA-58 bir (%0,7) izolatta, NDM 11 (%7,7) izolatta pozitif bulundu. OXA-23 saptanan 134 izolatın 127 (%89,4)'si OXA-51 ile, yedisi (%5) OXA-51 ve NDM ile birlikte pozitif bulundu. NDM pozitif saptanan 11 izolatın ikisi (%1,4) OXA-51 ile birlikte pozitif saptanırken, ikisi (%1,4) tek başına pozitiflik gösterdi. OXA-58 pozitif saptanan bir izolat OXA-51 ile birlikte pozitif bulundu. Çalışmamızda OXA-24, GES, VIM, IMP, SIM genleri hiçbir izolatta saptanmadı.

Fenotipik MBL saptama testi olarak kombine disk testi, meropenem ve imipenem kullanıldığında farklı duyarlılık ve özgüllük sonuçları verdi. İmipenem-EDTA kombine disk testinin MBL varlığını saptamadaki duyarlılığı %81,8 (9/11), özgüllüğü %96,2 (126/131), pozitif öngörü değeri %64,3 (9/14), negatif öngörü değeri %98,4 (126/128) olarak bulundu. Meropenem-EDTA kombine disk testinin MBL varlığını saptamadaki duyarlılığı %100 (11/11), özgüllüğü %81,7 (107/131), pozitif öngörü değeri %31,4 (11/35), negatif öngörü değeri %100 (107/107) olarak bulundu.

Metallo-beta-laktamazları saptamaya yönelik fenotipik testlerin duyarlılık ve özgüllükleri çeşitli çalışmalarda farklı sonuçlar vermiştir. Bu testlerin geliştirilmeye ihtiyacı vardır. Türkiye'de az sayıda çalışma dışında *Acinetobacter* türlerinde bildirilmeyen NDM geni, çalışmamızda 11 izolatta pozitif bulundu. Beraberinde farklı direnç genlerini de barındırabilen NDM pozitif suşlar, ÇİD enfeksiyonların yayılımında risk oluşturmaktadır. NDM ile birlikte diğer karbapenem direnç genlerini

taşıyan *Acinetobacter* suşlarının erkenden tanınması, bu suşların yayılımına engel olacak sürveyans çalışmalarının yapılabilmesi açısından önemlidir.

Anahtar sözcükler: *Acinetobacter baumannii*, antimikrobiyal direnç, karbapenemaz genleri, multipleks PCR, metallo-beta-laktamaz



ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EXTENSIVE CARBAPENEMASE GENES IN CARBAPENEM RESISTANT *A. CALCOACETICUS*-*A. BAUMANNII* COMPLEX ISOLATES THAT THE CAUSE OF NOSOCOMIAL INFECTIONS BY IN HOUSE MULTIPLEX PCR AND DETECTION OF METALLOBETALACTAMASE PRODUCTION BY PHENOTYPIC METHOD

Acinetobacter baumannii which is in the *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* complex (ACB) and the most frequent type is one of the most important agent causes hospital infections, especially in intensive care units (ICU). Increased multidrug resistance (MDR) strains cause the appearance of infections that are difficulty on treatment with high mortality and morbidity.

The large increase in carbapenem resistance in recent years has led to the search for other drugs besides the carbapenem group in the treatment of MDR *A. baumannii* infections. Today, several combination therapies have been tried in the treatment of these infections. For this purpose, the colistin, which comes to the fore again, is used alone or in combination therapy. However, resistance to the colistin began to be reported in many parts of the world. Until the discovery of new antibiotics, *A. baumannii* infections will continue to be a major public health problem.

In our study, antibiotic susceptibilities of 142 carbapenem resistant ACB isolates obtained from various clinical specimens sent to the Microbiology Laboratory of patients hospitalized and diagnosed with hospital infection between January 2014 and August 2016 in Ankara Education and Research Hospital services and intensive care units were analyzed by disk diffusion and colistin sensitivity was assessed by gradient strip test method. For this purpose, antibiotics recommended by EUCAST for susceptibility testing were tested. All isolates that were included in the study providing criteria for being intermediate susceptible or resistant to carbapenems were found to be 100% resistant to imipenem and meropenem antibiotics. For the ciprofloxacin and levofloxacin antibiotics, 133 (93.7%) of the 142 isolates were resistant and nine (6.3%) were susceptible. Among aminoglycosides, the most resistance was found in amikacin. Of the 142 isolates, 133 (93.7%) were resistant, nine (6.3%) were susceptible to amikacin. Resistance in netilmicin, gentamicin and tobramycin antibiotics; were found

as 107 (75%), 104 (73%) and 100 (70%) isolates, respectively. In total of 142 isolates, 87 (61.3%) isolates were resistant to trimethoprim-sulfamethoxazole, 16 (11.3%) were intermediate susceptible and 39 (27.4%) were susceptible. Colistin resistance was detected in two (1.4%) strains.

In our study, carbapenem resistance genes of OXA-51, OXA-23, OXA-24, OXA-58, GES, VIM, IMP, NDM and SIM which are encountered in *A. baumannii* were investigated by in house multiplex PCR. The combined disc test was performed to detect metallo-beta-lactamase (MBL) production and the test results were compared with the PCR results.

OXA-51 was positive in 137 (96.5%) of the 142 carbapenem resistant ACB isolates included in our study. No gene regions were found in three (2.1%) isolates. In 134 (94.4%) isolates OXA-23, one (0.7%) isolate OXA-58 and 11 (7.7%) isolates NDM were found positive. 127 (89.4%) of 134 OXA-23 positive isolates were also positive for OXA-51, seven (5%) of them were positive for both OXA-51 and NDM. Two (1.4%) of the 11 isolates detected as NDM positive were also positive with OXA-51 and two (1.4%) of them showed NDM positivity alone. Detected one OXA-58 positive isolate found positive with OXA-51 also. In our study, OXA-24, GES, VIM, IMP, SIM genes were not detected in any isolates.

Combined disc testing as a phenotypic MBL detection test yielded different sensitivity and specificity results when using meropenem and imipenem. The sensitivity of the imipenem-EDTA combined disc test for detecting MBL presence was 81.8% (9/11), specificity 96.2% (126/131), positive predictive value 64.3% (9/14), negative predictive value 98.4% (126/128). Meropenem-EDTA combined disc test showed 100% (11/11) sensitivity, 81.7% (107/131) specificity, 31.4% (11/35) positive predictive value, 100% (107/107) negative predictive value.

Sensitivity and specificity of phenotypic tests for MBL detection have yielded different results in various studies. These tests need to be developed. In Turkey, NDM that is not reported in *Acinetobacter* species except for a few studies was found to be positive in 11 isolates in our study. NDM positive strains that can harbor different resistance genes together create risk for the spread of MDR infections. Early

recognition of *Acinetobacter* strains carrying NDM and other carbapenem resistance genes is important to enable surveillance studies to prevent the spread of these strains.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, antimicrobial resistance, carbapenemase genes, multiplex PCR, metallo-beta-lactamase



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
RESİMLER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
TABLolar DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Tarihçe ve Taksonomi.....	4
2.2. Mikrobiyolojik, Metabolik, Kültür Özellikleri ve Tanımlama	5
2.3. Patogenez ve Virülans.....	8
2.4. Epidemiyoloji.....	9
2.5. <i>Acinetobacter baumannii</i> Enfeksiyonları	9
2.5.1. Hastane Enfeksiyonları	10
2.5.2. Solunum Yolu Enfeksiyonları	10
2.5.3. Bakteriyemi.....	11
2.5.4. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları.....	11
2.5.5. Üriner Sistem Enfeksiyonları.....	11
2.5.6. Yumuşak Doku Enfeksiyonları.....	12
2.5.7. Diğer Enfeksiyonlar	12
2.6. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları	12
2.6.1. Aminoglikozit Direnci	13
2.6.2. Kinolon Direnci	14
2.6.3. Tetrasiklin Direnci	14
2.6.4. Polimiksin (Kolistin) Direnci.....	15
2.7. Beta-laktamlar ve Direnç Mekanizmaları	16

2.7.1.	Hedef Bölge Mutasyonları.....	16
2.7.2.	Azalmış Geçirgenlik ve İlacın Hücre Dışına Atılması	16
2.7.3.	Beta-laktamazlarla İlaç İnaktivasyonu.....	17
2.8.	Beta-laktamazlar	17
2.8.1.	Yapısal olarak (moleküler) sınıflandırma (Ambler Sınıflandırması)	17
2.8.2.	Fonksiyonel Sınıflandırma (Bush-Jacoby-Medeiros sınıflaması).....	18
2.9.	Karbapenemler	20
2.9.1.	Antibakteriyel Etki Spektrumu	20
2.10.	Karbapenemlere Karşı Direnç Mekanizmaları	22
2.10.1.	Eflüks Pompa Sistemlerinin İndüklenmesi.....	22
2.10.2.	Porin Değişimleri	23
2.10.3.	Karbapenemazlar	23
2.10.3.1.	Sınıf A Karbapenemazlar	24
2.10.3.2.	Sınıf B Metallo-beta-laktamazlar (MBL)	24
2.10.3.3.	Sınıf D Beta-laktamazlar	26
2.11.	Karbapenemazların Saptanması.....	29
2.11.1.	Fenotipik Doğrulama Testleri	30
2.11.2.	Spektrofotometre	31
2.11.3.	Carba NP, CarbAcineto NP Test	32
2.11.4.	İmmünokromatografi	32
2.11.5.	Moleküler Yöntemler.....	32
2.12.	Tedavi	33
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1.	Örnek Seçimi	36
3.2.	Örneklerin Toplanması	37
3.3.	Bakterilerin İzolasyonu ve Konvansiyonel Yöntemlerle Tanımlanması.....	37
3.4.	Otomatize İdentifikasyon ve Antibiyotik Duyarlılık Sistemlerinde Tür Tanımlanması ve Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılığın Araştırılması.....	38

3.4.1. VITEK 2 Compact 60 Otomatize İdentifikasyon ve Antimikrobiyal Duyarlılık Sisteminde Tür Tanımlanması ve Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılığın Araştırılması	38
3.4.2. Phoenix 100 Otomatize İdentifikasyon ve Antimikrobiyal Duyarlılık Sisteminde Tür Tanımlanması ve Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılığın Araştırılması.....	39
3.5. Disk Difüzyon Yöntemiyle Antibiyotik Duyarlılığının Belirlenmesi	41
3.6. Kombine Disk Testi (Sinerji Testi) ile MBL Varlığının Araştırılması.....	42
3.7. Gradient Strip Test Yöntemiyle Kolistin Duyarlılığının Saptanması	44
3.8. Karbapenemaz Gen Bölgelerinin Moleküler Yöntemlerle Araştırılması.....	46
3.8.1. <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> - <i>Acinetobacter baumannii</i> kompleks İzolatlarının Canlandırılması ve Plazmit DNA Ekstraksiyonu.....	47
3.8.2. DNA Ekstraksiyonunun Kontrolü	50
3.8.3. PCR Mikslerinin Hazırlanması	50
3.8.4. PCR Koşullarının Sağlanması ve PCR'ın Gerçekleştirilmesi	54
3.8.5. PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi	54
3.9. İstatistiksel Değerlendirme	55
4. BULGULAR	56
5. TARTIŞMA.....	67
6. SONUÇ	83
7. KAYNAKLAR.....	85

KISALTMALAR DİZİNİ

ABC	: ATP-binding cassette
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ACB	: <i>A. calcoaceticus</i> - <i>A. baumannii</i> kompleks
AFLP	: Amplified fragment length polymorphism
AN	: Amikasin
ARDRA	: Amplified ribosomal DNA restriction analysis
ARI	: <i>Acinetobacter</i> resistant to imipenem
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
CIP	: Siprofloksasin
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
ÇİD	: Çoklu ilaç dirençli
EARS-Net	: European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
EDTA	: Etilen diamino tetra asetik asit
EMB	: Eozin metilen blue
ES-OXA	: Expanded-spectrum class D β -lactamases
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
GES	: Guyana extended spectrum beta-lactamase
GIM	: German imipenemase
GM	: Gentamisin
GSBL	: Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
IMI	: Imipenem hydrolyzing beta lactamase
IMP	: Aktive on imipenem
IPM	: İmipenem
KKA	: Koyun kanlı agar
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
KPC	: <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase
KVC	: Kardiyo vasküler cerrahi
L-EMB	: Levine eozin metilen blue
LPS	: Lipopolisakkarit
LVX	: Levofloksasin

MALDI-TOF MS	: Matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry
MATE	: Multidrug and toxic compound extrusion
MBL	: Metallo-beta-laktamaz
MF	: Major facilitator
MİK	: Minimum inhibitör konsantrasyon
MRP	: Meropenem
NDM	: New Delhi metallo-beta-lactamase
NET	: Netilmisin
NMC	: Not metalloenzyme carbapenemase
NN	: Tobramisin
OF	: Oksidasyon-fermentasyon
OXA	: Oksasilinaz
PBP	: Penisilin bağlayıcı protein
PCR	: Polymerase chain reaction
PDR	: Pan-drug rezistan
PFGE	: Pulsed-field jel elektroforezi
QS	: Quorum sensing
RND	: Resistance nodulation division
SIM	: Seoul imipenemase
SME	: <i>Serratia marcescens</i> enzyme
SMR	: Small multidrug resistance
SPM	: Sao Paulo metallo-beta-lactamase
SXT	: Trimethoprim-sülfametoksazol
TBE	: Tris-borik asit-EDTA
TSI	: Triple sugar iron
VIM	: Verona integron-encoded metallo-beta-lactamase
VİP	: Ventilatör ilişkili pnömoni
XDR	: Extensively drug-resistant
YBÜ	: Yoğun bakım ünitesi

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa No
Resim 1. Işık mikroskopunda <i>Acinetobacter</i> görüntüsü.....	5
Resim 2. <i>A. baumannii</i> 'nin OF ve TSI besiyerlerindeki görüntüsü	6
Resim 3. Koyun kanlı agarda <i>Acinetobacter</i> kolonileri	6
Resim 4. Meropenem-EDTA pozitif, imipenem-EDTA negatif olan kombine disk testi.....	44
Resim 5. Gradient strip test yöntemiyle kolistin duyarlı saptanan <i>A.</i> <i>baumannii</i> izolatı.....	45
Resim 6. Çalışmamızdaki PCR pozitif izolatların, pozitif kontrollerin ve negatif kontrolün jel görüntüsü	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. ACB izolatlarının klinik materyallere göre dağılımı (%).....	56
Şekil 2. ACB izolatlarının kliniklere göre dağılımı (%).....	57
Şekil 3. ACB izolatlarının Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle saptanan antimikrobiyal duyarlılık paterni (%).....	59



TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. <i>Acinetobacter</i> cinsinin taksonomisi	4
Tablo 2. Beta-laktamazların sınıflandırılması.....	19
Tablo 3. Karbapenemlerin etkinlik ve kullanım alanlarına göre sınıflandırması	21
Tablo 4. <i>A. baumannii</i> 'de saptanan OXA grupları	28
Tablo 5. EUCAST'a göre <i>Acinetobacter</i> spp. için karbapenem klinik sınır değerler	30
Tablo 6. CLSI'a göre <i>Acinetobacter</i> spp. için karbapenem klinik sınır değerler	30
Tablo 7. <i>Acinetobacter</i> spp. için EUCAST'ın önerdiği disk sınır değerleri	42
Tablo 8. <i>Acinetobacter</i> spp. için EUCAST'ın önerdiği kolistin MİK sınır değeri (mg/L).....	45
Tablo 9. Kalite kontrol suşları ve kontrol DNA eldeleri	46
Tablo 10. Çalışmada kullanılan primerlerin nükleotit dizileri.....	51
Tablo 11. Reaksiyon karışımı 1	52
Tablo 12. Reaksiyon karışımı 2	53
Tablo 13. Reaksiyon karışımı 3	53
Tablo 14. ACB izolatlarının klinik materyallere göre dağılımı	56
Tablo 15. ACB izolatlarının kliniklere göre dağılımı	57
Tablo 16. ACB izolatlarının Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle saptanan antimikrobiyal duyarlılık paterni [n (%)]	58
Tablo 17. ACB izolatlarının kolistin için gradient strip test sonuçları [n (%)]	59
Tablo 18. ACB izolatlarının imipenem-EDTA, meropenem-EDTA kombine disk testi sonuçları [n (%)].....	59
Tablo 19. ACB izolatlarında görülen karbapenemaz genlerinin dağılımı [n (%)].....	60
Tablo 20. Tespit edilen genlerin kliniklere göre dağılımı [n (%)]	61
Tablo 21. Tespit edilen genlerin klinik örnek türlerine göre dağılımı [n (%)]	62
Tablo 22. Karbapenemaz genlerinin yıllara göre pozitiflik durumu [n (%)]	63

Tablo 23. İmipenem-EDTA kombine disk testi değerlendirmesi.....	64
Tablo 24. Meropenem-EDTA kombine disk testi değerlendirmesi.....	64
Tablo 25. İmipenem-EDTA ve meropenem-EDTA'nın birlikte pozitifliği, birlikte negatifliği ve herhangi birinin pozitif olduğu kombine disk testi değerlendirmesi.....	65
Tablo 26. Kombine disk testinde imipenem-EDTA ve meropenem- EDTA'nın birlikte pozitifliğinin değerlendirmesi	65
Tablo 27. Kombine disk testinde imipenem-EDTA ve meropenem- EDTA'nın herhangi birinin pozitifliğinin değerlendirmesi.....	65
Tablo 28. Kombine disk testinin duyarlılık ve özgülükleri	66



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Acinetobacter türleri, toprak, su, hayvan dokuları, insan derisinde kolonizasyon şeklinde ve özellikle hastane yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) olmak üzere çevrede yaygın bulunan fırsatçı bakterilerdir (1). Pnömoni, menenjit, endokardit, deri ve yara enfeksiyonları, peritonit ve üriner sistem enfeksiyonlarına neden olabilirler. Sporadik olarak konjonktivit, sinovit, osteomyelit yapabilirler (2-5).

Acinetobacter türleri, hastane ortamında, başta yoğun bakım ünitelerinde olmak üzere, yataklar, klimalar, ekipmanlar ve kapı kolllarında yoğun olarak bulunur (6). Hastane enfeksiyonları içinde, özellikle yoğun bakım ünitelerinden en sık izole edilen etkenlerin başında *Acinetobacter* cinsi bakteriler gelir.

Acinetobacter kolonizasyonu ve enfeksiyonları için önemli risk faktörleri olarak, travma, yanıklar, cerrahi müdahaleler, drenaj tüpleri, hastaya uygulanan mekanik ventilasyon, invaziv girişimler, hastane ve YBÜ'de uzun süre yatma, uzun süre geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve immünsüpresyon sayılabilir (4, 5, 7-9).

Sıklıkla sebep olduğu hastane enfeksiyonları; ventilatör ilişkili pnömoni (VİP), bakteriyemi, üriner sistem enfeksiyonları, menenjitler ve yara yeri enfeksiyonlarıdır (2-5). Salgınlardan, bakterinin kuru cansız yüzeylerde uzun süre yaşayabilmesi, hastaların cilt, boğaz, solunum ve sindirim sisteminde kolonize olması rol oynar (10-15).

Acinetobacter türleri arasında en sık enfeksiyona neden olan *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks (ACB) içinde yer alan *Acinetobacter baumannii*'dir. Daha az sıklıkla *A. lwoffii*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, genomospecies 3 ve genomospecies 6 enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkar (3). *A. johnsonii*, *A. lwoffii* ve *A. radioresistens* ise insan deri florasının üyeleridir ve orofarenks ile vajinada bulunabilirler (3).

Acinetobacter baumannii, 1970 yıllarında, ampisilin, nalidiksik asitin dahil olduğu birçok antibiyotik sınıfına duyarlıyken (10, 16) günümüzde aminopenisilinler, üreidopenisilinler, sefalosporinler, sefamisinler, aminoglikozitler gibi antibiyotiklerin büyük kısmına yüksek oranda direnç göstermektedir (17, 18). *Acinetobacter* türlerinde özellikle yoğun bakım ünitelerinde sık kullanılan karbapenemlere karşı direnç giderek

artmaktadır (2, 19-21). Son seçenек ilaç olarak tercih edilen kolistine ise dirençler bildirilmeye artarak devam etmektedir (22-24).

Yıllar içinde artış gösteren antibiyotik direnci YBÜ'lerde ağırlıklı olmak üzere hastanede yatan hastaların morbidite ve mortalitesini büyük ölçüde arttırmıştır (25). Özellikle YBÜ'lerde salgınlar yapan *A. baumannii* enfeksiyonları yıllar içinde, çoklu ilaç dirençli (ÇİD), extensively drug-resistant (XDR), pan drug-rezistan (PDR) türlerin ortaya çıkmasıyla önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (26-28).

Bakterinin çevre ve insan kaynaklarına kolay adapte olabilmesi ve yaşamını sürdürebilmesi, beta-laktamaz üretimi, aminoglikozitlere karşı modifikasyon enzimi üretimi, kinolonların bağlanma yerindeki değişiklikler, aktif atım pompası (eflüks pompa) ve hücre duvar kanallarındaki (porinler) değişiklikler, lipopolisakkaritlerdeki modifikasyonlar gibi kendiliğinden mevcut ve kazanılmış direnç mekanizmalarına sahip olması, kimi zaman tüm ilaçlara karşı olmak üzere yüksek düzeyde ilaç direncine yol açar (29, 30).

Bakteri, plazmit, transpozon ve integron aracılığı ile hızlı ve çoklu ilaç direnci geliştirmiş, *Acinetobacter* enfeksiyonlarında sık kullanılan bir ajan olan karbapenemlere dirençli hale gelerek tedavide başka ilaç seçenekleri veya kombinasyonlarını gündeme getirmiştir (31).

Acinetobacter'lerde görülen karbapenem direncinden, azalmış dış membran geçirgenliği, eflüks pompa ve karbapenemazlar sorumludur. Karbapenemazlar içinde Sınıf D beta-laktamaz (oksasilinaz) gelişimi *A. baumannii* direncindeki en önemli mekanizma olarak kabul edilmektedir (32).

Metallo-beta-laktamazlar ve oksasilinazları içeren karbapenem hidrolize eden beta-laktamazlar (karbapenemazlar) *A. baumannii*'de karbapenem direncinin ortaya çıkmasına önemli katkı sağlamaktadır. YBÜ'lerde karbapenem kullanımının artması karbapeneme dirençli *A. baumannii*'nin hastane ortamında yayılımını kolaylaştırmaktadır. Antibiyotik kullanım ilkelerine uyulmaması, bu bakteriyle enfekte olan hastaları tedavi etmekte ciddi problemlere yol açmıştır. *Acinetobacter baumannii*'nin karbapenem direncindeki artış kaygı vericidir. Çalışmamızda, hastanemizdeki karbapenem dirençli ACB suşlarındaki diğer antibiyotik duyarlılık oranlarının belirlenmesi, karbapenem direnç genlerinin moleküler yöntemlerle

saptanması ve böylece hastanemiz ACB karbapenem direnç profilinin tespiti, ayrıca metallo-beta-laktamaz üretiminin fenotipik yöntemle saptanması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe ve Taksonomi

Günümüzde *Acinetobacter* cinsinin üyeleri olan bakterilerin adlandırılması birçok değişikliğe uğramıştır. *Acinetobacter* ilk defa Hollandalı bilim adamı Beijerinck tarafından 1911 yılında topraktan izole edilmiştir. Organizma *Micrococcus calco-aceticus* olarak isimlendirilmiştir (Yunanca akinetos, hareketsiz kelimesinden gelmektedir). Daha sonraki yıllarda *Herellea vaginicola*, *Mima polymorpha*, *Bacterium anitratum*, *Moraxella glucidolytica*, *Moraxella lwoffii*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* gibi birçok farklı isimler almıştır. Baumann'ın 1968 yılındaki yayınına dayanarak 1971 yılında, *Acinetobacter* cinsi olarak kabul edilmiştir (10, 33-35).

Taksonomik çalışmalar sonucu *Acinetobacter* cinsi günümüzde *Moraxellaceae* ailesi içinde kabul edilmektedir (33, 36).

Tablo 1. *Acinetobacter* cinsinin taksonomisi

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

DNA benzerlikleri temel alınarak yapılan çalışmalarda, 50'nin üzerinde genomik tür tanımlanmıştır. Fenotipik ve genotipik olarak birbirine çok benzer ve fenotipik olarak birbirlerinden ayrılmaları zor olan, *A. baumannii*, *A. nosocomialis*, *A. pittii*, *A. calcoaceticus*, *A. seifertii*, 1 ve 3 arasında genomik türlerinin hepsi birden *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks (ACB) olarak adlandırılırlar (3, 36). Bu kompleks içerisinde *A. baumannii*, ÇİD ve PDR suşları barındıran hastane

salgınlarından en fazla sorumlu olan türdür. Ancak non-*A. baumannii* ACB enfeksiyonlarında artış görülmektedir (3).

2.2. Mikrobiyolojik, Metabolik, Kültür Özellikleri ve Tanımlama

Acinetobacter baumannii türleri, gram negatif, zorunlu aerob, nonfermentatif, hareketsiz, katalaz pozitif, oksidaz negatif, indol negatif kokobasillerdir. Genel olarak gram negatif kokobasil veya diplokok şeklinde görülürler ancak kan kültür şişelerinden ve taze kültürlerden yapılan boyalarda gram pozitif kok şeklinde boyanabilirler (37, 38).



Resim 1. Işık mikroskopunda *Acinetobacter* görüntüsü

Oksidasyon-fermentasyon (OF) besiyerinde glikozu oksidasyon yoluyla kullanırlar, üç şekerli, demirli besiyerinde [triple sugar iron (TSI)] fermentasyon yapmazlar, asit oluşturmazlar ve nitrat redüksiyonu yapmazlar (3, 10, 39).



Resim 2. *A. baumannii*'nin OF ve TSI besiyerlerindeki görüntüsü

Koyun kanlı agar (KKA), eozin metilen blue agar (EMB), triptik soy agar ve MacConkey agar besiyerlerinde, 35-37°C'de kolay ürerler. Koyun kanlı agar besiyerinde, 0,5-2 mm çapında, şeffaf ya da opak, zeminden kabarık, hemoliz yapmayan koloniler oluştururken, EMB ve McConkey agar besiyerlerinde renksiz veya hafif pembe renkli, gri merkezli koloniler oluştururlar (3).



Resim 3. Koyun kanlı agarda *Acinetobacter* kolonileri

Glikozu oksitleyen ve hemoliz yapmayan izolatlar genellikle *A. baumannii*'dir ve *A. baumannii* 42°C'de üreyebilme yeteneğiyle diğer *Acinetobacter* türlerinden ayırt edilebilir. *Acinetobacter johnsonii* ise 37°C'de üreyememektedir (10).

Herellea agar ve Leeds *Acinetobacter* medium gibi seçici-ayırt edici besiyerleri karışık üremeler için kullanılabilir. Dışkı, toprak gibi kontamine örneklerden izole etmek amacıyla asetat ve amonyum içeren sıvı mineral besiyerleri kullanılabilir (40).

DNA-DNA hibridizasyon yöntemi, *Acinetobacter* türlerini tanımlamada standart referans yöntemdir. Bouvet ve Grimont, 1986 yılında 28 fenotipik testin kullanıldığı identifikasyon şemasını 1987'de yeniden düzenlemişlerdir. Yeni düzenlemede 37°C, 41°C, 44°C'de üreme, jelatin hidrolizi, glikozdan asit oluşumu, 14 farklı karbon kaynağı kullanma özelliği yer almıştır. Bu şema, belirlenen 12 türden 11'ini, ayrıca insan deri örneklerinden izole edilen 136 *Acinetobacter* türünü %95,6 doğrulukla tanımlayabilmiştir, ancak son tanımlanan genomik türleri ayırt etmekte yetersiz kalmıştır (37).

DNA-DNA hibridizasyon yöntemi de, Bouvet ve Grimont fenotipik tanı yöntemi de rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında uygulamak için zahmetli yöntemlerdir. Bunlar yerine başka moleküler tanı yöntemleri geliştirilmiş ve kullanılmaya başlanmıştır. Ribotipleme, amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA), 16S-23S rRNA intergenic spacer dizilerinin restriksiyon analizi, tRNA spacer fingerprinting, amplified fragment length polymorphism (AFLP), 16S-23S rRNA gene spacer bölgesinin dizi analizi ve rpoB geni ve komşu bölgelerin (RNA polimeraz beta-subunit) dizi analizi, pulsed-field jel elektroforezi (PFGE) tanımlamada kullanılan moleküler yöntemlerdendir (41-47).

Acinetobacter türlerinin identifikasyonunda ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde kullanılan ticari kitler şunlardır:

API 20E (BioMerieux, Hazelwood MO)

API 20NE (BioMerieux)

Oxi/Ferm Tube (Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville MD)

Remel Uni-N/F System (Remel, Lenexa, KS)

Crystel Enteric/Nonfermenter System (Becton Dickinson Microbiology Systems)

RapID NF Plus (Remel)

Biolog System (Biolog, Hayward CA)

Microscan Walkaway-96, Walkaway-40 ve Autoscan-4 System (Dade Behring, West Sacramento CA)

Sensititre AP80 System (TREK Diagnostic System, Cleveland, OH)

Phoenix System (Becton Dickinson Microbiology Systems)

Vitek Legacy System (BioMerieux)

Vitek 2 System (BioMerieux)

2.3. Patogenez ve Virülans

Acinetobacter'ler, asidik pH'da, düşük ısıda üreyebilmeleri, kuru ortamda uzun süre yaşayabilmeleri ve kapsül içermeleri nedeniyle avantajlı bakterilerdir. Polisakkarit yapıdaki kapsül, L-ramnoz, D-glikoz, D-mannoz ve D-glukronik asitten oluşur. Sahip olduğu kapsül ve fimbriyalarla epitele tutunma yeteneği, hücre duvarındaki lipit A ve lipopolisakkaritlerin toksik etkileri, doku lipitlerini parçalayan enzimleri bakterinin patojenitesini artırır. Biyofilm yapısı, nötrofillere sitotoksik etki gösterir, nötrofillerin göçünü inhibe eder. Aerobaktin ve siderefor gibi demir bağlayan dış membran reseptör proteinleri, bakteriye üremesi için gerekli olan demiri sağlar. Endotoksinler, septisemi kliniğinden sorumludur. Antibiyotik direnç genlerinden PER-1'in virülansda önemli olduğu, mortalitesi yüksek enfeksiyonlara sebep olduğu bildirilmiştir (10, 48-52).

Minimum popülasyon birimini algılama olarak ifade edilen 'Quorum sensing' (QS) mekanizmasının da bakterinin davranışlarına etki ederek, bakterinin besin kaynaklarına adaptasyonunda, virülans faktörlerinin regülasyonu ile konağın immün yanıtından kaçışında rol oynadığı bilinmektedir (52).

2.4. Epidemiyoloji

Acinetobacter baumannii, toprak, su ve yiyeceklerde saprofit olarak yaşar (10). Farklı pH ve ısı derecelerine, kuruluğa dayanıklı olması sebebiyle, tıbbi cihazlar, yatak, yastık, tıbbi giysiler, eldivenler ve kapı kolları gibi cansız yüzeylerde haftalarca yaşayabilmekte ve salgınlara sebebiyet verebilmektedir (10, 17).

Virülans potansiyelleri düşük olduğundan bağışıklık sistemi normal bireylerde enfeksiyon oluşturma olasılığı oldukça düşüktür (48). Bakteri, sağlıklı bireylerin yaklaşık %25'inin aksilla, kasık ve parmak araları gibi nemli bölgelerinde deri florasının bir parçası olarak kabul edilmektedir. Yine sağlıklı insanlarda ağız boşluğu ve solunum sisteminin flora bakterisi olarak bulunabilirler. Yatan hastalarda, özellikle salgınlar sırasında *A. baumannii* kolonizasyonu oldukça artmaktadır (10, 37). YBÜ'lerde yatan hastalarda solunum sisteminde yüksek oranda kolonizasyon olması, tedavi ekipmanlarının kontamine olmasına ve VİP salgınlarına yol açmaktadır. Salgın dönemlerinde artan deri kolonizasyonu, sağlık çalışanlarının ellerinin kontamine olmasına sebep olarak salgının yayılmasına katkıda bulunmaktadır. *Acinetobacter baumannii* kökenlerinin sindirim sisteminde kolonize olması salgınlara nadir de olsa sebep olmaktadır (37, 53, 54).

2.5. *Acinetobacter baumannii* Enfeksiyonları

Klinik örneklerden izole edilen tüm *Acinetobacter* kökenlerinin %80'inden fazlasını ACB kompleksi oluşturmaktadır (37).

Acinetobacter enfeksiyonları; 1970 yıllarından önce sıklıkla, operasyon sonrası gelişen üriner sistem enfeksiyonları iken, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, invaziv işlemlerin artması gibi nedenlerle, bakterinin izole edildiği servisler ve enfeksiyon tipleri değişmiştir. Günümüzde *Acinetobacter* enfeksiyonları, daha çok YBÜ'lerde görülür olmuştur (18, 55). Yoğun bakım ünitelerinde sık uygulanan invaziv işlemlerden dolayı *Acinetobacter* enfeksiyonları bu birimlerde sık görülen etkenler olarak karşımıza çıkmaktadır (56, 57).

İleri yaş, yanık, kronik akciğer hastalığı, iskemik kalp hastalığı, diyabet, prematürite, malignite, uzun süre antibiyotik kullanımı, YBÜ'lerde uzun süre kalma,

cerrahi girişimler, mekanik ventilasyon, trakeostomi açılması, endotrakeal tüp kullanımı, damar içi kateter varlığı, idrar sondası varlığı ve immünsüpresyon gibi faktörler *Acinetobacter* enfeksiyonlarına yatkınlık oluşturmaktadır (37, 56, 58-60).

2.5.1. Hastane Enfeksiyonları

Acinetobacter baumannii enfeksiyonları YBÜ'lerde daha sık görülür. Karahocagil ve arkadaşları, 3254 hastanın takibinde gelişen 112 hastane enfeksiyonunda *A. baumannii*'yi %23,2 oranı ile ilk sırada saptamışlardır (61). Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda *A. baumannii* suşlarının klinik örneklerde saptanma oranları en yüksek solunum yolu örneklerindedir ve oran %16-43 arasındadır (62-64). Enfeksiyonların çoğu solunum yolu, üriner sistem ve peritoneal bölge gibi sıvı boşluğuna sahip organ sistemlerini içerir (37).

Acinetobacter türleri, VİP, üriner sistem enfeksiyonları, menenjit, dolaşım sistemi enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına sebep olabilmektedir. Enfeksiyonlardan en sık ACB türleri sorumludur (10, 37).

2.5.2. Solunum Yolu Enfeksiyonları

Acinetobacter baumannii mekanik ventilasyon uygulanan YBÜ hastalarında VİP'e neden olur. Yoğun bakım ünitelerinde uzun yatış süresi, ileri yaş, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), cerrahi girişimler, immünsüpresif tedavi, antibiyotik kullanımı, endotrakeal tüp ve gastrik tüp gibi invaziv alet varlığı, alt solunum yollarının kolonizasyon veya enfeksiyon riskini arttıran faktörlerdir (55, 65). Mekanik ventilasyon uygulanan hastaların %28-85'inde VİP gelişme riskinin olduğu bildirilmiştir (66). Balcı ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada, hastane enfeksiyonu etkeni olarak tanımlanan *A. baumannii* suşlarının %43'ünün solunum sistemi kaynaklı olduğu bildirilmiştir (62). Hastane enfeksiyonları arasında en yüksek mortalite oranının VİP'e (%24-71) ait olduğu; özellikle *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. gibi dirençli etkenlerin neden olduğu VİP'lerde uygunsuz tedavi ile birlikte bu oranın % 91'e ulaşabileceği de bildirilmektedir (67).

2.5.3. Bakteriyemi

Acinetobacter baumannii bakteriyemisinin en sık nedenleri, uygulanan intravasküler ve solunum yolu kateterleridir. Bakteriyemi; cerrahi yaralar, yanıklar ve üriner sistemden de kaynaklanabilmektedir. Kaynak %21-70 oranında bulunamaz (11, 37, 62).

Acinetobacter bakteriyemisi için önemli hasta gruplarından biri yenidoğanlardır. Düşük doğum ağırlığı, mekanik ventilasyon, öncesinde antibiyotik kullanımı ve yenidoğan konvulsiyonlarının varlığı septisemi için risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (10).

2.5.4. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları

Primer menenjit olguları dışında sıklıkla, kafa travmasını takiben veya beyin cerrahisi uygulamalarından sonra *Acinetobacter* türlerine bağlı sekonder menenjit gelişebilir (10). Risk faktörleri arasında, yoğun antibiyotik kullanımı, beş günden uzun süreli ventriküler kateter uygulamaları, ventrikülostomi, beyin omurilik sıvısı (BOS) kaçağı ve fistüller yer alır (68). Özellikle ÇİD *A. baumannii* menenjitlerinde mortalitenin %70'lerin üzerine çıktığını bildiren yayınlar mevcuttur (69).

2.5.5. Üriner Sistem Enfeksiyonları

Acinetobacter, daha çok üriner sistemde kolonizasyon şeklinde görülür ancak nadiren invazyon yaparak enfeksiyon etkeni olabilmektedir (3).

Yoğun bakım ünitelerinde yatan, sürekli üriner kateteri olan yaşlı hastalarda *Acinetobacter* türleri ile oluşan nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonları görülmektedir. İleri yaş erkek hastalarda prostat büyümesi nedeniyle kateter kullanımı sık olduğundan, bu grupta *Acinetobacter*'e bağlı üriner sistem enfeksiyonu daha sık görülür. Üriner kateteri olan hastalardan izole edilen her *Acinetobacter* türünün enfeksiyon etkeni olmayabileceği bilinmeli, kolonizasyon mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır (10, 70, 71).

2.5.6. Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Özdemir ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada, izole ettikleri *A. baumannii*'lerin %24,4'ü yara yeri kaynaklıdır (72). Deri bütünlüğünün bozulduğu yanık, travmatize yaralar, postoperatif insizyon bölgeleri, damar içi kateterler, YBÜ'de yatan ve immün sistemi bozuk hastalarda *A. baumannii*'ye bağlı yumuşak doku enfeksiyonlarına zemin hazırlarlar (10).

Üriner kateterli hastalarda olduğu gibi, yara ve yanıktan izole edilen *Acinetobacter* türleri enfeksiyon etkeni olabileceği gibi kolonizan bakteri de olabilir. Körfez Savaşı'nda yaralanan askerlerin yaralarında *Acinetobacter* türleri enfeksiyon etkeni ya da kolonizan bakteri olarak izole edilmiştir (73).

2.5.7. Diğer Enfeksiyonlar

Gözde lens kontaminasyonu sonrası konjonktivit, endoftalmit, keratit, korneal ülserasyon ve perforasyon, sürekli periton diyalizi uygulanan hastalarda peritonit, perkütan safra drenajı sonrası kolanjit olguları bildirilmiştir (10, 48, 70). Karaciğer ve pankreas apseleri, kemik iliği transplantasyonu sonrası osteomyelit ve septik artrit diğer nadir enfeksiyonlardır (10, 70).

2.6. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Bir bakterinin yapısı nedeniyle antibiyotiklere karşı dirençli oluşu içsel (intrinsik) direnç olarak tanımlanır ve bakteri türünün tüm üyelerinde görülür. Birçok gram negatif bakteri vankomisin ve metisiline; enterokoklar sefalosporinlere; anaerop ve fakültatif anaerop bakteriler, aminoglikozitlerin hücre içine geçişi oksijen bağımlı olduğundan bu grup antibiyotiklere intrinsik dirençlidir. Kazanılmış direnç ise, kromozomal mutasyonlar, plazmit, transpozon veya integron gibi mobil genetik elemanlar ile direnç genlerinin bir bakteriden diğerine geçişi sonucunda oluşur (74).

Antibiyotiklere direnç birçok yolla gelişebilir:

- Hücre geçirgenliğinde azalma
- İlacın atımı

- Enzim ile ilaç inaktivasyonu
- Antibiyotiğin hedefinde değişiklik oluşturulması
- Hedef bölgenin korunması
- Hedef miktarının arttırılması
- İnhibe edilen yol yerine başka bir yolağın kullanılması
- Antibiyotiğin bağlanması

Bakteri bu mekanizmalardan birini ya da birden fazlasını aynı anda kullanabilir (74).

Acinetobacter türlerinin neden olduğu hastane enfeksiyonları 1970'lerin başlarına kadar minosiklin, gentamisin, nalidiksik asit, ampisilin ve karbenisilile tedavi edilebiliyorken, 1971 ve 1974 yılları arasında direnç oranlarının arttığı farkedilmiştir. O yıllardan günümüze dek yapılan çalışmalarda da *Acinetobacter* türlerindeki ilaç direnci artarak bildirilmeye devam etmektedir (7, 10, 75).

Acinetobacter, özellikle YBÜ'lerde gelişen nozokomiyal enfeksiyonlarda önemli bir etkindir. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin yoğun kullanımı sonucu, artık birçok antibiyotiğe dirençli olan *Acinetobacter* türlerinin tedavisi, hem Türkiye'de hem dünyada problem olmaya başlamıştır (76, 77).

Acinetobacter baumannii'nin kendiliğinden mevcut ve kazanılmış direnç mekanizmaları, sıklıkla beta-laktamaz üretimi, aminoglikozitlere karşı modifikasyon enzimi üretimi, kinolonların bağlanma yerindeki değişiklikler, aktif pompa ve hücre duvar kanallarındaki (porinler) değişikliklerdir. Bu direnç mekanizmalarının bir veya daha fazlasının bir arada olması kimi zaman tüm ilaçlara karşı olmak üzere yüksek düzeyde ilaç direncine yol açmaktadır (7, 30, 78).

2.6.1. Aminoglikozit Direnci

Acinetobacter türleri aminoglikozitlere üç mekanizmayla direnç geliştirebilmektedir:

- a. Ribozomlarda oluşan mutasyonlarla ribozomal hedeflerde değişiklik oluşturarak.

b. Solunum zinciri ve lipopolisakkarit değişiklikleriyle birlikte olan, ilacın hücreye giriş ve eflüks pompaları yolu ile.

c. Aminoglikozit modifiye eden enzimlerle.

Bu mekanizmada antibiyotiklerin amino ya da hidroksil grupları enzimatik olarak değiştirilmektedir. Bu enzimler:

- i. Aminoglikozit asetiltransferazlar,
- ii. Aminoglikozit fosfotransferazlar,
- iii. Aminoglikozit nükleotidiltransferazlardır.

Bu enzimler genellikle plazmit kontrolündedir. Bu enzimlerin sentezinden sorumlu genler transpozonlarla taşınabilmekte ve bir enzim birçok aminoglikozit molekülünü değiştirebilmektedir (10, 37).

2.6.2. Kinolon Direnci

Kinolonlar, bakterilerde DNA replikasyonu için gerekli topoizomeraz II (DNA giraz) ve topoizomeraz IV ile etkileşime girerek DNA sentezini durdururlar. Konsantrasyona bağlı bakterisidal etkili kinolon grubu antibiyotiklerin gram pozitif ve gram negatif bakterilerdeki birincil hedefi farklıdır. Gram pozitiflerde birincil hedef topoizomeraz IV, gram negatif bakterilerde ise DNA girazdır.

Dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarının kombine tedavisinde siprofloksasin ve levofloksasin kullanılmaktadır. Bakteri, dış membran geçirgenliğinde azalma, eflüks pompa sistemleri, DNA giraz ve topoizomeraz IV enzim mutasyonlarıyla kinolonlara karşı direnç geliştirebilmektedir (3, 79).

2.6.3. Tetrasiklin Direnci

Bakteriyostatik etkili maddelerdir. Bakteriyostatik etkisi, bakteri hücresinde ribozomların 30S alt ünitelerine tersinir bir şekilde bağlanarak, protein sentezi inhibisyonu ile meydana gelmektedir. Bu bağlanma sonucu, tRNA-amino asit kompleksinin ribozom-mRNA kompleksiyle birleşmesi engellenir. Böylece protein sentezinde peptid zincirine yeni amino asitlerin eklenmesi önlenmektedir (80).

Acinetobacter baumannii suşlarında tetrasiklin direnci iki mekanizmayla olmaktadır. İlk mekanizmada direnç, TetA ve TetB, spesifik transpozon kaynaklı eflüks pompa aracılığıyla olmaktadır. TetA sadece tetrasiklini dışarı atarken, TetB hem tetrasiklini hem minosiklini dışarı atar. İkinci mekanizmada, TetM geninin kodladığı ribozomal koruyucu protein, ribozomu tetrasiklin, minosiklin ve doksisisiklinin etkisinden korur (81).

2.6.4. Polimiksin (Kolistin) Direnci

Karbapenem, aminoglikozit, sefalosporin dirençli suşların artması ve etkili olabilecek yeni antibiyotiklerin olmaması sebebiyle son on yılda polimiksinler tekrar gündeme gelmiştir. Polimiksinler, direnç gelişmiş olmasına rağmen halihazırda en etkili ilaç olarak görünmektedir. Kolistin, tedavide kalan son çare ilaç olarak düşünüldüğünde, ilaca direnç geliyiyor olması oldukça kaygı verici bir durumdur. Kolistin direncindeki mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, direncin lipopolisakkarit (LPS) biyosentez yollarındaki modifikasyonlarla olduğu söylenebilir.

Acinetobacter baumannii'deki kolistin direnci iki mekanizmayla olmaktadır:

- a. PmrA-PmrB düzenleyici sistemdeki mutasyonlar, LPS Lipid A yapısının değişmesine ve bakterinin dış membran negatif yükünün azalmasına, dolayısıyla kolistinin afinitesinin azalmasına sebep olmaktadır.
- b. LpxA'daki tek nükleotit mutasyonu LPS yapısının tamamen kaybolmasına neden olmaktadır. LPS biyosentez yolunda gerekli olan enzimleri kodlayan lpxC ve lpxD genlerinde oluşan mutasyonlar da kolistin dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında gösterilmiştir.

Bazı kolistin dirençli *A. baumannii* izolatlarında dirence sebep olan bu mutasyonların gösterilememiş olması bunlardan başka direnç mekanizmalarının da olabileceğini akla getirmektedir (29, 30).

2.7. Beta-laktamlar ve Direnç Mekanizmaları

Beta-laktamlar, yapılarında ortak bir beta-laktam halkası taşıyan, hücre duvar sentezini inhibe eden, bakterisidal etkili antibiyotik grubudur. Beta-laktam halkasına bağlı yan zincirler ve diğer halkalara göre penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler ve beta-laktamaz inhibitörleri olmak üzere beş sınıfa ayrılırlar.

Beta-laktamlar, hücre duvar sentez basamağı olan transpeptidasyon basamağında görev alan transpeptidaz ve karboksipeptidazlara (penisilin bağlayıcı protein-PBP) bağlanarak etki ederler (82). Bu antibiyotik grubu, hem toplum kökenli hem hastane kökenli enfeksiyonların tedavisinde oldukça sık kullanılırlar.

Beta-laktam antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucu, bu antibiyotiklere direnç, hem gram negatif hem gram pozitif bakterilerde oldukça sık görülür. Beta-laktam direnci, beta-laktamaz enzimleriyle ilaç inaktivasyonu, hedef bölge (PBP) değişikliği, azalmış geçirgenlik ve ilacın hücre dışına atılması yollarıyla oluşur (83).

2.7.1. Hedef Bölge Mutasyonları

Beta-laktamların bakteri hücreesindeki hedefi PBP'lerdir. PBP değişiklikleri daha çok gram pozitif bakterilerde sorun olmaktadır. Gram negatif bakterilerde nadirdir (74).

2.7.2. Azalmış Geçirgenlik ve İlacın Hücre Dışına Atılması

Beta-laktamların, gram negatif bakteri hücrelerine geçişi porin proteinleri tarafından dış membranda oluşturulan ve dış membran proteinleri adı verilen kanallar aracılığıyla olur. Porin kaybı ya da yapısında meydana gelen değişiklikler beta-laktamlara karşı dirence sebep olabilir.

Antibiyotiklerin hücre içinden atılması atım pompaları ile gerçekleşir. Böylece bakteri antibiyotik yoğunluğunu azaltır (83).

2.7.3. Beta-laktamazlarla İlaç İnaktivasyonu

Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasındaki amit bağlarını yıkan hidrolitik enzimlerdir. Özellikle gram negatif bakterilerdeki beta-laktam direnci bu yolla olmaktadır.

Beta-laktamazlar ilk kez *Staphylococcus aureus* suşlarında tanımlanmıştır. Günümüzde hem gram negatif hem gram pozitif bakterilerce üretilir. Gram pozitif bakterilerde doğrudan dış ortama salınan beta-laktamazlar, gram negatif bakterilerde periplazmik aralıkta yer almaktadır. Kromozomal ve plazmit tarafından kodlanırlar. Ayrıca transpozon, integron gibi mobil genetik elemanlarla ilişkili olabilirler (83, 84).

2.8. Beta-laktamazlar

Beta-laktamların, beta-laktamazlarla hidrolize edilmesi, gram negatif bakterilerde görülen beta-laktam direncinin en önemli sebebidir. Beta-laktamazların sınıflandırılması, enzimlerin yapısal ve fonksiyonel özelliklerine göre yapılmıştır (85).

2.8.1. Yapısal olarak (moleküler) sınıflandırma (Ambler Sınıflandırması)

Bu sınıflandırmaya göre beta-laktamazlar dört sınıfa ayrılırlar (A, B, C, D). Sınıf A, C ve D beta-laktamazlar aktif bölgelerinde serin amino asiti içerirler. Sınıf B beta-laktamazların aktif bölgelerinde ise çinko iyonu görev yapmaktadır.

Sınıf A: Serin beta-laktamazlardandır. Penisilinazlar ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar bu grupta yer alır. Kromozomal veya plazmit kaynaklıdır.

Sınıf B: Metallo-beta-laktamaz (MBL) olarak adlandırılırlar. Aktif bölgelerinde çinko içerirler. Bu enzimlerin çoğu karbapenemaz aktivitesi gösterir.

Sınıf C: Daha önce Sınıf A içinde yer alırken, beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olmamaları sebebiyle bu sınıfa alınmışlardır. AmpC beta-laktamazlar bu sınıftadır. Primer olarak sefalosporinleri hidrolize ederler. Kromozomal olarak kodlanırlar ve gram negatif basillerin çoğu tarafından üretilirler.

Sınıf D: Kromozomal ve plazmit kaynaklı olan ve oksasilini hidrolize eden beta-laktamazlardır (86, 87).

2.8.2. Fonksiyonel Sınıflandırma (Bush-Jacoby-Medeiros sınıflaması)

Bush, Jacoby ve Medeiros tarafından yapılan substrat özgülüğü, inhibitör profili gibi özelliklerin de değerlendirildiği fonksiyonel bir sınıflandırmadır. Güncellemesi 2010 yılında yapılmıştır (74, 85).

Grup 1 Sefalosporinazlar: Ambler Sınıflandırması'nda Sınıf C'de yer alırlar. Sefalosporinlere penisilinlerden daha fazla etkilidirler. Sefoksitin, sefotetan gibi sefamisinleri, seftazidim gibi oksimino sefalosporinleri hidrolize ederler. Sınıf A enzimleri inhibe eden klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktamdan etkilenmezler. Kloksasilin, aztreonam ve oksasilin bu grup enzimleri inhibe eder (88).

Grup 2 Serin Beta-laktamazlar: Ambler Sınıflandırması'ndaki Sınıf A ve D'yi kapsarlar. En geniş beta-laktamaz grubudur.

Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL) (Grup 2be) bu grupta yer alırlar. Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar penisilin ve erken sefalosporinlerle, sefotaksim, seftazidim gibi oksimino beta-laktamları ve monobaktamları hidrolize ederler (85). Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar klavulanik asitle inhibisyona duyarlıdır, klinik laboratuvarlarda bu özellikleri tanımlama için kullanılmaktadır (89).

Grup 3 Metallo-beta-laktamazlar (MBL): Ambler Sınıflandırması'nda Sınıf B'de yer alırlar. Aktif bölgelerinde çinko iyonuna ihtiyaç duyarlar. Karbapenemleri güçlü bir şekilde hidrolize ederler. Klavulanik asit ve tazobaktamdan etkilenmezler. Etilen diamino tetra asetik asit (EDTA), dipikolinik asit gibi metal şelatörleriyle inhibe olabilirler (85).

Tablo 2. Beta-laktamazların sınıflandırılması (85)

Bush-Jacoby-Medeiros Sınıflaması	Alt Grup	Ambler Sınıflaması	Temel Özellikler
Grup 1 Sefalosporinazlar		C	Klavulanik asitle inhibe olmazlar Gram (-) bakterilerdeki kromozomal enzimler [plazmit kaynaklı da olabilir] (AmpC) Karbapenem hariç tüm beta-laktamlara dirençlidirler
	1e	C	Seftazidime yüksek afinite
Grup 2 Penisilinazlar	2a	A	Gram (+) bakterilerdeki penisilinazlar
	2b	A	Gr (-) bakterilerdeki geniş spektrumlu beta-laktamazlar (TEM-1, TEM-2, SHV-1) Ampisilin, tikarsilin, karbenisilin, sefalotine direnç
	2be	A	Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (TEM, SHV türevleri, PER-1, CTX-M..) 2b'ye ek olarak seftazidim, seftriakson, sefotaksim, aztreonam direnci
	2br	A	TEM-50 2br'ye ek olarak seftazidim, sefotaksim, seftriakson, aztreonam direnci
	2c	A	PSE-1, CARB-3 Karbenisilini hidrolize ederler
	2ce	A	RTG-4, CARB-10 2c'ye ek olarak sefepim, sefpiromu hidrolize ederler
	2d	D	OXA-1, OXA-10 Oksasilin ve kloksasilini hidrolize ederler
	2de	D	OXA-11, OXA-15 2d'ye ek olarak seftazidim, seftriakson, sefotaksim, aztreonam direnci
	2df	D	OXA-23, OXA-48 2d'ye ek olarak karbapenem hidrolizi
	2e	A	CEP-A Klavulanik asit ile inhibe olan sefalosporinazlar
	2f	A	KPC Karbapenem, seftazidim, seftriakson, sefotaksim, aztreonam, sefamisin direnci
Grup 3 Metallo-beta-laktamazlar	3a	B	IMP, VIM Çinko bağımlı karbapenemazlar Metal iyonu şelatörleri ile inhibe olurlar Karbapenem hidrolizi yüksek Monobaktam hidrolizi zayıf Klavulanik asit ve tazobaktamla inhibe olmazlar
Grup 4		-	Diğer gruplara girmeyen enzimler

2.9. Karbapenemler

Günümüzde kullanılan en geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar ve AmpC beta-laktamaz enzimlerinden etkilenmedikleri için, özellikle ÇİD gram negatif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek ilaçları oluştururlar (90).

Karbapenemlerin yapısı penisilinin beta-laktam halkasına benzerlik gösterir ancak birinci pozisyonda sülfür yerine karbon vardır ve beş üyeli halkadaki birinci ve üçüncü karbon atomları arasında doymamış bağ vardır, bu haliyle penisilinden ayrılır. Hidroksiasetil yan zincirindeki farklı trans konfigürasyonu, karbapenemlerin beta-laktamaz enzimlerine dayanıklılığını sağlar (82).

Faropenem, birinci pozisyonda karbon yerine sülfür bulundurmasıyla, grubun diğer üyelerinden ayrılır. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından bu yüzden yeni bir sınıflandırma yapılmış ve bu grupta yer alan ilaçlar karbapenemler ve panemler olarak iki gruba ayrılmıştır (82). Faropenem panem grubunun tek üyesidir. Ülkemizde, imipenem, meropenem, ertapenem ve doripenem kullanılmaktadır (91).

Karbapenemler, diğer beta-laktam grubu antibiyotikler gibi, peptidoglikan hücre duvar yapımını inhibe ederek etki gösterirler. Penisilin bağlayıcı proteinlere bağlanıp, bu yapıları etkisiz hale getirerek peptidoglikan yapımını engellerler (82).

2.9.1. Antibakteriyel Etki Spektrumu

Karbapenemler gram pozitif, gram negatif, aerop, anaerop birçok bakteriye karşı etki gösterebilen en geniş etki spektrumuna sahip antibiyotik sınıfıdır (82).

Streptococcus pyogenes, *Streptococcus agalactiae*, penisilin duyarlı ve penisilin dirençli *Streptococcus pneumoniae*, metisilin duyarlı stafilokoklar, *Listeria monocytogenes*, anaerop gram pozitif koklar gibi gram pozitif bakterilere karşı etkinlik gösterir. İmipenem, meropenem ve ertapeneme göre gram pozitif bakterilere daha fazla etkilidir (82).

Karbapenemler, beta-laktamaz üreten *Haemophilus influenzae* ve *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycobacterium avium intracellulare*, *Enterobacteriaceae*, *P.*

aeruginosa, *Acinetobacter* türleri gibi nonfermenter gram negatif bakterilere etkilidir. *Bacteriodes fragilis*, *Clostridium difficile* dışındaki *Clostridium* ve *Fusobacterium* türlerinin de dahil olduğu birçok anaerop bakteri karbapenemlerden etkilenir. Meropenemin gram negatif etkinliği imipenem ve ertapenemden daha iyidir. Ertapenemin nonfermenter bakterilere karşı etkinliği, imipenem ve meropenemden azdır (82).

Metisilin dirençli stafilokok suşları, penisilin dirençli enterokoklar, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* gibi nonfermenter gram negatif basiller, *Chlamydia*, *Mycoplasma* türleri karbapenemlerden etkilenmezler (82, 92).

Karbapenemler antibakteriyel etkinlik ve kullanım alanlarına göre sınıflandırılmıştır. Bu sınıflamadaki Grup 1 karbapenemlerin, nonfermenter gram negatif basillere etkinliği azken, daha çok toplum kökenli enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadırlar. Gram negatif nonfermenter bakterilere karşı etkin olan, bu nedenle daha çok hastane kökenli enfeksiyonların tedavisinde kullanılan karbapenemler Grup 2 karbapenemler içinde sınıflandırılmaktadır. Grup 3 karbapenemler içinde ise, metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA)'a etkili olan yeni üyeler yer almaktadır (91).

Tablo 3. Karbapenemlerin etkinlik ve kullanım alanlarına göre sınıflandırması

Grup 1 Karbapenemler	Grup 2 Karbapenemler	Grup 3 Karbapenemler
Nonfermenter gram negatif basillere sınırlı etki, daha çok toplum kökenli enfeksiyonların tedavisinde kullanılır	Nonfermenter gram negatif basillere karşı da etkili, nozokomiyal enfeksiyonlar için uygun	Grup 2'ye ek olarak MRSA aktivitesi
Ertapenem Panipenem	İmipenem Meropenem Biapenem Doripenem	CS-023 (araştırma aşamasında)

2.10. Karbapenemlere Karşı Direnç Mekanizmaları

Karbapenemler ÇİD gram negatif bakteri enfeksiyonlarında genellikle son aşamada kullanılan beta-laktam grubu antibiyotiklerdir. Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar ve AmpC beta-laktamazlara karşı direnç göstermelerine rağmen, bu durum son yıllarda hem nonfermenter hem de fermenter gram negatif bakterilerde karbapenem direncinin görülmesiyle değişmiştir (90).

Karbapenem direnci aşağıdaki mekanizmalardan bir veya birkaçı sebebiyle olabilir:

- Beta-laktamazların aşırı üretimiyle birlikte, porin ekspresyonunda kalitatif veya kantitatif eksiklik meydana gelmesiyle karbapenemlerin hücre içine girişinin azalması
- Penisilin bağlayıcı proteinlerde değişiklik
- Eflüks pompa sistemiyle antibiyotiğin hücre dışına atılması
- Karbapenemleri yıkan enzim sentezi (93-95).

2.10.1. Eflüks Pompa Sistemlerinin İndüklenmesi

Atım sistemleri bakterilerde beş grupta toplanmıştır: ABC (ATP-binding cassette), MF (major facilitator), SMR (small multidrug resistance), MATE (multidrug and toxic compound extrusion) ve RND (resistance nodulation division) (82). Üç RND sistemi, AdeABC, AdeIJK ve AdeFGH, ÇİD *A. baumannii*'deki dirençten sorumludur (94).

Acinetobacter baumannii'deki en önemli atım pompası, kromozomal kodlanan AdeABC sistemidir ve izolatların %80'inde mevcuttur. Bu pompanın fazla ekspresyonu, aminoglikozit direncinden, netilmisin, meropenem, florokinolon, tetrasiklin, kloromfenikol, eritromisin, trimetoprim ve etidyum bromide karşı azalmış duyarlılıktan sorumludur (94).

Kazanılmış oksasilinazlarla AdeABC pompa sistemi arasındaki sinerji karbapenemler de dahil beta-laktamlara yüksek düzeyde dirence neden olmaktadır (94).

2.10.2. Porin Değişimleri

Gram negatif bakterilerin dış membranı, önemli besinlerin ve antibiyotiklerin de dahil olduğu birçok maddenin hücre içine seçici olarak alınmasını sağlayan porin adı verilen proteinler içermektedir (96). Porinlerin sayısında veya aktivitesinde değişiklik meydana gelmesi, bakterinin antibiyotiğe karşı gösterdiği dirençte etkili olabilmektedir. Porin proteinlerinin kapıtutucu kıvrımları veya santral kanallarında meydana gelen mutasyonlarla, porin ekspresyonunun kaybı veya porin tiplerindeki değişiklikler karbapenemlere duyarlılığı azaltabilmektedir (97).

Acinetobacter baumannii diğer gram negatif bakterilere kıyasla az sayıda porin içerir. Bugüne kadar *A. baumannii*'de, ekspresyonlarının azalmasıyla karbapenem direncine sebep olan üç porin bildirilmiştir: CarO, Omp 33–36 ve OprD homolog. CarO, *A. baumannii*'deki en karakteristik porindir. Bu porin imipenemin hücreye girişini azaltmakta ve dirence sebep olmaktadır. CarO'daki meropenem bağlanacak bölgenin yokluğu ise meropenem direncine sebep olmaktadır (94).

2.10.3. Karbapenemazlar

Karbapenemazlar en geniş etki spektrumuna sahip beta-laktamaz grubu enzimlerdir. Karbapenemazlar tüm beta-laktamlara ve beta-laktamaz inhibitörlerine karşı direnç gösterirler (98). Doksanların başına kadar karbapenemazların türe özgü, kromozomal kodlanan beta-laktamazlar olduğu düşünülmekteydi. *Pseudomonas aeruginosa*'da metallo-beta-laktamaz olan IMP-1, *A. baumannii*'de sınıf D karbapenemazlardan olan ARI-1 [*Acinetobacter* resistant to imipenem (sonraki adı: OXA-23)] ve *Klebsiella pneumoniae*'de bir Sınıf A karbapenemaz olan KPC-1 (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase)'in gösterilmesiyle, bu enzimlerin plazmit aracılığıyla da sentezlenebildiği görülmüştür (99-101). Karbapenemazların plazmit aracılığıyla da kodlanması, türler arasında yayılıma sebep olduğundan, karbapenemazlar bundan sonra, daha da büyük bir problem olmaya başlamıştır (98).

Karbapenemazlar, substrat hidrolizi ve inhibisyon özelliklerine göre yapılmış olan fonksiyonel sınıflamada genellikle Grup 2f ve Grup 3 içinde yer alırlar. Moleküler sınıflamada ise Sınıf A, B ve D içinde sınıflandırılırlar (85, 86).

2.10.3.1. Sınıf A Karbapenemazlar

Moleküler sınıflamada Sınıf A'da yer alan serin karbapenemazlar, fonksiyonel sınıflamada Grup 2f'de yer almaktadır. Sınıf A karbapenemazların başlıcaları KPC, SME, NMC/IMI, GES enzimleridir. Karbapenemler, sefalosporinler, penisilinler olmak üzere tüm beta-laktamları hidrolize ederler, tazobaktam, klavulanik asit gibi beta-laktamaz inhibitörleriyle zayıf şekilde inhibe olurlar. Bu enzimleri salgılayan bakterilerde imipeneme azalmış duyarlılık gözlenmektedir, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) düzeyleri yüksek düzey artış gösterebildiği gibi küçük düzeyde de olabilir. Bu nedenle rutin duyarlılık testlerinde Sınıf A karbapenemazlar saptanamayabilirler.

Bu sınıfta yer alan GES (Guyana extended spectrum beta-lactamase), önceleri beta-laktamaz olarak tanımlanmışken, daha sonra imipenemi hidrolize eden türleri görülmüştür ve bu gruba dahil edilmiştir (74).

KPC başlıca *Enterobacteriaceae*'de görülmektedir. Ayrıca *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'de de son yıllarda varlığı gösterilmiştir (74).

GES-1 karbapenemaz ilk kez Fransız Guyanası'ndan gelen bir hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşunda gösterilmiştir. Bu enzimleri kodlayan genler plazmit üzerindedir. Esas olarak *P. aeruginosa* suşlarında saptanan bu enzim, *Enterobacteriaceae* ve *A. baumannii* suşlarında da bulunmaktadır (74).

GES-11, ilk kez 2009 yılında, Fransa'daki bir hastadan izole edilmiştir. Daha sonra, Belçika, İsveç, Kuveyt, Türkiye ve Tunus'da da saptanmıştır. GES-12 Belçika'daki birçok izolattan elde edilmiştir. Daha sonra GES-11'den tek bir aminoasit farklılığıyla ayrılan GES-22, Türkiye'deki iki *A. baumannii* suşunda gösterilmiştir (30).

2.10.3.2. Sınıf B Metallo-beta-laktamazlar (MBL)

Fonksiyonel sınıflamadaki serin amino asiti içeren beta-laktamazlardan belirgin farklılık gösterirler. Mevcut beta-laktamaz inhibitörlerine dirençlidirler, aztreonam hariç bütün beta-laktamları parçalarlar. Bu enzimler aktif bölgelerinde

çinko iyonu içerirler, etilen diamino tetra asetik asit (EDTA) gibi metal şelatörleriyle inhibe olurlar (74).

İlk MBL'ler kromozomal olarak saptanmışken, son yıllarda edinilmiş ve transfer edilebilen MBL'lerde artış saptanmıştır. VIM, IMP, GIM, SIM gibi MBL'leri kodlayan genler, integronlarda gen kasetleri şeklinde bulunurlar ve bakteriler arasında transfer edilebilirler (74). *Acinetobacter baumannii* izolatlarında tanımlanan MBL'ler OXA tipi karapenemazlardan daha az görülmesine karşın karapenemleri hidrolize etme güçleri 100-1000 kat daha fazladır (95).

IMP (Aktive on imipenem): Transfer edilebilir imipenem direnci ilk olarak 1990 yılında Japonya'da *P. aeruginosa* suşunda tespit edilmiştir (100). Daha sonra bir *Serratia marcescens* suşunda tespit edilmiştir ve plazmitler aracılığıyla transfer edilebildiği gösterilmiştir (102). IMP-2 geni İtalya'da bir *A. baumannii* suşunda bulunmuştur (103). IMP tipi karapenemaz üreten bakteriler tüm dünyada yaygındır. Bugüne kadar 30'dan fazla IMP varyantı tanımlanmıştır. Japonya, Doğu Çin, Tayvan, Yunanistan bu tip karapenemazlar için endemik bölgelerdir (104).

VIM (Verona integron-encoded metallo-beta-lactamase): Bu enzimler ilk olarak Verona İtalya'da bir *P. aeruginosa* suşunda tespit edilmiştir, ardından da Fransa'dan bildirim yapılmıştır (74). Genellikle *P. aeruginosa* suşlarında saptanan VIM enziminin 30'dan fazla varyantı vardır. Daha az sıklıkla olmak üzere *Enterobacteriaceae* ailesi ve *A. baumannii*'de saptanmıştır. (97). En yaygın olan VIM türü VIM-2'dir. Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada'da *P. aeruginosa* türlerinde hem VIM hem IMP türü enzimler yaygın olarak bildirilmektedir. Yunanistan, İtalya, İspanya gibi Güney Avrupa ülkeleri ve Güneydoğu Asya'da endemik olarak görülmektedir (74, 105).

SIM (Seoul imipenemase): İlk kez Güney Kore'de bir *A. baumannii* suşunda gösterilmiştir (106). Metallo-beta-laktamaz üreten *A. baumannii* suşlarında gösterilen IMP, VIM, SIM genlerinin hepsi klas 1 integron yapısında bulunmaktadır ve birbirlerine benzer özelliktedirler (30).

NDM (New Delhi metallo-beta-lactamase): NDM-1 yakın zamanda saptanan MBL'lerdendir (30). Diğer MBL'lere benzer şekilde, aztreonam hariç tüm beta-

laktamları hidrolize eder. Kolistin ve tigesiklin dışındaki tüm antibiyotiklere dirençli oldukları görülmüştür (74).

İlk olarak 2008 yılında İsveç'te, daha önce Hindistan Yeni Delhi'de hastanede yatmış bir hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşunda gösterilmiştir. Daha sonra bir *A. baumannii* suşunda tespit edilmiştir (107, 108). Sonra birçok farklı Avrupa ülkesi, Çin, Japonya, Kenya, Brezilya, Cezayir ve Suriye'den *A. baumannii*'de NDM-1 bildirimleri yapılmıştır (109-118).

Birçok *A. baumannii* izolatının tanımlanması, aslında NDM-1 kaynağının Hindistan değil de Kuzey Afrika olduğunu güçlü bir şekilde desteklemektedir (119). Diğer bir varyant olan NDM-2, Mısır, İsrail ve Birleşik Arap Emirlikleri'nde, *A. baumannii* suşlarından izole edilmiştir (120-122). Bu NDM-2 üreten izolatların klonal ilişkisi incelendiğinde, Orta Doğu, Balkan bölgesi, Hindistan ve Çin'in muhtemelen rezervuar olduğu düşünülmektedir (123).

NDM geni tek bir klon, tek bir tür veya spesifik bir plazmitle ilişkili değildir. Daha çok *Enterobacteriaceae*'lar olmak üzere birbiriyle ilişkisiz birçok gram negatif bakteri türünde ve aynı bakteri türüne ait birçok farklı klonda tanımlanmış, farklı plazmit tipleri tarafından taşınabildiği saptanmıştır (124). NDM-1'le birlikte diğer karbapenemaz, AmpC sefalosporinaz, GSBL, aminoglikozit, makrolit, rifampisin, kinolon, sulfametoksazol antibiyotiklerine karşı direnç genleri, NDM-1 taşıyan bakteriler tarafından eksprese edilebilmektedir. Hem kromozomal hem plazmit kökenli birçok genin tek bir bakteride görülebilmesi oldukça nadirdir ve NDM-1 üreten bakterilerdeki çoklu ilaç direncini açıklamaktadır (97). Eflüks pompasıyla ilgili direnç genlerini de taşıyan izolatlarda antibiyotik direnci daha da artmaktadır (125).

Farklı NDM varyantları, NDM kodlayan genlerdeki nokta mutasyonlarla açıklanmaktadır. Bugüne kadar 13 NDM türü tanımlanmıştır. Klinik olarak en sık NDM-1 görülmektedir (126).

2.10.3.3. Sınıf D Beta-laktamazlar

Seksenli yılların başından itibaren tanımlanan, Sınıf D beta-laktamazlar, yapısal ve biyokimyasal özelliklerine göre ayrılan oldukça geniş bir enzim grubudur

(98, 127). Bu enzimler oksasilini benzilpenisilinden daha hızlı şekilde hidrolize ettiklerinden oksasilinaz (OXA) olarak da adlandırılırlar (74). Bu enzimlerin hepsi amoksisilin ve sefalotini hidrolize ederler ve aktiviteleri klavulanik asitle belirgin şekilde inhibe olmaz. Genel olarak diğer karbapenemazlarla kıyaslandığında karbapenemleri hidrolize etme özelliği daha zayıf olan bu enzimler, EDTA ile inhibisyona dirençlidirler ve NaCl ile in vitro inhibe olurlar (97, 128). Bu enzime sahip izolatlarda karbapenem direncinden, porin kaybı gibi başka bir mekanizma da ayrıca sorumlu olmaktadır (95).

Pseudomonas aeruginosa'da saptanan bazı Sınıf D beta-laktamazlar geniş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize ederler. Bu tip Sınıf D beta-laktamazlara ES-OXA da denmektedir (127).

Karbapenemaz aktivitesi gösteren ilk OXA, 1993 yılında ÇİD bir *A. baumannii* izolatında tanımlanmıştır. Başlangıçta ARI-1 (*Acinetobacter* resistant to imipenem) olarak adlandırılmıştır (129). Sonrasında, yapılan sekans analizi ile OXA Sınıf D beta-laktamaz ailesinin üyesi olduğu anlaşılmış ve OXA-23 olarak yeniden adlandırılmıştır (130).

Sınıf D karbapenemazlar çoğunlukla *Acinetobacter* türlerinde gösterilmiş olmasına rağmen, OXA-48 varyantı sadece *Enterobacteriaceae* türlerinde tespit edilmiştir (97). OXA-48 ilk olarak 2003 yılında, İstanbul'da bir *K. pneumoniae* izolatında bulunmuştur (131). Daha sonra birçok *Enterobacteriaceae* türlerinde, Türkiye, Hindistan, Orta Doğu ve Kuzey Afrika ülkelerinden bildiri devam etmiştir. Bu bölgeler OXA-48 enzimi üreten *Enterobacteriaceae* için rezervuar olarak kabul edilmektedir (132).

Acinetobacter baumannii, Sınıf D beta-laktamazlardan olan OXA-51'i doğal olarak üretmektedir (133). Bu enzim düşük karbapenemaz aktivitesi göstermektedir. OXA-51 genleri, birçok izolatta oldukça zayıf eksprese edilmektedir. Eğer yüksek düzeyde eksprese edilirse karbapenemlere azalmış duyarlılığa sebep olmaktadır. Bu genlerin yüksek düzeyde eksprese edilmesi, büyük oranda, blaOXA-51 genine yakın yerleşim gösteren ISAbal1 elemanı ile ilişkilidir (134). *Acinetobacter baumannii* suşlarındaki yüksek düzey karbapenemaz direnci, bu enzimlerin varlığıyla birlikte porin kaybı ve eflüks pompa sisteminin fazla çalışmasına bağlıdır (95). OXA-51

geninin başka *Acineobacter* türleri ve *Enterobacteriaceae* türlerine de plazmit aracılığıyla transfer edildiği gösterilmiştir (135-137).

Kazanılmış Sınıf D karbapenemazlar, *A. baumannii* suşunda beş ana grupta toplanmıştır:

OXA-23, OXA-40, OXA-58, OXA-143, OXA-235.

Tablo 4. *A. baumannii*'de saptanan OXA grupları

OXA-23 (ARI-1) Grup	OXA-27, OXA-49
OXA-40 Grup	OXA-25, OXA-26, OXA-72
OXA-58 Grup	OXA-96, OXA-97
OXA-143 Grup	
OXA-235 Grup	OXA-236, OXA-237

En fazla saptanan alt grup OXA-23, OXA-27 ve OXA-49'un bulunduğu gruptur (95).

OXA-23 genleri kromozom veya plazmit tarafından kodlanabilmektedir. OXA-23, *A. baumannii*'de, tüm dünyada en yaygın bulunan Sınıf D beta-laktamazdır (95, 138, 139). OXA-23, tüm dünyada, karbapenem dirençli *A. baumannii* suşlarının neden olduğu hastane salgınlarında da en fazla saptanan türdür (127, 140).

İkinci grup, OXA-24 grubu olarak bilinen, OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-40, OXA-72'nin içinde olduğu gruptur. OXA-25, İspanya'daki karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında ve OXA-26, Belçika'daki karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında tespit edilmiştir (141). OXA-40, ilk olarak Fransa'da Portekiz'li bir hastadan izole edilen karbapenem dirençli *A. baumannii* suşunda tanımlanmıştır (142). Daha sonra dünyanın birçok yerinde yaygın şekilde tespit edilmiştir (127, 143, 144). OXA-24 genleri kromozomal ya da plazmit kaynaklı olabilir. OXA-72, dünyanın birçok yerinde (Brezilya, Litvanya, Hırvatistan) saptanmış olmasına rağmen en sık Asya'dan (Çin, Güney Kore, Tayvan, Japonya) bildirimler yapılmıştır (127, 145-148).

OXA-96, OXA-97'nin birlikte yer aldığı grubun üyesi OXA-58, ilk kez Fransa'da karbapenem dirençli bir *A. baumannii* suşunda tespit edilmiştir (149). Daha sonra tüm dünyadan bildirimler yapılmıştır (127). OXA-58 her zaman plazmit kaynaklı sentezlenmektedir (95). OXA-96 ve OXA-97, OXA-58'in nokta mutasyonu ile oluşan varyantlarıdır; Singapur ve Tunus'dan bildiri yapılmıştır (150, 151).

OXA-143, 2009 yılında Brezilya'da karbapenem dirençli bir *A. baumannii* izolatında saptanmıştır. OXA-40 ile %88, OXA-23 ile %63, OXA-58'le %53 amino asit benzerliği gösterir (152).

OXA-235, OXA-236, OXA-237 grubuna ait Sınıf D karbapenemaz üreten *A. baumannii* izolatları ABD ve Meksika'dan bildirilmiştir. İlişkili genler hem kromozomal hem de plazmit kaynaklı olabilmektedir (153).

2.11. Karbapenemazların Saptanması

Tedaviye yön vermek, direnç yayılımını sınırlandırmak açısından karbapenemaz üreten bakterilerin laboratuvarlarca tanımlanabilmesi gerekmektedir (74). Karbapenemaz üretiminin saptanması her zaman kolay değildir.

Herhangi bir testte karbapenemaz üreten mikroorganizmalardaki minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) düzeylerindeki artış veya disk difüzyon zon çaplarının daralması ileri araştırma gerektirir. Karbapenemaz üreten bakterilerde MİK düzeyleri çok geniş bir aralıktadır; Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) veya European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)'ın belirlemiş olduğu duyarlılık sınırları içinde bile olabilmektedir. Düşük düzey karbapenem direnci çeşitli tiplerde karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae*, MBL ve OXA üreten *Acinetobacter* türlerinde gözlenmektedir. Metallo-beta-laktamaz üreten *P. aeruginosa* türlerinde daha çok yüksek düzey karbapenemaz direnci görülmektedir. *Acinetobacter baumannii* ve *P. aeruginosa* için yapılan rutin duyarlılık testlerinde seftazidim ve tikarsiline direnç varsa MBL varlığından şüphelenilmelidir. *Enterobacteriaceae*'da karbapenem duyarlılığında en ufak bir azalma dahi olsa, karbapenemazları saptamaya yönelik testler yapılmalıdır (74).

Tablo 5. EUCAST'a göre *Acinetobacter* spp. için karbapenem klinik sınır değerler

Karbapenemler	MİK sınır değerleri (mg/L)		Disk içeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Doripenem	1	2	10	23	20
Ertapenem	-	-	-	-	-
İmipenem	2	8	10	23	17
Meropenem	2	8	10	21	15

Tablo 6. CLSI'a göre *Acinetobacter* spp. için karbapenem klinik sınır değerler

Karbapenemler	MİK sınır değerleri (mg/L)		Disk içeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)	
	S ≤	R ≥		S ≥	R ≤
İmipenem	4	16	10	16	13
Meropenem	4	16	10	16	13

2.11.1. Fenotipik Doğrulama Testleri

Bakterinin karbapenemaz üretimini saptamada çoğu disk difüzyon temeline dayanan birçok fenotipik yöntem tanımlanmıştır.

Modifiye Hodge testi, yaygın kullanılan bir testtir. Dezavantajları arasında özellikle MBL üretimi olan suşlarda yorumlama zorlukları ve farklı karbapenemaz sınıflarını ayırt edememesi sayılabilir.

İnhibitör temelli testler, karbapenemaz sınıfına spesifik inhibitörlerin, üreme ortamına eklendiğinde karbapenemaz aktivitesinin in vitro inhibisyonunun tespitine dayalı testlerdir. Sınıf A karbapenemazların tanısında inhibitör olarak boronik asit (3-aminofenilboronik asit), sınıf B MBL'lerin tanısında inhibitör olarak EDTA, 2-merkaptopropionik asit, dipikolinik asit kullanılmaktadır. Bu testler, kombine disk testi, çift disk sinerji testi veya gradient test yöntemiyle yapılabilir. Boronik asit ve kloksasilin en yaygın kullanılan AmpC inhibitörleridir. Sınıf D karbapenemazların

aktivitesi in vitro NaCl ile inhibe olmaktadır, ancak bu özellik rutinde OXA tespiti için kullanım alanı bulamamıştır (74, 127, 154).

Metallo-beta-laktamaz enzimlerini saptamada kullanılan kombine disk testinde, plak içine 2 adet imipenem diski yerleştirilir. Bir tanesine EDTA eklendikten sonraki inhibisyon zon çapı farkına göre değerlendirmenin yapıldığı testtir. 0,1 M EDTA solüsyonunun eklendiği imipenem/EDTA diskinin inhibisyon zonu tek başına imipenem diski zon çapından ≥ 4 mm, 0,5 M EDTA solüsyonunun eklendiği imipenem/EDTA diskinin inhibisyon zonu tek başına imipenem diski zon çapından ≥ 7 mm büyük ise MBL pozitif bakteri izolatu kabul edilmektedir (155).

2.11.2. Spektrofotometre

a. UV Spektrofotometre: Karbapenemaz aktivitesi açısından test edilecek suştan elde edilen beta-laktamaz ekstraktı imipenemle karıştırılır ve imipenem hidrolizi UV spektrofotometre kullanılarak tespit edilir. Test, karbapenemaz aktivitesini saptamada %100 duyarlılık, %98,5 özgülüğe sahiptir. Test ucuz ve duyarlı olmasına rağmen, uzun sürede sonuç alınması, teknik donanıma ihtiyaç duyulması ve zayıf karbapenemaz aktivitesini saptayabilmek için fazla miktarda hücre ekstraktına ihtiyaç göstermesi sebebiyle yalnızca referans laboratuvarlarca kullanılmaktadır (156, 157).

b. Kütle Spektrofotometre: Matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), antibiyotik duyarlılığını test etmede bakteri identifikasyonu kadar yaygın kullanılmamaktadır. Karbapenemaz aktivitesini saptamak amacıyla bakteriden elde edilen pellet, karbapenem içeren tamponla resüspanse edilir. Karbapenem molekülleri, karbapenem tuzları (genellikle NaCl) ve/veya karbapenem yıkım ürünlerinin karşılık geldiği pikleri içeren spektrumların analizi sonrasında karbapenemaz aktivitesi hakkında yorum yapılmaktadır. Testin duyarlılık ve özgülüğü %95'den fazladır (158).

2.11.3. Carba NP, CarbAcineto NP Test

Karbapenemlerin beta-laktam halkasının biyokimyasal olarak hidrolizinin gösterilmesine dayalı, hızlı, duyarlı, özgül ve kolay uygulanabilen testlerdir. Testin yönteminde, lizis tampon içinde hazırlanan bakteri süspansiyonu santrifüj edildikten sonra, elde edilen süpernatant, içinde imipenem, indikatör olarak fenol kırmızısı ve ZnSO₄ karışımı bulunan kuyucuklara inoküle edilir. İki saat inkübasyondan sonra kuyucuklardaki renk değişimine göre karbapenem hidrolizi olup olmadığı değerlendirilir. CarbAcineto NP testte lizis tampon yerine NaCl kullanılmaktadır. Carba NP ve CarbAcineto NP testleri, karbapenemaz üreten bakterileri, karbapenem duyarlı bakterilerden ve enzim dışı başka mekanizmalarla karbapenem direnci gösteren bakterilerden ayırt etmekte avantaj sağlamaktadır. Duyarlılık ve özgüllükleri %100 olarak bildirilmektedir (159, 160).

2.11.4. İmmünokromatografi

Test, kromatografik kağıt üzerinde meydana gelen immünolojik reaksiyon prensibine dayanmaktadır. Karbapenemaz molekülüne spesifik iki farklı antikor kullanılmaktadır. Antikorlardan biri kromatografik kağıt üzerine, işaretli olan diğer antikor ise örneğin damlatıldığı pet üzerine emdirilmektedir. Örnek pedi üzerine test edilen materyal eklendiğinde, işaretli antikorla karbapenemaz enzimi arasında kompleks oluşmakta, bu kompleks örnekle birlikte hareket ederek membran üzerinde hareketsiz halde bulunan antikorla temas etmekte ve sonuçta bir immün kompleks oluşup renk değişimi gözlemlenmektedir (157).

2.11.5. Moleküler Yöntemler

Moleküler yöntemler karbapenemaz genlerinin saptanması için altın standart olarak kabul edilmektedirler. Bu yöntemlerin çoğu polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) temeline dayanmaktadır. Karbapenemaz geninin kesin identifikasyonu için ise bütün kodlama bölgesinin dizi analizi, PCR'ın ardından yapılabilmektedir. Hibridizasyon teknikleri de araştırma veya referans laboratuvarlarda kullanılabilir. Moleküler yöntemler, deneyim ve teknik donanım gerektirmesi, daha önceden çalışılan direnç

genlerini saptarken, yeni olabilecek direnç genlerinin çalışılmaması açısından dezavantaj göstermektedirler (161).

PCR tekli, multipleks veya gerçek zamanlı yapılabilir. Günümüzde in house PCR testleri karbapenemazların tanımlanmasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. 4-6 saat gibi kısa sürede sonuç vermesi, özgüllük ve duyarlılığının yüksek olması bu yöntemleri tercih edilir kılmaktadır (157).

Ticari olarak temin edilebilen PCR ya da hibridizasyon temelli kitler, klinik örneklerden karbapenemaz genlerini başarılı bir şekilde tespit edebilmektedir. Ancak bu testlerin klinik olarak uygulanabilirliklerinin test edilmesi bakımından geniş kapsamlı, çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır (161).

2.12. Tedavi

Acinetobacter baumannii izolatlarında saptanan antibiyotik direnç oranlarının zaman içinde değiştiği gözlenmiştir. Bu bakterilerde antibiyotik direnci, antibiyotik kullanma alışkanlığı ve çevresel faktörlerin de etkisiyle çeşitli hastaneler ve ülkeler arasında farklılık gösterebilmektedir (162).

Günümüzde özellikle hastane salgınlarında tespit edilen izolatlarda penisilin, sefalosporin, karbapenem, tetrasiklin, aminoglikozit ve florokinolon türü antibiyotiklere yüksek oranlarda direnç görülmektedir. *Acinetobacter* türleri genellikle kloramfenikole dirençlidir; sülfonamidler ve trimetoprim genel olarak düşük düzey direnç görülür (163).

Dünyada ve ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda geniş spektrumlu sefalosporinlere yıllar ilerledikçe artan bir şekilde, %70-100 kadar direnç bildirilmektedir (163). Solunum yolu örneklerinden izole edilen mikroorganizma dağılımı ve antibiyotiklere direnç oranlarının incelendiği, 2006-2010 yılları arasında kapsayan çalışmada, sefalosporinler ve karbapenemlere direncin istatistiksel olarak anlamlı artışla %86-99'a kadar ulaştığı bildirilmektedir (164).

Türkiye'de florokinolon direnci bir çalışmada %70'in üstünde saptanmıştır. Aynı çalışmada tigesiklin için direnç oranı diğer antibiyotiklere göre düşük olup, 2010 yılı için %3, 2011 yılı ilk altı ayı için ise %5,9 oranında bulunmuştur. Birçok

çalışmada, *A. baumannii* izolatlarında tigesikline direnç oranları %5-66 arasında bildirilmektedir (20, 165).

Özellikle ÇİD *Acinetobacter* türlerinde tedavi seçeneği olarak tobramisın ve amikasin gibi aminoglikozitler, başka bir aktif antimikrobiyal ajanla kombine olarak kullanılmaktadır (166). İmipenem dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarında ampisilin/sulbaktam kullanımının %67,5 oranla klinik yanıt oluşturduğu gösterilmiştir (167).

En etkin in vitro ajan polimiksinler, polimiksin B ve polimiksin E dir (168, 169). Polimiksinlerin nefrotoksisite ve nörotoksisiteye sebep olduğu bilindiğinden 1960 ve 1970 yıllarında kullanımı bırakılmıştır. Son yıllarda ÇİD gram negatif basillerin artması sonucu polimiksin kullanımına tekrar başlanılmıştır (170). Kolistin direnci farklı yerlerde farklı oranlardadır. Ülkemizde bir çalışmada %5 oranında bulunan kolistin direnci, Polonyo'da yapılan bir çalışmada %1,5 olarak bildirilmiştir (63, 171).

Ciddi veya altta yatan hastalığı olan kişilerde kombinasyon tedavisi önerilmektedir (169). Çoklu ilaç dirençli *A. baumannii*'nin neden olduğu VİP'te ampisilin-sulbaktam ile aminoglikozit kombinasyonu veya tek başına kolistin tedavisi in vitro duyarlılık sonuçlarına göre önerilen tedavi seçeneklerindedir (167, 172).

Tigesiklin-piperasilin tazobaktam kombinasyonu antagonist etki gösterirken tigesiklinin kolistin, amikasin, levofloksasin ve imipenemle kombinasyonu sinerjistik etki gösterir (173). İn vitro çalışmalar, ÇİD *Acinetobacter*'e karşı polimiksinlerin imipenem, rifampin veya azitromisin ile birlikte kullanılması sırasında sinerjik etkiler oluştuğunu ortaya koymuştur. Motaouakkil ve arkadaşları, kolistin ve rifampin kombinasyonu ile birlikte, VİP'i veya kan dolaşımı enfeksiyonlarını başarılı şekilde tedavi ettiklerini yayımlamışlardır (174).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda, eğitim planlama ve koordinasyon (EPK) kurulu onayı alınarak yapılmıştır.

Çalışmamıza; Ocak 2014-Ağustos 2016 tarihleri arasında Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi servis ve YBÜ'lerinde yatmış olup hastane enfeksiyonu tanısı konulmuş hastaların, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilmiş çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 142 ACB suşu dahil edildi. Otomatize sistemle [VITEK 2 Compact (bioMerieux, Fransa) ve Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD)] en az bir karbapenem grubu antibiyotiğe karşı orta duyarlı veya dirençli olarak rapor edilen suşlar, disk difüzyon yöntemiyle tekrar değerlendirildi. Bu yöntemle EUCAST karbapenemaz klinik sınır değer kriterlerine göre orta duyarlı veya dirençli bulunan suşlar çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan suşların, EUCAST'ın *Acinetobacter* spp. için duyarlılık çalışılmasını önerdiği diğer antibiyotiklere karşı duyarlılıkları, disk difüzyon yöntemiyle değerlendirildi. Suşların kolistin duyarlılığına gradient strip test yöntemiyle bakıldı. Çalışmaya alınan bakterilerde karbapenem direncinden sorumlu olabileceği düşünülen GES, VIM, IMP, SIM, NDM, OXA-51, OXA-23, OXA-24, OXA-58 gen bölgelerinin varlığına in house PCR yöntemi kullanılarak bakıldı. Fenotipik yöntemlerden, inhibitör tabanlı karbapenemaz saptama testlerinden olan kombine disk testi, MBL enzimlerinin varlığını saptamak için kullanıldı. Metallo-beta-laktamaz enzimleri açısından, moleküler ve fenotipik testle elde edilen sonuçların uyumu değerlendirildi. Moleküler yöntem altın standart kabul edilerek fenotipik yöntemin duyarlılık ve özgüllüğü hesaplandı.

Akış şeması:

1. Otomatize sistemle en az bir karbapenem grubu antibiyotiğe karşı orta duyarlı veya dirençli saptanan suşlar seçildi.
2. Karbapenem duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle tekrar çalışıldı.
3. Disk difüzyon yönteminde EUCAST klinik sınır değer kriterlerine göre karbapenemlerden en az birine orta duyarlı veya dirençli saptanan suşlar çalışmaya dahil edildi.

4. Çalışmaya dahil edilen suşların, EUCAST'ın *Acinetobacter* spp. için duyarlılık çalışılmasını önerdiği, karbapenem dışındaki diğer antibiyotiklere karşı duyarlılıklarına disk difüzyon yöntemiyle bakıldı.
5. Çalışmaya alınan suşların kolistin MİK değerleri gradient strip testle çalışıldı.
6. Metallo-beta-laktamaz enzimlerinin varlığına, fenotipik inhibitör tabanlı karbapenemaz saptama testlerinden kombine disk testi kullanılarak bakıldı.
7. In house PCR yöntemi kullanılarak spesifik karbapenemaz gen bölgelerinin varlığına bakıldı.
8. In house PCR yöntemi altın standart kabul edilerek fenotipik MBL enzim saptama testi ile PCR testi arasındaki uyum, duyarlılık ve özgüllük bakılarak değerlendirildi.

3.1. Örnek Seçimi

Hastaların klinik örneklerinden izole edilen ve tür düzeyinde *A. baumannii* veya ACB olarak tanımlanan izolatların, otomatize antimikrobiyal duyarlılık sistemi ile karbapenemlere duyarlılığı araştırıldı. Buna göre EUCAST/CLSI kriterlerine göre iki farklı (imipenem, meropenem) karbapenem sınıfı antibiyotikten en az birine karşı orta duyarlı veya dirençli olarak bulunan suşlara disk difüzyon yöntemi uygulandı.

Disk difüzyon yöntemiyle EUCAST standartlarına göre en az bir karbapenem grubu antibiyotiğe orta duyarlılık veya direnç gösteren 142 ACB izolatu çalışmaya dahil edildi. Karbapenem klinik sınır değerleri için EUCAST standartları esas alındı. Buna göre disk difüzyon yöntemiyle inhibisyon zon çapı; 10 µg imipenem için < 23 mm, meropenem için < 21 mm olan suşlar karbapenemaz enzim varlığı açısından ileri değerlendirmeye alındı.

Aynı etkenle tekrarlayan üremesi olan hastaların tek bir örneği çalışmaya dahil edildi.

3.2. Örneklerin Toplanması

Hastane enfeksiyonu tanılı hastaların Ocak 2014-Ağustos 2016 tarihleri arasındaki, çeşitli klinik örneklerinden uygun koşullarda alınan ve uygun yöntemlerle Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na getirilen kültür materyallerinden izole edilen 142 ACB suşu çalışmaya alındı. Hastalara ait tek bir örnek çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan suşlar, derin trakeal aspirat (n=69), sonda idrarı (n=29), kan kültürü (n=16), kateter kültürü (n=12), yara (n=11), beyin omurilik sıvısı (BOS) (n=5) örneklerinden izole edildi.

3.3. Bakterilerin İzolasyonu ve Konvansiyonel Yöntemlerle Tanımlanması

Çalışma sırasında, ACB izolatlarını içeren kriyotüpler (Or-Bak, Türkiye) -80°C'li derin dondurucudan çıkartıldı. Kriyotüplerden birkaç adet seramik boncuk antibiyogram solüsyonuna konarak bir gece 37°C'lik etüvde bekletildi. Daha sonra %5 koyun kanlı agar (KKA) (Oxoid, İngiltere), Levine eozin metilen blue agar (L-EMB) (Oxoid, İngiltere) besiyerlerine pasajlandı. Aerobik ortamda, normal atmosferde, 37°C'de etüvde 18-24 saat inkübasyon sonrasında taze kültür pasajlarından saf olarak elde edilen bakteri kolonileri kullanılarak bakterilerin tanımlama aşamasına geçildi.

Aerop koşullarda üreyen, %5 KKA'da 1-2 mm çapında, gri-beyaz renkli S veya mukoid tipte koloni oluşturan izolatların ACB olduklarını doğrulamak için öncelikle gram boyama yapıldı. Gram negatif kok veya kokobasil morfolojisinde olan bakteriler konvansiyonel yöntemlerle tekrar tanımlandı. Bu amaçla katalaz, oksidaz testleri yapıldı, triple sugar iron (TSI) agar ve glikoz oksidasyon-fermentasyon (OF) besiyerlerine ekim yapıldı.

Katalaz pozitif, oksidaz negatif, TSI agarda fermentasyon yapmayan, glikoz OF besiyerlerinden, oksijenle teması kesilmeyen tüpte glikozu oksidasyon yoluyla kullandığı anlaşılan bakteriler *Acinetobacter* ön tanısı ile tür ve cins belirlenmesi için otomatize tanımlama sistemlerine alındı.

3.4. Otomatize İdentifikasyon ve Antibiyotik Duyarlılık Sistemlerinde Tür Tanımlanması ve Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılığın Araştırılması

3.4.1. VITEK 2 Compact 60 Otomatize İdentifikasyon ve Antimikrobiyal Duyarlılık Sisteminde Tür Tanımlanması ve Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılığın Araştırılması

1. İdentifikasyon ve antimikrobiyal duyarlılık testi için bakteri süspansiyonunun hazırlanması

- a) Her izolat için, numaralandırılmış iki adet 12x75 mm'lik polisteren test tüpüne dispenser ile 3'er ml %0,45'lik steril serum fizyolojik konuldu.
- b) Koyun kanlı agardaki pasajlardan steril öze ile 3-4 koloni alındı ve her izolat için ikişer adet hazırlanan test tüplerinden ilkinde aktarıldı.
- c) İlk tüp vortekslenerek homojen bakteri süspansiyonu elde edildi.
- d) Tüpler türbidite ölçen VITEK 2 DensiChek (bioMerieux, Fransa) cihazına konularak bulanıklık derecesi 0,5 McFarland yoğunluğuna ayarlandı.

2. İdentifikasyon ve antimikrobiyal duyarlılık testlerinin çalışılması

- a) Her izolat için ilk tüplerde McFarland ayarı yapıldıktan sonra, bütün tüpler 10'luk raklara yerleştirildi.
- b) İlk test tüplerinden ikinci tüplere mikropipet yardımıyla 145 µl bakteri süspansiyonu aktarılıp vortekslendi. Bu şekilde hazırlanan ilk tüpler identifikasyon, ikinci tüpler ise antimikrobiyal duyarlılık testi için kullanıldı.
- c) Tüplerin içine identifikasyon ve antimikrobiyal duyarlılık kartlarının pipetleri yerleştirildi. İdentifikasyon için VITEK 2 GN REF 21341 kartı kullanıldı. Antimikrobiyal duyarlılık için VITEK AST-N262 REF 413 754 kartı kullanıldı.
- d) Barkod okuyucu yardımıyla kartların üzerindeki barkodlar okutuldu.
- e) Bilgisayara kartların girişi yapıldı ve raklar cihaza yüklendi.

- f) Sonuçlar 18-24 saatlik inkübasyondan sonra cihazın çalışma menüsünden değerlendirildi.
- g) İnternal kontrol olarak, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşları kullanıldı. İnternal kontrol suşları, çalışma izolatları ile aynı protokol izlenerek çalışıldı ve beklenen sonuç aralıklarına göre değerlendirildi.

3.4.2. Phoenix 100 Otomatize İdentifikasyon ve Antimikrobiyal Duyarlılık Sisteminde Tür Tanımlanması ve Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılığın Araştırılması

1. İdentifikasyon için bakteri süspansiyonunun hazırlanması

- a) Numaralandırılmış, 4,5 ml'lik Phoenix ID broth tüpü içine, KKA'daki kolonilerden steril öze yardımıyla 1-2 adet alınıp, kapağı kapatıldıktan sonra 5 saniye vortekslendi ve homojen bir bakteri süspansiyonu elde edildi.
- b) Panellere inokülasyon yapılmadan önce, BD Phoenix 100 cihazının inokülüm dansitesi 0,5 McFarland yoğunluğuna ayarlandı.
- c) Tüpler, türbidite ölçümünün yapılabilmesi amacıyla BD PhoenixSpec Nefelometre (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) cihazı içine yerleştirildi.
- d) BD PhoenixSpec Nefelometre cihazı ile elde edilen 0,5-0,6 aralığındaki türbidite değerleri kabul edilebilir inokülüm dansitesi olarak yorumlandı.

2. Antimikrobiyal duyarlılık testi için bakteri süspansiyonunun hazırlanması

- a) AST indikatör solüsyonu oda sıcaklığına getirildi.
- b) Numaralandırılmış, 8 ml'lik Phoenix AST broth tüpü içine, AST indikatör solüsyonundan bir damla, tüpün kenarlarına değmemesine

dikkat edilerek eklendi, tüpün kapağı kapatıldıktan sonra solüsyonun karışması için, tüp bir iki kez alt üst edildi.

- c) ID tüp içindeki homojen bakteri süspansiyonundan otomatik pipet yardımıyla 25 µl alınıp AST broth tüpü içine eklendi. Tüpün kapağı kapatıldıktan sonra karışmanın sağlanması amacıyla AST tüpü birkaç kez alt üst edildi.

3. İdentifikasyon ve antimikrobiyal duyarlılık testlerinin çalışılması

- a) İdrar örneklerinin identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testi için BD Phoenix™-Gram Negative Combo Panel (UNMIC/ID-401); idrar dışı örnekler için ise BD Phoenix™-Gram Negative Combo Panel (NMIC/ID-400) kullanıldı.
- b) Ambalajından çıkarılan paneller ve hazırlanan bakteri süspansiyonları panel inokülasyon istasyonu üzerine yerleştirildi.
- c) ID tüp içindeki bakteri süspansiyonu, panelin ID tarafındaki 51 kuyucuklu deliğe tamamen boşaltıldı ve sıvının panel boyunca aşağı doğru hareketi gözlemlendi.
- d) AST tüpü içindeki bakteri süspansiyonu, panelin AST tarafındaki 85 kuyucuklu deliğe tamamen boşaltıldı ve sıvının panel boyunca aşağı doğru hareketi gözlemlendi.
- e) Panel üzerindeki her bir kuyucuğun dolup dolmadığı gözle kontrol edildi. Tüplerin boşaltılmış olduğu delikler, plastik bir kapak vasıtasıyla sıkıca kapatıldı.
- f) Panellerin cihaza yüklenene kadar panel taşıyıcısı üzerinde dik pozisyonda tutulmasına özen gösterildi.
- g) Barkod okuyucu yardımıyla panellerin üzerindeki barkodlar okutuldu.
- h) Bilgisayara panellerin girişleri yapıldı ve paneller cihaza yüklendi.
- i) Sonuçlar 18-24 saatlik inkübasyondan sonra cihazın çalışma menüsünden değerlendirildi.

- j) İnternal kontrol olarak, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşları kullanıldı. İnternal kontrol suşları, çalışma izolatları ile aynı protokol izlenerek çalışıldı ve beklenen sonuç aralıklarına göre değerlendirildi.

3.5. Disk Difüzyon Yöntemiyle Antibiyotik Duyarlılığının Belirlenmesi

Otomatize antimikrobiyal duyarlılık yöntemleriyle, en az bir karbapenem sınıfı antibiyotiğe karşı orta duyarlı veya dirençli olarak rapor edilen suşların duyarlılıklarına, EUCAST'ın duyarlılık çalışılmasını önerdiği antibiyotikler kullanılarak, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle bakıldı.

- a) Steril tek kullanımlık 15 cm çaplı petri plaklarına, 4 mm yükseklikte olacak şekilde Mueller Hinton agar (Becton Dickinson Co, ABD) besiyeri döküldü. Plaklar kullanılmaya kadar +4°C'de saklandı.
- b) Koyun kanlı agarda saf olarak üremiş ACB kolonilerinden steril öze yardımıyla alınıp 5 ml'lik Mueller Hinton broth (Becton Dickinson Co, ABD) içine aktarıldı ve vortekslendi, 0,5 MacFarland bulanıklığı elde edilecek şekilde süspanse edildi.
- c) Pamuk uçlu steril eküvyon, hazırlanan süspansiyon içine batırıldı ve karıştırıldı; sonra eküvyon tüpün iç duvarına bastırılarak fazla sıvı süzüldü.
- d) Eküvyon, Mueller Hinton agar plağının bir tarafından başlanarak, boş yer kalmayacak şekilde tüm yüzeye sürülerek ekim yapıldı.
- e) Petri 60 derece döndürülerek agar yüzeyine ekim işlemi tekrarlandı. Bu işlem iki kez daha tekrar edildi.
- f) Plakların oda ısısında kurumasını takiben, +4°C'den çıkarılıp oda ısısında bekletilmiş olan 10 µg meropenem (MRP) (Becton Dickinson Co, ABD), 10 µg imipenem (IPM) (Becton Dickinson Co, ABD), 5 µg siprofloksasin (CIP) (Becton Dickinson Co, ABD), 5 µg levofloksasin (LVX) (Becton Dickinson Co, ABD), 30 µg amikasin (AN) (Becton Dickinson Co, ABD), 10 µg gentamisin (GM) (Becton Dickinson Co, ABD), 10 µg netilmisin (NET) (Becton Dickinson Co, ABD), 10 µg tobramisin (NN) (Becton

Dickinson Co, ABD), 1,25-23,75 µg trimethoprim- sülfametoksazol (SXT) (Becton Dickinson Co, ABD) agar üzerine plak kenarından 1,5 cm uzak ve aralarında 2-2,5 cm mesafe olacak şekilde, steril bir penset yardımıyla yerleştirildi.

- g) Besiyerleri 37°C'de 18±2 saat inkübe edildi.
- h) Siyah zemin üzerinde diskler de dahil olmak üzere inhibisyon zon çapları milimetrik cetvelle ölçüldü.
- i) Elde edilen sonuçlar EUCAST kriterlerine göre duyarlı (S), orta duyarlı (IM) ve dirençli (R) olarak değerlendirildi.
- j) Kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşları kullanıldı.

Tablo 7. *Acinetobacter* spp. için EUCAST'ın önerdiği disk sınır değerleri

Antimikrobiyal ilaç	Duyarlı (S) ≥	Dirençli (R) <
İmipenem	23	17
Meropenem	21	15
Siprofloksasin	21	21
Levofloksasin	23	20
Amikasin	19	17
Gentamisin	17	17
Netilmisin	16	16
Tobramisin	17	17
Trimetoprim-Sülfametoksazol	14	11

3.6. Kombine Disk Testi (Sinerji Testi) ile MBL Varlığının Araştırılması

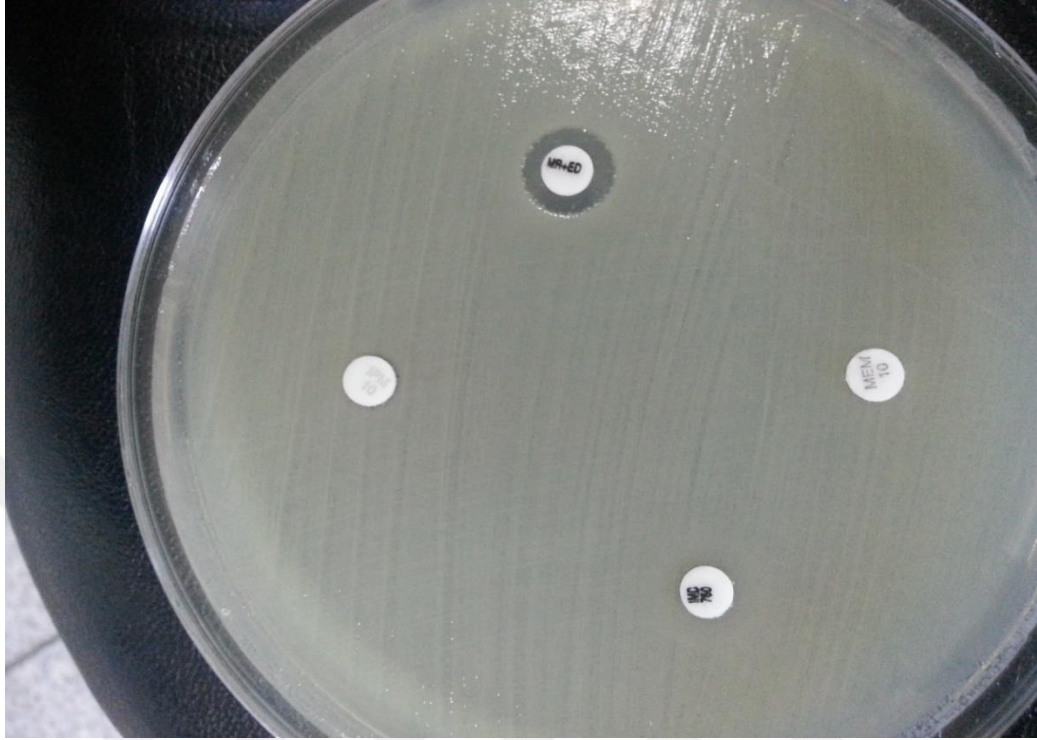
Karbapenemaz üreten ACB suşlarının tespitinde fenotipik inhibisyon tabanlı testlerden olan kombine disk testi kullanıldı. Meropenem-EDTA (MR+ED) (Liofilchem, İtalya), imipenem-EDTA (IMD 760) (Liofilchem, İtalya) ile birlikte 10 µg meropenem (MRP) (Becton Dickinson Co, ABD) ve 10 µg imipenem (IPM) (Becton Dickinson Co, ABD) diskleri MBL varlığının saptanması için kullanıldı.

Metallo-beta-laktamaz enzim varlığını araştırmak için meropenem/EDTA ve meropenem, imipenem/EDTA ve imipenem diskleri karşılıklı yerleştirildi. Etilen diamino tetra asetik asitin (EDTA) MBL'leri inhibe etme özelliği değerlendirildi.

Test basamakları:

- 1) Koyun kanlı agarda saf olarak üremiş ACB kolonilerinden steril öze yardımıyla alınıp 5 ml'lik Mueller Hinton broth (Becton Dickinson Co, ABD) içine aktarıldı ve vortekslendi, 0,5 MacFarland bulanıklığı elde edilecek şekilde süspanse edildi.
- 2) Pamuk uçlu steril eküvyon, hazırlanan süspanسیون içine batırıldı ve karıştırıldı; sonra eküvyon tüpün iç duvarına bastırılarak fazla sıvı süzöldü.
- 3) Eküvyon Mueller Hinton agar plağının bir tarafından başlanarak, boş yer kalmayacak şekilde tüm yüzeye sürtölerek ekim yapıldı.
- 4) Petri 60 derece döndürölerek agar yüzeyine ekim işlemi tekrarlandı. Bu işlem iki kez daha tekrar edildi.
- 5) Plakların oda ısısında kurumasını takiben, +4°C'den çıkarılıp oda ısısında bekletilmiş olan meropenem ve meropenem/EDTA, imipenem ve imipenem/EDTA diskleri, inhibisyon bölgelerinin düzgün bir şekilde ölçölmesine olanak sağlayacak şekilde, aralarında uygun mesafeler bırakılarak steril penset yardımıyla Mueller Hinton agar besiyeri üzerine yerleştirildi.
- 6) Besiyerleri 37°C'de 18±2 saat inkübe edildi.
- 7) Siyah zemin üzerinde diskler de dahil olmak üzere inhibisyon zon çapları milimetrik cetvelle ölçöldü.
- 8) İnhibitörle birlikte meropenem ve inhibitörle birlikte imipenem diskleri etrafındaki zon çapındaki artış, tek başına imipenem ve meropenem disklerinin etrafındaki zon çapından 7 mm ve daha fazla olmuşsa test pozitif olarak değerlendirildi (175, 176).

- 9) Kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşları kullanıldı.



Resim 4. Meropenem-EDTA pozitif, imipenem-EDTA negatif olan kombine disk testi

3.7. Gradient Strip Test Yöntemiyle Kolistin Duyarlılığının Saptanması

Çalışmaya alınan ACB suşlarının kolistin MİK değerleri EUCAST önerisi doğrultusunda, kolistin strip (Liofilchem, İtalya) kullanılarak bakıldı.

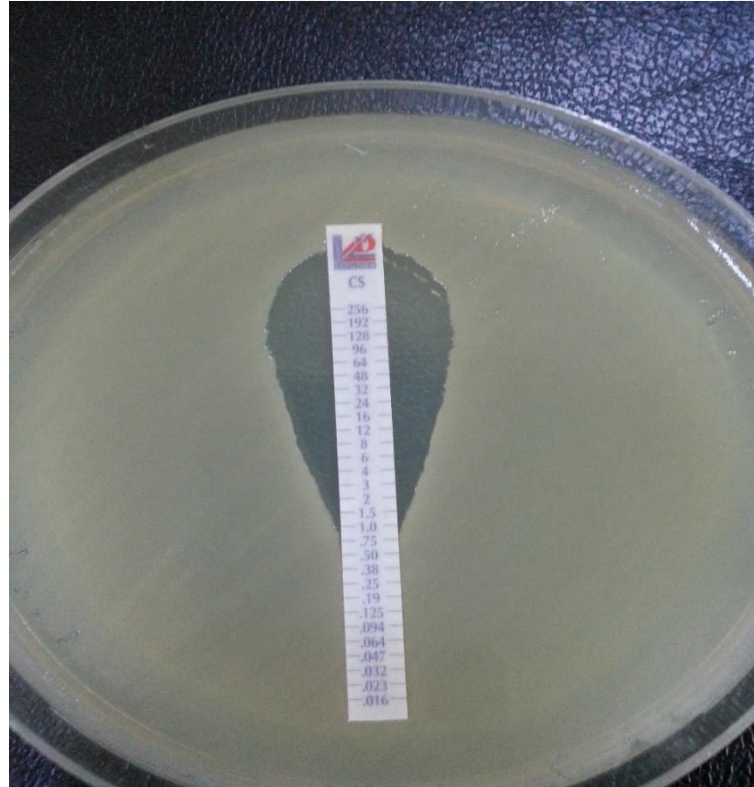
Test basamakları:

- 1) Koyun kanlı agarda saf olarak üremiş ACB kolonilerinden steril öze ile alınıp 5 ml'lik steril serum fizyolojik içeren tüplere aktarıldı ve vortekslendi, 0,5 MacFarland bulanıklığı elde edilecek şekilde süspanse edildi.
- 2) Pamuk uçlu steril eküvyon, hazırlanan süspansiyon içine batırıldı ve karıştırıldı; sonra eküvyon tüpün iç duvarına bastırılarak fazla sıvı süzüldü.
- 3) Eküvyon Mueller Hinton agar plağının bir tarafından başlanarak, boş yer kalmayacak şekilde tüm yüzeye sürülerek ekim yapıldı.

- 4) Petri 60 derece döndürülerek agar yüzeyine ekim işlemi tekrarlandı. Bu işlem iki kez daha tekrar edildi.
- 5) Muhafaza edildikleri -20°C'den çıkarılmış, gradient strip test için kullanılacak kolistin emdirilmiş stripler, steril penset yardımıyla Mueller Hinton agar besiyeri üzerine yerleştirildi.
- 6) Besiyerleri 37°C'de 18±2 saat inkübe edildi.
- 7) Kolistin MİK değerleri, üremenin tam inhibe olduğu zonun gradient strip test şeridini kestiği nokta baz alınarak belirlendi.
- 8) İnternal kontrol suşu olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu kullanıldı.

Tablo 8. *Acinetobacter* spp. için EUCAST'ın önerdiği kolistin MİK sınır değeri (mg/L)

Antimikrobiyal ilaç	Duyarlı (S) ≤	Dirençli (R) >
Kolistin	2	2



Resim 5. Gradient strip test yöntemiyle kolistin duyarlı saptanan *A. baumannii* izolatu

3.8. Karbapenemaz Gen Bölgelerinin Moleküler Yöntemlerle Araştırılması

Çalışmamızda, konvansiyonel multipleks PCR yöntemi kullanıldı. Farklı sınıflara ait karbapenemaz enzimlerini kodlayan blaOXA-51, blaOXA-23, blaOXA-24, blaOXA-58, blaGES, blaVIM, blaIMP, blaSIM, blaNDM genlerinin saptanması amacıyla tasarlanmış primerler kullanılarak, üç farklı reaksiyon miksi hazırlandı ve optimum şartlar altında PCR gerçekleştirildi. PCR sonucu, bakılan genlere ait farklı büyüklükteki ampliconlar jel elektroforez yöntemiyle görüntülenerek değerlendirildi.

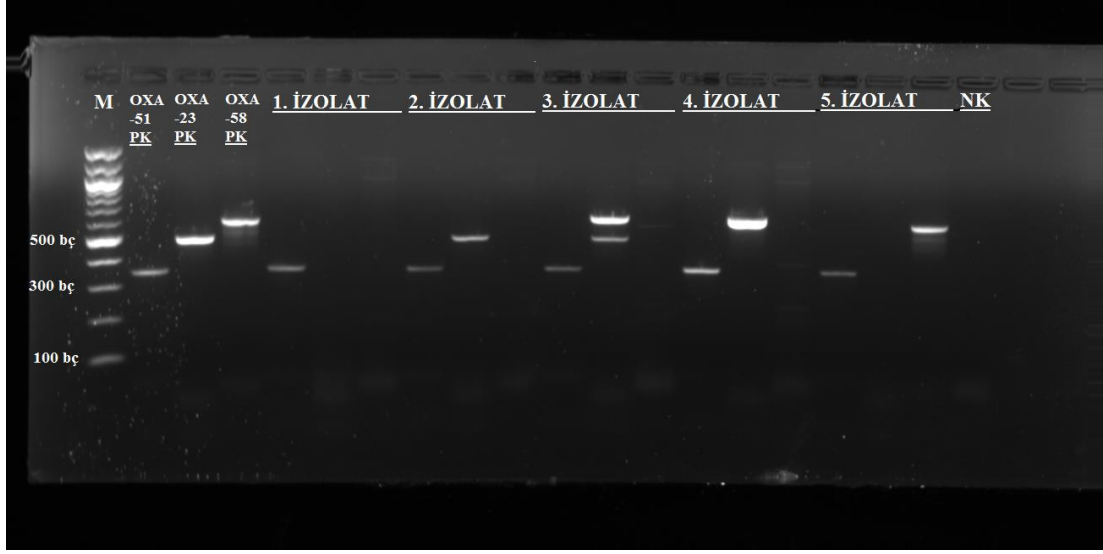
Multipleks PCR yönteminin optimizasyonu ve pozitif kontrol olarak Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edilen dört adet *A. baumannii* izolatu ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edilen dört adet *A. baumannii* DNA ekstraktı kullanıldı. blaSIM geni için pozitif kontrol temin edilemedi. Temin edilen suş ve DNA eldelerinin özellikleri Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. Kalite kontrol suşları ve kontrol DNA eldeleri

Direnç Geni	Tür	Kaynak
blaOXA-51	<i>A.baumannii</i>	DSK
blaOXA-23	<i>A.baumannii</i>	DSK
blaOXA-24	<i>A.baumannii</i>	DSK
blaOXA-58	<i>A.baumannii</i>	DSK
blaGES	<i>A.baumannii</i>	RSK
blaVIM	<i>A.baumannii</i>	RSK
blaIMP	<i>A.baumannii</i>	RSK
blaNDM	<i>A.baumannii</i>	RSK

DSK: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Suş Koleksiyonu

RSK: Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Suş Koleksiyonu



Resim 6. Çalışmamızdaki PCR pozitif izolatlardan, pozitif kontrollerin ve negatif kontrolün jel görüntüsü

PK: Pozitif kontrol NK: Negatif kontrol

1. İzolat: OXA-51 pozitif, 2. İzolat: OXA-51 ve OXA-23 pozitif, 3. İzolat: OXA-51, OXA-23 ve NDM pozitif, 4. İzolat: OXA-51, NDM pozitif, 5. İzolat: OXA-51 ve OXA-58 pozitif

3.8.1. *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* kompleks İzolatlarının Canlandırılması ve Plazmit DNA Ekstraksiyonu

Acinetobacter calcoaceticus-*Acinetobacter baumannii* kompleks izolatlardan içeren kriyotüpler (Or-Bak, Türkiye) -80°C’li derin dondurucudan çıkartıldı. Kriyotüplerden birkaç adet seramik boncuk Mueller Hinton broth (Becton Dickinson Co, ABD) içeren tüplere konarak bir gece 37°C’lik etüvde bekletildi. Daha sonra %5 KKA (Oxoid, İngiltere), L-EMB agar (Oxoid, İngiltere) besiyerlerine pasajlandı. Aerobik ortamda, normal atmosferde, 37°C’de etüvde 18-24 saat inkübasyon sonrasında taze kültür pasajlarından saf olarak elde edilen bakteri kolonileri plazmit DNA ekstraksiyonu için kullanıldı.

Plazmit DNA ekstraksiyonu NucleoSpin® Plasmid (Macherey-Nagel, Almanya) plazmit DNA pürifikasyon kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Ekstraksiyon, üretici firma tarafından hazırlanan el kitabındaki spin protokol yöntemi izlenerek gerçekleştirildi.

Yöntem aşamaları:

Ön hazırlık: Resuspension Buffer A1'den 1 ml alınarak, liyofilize haldeki RNaz A tüpüne eklendi ve vortekslenerek karışması sağlandı. Elde edilen solüsyon, Buffer A1 şişesine tekrar boşaltıldı ve karıştırıldı. RNazın eklendiği tarih şişe üzerine not edildi. Buffer A1 kullanım sonunda +4°C'de saklandı. Konsantre haldeki 12 ml'lik Wash Buffer A4 içine 48 ml etanol eklendi ve karışması sağlandı.

1) Hücre lizisi: Pellet halindeki bakterilerin önce Buffer A1 ile resüspanasyonu gerçekleştirildi. Sonra SDS (sodium dodesil sülfat)/alkaline lizisle (Buffer A2) plazmit DNA'sının bakteri hücresinden serbestleşmesi sağlandı. Meydana gelen lizatın nötralizasyonunu ve böylece plazmit DNA'sının silika membrana daha kolay yapışmasını sağlamak amacıyla Buffer A3 (Neutralization buffer) kullanıldı.

Hücre lizisi sırasıyla şöyle yapıldı:

- a) 250 µl Buffer A1 (resuspension buffer), kapaklı 2 ml'lik eppendorf tüpüne eklendi. Koyun kanlı agardaki saf kolonilerden steril öze aracılığıyla 5-10 adet alınarak Buffer A1 içine eklendi. Tamamen çözünme gerçekleşene kadar vortekslendi.
- b) 250 µl mavi renkli Buffer A2 (lysis buffer) eklendi. Tüp tam karışma olsun diye 8-10 kez alt üst edildi (Genomik DNA'nın dağılmasını engellemek amacıyla vorteksleme işleminden kaçınıldı).
- c) Oda ısısında 5 dakika bekletildi.
- d) 300 µl Buffer A3 (Neutralization buffer) eklendi. Mavi renk tamamen kaybolana kadar tüp alt üst edilerek karıştırıldı.

2) Lizatın berraklaştırılması: Elde edilen lizatın berraklığının sağlanması amacıyla tüp oda ısısında 11.000 x g'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatantın berrak görünmemesi durumunda bu basamak bir kez daha tekrarlandı.

3) DNA'nın Bağlanması

- a) Kolon, kit içinden çıkan 2 ml'lik toplama tüpü içine yerleştirildi.
- b) İkinci basamak sonrasında elde edilen süpernatanttan otomatik pipet aracılığıyla maksimum 750 µl olacak şekilde alınıp kolon üzerine eklendi.

- c) 11.000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- d) Santrifüj sonrası kolon filtresinden toplama tüpü içine geçen sıvı atıldı.
- e) Kolon tekrar boş toplama tüpü içine yerleştirildi.

4) Silika membranın yıkanması

- a) Daha önceden 50°C'ye ısıtılmış olan Buffer AW (wash buffer-1)'dan 500 µl eklendi.
- b) 11.000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- c) Santrifüj sonrası kolon filtresinden toplama tüpü içine geçen sıvı atıldı.
- d) Kolon tekrar boş toplama tüpü içine yerleştirildi.
- e) 600 µl Buffer A4 eklendi (wash buffer-2).
- f) 11.000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- g) Santrifüj sonrası kolon filtresinden toplama tüpü içine geçen sıvı atıldı.
- h) Kolon tekrar boş toplama tüpü içine yerleştirildi.

5) Silika membranın kurutulması: Silika membran üzerinde kalan etanolün tamamen uzaklaştırılması için tüp 11.000 x g'de 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası toplama tüpü atıldı.

6) DNA'nın elüsyonu

- a) Kolon daha önceden numaralandırılmış 2 ml'lik temiz eppendorf tüpü içine yerleştirildi.
- b) 50 µl Buffer AE (elution buffer) eklendi.
- c) Oda ısısında 1 dakika inkübe edildi.
- d) 11.000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- e) Santrifüj sonrası kolon atılarak, eppendorf tüp içinde elde edilmiş olan saf plazmit DNA'sı PCR reaksiyonunda kullanılmak üzere +4°C'de bekletildi.

3.8.2. DNA Ekstraksiyonunun Kontrolü

Plazmit DNA ekstraksiyonunun kontrolü agaroz jel elektroforeziyle yapıldı.

- 1) 2 g agaroz, 100 ml 1X TBE (tris-borik asit-EDTA) tamponu içinde eritilerek %2'lik agaroz jel hazırlandı.
- 2) Hazırlanan jel soğuduktan sonra içine 0,2 µg/ml olacak şekilde 20 µl etidyum bromid eklendi.
- 3) Jel, tarakları hazırlanmış kalıbın içine döküldü.
- 4) Jel donduktan sonra tarak çıkarılarak, elektroforez tankına yerleştirildi.
- 5) Elektroforez tankı içine 1X TBE tampon konuldu.
- 6) 5 µl jel yükleme boyası [loading dye (New England BioLabs, İngiltere)], 5 µl DNA ekstraktıyla karıştırıldı.
- 7) Elde edilen 10 µl'lik karışım jel üzerindeki kuyucuklara yüklendi.
- 8) Jel 1X TBE tampon içinde 100 volt uygulanarak 40 dakika boyunca yürütüldü.
- 9) Ultraviyole aydınlatıcıda (Vilbert Lourment, Almanya) inceleme yapıldı ve kalın bant oluşumu DNA ekstraksiyonunun doğru yapıldığı şeklinde yorumlandı.

3.8.3. PCR Mikslerinin Hazırlanması

Birbirine yakın büyüklükte olan genleri saptayan primerler aynı mikse konmamaya çalışılarak, üç farklı reaksiyon karışımı hazırlandı. Her bir reaksiyon karışımında üç farklı gen bölgesinin forward ve reverse primerleri yer aldı. Buna göre birinci reaksiyon karışımıyla blaOXA-51, blaSIM, blaGES genleri; ikinci reaksiyon karışımıyla blaNDM, blaOXA-23, blaOXA-24 genleri; üçüncü reaksiyon karışımıyla ise blaVIM, blaIMP, blaOXA-58 gen bölgeleri araştırıldı. PCR reaksiyon karışımları hazırlanırken ve PCR reaksiyon koşulları sağlanırken Poirel ve arkadaşlarının bildirdiği PCR tabanlı teknik esas alındı (177). Optimizasyon çalışmaları sırasında reaksiyon miksleri ve amplifikasyon koşullarında bazı değişiklikler yapılarak çalışma

gerçekleştirildi. Çalışmamızda kullanılan primerlerin oligonükleotit dizileri ve reaksiyon karışımlarının içerikleri Tablo 10-11-12-13’de gösterilmiştir.

Tablo 10. Çalışmada kullanılan primerlerin nükleotit dizileri

Primerler	Sekans (5'→3')	Ürün büyüklüğü (baz çifti) (bp)
OXA-51 F OXA-51 R	TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG	353
OXA-23 F OXA-23 R	GAT CGG ATT GGA GAA CCA GA ATT TCT GAC CGC ATT TCC AT	501
OXA-24 F OXA-24 R	GGT TAG TTG GCC CCC TTA AA AGT TGA GCG AAA AGG GGA TT	246
OXA-58 F OXA-58 R	AAG TAT TGG GGC TTG TGC TG CCC CTC TGC GCT CTA CAT AC	599
NDM F NDM R	GGT TTG GCG ATC TGG TTT TC CGG AAT GGC TCA TCA CGA TC	621
VIM F VIM R	GAT GGT GTT TGG TCG CAT A CGA ATG CGC AGC ACC AG	390
IMP F IMP R	GGA ATA GAG TGG CTT AAT TCT C GGT TTA ATA AAA CAA CCA CC	232
SIM F SIM R	TAC AAG GGA TTC GGC ATC G TAA TGG CCT GTT CCC ATG TG	570
GES F GES R	ATG CGC TTC ATT CAC GCA C CTA TTT GTC CGT GCT CAG GA	863

Tablo 11. Reaksiyon karışımı 1

	Eklene Hacim	Son Konsantrasyon
Distile Su	6,75 µl	--
10X PCR Buffer (Mg-free) (New England BioLabs, İngiltere)	5 µl	1X
25 mM MgCl ₂ (New England BioLabs, İngiltere)	3 µl	1,5 mM
dNTP Stok Solüsyon (New England BioLabs, İngiltere)	1 µl	200 µM
Primer OXA-51-F (Alpha DNA, ABD)	5 µl	1 µM
Primer OXA-51-R (Alpha DNA, ABD)	5 µl	1 µM
Primer GES-F (Alpha DNA, ABD)	5 µl	1 µM
Primer GES-R (Alpha DNA, ABD)	5 µl	1 µM
Primer SIM-F (Alpha DNA, ABD)	5 µl	1 µM
Primer SIM-R (Alpha DNA, ABD)	5 µl	1 µM
Taq Polimeraz (New England BioLabs, İngiltere)	0,25 µl	1,25 U
Ekstraksiyon Ürünü DNA	4 µl	--
Toplam Hacim	50 µl	--

Tablo 12. Reaksiyon karışımı 2

	Eklene n Hacim	Son Konsantrasyon
Distile Su	6,75 µl	--
10X PCR Buffer (Mg-free)	5 µl	1X
25 mM MgCl ₂	3 µl	1,5 mM
dNTP Stok Solüsyon	1 µl	200 µM
Primer OXA-23-F	5 µl	1 µM
Primer OXA-23-R	5 µl	1 µM
Primer OXA-24-F	5 µl	1 µM
Primer OXA-24-R	5 µl	1 µM
Primer NDM-F	5 µl	1 µM
Primer NDM-R	5 µl	1 µM
Taq Polimeraz	0,25 µl	1,25 U
Ekstraksiyon Ü rünü DNA	4 µl	--
Toplam Hacim	50 µl	--

Tablo 13. Reaksiyon karışımı 3

	Eklene n Hacim	Son Konsantrasyon
Distile Su	6,75 µl	--
10X PCR Buffer (Mg-free)	5 µl	1X
25 mM MgCl ₂	3 µl	1,5 mM
dNTP Stok Solüsyon	1 µl	200 µM
Primer OXA-58-F	5 µl	1 µM
Primer OXA-58-R	5 µl	1 µM
Primer VIM-F	5 µl	1 µM
Primer VIM-R	5 µl	1 µM
Primer IMP-F	5 µl	1 µM
Primer IMP-R	5 µl	1 µM
Taq Polimeraz	0,25 µl	1,25 U
Ekstraksiyon Ü rünü DNA	4 µl	--
Toplam Hacim	50 µl	--

3.8.4. PCR Koşullarının Sağlanması ve PCR'ın Gerçekleştirilmesi

Hazırlanan, 4 µl ekstrakte edilmiş DNA örneği içeren her bir reaksiyon karışımıyla aşağıda belirtilen döngü koşullarında PCR gerçekleştirildi.

95°C→5 dakika	ön denatürasyon		
94°C→1 dakika	denatürasyon	}	35 döngü
53°C→1 dakika	bağlanma		
72°C→1 dakika	uzama		
72°C→10 dakika	son uzama		

Her bir PCR çalışmasına 10 ACB izolatu, her miks için pozitif kontrollerden biri ve bir negatif kontrol (reaksiyon mikslere distile su eklenerek elde edildi) alındı.

3.8.5. PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi

PCR ürünlerinin görüntülenmesi amacıyla agaroz jel elektroforezi yapıldı.

- 1) 2 g agaroz, 100 ml 1X TBE (tris-borik asit-EDTA) tampon içinde eritilerek %2'lik agaroz jel hazırlandı.
- 2) Hazırlanan jel soğuduktan sonra içine 0,2 µg/ml olacak şekilde 20 µl etidyum bromid eklendi.
- 3) Jel, tarakları hazırlanmış kalıbın içine döküldü.
- 4) Jel donduktan sonra tarak çıkarılarak, elektroforez tankına yerleştirildi.
- 5) Elektroforez tankı içine 1X TBE tamponu konuldu.
- 6) 5 µl jel yükleme boyası (loading dye), 15 µl PCR ürünü ile karıştırıldı.
- 7) Agar üzerindeki ikinci kuyucuktan başlayarak, sırasıyla her bir kuyucuğa 20 µl'lik amplifikasyon miksi eklendi. Her bir izolat için üç farklı reaksiyon karışımı (bir=OXA-51, GES, SIM, iki=OXA-23, OXA-24, NDM, ÜÇ=OXA-58, VIM, IMP) ile amplifikasyon yapıldığından, her bir izolat için üç kuyucuğa yükleme yapıldı.

- 8) Bant büyüklüklerinin doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi için ilk kuyucuğa marker [100 bç DNA ladder (New England BioLabs, İngiltere)] yüklendi.
- 9) Örnekler yüklendikten sonra jel 1X TBE tamponu içinde 100 volt ile 80 dakika boyunca yürütüldü.
- 10) Ultraviyole aydınlatıcıda inceleme yapıldı ve bant oluşumları değerlendirildi.
- 11) Elde edilen bantların fotoğrafının çekilmesinde VersaDoc Imaging System Model 1000 (Bio-Rad, İngiltere) görüntüleme cihazı kullanıldı.
- 12) Her bir elektroforez işleminde üç pozitif kontrol (GES, OXA-51, SIM'den biri; NDM, OXA-23, OXA-24'ten biri; OXA-58, IMP, VIM'den biri), bir negatif kontrol ve beş izolat (bir izolat için üç farklı kuyucuğa yükleme) değerlendirmeye alındı.

3.9. İstatistiksel Değerlendirme

PCR sonuçları altın standart kabul edilerek fenotipik MBL saptama testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif öngörü değeri ve negatif öngörü değeri hesaplandı (178).

4. BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen, EUCAST kriterlerine göre imipenem ve meropenem dirençli 142 ACB izolatının 69 (%48,6)'u trakeal aspirat, 29 (%20,4)'u sonda idrarı, 16 (%11,3)'sı periferik venden alınan kan, 12 (%8,5)'si kateterden alınan kan, 11 (%7,7)'i yara ve beşi (%3,5) beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinden izole edildi. Çalışmamıza dahil edilen izolatların izole edildikleri klinik örnek çeşidine göre dağılımı Tablo 14'te gösterilmiştir.

Tablo 14. ACB izolatlarının klinik materyallere göre dağılımı

Klinik Materyal	Trakeal Aspirat	Sonda İdrarı	Kan (Periferik ven)	Kateter kanı	Yara	BOS	Toplam
Sayı (n)	69	29	16	12	11	5	142
Oran (%)	48,6	20,4	11,3	8,5	7,7	3,5	100

BOS: Beyin omurilik sıvısı



Şekil 1. ACB izolatlarının klinik materyallere göre dağılımı (%)

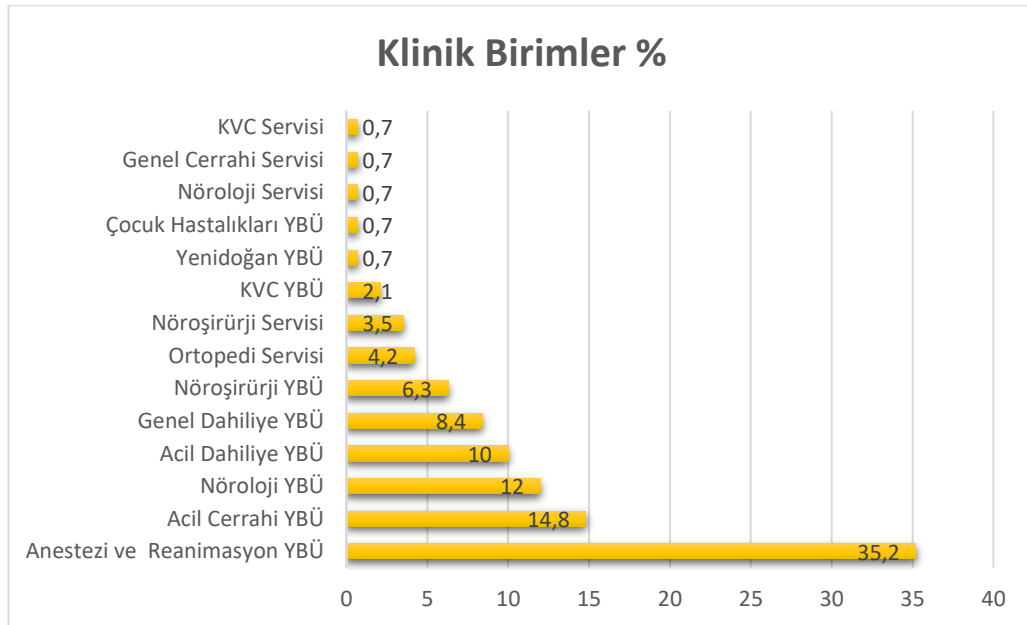
Çalışmamıza dahil edilen izolatların gönderildikleri klinik birimlere göre dağılımları Tablo 15'te gösterilmiştir. Buna göre 142 izolattan 50 (%35,2)'si en çok

oranla Anestezi ve Reanimasyon YBÜ'den gönderilen örneklerden izole edilmiştir. Toplamda 128 (%90,2) izolat yoğun bakım ünitelerinden, 14 (%9,8) izolat servislerden gönderilen örneklerden elde edilmiştir.

Tablo 15. ACB izolatlarının kliniklere göre dağılımı

Klinik	Sayı (n)	Oran (%)
Anestezi ve Reanimasyon YBÜ	50	% 35,2
Acil Cerrahi YBÜ	21	% 14,8
Nöroloji YBÜ	17	% 12
Acil Dahiliye YBÜ	14	% 10
Genel Dahiliye YBÜ	12	% 8,4
Nöroşirürji YBÜ	9	% 6,3
Ortopedi Servisi	6	% 4,2
Nöroşirürji Servisi	5	% 3,5
KVC YBÜ	3	% 2,1
Genel Cerrahi Servisi	1	% 0,7
KVC Servisi	1	% 0,7
Yenidoğan YBÜ	1	% 0,7
Çocuk Hastalıkları YBÜ	1	% 0,7
Nöroloji Servisi	1	% 0,7
Toplam	142	% 100

YBÜ: Yoğun bakım ünitesi KVC: Kardiyovasküler cerrahi



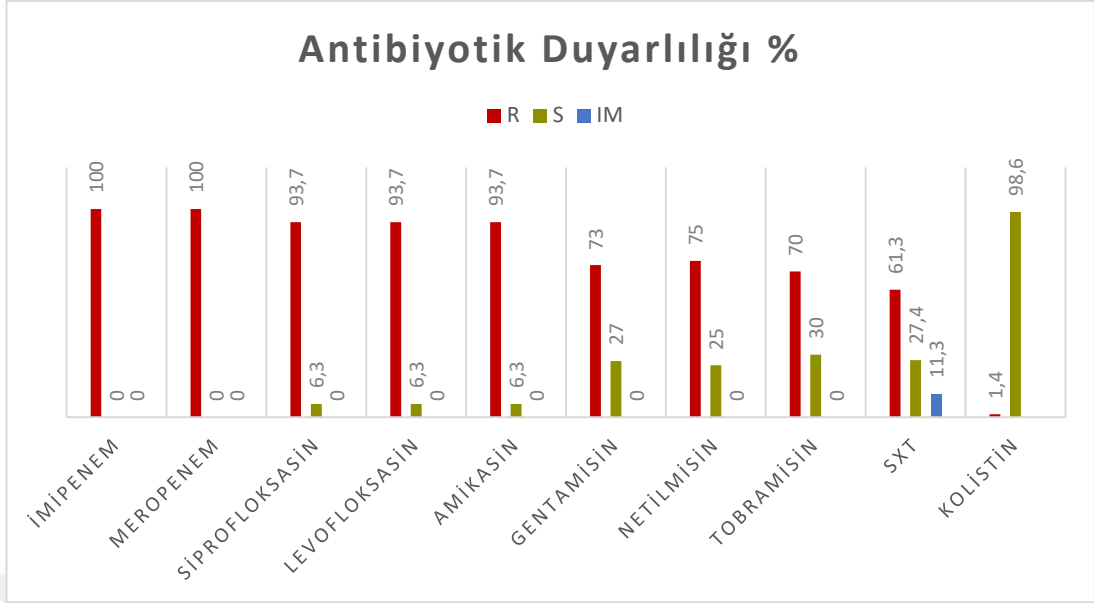
Şekil 2. ACB izolatlarının kliniklere göre dağılımı (%)

Çalıştığımız 142 izolatın, EUCAST klinik sınır değerler baz alınarak yapılan antimikrobiyal duyarlılık sonuçları Tablo 16’da gösterilmiştir. Çalışmamıza dahil edilen izolatlar, imipenem ve meropenem için dirençli veya orta duyarlılık kriterini sağlayanlardan oluşturulmuştur ve tüm izolatlar imipenem ve meropenem antibiyotiklerine %100 dirençli bulunmuştur. Siprofloksasin ve levofloksasin antibiyotiklerinin ikisine de 142 izolatın 133 (%93,7)’ü dirençli, dokuzu (%6,3) duyarlı bulunmuştur. Aminoglikozitlerden en fazla direnç amikasinde görülmüştür. Amikasin için 142 izolatın 133 (%93,7)’ü dirençli, dokuzu (%6,3) duyarlı bulunmuştur. Netilmisin, gentamisin ve tobramisin için dirençlilik sırasıyla 107 (%75), 104 (%73), 100 (%70) izolat şeklinde bulunmuştur. Trimetoprim-sülfametoksazola izolatların 87 (%61,3)’si dirençli, 16 (%11,3)’sı orta duyarlı ve 39 (%27,4)’u duyarlı bulunmuştur. Kolistin direnci iki (%1,4) izolatta saptanmıştır.

Tablo 16. ACB izolatlarının Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle saptanan antimikrobiyal duyarlılık paterni [n (%)]

Antimikrobiyal İlaç	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
İmipenem			142 %100
Meropenem			142 %100
Siprofloksasin	9 %6,3		133 %93,7
Levofloksasin	9 %6,3		133 %93,7
Amikasin	9 %6,3		133 %93,7
Gentamisin	38 %27		104 %73
Netilmisin	35 %25		107 %75
Tobramisin	42 %30		100 %70
SXT	39 %27,4	16 %11,3	87 %61,3

SXT: Trimetoprim-sülfametoksazol



Şekil 3. ACB izolatlarının Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle saptanan antimikrobiyal duyarlılık paterni (%)

Tablo 17. ACB izolatlarının kolistin için gradient strip test sonuçları [n (%)]

Antimikrobiyal İlaç	Duyarlı	Dirençli
Kolistin	140 %98,6	2 %1,4

Çalışmamıza dahil edilen 142 izolatın 14 (%9,9)'ü imipenem-EDTA kombine disk testi, 35 (%24,7)'i meropenem-EDTA kombine disk testiyle pozitif sonuç verdi. İmipenem-EDTA, meropenem-EDTA kombine disk testlerinin ikisiyle birlikte pozitif sonuç veren izolat sayısı ise 13 (%9,1)'tü. Kombine disk testlerinin sonuçları Tablo 18'de gösterilmiştir.

Tablo 18. ACB izolatlarının imipenem-EDTA, meropenem-EDTA kombine disk testi sonuçları [n (%)]

Kombine Disk Testi	Pozitif	Negatif	Toplam
İmipenem-EDTA	14 %9,9	128 %90,1	142 %100
Meropenem-EDTA	35 %24,7	107 %75,3	142 %100
İmipenem-EDTA ve Meropenem-EDTA ikisi beraber +	13 %9,1	129 %90,9	142 %100

Çalışmamıza dahil edilen 142 izolattan 137 (%96,5)'sinde OXA-51 pozitif saptandı. OXA-51 saptanmayan beş izolattan üçünde (%2,1) başka hiçbir gen bölgesi de pozitif saptanmazken, diğer ikisinde (%1,4) yalnızca NDM geni pozitif saptandı. OXA-51 ve OXA-58 birlikte pozitifliği bir (%0,7) izolatta saptandı. OXA-51 ve NDM birlikte iki (%1,4) izolatta pozitifliği. OXA-51, OXA-23 ve NDM birlikte yedi (%5) izolatta pozitifliği. Çalışmaya dahil ettiğimiz 142 izolattan 127 (%89,4)'sinde OXA-51 ve OXA-23 birlikte pozitifliği mevcuttu. Çalışmamızda saptadığımız gen bölgelerinin dağılımı Tablo 19'da gösterilmiştir.

Tablo 19. ACB izolatlarında görülen karbapenemaz genlerinin dağılımı [n (%)]

	Hiç gen bölgesi saptanmayan	OXA-51 ve OXA-23 birlikte	OXA-51 ve OXA-58 birlikte	OXA-51 ve NDM birlikte	OXA-51, OXA-23 ve NDM birlikte	Sadece NDM
Pozitif	3 %2,1	127 %89,4	1 %0,7	2 %1,4	7 %5	2 %1,4
Negatif	139 %97,9	15 %10,6	141 %99,3	140 %98,6	135 %95	140 %98,6
Toplam	142 %100	142 %100	142 %100	142 %100	142 %100	142 %100

Çalışmamıza dahil edilen 142 izolattan hiçbir gen bölgesi saptanmayan üç (%2,1) izolat, Anestezi ve Reanimasyon YBÜ, Genel Dahiliye YBÜ ve Nöroşirürji Servis'lerinden gönderilen birer adet örneğe aitti. Toplamda 127 (%89,5) örnekte saptanan OXA-51 ve OXA-23 birlikteliği, toplamda en fazla izolattan çalışıldığı bölüm olan Anestezi ve Reanimasyon YBÜ'den gönderilen 45 (%31,7) örnekte pozitifliği. Yine OXA-51 ve OXA-58 birlikte pozitifliği olan bir (%0,7) örnek Anestezi ve Reanimasyon YBÜ'den gönderilmişti. OXA-51 ve NDM birlikte pozitif olan iki (%1,4) örnek Acil Cerrahi YBÜ ve Ortopedi Servis'lerinden gönderilmişti. OXA-51, OXA-23 ve NDM birlikte pozitif olan yedi (%4,9) örneğin üçü (%2,1) Anestezi ve Reanimasyon YBÜ'den gönderilmişti. Bu yedi (%4,9) örnekten diğer dördü, Acil Cerrahi YBÜ'den bir (%0,7), Nöroloji YBÜ'den bir (%0,7), KVC YBÜ'den bir (%0,7), Genel Cerrahi Servisi'nden bir (%0,7) örnek olmak üzere gönderilmişti. Sadece NDM pozitifliği Çocuk Hastalıkları YBÜ ve Nöroloji Servis'lerinden gönderilen birer (%0,7) örnekte pozitifliği. Örneklerin gönderildiği klinikler ve gen bölgesi pozitiflikleri Tablo 20'de gösterilmiştir.

Tablo 20. Tespit edilen genlerin kliniklere göre dağılımı [n (%)]

Klinik	Hiç gen bölgesi saptanmayan	OXA-51 ve OXA-23 birlikte +	OXA-51 ve OXA-58 birlikte +	OXA-51 ve NDM birlikte +	OXA-51, OXA-23 ve NDM birlikte +	Sadece NDM +	Toplam
Anestezi ve Reanimasyon YBÜ	1 %0,7	45 %31,7	1 %0,7		3 %2,1		50 %35,2
Acil Cerrahi YBÜ		19 %13,4		1 %0,7	1 %0,7		21 %14,8
Acil Dahiliye YBÜ		14 %10					14 %10
Genel Dahiliye YBÜ	1 %0,7	11 %7,7					12 %8,4
Nöroloji YBÜ		16 %11,3			1 %0,7		17 %12
Nöroşirürji YBÜ		9 %6,3					9 %6,3
Ortopedi Servisi		5 %3,5		1 %0,7			6 %4,2
Nöroşirürji Servisi	1 %0,7	4 %2,8					5 %3,5
KVC YBÜ		2 %1,4			1 %0,7		3 %2,1
Genel Cerrahi Servisi					1 %0,7		1 %0,7
KVC Servisi		1 %0,7					1 %0,7
Yenidoğan YBÜ		1 %0,7					1 %0,7
Çocuk Hastahkları YBÜ						1 %0,7	1 %0,7
Nöroloji Servisi						1 %0,7	1 %0,7
Toplam	3 %2,1	127 %89,5	1 %0,7	2 %1,4	7 %4,9	2 %1,4	142 %100

Çalışmamızda OXA-51 ve OXA-23 birlikte pozitifliği gösteren izolatların çoğunluğu trakeal aspirat örneklerinden izole edildi. OXA-51 ve OXA-23 birlikte pozitifliği, gönderilen trakeal aspirat örneklerinin 64 (%45,1)'ünden izole edildi.

OXA-51 ve OXA-23 birlikte pozitifliği saptanan 25 (%17,6) izolat sonda idrarından, 14 (%10) izolat periferik ven kanından, 10 (%7) izolat kateter kanından, dokuz (%6,3) izolat yaradan, beş (%3,5) izolat BOS'tan izole edildi. OXA-51, OXA-23 ve NDM birlikte pozitifliği olan üç (%2,1) izolat trakeal aspirat örneğinden, iki (%1,4) izolat kateter kanından, birer (%0,7) izolatsa periferik ven kanı ve sonda idrarı örneklerinden izole edildi. OXA-51 ve NDM'nin birlikte pozitif olduğu iki izolattan biri (%0,7) sonda idrarı, biri (%0,7) yara örneğinden izole edildi. OXA-51 ve OXA-58 birlikte pozitifliği olan bir (%0,7) izolat trakeal aspirat örneğinden izole edildi. Sadece NDM'nin pozitif saptandığı iki (%1,4) izolattan biri (%0,7) sonda idrarından, biri (%0,7) ise periferik ven kanından izole edildi. Tespit ettiğimiz gen bölgelerinin klinik örnek türlerine göre dağılımı Tablo 21'de gösterilmiştir.

Tablo 21. Tespit edilen genlerin klinik örnek türlerine göre dağılımı [n (%)]

Klinik Örnek Türü	OXA-51 ve OXA-23 birlikte +	OXA-51, OXA-23 ve NDM birlikte +	OXA-51 ve NDM birlikte +	OXA-51 ve OXA-58 birlikte +	Hiç gen bölgesi saptanmayan	Sadece NDM +	Toplam
Trakeal Aspirat	64 %45,1	3 %2,1		1 %0,7	1 %0,7		69 %48,6
Sonda İdrarı	25 %17,6	1 %0,7	1 %0,7		1 %0,7	1 %0,7	29 %20,4
Kan (Priferik ven)	14 %10	1 %0,7				1 %0,7	16 %11,4
Kateter kanı	10 %7	2 %1,4					12 %8,4
Yara	9 %6,3		1 %0,7		1 %0,7		11 %7,7
BOS	5 %3,5						5 %3,5
Toplam	127 %89,5	7 %4,9	2 %1,4	1 %0,7	3 %2,1	2 %1,4	142 %

BOS: Beyin omurilik sıvısı

Çalışmamıza dahil ettiğimiz 142 izolattan 64 (%45) tanesi 2014 yılı, 55 (%38,8) tanesi 2015 yılı, 23 (%16,2) tanesi ise 2016 yılına ait örneklerden izole edilmiştir. 2016 yılı verileri ilk 8 aylık zaman dilimini kapsamaktadır. Toplamda 127 (%89,5) izolatta tespit edilen OXA-51 ve OXA-23 birlikte pozitifliği 2014 yılında 60 (%42,2), 2015 yılında 49 (%34,6), 2016 yılında 18 (%12,7) izolatta tespit edilmiştir. OXA-51 ve OXA-58 birlikte pozitifliği 2015 yılındaki bir (%0,7) izolatta saptanmıştır. 2014 ve 2016 yıllarında izole edilen birer (%0,7) izolatta sadece NDM pozitifliği bulunmuştur. OXA-51 ve NDM birlikte pozitif bulunan iki (%1,4) izolat 2015 yılında izole edilmiştir. Karbapenemaz genlerinin yıllara göre pozitiflik durumu Tablo 22’de gösterilmiştir.

Tablo 22. Karbapenemaz genlerinin yıllara göre pozitiflik durumu [n (%)]

Dönem	OXA-51 ve OXA-23 birlikte +	OXA-51, OXA-23 ve NDM birlikte +	OXA-51 ve NDM birlikte +	OXA-51 ve OXA-58 birlikte +	Hiç gen bölgesi saptanmayan	Sadece NDM +	Toplam
2014	60 %42,2	2 %1,4			1 %0,7	1 %0,7	64 %45
2015	49 %34,6	3 %2,1	2 %1,4	1 %0,7			55 %38,8
2016	18 %12,7	2 %1,4			2 %1,4	1 %0,7	23 %16,2
Toplam	127 %89,5	7 %4,9	2 %1,4	1 %0,7	3 %2,1	2 %1,4	142 %100

2016 yılı, ilk 8 aylık zaman dilimini kapsar

Metallo-beta-laktamaz (MBL) pozitif ve negatif saptanan izolatların imipenem-EDTA kombine disk testi sonuçları Tablo 23’te gösterilmiştir. Metallo-beta-laktamaz (MBL) pozitif saptanan 11 suşun dokuzunda (%82) imipenem-EDTA ile sinerji saptanırken, iki suşta (%18) sinerji saptanmamıştır. Metallo-beta-laktamaz (MBL) negatif olan 131 suşun beşinde (%4) sinerji testi ile pozitiflik saptanmıştır. İmipenem-EDTA kombine disk testinin MBL varlığını saptamadaki duyarlılığı %81,8 (9/11), özgüllüğü %96,2 (126/131), pozitif öngörü değeri %64,3 (9/14), negatif öngörü değeri %98,4 (126/128) olarak bulunmuştur.

Tablo 23. İmipenem-EDTA kombine disk testi değerlendirmesi

	İmipenem-EDTA +	İmipenem-EDTA -	Toplam
PCR +	9	2	11
PCR -	5	126	131
Toplam	14	128	142

Metallo-beta-laktamaz (MBL) pozitif ve negatif saptanan izolatların meropenem-EDTA kombine disk testi sonuçları Tablo 24'te gösterilmiştir. Metallo-beta-laktamaz (MBL) pozitif saptanan 11 suşun 11'inde de (%100) meropenem-EDTA ile sinerji saptanmıştır. Metallo-beta-laktamaz (MBL), negatif olan 131 suşun 24'ünde (%18,3) sinerji testi ile pozitiflik saptanmıştır. Meropenem-EDTA kombine disk testinin MBL varlığını saptamadaki duyarlılığı %100 (11/11), özgülüğü %81,7 (107/131), pozitif öngörü değeri %31,4 (11/35), negatif öngörü değeri %100 (107/107) olarak bulunmuştur.

Tablo 24. Meropenem-EDTA kombine disk testi değerlendirmesi

	Meropenem-EDTA +	Meropenem-EDTA -	Toplam
PCR +	11	0	11
PCR -	24	107	131
Toplam	35	107	142

Tablo 25, 26, 27'de, MBL pozitif ve negatif saptanan izolatların; imipenem-EDTA ve meropenem-EDTA'nın birlikte pozitifliği, birlikte negatifliği ve herhangi birinin pozitif olduğu kombine disk testi değerlendirmesi gösterilmiştir. PCR pozitif 11 izolatın dokuzunda, PCR negatif 131 izolatın dördünde imipenem-EDTA ve meropenem-EDTA birlikte pozitiflik göstermiştir. PCR pozitif olan 11 izolatın hepsinde, PCR negatif olan 131 izolatın 25'inde imipenem-EDTA veya meropenem-EDTA testinden herhangi biri ile pozitif sinerji saptanmıştır.

Tablo 25. İmipenem-EDTA ve meropenem-EDTA'nın birlikte pozitifliği, birlikte negatifliği ve herhangi birinin pozitif olduğu kombine disk testi değerlendirmesi

	İmipenem-EDTA ve Meropenem-EDTA birlikte +	İmipenem-EDTA ve Meropenem-EDTA birlikte -	İmipenem-EDTA ve Meropenem-EDTA herhangi biri +	Toplam
PCR +	9	0	2	11
PCR -	4	106	21	131
Toplam	13	106	23	142

Tablo 26. Kombine disk testinde imipenem-EDTA ve meropenem-EDTA'nın birlikte pozitifliğinin değerlendirilmesi

	İmipenem-EDTA ve Meropenem-EDTA birlikte +	İmipenem-EDTA ve Meropenem-EDTA birlikte pozitif olmayan	Toplam
PCR +	9	2	11
PCR -	4	127	131
Toplam	13	129	142

Tablo 27. Kombine disk testinde imipenem-EDTA ve meropenem-EDTA'nın birlikte veya herhangi birinin pozitifliğinin değerlendirilmesi

	İmipenem-EDTA ve Meropenem-EDTA birlikte veya herhangi biri +	İmipenem-EDTA ve Meropenem-EDTA -	Toplam
PCR +	11	0	11
PCR -	25	106	131
Toplam	36	106	142

Çalışmamızda kullandığımız kombine disk testinin duyarlılık ve özgüllükleri Tablo 28'te gösterilmiştir. İmipenem-EDTA ve meropenem-EDTA birlikte pozitifliğinin değerlendirildiği kombine disk testinin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla

%81,8 (9/11) ve %96,9 (127/131) bulunmuştur. İmipenem-EDTA ve meropenem-EDTA birlikte veya herhangi birinin pozitifliğinin değerlendirildiği kombine disk testinin duyarlılığı %100 (11/11), özgüllüğü %80,9 (106/131) bulunmuştur.

Tablo 28. Kombine disk testinin duyarlılık ve özgüllükleri

	Duyarlılık	Özgüllük
İmipenem-EDTA	%81,8 (9/9+2)	%96,2 (126/126+5)
Meropenem-EDTA	%100 (11/11+0)	%81,7 (107/107+24)
İmipenem-EDTA ve Meropenem-EDTA birlikte +	%81,8 (9/9+2)	%96,9 (127/127+4)
İmipenem-EDTA ve Meropenem-EDTA birlikte veya herhangi biri +	%100 (11/11+0)	%80,9 (106/106+25)

5. TARTIŞMA

Yoğun bakım imkanlarının artması ve bunun neticesinde artık durumu daha ağır olan hastaların takip edilebiliyor olması, hastaların konak savunmasının bozulması, girişimsel işlemler, yoğun ve uygunsuz antibiyotik kullanımı, dirençli mikroorganizmalarla kolonizasyon gibi nedenler YBÜ'lerde hastane kökenli enfeksiyonların artmasına sebep olmuştur (179). Birçok farklı çalışmaya göre YBÜ'ler hastane enfeksiyonlarının en sık görüldüğü birimlerdir ve *Acinetobacter* enfeksiyonları da en sık YBÜ'lerde görülmektedir (61-63, 163). *Acinetobacter baumannii*, YBÜ'lerde gelişen üriner sistem enfeksiyonları, endokarditler, cerrahi alan enfeksiyonları, menenjitler, sepsis ve VİP gibi birçok enfeksiyonda sıklıkla etken olarak izole edilen oportünistik bir patojendir (180-184).

Bizim çalışmamızda ACB izolatlarının en sık izole edildiği birim %35,2 oranı ile Anestezi ve Reanimasyon YBÜ'dür. Tüm YBÜ'ler hesaplandığında oran %90,2 olmaktadır.

Balcı ve arkadaşları *A. baumannii* izolatlarını en sık solunum sistemi (%43) ve yara (%24) örneklerinden izole etmişlerdir (62). Protic ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada *A. baumannii* izolatları en sık solunum yolu örneklerinden (%45,5) elde edilmiştir. Aynı çalışmada bakteriler daha az sıklıkla, cerrahi alan, kan, kateter kültürü örneklerinden izole edilmiştir (185). Eroğlu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 2006-2011 yıllarına ait 3212 *Acinetobacter* spp. izolatı en sık sırasıyla trakeal aspirat (%23,3), kan (%18,6), balgam (%13,6), idrar (%13,3), yara (%10,6), kateter (%4,6) ve BOS (%4,3) örneklerinden elde edilmiştir (163). Mengeloğlu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, örneklerin %49,4'ünü balgam, %20,8'ini yara örnekleri oluşturmaktadır (186). Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalarla uyumlu olarak, ACB'ler, 69 (%48,6) izolatla en çok trakeal aspirat örneklerinden izole edilmiştir. Sondadan 29 (%20,4), periferik ven kanından 16 (%11,3), kateter kanından 12 (%8,5), yaradan 11 (%7,7) ve BOS'tan beş (%3,5) ACB izolatı elde edilmiştir.

Acinetobacter baumannii, birçok antibiyotiğe hızlıca direnç geliştirebilir. *Acinetobacter baumannii* izolatlarında gözlenen antibiyotik direnç oranları zaman içinde değişmektedir. Bu bakterilerde antibiyotik direnci, antibiyotik kullanma

alışkanlığı ve çevresel faktörlerin de etkisiyle çeşitli hastaneler ve ülkeler arasında farklılık gösterebilmektedir (162).

Nozokomiyal klinik örneklerden izole edilen birçok *A. baumannii* izolatu beta-laktamlar, aminoglikozitler, florokinolonlar, kloramfenikol, tetrasiklinler ve rifampine direnç göstermektedir (187). European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) verilerine göre Avrupa’da florokinolon, aminoglikozit ve karbapenem ilaç gruplarının üçüne birden direnç, bildirilen *Acinetobacter* spp. izolatlarının neredeyse yarısında mevcuttur. Karbapenemler, *Acinetobacter* türlerine karşı en etkili antibiyotikler olarak bilinmekle birlikte karbapenem direnci yaygınlaşmaktadır (188).

Mengeloğlu ve arkadaşları, 2010-2012 yıllarını kapsayan çalışmalarında, piperasilin-tazobaktama %94,8, trimetoprim-sülfametoksazola %76,6, amikasinine %81,8, gentamisine %46,8, tobramisine %41,6, imipeneme %76,6, siprofloksasine %93,5 oranlarında direnç saptamışlardır (186). Balcı ve arkadaşları 2005-2007 yıllarını kapsayan çalışmalarında, üçüncü kuşak sefalosporinlere %95’in üzerinde, tetrasikline %92, piperasilin-tazobaktama %84, siprofloksasine %82, ampisilin-sulbaktama %81, levofloksasine %76, tobramisine %71, meropeneme %63 ve imipeneme %49 oranlarında direnç saptamışlardır (62). Aral ve arkadaşlarının, 2007-2010 yıllarını kapsayan çalışmasında *A. baumannii* suşlarının %100’ü seftriaksona, %92’si seftazidime, %91’i levofloksasine, %85’i gentamisine ve %72’si imipeneme dirençli bulunmuştur (189). Gür ve arkadaşlarının Türkiye’de çok merkezli HİTİT sürveyans çalışmasına göre *A. baumannii* izolatlarında, seftriaksona %95,5, seftazidime %82,6, sefepime %77,5, imipeneme %52,2, sefoperazon-sulbaktama %41,3, piperasilin-tazobaktama %78,7 oranlarında direnç bildirilmektedir. Onüç merkezin katıldığı HİTİT-2 sürveyans çalışmasında ise *A. baumannii*’nin, sefoperazon-sulbaktama %52 ve imipeneme %55,5 oranlarında direnç gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca değişik merkezlere göre direnç oranlarının oldukça farklılık gösterdiği bildirilmiştir (190, 191).

Xia ve arkadaşları, 2006-2010 yıllarını kapsayan çalışmalarında, yıllar içinde sefalosporinler ve karbapenemlere direncin istatistiksel olarak anlamlı artışla %86-99’a kadar ulaştığını bildirmişlerdir (164). Eroğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada

imipenem için 2006'da %27,2 olarak saptanan direnç oranı 2011 yılında %77,2 oranında saptanmıştır. Çalışmada meropenem için direnç oranı, 2006'da %4,5 iken, 2011 yılında %77'ye yükselmiştir (163). Balkhy ve arkadaşları, 2001-2007 yılları arasında çocuk hastalardaki *Acinetobacter* kaynaklı hastane enfeksiyonlarını inceledikleri çalışmalarında, ÇİD *Acinetobacter* izolatlarında imipeneme %61, meropeneme %77 oranlarında direnç bildirmişlerdir (192).

Birçok çalışmada, *A. baumannii* izolatlarında tigesiklin direnç oranları %5-66 arasında bildirilmektedir (20, 165). Kurtoğlu ve arkadaşlarının 2008-2010 yıllarını kapsayan çalışmasında kolistin için %5 oranında dirençten söz edilmektedir (63). Bogiel ve arkadaşları Polonya'da yaptıkları çalışmada, *A. baumannii* suşlarında kolistin direnç oranını %1,5 olarak bildirmişlerdir (171).

Çalışmamıza EUCAST kriterlerine göre imipenem ve meropenem için dirençlilik veya orta duyarlılık şartını sağlayan 142 ACB izolatı dahil edilmiştir ve izolatların tamamı imipenem ve meropeneme dirençli bulunmuştur. Karbapenem dirençli saptanan bu izolatlarda daha sonra, EUCAST'ın duyarlılık çalışılmasını önerdiği diğer antibiyotiklerin duyarlılıklarına bakılmıştır. Florokinolonlardan siprofloksasin ve levofloksasinin her ikisinin de direnç oranı %93,7'dir. Aminoglikozit grubundan en fazla direnç %93,7 oranı ile amikasinde görülmüştür. Diğer aminoglikozitlerden netilmisin, gentamisin ve tobramisine karşı direnç sırasıyla %75, %73 ve %70 oranlarında bulunmuştur. Trimetoprim-sülfametoksazola izolatların %61,3'ü dirençli, %11,3'ü orta duyarlı ve %27,4'ü duyarlı bulunmuştur. Çalışmamıza dahil ettiğimiz tamamı karbapenem dirençli olan izolatların kolistin dışındaki diğer antibiyotiklere direnç oranları yüksek bulunmuştur.

Kolistin direnci 142 izolatın ikisinde (%1,4) saptanmıştır. Kolistin 1949 yılında keşfedilen bir ajandır ancak nefrotoksisite ve nörotoksisite göstermesinden dolayı kısıtlı kullanım alanı bulabilmiştir. Çoklu ilaç dirençli, gram negatif bakterilerin etken olduğu ventilatör ilişkili pnömonide etkin bir ilaç olarak kullanılmaktadır (24). Çoklu ilaç dirençli gram negatif bakterilerde karbapenemlere gittikçe artan direnç, yeni antimikrobiyal ilaçların keşmedilmesine kadar kolistini tekrar gündeme getirmiştir (193). Ancak kolistine de direnç dünyanın her tarafından bildirilmektedir. SENTRY Antimikrobiyal Sürveyans Programı'nın 2006-2009 yıllarını kapsayan verilerine göre

Acinetobacter izolatlarında polimiksin B'ye Amerika Birleşik Devletleri'nde %1,1, Latin Amerika'da %0,9, Avrupa'da %0,4 oranlarında direnç mevcuttur. Doksanlı yıllarda nadir bildirilen direnç, sonraki yıllarda tüm dünyada artmaya başlamıştır (24).

Acinetobacter enfeksiyonlarının tedavisi gittikçe güçleşmektedir. Halihazırda en etkin ilaç olan kolistine direnç gelişiminin artması endişe vericidir. Gelecekte *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yeni antibiyotiklere ihtiyaç duyulacaktır. Antimikrobiyal ajanlar gerektiği durumlarda, uygun doz ve sürelerde kullanılarak, direnç gelişiminin önüne geçilmelidir.

Metallo-beta-laktamazlar, tüm beta-laktamazlar gibi kromozomal kaynaklı ya da transfer edilebilir gen kaynaklı olabilirler (194). Metallo-beta-laktamazlarla ilişkili direnç, karbapenemlerin yanı sıra birçok başka antibiyotiğe karşı direnç gelişimine de sebep olmaları, integronlar üzerinde taşınarak bakteriler arasında hızla yayılabilmeleri nedeniyle giderek önem kazanmaktadır (194). Metallo-beta-laktamaz üreten suşlarda yapılan bir araştırmada aminoglikozit grubu antibiyotik direncine neden olan *aacA4* geni ile MBL kodlayan gen kasetleri yan yana bulunmuştur. Bu bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere ek olarak kanamisin, neomisin, amikasin ve streptomisin gibi aminoglikozit grubu antibiyotiklerin tümüne direnç gelişimi gözlenmektedir (195).

Acinetobacter baumannii suşlarında MBL üretiminin belirlenmesi, hastalara doğru tedavinin uygulanabilmesi ve direnç genlerinin diğer bakteri türlerine aktarılma olasılığının önlenmesi açısından önemlidir (37). *Acinetobacter baumannii* suşlarındaki MBL üretiminin gösterilmesi için duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek olan, uygulaması kolay fenotipik yöntemlere ihtiyaç vardır. İnhibisyon tabanlı sinerji testlerinden kombine disk testi, çift disk sinerji testi ve Modifiye Hodge testinin, özgüllük ve duyarlılıkları bu amaçla sürekli araştırılmakta ve sonuçlar PCR sonuçlarıyla karşılaştırılmaktadır. Bu araştırmaların bir kısmında olumlu sonuçlar alınırken, bazılarında ise yalancı pozitifliğin yüksek olduğu gösterilmiştir (155, 175, 196).

Metallo-beta-laktamaz üretimini saptamak için inhibitör tabanlı birçok test geliştirilmiştir. Bu testler, EDTA (175, 197), 2-merkaptopropionik asit (MPA), sodium merkptoasetik asit, dipikolinik asit (198, 199) gibi MBL inhibitörleriyle karbapenem (imipenem ve/veya meropenem) ve/veya oksimino-sefalosporinlerin (seftazidim) sinerjisini saptamaya yönelik testlerdir.

Young ve arkadaşları 0,5 M EDTA solüsyonundan 750 ve 1000 µg ekleyerek imipenem diskiyle yaptıkları kombine disk difüzyon testinde, 750 µg eklenen diskin, MBL üreten suşları belirlemede daha duyarlı olduğunu, *Pseudomonas* spp. suşlarında özgüllüğün mükemmel, *Acinetobacter* spp. suşlarında ise özgüllüğün iyi olduğunu; *Acinetobacter* spp.'de MBL pozitif olan 23 izolatın birinde yanlış negatiflik, MBL negatif olan 11 izolatın birinde de yanlış pozitiflik olduğunu bildirmişlerdir (175). Pitout ve arkadaşları MBL üreten *P. aeruginosa* izolatlarını tespit etmek için bir EDTA disk tarama testi geliştirmişlerdir. İmipenem ve meropenem diskleri içeren testin MBL Etest (imipenem/EDTA) ile kıyaslanabilir olduğu bildirilmiştir. Mevcut çalışmada imipenem-EDTA ile yapılan kombine disk testinde duyarlılık %96, özgüllük %91, meropenem-EDTA ile yapılan kombine disk testinde duyarlılık %100, özgüllük %97 ve MBL Etestte ise duyarlılık %96, özgüllük %91 bulunmuştur (176). Walsh ve arkadaşları, gram negatif bakterilerdeki, imipenem/imipenem-EDTA, imipenem/imipenem-MPA ve seftazidim/seftazidim-EDTA Etest ile yaptıkları çalışmada substrat olarak imipenemin seftazidimden daha duyarlı olduğunu saptamışlardır (%100 ve %54) (200). Aynı çalışmada imipenem-EDTA ve imipenem-MPA kıyaslandığında, imipenem-EDTA'nın %97 duyarlılık, imipenem-MPA'nın %52 duyarlılık gösterdiği vurgulanmıştır. Çalışmada incelenen 3 *Acinetobacter* izolatının üçü de imipenem-EDTA ve imipenem-MPA ile %100 pozitif sonuç vermiştir. İkonomidis ve arkadaşları, 87 *A. baumannii* suşunu test ettikleri bir çalışmada iki suşun VIM-1 taşıdığını ancak MBL Etest, imipenem/imipenem-EDTA kombine disk testi, imipenem/EDTA çift disk sinerji testi ile negatif sonuç verdiğini bildirmişlerdir (201).

Kore'de yapılan 2004 yılına ait bir çalışmada toplam 199 IMP-1 ve VIM-2 pozitif *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp. ve *Enterobacteriaceae* izolatı değerlendirmeye alınmıştır (202). MBL Etest, IMP-1 pozitif 57 suşun tamamını, VIM-2 pozitif 142 suşun ise 140'nı %98,6 duyarlılıkla tespit edebilmiştir. Testin 199 suşun tamamında MBL varlığını saptamadaki duyarlılığı ise %99 bulunmuştur. Testle iki izolat yanlış negatif sonuç vermiştir. Toplamda 73 MBL negatif olduğu bilinen izolatın iki tanesinde MBL Etest ile yanlış pozitif sonuç alınmıştır (%97,3 özgüllük). *Acinetobacter* türleri tek başına değerlendirildiğinde MBL Etestin IMP-1 pozitif suşlardaki duyarlılığı %100, VIM-2 pozitif suşlardaki duyarlılığı ise %95,2 bulunmuştur. Testin MBL geni taşımadığı bilinen *Acinetobacter* türlerindeki

özgüllüğü ise %97,7 bulunmuştur. Rossolini ve arkadaşlarının İtalya’da yaptıkları bir çalışmada, 21 imipenem dirençli *A. baumannii* izolatında referans yöntemlerle MBL pozitifliği saptanamazken Etest (imipenem/EDTA) ile dört izolatta yanlış pozitiflik saptanmıştır (203). İran’da yapılan bir çalışmada 96 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatının 43 tanesinde (%44,8) MBL Etest ile pozitif sonuç alınmıştır; pozitif sonuç alınan bu suşlardan %86’sında ise çalışılan VIM ve IMP genlerinden biri pozitif bulunmuştur (204). Bu çalışmadaki fenotipik ve genotipik sonuçların uyumsuzluğu, var olabilecek başka MBL genlerinin var olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Aksoy ve arkadaşlarının 52 *A. baumannii* izolatını değerlendirdikleri bir çalışmada MBL genlerinden IMP, VIM, SIM, SPM’ye PCR ile bakılmış ve tüm izolatlarda negatif bulunmuştur. Bu izolatlarda, imipenem-EDTA kombine disk testi, imipenem-EDTA çift disk sinerji testi, MBL Etest (imipenem/EDTA) yöntemleriyle fenotipik olarak MBL varlığı araştırılmıştır. Çalışmaya aldıkları 52 izolatın 51’inde (%98) kombine disk testiyle, 11’inde (%21,1) çift disk sinerji testiyle, MBL Etest baktıkları 28 suşun 24’ünde (%85,7) pozitif sonuç almışlardır. PCR ve fenotipik testler arasındaki bu uyumsuzluğun yorumu, EDTA’nın membran permeabilize edici özelliğinden kaynaklanabileceği şeklinde yapılmıştır (205). Aktaş ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada, imipenem ve/veya meropenem duyarlı olmayan, IMP ve VIM saptanmayan 11 *A. baumannii* ve 28 *P. aeruginosa* izolatında imipenem-EDTA kombine disk testi ve Etestle tüm suşlar pozitif sonuç verirken, imipenem-EDTA çift disk sinerji testiyle *A. baumannii* %63,6, *P. aeruginosa* %78,5 pozitif sonuç vermiştir (155). Çalışmalarındaki genotipik ve fenotipik sonuçlar arasındaki uyumsuzluğun sebebinin, suşların EDTA’ya duyarlı olmaları ya da aydınlatılmayan başka bir mekanizmaya bağlı olabileceği söylenmiştir. Yong ve arkadaşları *Acinetobacter* spp. ve *Pseudomonas* spp. izolatlarıyla yaptıkları çalışmada inhibitör olarak dipikolinik asiti (DPA) kullandıklarında duyarlılığın ve özgüllüğün sırasıyla %97,7 ve %100 olduğunu; EDTA kullanıldığında özgüllüğün oldukça düştüğünü bildirmişlerdir (206).

Çalışmamıza dahil edilen 142 ACB izolatından, PCR yöntemiyle MBL genlerinden yalnızca NDM geni 11 izolatta (%7,7) pozitif saptanmıştır. Bu 142 izolatın 14 (%9,9)’ü imipenem-EDTA kombine disk testi, 35 (%24,7)’i meropenem-EDTA kombine disk testiyle pozitif sonuç vermiştir. İmipenem-EDTA, meropenem-EDTA kombine disk testlerinin ikisiyle birlikte pozitif sonuç veren izolat sayısı ise 13

(%9,1)'tür. NDM pozitifliği saptadığımız 11 izolat için değerlendirme yaptığımızda, imipenem-EDTA kombine disk testiyle, 11 pozitif suşun dokuzunda (%82) sinerji saptanmıştır. NDM negatif saptanan 131 suşun beşinde (%4) imipenem-EDTA sinerji testi ile pozitiflik saptanmıştır. İmipenem-EDTA kombine disk testinin MBL varlığını saptamadaki duyarlılığı %81,8 (9/11), özgüllüğü %96,2 (126/131), pozitif öngörü değeri %64,3 (9/14), negatif öngörü değeri %98,4 (126/128) olarak bulunmuştur.

NDM pozitif saptanan 11 suşun 11'inde de (%100) meropenem-EDTA ile sinerji saptanmıştır. NDM saptanmayan 131 suşun 24'ünde (%18,3) sinerji testi ile pozitiflik saptanmıştır. Meropenem-EDTA kombine disk testinin MBL varlığını saptamadaki duyarlılığı %100 (11/11), özgüllüğü %81,7 (107/131), pozitif öngörü değeri %31,4 (11/35), negatif öngörü değeri %100 (107/107) olarak bulunmuştur. Metallo-beta-laktamazları saptamada meropenem-EDTA kombine disk testinin duyarlılığı imipenem-EDTA kombine disk testinden daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla %100 ve %81,8). İmipenem-EDTA kombine disk testi ise meropenem-EDTA kombine disk testine göre MBL üretmeyen suşları saptamada %96,2 özgüllikle daha iyi bulunmuştur. Pitout ve arkadaşları MBL üreten *P. aeruginosa* izolatlarında meropenem-EDTA kombine disk testini imipenem-EDTA kombine disk testine göre hem daha duyarlı ve hem de daha özgül bulmuşlardır (176).

Çalışmamızda imipenem-EDTA, meropenem-EDTA kombine disk testinin birlikte pozitifliği değerlendirildiğinde; duyarlılık ve özgülük imipenem-EDTA kombine disk testinin pozitifliği ile benzer bulunmuştur. İmipenem-EDTA ve meropenem-EDTA kombine disk testinin herhangi birinin pozitifliğini esas alıp değerlendirme yaptığımızda ise duyarlılık ve özgülük sırasıyla %100 ve %80,9 bulunmuştur. Bu sonuçlar ise meropenem-EDTA kombine disk testinin duyarlılık ve özgüllüğüne yakın bulunmuştur. Meropenem-EDTA kombine disk testi MBL saptamada %100 duyarlılıkla tek başına kullanılabilir gibi durmaktadır. Meropenem-EDTA kombine disk testinin MBL geni saptadığımız suşlarda pozitif olması, PCR ile saptayamadığımız başka gen bölgelerinin varlığı sebebiyle olabilir.

Metallo-beta-laktamazları saptamada kullanılan kombine disk testi, çift disk sinerji testi, MBL Etest gibi inhibitör tabanlı fenotipik testler birçok çalışmada farklı duyarlılık ve özgülükte sonuçlar vermiştir. PCR testleri ile bu fenotipik MBL saptama

testleri arasındaki uyumsuzluğun farklı sebeplerden kaynaklanabileceği söylenmektedir. Etilen diamino tetra asetik asidin (EDTA) membran permeabilize edici etkisiyle, bakterinin antibiyotiklere duyarlılık göstermesine sebep olabileceği bildirilmiştir (207, 208). Etilen diamino tetra asetik aside (EDTA) duyarlı suşların varlığının, kombine disk testindeki EDTA konsantrasyonunun ve disklere eklenen miktarın yanlış pozitifliğe neden olabileceği de bildirilmiştir (155, 209).

Karbapenem direnç genlerinin tespiti için altın standart yöntem PCR'dır, ancak maliyetinin yüksek olması, deneyimli personele ihtiyaç gerektirmesi gibi dezavantajları nedeniyle fenotipik yöntemlere ihtiyaç doğmuştur. Uygulaması kolay ve ucuz olan fenotipik inhibitör tabanlı MBL saptama testleri *Acinetobacter* türlerinde kullanılmaktadır. Birbirlerine üstünlüğü kesin olarak belirlenememiş bu testlerin geliştirilmeye ihtiyacı vardır. Rutinde MBL varlığını araştırmak için kullanılabilirler fakat dezavantajları sebebiyle bu testlerle elde edilen sonuçların moleküler yöntemlerle doğrulanması gerekmektedir.

Metallo-beta-laktamaz pozitif suşların, karbapenem dışında aminoglikozit gibi başka antibiyotiklere de direnç gösterebilmesi, MBL genlerinin başka bakteri türlerine transfer edilebilir olması ve MBL'lerin diğer beta-laktamlardan daha güçlü karbapenemaz aktivitesi göstermeleri sebebiyle hızlıca tanımlanması ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması gerekmektedir.

Karbapenemler ÇİD gram negatif bakteri enfeksiyonlarında son çare olarak kullanılan beta-laktam grubu antibiyotiklerdir. Ancak son yıllarda karbapenemlere büyük oranda direnç artışı söz konusudur. Karbapenemazlar, diğer sınıf antibiyotiklere karşı direncin de birlikte var olmasından dolayı tedavide güçlükler sebep olmaktadır ve hızlı bir şekilde yayılması önemli bir sorun haline gelmiştir (90).

Çalışmamızda toplam 142 ACB izolatında, OXA-51, OXA-23, OXA-24, OXA-58, GES, NDM, VIM, IMP, SIM genlerinin varlığı in house multipleks PCR yöntemiyle incelenmiştir. Çalışmamıza dahil ettiğimiz 142 izolatın 137 (%96,5)'sinde OXA-51 pozitif bulunmuştur. İzolatların üç (%2,1) tanesinde hiçbir gen bölgesi saptanmamıştır. OXA-23 toplam 134 (%94,4) izolatta, OXA-58 bir (%0,7) izolatta, NDM 11 (%7,7) izolatta pozitif bulunmuştur. OXA-23 saptanan 134 izolatın 127 (%89,4) tanesi OXA-51 ile, yedi (%5) tanesi OXA-51 ve NDM ile birlikte pozitif

bulunmuştur. NDM pozitif saptanan 11 izolatın iki (%1,4) tanesi OXA-51 ile birlikte pozitif saptanırken, iki (%1,4) tanesi tek başına pozitiflik göstermiştir. Saptanan bir OXA-58 izolatı OXA-51 ile birlikte pozitif bulunmuştur. Çalışmamızda OXA-24, GES, VIM, IMP, SIM genleri hiçbir izolatta saptanmamıştır.

Acinetobacter baumannii'deki karbapenem direncinin, en önemli sebebi Ambler Sınıf D beta-laktamaz üretimidir. Bu karbapenemazlar OXA-23, OXA-24, OXA-58, OXA-143 ve OXA-235 gibi kazanılmış karbapenemazlar ve ISAbal elementinin varlığıyla sentezinin arttığı OXA-51'den oluşmaktadır. OXA-51 birçok izolatta çok zayıf şekilde üretilmektedir. Eğer yüksek düzeyde üretilirse karbapenemlere azalmış duyarlılığa sebep olmaktadır (30, 134, 153).

Acinetobacter türlerine özgü gibi görünen bu genler başka bakteri izolatlarında da tespit edilmiştir. Bazı çalışmalarda OXA-23 üreten *Proteus mirabilis* izolatları saptanmıştır (210, 211). *Acinetobacter baumannii*'de saptanan OXA-40, imipenem dirençli iki *P. aeruginosa* izolatında ilk kez 2008 yılında pozitif bulunmuştur (212). Ülkemizde 2015 yılına ait çalışmada Esenkaya ve arkadaşları, karbapenem dirençli *Pseudomonas* türlerinde OXA-23, OXA-40 ve OXA-58 genlerini araştırmışlar ve 184 suşun 12'sinde OXA-23, birinde OXA-40, birinde OXA-58 genini pozitif saptamışlardır (213). OXA-51'in plazmit aracılığıyla *A. baumannii* dışında başka *Acinetobacter* türlerindeki varlığı da gösterilmiştir (135, 136). Bir başka çalışmada Leski ve arkadaşları OXA-51 ve OXA-58 genlerini *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *Enterobacter cloacae* izolatlarında pozitif bulmuşlardır (137).

OXA-23, tüm dünyada *A. baumannii*'de en sık rastlanan kazanılmış Sınıf D beta-laktamazdır. OXA-23 üreten *A. baumannii* türleri, karbapenem dirençli hastane enfeksiyonu salgınlarından en sık sorumlu olan etkenlerdir (30). OXA-23 ilk olarak 1985 yılında İskoçya'da bildirilmiştir. ARI-1 (*Acinetobacter* resistant imipenem) olarak adlandırılmış (129) ve daha sonra sekans analizi yapılarak isim OXA-23 olarak değiştirilmiştir (130).

OXA-24 grubunda OXA-25, OXA-26, OXA-40, OXA-72 de yer almaktadır (30). OXA-24 ilk kez İspanya'daki bir hastadan izole edilen *A. baumannii* izolatında gösterilmiştir (214). OXA-25 de yine İspanya'da *A. baumannii* izolatlarında, OXA-26 Belçika'da *A. baumannii* izolatlarında gösterilmiştir (141). OXA-40, ilk olarak

Fransa'da Portekiz'li bir hastadan izole edilen karbapenem dirençli *A. baumannii* suşunda tanımlanmıştır (142). Daha sonra dünyanın birçok yerinden yaygın şekilde bildirim yapılmıştır (127, 143, 144). OXA-72, dünyanın birçok yerinde (Brezilya, Litvanya, Hırvatistan) saptanmış olmasına rağmen en sık Asya'dan (Çin, Güney Kore, Tayvan, Japonya) bildirimler yapılmıştır (127, 145-148).

OXA-96 ve OXA-97'nin birlikte yer aldığı grubun üyesi OXA-58, ilk kez Fransa'da karbapenem dirençli bir *A. baumannii* suşunda tespit edilmiştir (149). Daha sonra tüm dünyadan bildirimler yapılmıştır (127). OXA-58 her zaman plazmit kaynaklı sentezlenmektedir (95). OXA-96 ve OXA-97, OXA-58'in nokta mutasyonu ile oluşan varyantlarıdır; Singapur ve Tunus'tan bildirim yapılmıştır (150, 151).

Sınıf A beta-laktamazlar içinde de sınıflandırılan GES genlerinin bazıları karbapenemaz aktivitesi gösterebilmektedir (30). GES-1 ilk kez 2000 yılında Fransa'da bir *K. pneumoniae* izolatında saptanmıştır (215). GES-1'den iki amino asit farklılığıyla ayrılan GES-11 ilk kez 2009 yılında yine Fransa'da bir *A. baumannii* izolatında gösterilmiştir (216).

Metallo-beta-laktamazlar, karbapenemleri ve aztreonam dışındaki tüm beta-laktamları etkin bir şekilde hidrolize ederler. Bu enzimler *A. baumannii* izolatlarında çok sık saptanmazlar. *Acinetobacter baumannii* türlerinde daha çok VIM, IMP, SIM, NDM genleri gösterilmiştir. *Acinetobacter baumannii*'de dokuz çeşit IMP geni saptanmıştır. *Enterobacteriaceae*'de dikkat çekici şekilde sık rastlanan VIM geni *A. baumannii*'de nadir görülmektedir (30). SIM geni ilk kez Güney Kore'de bir *A. baumannii* suşunda gösterilmiş ve daha sonra Hindistan'da, Çin'de *A. baumannii* suşlarında tespit edilmiştir (106, 217, 218). Metallo-beta-laktamaz üreten *A. baumannii* suşlarında gösterilen IMP, VIM, SIM genlerinin hepsi klas 1 integron yapısında bulunmaktadır ve birbirlerine benzer özelliktedirler (30). NDM geni ilk olarak 2008 yılında İsveç'te, daha önce Hindistan Yeni Delhi'de hastanede yatmış bir hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşunda gösterilmiştir. Daha sonra Hindistan'da bir *A. baumannii* suşunda tespit edilmiştir (107, 108).

İngiltere'de 2006 yılında yapılan bir çalışmada, Turton ve arkadaşları *A. baumannii* olarak tanımladıkları 141 izolatın tümünde OXA-51 genini saptarken, diğer

Acinetobacter türleri olarak tanımlanan 22 izolatın hiçbirinde OXA-51 genini saptayamadıklarını belirtmişlerdir (219). Hırvatistan'da 2009-2010 yılları arasında çalışılan 185 ÇİD *A. baumannii* izolatından karbapenem dirençli olanların hepsinde ISAbal'in düzenleyici olduğu intrinsik OXA-51 geninin aşırı ekspresyonu gözlenmiştir. Çalışmada OXA-58, OXA-24/40, ve OXA-23 genlerinin oranı sırasıyla %33, %27 ve %9 olarak; IMP, VIM, SIM, NDM genlerinin ise saptanmadığı bildirilmiştir (220).

Pakistan'da Hasan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 2010-2011 yıllarına ait 90 *A. baumannii* izolatının tamamında OXA-51 pozitif saptanmıştır. Bu çalışmada 14 izolatta OXA-23, bir izolatta NDM-1 geni pozitif bulunurken, OXA-24, OXA-58, VIM, IMP, SIM genleri saptanmamıştır (221). Nowak ve arkadaşları Polonya'da bir hastanenin yoğun bakım ve yanık ünitelerinde yatan hastalardan, 2005-2010 yıllarında izole ettikleri 104 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatından 46'sının OXA-51 ve OXA-23 genlerini; 48'inin OXA-51 ve OXA-40 genlerini birlikte taşıdığını ve izolatların tamamının OXA-51 genine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada üç izolatta OXA-51, OXA-23 ve OXA-40 genlerini birlikte saptamışlar, 7 izolatta OXA-51 haricindeki genlere rastlamamışlardır. OXA-58 hiçbir izolatta tespit edilmemiştir (222).

Sohrabi ve arkadaşlarının İran'da yaptıkları çalışmada, 2008-2009 yıllarında, hastanede yatan hastalardan izole edilen ÇİD 100 *A. baumannii* izolatının tamamının OXA-51 genini bulundurduğu, 62 imipenem dirençli izolatın %88,7'sinin OXA-23, %1,6'sının OXA-40 ve %3,2'sinin OXA-58 genlerini taşıdığı belirtilmiştir (223).

Bocanegra-İbarias ve arkadaşları, 2014 yılında Meksika'da yaptıkları bir çalışmada, 2007-2012 yılları arasında, daha çok yoğun bakım ünitelerindeki hastalara ait klinik örneklerden elde ettikleri 152 *A. baumannii* izolatının tamamında OXA-51 genini pozitif saptamışlardır. Çalışmada yer alan izolatların %25,7'sinde OXA-24 geni pozitif bulunmuştur ve ardından yapılan sekans analiziyle bu izolatların OXA-24 grubuna dahil olan OXA-72 geni için pozitif oldukları doğrulanmıştır. İzolatların %28,3'ünün OXA-58 geni açısından pozitif olduğu saptanmış ve yine sekans analiziyle doğrulanmıştır. İzolatların hiçbirinde OXA-23, NDM, IMP ve VIM genleri saptanmamıştır. OXA-72 geninin varlığı ile imipenem ve meropenem direnci arasında,

OXA-58 geninin varlığıyla ise imipenem direnci arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (224).

Ülkemizde Vahapoğlu ve arkadaşları 2006 yılında, 6 farklı merkezden gönderilen seftazidim dirençli *Acinetobacter* türlerini dahil ettikleri çalışmalarında, 72 izolatın 56'sında (%77,8) OXA-51 genini saptamış ve bunların kromozomal yerleşimli olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada 10 *A. baumannii* izolatında OXA-58 geni OXA-51 geni ile birlikte pozitif bulunmuştur (225). Çiftçi ve arkadaşlarının 2013 yılında yürüttüğü, 2008-2011 tarihleri arasında toplanan 834 *A. baumannii* izolatının dahil edildiği çok merkezli çalışmada izolatların tamamının OXA-51 genini taşıdığı bildirilmiştir. Çalışmada karbapenem dirençli izolatlarda OXA-23 ve OXA-58 genleri sırasıyla %74,4 ve %17,3 olarak bulunmuştur. Çalışılan 25 izolatın OXA-23 ve OXA-58 genini birlikte taşıdığı bildirilmiştir. OXA-24 genine ise rastlanmamıştır. Çalışma sürecinde OXA-58 gen pozitifliğinde sınırlı oranda azalma olduğu, OXA-23 gen pozitifliğinde ise yıllar içinde önemli bir artış olduğu vurgulanmıştır (226). Türkiye'deki verilere bakıldığında OXA-58 oranlarının salgınlar dışında gittikçe azalmakta ve yerini OXA-23'e bırakmakta olduğu söylenmektedir (226, 227). Bizim çalışmamızda sadece bir adet OXA-58 pozitif izolat saptanması bu ifadeyi doğrular niteliktedir.

Keskin ve arkadaşları, 2014 yılında yayımlanan, 2010-2011 yıllarına ait 201 *A. baumannii* izolatını dahil ettikleri çalışmalarında, bütün izolatların OXA-51 genini taşıdığını, 184 (%91,5)'ünün OXA-23, yedisinin (%3,5) OXA-58 ve ikisinin (%1) OXA-24 genine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Örneklerin hiçbirinde IMP, VIM, SIM ve NDM genlerini saptamamışlardır. Tek başına OXA-51 içeren 12 izolat saptamışlar ve bu izolatların hiçbirinin fenotipik olarak imipenem veya meropeneme dirençli olmadığını bildirmişlerdir. İmipenem ve meropeneme dirençli izolatlarda, OXA-51'in yanında mutlaka oksasilinazları kodlayan diğer genlerden bir veya birkaçının olduğunu vurgulamışlardır (76).

Ergin ve arkadaşlarının yaptığı 2013 yılına ait bir başka çalışmada, 100 *A. baumannii* izolatında OXA-51, OXA-23, OXA-24, OXA-58, VIM ve IMP genleri araştırılmıştır. OXA-51 geni tüm izolatlarda pozitif saptanırken, 31 izolatta OXA-23 geni, 23 izolatta OXA-58 geni pozitif bulunmuştur. Çalışmada VIM ve IMP genleri

saptanmamıştır (228). Aksoy ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, 2013 yılına ait 52 imipenem dirençli *A. baumannii* izolatının tamamının OXA-51 ve OXA-23 pozitif olduğunu, izolatların hiçbirinde OXA-58, OXA-40 geninin bulunmadığını bildirmişlerdir (205). Çakırlar ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği ülkemize ait bir başka çalışmada, 2012-2014 yılları arasında bakteriyemili hastalardan izole edilen, 72 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatının hepsinde OXA-51 pozitif bulunurken, OXA-23 ve OXA-58 sırasıyla 51 (%70,8) ve iki (%2,8) izolatta pozitif bulunmuştur (229).

Plazmit kaynaklı olan OXA-58 geni dünyanın her yerinden bildirilse de daha çok salgınlarla ilişkilendirilmiştir (127, 230). OXA-58 ayrıca *A. junii* (231), *Acinetobacter* genomospecies 3 (232) gibi diğer *Acinetobacter* türlerinde de saptanmıştır.

Ülkemizde OXA-24 grubuna ait pozitifliğin saptandığı az sayıda çalışma vardır. Bunlardan ilki 2013 Mayıs ayında yayımlanmıştır; Sarı ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada, OXA-72 Türkiye’den ilk kez bildirilmiştir (233). Çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi’nde 2000-2013 yıllarına ait, ÇİD ve tamamı imipenem dirençli olan 450 *A. baumannii* izolatu incelenmiştir; izolatların büyük çoğunluğu kan kültürlerinden elde edilmiştir. 2012 Ekim ayına ait bir izolatta Türkiye’de ilk kez rastlanan OXA-24 geni pozitif bulununca, bir önceki ve sonraki aylarda izole edilen karbapenem dirençli tüm *A. baumannii* suşları PCR ile incelenmiş ve dokuz izolatta daha OXA-24 geni pozitif bulunmuştur. Çalışılan suşların, PFGE ile yapılan analizinde benzer karakterde olduğu ve YBÜ’de o sırada devam eden küçük bir salgına sebep olduğu farkedilmiştir. Tüm izolatların benzer antibiyogram profili sergilediği görülünce, daha önce elde edilen ve 2013 yılına ait, bu profil için benzerlik gösteren izolatlar PCR ve PFGE ile incelemeye alınmıştır. Böylece 2012-2013 yıllarına ait, OXA-24 gen grubundan toplamda 23 örnek pozitifliği saptanmıştır. Sekans analizi bu OXA-24 grubu genlerin OXA-72 geni olduğunu doğrulamıştır. İzolatların hepsinde OXA-51 geni pozitif bulunurken, sekiz izolatta OXA-23 pozitifliği de ek olarak bulunmuştur.

Ülkemize ait 2013 yılı Ağustos ayında yayımlanan bir başka çalışmada Çiçek ve arkadaşları, OXA-40, GES-11 ve GES-22 genlerini Türkiye’de ilk kez

saptamışlardır (234). Çalışmada 2011-2012 yıllarına ait 101 *A. baumannii* izolatu incelenmiş, izolatların hepsinde OXA-51 geni pozitif bulunmuş; 79 (%78) izolatta OXA-23 geni, bir izolatta ise OXA-40 geni OXA-23 ve OXA-51 geniyle birlikte pozitif bulunmuştur. GES-11 geni 16 izolatta, GES-22 geni ise sekiz izolatta pozitif saptanmıştır. GES-11 pozitif olan 12 izolatta, GES-22 pozitif olan sekiz izolatta OXA-51, OXA-23 genleri birlikte pozitif saptanmıştır. Çalışmada OXA-58 geni saptanmamıştır.

Ülkemizde OXA-24 grubuna ait gen pozitifliğinin saptandığı bir çalışma da, Keskin ve arkadaşlarının, 2014 yılında yayımlanan, 2010-2011 yıllarına ait 201 *A. baumannii* izolatını dahil ettikleri çalışmadır. Bu çalışmada izolatların ikisinin (%1) OXA-24 genine sahip olduğu belirtilmiştir (76).

Ahmed ve arkadaşlarının 2016 yılına ait çalışmasında; Türkiye ve Azerbaycan'daki 11 hastaneden elde edilen 112 ÇİD *A. baumannii* izolatının hepsinde OXA-51 pozitifken, 75 (%67) izolatta OXA-23, yedi (%6,2) izolatta OXA-58, beş (%4,5) izolatta OXA-24 pozitif saptanmıştır. Bu çalışmayla OXA-24 geni Azerbaycan'da ilk kez saptanmıştır. OXA-24 pozitif olan beş izolatın ikisi Türkiye'den izole edilmiştir (227). Çetinkol ve arkadaşları, 2016 yılına ait çalışmalarında 50 *A. baumannii* izolatının hepsinde OXA-51 ve OXA-23 genini pozitif saptarken, üç (%6) izolatta OXA-24 gen pozitifliği bulmuşlardır. Çalışmada OXA-58 genine rastlanmamıştır (235).

Sınıf A beta-laktamazlar içindeki GES genlerinden GES-11 İsviçre, Belçika, Kuveyt, Türkiye, Tunus ve Orta Doğu ülkelerinden bildirilmiştir (30). GES-14 2011 yılında Fransa'da bir *A. baumannii* izolatında tespit edilmiştir (236). Ülkemizde 2013 yılında Çiçek ve arkadaşlarının GES-11 ve GES-22 genlerini saptadıkları çalışma dışında, söz konusu çalışmayla yakın zamanda yayımlanan Zeka ve arkadaşlarının yaptıkları bir başka çalışmada, karbapenem direçli 60 *A. baumannii* izolatının hepsi OXA-51 ve OXA-23 genleri için pozitif bulunurken, beş izolatta GES-11 geni pozitif saptanmıştır (237).

Acinetobacter baumannii izolatlarında ilk tespit edilen MBL IMP-2'dir ve 2000 yılında İtalya'dan bildirilmiştir (103). Daha sonra dünyanın farklı yerlerinden IMP, VIM, SIM genleri için bildirimler yapılmıştır (106, 204, 238-242). NDM-1

Hindistanlı hastada ilk tespitinden sonra Avrupa ülkeleri, Çin, Japonya, Kenya, Brezilya, Suriye gibi birçok ülkede bildirilmeye devam etmiştir (109-112, 114, 116, 118). Yakın zamanda Fransa'dan NDM-1 pozitif *A. baumannii* salgını bildirilmiştir (180). Birçok *A. baumannii* izolatının tanımlanması, aslında NDM-1 kaynağının Hindistan değil de Kuzey Afrika olduğunu güçlü bir şekilde desteklemektedir (119). NDM-2 Mısır, İsrail, Birleşik Arap Emirlikleri gibi ülkelerden bildirilmiştir (120-122). NDM-2 üreten bu izolatların klonal ilişkisi incelendiğinde, Orta Doğu, Balkan bölgesi, Hindistan ve Çin'in muhtemelen rezervuar olduğu düşünülmektedir (123). Çalışmalar, *Enterobacteriaceae* ve *P. aeruginosa*'ya transferinden önce NDM-1'in *A. baumannii*'den kaynaklandığını desteklemektedir. Bu da aslında *Acinetobacter* türlerinin *Enterobacteriaceae* için önemli bir direnç kaynağı olduğunun göstergesidir (243). NDM ile birlikte diğer birçok antibiyotik sınıfına karşı direnç genleri, NDM taşıyan bakterilerce üretilebilmektedir. Bu nedenle NDM üreten bakteriler genellikle ÇİD'dirler (97).

Ülkemizde *Acinetobacter* türüne ait ilk NDM bildirimi, Roca ve arkadaşlarının 2014 yılına ait çalışmasında yapılmıştır. Çalışmada 2006 yılında metastatik karsinomlu bir hastanın kan kültüründen izole edilen *A. pittii* suşunun NDM-1 genini taşıdığı, OXA-51, OXA-23, OXA-24, OXA-58, VIM ve IMP genleri için ise negatif olduğu bildirilmiştir (244). Espinal ve arkadaşlarının 2015 yılındaki çalışmalarında, ülkemizde 2009 yılına ait üriner sistem enfeksiyonlu, seyahat öyküsü olmayan bir hastadan elde edilen izolatta, NDM-1 saptanmıştır. İzolatın daha sonra yapılan genetik analizlerinde *Acinetobacter* türü olduğuna dair güçlü verilerin olduğu ve *A. pittii* ile yakın ilişkili olduğu bildirilmiştir (245).

Karaaslan ve arkadaşlarının 2015 yılına ait çalışmalarında; 2013 yılında 762 çocuk hastadan, karbapenem dirençli gram negatif bakteri taraması için aldıkları rektal sürüntü örneklerinin 176 tanesinde karbapenem dirençli gram negatif bakteri saptanmıştır. Bu karbapenem dirençli bakterilerin 55 tanesi *A. baumannii* izolatı olarak tanımlanmış ve bunların 17 tanesinde NDM saptanmıştır. NDM saptanan izolatların hepsi yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan izole edilmiştir. Çalışmada yedi izolatta IMP-1 pozitifliği de saptanmıştır (246).

Heydari ve arkadaşları Adana Çukurova Üniversitesi Hastanesi'nde, 2013 Aralık ve 2014 Aralık zaman dilimi arasındaki 68 imipenem ve meropenem duyarlı olmayan *A. baumannii* izolatını MBL üretimi açısından incelemişler ve iki hastada NDM-1 pozitifliği saptamışlardır (247). İzolatlardan biri Suriyeli bir mülteci hastadan elde edilirken, diğer izolat yurtdışı sayahat öyküsü olmayan Türkiyeli bir hastaya ait bulunmuştur. İki ayrı YBÜ'de tedavi gören hastaların birbirleriyle temas öyküsünün olmadığı, ancak ortak medikal bakım ve hemşirelik hizmeti aldıkları belirtilmiştir. Her iki izolat da solunum yolu örneklerinden elde edilmiştir. İzolatlarda diğer beta-laktamaz genleri saptanmamıştır. Sekans analizi ve PFGE sonuçları izolatların birbiriyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışma, ülkemizde *A. baumannii*'nin etken olarak saptandığı, NDM-1 pozitifliği açısından ilk olma özelliği taşımaktadır.

SİM ülkemizde tespit edilmemiştir. Ülkemizde yapılan birçok çalışmada *A. baumannii*'de MBL üretimi fenotipik olarak değişik oranlarda saptanmasına rağmen, Karaaslan ve arkadaşlarının rektal sürüntü örneklerinde kolonizasyon şeklinde tespit ettikleri IMP-1 pozitifliği dışında (246), VIM ve IMP genleri tespit edilmemiştir (155, 248, 249). Sarıgüzel ve arkadaşları kan kültürlerinden izole ettikleri 100 *A. baumannii* suşunun 15'inde IMP-1, üçünde VIM-1 pozitifliğini PCR yöntemiyle saptadıklarını bildirmişlerdir ancak çalışma ileri genotipik değerlendirme ile doğrulanmamıştır (250).

Çalışmamızda MBL genlerinden NDM, 11 izolatta pozitif saptanmıştır. Bu sayı Türkiye verileri açısından şaşırtıcıdır. Türkiye'de *A. baumannii*'de NDM pozitifliği, Adana'da yapılan ve iki izolatta pozitif bulunan NDM-1 pozitifliği (247) ve Karaaslan ve arkadaşlarının rektal sürüntü örneklerinde kolonizasyon şeklinde tespit ettikleri NDM pozitifliği (246) dışında bildirilmemiştir. Heydari ve arkadaşları, çalışmalarında elde edilen verilerin, Orta Doğu'da NDM-1 pozitif *A. baumannii*'nin yüksek prevalans gösterdiği hipotezini desteklediği ve Suriye'den Avrupa'ya bu direnç geninin taşınıyor olabileceği vurgusunu yapmışlardır (247).

6. SONUÇ

1. Çalışmamıza dahil edilen 142 karbapenem dirençli ACB izolatında amikasin (%93,7), gentamisin (%73), netilmisin (%75), tobramisin (%70), siprofloksasin (%93,7), levofloksasin (%93,7), trimetoprim-sülfametoksazol (%61,3) antibiyotiklerine yüksek oranda direnç bulunmuştur. Kolistin direnci %1,4 oranında saptanmıştır. *Acinetobacter* türlerine bağlı enfeksiyonlar, ÇİD ve artık sık bildirilen pan-drug rezistan suşlar sebebiyle oldukça endişe verici bir hal almıştır. Karbapenemaz üretimi, diğer birçok antibiyotiğe de dirençli olan bu bakterilerin tedavisini sınırlandırmış, yeni antibiyotik arayışı veya kombinasyon tedavilerini gündeme getirmiştir.

2. Çalışmamızda metallo-beta-laktamaz saptamaya yönelik fenotipik testlerden meropenem-EDTA kombine disk testi ve imipenem-EDTA kombine disk testlerinin duyarlılıkları sırasıyla %100 ve %81,8; özgüllükleri ise sırasıyla %81,7 ve %96,2 olarak bulunmuştur.

3. Çalışmamızda OXA-51, 142 izolattan 137 tanesinde pozitif, beş izolatta ise negatif bulunmuştur. Çalışmada DNA eldeleri plazmit ekstraksiyonu ile yapılmıştır. Bu beş izolatta kromozomal DNA ekstrakte edilmemiş ve dolayısıyla sıklıkla kromozomal olan OXA-51 geni PCR ile saptanamamış olabilir veya OXA-51 negatif olan bu izolatlar *A. baumannii* dışındaki ACB izolatları olabilir.

4. Çalışmamızda OXA-23 toplam 134 (%94,4) izolatta pozitif bulunmuştur. Birçok çalışmada, salgın durumları dışında, önceki yıllara göre daha az saptanan OXA-58 geni, bizim çalışmamızda da sadece bir (%0,7) izolatta pozitif bulunmuştur. Saptadığımız OXA-23 pozitif izolatların oranının yüksekliği bu direnç geninin yaygınlaştığının göstergesi olabilir.

5. Çalışmamızda ülkemizde *A. baumannii*'de bildirim az sayıda çalışma dışında yapılmayan OXA-24, GES, VIM, IMP, SIM genleri hiçbir izolatta saptanmamıştır. Bu gen bölgelerinin varlığını araştırmaya yönelik daha fazla çalışma yapılmalıdır.

6. Çalışmamızda NDM, 11 (%7,7) izolatta pozitif saptanmıştır. Türkiye’de *Acinetobacter*’de NDM pozitifliği az sayıda çalışmada bildirilmiştir. Ülkemizde, *Acinetobacter* türlerinde NDM ile birlikte diğer MBL direnç genlerinin varlığını tespit etmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

7. Çalışmamızda 2014-2016 yıllarına ait ACB suşları incelenmiştir. Bu dönemlerde Suriye’den yoğun olarak göç eden mültecilerin belki de NDM pozitif suşları ülkemize taşıdığı hipotezi öne sürülebilir. Hastanelerde, özellikle yoğun bakım ünitelerinde NDM ve diğer MBL direnç genlerine sahip bakterilerin var olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

8. Önemli olan bir diğer nokta PCR yönteminin, o güne kadar tanımlanmış karbapenem direnç genlerini saptayabiliyor olmasıdır. Yeni tanımlanacak direnç genlerinin tespiti için ileri moleküler tekniklere ihtiyaç vardır.

9. *Acinetobacter* türlerinde, aynı tür, başka tür ve hatta başka cinslere transferin olduğu karbapenem direnç genlerinin hızlı bir şekilde tespiti; sürveyans çalışmalarının yapılabilmesi, enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması ve böylece direnç genlerinin aktarımının önüne geçilmesi açısından önemlidir.

7. KAYNAKLAR

1. McConnell MJ, Actis L, Pachon J. *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol Rev.* 2013;37(2):130-55.
2. Higgins PG, Dammhayn C, Hackel M, Seifert H. Global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(2):233-8.
3. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, Woods GL. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology.* 7th edition. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2017. 385-7.
4. Sesli Çetin E, Tetik T, Kaya S, Cicioğlu Arıdoğan B. Polimiksin b'nin imipeneme dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına karşı in-vitro aktivitesi. *ANKEM.* 2011;25(2):94-8.
5. Karah N, Sundsfjord A, Towner K, Samuelsen O. Insights into the global molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible clones of *Acinetobacter baumannii*. *Drug Resist Updat.* 2012;15(4):237-47.
6. Villegas MV, Hartstein AI. *Acinetobacter* outbreaks, 1977-2000. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2003;24(4):284-95.
7. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(10):3471-84.
8. Kim YA, Choi JY, Kim CK, Kim CO, Kim MS, Choi SH, et al. Risk factors and outcomes of bloodstream infections with metallo-beta-lactamase-producing *Acinetobacter*. *Scand J Infect Dis.* 2008;40(3):234-40.
9. Wareham DW, Bean DC, Khanna P, Hennessy EM, Krahe D, Ely A, et al. Bloodstream infection due to *Acinetobacter* spp: epidemiology, risk factors and impact of multi-drug resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2008;27(7):607-12.

10. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev.* 1996;9(2):148-65.
11. Beck-Sague CM, Jarvis WR, Brook JH, Culver DH, Potts A, Gay E, et al. Epidemic bacteremia due to *Acinetobacter baumannii* in five intensive care units. *Am J Epidemiol.* 1990;132(4):723-33.
12. Lortholary O, Fagon JY, Hoi AB, Slama MA, Pierre J, Giral P, et al. Nosocomial acquisition of multiresistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors and prognosis. *Clin Infect Dis.* 1995;20(4):790-6.
13. Siegman-Igra Y, Bar-Yosef S, Gorea A, Avram J. Nosocomial acinetobacter meningitis secondary to invasive procedures: report of 25 cases and review. *Clin Infect Dis.* 1993;17(5):843-9.
14. Webster CA, Crowe M, Humphreys H, Towner KJ. Surveillance of an adult intensive care unit for long-term persistence of a multi-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1998;17(3):171-6.
15. Corbella X, Pujol M, Ayats J, Sendra M, Ardanuy C, Dominguez MA, et al. Relevance of digestive tract colonization in the epidemiology of nosocomial infections due to multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis.* 1996;23(2):329-34.
16. Van Looveren M, Goossens H, Group AS. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10(8):684-704.
17. Towner KJ. *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *J Hosp Infect.* 2009;73(4):355-63.
18. Joly-Guillou ML. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11(11):868-73.
19. Kempf M, Rolain JM. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;39(2):105-14.

20. Kuşçu F, Öztürk DB, Tütüncü EE, Uslu M, Gürbüz Y, Gülen G, et al. Çoğul Antibiyotik Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Tigesiklin Duyarlılık Oranlarının E-Test® Yöntemiyle Araştırılması. *Klinik Derg.* 2009;22(2):48-51.
21. Pogue JM, Mann T, Barber KE, Kaye KS. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, surveillance and management. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013;11(4):383-93.
22. Lesho E, Yoon EJ, McGann P, Snesrud E, Kwak Y, Milillo M, et al. Emergence of colistin-resistance in extremely drug-resistant *Acinetobacter baumannii* containing a novel *pmrCAB* operon during colistin therapy of wound infections. *J Infect Dis.* 2013;208(7):1142-51.
23. O'Hara JA, Ambe LA, Casella LG, Townsend BM, Pelletier MR, Ernst RK, et al. Activities of vancomycin-containing regimens against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(5):2103-8.
24. Ahmed SS, Alp E, Hopman J, Voss A. Global Epidemiology on Colistin Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Infectious Diseases and Therapy.* 2016;4(4):1-5.
25. del Mar Tomas M, Cartelle M, Pertega S, Beceiro A, Llinares P, Canle D, et al. Hospital outbreak caused by a carbapenem-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*: patient prognosis and risk-factors for colonisation and infection. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11(7):540-6.
26. Theuretzbacher U. Global antibacterial resistance: The never-ending story. *Journal of Global Antimicrobial Resistance.* 2013:63-9.
27. Karaiskos I, Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother.* 2014;15(10):1351-70.
28. Zavascki AP, Carvalhaes CG, Picao RC, Gales AC. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010;8(1):71-93.

29. Girardello R, Visconde M, Cayo R, Figueiredo RC, Mori MA, Lincopan N, et al. Diversity of polymyxin resistance mechanisms among *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016.
30. Potron A, Poirel L, Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. *Int J Antimicrob Agents*. 2015;45(6):568-85.
31. Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R, Ferrandiz-Millon C, Diaz-Martin A, Lopez-Sanchez JM, Gutierrez-Pizarra A. Optimum treatment strategies for carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2015;13(6):769-77.
32. Livermore DM. Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. *Korean J Intern Med*. 2012;27(2):128-42.
33. Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY. A study of the Moraxella group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*). *J Bacteriol*. 1968;95(5):1520-41.
34. Lessel EF. International Committee on Nomenclature of Bacteria Subcommittee on the Taxonomy of Moraxella and Allied Bacteria. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1971.
35. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*. 2012;3(3):243-50.
36. Cayo R, Rodrigues-Costa F, Pereira Matos A, Godoy Carvalhaes C, Dijkshoorn L, Gales AC. Old Clinical Isolates of *Acinetobacter seifertii* in Brazil Producing OXA-58. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(4):2589-91.
37. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21(3):538-82.
38. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th edition. Missouri: Elsevier; 2015. 484-5.
39. Tille PM. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 13th edition. China: Elsevier; 2014. 329-34.

40. Jawad A, Hawkey PM, Heritage J, Snelling AM. Description of Leeds Acinetobacter Medium, a new selective and differential medium for isolation of clinically important Acinetobacter spp., and comparison with Herellea agar and Holton's agar. *J Clin Microbiol.* 1994;32(10):2353-8.
41. Gerner-Smidt P. Ribotyping of the Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex. *J Clin Microbiol.* 1992;30(10):2680-5.
42. Vaneechoutte M, Dijkshoorn L, Tjernberg I, Elaichouni A, de Vos P, Claeys G, et al. Identification of Acinetobacter genomic species by amplified ribosomal DNA restriction analysis. *J Clin Microbiol.* 1995;33(1):11-5.
43. Dolzani L, Tonin E, Lagatolla C, Prandin L, Monti-Bragadin C. Identification of Acinetobacter isolates in the A. calcoaceticus-A. baumannii complex by restriction analysis of the 16S-23S rRNA intergenic-spacer sequences. *J Clin Microbiol.* 1995;33(5):1108-13.
44. Ehrenstein B, Bernards AT, Dijkshoorn L, Gerner-Smidt P, Towner KJ, Bouvet PJ, et al. Acinetobacter species identification by using tRNA spacer fingerprinting. *J Clin Microbiol.* 1996;34(10):2414-20.
45. Janssen P, Maquelin K, Coopman R, Tjernberg I, Bouvet P, Kersters K, et al. Discrimination of Acinetobacter genomic species by AFLP fingerprinting. *Int J Syst Bacteriol.* 1997;47(4):1179-87.
46. Chang HC, Wei YF, Dijkshoorn L, Vaneechoutte M, Tang CT, Chang TC. Species-level identification of isolates of the Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex by sequence analysis of the 16S-23S rRNA gene spacer region. *J Clin Microbiol.* 2005;43(4):1632-9.
47. La Scola B, Gundi VA, Khamis A, Raoult D. Sequencing of the rpoB gene and flanking spacers for molecular identification of Acinetobacter species. *J Clin Microbiol.* 2006;44(3):827-32.
48. Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3. Baskı İstanbul: Nobel Tıp; 2008. 2195-201.

49. Allen DM, Hartman BJ. *Acinetobacter* species. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th edition. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2009. 2881-6.
50. Goel VK, Kapil A. Monoclonal antibodies against the iron regulated outer membrane Proteins of *Acinetobacter baumannii* are bactericidal. *BMC Microbiol* 2001.
51. Vahapoglu H, Coskuncan F, Tansel O, Ozturk R, Sahin N, Koksali I, et al. Clinical importance of extended-spectrum beta-lactamase (PER-1-type)-producing *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas aeruginosa* strains. *J Med Microbiol*. 2001;50(7):642-5.
52. Gülşah I. *Acinetobacter baumannii* Virülansının Açıklanmasında Güncel Yaklaşımlar. *Mikrobiyol Bul*. 2011;45(2):371-80.
53. Zeana C, Larson E, Sahni J, Bayuga SJ, Wu F, Della-Latta P. The epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: does the community represent a reservoir? *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2003;24(4):275-9.
54. Crnich CJ, Safdar N, Maki DG. The role of the intensive care unit environment in the pathogenesis and prevention of ventilator-associated pneumonia. *Respir Care*. 2005;50(6):813-36; discussion 36-8.
55. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Jimenez-Jimenez FJ, Barrero-Almodovar AE, Garcia-Garmendia JL, Bernabeu-Wittel IM, et al. Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem-susceptible VAP. *Clin Infect Dis*. 2003;36(9):1111-8.
56. Prashanth K, Badrinath S. Nosocomial infections due to *Acinetobacter* species: Clinical findings, risk and prognostic factors. *Indian J Med Microbiol*. 2006;24(1):39-44.
57. Falagas ME, Karveli EA. The changing global epidemiology of *Acinetobacter baumannii* infections: a development with major public health implications. *Clin Microbiol Infect*. 2007;13(2):117-9.

58. D'Agata EM, Thayer V, Schaffner W. An outbreak of *Acinetobacter baumannii*: the importance of cross-transmission. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2000;21(9):588-91.
59. Fillaux J, Dubouix A, Conil JM, Laguerre J, Marty N. Retrospective analysis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated during a 4-year period in a university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2006;27(7):647-53.
60. Garcia-Garmendia JL, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J, Jimenez-Jimenez FJ, Perez-Paredes C, Barrero-Almodovar AE, et al. Risk factors for *Acinetobacter baumannii* nosocomial bacteremia in critically ill patients: a cohort study. *Clin Infect Dis*. 2001;33(7):939-46.
61. Karahocagil MK, Yaman G, Göktaş U, Sünnetçioğlu M, Çıkman A, Bilici A, et al. Hastane Enfeksiyon Etkenlerinin ve Direnç Profillerinin Belirlenmesi Van Tıp Dergisi. 2011;18(1):27-32.
62. Balcı M, Bitirgen M, Kandemir B, Arıbaş ET, İ. E. Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılığı. *ANKEM Derg*. 2010;24(1):28-33.
63. Kurtoğlu MG, Opuş A, Kaya M, Keşli R, Güzelant A, Yüksekaya Ş. Bir eğitim ve araştırma hastanesinde klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibakteriyel direnç (2008-2010). *ANKEM Derg*. 2011;25(1):35-41.
64. Yavuz MT, Şahin İ, Behçet M, Öztürk E, D. K. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg*. 2006;20(2):107-10.
65. Sunenshine RH, Wright MO, Maragakis LL, Harris AD, Song X, Hebden J, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter* infection mortality rate and length of hospitalization. *Emerg Infect Dis*. 2007;13(1):97-103.
66. Toraks Derneği: Erişkinlerde Hastane Kökenli Pnömoni Tanı ve Tedavi Rehberi, Ankara. 2002.

67. Karaca S, Çırak K, Halilçolar H. Ventilatörle ilişkili pnömoni tanısında derin trakeal aspirat ve bronkoalveoler lavaj örneklerinin kantitatif kültürlerinin sonuçları ve karşılaştırılması. *Solunum*. 2005;7(1):13-7.
68. Taşova Y, Akgün Y, Saltoğlu N, Yılmaz G, Kara O, Dünder İ. Nozokomiyal *Acinetobacter* İnfeksiyonları. *Flora*. 1999;4:170-6.
69. Metan G, Alp E, Aygen B, Sumerkan B. *Acinetobacter baumannii* meningitis in post-neurosurgical patients: clinical outcome and impact of carbapenem resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60(1):197-9.
70. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. *Manual of Clinical Microbiology*. Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M (çeviri editörleri). Klinik Mikrobiyoloji. 9. Baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2009. 770-802.
71. Başustaoğlu A, Özyurt M. Nozokomiyal patojen olarak *Acinetobacter*'lerin mikrobiyolojik, klinik ve epidemiyolojik özellikleri. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*. 1998;2:88-93.
72. Özdemir M, Erayman İ, Gündem NS, Baykan M, Baysal B. Hastane infeksiyonu etkeni *Acinetobacter* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. *ANKEM Derg*. 2009;23(3):127-32.
73. Tong MJ. Septic complications of war wounds. *JAMA*. 1972;219(8):1044-7.
74. Ulusoy S, Leblebicioğlu H, Arman D. Önemli ve Sorunlu Gram-Negatif Bakteri İnfeksiyonları. 2. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp; 2012. 1-142.
75. Garcia I, Fainstein V, LeBlanc B, Bodey GP. In vitro activities of new beta-lactam antibiotics against *Acinetobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother*. 1983;24(2):297-9.
76. Keskin H, Tekeli A, Dolapçı İ, Öcal D. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Beta-laktamaz Kaynaklı Direncin Moleküler Karakterizasyonu. *Mikrobiyol Bul*. 2014;48(3):365-76.

77. Eraç B, Yılmaz FF, Hoşgör Limoncu M, Öztürk İ, Aydemir Ş. Çok İlaça Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Virülans Faktörlerinin Araştırılması. *Mikrobiyol Bul.* 2014;48(1):70-81.
78. Kamolvit W, Sidjabat HE, Paterson DL. Molecular Epidemiology and Mechanisms of Carbapenem Resistance of *Acinetobacter* spp. in Asia and Oceania. *Microb Drug Resist.* 2015;21(4):424-34.
79. Ruiz J. Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *J Antimicrob Chemother.* 2003;51(5):1109-17.
80. Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 3. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. 308-13.
81. Guardabassi L, Dijkshoorn L, Collard JM, Olsen JE, Dalsgaard A. Distribution and in-vitro transfer of tetracycline resistance determinants in clinical and aquatic *Acinetobacter* strains. *J Med Microbiol.* 2000;49(10):929-36.
82. Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi-Sistemlere Göre Enfeksiyonlar 3. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. 1. Cilt: 227-34, 243-50, 266-94.
83. Poole K. Resistance to beta-lactam antibiotics. *Cell Mol Life Sci.* 2004;61(17):2200-23.
84. Majiduddin FK, Materon IC, Palzkill TG. Molecular analysis of beta-lactamase structure and function. *Int J Med Microbiol.* 2002;292(2):127-37.
85. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(3):969-76.
86. Hall BG, Barlow M. Revised Ambler classification of {beta}-lactamases. *J Antimicrob Chemother.* 2005;55(6):1050-1.
87. Thomson KS, Smith Moland E. Version 2000: the new beta-lactamases of Gram-negative bacteria at the dawn of the new millennium. *Microbes Infect.* 2000;2(10):1225-35.

88. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22(1):161-82, Table of Contents.
89. Queenan AM, Foleno B, Gownley C, Wira E, Bush K. Effects of inoculum and beta-lactamase activity in AmpC- and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates tested by using NCCLS ESBL methodology. *J Clin Microbiol.* 2004;42(1):269-75.
90. Djahmi N, Dunyach-Remy C, Pantel A, Dekhil M, Sotto A, Lavigne JP. Epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean countries. *Biomed Res Int.* 2014;2014:305784.
91. Şenol E. Karbapenemlerin Yeni Açılımları. *ANKEM Derg.* 2009;23(10):14-6.
92. Mülazımoğlu L. 1986'dan Günümüze Karbapenemler. *ANKEM Derg.* 2010;24(10):33-5.
93. Patel G, Bonomo RA. Status report on carbapenemases: challenges and prospects. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011;9(5):555-70.
94. Abbott I, Cerqueira GM, Bhuiyan S, Peleg AY. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: laboratory challenges, mechanistic insights and therapeutic strategies. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013;11(4):395-409.
95. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect.* 2006;12(9):826-36.
96. Pages JM, James CE, Winterhalter M. The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nat Rev Microbiol.* 2008;6(12):893-903.
97. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends Mol Med.* 2012;18(5):263-72.
98. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(3):440-58, table of contents.

99. Scaife W, Young HK, Paton RH, Amyes SG. Transferable imipenem-resistance in *Acinetobacter* species from a clinical source. *J Antimicrob Chemother.* 1995;36(3):585-6.
100. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991;35(1):147-51.
101. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45(4):1151-61.
102. Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, Nakashima K, Ito H, Ohsuka S, et al. PCR detection of metallo-beta-lactamase gene (*bla*IMP) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum beta-lactams. *J Clin Microbiol.* 1996;34(12):2909-13.
103. Riccio ML, Franceschini N, Boschi L, Caravelli B, Cornaglia G, Fontana R, et al. Characterization of the metallo-beta-lactamase determinant of *Acinetobacter baumannii* AC-54/97 reveals the existence of *bla*(IMP) allelic variants carried by gene cassettes of different phylogeny. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(5):1229-35.
104. Zhao WH, Hu ZQ. IMP-type metallo-beta-lactamases in Gram-negative bacilli: distribution, phylogeny, and association with integrons. *Crit Rev Microbiol.* 2011;37(3):214-26.
105. Zhao WH, Hu ZQ. Epidemiology and genetics of VIM-type metallo-beta-lactamases in Gram-negative bacilli. *Future Microbiol.* 2011;6(3):317-33.
106. Lee K, Yum JH, Yong D, Lee HM, Kim HD, Docquier JD, et al. Novel acquired metallo-beta-lactamase gene, *bla*(SIM-1), in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(11):4485-91.
107. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, *bla*(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella*

- pneumoniae sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(12):5046-54.
108. Karthikeyan K, Thirunarayan MA, Krishnan P. Coexistence of blaOXA-23 with blaNDM-1 and armA in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from India. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(10):2253-4.
 109. Chen Y, Zhou Z, Jiang Y, Yu Y. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(6):1255-9.
 110. Nakazawa Y, Ii R, Tamura T, Hoshina T, Tamura K, Kawano S, et al. A case of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* transferred from India to Japan. *J Infect Chemother.* 2013;19(2):330-2.
 111. Revathi G, Siu LK, Lu PL, Huang LY. First report of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in East Africa. *Int J Infect Dis.* 2013;17(12):e1255-8.
 112. Pilonetto M, Arend L, Vespero EC, Pelisson M, Chagas TP, Carvalho-Assef AP, et al. First report of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* sequence type 25 in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(12):7592-4.
 113. Bakour S, Touati A, Bachiri T, Sahli F, Tiouit D, Naim M, et al. First report of 16S rRNA methylase ArmA-producing *Acinetobacter baumannii* and rapid spread of metallo-beta-lactamase NDM-1 in Algerian hospitals. *J Infect Chemother.* 2014;20(11):696-701.
 114. Rafei R, Dabboussi F, Hamze M, Eveillard M, Lemarie C, Mallat H, et al. First report of blaNDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* isolated in Lebanon from civilians wounded during the Syrian war. *Int J Infect Dis.* 2014;21:21-3.
 115. Krizova L, Bonnin RA, Nordmann P, Nemecek A, Poirel L. Characterization of a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain carrying the blaNDM-1 and blaOXA-23 carbapenemase genes from the Czech Republic. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(6):1550-2.
 116. Pfeifer Y, Wilharm G, Zander E, Wichelhaus TA, Gottig S, Hunfeld KP, et al. Molecular characterization of blaNDM-1 in an *Acinetobacter baumannii* strain isolated in Germany in 2007. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(9):1998-2001.

117. Bogaerts P, Rezende de Castro R, Roisin S, Deplano A, Huang TD, Hallin M, et al. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in Belgium. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(6):1552-3.
118. Bonnin RA, Poirel L, Naas T, Pirs M, Seme K, Schrenzel J, et al. Dissemination of New Delhi metallo-beta-lactamase-1-producing *Acinetobacter baumannii* in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(9):E362-5.
119. Bonnin RA, Cuzon G, Poirel L, Nordmann P. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clone, France. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(5):822-3.
120. Espinal P, Fugazza G, Lopez Y, Kasma M, Lerman Y, Malhotra-Kumar S, et al. Dissemination of an NDM-2-producing *Acinetobacter baumannii* clone in an Israeli rehabilitation center. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(11):5396-8.
121. Ghazawi A, Sonnevend A, Bonnin RA, Poirel L, Nordmann P, Hashmey R, et al. NDM-2 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in the United Arab Emirates. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(2):E34-6.
122. Kaase M, Nordmann P, Wichelhaus TA, Gatermann SG, Bonnin RA, Poirel L. NDM-2 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* from Egypt. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(6):1260-2.
123. Espinal P, Poirel L, Carmeli Y, Kaase M, Pal T, Nordmann P, et al. Spread of NDM-2-producing *Acinetobacter baumannii* in the Middle East. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(8):1928-30.
124. Poirel L, Dortet L, Bernabeu S, Nordmann P. Genetic features of blaNDM-1-positive Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(11):5403-7.
125. Moellering RC, Jr. NDM-1--a cause for worldwide concern. *N Engl J Med.* 2010;363(25):2377-9.
126. Zmarlicka MT, Nailor MD, Nicolau DP. Impact of the New Delhi metallo-beta-lactamase on beta-lactam antibiotics. *Infect Drug Resist.* 2015;8:297-309.

127. Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(1):24-38.
128. Poirel L, Pitout JD, Nordmann P. Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiol.* 2007;2(5):501-12.
129. Paton R, Miles RS, Hood J, Amyes SG, Miles RS, Amyes SG. ARI 1: beta-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents.* 1993;2(2):81-7.
130. Donald HM, Scaife W, Amyes SG, Young HK. Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA beta-lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(1):196-9.
131. Poirel L, Heritier C, Tolun V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(1):15-22.
132. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(7):1597-606.
133. Heritier C, Poirel L, Fournier PE, Claverie JM, Raoult D, Nordmann P. Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(10):4174-9.
134. Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM, et al. The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett.* 2006;258(1):72-7.
135. Lee YT, Kuo SC, Chiang MC, Yang SP, Chen CP, Chen TL, et al. Emergence of carbapenem-resistant non-baumannii species of *Acinetobacter* harboring a blaOXA-51-like gene that is intrinsic to *A. baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(2):1124-7.
136. Chen TL, Lee YT, Kuo SC, Hsueh PR, Chang FY, Siu LK, et al. Emergence and Distribution of Plasmids Bearing the blaOXA-51-like gene with an upstream ISAbal in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(11):4575-81.

137. Leski TA, Bangura U, Jimmy DH, Ansumana R, Lizewski SE, Li RW, et al. Identification of blaOXA-(5)(1)-like, blaOXA-(5)(8), blaDIM-(1), and blaVIM carbapenemase genes in hospital Enterobacteriaceae isolates from Sierra Leone. *J Clin Microbiol.* 2013;51(7):2435-8.
138. Corvec S, Poirel L, Naas T, Drugeon H, Nordmann P. Genetics and expression of the carbapenem-hydrolyzing oxacillinase gene blaOXA-23 in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(4):1530-3.
139. Olaitan AO, Berrazeg M, Fagade OE, Adelowo OO, Alli JA, Rolain JM. Emergence of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 carbapenemase, Nigeria. *Int J Infect Dis.* 2013;17(6):e469-70.
140. Merino M, Poza M, Roca I, Barba MJ, Sousa MD, Vila J, et al. Nosocomial outbreak of a multiresistant *Acinetobacter baumannii* expressing OXA-23 carbapenemase in Spain. *Microb Drug Resist.* 2014;20(4):259-63.
141. Afzal-Shah M, Woodford N, Livermore DM. Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27, molecular class D beta-lactamases associated with carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45(2):583-8.
142. Heritier C, Poirel L, Aubert D, Nordmann P. Genetic and functional analysis of the chromosome-encoded carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-40 of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(1):268-73.
143. Lolans K, Rice TW, Munoz-Price LS, Quinn JP. Multicity outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing the carbapenemase OXA-40. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(9):2941-5.
144. Da Silva GJ, Quinteira S, Bertolo E, Sousa JC, Gallego L, Duarte A, et al. Long-term dissemination of an OXA-40 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* clone in the Iberian Peninsula. *J Antimicrob Chemother.* 2004;54(1):255-8.
145. Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, Shimojima M, Kirikae T. Dissemination of 16S rRNA methylase ArmA-producing *Acinetobacter*

- baumannii and emergence of OXA-72 carbapenemase coproducers in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(5):2916-20.
146. de Sa Cavalcanti FL, Almeida AC, Vilela MA, de Moraes Junior MA, de Moraes MM, Leal-Balbino TC. Emergence of extensively drug-resistant OXA-72-producing *Acinetobacter baumannii* in Recife, Brazil: risk of clonal dissemination? *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;77(3):250-1.
147. Povilonis J, Seputiene V, Krasauskas R, Juskaite R, Miskinyte M, Suziedelis K, et al. Spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* carrying a plasmid with two genes encoding OXA-72 carbapenemase in Lithuanian hospitals. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(5):1000-6.
148. Goic-Barisic I, Towner KJ, Kovacic A, Sisko-Kraljevic K, Tonkic M, Novak A, et al. Outbreak in Croatia caused by a new carbapenem-resistant clone of *Acinetobacter baumannii* producing OXA-72 carbapenemase. *J Hosp Infect.* 2011;77(4):368-9.
149. Poirel L, Marque S, Heritier C, Segonds C, Chabanon G, Nordmann P. OXA-58, a novel class D {beta}-lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(1):202-8.
150. Koh TH, Sng LH, Wang GC, Hsu LY, Zhao Y. IMP-4 and OXA beta-lactamases in *Acinetobacter baumannii* from Singapore. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59(4):627-32.
151. Poirel L, Mansour W, Bouallegue O, Nordmann P. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Tunisia producing the OXA-58-like carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-97. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(5):1613-7.
152. Higgins PG, Poirel L, Lehmann M, Nordmann P, Seifert H. OXA-143, a novel carbapenem-hydrolyzing class D beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(12):5035-8.
153. Higgins PG, Perez-Llarena FJ, Zander E, Fernandez A, Bou G, Seifert H. OXA-235, a novel class D beta-lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(5):2121-6.

154. Maraskolhe DL, Deotale VS, Mendiratta DK, Narang P. Comparison of Three Laboratory Tests for Detection of AmpC beta Lactamases in Klebsiella Species and E. Coli. J Clin Diagn Res. 2014;8(6):DC05-8.
155. Aktas Z, Kayacan CB. Investigation of metallo-beta-lactamase producing strains of Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii by E-test, disk synergy and PCR. Scand J Infect Dis. 2008;40(4):320-5.
156. Bernabeu S, Poirel L, Nordmann P. Spectrophotometry-based detection of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae. Diagn Microbiol Infect Dis. 2012;74(1):88-90.
157. Hammoudi D, Moubareck CA, Sarkis DK. How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods. J Microbiol Methods. 2014;107:106-18.
158. Hrabak J, Chudackova E, Walkova R. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (maldi-tof) mass spectrometry for detection of antibiotic resistance mechanisms: from research to routine diagnosis. Clin Microbiol Rev. 2013;26(1):103-14.
159. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis. 2012;18(9):1503-7.
160. Dortet L, Poirel L, Errera C, Nordmann P. CarbAcineto NP test for rapid detection of carbapenemase-producing Acinetobacter spp. J Clin Microbiol. 2014;52(7):2359-64.
161. Hrabak J, Chudackova E, Papagiannitsis CC. Detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae: a challenge for diagnostic microbiological laboratories. Clin Microbiol Infect. 2014;20(9):839-53.
162. Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant Acinetobacter baumannii: mechanisms of virulence and resistance. Int J Antimicrob Agents. 2010;35(3):219-26.
163. Eroğlu C, Ünal N, Karadağ A, Yılmaz H, Acuner İÇ, Günaydın M. Çeşitli klinik örneklerden 2006-2011 yılları arasında izole edilen *Acinetobacter* türleri ve

antibiyotik duyarlılıkları. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 2016;73(1):25-32.

164. Xia W, Chen Y, Mei Y, Wang T, Liu G, Gu B, et al. Changing trend of antimicrobial resistance among pathogens isolated from lower respiratory tract at a university-affiliated hospital of China, 2006-2010. *J Thorac Dis.* 2012;4(3):284-91.
165. Navon-Venezia S, Leavitt A, Carmeli Y. High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59(4):772-4.
166. Maragakis LL, Perl TM. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clin Infect Dis.* 2008;46(8):1254-63.
167. Levin AS, Levy CE, Manrique AE, Medeiros EA, Costa SF. Severe nosocomial infections with imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* treated with ampicillin/sulbactam. *Int J Antimicrob Agents.* 2003;21(1):58-62.
168. Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydna E, Lal H, Quale J. Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis.* 2000;31(1):101-6.
169. Urban C, Segal-Maurer S, Rahal JJ. Considerations in control and treatment of nosocomial infections due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis.* 2003;36(10):1268-74.
170. Falagas ME, Kasiakou SK. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Crit Care.* 2006;10(1):R27.
171. Bogiel T, Kwiecinska-Pirog J, Jachna-Sawicka K, Gospodarek E. [Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains]. *Med Dosw Mikrobiol.* 2010;62(2):119-26.
172. Akalın H. Nozokomiyal Pnömoni-II: Tedavisi ve Önleme. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi.* 2004;8:215-24.

173. Principe L, D'Arezzo S, Capone A, Petrosillo N, Visca P. In vitro activity of tigecycline in combination with various antimicrobials against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2009;8:18.
174. Motaouakkil S, Charra B, Hachimi A, Nejmi H, Benslama A, Elmdaghri N, et al. Colistin and rifampicin in the treatment of nosocomial infections from multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J Infect*. 2006;53(4):274-8.
175. Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM, Chong Y. Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol*. 2002;40(10):3798-801.
176. Pitout JD, Gregson DB, Poirel L, McClure JA, Le P, Church DL. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo-beta-lactamases in a large centralized laboratory. *J Clin Microbiol*. 2005;43(7):3129-35.
177. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70(1):119-23.
178. Hayran M, Hayran M. Sağlık Araştırmaları İçin Temel İstatistik. 1. Baskı. Ankara: Omega Araştırma Organizasyon Eğitim Danışmanlık Ltd. Şti. 2011. 25-8.
179. Meric M WA, Caglayan C, Toker K. Intensive care unit-acquired infections: incidence, risk factors and associated mortality in a Turkish university hospital. *Japanese journal of infectious diseases*. 2005;58(5):297-302.
180. Decousser JW, Jansen C, Nordmann P, Emirian A, Bonnin RA, Anais L, et al. Outbreak of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in France, January to May 2013. *Euro Surveill*. 2013;18(31).
181. Vilacoba E, Almuzara M, Gulone L, Rodriguez R, Pallone E, Bakai R, et al. Outbreak of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* indigo-pigmented strains. *J Clin Microbiol*. 2013;51(11):3726-30.
182. Zarrilli R, Di Popolo A, Bagattini M, Giannouli M, Martino D, Barchitta M, et al. Clonal spread and patient risk factors for acquisition of extensively drug-

- resistant *Acinetobacter baumannii* in a neonatal intensive care unit in Italy. *J Hosp Infect.* 2012;82(4):260-5.
183. Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents.* 2013;41(1):11-9.
184. Durante-Mangoni E, Utili R, Zarrilli R. Combination therapy in severe *Acinetobacter baumannii* infections: an update on the evidence to date. *Future Microbiol.* 2014;9(6):773-89.
185. Protic D, Pejovic A, Andjelkovic D, Djukanovic N, Savic D, Piperac P, et al. Nosocomial Infections Caused by *Acinetobacter baumannii*: Are We Losing the Battle? *Surg Infect (Larchmt).* 2016;17(2):236-42.
186. Mengeloğlu FZ, opur iek A, Koçoğlu E, Sandallı C, Budak EE, zgümüş OB. Klinik rneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Sınıf 1 ve 2 İntegron Taşıyıcılığı ve Yeni Bir Gen Kaseti Birlikteliği: blaOXA-11-cmlA7. *Mikrobiyol Bul.* 2014;48(1):48-58.
187. Warner WA, Kuang SN, Hernandez R, Chong MC, Ewing PJ, Fleischer J, et al. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolates obtained from two hospital outbreaks in Los Angeles County, California, USA. *BMC Infect Dis.* 2016;16:194.
188. ECDC Summary of the latest data on antibiotic resistance in the European Union EARS-Net surveillance data November 2016. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/eaad/antibiotics-get-informed/antibiotics-resistance-consumption/Documents/antibiotics-EARS-Net-summary-2016.pdf>.
189. Aral M, Doğan S, Paköz N. eşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotiklere direnç oranlarının araştırılması. *ANKEM Derg.* 2010;24(4):215-19.
190. Gür D, Gülay Z, Arıkan Akan , Aktaş Z, Kayacan Bal , akıcı . Türkiye’de hastane izolatu Gram-negatif bakterilerde yeni beta-laktam antibiyotiklere direnç ve GSBL tipleri: Çok merkezli HİTİT sörveyansının sonuçları. *Mikrobiyol Bul.* 2008;42(4):537-44.

191. Gur D, Hascelik G, Aydin N, Telli M, Gultekin M, Ogulnc D, et al. Antimicrobial resistance in gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007. *J Chemother.* 2009;21(4):383-9.
192. Balkhy HH, Bawazeer MS, Kattan RF, Tamim HM, Al Johani SM, Aldughashem FA, et al. Epidemiology of *Acinetobacter* spp.-associated healthcare infections and colonization among children at a tertiary-care hospital in Saudi Arabia: a 6-year retrospective cohort study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31(10):2645-51.
193. Schwarz S, Johnson AP. Transferable resistance to colistin: a new but old threat. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(8):2066-70.
194. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(2):306-25.
195. Walsh TR, Toleman MA, Hryniewicz W, Bennett PM, Jones RN. Evolution of an integron carrying blaVIM-2 in Eastern Europe: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52(1):116-9.
196. Maspi H, Mahmoodzadeh Hosseini H, Amin M, Imani Fooladi AA. High prevalence of extensively drug-resistant and metallo beta-lactamase-producing clinical *Acinetobacter baumannii* in Iran. *Microb Pathog.* 2016;98:155-9.
197. Lee K, Chong Y, Shin HB, Kim YA, Yong D, Yum JH. Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo-beta-lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clin Microbiol Infect.* 2001;7(2):88-91.
198. Lee K, Lim YS, Yong D, Yum JH, Chong Y. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol.* 2003;41(10):4623-9.
199. Kimura S, Ishii Y, Yamaguchi K. Evaluation of dipicolinic acid for detection of IMP- or VIM- type metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005;53(3):241-4.

200. Walsh TW, Bolmstrom A, Qwarnstrom A, Gales A. Evaluation of a New Etest for Detecting Metallo- β -Lactamases in Routine Clinical Testing. *Journal of Clinical Microbiology*. 2002;40(8):2755-9.
201. Ikonomidis A, Ntokou E, Maniatis AN, Tsakris A, Pournaras S. Hidden VIM-1 metallo-beta-lactamase phenotypes among *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *J Clin Microbiol*. 2008;46(1):346-9.
202. Lee K, Yong D, Yum JH, Lim YS, Bolmstrom A, Qwarnstrom A, et al. Evaluation of Etest MBL for detection of blaIMP-1 and blaVIM-2 allele-positive clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol*. 2005;43(2):942-4.
203. Rossolini GM, Luzzaro F, Migliavacca R, Mugnaioli C, Pini B, De Luca F, et al. First countrywide survey of acquired metallo-beta-lactamases in gram-negative pathogens in Italy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52(11):4023-9.
204. Moghadam MN, Motamedifar M, Sarvari J, Sedigh ES, Mousavi SM, Moghadam FN. Emergence of Multidrug Resistance and Metallo-beta-lactamase Producing *Acinetobacter baumannii* Isolated from Patients in Shiraz, Iran. *Ann Med Health Sci Res*. 2016;6(3):162-7.
205. Aksoy MD, Cavuslu S, Tugrul HM. Investigation of Metallo Beta Lactamases and Oxacilinases in Carbapenem Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Inpatients. *Balkan Med J*. 2015;32(1):79-83.
206. Yong D, Lee Y, Jeong SH, Lee K, Chong Y. Evaluation of double-disk potentiation and disk potentiation tests using dipicolinic acid for detection of metallo-beta-lactamase-producing *pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol*. 2012;50(10):3227-32.
207. Denny B, West P, Panigrahi D. Effects of permeabilizers on antimicrobial susceptibility of *Stenotrophomonas maltophilia* and *Acinetobacter* spp. *J Microbiol Immunol Infect*. 2003;36(1):72-6.
208. Ayres HM, Furr JR, Russell AD. Effect of permeabilizers on antibiotic sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa*. *Lett Appl Microbiol*. 1999;28(1):13-6.

209. Chu YW, Cheung TK, Ngan JY, Kam KM. EDTA susceptibility leading to false detection of metallo-beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* by Etest and an imipenem-EDTA disk method. *Int J Antimicrob Agents*. 2005;26(4):340-1.
210. Bonnet R, Marchandin H, Chanal C, Sirot D, Labia R, De Champs C, et al. Chromosome-encoded class D beta-lactamase OXA-23 in *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(6):2004-6.
211. Osterblad M, Karah N, Halkilahti J, Sarkkinen H, Uhlin BE, Jalava J. Rare Detection of the *Acinetobacter* Class D Carbapenemase blaOXA-23 Gene in *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(5):3243-5.
212. Sevillano E, Gallego L, Garcia-Lobo JM. First detection of the OXA-40 carbapenemase in *P. aeruginosa* isolates, located on a plasmid also found in *A. baumannii*. *Pathol Biol (Paris)*. 2009;57(6):493-5.
213. Esenkaya Tasbent F, Ozdemir M. [The presence of OXA type carbapenemases in *Pseudomonas* strains: first report from Turkey]. *Mikrobiyol Bul*. 2015;49(1):26-34.
214. Bou G, Oliver A, Martinez-Beltran J. OXA-24, a novel class D beta-lactamase with carbapenemase activity in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44(6):1556-61.
215. Poirel L, Le Thomas I, Naas T, Karim A, Nordmann P. Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum beta-lactamase, and the class 1 integron In52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44(3):622-32.
216. Moubareck C, Bremont S, Conroy MC, Courvalin P, Lambert T. GES-11, a novel integron-associated GES variant in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(8):3579-81.
217. Rynga D, Shariff M, Deb M. Phenotypic and molecular characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* isolated from Delhi, India. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2015;14:40.

218. Huang G, Yin S, Xiang L, Gong Y, Sun K, Luo X, et al. Epidemiological characterization of *Acinetobacter baumannii* bloodstream isolates from a Chinese Burn Institute: A three-year study. *Burns*. 2016;42(7):1542-7.
219. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol*. 2006;44(8):2974-6.
220. Vranic-Ladavac M, Bedenic B, Minandri F, Istok M, Bosnjak Z, Francula-Zaninovic S, et al. Carbapenem resistance and acquired class D beta-lactamases in *Acinetobacter baumannii* from Croatia 2009-2010. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33(3):471-8.
221. Hasan B, Perveen K, Olsen B, Zahra R. Emergence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in hospitals in Pakistan. *J Med Microbiol*. 2014;63(Pt 1):50-5.
222. Nowak P, Paluchowska P, Budak A. Distribution of blaOXA genes among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* nosocomial strains in Poland. *New Microbiol*. 2012;35(3):317-25.
223. Sohrabi N, Farajnia S, Akhi MT, Nahaei MR, Naghili B, Peymani A, et al. Prevalence of OXA-type beta-lactamases among *Acinetobacter baumannii* isolates from Northwest of Iran. *Microb Drug Resist*. 2012;18(4):385-9.
224. Bocanegra-Ibarias P, Pena-Lopez C, Camacho-Ortiz A, Llaca-Diaz J, Silva-Sanchez J, Barrios H, et al. Genetic characterisation of drug resistance and clonal dynamics of *Acinetobacter baumannii* in a hospital setting in Mexico. *Int J Antimicrob Agents*. 2015;45(3):309-13.
225. Vahaboglu H, Budak F, Kasap M, Gacar G, Torol S, Karadenizli A, et al. High prevalence of OXA-51-type class D beta-lactamases among ceftazidime-resistant clinical isolates of *Acinetobacter* spp.: co-existence with OXA-58 in multiple centres. *J Antimicrob Chemother*. 2006;58(3):537-42.
226. Çiftçi İH, Aşık G, Karakeçe E, Öksüz L, Yağcı S, Çetin Sesli E, et al. *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında bla OXA Genlerinin Dağılımı: Çok Merkezli Bir Çalışma. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 2013;47(4):592-602.

227. Ahmed SS, Alp E, Ulu-Kilic A, Dinc G, Aktas Z, Ada B, et al. Spread of carbapenem-resistant international clones of *Acinetobacter baumannii* in Turkey and Azerbaijan: a collaborative study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2016;35(9):1463-8.
228. Ergin A, Hascelik G, Eser OK. Molecular characterization of oxacillinases and genotyping of invasive *Acinetobacter baumannii* isolates using repetitive extragenic palindromic sequence-based polymerase chain reaction in Ankara between 2004 and 2010. *Scand J Infect Dis.* 2013;45(1):26-31.
229. Cakirlar FK, Ciftci IH, Gonullu N. OXA-type Carbapenemases and Susceptibility of Colistin and Tigecycline Among Carbapenem-Resistant *Acinetobacter Baumannii* Isolates from Patients with Bacteremia in Turkey. *Clin Lab.* 2015;61(7):741-7.
230. Kulah C, Mooij MJ, Comert F, Aktas E, Celebi G, Ozlu N, et al. Characterisation of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak strains producing OXA-58 in Turkey. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;36(2):114-8.
231. Marque S, Poirel L, Heritier C, Brisse S, Blasco MD, Filip R, et al. Regional occurrence of plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-58 in *Acinetobacter* spp. in Europe. *J Clin Microbiol.* 2005;43(9):4885-8.
232. Marti S, Sanchez-Cespedes J, Blasco MD, Ruiz M, Espinal P, Alba V, et al. Characterization of the carbapenem-hydrolyzing oxacillinase oxa-58 in an *Acinetobacter* genospecies 3 clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(8):2955-8.
233. Sari AN, Bicmen M, Gulay Z. The first report on the outbreak of OXA-24/40-like carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in Turkey. *Jpn J Infect Dis.* 2013;66(5):439-42.
234. Cicek AC, Saral A, Iraz M, Ceylan A, Duzgun AO, Peleg AY, et al. OXA- and GES-type beta-lactamases predominate in extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a Turkish University Hospital. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(5):410-5.

235. Cetinkol Y, Telli M, Altuncekic Yildirim A, Calgin MK. [Evaluation of the efficacy of colistin/sulbactam combination on carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains]. *Mikrobiyol Bul.* 2016;50(3):460-5.
236. Bonnin RA, Nordmann P, Potron A, Lecuyer H, Zahar JR, Poirel L. Carbapenem-hydrolyzing GES-type extended-spectrum beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(1):349-54.
237. Zeka AN, Poirel L, Sipahi OR, Bonnin RA, Arda B, Ozinel M, et al. GES-type and OXA-23 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in Turkey. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(4):1145-6.
238. Lee K, Lee WG, Uh Y, Ha GY, Cho J, Chong Y, et al. VIM- and IMP-type metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean hospitals. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(7):868-71.
239. Uma Karthika R, Srinivasa Rao R, Sahoo S, Shashikala P, Kanungo R, Jayachandran S, et al. Phenotypic and genotypic assays for detecting the prevalence of metallo-beta-lactamases in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a South Indian tertiary care hospital. *J Med Microbiol.* 2009;58(Pt 4):430-5.
240. Da Silva GJ, Correia M, Vital C, Ribeiro G, Sousa JC, Leitao R, et al. Molecular characterization of bla(IMP-5), a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from an *Acinetobacter baumannii* nosocomial isolate in Portugal. *FEMS Microbiol Lett.* 2002;215(1):33-9.
241. Wang H, Guo P, Sun H, Wang H, Yang Q, Chen M, et al. Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese hospitals. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(11):4022-8.
242. Tsakris A, Ikonomidis A, Pournaras S, Tzouvelekis LS, Sofianou D, Legakis NJ, et al. VIM-1 metallo-beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(6):981-3.
243. Bonnin RA, Poirel L, Nordmann P. New Delhi metallo-beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*: a novel paradigm for spreading antibiotic resistance genes. *Future Microbiol.* 2014;9(1):33-41.

244. Roca I, Mosqueda N, Altun B, Espinal P, Akova M, Vila J. Molecular characterization of NDM-1-producing *Acinetobacter pittii* isolated from Turkey in 2006. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(12):3437-8.
245. Espinal P, Mosqueda N, Telli M, van der Reijden T, Rolo D, Fernandez-Orth D, et al. Identification of NDM-1 in a Putatively Novel *Acinetobacter* Species ("NB14") Closely Related to *Acinetobacter pittii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(10):6657-60.
246. Karaaslan A, Soysal A, Altinkanat Gelmez G, Kepenekli Kadayıfci E, Soyletir G, Bakir M. Molecular characterization and risk factors for carbapenem-resistant Gram-negative bacilli colonization in children: emergence of NDM-producing *Acinetobacter baumannii* in a newborn intensive care unit in Turkey. *J Hosp Infect.* 2016;92(1):67-72.
247. Heydari F, Mammina C, Koksall F. NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* ST85 now in Turkey, including one isolate from a Syrian refugee. *J Med Microbiol.* 2015;64(9):1027-9.
248. Ulusoy Al M, Mumcuoğlu İ, Aksu N, Dolapçı İ, Karahan ZC, Baran I, et al. İmipenem Dirençli *Acinetobacter* Suşlarında Metallo-Beta-Laktamaz Üretimini Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2011;41(1):29-36.
249. Köseoğlu Eser Ö, Ergin A, Haşçelik G. Erişkin hastalardan izole edilen *Acinetobacter* türlerinde antimikrobiyal direnç ve metallo-beta-laktamaz varlığı. *Mikrobiyol Bul.* 2009;43(3):383-90.
250. Sarıgüzel Mutlu F, Metan G, Sümerkan B. *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Metallo-Beta-Laktamaz Üretimini ve IMP-1 ve VIM-1 Tipi Genlerin Araştırılması. *Flora.* 2013;18(1):11-9.