

T.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

**KLİNİK KAYNAKLI *Acinetobacter baumannii*
İZOLATLARINDA PATOTİP-REZİSTOTİP-
GENOTİP KÜMELENMESİ VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İNÇİ DENİZ

DANIŞMAN
Doç. Dr. İbrahim Çağatay ACUNER

İstanbul-2018

TEZ ONAYI FORMU

Kurum : Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Program : Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Tez Başlığı : Klinik Kaynaklı *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Patotip-
Rezistotip-Genotip Varlığının Araştırılması

Tez Sahibi : İnci DENİZ

Sınav Tarihi : 28 Kasım 2018

Bu çalışma jürimiz tarafından kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı, Adı-Soyadı (Kurumu)	İmza
Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Turgay İSBİR Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.B.D / Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp A.B.D	
Üye: (Danışman)	Doç. Dr. İbrahim Çağatay ACUNER Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.B.D	
Üye:	Prof. Dr. Arzu ERGEN İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araş. Enstitüsü Moleküler TIP A.B.D	

ONAY

Bu tez Yeditepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun 30/11/2018 tarih ve 2018/20-28 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Bayram YILMAZ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

İnci DENİZ

İTHAF

Çok değerli Hocalarım Prof. Dr. Turgay İsbir'e, Doç. Dr. İbrahim Çağatay Acuner'e
ve Ailem ile Köpeğim Daisy'e ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, tez çalışmalarım boyunca sabır ve içtenlikle bana destek olan Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı çok değerli hocam Prof. Dr. Turgay İsbir'e,

Tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde büyük katkıları olan ve bana yol gösteren Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Doç. Dr. İbrahim Çağatay Acuner'e,

Klinik suşların toplanması ve VITEK MS testlerini bizzat yapmamı sağlayan İstanbul Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı İdari ve Eğitim Sorumlusu Prof. Dr. Sebahat Aksaray ve Fatih Sultan Mehmet Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına,

Enfeksiyon Kontrol Komitesi verilerinin toplanmasındaki değerli yardımlarından dolayı Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Meral Sönmezoğlu'na

Antibiyotik duyarlılık çalışmalarımnda değerli yardımlarından dolayı Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan Dr. Zehra Kipritçi'ye,

Moleküler tiplendirme çalışmalarımnda değerli yardımlarından dolayı bioMérieux Diagnostik A.Ş. Bakteriyoloji Ürün Müdürü Canan Kızılkaya'ya,

Tezimin istatistik analiz aşamasındaki yardımlarından dolayı Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı Başkanı Dr. Öğretim Üyesi Çiğdem Altunok'a,

Hayatım boyunca her zaman, her koşulda yanımda olan ve beni destekleyen canım aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN	iii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
SEMBOLLER ve KISALTMALAR LİSTESİ	x
TÜRKÇE ÖZET	xi
İNGİLİZCE ÖZET	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> 'nin Genel Özellikleri	5
2.1.1. Tarihçe ve Sınıflandırma	5
2.1.2. Mikrobiyolojik Özellikler ve İdentifikasyon	7
2.1.3. Patogenesite ve Virulans	8
2.1.4. Virulans Faktörleri	9
2.2. Hastane İnfeksiyonlarında <i>A. baumannii</i> 'nin Önemi	10
2.3. <i>Acinetobacter baumannii</i> 'nin Epidemiyolojisi	11
2.4. Moleküler Tiplendirme Çalışmalarında Kullanılan Önemli Terimler	16
2.5. Suş Tiplendirme Teknolojisinde Değerlendirilen Kriterler	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	18
3.1. <i>A. baumannii</i> İzolatlarının ve İlişkili Klinik Verilerin Toplanması	18
3.2. Bakteri İzolatlarının Tanımlamaları ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri	18
3.2.1. Cins ve Tür Düzeyindeki Tanımlamalar	19
3.2.2. Tür Tanımlamalarının Doğrulanması ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri	20
3.3. Bakteri İzolatlarının Tiplendirilmesi	23
3.3.1. <i>A. baumannii</i> Bakteri Hücrelerinden DNA Ekstraksiyonu	23
	vi

3.3.2. Jel – Boya Yöntemi	24
3.3.3. DiversiLab rep-PCR Tiplendirme	25
3.4. Bakteri İzolatları, Hasta ve Hastane Verilerinin Derlenmesi	28
3.4.1. Laboratuvar Verilerinin Derlenmesi	28
3.4.2. EKK (Enfeksiyon Kontrol Komitesi) Verilerinin Derlenmesi	29
3.5. İstatistiksel Analiz	29
4. BULGULAR	30
4.1. Bakteri İzolatlarının Genel Bilgileri ve İnfeksiyözite (Patotip; Nozokomiyal Enfeksiyon veya Kolonizasyon Etkeni Olma Durumu) Sonuçları	30
4.2. Bakteri İzolatlarının İdentifikasyon ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri (Rezistotip/Fenotip) Sonuçları	34
4.3. Bakteri İzolatlarının rep-PCR Yöntemi ile Moleküler Epidemiyolojik Tiplendirme (Klonal Genotip) Sonuçları	37
4.4. Bakteri İzolatlarının Patotip (İnfeksiyözite; Enfeksiyon/Kolonizasyon), Rezistotip (Fenotip) ve Genotip Kümelenmesi (İstatistiksel Analiz) Sonuçları	41
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	42
6. KAYNAKLAR	48
7. EKLER	60
7.1. Etik Kurul Kararı	60
8. ÖZGEÇMİŞ	61

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. <i>Acinetobacter</i> Türleri ve Genomik Karşılıkları	6
Tablo 2.2. <i>Acinetobacter baumannii</i> 'nin Uluslararası Yayılım Sergileyen Klonları	12
Tablo 2.3. MLST Yöntemiyle Saptanmış <i>Acinetobacter baumannii</i> Uluslararası Klonların Global Biyocoğrafyaya Göre Dağılımı	15
Tablo 4.1. Klinik kaynaklı <i>A. baumannii</i> İzolatlarının Genel Bilgileri ve Enfeksiyözite (Patotip) Sonuçları	31
Tablo 4.2. Bakteri İzolatlarının Tanımlama (İdentifikasyon) ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri (Rezistotip/Direnç Fenotipi, Direnç Skoru) Sonuçları	35
Tablo 4.3. Bakteri İzolatlarının rep-PCR Yöntemi ile Moleküler Epidemiyolojik Tiplendirme (Klonal Genotip) Sonuçları ve İlişkili Diğer Verileri	39

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. MLST Pasteur Prosedürüne Göre <i>A. baumannii</i> Sekans Tiplerinin “Population Snapshot” Görüntüsü	16
Şekil 3.1. VITEK MS-DS Hedef Slaytları	20
Şekil 3.2. VITEK MS Cihazına Yükleme İşlemi	20
Şekil 3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri Kart İşlemleri	22
Şekil 3.4. Çip Yükleme İstasyonu Ayarları	25
Şekil 3.5. Agilent 2100 Bioanalizör ve Çip Yerleştirip Çıkarma	27
Şekil 3.6. 2100 Expert Software	27
Şekil 4.1. <i>A. baumannii</i> İzolatlarının rep-PCR Yöntemi ile Elde Edilen Moleküler Epidemiyolojik Tiplendirme (Klonal Genotip) Dendrogramı	38

SEMBOLLER ve KISALTMALAR LİSTESİ

- AFLP: “Amplified Fragment Length Polymorphism”
Ark. : Arkadaşları
ATCC: “American Type Culture Collection”
BURST: “Based Upon Related Sequence Types”
C: “Colonization”
CC: “Clonal Complex”
DNA: Deoksiribonükleik asit
EKK: Enfeksiyon* Kontrol Komitesi, İnfeksiyon Kontrol Komitesi (İKK)
3LST: “Trilocus Sequence-Based Typing”
MLST: “Multilocus Sequence Typing”
MLVA: “Multi Locus Variable-number Tandem Repeat Analysis”
MDR: “Multidrug Resistant”
MRSA: “Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*”
NCTC: “National Collection of Type Cultures”
NI: “Nosocomial Infection”
nm: Nanometre
Rep-PCR: “Repetitive-Polymerase Chain Reaction”
PDR: “Pandrug Resistant”
PFGE: “Pulsed Field Gel Electrophoresis”
rpm: “Revolutions per minute”
SLST: “Single Locus Sequence Typing”
SG: “Sequence Group”
ST: “Sequence Type”
V: Volt
VNTR: “Variable-number Tandem Repeats”
VRE: Vancomycin Resistant Enterococcus”
WW: “Worldwide”
µL: Mikrolitre

*Türkçe kaynaklarda, İngilizce “Infection” terimi ve ilişkili türev terimleri, bazen “Enfeksiyon”, bazen de “İnfeksiyon” terimi ve türev terimleri olarak kullanılmaktadır.

ÖZET

Deniz, İ. (2018). Klinik Kaynaklı *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Patotip-Rezistotip-Genotip Kümelenmesi Varlığının Araştırılması. Yeditepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Acinetobacter baumannii, pnömoni, idrar yolu infeksiyonları, septisemi ve menenjit gibi ciddi hastalık tablolarından sorumlu, çoklu ilaç direnci gösteren, nonfermentatif, Gram-negatif bakteridir. Bu çalışmanın amacı, *A. baumannii*'nin, infeksiyözite (patotip), antimikrobiyal direnç fenotipi (rezistotip) ve genotip bakımından kümeleşme özelliklerini araştırmaktır. İstanbul biyocoğrafyasını temsil eden, sekiz ayrı hastaneden, *A. baumannii*'nin, Temmuz – Kasım 2015 tarihleri arasında toplanan izolatları çalışmaya katıldı. Yatan hastalardan izole edilen toplamda 36 *A. baumannii* bakteri izolatından oluşan örneklem kullanıldı. Örneklemin, tür düzeyinde bakteri tanımlaması ve antibiyotik duyarlılık testleri, sırasıyla MALDI-TOF-MS cihazı ve VITEK2 otomatize sistemlerinde, moleküler epidemiyolojik tiplendirme testleri ise otomatize DiversiLab rep-PCR sisteminde yapıldı. Sonuçların kategorik değişkenler arasındaki dağılım farkının analizi için, tek örneklem ki-kare testi ve yerine göre Fisher kesin olasılık testi kullanıldı. Patotip bakımından, 10'u (10/36, %27.7) enfeksiyonu etkeni ve 26'sı (26/36, %72.2) kolonizasyon olarak saptandı. Toplam 25 rezistotip saptandı. Karbapenemlere direnç, %88.8 (32/36) olarak bulundu. Toplamda sekiz genotip kümesi (GK01-GK08) saptandı. GK01 içinde, 30 izolat (%83.3'ü, 30/36) bulundu. GK01 içinde, dört genotip (G01-G04) saptandı. Enfeksiyon izolatlarının tamamı (10/10, %100) GK01 içinde bulundu. Toplam 11 genotip (G01-G11) saptandı. Genotipler arasında, G01'in (14/36, %38.8) baskın olduğu bulundu. Sonuç olarak, İstanbul ilinden elde edilen *A. baumannii* örneklemindeki GK01 genotip kümesi izolatlarının, enfeksiyon patotipi ile istatistik olarak anlamlı düzeyde ilişkili ($p=0.021$) olduğu bulundu. Örnekleimde, "Patotip-Genotip Kümelenmesi" saptandı. "Rezistotip" çeşitliliğinin ise yüksek olduğu, kümelenme sergilemediği gösterildi. "Patotip-Rezistotip-Genotip" incelemeleri sonucunda, GZT hastanesinin çeşitliliği artırıcı ve yayıcı "kaynak", FSM ve HNH hastanelerinin "gider-karşılıklı", diğer hastanelerin ise "gider-kara delik" niteliklerinde olduğu değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, rep-PCR tiplendirme, moleküler epidemiyolojik tiplendirme, kaynak-gider dinamiği

ABSTRACT

Deniz, İ. (2018). Investigation of Pathotype, Resistotype and Genotype Clustering in *Acinetobacter baumannii* Isolates of Clinical Origin. Yeditepe University, Institute of Health Sciences, Department of Molecular Medicine, M.Sc. Thesis, İstanbul.

Acinetobacter baumannii is a nonfermentative, Gram-negative bacterium that has been shown to be a multidrug resistant pathogen responsible for severe infectious diseases such as pneumonia, urinary tract infections, septicemia and meningitis. The aim of this study was to investigate the aggregation properties of *A. baumannii* in terms of infectious (pathotype), antimicrobial resistance phenotype (resistotype) and genotype. A total of 36 *A. baumannii* bacterial isolates collected between July to November 2015 from the patients who were hospitalized in eight hospitals representing the biogeography of İstanbul. Specimen-level bacterial identification and antibiotic susceptibility tests were performed respectively in MALDI-TOF-MS and VITEK2 automated systems and molecular epidemiological typing tests were performed in automated DiversiLab rep-PCR system. The single sample chi-square test and Fisher's exact test were used in statistical analysis. In pathotype analysis, 10 (10/36, 27.7%) were identified as infectious agents and 26 (26/36, 72.2%) were colonization. A total of 25 resistotypes were detected. Resistance to carbapenem antibiotics was 88.8% (32/36). A total of eight genotypes (GC01-GC08) were identified. GC01 contained 30 isolates (83.3%, 30/36). In GC01, four genotypes (G01-G04) were detected. All of the infection isolates (10/10, 100%) were in GC01. A total of 11 genotypes (G01-G11) were detected. Among the genotypes, G01 (14/36, 38.8%) was found to be dominant. In conclusion, the prevalent GC01 genotype cluster of *A. baumannii* isolates collected from eight major hospitals in İstanbul were significantly associated with infection pathotype ($p=0.021$). In the study isolates, pathotype-genotype clustering (i.e. infectivity and GC01) was detected, however, resistotype diversity was found to be high and did not show any clustering. "Pathotype-Resistotype-Genotype" data indicated that GZT hospital might be a "source" for spread, whereas FSM and HNH might be of "sink-reciprocal type", and other hospitals of "sink-black hole type".

Key Words: *Acinetobacter baumannii*, repetitive-PCR typing, molecular epidemiological typing, source-sink dynamic

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2016 yılı verilerine göre, küresel olarak, ölüm nedenleri arasında, hastalık grupları bakımından, enfeksiyon hastalıkları (açk. parazitik hastalıklar dahil) dördüncü (açk. kardiyovasküler hastalıklar birinci, inme ikinci, malign neoplasmlar üçüncü) sıradadır (1a). Aynı verilere göre, hastalıklar düzeyinde ise, alt solunum yolları enfeksiyonları, mortalite nedeni olarak, dördüncü sıradadır (açk. sırasıyla, iskemik kalp hastalıkları, inme, kronik obstruktif pulmoner hastalıktan sonra) (1a); alt solunum yolu enfeksiyonları arasında, özellikle cerrahi, pediatrik ve diğer yoğun bakım birimlerinde oluşan hastane enfeksiyonları, önemli bir orandadır (1b). Bu enfeksiyonlar arasında, sağlık bakımıyla ilişkili enfeksiyonlar ("Healthcare Associated Infections" ya da hastane enfeksiyonları ("Hospital Infections", nozokomiyal enfeksiyonlar, "Nosocomial Infections"), günümüzde alınmakta olan tüm önlemlere karşın, önemli oranda morbidite, mortalite ve sağaltım gideri nedenidir ve bu bakımdan önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (1b).

Günümüzde, küresel ölçekte, her yıl yüz milyonlarca kişinin, sağlık bakımıyla ilişkili enfeksiyonlara maruz kaldığı bildirilmektedir (1b). Sağlık hizmeti alan her on hastadan birisinde, sağlık bakımıyla ilişkili enfeksiyon geliştiği saptanmıştır (1b). Etkili izlem ve önlem programlarının uygulandığı gelişmiş ülkelerde hastane enfeksiyonları % 5-10 oranında görülürken, gelişmekte olan ülkelerde bu oranın % 25'e kadar yükselebildiği bildirilmektedir (1c). Sağlık bütçesinin % 75'e varan oranlarının hastanelerde harcanabildiği bildirilmektedir (2a). Hastane enfeksiyonlarının % 8-10 oranında epidemik (epidemilerin % 10'u psödoepidemik), geri kalanının hiperendemik veya endemik olduğu bildirilmektedir (2b, 2c, 2d). "Endemik" enfeksiyonların üçte birinin ise, yüksek riskli servislerde, hastalar arasındaki çapraz bulaş ile oluştuğu bildirilmiştir (2b). Hastanelerde oluşan "sessiz salgın" biçiminde de anılan hastane enfeksiyonları, etkili izlem ve önlem programlarının uygulanmaya çalışıldığı Amerika Birleşik Devletleri'nde bile yılda 30,000- 88,000 kişinin ölümüne, hastanede yatış süresinin 7-10 gün uzamasına, hasta başına maliyetin yaklaşık olarak 20,000 dolar artmasına (bir nozokomiyal MRSA olgusunun ek maliyeti 31,400 dolar, bir nozokomiyal VRE olgusunun ek maliyeti 83,897 dolar) ve yılda 5-10 milyar dolar ek maliyete neden olmaktadır (1-3).

Hastane infeksiyonu oranları, günümüzde hastane sağlık hizmetlerinde bir kalite indikatörü olarak kullanılmaktadır (4, 5).

Hastane infeksiyonlarının, dirençli bakterilerin ortaya çıkması ve yayılması nedeniyle yerel önemine ek olarak küresel önemi de vardır. Dünyanın herhangi bir yerindeki bir hastanede ortaya çıkan hastane infeksiyonu etkeni dirençli bir bakteri klonunun, global yayılıma yol açabildiği gösterilmiştir (6). Bu türden global yayılımın epidemiyolojik ve ekonomik etkisi, günümüzde halen tam olarak ölçülememektedir (7).

Bu nedenlerle, hastanelerde, ulusal ve uluslararası düzlemde, yapılandırılmış infeksiyon kontrolü ve epidemiyolojisi programlarına gereksinim duyulmaktadır (8-11).

Hastane infeksiyonlarının epidemik olanlarının % 70'nin, endemik olanlarının % 20-32'sinin, yoğun izlem ve infeksiyon kontrolü programları ile önlenebileceği gösterilmiştir (10).

Bu bakımdan, günümüzde, hastanelerde İnfeksiyon Kontrol Komitesi ile Mikrobiyoloji Laboratuvarları tarafından yürütülen infeksiyon kontrolü ve izlemi çalışmalarının yanı sıra, antibiyotik direncinin, toplumdan edinilmiş infeksiyonların ve hastane infeksiyonlarının izlemi için, ulusal (örn. Türkiye'de INFLINE, Almanya'da NIDEP, Amerika Birleşik Devletleri'nde NNIS, vd.) ve uluslararası (örn. EARSS, HARMONY, ENARE, GENE, ENEMTI, vd.) standartlaştırılmış izlem programları da oluşturulmuş ve oluşturulmaktadır (8, 11, 12-22).

Standartlaştırılmış izlem çalışmalarıyla yürütülen infeksiyon kontrol stratejilerinin önemli bir parçasını, üniversitede yerleşik moleküler epidemiyoloji referans laboratuvarları oluşturmaktadır (10).

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında uygulanan moleküler tiplendirme teknikleri ile:

- 1) kolonize ve infekte hastalar arasındaki ilişki,
- 2) kontaminasyon ile infeksiyonun ayırt edilmesi,
- 3) hospitalize hastalar arasındaki bulaşın gösterilmesi,
- 4) reenfeksiyon ile relapsın ayırt edilmesi,
- 5) antimikrobiyal ilaçlara dirençli kökenlerin aynı hastanede veya değişik hastaneler arasında zaman içindeki yayılımı,
- 6) kısa dönemli olarak hastane epidemilerinin saptanması,
- 7) uzun dönemli olarak nozokomiyal infeksiyonların izlenmesi ve
- 8) kısa ve uzun dönemli olarak antibiyotik direncinin izlenmesi sağlanabilmektedir (23, 24).

Moleküler tiplendirme tekniklerinin rutin olarak doğru kullanımını da içeren enfeksiyon kontrol programlarının tıbbi ve ekonomik getirisi (açık. Hacak ve ark.'nın çalışmasında 2 yılda 4 milyon dolar) olduğu gösterilmiştir (25a, 25b).

Günümüzde, izlem çalışmalarının bir parçası olarak epidemiyolojik tiplendirmede, bu amaçlarla, mikrobiyoloji laboratuvarları tarafından yaygın olarak kullanılan belirli yöntem ve teknikler vardır (9).

Özellikle, bakteriyel izolatların ve neden olduğu kolonizasyon veya enfeksiyonlara ait;

- 1) Enfeksiyon Kontrol Komitesi'nin değerlendirmelerine dayalı klinik tanı verilerinin,
- 2) yakın ve/veya uzun dönemli epidemiyolojik-evrimsel ilişkililiği gösteren moleküler epidemiyolojik/evrimsel tiplendirme yöntemlerinin uygulanmasıyla elde edilen genotipik verilerinin,
- 3) tedavi seçeneklerini oluşturan antibiyotiklere dirençlilik durumunu gösteren antimikrobiyal direnç fenotipi verilerinin, birlikte kullanılmasıyla elde edilen: 'çok boyutlu enfeksiyözite-fenotip-genotip uzayı'nda, klinik-epidemiyolojik-evrimsel izlek izlemlerinin yapılabileceği ve bu izleklerin yorumlanmasıyla (açık. "patotip-genotip-fenotip" ilişkisine dayalı kümelenme özelliklerinin incelenmesi ve yorumlanmasıyla), önemli klinik, epidemiyolojik ve evrimsel çıkarımlar yapılabileceği gösterilmiştir (9-11, 23-39, 40, 41).

Tiplendirme tekniklerinin;

- 1) kısa dönemli hastane epidemileri için "hızlı sonuç verebilir" özellikte olmasının,
- 2) uzun dönemli izlem bakımından da "ulusal veya uluslararası düzlemde karşılaştırılabilir" özellikte olmasının, sağlanması mikrobiyoloji laboratuvarının görevleri arasındadır (9-11, 23-29).

Acinetobacter baumannii, günümüzde, hastane enfeksiyonlarına yol açan, sıklıkla çoklu-dirençli ve hatta tüm-droglara dirençli olabildiği için, tedavisinde zorluklarla karşılaşılan ve "ESKAPE grubu" (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri) olarak tanımlanan en önemli bakteriyel enfeksiyon etkenlerinin içinde yer alan bir mikroorganizmadır (42).

Bu çalışmanın amacı, yatan hastaların klinik örneklerinden kolonizasyon veya enfeksiyon etkeni olarak izole edilen, çoklu-dirençli önemli hastane enfeksiyonu etkenlerinden *Acinetobacter baumannii*'nin, enfeksiyözite, antimikrobiyal direnç fenotipi

ve klonal genotip (ak. patotip-rezistotip-genotip) bakımından kümeleşme özelliklerini araştırmak, yorumlamak ve bu temelde, önemli klinik, epidemiyolojik ve evrimsel çıkarımlar yapılabilmesini sağlamaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Acinetobacter baumannii*'nin Genel Özellikleri

2.1.1. Tarihçe ve Sınıflandırma

*Acinetobacter*ler günümüze kadar pek çok farklı şekilde isimlendirilmiş, yapısal ve biyokimyasal özellikleri ile sınıflandırma açısından değişikliğe uğramışlardır. İlk kez Hollandalı mikrobiyolog Beijerinck tarafından, 1911 yılında toprağa kalsiyum asetat katarak hazırlanan zenginleştirilmiş besiyerinde mikroorganizma izole edilmiş ve *Micrococcus calcoeticus* olarak tanımlanmıştır. Sonraki yıllarda, benzer mikroorganizma, *Diplococcus mucosus*, *Micrococcus calcoeticus*, *Alcaligenes haemolysans*, *Mima polymorpha*, *Moraxella lwoffii*, *Herellea vaginicola*, *Bacterium anitratum*, *Moraxella lwoffii glucidolytica*, *Neisseria winogradskyi*, *Achromobacter anitratum* ve *Achromobacter mucosus* gibi adlarla 15'ten fazla farklı cins ve tür olarak tanımlanmıştır. 1954 yılında, Brisou ve Prevot birbirine morfolojik açıdan benzeyen bu mikroorganizmalardan bazılarının hareketsiz olduklarını farketmişler ve Yunanca hareketsiz anlamına gelen 'Akinetos' sözcüğünden yola çıkarak, bu bakterilere 'Acinetobacter' adını vermişlerdir (43).

Acinetobacter cinsi, günümüzde, taksonomik olarak, *Proteobacteria* "phylum"unda, *Gammaproteobacteria* "class"ında, *Pseudomonadales* "order"ında, *Moraxellaceae* familyası içinde, *Moraxella*, *Oligella*, ve *Psychrobacter* cinsleri ile birlikte sınıflandırılmış durumdadır (44). *Acinetobacter* cinsi bakterilerin ilk tanımlanan türü, *Acinetobacter calcoeticus* olmuştur. Türü karakterize eden "Type species" *Acinetobacter calcoeticus* olarak kabul edilmiş ve uluslararası bakteriyel taksonomi nomenklaturünde ve sınıflandırmasında yerini almıştır (45-48). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*'de, *Acinetobacter* cinsi'nde yer alan tam olarak karakterize edilmiş valide türlerin sayısı sekiz olarak belirtilmiş olmakla birlikte, "International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology" (IJSEM) dergisinde yayınlanarak tanımlanan türlere göre, "List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature" veritabanında, sinonimlerle birlikte 62 tür adı yer almıştır (48). Bouvet ve Grimont tarafından, 1986'da, *Acinetobacter* cinsi bakteriler, DNA-DNA hibridizasyon yöntemi kullanılarak farklı genomik türlere ayrılmıştır (49). Devam eden çalışmalarla, Bouvet ve Jeanjean, Tjernberg ve Ursing, ve Nishimura ve ark. tarafından yeni genomik türler de

eklenmiş ve *Acinetobacter* cinsi bakteriler, farklı 12 genomik türde (“*Genomospecies*”) sınıflandırılmıştır. Daha sonra, yeni genomik türler de tanımlanmış ve valide tür sayısı 31’e yükselmiştir; bunların 17’sine valide tür isimleri verilmiştir (50). Henüz tanımlanmamış olan, çevresel ortamlarda yaşayan, birçok türler olduğu düşünülmektedir. Önemli *Acinetobacter* türleri ve genomik karşılıkları Tablo 2.1. 'de gösterilmiştir (50, 51).

Tablo 2.1. *Acinetobacter* Türleri ve Genomik Karşılıkları (50, 51)

İsmlendirilen Türler	Genomik Tür	Kaynak
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1	Toprak ve insanlar (klinik örnekler dahil)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	İnsanlar (klinik örnekler dahil), toprak, et, sebzeler
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	4	İnsanlar (klinik örnekler dahil)
<i>Acinetobacter junii</i>	5	İnsanlar (klinik örnekler dahil)
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	7	İnsanlar (klinik örnekler dahil) ve hayvanlar
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	8/9	İnsanlar (klinik örnekler dahil) ve hayvanlar
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	12	İnsanlar (klinik örnekler dahil), toprak ve pamuk
<i>Acinetobacter baylyi</i>	Tanımlanmamış	Aktif çamur (atık su sistemleri) ve toprak
<i>Acinetobacter bouvetii</i>	Tanımlanmamış	Aktif çamur (atık su sistemleri)
<i>Acinetobacter gernerii</i>	Tanımlanmamış	Aktif çamur (atık su sistemleri)
<i>Acinetobacter grimontii</i>	Tanımlanmamış	Aktif çamur (atık su sistemleri)
<i>Acinetobacter parvus</i>	Tanımlanmamış	İnsanlar (klinik örnekler dahil) ve hayvanlar
<i>Acinetobacter schindleri</i>	Tanımlanmamış	İnsanlar (klinik örnekler dahil)
<i>Acinetobacter tandoii</i>	Tanımlanmamış	Aktif çamur (atık su sistemleri)
<i>Acinetobacter tjernbergiae</i>	Tanımlanmamış	Aktif çamur (atık su sistemleri)
<i>Acinetobacter townneri</i>	Tanımlanmamış	Aktif çamur (atık su sistemleri)
<i>Acinetobacter ursingii</i>	Tanımlanmamış	İnsanlar (klinik örnekler dahil)
<i>Acinetobacter venetianus</i>	Tanımlanmamış	Deniz suyu
İsmlendirilmemiş	3	İnsanlar (klinik örnekler dahil), toprak ve sebzeler
İsmlendirilmemiş	6	İnsanlar (klinik örnekler dahil)
İsmlendirilmemiş	10	İnsanlar (klinik örnekler dahil), toprak ve sebzeler
İsmlendirilmemiş	11	İnsanlar (klinik örnekler dahil) ve hayvanlar
İsmlendirilmemiş	13TU	İnsanlar (klinik örnekler dahil)
İsmlendirilmemiş	13BJ, 14TU	İnsanlar (klinik örnekler dahil)
İsmlendirilmemiş	14BJ	İnsanlar (klinik örnekler dahil)
İsmlendirilmemiş	15BJ	İnsanlar (klinik örnekler dahil)
İsmlendirilmemiş	15TU	İnsanlar (klinik örnekler dahil)
İsmlendirilmemiş	16	İnsanlar (klinik örnekler dahil) ve sebzeler
İsmlendirilmemiş	17	İnsanlar (klinik örnekler dahil) ve toprak
İsmlendirilmemiş	1-3 arasında	İnsanlar (klinik örnekler)
İsmlendirilmemiş	13TU'ya yakın	İnsanlar (klinik örnekler)

Genomik türlerin birincisi *A. calcoaceticus*, ikincisi ise *A. baumannii*'dir. *Acinetobacter* cinsinin 1., 2., 3. ve 13. genomik türleri sakkarolitik özellikte olup oksidasyon fermentasyon besiyerlerinde karbohidratlardan asit oluşturmaktadırlar. Fenotipik özellikleri benzer olduğundan, bu dört tür, daha sonra "*A. calcoaceticus* - *A. baumannii* kompleks" ya da diğer bir adıyla "*Sakkarolitik Acinetobacter*" adı altında

toplanmıştır. Diğer türler ise, "Non-sakkarolitik *Acinetobacter*" olarak tanımlanmıştır (43, 44).

2.1.2. Mikrobiyolojik Özellikler ve İdentifikasyon

Acinetobacter cinsi, non-fermentatif, hareketsiz, zorunlu aeoroptur ve bu cinsin DNA G+C içeriği %39-%47'dir. Flajellaları yoktur, fimbriaları vardır. Oksidaz negatif, katalaz pozitif ve indol negatiftirler. Bir günlük taze kültürlerinde, Gram negatif kokobasil olan bakteriler, sub-kültürlerde ya da penisilinli ortamda Gram negatif basil görünürken, vücut sıvılarında ve katı besiyerlerinde Gram negatif diplokok veya kokobasil olarak görülebilmektedirler. Bu nedenle, *Haemophilus* ve *Neisseriaceae* ailesinde yer alan bakteriler (*Neisseria*, *Kingella*, *Eikenella*) ve *Moraxella* ile karışabilmektedirler (43, 44). Menenjit ve sepsis klinik durumlarında izole edilen *Acinetobacter* spp., *Neisseria meningitidis* ile karışabilirken, kadın genital sisteminden izole edilen *Acinetobacter* spp., *Neisseria gonorrhoeae* ile karışabilmektedir (43, 44, 52).

Genellikle Gram negatif diplokok olarak gözlenmekle birlikte, klinik örneklerin direkt preparatlarında ve pozitif kan kültür şişelerinden hazırlanan preparatlarda, başlangıçta Gram pozitif kok olarak değerlendirildiği belirtilmektedir. Genellikle kapsüllü olan bakteriler, Gram boyama esnasında kristal viyoleyi tutma kapasiteleri olduğundan, yanlışlıkla Gram pozitif olarak tanımlanabilmektedir. Üremenin logaritmik fazında, 1-1,5 x 1,5-2,5 µm boyutlarında basil şeklinde, stasyoner fazında kok şeklinde, daha çok kokobasil, ikişerli, küme halinde veya kısa zincir olarak görülebilmektedir (43, 44, 52). Zor üreyen mikroorganizma değildirler ve besinsel olarak fakir ortamlarda, hatta antiseptiklerin varlığında bile yaşayabilmektedirler. Genel üretim besiyerlerinde, 35-37°C'de kolay üreyebilirler. Kanlı agarda oluşan koloniler, enterobakterilerden daha küçük, opak, gri, pigmentsiz ve S tipindedir. *Acinetobacter haemolyticus* haricindeki türler, kanlı agarda hemoliz yapmazlar. Mac Conkey Agar besiyerinde, renksiz ya da hafif pembe koloniler oluştururlar. Eosin Methylene Blue (EMB) Agar besiyerinde, mavi kantaron çiçeği renginde koloniler oluşturmaktadırlar (43, 44, 52). Bazı *Acinetobacter* türlerinin ise, tirozinli kalp infüzyon agar ve D-glikoz eklenmiş kanlı agar besiyerlerinde, kahverengi renk değişimine neden oldukları bilinmektedir. Üç şekerli demirli besiyeri (TSI; Triple Sugar Iron Agar) ve oksidatif fermentatif besiyerinde, asit oluşturmazlar (43, 44, 52).

Acinetobacter cinsi bakterilerin identifikasyonları; sitokrom oksidaz aktivitesinin olmaması, hareketsizlik ve penisiline direnç temeline dayanılarak, mikrobiyoloji

laboratuvarlarında, konvansiyonel yöntemlerle yapılabilmektedir. *A. baumannii*'nin, hemoliz yapmaması, glukoza oksidatif etkisi ve 44 °C'de üreyebilmesi ile kolayca diğer türlerden ayırt edilebilmektedir.

Acinetobacter identifikasyonunda, rutin mikrobiyolojik yöntemler dışında, otomotize sistemler ve moleküler yöntemler de yer almaktadır. *Acinetobacter*'leri diğer Gram negatif nonfermentatiflerden ayırabilen belirli bir tek metabolik test yoktur; ancak, *Acinetobacter* cinsi üyelerinden bazıları, çok sayıda metabolik testin bir arada yapılabildiği API 20 NE gibi ticari sistemlerin de içinde bulunduğu fenotipik yöntemlerle tanımlanabilir.

Acinetobacter'lerin tür düzeyinde sınıflandırılmasında DNA-DNA hibridizasyon yöntemi, referans standart yöntem olarak kabul edilmekle birlikte, emek isteyen yöntem olduğundan, rutin mikrobiyolojik laboratuvar için uygun değildir. Bu nedenle, *Acinetobacter*'lerin identifikasyonu için; DNA-DNA hibridizasyonu, restriksiyon enzim analizi, genom parmak izi analizi, ribotiplendirme, "tRNA spacer fingerprinting", restriksiyon enzim analizi, sekans analizi, bazı gen kompozisyonlarının amplikon analizi, "multilocus PCR electrospray ionization mass spectrometry" (PCR/ESIMS) gibi farklı moleküler yöntemler vardır (43, 44, 50-52).

2.1.3. Patogenesite ve Virulans

Acinetobacter'ler, özellikle geçmişte, patojenitesi düşük bakteriler olarak kabul edilmişlerdir; konak savunması güçlü olan kişilerde infeksiyon oluşturma potansiyelleri düşüktür; ancak, dış ortamlarda canlı kalabilme, asidik pH ve düşük ısıda üreyebilme yetenekleri ve özellikle son yıllarda artan oranda antimikrobiyal çoğul direnç kazanma kapasiteleri nedeniyle, fırsatçı hastane infeksiyonu veya sağlık bakımı ile ilişkili infeksiyon (Hİ, SBİ; HI, HAI) etkeni olarak karşımıza çıkmaktadırlar (52). SBİ, hastaneye kabulden sonraki üçüncü gün veya sonrasında, tanımlı SBİ türlerinden birisi ile ilgili bir (veya birden fazla) tanı testinin (belirti veya bulgu; klinik, laboratuvar ve/veya görüntüleme) pozitif olarak saptandığı durumda ya da taburcu olunduktan sonraki 30 gün (açk. bazı SBİ türleri için 90-180 gün, hatta bir sistematik derlemeye göre bir yıl) içerisinde tanı testi pozitif bulunduğu, geliştiği kabul edilen infeksiyondur (53-55). Kolonizasyon ve enfeksiyon ayrımı zor olmakla birlikte, risk faktörleri benzerdir. Uzun süre hospitalizasyon, yoğun bakım ünitesinde kalma, cerrahi operasyon, yanıklar, mekanik ventilasyon, idrar sondası, endotrakeal tüp veya trakeostomi varlığı, kateter kullanımı, uzun süreli antibiyotik tedavisi, immün sisteminin baskılandığı hastalıklar ve

konağın yaşı gibi risk faktörleri bulunmaktadır (52). Sağlıklı bireylerde hastalık oluşturma potansiyeli kısıtlı olsa da, virulanslarını artıran çeşitli özellikler mevcuttur. L-ramnoz, D-glikoz, D-glukuronik asit ve D-mannozdan oluşan polisakkarid kapsülün bakterinin yüzeyini daha hidrofilik yapması ve bakteriyi fagositozdan koruması, fimbrialarının epitel hücrelere yapışabilmesi, doku lipidlerini parçalayabilen enzimler üretmeleri, hücre duvarında bulunan lipid A ve lipopolisakkaritlerin potansiyel toksik etkileri, çoğul antimikrobiyal direnç özellikleri ve daha birçok faktörler bunlar arasındadır (43, 52, 56-59).

Acinetobacter'lerin %14 kadarı, slime faktör oluşturabilme yeteneğinde oldukları için, canlı ve cansız yüzeylere nüfuz edebilmekte, özellikle hastane ortamında ve cihazların yüzeyinde uzun süre canlı kalarak infeksiyon etkeni olmaktadır. Antibiyotik direncinden sorumlu bir enzim olan PER-1 β -laktamaz'ın bakterinin virülansını ve mortalitesini arttırdığı bilinmektedir. Üremeleri için gereken demiri, insan vücudundan sağlayabilmeleri de başka virulans özelliklerindedir. Bazı asinetobakterlerin ise aerobaktin gibi sideroforlar ve demirle baskılanabilen dış membran reseptör proteinleri ürettikleri gösterilmiştir (43, 52, 56-59).

2.1.4. Virulans Faktörleri

2.1.4.1. Hücre Yüzey Özellikleri

Bakterilerde, hücre yüzey özellikleri konak dokulara zarar verdiği için, enfeksiyon patogenezi konusunda rolü önemlidir. *Acinetobacter* cinsindeki lipopolisakkarid O antijeni, yapısında bulunan deoksiamino şekerler ve yapılarında bulunan dallanmalar sebebiyle hidrofobik özellik gösterir. *Acinetobacter* ile ilgili çalışmalarda, RAG-1 suşunun, epitel hücrelerine hidrofobik özelliği ile tutunduğu gösterilmiştir. Fimbria ve polisakkarid yapı özelliğinden olduğu belirtilmiştir. Sonraki çalışmalarda ise, yüzey hidrofobisitesi ile kollajen, fibronektin gibi matriks proteinlerine bağlanma özelliği görülmüştür (43, 52, 56-61).

Acinetobacter cinsinin, insan asit sıvısı içinde üremesine sebep olan gen ürünleri, AB307-0294 suşunun oluşturduğu transpozon mutantları ile araştırılmıştır. Kapsül polimerizasyonu oluşması ile ilgili iki genin (ptk ve EpsA) önemi gösterilmiştir. Kapsül pozitif insan asit sıvısı içinde üreyebilirken kapsül negatif mutantların yok olduğu gösterilmiş ve kapsül yapısının virülans faktörleri arasındaki önemi vurgulanmıştır (43, 52, 56-61).

2.1.4.2. Litik/Toksik Bileşik Üretimi

Bir çok *A. baumannii* izolatu, lipopolisakkarid (LPS) üretmektedir ve serum direnci, immün yanıt ile ilgili virülans faktörleri olduğu düşünülmektedir (43, 52, 56-61).

Lipid yıkımı, farelerde letal aktivite oluşturma ve nötrofillere olumsuz etki gibi özellikleri bilinen ekstraselüler enzimler üretebilmek de, *Acinetobacter*'in başka virülanslar özellikleridir. *A.baumannii* kültürünün, apoptoza neden olduğu, ancak formalin ile öldürülmüş bakteriler tarafından böyle bir etkinin oluşturulmadığı gözlenmiştir ve bu bulgu, *A.baumannii*'nin apoptozu harekete geçiren enzimatik etkinliğe sahip olduğu yönünde yorumlanmıştır (43, 52, 56-61).

2.1.4.3. Dokulara Yapışma ve Hasar Oluşturma

Konak ile patojen ilişkisinin birinci basamağı, patojenin konağa tutunmasıdır. Bu tutunmada daha çok fimbria ve membran bileşenleri rol oynar. Bakteriler ile insan hücreleri arasındaki tutunmanın ilk çalışmalarından biri; *Acinetobacter* RAG-1 suşu ve *A.calcoaceticus*'un epitel hücrelerine ve lenfositlere tutunmasının izlenmesidir (43, 52, 56-61).

A.baumannii, 38 kDa moleküler ağırlığına sahip, hücre yapışması ve madde geçişinde görev alan OmpA (AbOmpA) yüzey proteinine sahiptir. Bu protein, ökaryotik hücrelere bağlanarak, epitel hücrelerde apoptoza yol açmaktadır. Epitel hücre ile AbOmpA etkileşimi, immün yanıt açısından önem arz etmektedir (43, 52, 56-61).

2.2. Hastane İnfeksiyonlarında *A. baumannii*'nin Önemi

Acinetobacter türleri, özellikle hastane infeksiyonlarının önemli etkenleri olarak ortaya çıkan, yüksek oranda morbidite ve mortalite nedeni olan fırsatçı patojenlerdir.

“ESKAPE” grubu bakteriyel patojenler olarak adlandırılan, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri içinde yer alır. ESKAPE patojenleri, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde, hastane infeksiyonlarının en sık ve önemli nedenleri olmakla birlikte, antibiyotiklere karşı da çoklu-dirençli (“multidrug resistant”; MDR) veya bazı kökenleriyle tüm droglara dirençli (“pandrug resistant”; PDR) olduklarından, artmış mortaliteye (*A. baumannii* için %28-68 artış; ortalama %35 mortalite) ve morbiditeye, uzamış yatış süresine ve yükselmiş maliyete yol açan infeksiyöz etkenlerdir (42, 62-64). 2010'da, A.B.D.'de, tüm SBİ'lerin %1.8'inin,

Acinetobacter spp.'ye bağı olduğu bildirilmiştir. SBİ bakımından, Avrupa'da, benzer oranlar bildirilmişken, Asya ülkelerinde ve Güney Amerika'da, baskın patojen durumundadır. Asya'da ve bazı Latin Amerika ülkelerinde, bakteremi ve nozokomiyal pnömonide, en sık üç etkenden birisidir. A.B.D.'de, yılda, ortalama 45000 olgu *Acinetobacter* infeksiyonuna maruz kalırken, global olarak, olgu sayısı, yılda, bir milyon düzeyindedir (56).

Günümüzde, bu gruptaki bakterilerle oluşan hastane infeksiyonlarının tedavisinde kullanılacak duyarlı antibiyotik sayısı, son derece sınırlıdır. Özellikle MDR *Acinetobacter baumannii* kökenlerine bağı infeksiyonların tedavisi için, günümüzdeki sınırlı seçenekler arasında; polimiksin (kümülatif doza bağı nefrotoksik ve nadiren nörotoksik olabilmektedir), tigesiklin (duyarlılık testinde sorunlar, tedavi başarısında tartışmalı durum, tedavi sırasında direnç gelişimi, serumda ortalama tepe konsantrasyonunda düşüklük sorunları), sulbaktam (etkili görünmekle birlikte literatürde yeterli kanıt gücü henüz yoktur), rifampisin (çabuk direnç gelişimi ve kombine kullanım gereksinimi, kombine kullanımda etkili görünmekle birlikte literatürde yeterli kanıt gücü henüz yoktur), minosiklin (umut vericidir, ancak, literatürde yeterli kanıt gücü henüz yoktur), sürekli iv antibiyotik infüzyonu (umut vericidir, ancak, literatürde yeterli kanıt gücü henüz yoktur), antibakteriyel peptidler (umut vericidir, ancak, literatürde yeterli kanıt gücü henüz yoktur), kombine antibiyotik kullanımı (literatürde en başarılı görünen kolistin ile birlikte kullanımdır) yer almakla birlikte, bu seçeneklerin ya kullanımı engelleyen diğere sorunları vardır veya literatürde yeterli kanıt gücü henüz yoktur. Yeni geliştirilmekte olan antibiyotikler veya alternatif tedavi yöntemleri olmakla birlikte, henüz klinik kullanım evresine gelmiş yeni bir drog veya yöntem yoktur (65-73).

Antibiyotiklere dirençli etkenlerle gelişen infeksiyonların, yıllık maliyetinin, Avrupa'da 1.5 milyar Euro, A.B.D.'de 16 milyar USD olduğu tahmin edilmektedir (74).

2.3. *Acinetobacter baumannii*'nin Epidemiyolojisi

Acinetobacter baumannii'nin antibiyotik dirençli kökenlerinin Avrupa'daki epidemiyolojisi incelendiğinde, kuzeyden güneye doğru artan sıklıkta dirençle karşılaşıldığı ("north-south gradient"; karbapenem dirençli kökenlerin % oranı; %4 - %85) saptanmıştır (66-69, 75-80). *Acinetobacter baumannii*'nin tedavisinde en etkili droglar olan karbapenemlere ve kolistine karşı, sırasıyla, en az, 11 ve 5 direnç mekanizması saptanmıştır (66-69, 75-80). Literatürde, 2003 yılından bu yana, Avrupa'da,

karbapenem-dirençli *Acinetobacter baumannii*'nin neden olduğu, en az 13 epidemi bildirilmiştir; bunlardan birisi Türkiye'dendir (66-69, 75-80). Literatürde, PDR *Acinetobacter baumannii*'nin neden olduğu epidemiler de bildirilmiştir (79, 80). *Acinetobacter baumannii*'nin moleküler epidemiyolojisine yönelik olarak, 2001 yılından bu yana bildirilmiş olan, Türkiye kaynaklı veya Türkiye kökenleriyle yapılmış birçok araştırma vardır (81-111).

Acinetobacter baumannii'nin moleküler epidemiyolojik tiplendirmesinde kullanılabilen birden çok yöntem vardır: AFLP (uluslararası klonlar I-III'ün tanımlanması için altın standart), PFGE (klonalite araştırması için altın standart), MLVA (VNTR analizi) (lokal epidemiyoloji), rep-PCR (DiversiLab™) (lokal ve global epidemiyoloji; global klon 1-8'in saptanmasında kullanılabilir), SLST, 3LST, (lokal ve global epidemiyoloji), PubMLST (popülasyon yapısı araştırması; klonal kompleksler, klonlar, sekans tipleri; global epidemiyoloji ve uzun dönemli evrimsel dinamikler), Pasteur's MLST (popülasyon yapısı araştırmasında altın standart), PCR/ESI-MS (lokal epidemiyoloji), plazmid tiplendirmesi (rezistom analizi), direnç adacığı tiplendirmesi (rezistom analizi), NG-WGS (filogenetik analiz; uzun dönemli evrimsel dinamikler, çekirdek ve aksesuar genom analizi, lokal epidemiyoloji için SNP analizi, rezistom analizi, global ve lokal epidemiyoloji) (77, 112-114).

Acinetobacter baumannii'nin, moleküler epidemiyolojik tiplendirme yöntemleriyle saptanmış olan ve uluslararası yayılım sergileyen klonları (ve farklı tiplendirme yöntemlerindeki karşılıkları) Tablo 2.2.'de gösterilmiştir (77).

Tablo 2.2. *Acinetobacter baumannii* 'nin Uluslararası Yayılım Sergileyen Klonları (77)

AFLP (EU)	Pasteur's MLST ^a	PubMLST ^a	3LST	Diversilab™
I	CC1(14)	CC109(18)	SG2	WW1
II	CC2(13)	CC92(45)	SG1	WW2
III	CC3(4)	CC110(8)	SG3	WW3
	ST25		SG4	WW7
Küme A	CC15(5)	CC103(6)	SG5	WW4
	ST78		SG6	WW6
Küme B	CC10(3)		Alel Profil 3/2/8 ^b	WW8
Küme 6	CC32(4)			

Küme C	ST52	
	CC79(11)	CC113(18)
<p>AFLP: amplified fragment length polymorphism; MLST: Multilocus sequence typing; 3LST: trilocus sequence-based typing; EU: European clone (based on AFLP typing) (“International Clone”), CC: clonal complex; ST: sequence type; SG: sequence group; WW: worldwide clone.</p> <p>^aCC'ler en yaygın klona göre numaralandırılmıştır. ST'ler, tekil olduğunda belirtilmiştir. MLST veri tabanlarının eBURST analizi ile her bir CC için tanımlanan ST'lerin sayısı, parantez içinde belirtilmiştir.</p> <p>^bMikroepidemik suşlar oldukları için, allelic profili 3/2/8 olan suşlara, SG atanmamıştır.</p>		

Bilgimize göre, literatürde, Türkiye’de yaygın olan *Acinetobacter baumannii* uluslararası klonlarını, uluslararası global epidemiyolojik karşılaştırmayı sağlayabilecek olan moleküler epidemiyolojik tiplendirme yöntemleriyle (kütüphane tiplendirme sistemleri) belirlemiş yalnızca üç çalışma vardır, ancak bu çalışmaların ikisi tek merkezlidir (98, 109, 115). Metan ve ark. (98), yaptıkları araştırmada, bir üniversite hastanesinde (Kayseri), MLST ve AFLP yöntemleriyle (CC2:ST2/AFLP-Clone Unclassified, CC2:ST2/AFLP-Clone II, CC2:ST2/AFLP-Clone II, ST109/AFLP-Clone Unclassified, CC15:ST84/AFLP-Novel clone, CC1:new ST/AFLP-Clone I) ve antibiyotik direnç özellikleriyle (MDR, XDR, karbapenem direnci, OXA-51, OXA-58) 6 ayrı klonal grup saptamışlar ve “CC15:ST84/AFLP-Novel clone”un baskın olduğunu (41/100) belirlemişlerdir. Gülbudak ve ark. (109), yaptıkları araştırmada, bir üniversite hastanesinde (Mersin), rep-PCR (DiversiLab™) tekniği ile, sekiz (A-H) farklı klon saptamış ve A klonunun baskın tip olduğunu (%72, 54/75) belirlemişlerdir. Literatürde, Türkiye izolatlarında, karbapenem direncine neden olan mekanizmalar arasında, OXA-23, OXA-58 ve OXA-51 bildirilmiştir (77, 98). Ayrıca, Karah ve ark.’nın derlemesinde, uluslararası koleksiyonlarda bulunan en az iki Türkiye kökeninin (MSLT-Pasteur-C54/99 ve MLST-Pasteur-C83/109) Avrupa klonları arasında yer aldığı görülmektedir (76). Son olarak, Türkiye ve Azerbaycan biyocoğrafyalarında, dolaşımdaki klonları (invazif izolatlar; n=112, kan kültürü örnekleri) pan-European endemik klonları (“International Clones”) (EU Clone I, II, III) ile karşılaştırmalı olarak inceleyen çok merkezli (toplamda 11 hastane) bir araştırmada, EU klonu II, yalnızca Kayseri ve Diyarbakır bölgelerinde

yaygın olarak (15 izolat) bulunurken, EU klonu I, Antalya, İstanbul ve Erzurum’da birer izolat olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada, EU III klonu, saptanmamıştır (115).

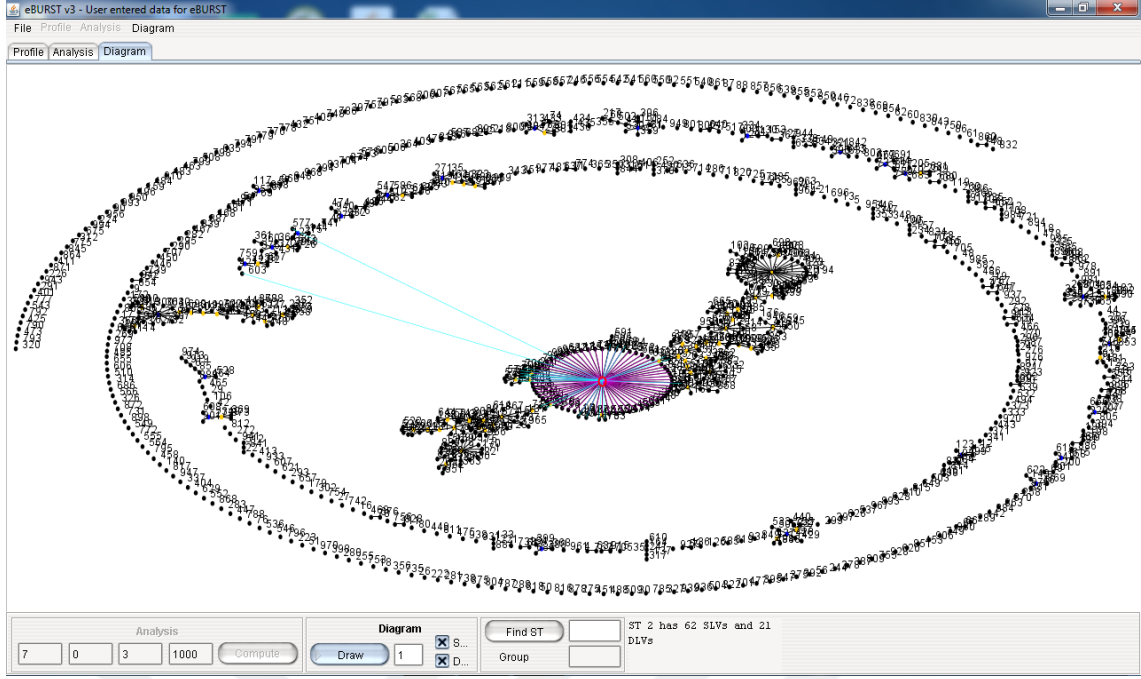
Acinetobacter baumannii uluslararası klonları, uluslararası global epidemiyolojik karşılaştırmayı sağlayabilecek olan moleküler epidemiyolojik tiplendirme yöntemleriyle (kütüphane tiplendirme sistemleri) incelendiğinde, global olarak, PubMLST veritabanının eBURST analizine göre, 7 farklı ST ile 21 klonal kompleks (CC), Pasteur’s MLST veritabanının eBURST analizine göre ise, 176 farklı ST ile 20 klonal kompleks (CC) saptanmıştır (77). Bunların, global biyocoğrafyaya göre ayrıntılı dağılımı Tablo 2.3.’de gösterilmiştir (76).

MLST Pasteur prosedürüne göre (<https://pubmlst.org/abaumannii/>), *Acinetobacter baumannii* sekans tiplerinin (1267 tipten ilk 1000 tip için) veritabanından alınan güncel verinin, eBURST v3 yazılımı (<http://eburst.mlst.net/v3>) ile (maksimum 1000 sekans tipi analiz edilebilmektedir) yaptığımız “population snapshot” incelemesinde, ST2’nin, “Founder ST” olduğu (62 SLV, 21 DLV) ve popülasyonun tümünde 86 grup (CC) olduğu saptanmıştır (Şekil 2.1.).

Tablo 2.3. MLST Yöntemiyle Saptanmış *Acinetobacter baumannii* Uluslararası Klonların Global Biyocoğrafyaya Göre Dağılımı (76)

<i>A. baumannii</i> Klonu	Biyocoğrafya Dağılımı
CC92 ^B /CC2 ^P	Uluslararası Klon Avrupa, Asya, Afrika, Avustralya, ABD, Güney Amerika
CC109 ^B /CC1 ^P	Uluslararası Klon Avrupa, Asya, Afrika, Avustralya, Orta Doğu, ABD, Güney Amerika
CC131 ^B	Kuzey ve Güney Amerika Klonu Arjantina, Brazilya, ABD
CC187 ^B /CC3 ^P	Uluslararası Klon ABD, Lübnan
CC104 ^B /CC15 ^P	Uluslararası Klon Avrupa, Güney Amerika ve 1 izolat Pakistan
CC20 ^B	Uluslararası Klon Avrupa, Asya ve Afrika
ST25 ^P	Uluslararası Klon Avrupa, Asya ve ABD
CC10 ^P	Uluslararası Klon Avrupa, Avustralya
CC110 ^B	Uluslararası Klon Kore, Arjantina, ABD
CC32 ^P	Avrupa Klonu İsveç, Danimarka, İspanya, Portekiz
CC119 ^B	Uluslararası Klon Kore, Arjantina, Tayland
CC69 ^B	Uluslararası Klon Kore, Avustralya
CC222/228/229 ^B	Uluslararası Klon Brazilya, Japonya
ST17 ^B	Uluslararası Klon Almanya, Çin, Kore
CC105 ^P	Uluslararası Klon Çek Cumhuriyeti, Çin
CC34/120/130 ^P	Uluslararası Klon Japonya, Tayvan, İsveç
CC54/99 ^P	Avrupa Klonu Yunanistan, Türkiye
ST19 ^B	Avrupa Klonu Almanya, Birleşik Krallık
ST73 ^B	Uluslararası Klon Avustralya, Kore
ST184 ^B	Asya Klonu Çin, Kore
CC80/360 ^B	Asya Klonu Japonya, Kore
CC87/253 ^B	Uluslararası Klon Japonya, Birleşik Arap Emirlikleri
ST5 ^P	Avrupa Klonu Polonya, İsveç
CC6/85 ^P	Avrupa Klonu Birleşik Krallık, Yunanistan
CC83/109 ^P	Avrupa Klonu Türkiye, İsveç
ST49 ^P	Uluslararası Klon ABD, Hollanda

B: Bartual şemasına göre, P: Pasteur şemasına göre.



Şekil 2.1. MLST Pasteur prosedürüne göre *Acinetobacter baumannii* Sekans Tiplerinin “Population Snapshot” Görüntüsü (eBURST v3)

Global (uluslararası) biyocoğrafyada yayılım gösteren (epidemisite) başarılı klonal genotiplerin, bu başarılarının nedeninin, virulans ve antimikrobiyal direnç genlerini horizontal gen transferi yolu ile kazanmasını sağlayan genom esnekliği olduğu belirtilmiştir (76).

Bu çalışmada ise, literatürde yer alan çalışmalardan farklı olarak, İstanbul ilinde, sekiz hastanede yatan hastaların klinik örneklerinden, kolonizasyon veya infeksiyon etkeni olarak izole edilen *Acinetobacter baumannii* kökenlerinin; “infeksiyözite/ antimikrobiyal direnç fenotipi/klonal genotip” (patotip-rezistotip-genotip) bakımından kümeleşme özellikleri araştırılmış ve bu temelde; “klinik, epidemiyolojik ve evrimsel çıkarımlar” yapılmıştır (40, 41).

2.4. Moleküler Tiplendirme Çalışmalarında Kullanılan Önemli Terimler*

Epidemiyolojik Tiplendirme Sistemi; fenotipik veya genotipik özellikler temel alınarak aynı mikroorganizma türü veya taksonuna dahil olup epidemiyolojik anlamda ilişkisiz izolatlar arasında ayırım sağlayan, aynı salgın veya bulaş zincirinden elde edilen ve tek bir ortak atadan gelen izolatların yakın ilişkisini saptayan sistemdir.

İzolat; Bir izolasyon plağındaki tek koloniden üretilmiş, tür seviyesinde identifikasyonu yapılmış saf kültür popülasyonudur.

Suş (Köken); Aynı türün diğer izolatlarından farklı fenotipik veya genotipik özellikler sergileyen izolat ya da izolatlar grubudur.

Salgın suşu; Aynı türün epidemiyolojik ve genetik olarak ilişkili olan izolatlarıdır. Ortak fenotip ve genotipe sahip olmaları ve belirli zaman diliminde izole edilmeleri, bu izolatların klonal olarak ilişkili olduğunu düşündürür.

Referans suş; İleride yapılacak olan çalışmalar için saklanan, iyi tanımlanmış suştur.

Tip; Belirli bir tiplendirme sistemine göre, bir suşun sergilediği spesifik bir özelliktir.

Klon; Aynı atadan gelen, genetik olarak aynı organizmadır.

Epidemiyolojik olarak ilişkili izolatlar; Belli bir yer ya da belli zaman diliminde hasta, kullanılan eşya ya da çevreden toplanan örneklerin kültüründen elde edilmiş, aynı kaynaktan geldikleri düşünülen izolatlardır.

2.5. Suş Tiplendirme Teknolojisinde Değerlendirilen Kriterler*

Ayrım gücü; Ayırt edilemeyen veya yakın ilişkili suşların, klonal olup olmadığını ve aynı bulaş zincirinde yer alma olasılıklarını tanımlar. Tiplendirme sistemlerinde anahtar özelliğindedir.

Tekrarlanabilirlik; Aynı suş tekrar test edildikten sonra, aynı sonuçların elde edilme kapasitesini tanımlar.

Stabilite; Klonal izolatların zamanla aynı tipi gösterebilme olasılığını tanımlar.

Tiplendirilebilirlik; Moleküler tiplendirme sistemiyle genotipi belirlenmiş izolatların oranıdır.

Epidemiyolojik Uyum; Tiplendirme sisteminin bir salgına ait epidemiyolojik ilişkili tüm izolatları aynı klon içinde sınıflandırma kapasitesidir.

*Daha detaylı tanımlar ve ilgili diğer tanımlar için, 31 numaralı kaynağa ve ilgili kongre sunumunun geniş versiyonuna (v5) başvurulması önerilir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. A. *baumannii* İzolatlarının ve İlişkili Klinik Verilerin Toplanması

İstanbul ilinin biyocoğrafyasını (Asya yakası; ancak, çalışmaya katılan hastanelere yatan olguların, en azından konak faktörleri açısından, ilin her iki yakasını da temsil edebildiği varsayılmıştır) temsil etmek amacıyla, sekiz ayrı hastaneden (altısı üçüncü basamak sağlık hizmeti kurumu, ikisi ikinci basamak sağlık hizmeti kurumu), *Acinetobacter baumannii*'nin, Temmuz – Kasım 2015 tarihleri arasında toplanan izolatları çalışmaya katılmıştır. Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde ($n=23$), Fatih Sultan Mehmet Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde ($n=8$), Yeditepe Üniversitesi Hastanesi'nde ($n=5$), Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde ($n=4$), Üsküdar Devlet Hastanesi'nde ($n=3$), Beykoz Devlet Hastanesi'nde ($n=2$), Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde ($n=1$), Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde ($n=1$) yatmış olan hastalardan, toplam dört aylık periyotta izole edilerek tekrarlardan belirli bir yöntemle arındırılmış (12, 13) (açk. tekrar izolatlarında arındırma ölçütlerine [30 gün içinde tekrar izole edilen ve antibiyotik duyarlılık fenotipinde iki ve daha az değişiklik gösterenler] göre, 11 izolat çalışma dışı bırakılmıştır), toplamda 36/47 bakteri izolatından oluşan örneklem kullanılmıştır. Çalışmaya alınan izolatlar, stok kültür besiyerinde (Brain-Heart Infusion Broth) -70°C 'de saklanmıştır. Çalışmada, *Acinetobacter baumannii* referans (tip) kökeni de kullanılmıştır. (Bouvet and Grimont, ATCC® 19606™, Strain Designation: 2208 [81, DSM 6974]/Type Strain/Biosafety Level: 2, Quality control strain for bioMerieux Vitek and Sensititre products, BioMerieux, Fransa).

3.2. Bakteri İzolatlarının Tanımlamaları ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Klinik kaynaklı bakteri izolatlarının, cins ve tür düzeyindeki identifikasyonları, doğrulamalarının yapılması ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması için, sırasıyla, VITEK MALDI-TOF (BioMerieux, Fransa) cihaz sistemi ve VITEK2 Compact Automated Microbiology System (BioMerieux, Fransa), VITEK® 2 GN ID kartı, AST-N326 kartları kullanılmıştır (116, 117).

Bütün klinik örnekler, %5 Koyun Kanlı Agar besiyerlerine ekilmiştir. 37°C 'de, 18-24 saatlik inkübasyon sonunda, koloni morfolojileri ve Gram boyama ile mikroskopik morfolojileri incelenmiştir. Cins ve tür düzeyindeki identifikasyonları için, VITEK

MALDI-TOF MS (BioMerieux, Fransa) cihaz sistemi kullanılmıştır. İzolatlar, antibiyotik duyarlılık testleri ve moleküler epidemiyolojik tiplendirme çalışmaları yapıldıktan sonra, saklama besiyerine (Brain-Heart Infusion Broth) alınarak -70°C’de dondurulmuştur.

3.2.1. Cins ve Tür Düzeyindeki Tanımlamalar

3.2.1.1. VITEK MALDI-TOF MS (Biomerieux, Fransa) Cihazı ile Yapılan Tanımlamalar

VITEK MALDI-TOF MS, matriks yardımcı lazer desorpsiyon iyonizasyon, uçuş zamanı yöntemini kullanan bir kütle spektrometresidir (matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry). Matriks içerisinde, alfa siyano 4 hidroksi sinnamic acid (HCCA) ve solvent olarak trifluoroasetik asit (TFA) ve asetonyitril (ACN) bulunmaktadır. Bu matriks ve izolat, hedef slayt üzerinde karıştırıldıktan sonra lazer ışınları atışı uygulanır. Her bir lazer atımında iyonların patlaması sağlanmış olur. Cihaz, VITEK MS veri alım istasyonuna, seri veya kamera portlu USB ile bağlanır (116).

3.2.1.2. Kullanılan Materyaller

Kalibrasyon suşu: *Escherichia coli* ATCC® 8739 (Bkz “Ek C: Saklama ve Kullanma Protokolü Günlük kalibrasyon için E.coli ATCC® 8739”).

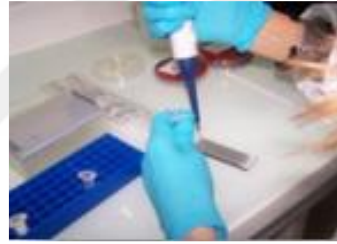
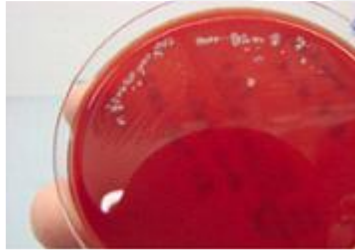
- VITEK MS-CHCA matriksi (Ref. 411071).
- VITEK MS-FA formik asit (Ref. 411072).
- VITEK MS-DS hedef slaytları (Ref. 410893).
- Kalibre özeler (1 µL).
- Hassas mikropipet (0.5-2 µL).
- Filtresiz steril renksiz pipetler.

-70°C’de dondurulmuş bütün klinik örnekler oda sıcaklığına gelene kadar bekletilip çözüldükten sonra %5 Koyun Kanlı Agar besiyerlerine ekilmiştir. 37 °C’de, 18-24 saatlik inkübasyon sonunda, 1 µL’lik öze yardımıyla, uygun bir koloni parçası alınarak, ince bir tabaka şeklinde, hedef slaytlarda bulunan kuyucuğun merkezine uygulanmıştır (Şekil 3.1.). Kullanılan öze atılmıştır.



Şekil 3.1. VITEK MS-DS Hedef Slaytları (116)

VITEK MS-CHCA matriksini içeren mikrotüp açılıp, tam olarak 1.0 µL matriks, kuyucuğun merkezine eklenmiştir. Pipet ucu atılmıştır. Matriks/mikroorganizma süspansiyonu tamamen kurumaya bırakılmıştır. Beş dakika kadar sonra, kuyucuklar üzerinde kristalleşme olup olmadığı kontrol edilmiştir. Hedef slaytlar adaptöre yerleştirilip, adaptör VITEK MS cihazına yüklenmiştir ve test başlatılmıştır (Şekil 3.2.) (116).



Şekil 3.2. VITEK MS Cihazına Yükleme İşlemi (116)

Cihaz içerisinde, lazer ışınları ile vuruşlar yapıldıktan sonra matriks ışığı emdiği için cihaz içerisine yerleştirilen izolatlar, iyonize moleküller (proteinler) haline dönüşmüştür. Uçuşan moleküller bir detektör yardımı ile toplanmıştır. Genellikle, tek yükü olan yalnızca tek bir iyonize tür oluşmuş ve “Biotyper” ile mikroorganizma tiplendirmeleri yapılmıştır. İşlem yaklaşık olarak 13-15 dk içerisinde gerçekleşmiştir.

3.2.2. Bakteri Tür Tanımlamalarının Doğrulanması ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri (Rezistotip, R ve Antimikrobiyal Direnç Skoru, Rs)

VITEK2 Compact Automated Microbiology System (BioMérieux, Fransa) cihazında, antibiyotik duyarlılık testleri çalışılmıştır.

Tür tanımlamalarının doğrulanması için, -70°C’de dondurulmuş klinik örnekler oda sıcaklığına gelene kadar bekletilip çözüldükten sonra %5 Koyun Kanlı Agar besiyerlerine ekilmiştir. 37 °C’de, 18-24 saatlik inkübasyon sonunda, 3-4 koloni seçilerek, 3.0 mL steril tuzlu su dolu steril cam tüpe inoküle edilip vorteks yardımıyla

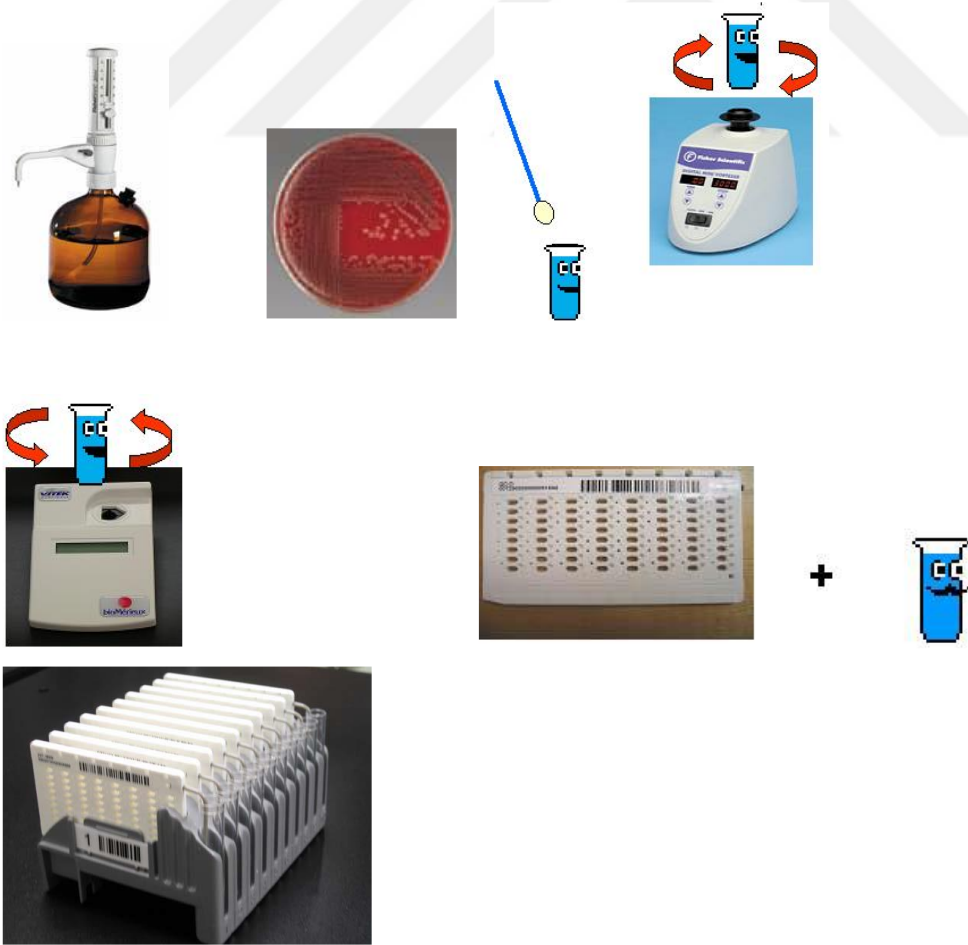
homojen bir hale getirilmiştir. DensiCHEK Plus (BioMerieux, Fransa) cihazı kullanılarak 0.50-0.63 McFarland bulanıklık standardı değerinde inokulum yoğunluğu içeren bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Süspansiyon tüpü ve VITEK® 2 GN ID kartı kasete yerleştirilip VITEK2 Compact Automated Microbiology System (BioMérieux, Fransa) cihazına kaydedilip yüklenilmiştir. Cihaz her 15 dakikada bir kolorimetrik okuma yaparak çalışmaktadır. Yaklaşık 8-12 saatlik inkubasyon süresi içinde *A. baumannii* tanımlamaları doğrulanmıştır.

A. baumannii olarak doğrulan klinik örneklerin, antibiyotik duyarlılıkları, AST-N326 (bioMérieux, Fransa) antimikrobiyal duyarlılık kartı ile çalışılmıştır. Klinik örnekler, %5 Koyun Kanlı Agar besiyerlerine ekilip 37 °C’de, 18-24 saatlik inkübasyon sonunda, 3-4 koloni seçilerek, 3.0 mL steril tuzlu su dolu steril cam tüpe inoküle edildikten sonra, organizma süspansiyonu, vorteks yardımıyla homojen bir hale getirilmiştir. DensiCHEK Plus (BioMerieux, Fransa) cihazı kullanılarak, 0.50-0.63 McFarland bulanıklık standardı değerinde inokulum yoğunluğu içeren bakteri süspansiyonu hazırlanıp AST-N326 (bioMérieux, Fransa) antimikrobiyal duyarlılık testi kartlarına ekilmiştir. Okunması için süspansiyon tüpü ve kartlar, VITEK2 Compact Automated Microbiology System (BioMérieux, Fransa) cihazına kaydedilip yüklenilmiştir (Şekil 3.3.) (117). Cihaz, her 15 dakikada bir türbidimetrik (bulanıklık ölçerek logaritmik hesap) okuma yaparak çalışmaktadır. Sekiz saatlik inkübasyondan sonra, *A. baumannii* antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları rapor olarak alınmıştır.

Rezistotiplerin saptanması için, klinik kaynaklı 36 adet *Acinetobacter baumannii* izolatında, toplamda, duyarlılığı test edilen 17 antibiyotik (EUCAST Antibiyotik Duyarlılık Testi önerilerine göre, *Acinetobacter baumannii* için, MİK kesim değerine dayalı kategorik yorumla test edilmesi önerilen 10 antibiyotikten, 10’u da test edilmiştir; fazladan test edilen yedi antibiyotik yalnızca, epidemiyolojik amaçlı olarak ayırıştırma gücünü artırıcı duyarlılık patern profili elde edilmesi amacıyla çalışmaya katılmıştır; bu antibiyotiklerden üçü “IE” (“Insufficient Evidence”; tedavide kullanım amacıyla kesim değeri için henüz yetersiz kanıt varlığı) grubundadır. Antibimikrobiyal Direnç Fenotipi, “Resistotype”, R, “Resistance Phenotype”; her bir izolat için, 17 antibiyotiğin duyarlılık testi sonuçlarının (kategorik yorum ölçütlerine göre; Dirençli=2, Arada=1, Duyarlı=0) bütününden oluşan patern profilinde, diğer izolatların paternlerine kıyasla, en az bir antibiyotikte bir yorum kategorisi farkı saptanması durumunda, farklı rezistotip kabul edilmiştir. Rezistotiplerin saptanması için test edilen 17 antibiyotik şunlardır

(“EUCAST+ Paneli” veya “Global Panel”): AN*: Amikasin, ATM***: Aztreonam, CAZ***: Seftazidim, CIP*: Siprofloksasin, CS*: Kolistin, FEP***: Sefepim, GM*: Gentamisin, IPM*: İmipenem, LEV*: Levofloksasin, MEM*: Meropenem, NET*: Netilmisin, PIP***: Piperasilin, SXT*: Trimetoprim/Sülfametaksazol, TE***: Tetrasiklin, TGC***: Tigesiklin, TM*: Tobramisin, TZP***: Piperasilin/Tazobaktam. (*EUCAST v8.1. kılavuzunda test edilmesi önerilen antibiyotiklerdir. **EUCAST v8.1. kılavuzunda test edilmesi önerilmemiş antibiyotiklerdir. Epidemiyolojik amaçlı olarak ayırıştırma gücünü artırıcı duyarlılık patern profili elde edilmesi amacıyla çalışmaya katılmıştır. Kullanılan kesim değerleri, VITEK2 Expert System “Global Ölçütler” seçeneğine göre belirlenmiştir. ***EUCAST v8.1. kılavuzunda, henüz yetersiz kanıt nedeniyle kesim değeri belirtilmemiş antibiyotiklerdir. Kullanılan kesim değerleri, VITEK2 Expert System “Global Panel” seçeneğindeki göre belirlenmiştir.)

Antimikrobiyal direnç skorunun (“Resistance Score”, Rs) saptanması için, antimikrobiyal duyarlılık testi sonucunda, her bir antibiyotik için elde edilen yorum kategorilerindeki sonuçlar, “Resistant=2”, “Intermediate=1”, “Susceptible=0” biçiminde sayısallaştırılmış ve sonra toplanmıştır; buna göre, bir izolatın olası Rs değeri, minimum “0” ile maksimum “34” arasında olabilir.



Şekil 3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri Kart İşlemleri (117)

3.3. Bakteri İzolatlarının Tiplendirilmesi

Cins ve tür düzeyindeki identifikasyonları ve antibiyotik duyarlılıkları saptanmış olan bakteri izolatlarının klonal ilişkisinin belirlenmesinde rep-PCR tabanlı DiversiLab sistemi (bioMeriéux, Fransa) kullanılmıştır. DNA ekstraksiyonu, "UltraClean™ Microbial DNA Isolation Kit" (MoBio Laboratories, ABD) ile yapılmıştır. İzolasyon sonrası, izolatlara ait DNA'ların varlığı, kantitatif ölçüm sağlayan spektrometri cihazı ile ölçülmüş ve optimum konsantrasyonları ayarlanmıştır (Thermo-Nanodrop, A.B.D.). Bakteri DNA'ları, rep-PCR yöntemi ile amplifiye edilmiştir. Sonuçlar, internet tabanlı DiversiLab analiz programı (bioMerieux, Fransa) ile analiz edilmiştir.

3.3.1. A. *baumannii* Bakteri Hücrelerinden DNA Ekstraksiyonu

A. baumannii bakteri hücrelerinden DNA eldesi için the UltraClean™ Microbial DNA İzolasyon Kiti (BioMerieux, Fransa) ve Spin Kolon Yöntemi kullanılmıştır (118). -70°C'de dondurulan bakteriler koyun kanlı agara pasajlanmıştır. Tek koloni ekim yöntemiyle ekilen plaklar 37°C'de bir gece inkübe edilmiştir. DNA Ekstraksiyonu için;

1. 300 µL MicroBead çözeltisi, her bir MicroBead tüpüne dağıtılmıştır.
2. Besiyerinden numune 2 defa 1-µL öze olacak şekilde alınmıştır.
3. MicroBead tüpüne hücreler yayılmıştır. (1. adımdan). Sıçramaları önlemek için sıvı içinde öze hafifçe döndürülmüştür.
4. 50 µL MD1 çözeltisi eklenmiştir.
5. 10 dakika boyunca maksimum hızda vortekslenmiştir.
6. 30 saniye 10,000 x g de çevirilmiştir.
7. 100 µL MD2 çözeltisi temiz bir tüpe boşaltılmıştır.
8. Tüm supernatant (6. adımdan) 100 µL MD2 çözeltisine aktarılmıştır. (7. adımdan).
9. Kısa bir süre vortekslenmiştir.
10. 15 dakika buzdolabında soğutulmaya bırakılmıştır.
11. 1 dakika 10,000 x g de çevirilmiştir.
12. 450 µl MD3 çözeltisi temiz bir tüpe boşaltılmıştır.
13. 200 µl supernatantı (11. adımdan) 450 µl MD3 çözeltisine (12. adımdan) aktarılmıştır.
14. Kısa bir süre vortekslenmiştir.
15. Kısa bir süre çevirilmiştir.
16. Supernatant (15. adımdan, ± 650 µl) temiz bir spin filtreye transfer edilmiştir.

17. 30 saniye 10,000 x g de çevirildikten sonra aşağı akan sıvı, boş bir tüpe dökülüp, tüpün kapağı kapatılıp atılmıştır.
18. 300 µl MD4 çözeltisi spin filtreye boşaltılmıştır. (17. adımdan).
19. 30 saniye 10,000 x g de çevirildikten sonra aşağı akan sıvı, boş bir tüpe dökülüp, tüpün kapağı kapatılıp atılmıştır.
20. 1 dakika 10,000 x g de kuru olarak çevirilmiştir. Toplama tüpleri atılmıştır.
21. Spin filtre yeni temiz bir tüpe yerleştirilmiştir.
22. 35 µl MD5 çözeltisi spin filtreye boşaltılmıştır. (21. Adımdan). Filtrenin ortasından boşaltıldığı emin olup filtreye dokunulmamıştır.
23. 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
24. 30 saniye 10,000 x g de çevirilmiştir.
25. Filtreyi çıkarıp atılmıştır.
26. DNA toplama tüpünde tutulmuştur.
27. Jel kullanılarak DNA ölçümü yapılmıştır.
28. DNA -20°C de saklanmıştır.

3.3.2. Jel – Boya Yöntemi

3.3.2.1. Jel-Boya Matriks Hazırlığı

1. Diversilab DNA chip kiti ile birlikte kullanılan ve buzdolabında bulundurulmuş DNA Reagent & Supplies kiti, jel matriksi hazırlanması için buzdolabından çıkarılıp oda ısısına gelmesi beklenilmiştir (119).
2. Jel ve Boya vortekslenip kısaca spinlenmiştir.
3. Jel yapışkan olduğundan doğru hacim için yavaşça pipetlenmiştir. Işıktan etkilenebileceği için boya ışıktan korunmuştur. 1.5 ml'lik bir tüpe 200 ml jel ve 10 ml boya konulmuştur.
4. Homojen olana kadar vortekslenmiştir.
5. Kit bileşeni spin filtreye transfer edilmiştir.
6. 1500 x g'de 10 dakika oda ısısında santrifüj edilmiştir.

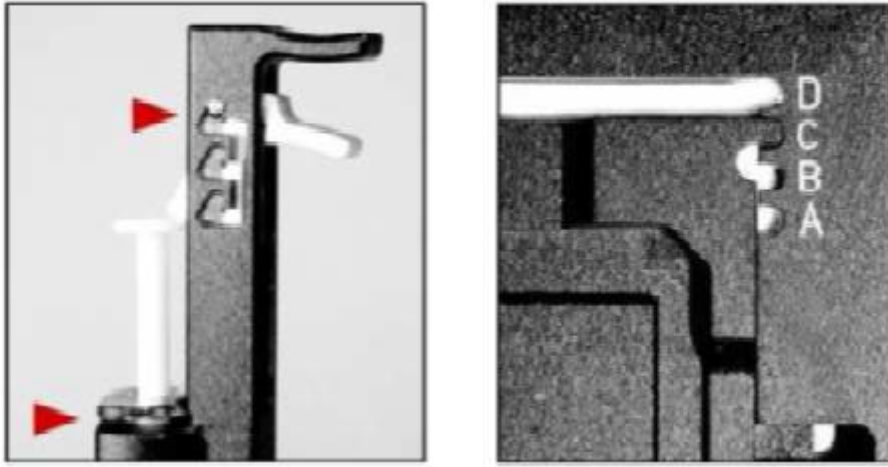
3.3.2.2. Çip Yükleme

1. DNA Reagent & Supplies kiti oda ısısına gelinceye kadar bekletilip kit içerisinde bulunan DNA marker ve ladder kısaca vortekslenmiştir.
2. Jel-Boya karışımı vortekslenmemiştir.
3. 9 ml jel-boya karışımını çip yükleme kuyusuna (siyah daire) sonuna kadar pipetlenmiştir.

4. Çip yükleme istasyonunda şırınga 1 ml'de iken 30 saniye çipe basınç uygulanmıştır.
5. Kalan G kuyularına 9 ml jel-boya karışımını sonuna kadar pipetlenmiştir.
6. Her bir numune kuyusuna 5 ml marker sonuna kadar pipetlenmiştir.
7. İlgili numune kuyularına 1 ml numune sonuna kadar pipetlenmiştir.
8. Çip 1 dakika 2200 rpm hızda vortekslenmiştir (119).

3.3.2.3. Çip Yükleme İstasyonu Ayarları

Taban C pozisyonunda ve klips en üst pozisyonda olacak şekilde uygulama yapılmıştır (Şekil 3.4.) (119).



Şekil 3.4. Çip Yükleme İstasyonu Ayarları (119)

3.3.3. DiversiLab Rep-PCR Tiplendirme

Bakteri izolatlarının klonal ilişkisinin belirlenmesinde rep-PCR tabanlı DiversiLab sistemi (bioMérieux, Fransa) kullanılmıştır.

Rep-PCR, çeşitli prokaryotik ve ökaryotik mikroorganizmalarda, genom içinde birçok bölgede yerleşen tekrarlayan elemanları hedefleyen primerleri kullanan bir tekniktir. Tür özellikli tekrarlayan DNA elementleri yakın ilişkili türlerin ayırımında kullanılır. Versalovic ve arkadaşları tarafından tanımlanan bakteriyel genom parmakizi analizi yönteminde, bakteri genomundaki tekrarlayan DNA elementlerinin PCR ile çoğaltılması sonucu elde edilen suşa özgü paternler incelenir. Tiplendirme için iki set tekrarlayan element (repetitive element) kümesi kullanılır. Bunlardan birincisi REP (repetitive extragenic palindromic elements), 38 bp diziye sahiptir ve korunmuş palindromik kökler arasında 6 dejenere pozisyondan ve 5 bp değişken loptan oluşur.

Tiplendirmede kullanılan diğ er DNA sekansı ERIC (enterobacterial repetitive intergenic consensus sequences)'tir. ERIC sekansı 126 bp elementten oluş ur ve yüksek oranda korunmuş ekstrasjenik ters tekrar dizileri içerir (93).

Rep-PCR yöntemi diversilab sistemi olarak otomatik sistem haline getirilmiştir. Genom üzerindeki kodlanmayan ve tekrarlayan sekansları hedef alan primerler kullanılarak çoğ altma yapılmıştır (94).

DiversiLab sistemi bileş enleri; 1) Agilent 2100 bioanalizer 2) rep-PCR reaktif kitleleri 3) web tabanlı diversilab yazılımıdır. İncelenen bütün örnekler arasında pair-wise (eşleş me) benzerliğı bulmak için Pearson correlation'u kullanarak proximity matrix'ini oluşturmuştur. Sonuçlar, dendrogram (izolatlar arasında hiyerarşik olarak ilişkiyi göstermektedir), scatter plot (grafiksel çizim, ilişkinin spatial (boyutsal), non-hiyerarşik görüntüsünü sağlamaktadır), jel-benzeri görüntü ve elektroferogramdır. İzolatlar analiz sonrası farksız (ayır t edilemez şekilde benzer), benzer veya farklı olarak kategorize edilmiştir. Genel olarak "farklı" kategorisi için baz alınan değerler; <%95 benzerlik, homojen organizmalar için ≥ 2 bant farklılığı, heterojen organizmalar için ≥ 3 bant farklılığı olarak tanımlanmış. "Benzer" kategorisi için baz alınan değerler; <%97 benzerlik, homojen organizmalar için 1 bant farklılığı, heterojen organizmalar için 2 bant farklılığı olarak tanımlanmış. "Farksız" kategorisi için baz alınan değerler; >%95 benzerlik, hiç farklı bant olmadığı yani bireysel bantların yoğunluğ unda hiçbir varyasyon olmadığı durumlar olarak tanımlanmıştır (95).

AGILENT 2100 analizör ve bilgisayar açılıp Diversilab Upload Client programının başladığı kontrol edilmiştir. Diversilab Site çift tıklanıp kullanıcı adı ve şifre girilmiştir. Menüde önce Main sonra Extraction'a girilip Spreadsheet tıklandıktan sonra şablona ilgili kolonların numune bilgileri girilmiş ve Save & Continue tıklanmıştır. Rep-PCR menüsü, Upload, Submit Sample ve rep-PCR Worksheet tıklanmıştır. Print Complete tıklanmış, Chip worksheet yazdırılmış ve rep-PCR gerçekleştirilmiştir.

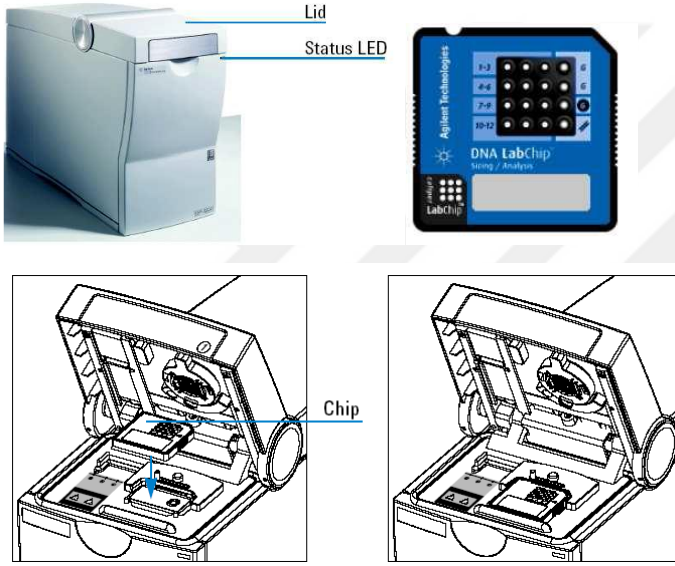
Chip ayarları için; Chip & Qc ve New 'e gidilmiştir. chip adı yazılmış Submit ve rep-PCR tıklanmıştır. Print & Complete tıklanıp chip worksheet yazdırılmış ve Internet Explorer kapatılmıştır.

Chip çalışması için; 2100 Expert software çift tıklanıp kapağı nı açarak analizörün bağ landığı kontrol edilmiştir. File prefix alanına chip numarasını doldurulmuş chip yük lenip vortekslenmiş ve analizöre konulup kapağı kapatılıp Start tıklanmıştır.

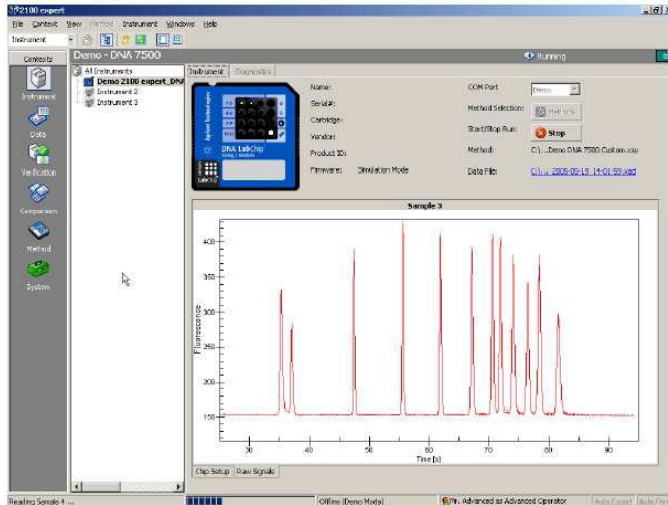
Çalışma bitince, chip çıkarılmış analizöre 400 µl Nuclease içermeyen su doldurulmuş ve temizleme Chip'i yerleştirilip kapak kapatılmış ve 15 saniye beklenip Chip çıkarılmış ve 2100 Expert software kapatılmıştır (Şekil 3.5.).

Chip Qc için; Chip & Qc ve Waiting for Qc tıklanmış QC' ye chip seçilmiş ve her kuyuya QC (Approve, Rerun Well, Rerun rep-PCR veya Inactivate.) eklenip QC Complete tıklanmıştır.

Rapor ayarlama için; Sırasıyla, Report, New, rapor adı yazılıp submit, rep-PCR, Run ve Report tıklanmıştır. Rapor bitince, ham dendrogramı görmek için rapor adı tıklanmıştır. Bu veriler, çıktı olarak, aygıt sisteminden alınarak, incelenmiştir (Şekil 3.6.) (119).



Şekil 3.5. Agilent 2100 Bioanalizör ve Çip Yerleştirip Çıkarma (119)



Şekil 3.6. 2100 Expert Software (119)

Diversilab rep-PCR tiplendirme verileri, uluslararası literatürde benimsenen moleküler epidemiyolojik ilişkilik analizi ilkelerine, ölçütlerine uygun olarak, Diversilab biyoinformatik yazılımının analiz olanakları kullanılarak (<https://kartal.diversilab.com>) incelenmiştir. Buna göre, rep-PCR yöntemi ile her bir izolat için elde edilen, amplifiye edilerek, kapiler elektroforez ile ayrıştırılan DNA bantlarından oluşan DNA profillerinin her birisi diğer profillerinin her birisi ile; bant sayısının, bantın elektroforezdeki göç uzaklığının yerinin, bant yoğunluğunun dikkate alındığı, Pearson korelasyon indeksi ile benzerlikleri yönünden karşılaştırılarak, karşılıklı benzerlik değerlerinden oluşan benzerlik matrisi elde edilmiştir. Benzerlik değerleri matrisinden, UPGMA (“Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean”) algoritması ve %95 eşik kesim değeri (“threshold”) kullanılarak, benzerliğe dayalı ilişkililiği gösteren dendrogram elde edilmiştir. Bu dendrogramda, <%95 benzerliğe sahip izolatların, “epidemiyolojik bakımdan ilişkisiz” olduğunu göstermektedir. Dendrogramda, ≥%95 benzerliğe sahip olan ve aynı benzerlik kümesinde yer alan izolatlar, epidemiyolojik ilişkisizlik hipotezi red edilmediği için, “epidemiyolojik bakımdan ilişkili olabilir” (genotip kümesi, GK) yorumuyla değerlendirilmektedir. Elde edilen dendrogram üzerinde, ≥%98 benzerlik değerine sahip izolatlar ise, “özdeş” (“ayrıt edilemez”) (klonal genotip, G) olarak kabul edilmektedir (122).

3.4. Bakteri İzolatları, Hasta ve Hastane Verilerinin Derlenmesi

Çalışmanın birinci ve ikinci aşamalarıyla eş zamanlı olarak, laboratuvar ve Enfeksiyon Kontrol Komitesi (EKK) verileri de istatistiksel analizde kullanılmak üzere derlenmiştir.

3.4.1. Laboratuvar Verilerinin Derlenmesi

Hasta (*Acinetobacter* sp. izolatı olan) ile ilgili olan bilgiler, bir form ile derlenerek, verilerin istatistiksel olarak işlenmesine hazırlık için bir excel (Microsoft, Windows, A.B.D.) dosyasına aktarılmıştır.

Acinetobacter baumannii izolatı ile ilgili olarak; izolatların cins ve tür düzeyindeki identifikasyonları ve antibiyotik duyarlılıkları, örnek türleri, servis türleri, tarihler, numunelere verilen ikincil kodlar (açk. hasta gizliliği), hastalara verilen ikincil kodlar (açk. hasta gizliliği), DiversiLab rep-PCR tiplendirme verileri, bir form ile derlenerek, verilerin istatistiksel olarak işlenmesine hazırlık için bir excel dosyasına (Microsoft, Windows, A.B.D.) aktarılmıştır.

3.4.2. EKK (Enfeksiyon Kontrol Komitesi) Verilerinin Derlenmesi

Hasta (*Acinetobacter* spp. izolatı olan) ile ilgili olarak nozokomiyal enfeksiyon veya kolonizasyon tanısı, nozokomiyal enfeksiyon türü (Bakanlık veya CDC sınıflaması), yatış-çıkış tarihi, servis türü, numune türü, altta yatan hastalık gibi bilgiler, bir form ile derlenerek, verilerin istatistiksel olarak işlenmesine hazırlık için bir excel dosyasına (Microsoft, Windows, A.B.D.) aktarılmıştır.

3.5. İstatistiksel Analiz

Formlarla derlenen ve excel dosyalarına aktarılan veriler birleştirilmiş ve klinik örneklerinde *Acinetobacter baumannii* izolatlarının ürettiği hastaların demografik bilgileri, örnek alımı ve test çalışma tarihleri, hastaneleri, servisleri, örnek türleri, patotip (enfeksiyözite; kolonizasyon veya nozokomiyal enfeksiyon), fenotip (rezistotip ve direnç skoru) ve genotip (genotip kümesi ve klonal genotip; moleküler epidemiyolojik tipi) özellikleri temelinde oluşan veriler, bir “olası salgın analizi” listesine (“line listing”) dönüştürülmüştür. Veriler, olası patern gruplarındaki kümelenmeleri araştırılmadan önce, belirli içerme ve dışlama ölçütleri (30 gün içinde tekrar izole edilen ve antibiyotik duyarlılık fenotipinde iki ve daha az değişiklik gösterenler) bakımından incelenmiş ve çalışmada toplanılan klinik kaynaklı 47 bakteri izolatı arasından, 11 izolat, “tekrar izolatı” olarak saptandığı için çalışmadan çıkarılmıştır.

Çalışmaya katılan klinik kaynaklı 36 izolat ve bir referans izolatının (ATCC 19606) verileri, bilgisayarda, SPSS 25.0 (Statistical Packages of Social Sciences) programı kullanılarak, analiz edilmiştir. Açıklayıcı istatistikler kategorik değişkenler için, veriler, frekans ve yüzde değerleri olarak gösterilmiştir. Kategorik değişkenler arasındaki dağılım farkının analizi için, tek örneklem ki-kare testi ve yerine göre Fisher kesin olasılık testi kullanılmıştır. İstatistiksel analiz sonucunda, $p < 0.05$ değerinin elde edilmesi durumunda, aradaki fark, anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Bakteri İzolatlarının Genel Bilgileri ve İnfeksiyözite (Patotip; Nozokomiyal Enfeksiyon veya Kolonizasyon Etkeni Olma Durumu) Sonuçları

Klinik kaynaklı 36 adet *Acinetobacter baumannii* izolatının, EKK verilerine göre elde edilen genel bilgileri ve enfeksiyözite (patotip; nozokomiyal enfeksiyon veya kolonizasyon etkeni olma durumu) sonuçları, Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.



Tablo 4.1. Klinik kaynaklı *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Genel Bilgileri ve Enfeksiyözite (Patotip) Sonuçları

Hasta Sıra Sayısı	İzolat Sıra Sayısı* (Laboratuvar)	Numune Toplama Tarihi	Hastanesi**	Numune Türü	Servisi	Patotipi (Enfeksiyözite Durumu) Kolonizasyon/ Enfeksiyon
1	2	2015/08/03	HNH	Aspirat	Reanimasyon	Enfeksiyon
2	3 (TAİ.1.1.)	2015/08/03	GZT	Aspirat	Çocuk Yoğun Bakım	Kolonizasyon
3	4	2015/08/04	GZT	Kan	Reanimasyon	Kolonizasyon
4	5	2015/08/04	FSM	Kan	Reanimasyon	Enfeksiyon
5	6	2015/08/04	GZT	Kan	Reanimasyon	Kolonizasyon
6	8	2015/08/05	SHH	İdrar	Kalp ve Damar	Kolonizasyon
7	10	2015/08/05	GZT	Aspirat	Reanimasyon	Enfeksiyon
8	11	2015/08/05	BYZ	İdrar	Çocuk Yoğun Bakım	Kolonizasyon
9	12	2015/08/05	GZT	Periton Sıvısı	Çocuk Yoğun Bakım	Kolonizasyon
10	13	2015/08/05	USR	Aspirat	Yoğun Bakım	Kolonizasyon
11	14	2015/08/06	GZT	Kan	Kadın Doğum	Kolonizasyon
12	15	2015/08/06	GZT	Yara	Ortopedi	Kolonizasyon
13	16	2015/08/06	HNH	Aspirat	Reanimasyon	Enfeksiyon
14	17	2015/08/06	GZT	Balgam	Dahiliye	Kolonizasyon
15	18	2015/08/07	GZT	Kan	Yoğun Bakım	Enfeksiyon
16	20 (TAİ.2.1.)	2015/08/10	FSM	Kan	Reanimasyon	Enfeksiyon
17	22	2015/08/10	HNH	İdrar	KBB	Enfeksiyon
18	23	2015/08/11	USR	Trakeal	Yoğun Bakım	Kolonizasyon
19	24	2015/08/12	GZT	Kan	Gastroenteroloji	Kolonizasyon
20	25	2015/08/12	BYZ	Kan	Yoğun Bakım	Kolonizasyon
21	26	2015/08/13	USR	Aspirat	Yoğun Bakım	Kolonizasyon
22	27	2015/08/13	HNH	Balgam	Dahiliye	Enfeksiyon
23	28	2015/08/14	GZT	İdrar	Göğüs Hastalıkları	Kolonizasyon
24	29	2015/08/14	UMR	Balgam	Reanimasyon	Kolonizasyon
25	31	2015/08/15	FSM	idrar	İç hastalıkları	Enfeksiyon
26	32	2015/08/06	GZT	BOS	Beyin	Kolonizasyon
27	33	2015/08/10	FSM	Balgam	Reanimasyon	Kolonizasyon
28	35	2015/08/05	FSM	Kan	Reanimasyon	Kolonizasyon
29	36 (TAİ.2.2.)	2015/08/10	FSM	Balgam	Reanimasyon	Enfeksiyon
30	37 (TAİ.3.1.)	2015/08/09	GZT	Kan	Reanimasyon	Kolonizasyon
31	38 (TAİ.3.2.)	2015/08/11	GZT	Aspirat	Reanimasyon	Kolonizasyon
32	41 (TAİ.1.2.)	2015/08/05	GZT	Kateter	Çocuk Yoğun Bakım	Kolonizasyon
33	48 (TAİ.4.1.)	2015/10/13	YTP	İdrar	Karma	Kolonizasyon
34	49	2015/08/06	YTP	Balgam	Yoğun Bakım	Kolonizasyon
35	51 (TAİ.4.2.)	2015/07/16	YTP	Balgam	Yoğun Bakım	Kolonizasyon

36	52	2015/11/04	YTP	Aspirat	Yoğun Bakım	Kolonizasyon
*TAİ: Tekrardan arındırılmış ikinci bir izolatu olan olgu. (Toplam 4 olguda ikişer izolat) **GZT=Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi (n=15, %41.6), FSM=Fatih Sultan Mehmet Eğitim ve Araştırma Hastanesi (n=6, %16.6), YTP=Yeditepe Üniversitesi Hastanesi (n=4, %11.1), HNH=Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi (n=4, %11.1), USR=Üsküdar Devlet Hastanesi (n=3, %8.3), BYZ=Beykoz Devlet Hastanesi (n=2, %5.5), SHH=Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi (n=1, %2.7), UMR=Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi (n=1, %2.7).						

Örneklemin Patotip (Enfeksiyözite; Enfeksiyon ve Kolonizasyon) Genel Dağılımı; İstanbul ilininin biyocoğrafyasını (Asya yakası; ancak, çalışmaya katılan hastanelere yatan olguların, en azından konak faktörleri açısından, ilin her iki yakasını da temsil edebildiği varsayılmıştır) temsil etmek amacıyla çalışmaya katılan sekiz ayrı hastaneden (altısı üçüncü basamak sağlık hizmeti kurumu, ikisi ikinci basamak sağlık hizmeti kurumu) toplanan, klinik kaynaklı 36 adet *Acinetobacter baumannii* izolatının, 10'su (10/36, %27.7) enfeksiyonu etkeni ve 26'sı (26/36, %72.2) kolonizasyon olarak saptanmıştır.

Örneklemin Hastanelere Dağılımı:

Genel: İzolatların, hastanelere göre dağılımı şöyledir: GZT (n=15, %41.6), FSM (n=8, %16.6), YTP (n=4, %11.1), HNH (n=4, %11.1), USR (n=3, %8.3), BYZ (n=2, %5.5), SHH (n=1, %2.7), UMR (n=1, %2.7).

Patotip-Enfeksiyon Kategorisi Dağılımı: Enfeksiyon etkeni olan 10 izolatın hastanelere göre dağılımı şöyledir: HNH'de; 4/10 (%40), FSM'de 4/10 (%40) ve GZT'de 2/10 (%20).

Patotip-Kolonizasyon Kategorisi Dağılımı: Kolonizasyon yapan 26 izolatın hastanelere göre dağılımı ise şöyledir: GZT 13/26 (%50), YTP 4 (%15.3), USR 3 (%11.5), BYZ 2 (%7.7), FSM 2 (%7.7), SHH 1 (%3.8).

Enfeksiyon izolatu/Toplam izolat % Oranı Dağılımı: Hastanelerdeki Enfeksiyon izolatu/Toplam izolat % oranı şöyledir: HNH %100 (4/4), FSM %50 (4/8), GZT %20 (3/15), YTP %0 (0/4), USR %0 (0/3), BYZ %0 (0/2), (4/6), SHH %0 (0/1), UMR %0 (0/1).

Tekrardan Arındırılmış İkinci İzolatı Olan Olguların Dağılımı: Tekrardan arındırılmış ikinci bir izolatu olan olgu sayısı toplamda dördür (4 olgu; 8 izolat, %22.2). Bu olguların izolatları, GZT 2/4 (%50) (Çocuk Yoğun Bakım; TAİ.1.1.Kolonizasyon/Aspirat, TAİ.1.2., Reanimasyon; Kolonizasyon/Kateter; TAİ.3.1. Kolonizasyon/Kan, TAİ.3.2. Kolonizasyon/Aspirat), FSM 1/4 (%25) (Reanimasyon; TAİ.2.1. Enfeksiyon/Kan, TAİ.2.2. Enfeksiyon/Balgam), YTP 1/4 (%25) (Karma;

TAİ.4.1. Kolonizasyon/İdrar, Yoğun Bakım; TAİ.4.2. Kolonizasyon/Balgam) olarak dağılım göstermiştir. Tekrardan arındırılmış ikinci bir izolatı olan olgularda, kolonizasyon-enfeksiyon dönüşümü gözlenmemiştir. Bu olgulardan birisinin iki izolatından her birisi enfeksiyon izolatı, diğer olguların ikişer izolatlarından her birisi kolonizasyon izolatı olarak saptanmıştır. Tekrardan arındırılmış ikinci bir izolatı olan olguların tamamında, ikinci izolat, farklı bir örnek türünden elde edilmiştir.

Örneklemin Servislere Dağılımı:

Genel ve Enfeksiyon izolatı/Toplam izolat % Oranı Dağılımı; Klinik kaynaklı 36 adet *Acinetobacter baumannii* izolatının, servis türlerine göre dağılımı ve Enfeksiyon izolatı/Toplam izolat % oranı şöyledir: Yoğun Bakım Birimleri'nde ("Reanimasyon" ve "Çocuk Yoğun Bakım" olarak adlandırılan birimler dahil) 25/36 (%69.4) ve %28 (7/25), İç Hastalıkları Servisleri'nde ("Dahiliye", "Gastroenteroloji", "Göğüs Hastalıkları" olarak adlandırılan servisler dahil) 5/36 (%13.8) ve %40 (2/5), Cerrahi Servisleri'nde ("Beyin Cerrahisi", "Kulak Burun ve Boğaz", "Kadın Hastalıkları ve Doğum", "Ortopedi" ve "Kalp ve Damar Cerrahisi" servisleri) 5/36 (%13.8) ve %40 (1/5), Karma Servis'te 1/36 (%2.7) ve %0 (0/1).

Patotip-Enfeksiyon Kategorisi Dağılımı; Toplam 10 enfeksiyon etkeni izolatın servislere göre % oran dağılımı şöyledir: Yoğun Bakım Birimleri'nde %70 (7/10), İç Hastalıkları Servisleri'nde %20 (2/10) ve Cerrahi Servisleri'nde %10 (1/10).

Örneklemin Klinik Örnek Türlerine Dağılımı:

Genel ve Enfeksiyon izolatı/Toplam izolat % Oranı Dağılımı; Klinik kaynaklı 36 adet *Acinetobacter baumannii* izolatının, örnek türlerine göre dağılımı ve Enfeksiyon izolatı/Toplam izolat % oranı şöyledir: alt solunum yolu sekresyonları örneklerinde (ASY, "Aspirat", "Balgam", "Trakeal" olarak adlandırılan örnekler) 16/36 (%44.4) ve 5/16 (%31.2), kan dolaşımı örneklerinde (KAN, "Kan" ve "Kateter" olarak adlandırılan örnekler) 11/36 (%30.5) ve 3/11 (%27.2), idrar örneklerinde 6/36 (%16.6) ve 2/6 (%33.3), beyin-omurilik sıvısı örneklerinde (BOS) 1/36 (%2.7) ve 0/1 (%0), periton sıvısı örneklerinde (PER) 1/36 (%2.7) ve 0/1 (%0), cerrahi yara örneklerinde 1/36 (%2.7) ve 0/1 (%0).

Olası İnvaziv Enfeksiyon Riski Göstergesi Örneklerle Dağılımı; Klinik kaynaklı 36 adet *Acinetobacter baumannii* izolatının, olası invaziv enfeksiyon gelişimi riskini temsil eden örnek türlerine (ASY, KAN, BOS, PER örnekleri) göre dağılımı ve Enfeksiyon izolatı/Toplam izolat % oranı şöyledir: 29/36 (%80.5) ve 8/29 (%27.5).

4.2. Bakteri İzolatlarının İdentifikasyon ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri (Rezistotip/Fenotip) Sonuçları

Cins ve tür düzeyindeki identifikasyonları yapıldıktan sonra, *A. baumannii* olarak saptanan toplam 36 adet klinik kaynaklı izolat ve bir adet referans kökeninin (ATCC 19606), antibiyotik duyarlılık (rezistotip/fenotip) test sonuçları, Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.



Tablo 4.2. Bakteri İzolatlarının Tanımlama (İdentifikasyon) ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri (Rezistotip/Direnç Fenotipi, Direnç Skoru) Sonuçları

#	Rs	R	BT	AN	AT M	CAZ	CIP	CS	FEP	GM	IPM	LEV	MEM	NET	PIP	SXT	TE	TGC	TM	TZP
2	25	11	AB	1	2	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2
3	22	17	AB	2	2	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2
4	23	16	AB	2	2	2	2	0	2	0	2	1	2	0	2	2	2	0	0	2
5	31	25	AB	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2
6	19	4	AB	0	2	2	2	0	2	0	2	1	2	0	2	0	2	0	0	2
8	5	2	AB	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
10	20	5	AB	1	2	2	2	0	2	0	2	1	2	0	2	0	2	0	0	2
11	2	1	AB	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	21	6	AB	0	2	2	2	0	2	0	2	1	2	0	2	2	2	0	0	2
13	22	10	AB	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	2
14	21	6	AB	0	2	2	2	0	2	0	2	1	2	0	2	2	2	0	0	2
15	9	3	AB	0	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	1
16	19	4	AB	0	2	2	2	0	2	0	2	1	2	0	2	0	2	0	0	2
17	26	18	AB	2	2	2	2	0	2	1	2	1	2	2	2	2	2	0	0	2
18	21	8	AB	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	0	2	1	0	2
20	30	14	AB	1	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2
22	28	13	AB	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2
23	30	23	AB	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	2	2
24	22	15	AB	2	2	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	0	1	1	0	2
25	29	22	AB	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0	2	1	2	2
26	31	25	AB	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2
27	28	22	AB	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0	2	0	2	2
28	31	25	AB	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2
29	25	11	AB	1	2	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2
31	25	11	AB	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2	1	2	2	2	2	0	2
32	25	12	AB	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2	0	1	2
33	21	6	AB	0	2	2	2	0	2	0	2	1	2	0	2	2	2	0	0	2
35	22	7	AB	1	2	2	2	0	2	0	2	1	2	0	2	2	2	0	0	2
36	26	19	AB	2	2	2	2	0	2	0	2	2	2	1	2	2	2	1	0	2
37	30	24	AB	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2
38	19	4	AB	0	2	2	2	0	2	0	2	1	2	0	2	0	2	0	0	2
41	25	9	AB	1	2	2	2	0	2	1	2	1	2	2	2	2	2	0	0	2
47	26	18	AT C	2	2	2	2	0	2	1	2	1	2	2	2	2	2	0	0	2
48	25	9	AB	1	2	2	2	0	2	1	2	1	2	2	2	2	2	0	0	2
49	2	1	AB	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51	27	21	AB	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2	1	0	2
52	26	20	AB	2	2	2	2	0	2	1	2	2	2	2	2	0	2	1	0	2

#: İzolat Sıra Sayısı (Laboratuvar), 47 sıra sayılı izolat ATCC 19606 referans kökenidir (ATC).

Rs: Antimikrobiyal Direnç Skoru ("Resistance Score") ("Resistant"=2, "Intermediate"=1, "Susceptible"=0; minimum=17x0=0; maksimum=17x2=34).

R: Rezistotip, Antimikrobiyal Direnç Fenotipi ("Resistotype", "Resistance Phenotype").

BT: Bakteri Tanımlaması Sonucu (tür düzeyinde).

AN*: Amikasin, ATM**: Aztreonam, CAZ***: Seftazidim, CIP*: Siprofloksasin, CS*: Kolistin, FEP***: Sefepim, GM*: Gentamisin, IPM*: İmipenem, LEV*: Levofloksasin, MEM*: Meropenem, NET*: Netilmisin, PIP****: Piperasilin, SXT*: Trimetoprim/Sülfametaksazol, TE***: Tetrasiklin, TGC****: Tigesiklin, TM*: Tobramisin, TZP****: Piperasilin/Tazobaktam.

*EUCAST v8.1. kılavuzunda test edilmesi önerilen antibiyotiklerdir.

**EUCAST v8.1. kılavuzunda test edilmesi önerilmemiş antibiyotiklerdir. Epidemiyolojik amaçlı olarak ayırıştırma gücünü artırıcı duyarlılık patern profili elde edilmesi amacıyla çalışmaya katılmıştır. Kullanılan kesim değerleri, VITEK2 Expert System “Global Ölçütler” seçeneğine göre belirlenmiştir.

***EUCAST v8.1. kılavuzunda, henüz yetersiz kanıt nedeniyle kesim değeri belirtilmemiş antibiyotiklerdir. Kullanılan kesim değerleri, VITEK2 Expert System “Global Ölçütler” seçeneğine göre belirlenmiştir.

Bakteri Tanımlaması (Tür Düzeyinde): Klinik kaynaklı 36 adet izolatin tamamı, *Acinetobacter baumannii* olarak tanımlanmıştır.

Rezistotip Dağılımı: Örnekleme, “EUCAST+” grubu antibiyotiklerle, 25 rezistotip saptanmıştır. Örneklemedeki rezistotip çeşitliliği yüksektir, baskın bir rezistotip saptanmamıştır. En sık gözlemlenen rezistotipler (4 [1 enfeksiyon, 2 kolonizasyon], 6 [3 kolonizasyon], 11 [2 enfeksiyon, 1 kolonizasyon], 25 [1 enfeksiyon, 2 kolonizasyon]) üçer izolattan oluşmaktadır, ancak toplamda, bu rezistotipler, örneklemin %33.3’ünü oluşturmaktadır. Rezistotip 25, aynı zamanda, en dirençli (en yüksek Rs değerine sahip olan; Rs=31) izolat grubudur.

Antimikrobiyal Direnç Skoru (Rs, “Resistance Score”): Örnekleme, en düşük Rs=2 (2 izolat), en yüksek Rs=31 (3 izolat) olarak saptanmıştır. Örneklemin ortalama Rs değeri, 22’dir. Toplamda örneklemin 1/3’ünü oluşturan dört rezistotipin (4, 6, 11, 25), ortalama Rs değeri, 24’tür. Örneklemin geri kalanının ortalama Rs değeri, 22’dir. En dirençli üç izolatin birisi FSM (enfeksiyon), diğerleri GZT (kolonizasyon) hastanelerinden izole edilmiştir. En duyarlı izolatlardan birisi, BYZ (kolonizasyon), diğeri SHH (kolonizasyon) hastanelerinden izole edilmiştir. Referans kökenin (ATCC 19606) Rs değeri, 26 olarak bulunmuştur.

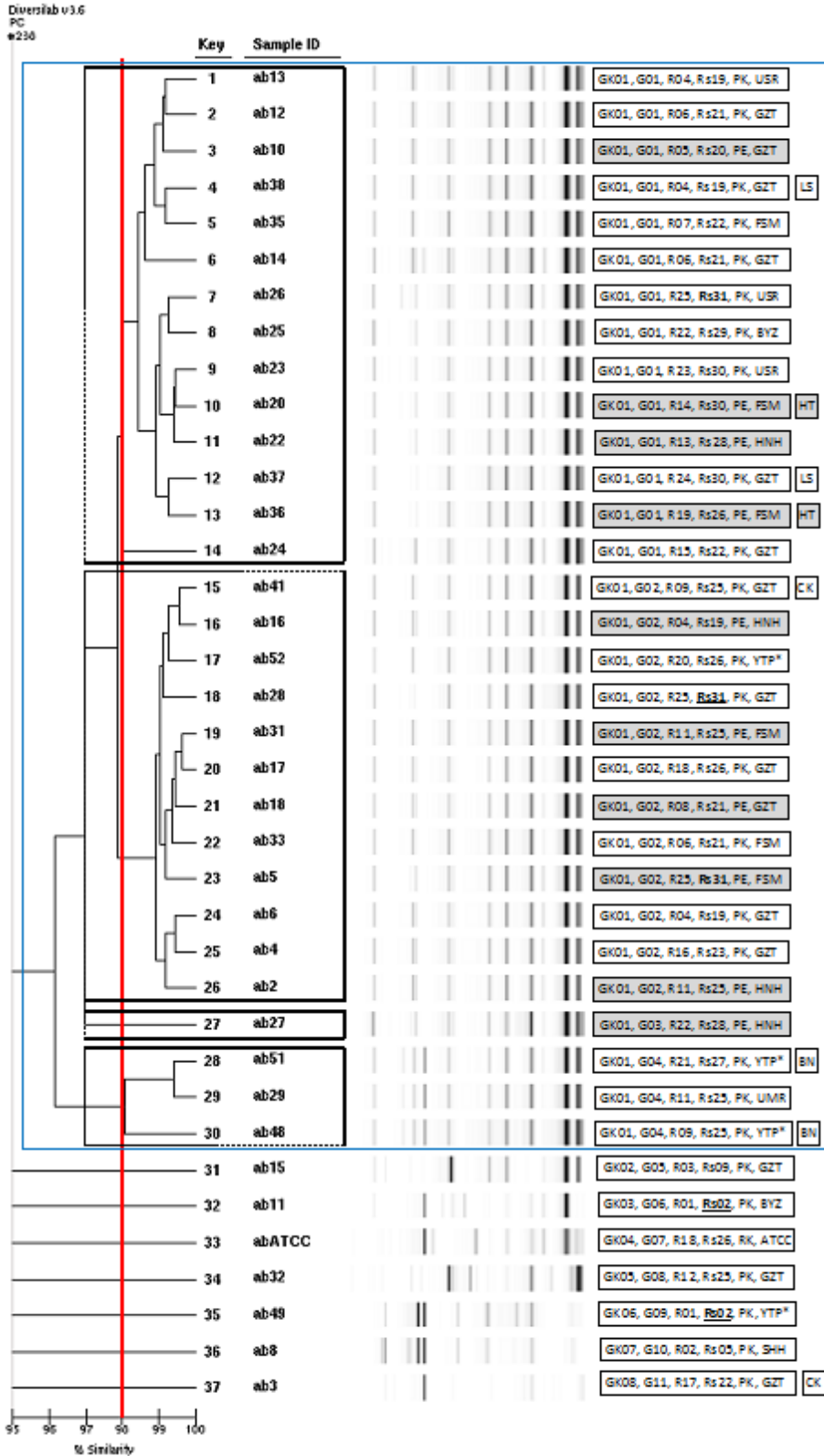
Karbapenem Direnci Dağılımı: *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde son seçenek antibiyotiklerden olan karbapenemlere (imipenem, meropenem) direnç, örneklemin tamamında %88.8 (32/36) olarak saptanmıştır. Enfeksiyon etkeni olan 10 izolatta, bu oran %100’dür. Kolonizasyon etkeni olan 26 izolatta, bu oran %84.6’dır. Karbapenem dirençli izolatlarda, Enfeksiyon izolatı/Toplam izolat % oranı, %100 (10/10) olarak saptanmıştır. Karbapenem duyarlı izolatlarda, Enfeksiyon izolatı/Toplam izolat %

oranı, %0 (0/4) olarak saptanmıştır. Karbapenem duyarlı izolatlar, GZT, BYZ, YTP ve SHH hastanelerinden izole edilmiştir.

4.3. Bakteri İzolatlarının rep-PCR Yöntemi ile Moleküler Epidemiyolojik Tiplendirme (Klonal Genotip) Sonuçları

47 adet klinik kaynaklı izolatın ve bir adet referans kökeninin (ATCC 19606) rep-PCR yöntemi ile elde edilen moleküler epidemiyolojik tiplendirme (klonal genotip) sonuçları ve Şekil 4.1. ve Tablo 4.3.'de gösterilmiştir.





Şekil 4.1. *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının rep-PCR Yöntemi ile Elde Edilen Moleküler Epidemiyolojik Tiplendirme (Klonal Genotip) Dendrogramı

Tablo 4.3. Bakteri İzolatlarının rep-PCR Yöntemi ile Moleküler Epidemiyolojik Tiplendirme (Klonal Genotip) Sonuçları ve İlişkili Diğer Verileri

#	H	P (E, K)	GK	G	Rs	R
38	GZT	K	1	1	19	4
10	GZT	E	1	1	20	5
12	GZT	K	1	1	21	6
14	GZT	K	1	1	21	6
35	FSM	K	1	1	22	7
13	USR	K	1	1	22	10
22	HNH	E	1	1	28	13
20	FSM	E	1	1	30	14
24	GZT	K	1	1	22	15
36	FSM	E	1	1	26	19
25	BYZ	K	1	1	29	22
23	USR	K	1	1	30	23
37	GZT	K	1	1	30	24
26	USR	K	1	1	31	25
6	GZT	K	1	2	19	4
16	HNH	E	1	2	19	4
33	FSM	K	1	2	21	6
18	GZT	E	1	2	21	8
41	GZT	K	1	2	25	9
31	FSM	E	1	2	25	11
2	HNH	E	1	2	25	11
4	GZT	K	1	2	23	16
17	GZT	K	1	2	26	18
52	YTP	K	1	2	26	20
5	FSM	E	1	2	31	25
28	GZT	K	1	2	31	25
27	HNH	E	1	3	28	22
48	YTP	K	1	4	25	9
29	UMR	K	1	4	25	11
51	YTP	K	1	4	27	21
15	GZT	K	2	5	9	3
11	BYZ	K	3	6	2	1
47	ATCC	K	4	7	26	18
32	GZT	K	5	8	25	12
49	YTP	K	6	9	2	1
8	SHH	K	7	10	5	2
3	GZT	K	8	11	22	17

#: İzolat sıra sayısı, H: Hastane, P (E,K): Patotip (Enfeksiyözite; Enfeksiyon veya Kolonizasyon), GK: Rep-PCR Genotip Kümesi (Benzerlik \geq %95), G: Rep-PCR Genotipi (Benzerlik \geq %98; Özdeş İzolat), Rs: Antimikrobiyal Direnç Skoru, R: Antimikrobiyal Direnç Fenotipi.

Genotip Kümelerinin (GK) (\geq %95 Benzerlik, Küme Oluşturma Ölçütü; $<$ %95 Benzerlik, Kümeden Dışlama Ölçütü) Dağılımı: Örneklemde, toplam 8 GK (GK01-GK08) saptanmıştır. GK01 içinde, 30 izolat (örneklem %83.3'ü, 30/36) yer almıştır. GK01 içinde, 4 genotip (G01-G04) saptanmıştır. GK02-GK08, birer izolat içermektedir. GK01 içinde, genotip dağılımı sıklığı sırasıyla şöyledir; G01 (14/30, %46.6), G02 (12/30, %40), G04 (3/30, %10) ve G03 (1/30, %3.3). Enfeksiyon izolatlarının tamamı (10/10, %100; 10/30, %33.3), kolonizasyon izolatlarının ise 20'si (20/26, %76.9; 20/30, %66.6); GK01 içinde yer almaktadır. GK01 içinde en sık izolat içeren hastaneler, sırasıyla, GZT (12/30, %40), FSM (6/30, %20), HNH (4/30, %13.3), USR (3/30, %10), YTP (3/30, %10), UMR (1/30, %3.3) ve BYZ (1/30, %3.3) olarak saptanmıştır. Örneklemde, Rs değeri en yüksek olan iki izolat (Rs=31), GK01 içinde yer almaktadır. GK01 içinde, 20 farklı direnç fenotipi (R) saptanmıştır. GK01 içinde, en baskın olan R tipleri, üçer izolat ile R04, R06, R11 ve R25'tir (12/30, %40). GK01 içindeki R25 direnç fenotipindeki izolatlar, aynı zamanda en yüksek Rs değerine (Rs=31) sahiptir. GK01 içinde, Rs değerleri, 19-31 aralığındadır. Referans kökeninin genotip kümesi (ATCC 19606) GK04 olarak saptanmıştır. TAİ izolatlarının çoğunluğu (7/8, 87.5; 3 olgu ve bir olgunun bir izolatu), GK01 içinde yer alırken, yalnızca birisi GK08 (1/8, %12.5) içinde yer almıştır. Yalnızca bir olgunun iki izolatu arasında GK ve G değişimi olmuştur (GK01/G02'den GK08/G11'e).

Genotiplerin (G) (\geq %98 Benzerlik; Özdeş İzolatlar) Dağılımı: Örneklemde, toplam 11 G (G01-G11) saptanmıştır. Genotiplerin sıklığı sırasıyla şöyledir: G01 (14/36, %38.8), G02 (12/36, %33.3), G04 (3/36, %8.3) ve diğer genotipler (G03, G05-G11) (her biri; 1/36, %2.7). G01-G04, GK01 içinde yer almakta ve genotip kümesinin tamamını oluşturmaktadır. Referans kökeninin genotipi (ATCC 19606) G07 olarak saptanmıştır. Örneklemde enfeksiyon patotipindeki toplam 10 izolatın, genotiplere dağılımı sıklık sırasıyla şöyledir: G02 (5/10, %50; FSM 2, HNH 2, GZT 1), G01 (4/10, %40; FSM 2, HNH 1, GZT 1), G03 (1/10, %10, HNH 1). GK01 içindeki, G04 izolatlarının (n=3), tamamı kolonizasyon patotipinde yer almaktadır. Rs değeri en yüksek olan (Rs=31) ve direnç fenotipi R25 olan üç izolatın, genotiplere dağılımı sıklık sırasıyla, G02 (2 izolat; FSM 1, GZT 1), G01'dir (1 izolat; USR 1). TAİ izolatlarının çoğunluğu (7/8, 87.5; 3 olgu;

G01 2 olgu, G04 1 olgu ve bir olgunun bir izolatu, G02), GK01 içinde yer alırken, yalnızca birisi GK08/G11 (1/8, % 12.5) içinde yer almıştır. Yalnızca bir olgunun iki izolatu arasında GK ve G değişimi olmuştur (GK01/G02'den GK08/G11'e).

4.4. Bakteri İzolatlarının Patotip (İnfeksiyözite; Enfeksiyon/Kolonizasyon), Rezistotip (Fenotip) ve Genotip Kümelenmesi (İstatistiksel Analiz) Sonuçları

Tekrarlardan arındırılmış klinik kaynaklı 36 *Acinetobacter baumannii* izolatının elde edilen tüm verileri, olası Patotip-Rezistotip-Genotip kümelenmesi varlığı yönünden incelenmiştir. Kategorik değişkenler arasındaki dağılım farkının analizi için, tek örneklem ki-kare testi ve yerine göre Fisher kesin olasılık testi kullanılmıştır. İstatistiksel analiz sonucunda, $p < 0.05$ değerinin elde edilmesi durumunda, aradaki fark, anlamlı kabul edilmiştir.

Bu analizin sonucuna göre, GK01 genotip kümesi izolatları, enfeksiyon patotipi ile istatistik olarak anlamlı düzeyde ilişkili ($p=0.021$) olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, örnekleme, "Patotip-Genotip Kümelenmesi" saptanmış, "Rezistotip" çeşitliliğinin ise yüksek olduğu, kümelenme sergilemediği belirlenmiştir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzde, küresel ölçekte, her yıl yüz milyonlarca kişinin, sağlık bakımıyla ilişkili infeksiyonlara maruz kaldığı bildirilmektedir. Sağlık hizmeti alan her on hastadan birisinde, sağlık bakımıyla ilişkili infeksiyon geliştiği saptanmıştır (1b). Etkili izlem ve önlem programlarının uygulandığı gelişmiş ülkelerde hastane infeksiyonları % 5-10 oranında görülürken, gelişmekte olan ülkelerde bu oranın % 25'e kadar yükselebildiği bildirilmektedir (1c). Sağlık bütçesinin % 75'e varan oranlarının hastanelerde harcanabildiği bildirilmektedir (2a). Hastane infeksiyonlarının % 8-10 oranında epidemik (epidemilerin % 10'u psödoepidemik), geri kalanının hiperendemik veya endemik olduğu bildirilmektedir (2b, 2c, 2d).

Hastane infeksiyonlarının, dirençli bakterilerin ortaya çıkması ve yayılması nedeniyle yerel önemine ek olarak küresel önemi de vardır. Dünyanın herhangi bir yerindeki bir hastanede ortaya çıkan hastane infeksiyonu etkeni dirençli bir bakteri klonunun, global yayılıma yol açabildiği gösterilmiştir (6). Bu türden global yayılımın epidemiyolojik ve ekonomik etkisi, günümüzde halen tam olarak ölçülememektedir (7).

Bu nedenlerle, hastanelerde, ulusal ve uluslararası düzlemde, yapılandırılmış infeksiyon kontrolü ve epidemiyolojisi programlarına gereksinim duyulmaktadır (8-11).

Hastane infeksiyonlarının epidemik olanlarının % 70'nin, endemik olanlarının % 20-32'sinin, yoğun izlem ve infeksiyon kontrolü programları ile önlenebileceği gösterilmiştir (10). Moleküler tiplendirme tekniklerinin rutin olarak doğru kullanımını da içeren infeksiyon kontrol programlarının tıbbi ve ekonomik getirisi (açk. Hacek ve ark.'nın çalışmasında 2 yılda 4 milyon dolar) olduğu gösterilmiştir (25a, 25b).

Günümüzde, izlem çalışmalarının bir parçası olarak epidemiyolojik tiplendirmede, bu amaçlarla, mikrobiyoloji laboratuvarları tarafından yaygın olarak kullanılan belirli yöntem ve teknikler vardır (9).

Acinetobacter baumannii, günümüzde, hastane infeksiyonlarına yol açan, sıklıkla çoklu-dirençli ve hatta tüm-droglara dirençli olabildiği için, tedavisinde zorluklarla karşılaşılan ve "ESKAPE grubu" (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri) olarak tanımlanan en önemli bakteriyel infeksiyon etkenlerinin içinde yer alan bir mikroorganizmadır (42).

Bu çalışmanın amacı, yatan hastaların klinik örneklerinden kolonizasyon veya enfeksiyon etkeni olarak izole edilen, çoklu-dirençli önemli hastane enfeksiyonu etkenlerinden *Acinetobacter baumannii*'nin, enfeksiyözite, antimikrobiyal direnç fenotipi ve klonal genotip (açk. patotip-rezistotip-genotip) bakımından kümeleşme özelliklerini araştırmak, yorumlamak ve bu temelde, önemli klinik, epidemiyolojik ve evrimsel çıkarımlar yapılabilmesini sağlamaktır. Bu çalışmada, özellikle, İstanbul ilinin biyocoğrafyasını (Asya yakası) temsil eden sekiz hastaneden oluşan bir örnekleme yapılmıştır. Bilgimize göre, literatürde, *Acinetobacter baumannii*'nin, özellikle patotip-rezistotip-genotip kümelenmesini araştırmak üzere tasarlanmış bir çalışma yoktur.

Acinetobacter baumannii'nin moleküler epidemiyolojik tiplendirmesinde kullanılabilen birden çok yöntem vardır: AFLP (uluslararası klonlar I-III'ün tanımlanması için altın standart), PFGE (klonalite araştırması için altın standart), MLVA (VNTR analizi) (lokal epidemiyoloji), rep-PCR (DiversiLab™) (lokal ve global epidemiyoloji; global klon 1-8'in saptanmasında kullanılabilir), SLST, 3LST, (lokal ve global epidemiyoloji), PubMLST (popülasyon yapısı araştırması; klonal kompleksler, klonlar, sekans tipleri; global epidemiyoloji ve uzun dönemli evrimsel dinamikler), Pasteur's MLST (popülasyon yapısı araştırmasında altın standart), PCR/ESI-MS (lokal epidemiyoloji), plazmid tiplendirmesi (rezistom analizi), direnç adacığı tiplendirmesi (rezistom analizi), NG-WGS (filogenetik analiz; uzun dönemli evrimsel dinamikler, çekirdek ve aksesuar genom analizi, lokal epidemiyoloji için SNP analizi, rezistom analizi, global ve lokal epidemiyoloji) (77, 112-114).

Acinetobacter baumannii'nin antibiyotik dirençli kökenlerinin Avrupa'daki epidemiyolojisi incelendiğinde, kuzeyden güneye doğru artan sıklıkta dirençle karşılaşıldığı ("north-south gradient"; karbapenem dirençli kökenlerin % oranı; (%4 - %85) saptanmıştır (66-69, 75-80). Literatürde, 2003 yılından bu yana, Avrupa'da, karbapenem-dirençli *Acinetobacter baumannii*'nin neden olduğu, en az 13 epidemi bildirilmiştir; bunlardan birisi Türkiye'dendir. (66-69, 75-80) Literatürde, PDR *Acinetobacter baumannii*'nin neden olduğu epidemiler de bildirilmiştir (79, 80). *Acinetobacter baumannii*'nin moleküler epidemiyolojisine yönelik olarak, 2001 yılından bu yana bildirilmiş olan, Türkiye kaynaklı veya Türkiye kökenleriyle yapılmış birçok araştırma vardır (81-111).

Acinetobacter baumannii uluslararası klonları, uluslararası global epidemiyolojik karşılaştırmayı sağlayabilecek olan moleküler epidemiyolojik tiplendirme yöntemleriyle (kütüphane tiplendirme sistemleri) incelendiğinde, global olarak, PubMLST veritabanının eBURST analizine göre, 7 farklı ST ile 21 klonal kompleks (CC), Pasteur's MLST veritabanının eBURST analizine göre ise, 176 farklı ST ile 20 klonal kompleks (CC) saptanmıştır (77). MLST Pasteur prosedürüne göre (<https://pubmlst.org/abaumannii/>), *Acinetobacter baumannii* sekans tiplerinin (1267 tipten ilk 1000 tip için) veritabanından alınan güncel verinin, eBURST v3 yazılımı (<http://eburst.mlst.net/v3>) ile (maksimum 1000 sekans tipi analiz edilebilmektedir) yaptığımız “population snapshot” incelemesinde, ST2'nin, “Founder ST” olduğu (62 SLV, 21 DLV) ve popülasyonun tümünde 86 grup (CC) olduğu saptanmıştır.

AFLP yöntemine göre, global olarak dolaşımda bulunan, 7 klon (ve MLST-Pasteur-CC ve ST karşılıkları) tanımlanmıştır. Bunlar, IC-I (CC1), IC-II (CC2), IC-III (CC3 ve ST25) (International Clones/European Clones; EU Clones), Cluster A (CC15 ve ST78), B (CC10), C (CC79 ve ST52) ve 6 (CC32)'dir. Global olarak, en yaygın olan klonlar, IC-I ve IC-II'dir. IC-III ve diğer kümeler, bazı Avrupa ülkelerinde, Asya'da ve Güney Amerika'da yaygındır (76).

Bilgimize göre, literatürde, Türkiye'de yaygın olan *Acinetobacter baumannii* uluslararası klonlarını, uluslararası global epidemiyolojik karşılaştırmayı sağlayabilecek olan moleküler epidemiyolojik tiplendirme yöntemleriyle (kütüphane tiplendirme sistemleri) belirlemiş yalnızca üç çalışma vardır, ancak bu çalışmaların ikisi tek merkezlidir (98, 109, 115). Metan ve ark. (98), yaptıkları araştırmada, bir üniversite hastanesinde (Kayseri), MLST ve AFLP yöntemleriyle (CC2:ST2/AFLP-Clone Unclassified, CC2:ST2/AFLP-Clone II, CC2:ST2/AFLP-Clone II, ST109/AFLP-Clone Unclassified, CC15:ST84/AFLP-Novel clone, CC1:new ST/AFLP-Clone I) ve antibiyotik direnç özellikleriyle (MDR, XDR, karbapenem direnci, OXA-51, OXA-58) 6 ayrı klonal grup saptamışlar ve “CC15:ST84/AFLP-Novel clone”un baskın olduğunu (41/100) belirlemişlerdir. Gülbudak ve ark. (109), yaptıkları araştırmada, bir üniversite hastanesinde (Mersin), rep-PCR (DiversiLab™) tekniği ile, sekiz (A-H) farklı klon saptamış ve A klonunun baskın tip olduğunu (%72, 54/75) belirlemişlerdir. Literatürde, Türkiye izolatlarında, karbapenem direncine neden olan mekanizmalar arasında, OXA-23, OXA-58 ve OXA-51 bildirilmiştir (77, 98). Ayrıca, Karah ve ark.'nın derlemesinde,

uluslararası koleksiyonlarda bulunan en az iki Türkiye kökeninin (MSLT-Pasteur-C54/99 ve MLST-Pasteur-C83/109) Avrupa klonları arasında yer aldığı görülmektedir (76). Son olarak, Türkiye ve Azeryen can biyocoğrafyalarında, dolaşımdaki klonları (invazif izolatlar; $n=112$, kan kültürü örnekleri) pan-European endemik klonları (“International Clones”) (EU Clone I, II, III) ile karşılaştırmalı olarak inceleyen çok merkezli (toplamda 11 hastane) bir araştırmada, EU klonu II, yalnızca Kayseri ve Diyarbakır bölgelerinde yaygın olarak (15 izolat) bulunurken, EU klonu I, Antalya, İstanbul ve Erzurum’da birer izolat olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada, EU III klonu, saptanmamıştır (115).

Rep-PCR yöntemi, son yıllarda, Diversilab ticari sistemi ile yaygın olarak kullanılmıştır. Bakteriyel izolatların genomik benzerliklerinin tanımlanmasında en sık kullanılan yöntemdir. Bu sayede veri hazırlama, raporlama ve arşivleme kolaylığı sağlanmıştır. Bu otomatize sistem ile salgınların aydınlatılması için çeşitli çalışmalar yapılmıştır (120). İtalya’da yapılan bir çalışmada, 11 aylık dönemde, yoğun bakım ünitesinde yatan 13 hastadan elde edilen 56 *A.baumannii* suşu ve çevre örneklerinden izole edilen 15 *A.baumannii* suşu rep-PCR Diversilab sistemi ile %97 ve üzeri benzerlik oranında alt klon olarak tanımlanmıştır. Klonal ilişki elde edilen izolatların ilk izolasyonu başka bir hastaneden yoğun bakıma transfer edilen bir hastadan olduğu ve çapraz bulaşla patojenin yayıldığı belirtilmiştir (121). Belçika’da yapılan bir çalışmada, Yunanistan’dan Belçika üniversite hastanesine transfer edilen 2 hastanın MDR *A. baumannii* taşıdığı tespit edilmiş ve sonraki 11 aylık periyotta MDR karbapenem dirençli *A.baumannii* suşlarının 26 hastanın klinik örneğinden izole edildiği ve 24 solunum yolu örneğinin pozitif bulunduğu belirtilmiştir (112). Çin’de üç askeri hastaneden izole edilen 49 MDR *A.baumannii* DiversiLab sistemi kullanılarak genotiplendirme yapılmıştır. Çalışma sonunda her biri üçten fazla izolat içeren ve $> \% 95$ benzerliğe sahip 5 adet klon (A-E) tanımlanmıştır. Klon A 27 izolat, klon B 8, klon C 4, klon D 3 ve klon E 3 izolattan oluşurken, kalan 4 izolatın her birinin farklı bir paterne sahip olduğu saptanmış ve toplamda 9 farklı patern olduğu gözlemlenmiştir. DiversiLab sisteminin hızlı sonuç vermesi bir avantajken, maliyetinin yüksek olması dezavantaj olarak rapor edilmiştir (125).

Bu çalışmada, İstanbul ilinin biyocoğrafyasını (Asya yakası; ancak, çalışmaya katılan hastanelere yatan olguların, en azından konak faktörleri açısından, ilin her iki yakasını da temsil edebildiği varsayılmıştır) temsil etmek amacıyla çalışmaya katılan

sekiz ayrı hastaneden (altısı üçüncü basamak sağlık hizmeti kurumu, ikisi ikinci basamak sağlık hizmeti kurumu) toplanan, klinik kaynaklı 36 adet *Acinetobacter baumannii* izolatının, patotip bakımından, 10'u (10/36, %27.7) enfeksiyonu etkeni ve 26'sı (26/36, %72.2) kolonizasyon olarak saptanmıştır. İzolatların, hastanelere göre dağılımında, GZT (n=15, %41.6) ve FSM (n=8, %16.6) baskındır. Enfeksiyon etkeni patotip dağılımında, HNH (4/10, %40), FSM (4/10, %40) ve GZT'nin (2/10, %20) baskın olduğu saptanmıştır. Hastanelerdeki Enfeksiyon izolatı/Toplam izolat % oranında, HNH (%100, 4/4), FSM (%50, 4/8)'nin baskın olduğu görülmüştür. Enfeksiyon etkeni patotipin, Yoğun Bakım Birimleri'nde (%70, 7/10) baskın olduğu saptanmıştır. Örnek türlerinde, alt solunum yolu sekresyonlarının ve (16/36, %44.4) ve kan dolaşımı örneklerinin (11/36, %30.5) baskın olduğu bulunmuştur.

Örnekleme 25 rezistotip saptanmıştır. Örnekleme rezistotip çeşitliliği yüksektir, baskın bir rezistotip saptanmamıştır. Örnekleme, antimikrobiyal direnç skoru en düşük Rs=2 (2 izolat), en yüksek Rs=31 (3 izolat) olarak saptanmıştır. En dirençli üç izolatın birisi FSM (enfeksiyon), diğerleri GZT (kolonizasyon) hastanelerinden izole edilmiştir. *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde son seçenek antibiyotiklerden olan karbapenemlere (imipenem, meropenem) direnç, örneklemin tamamında %88.8 (32/36) olarak saptanmıştır. Enfeksiyon etkeni olan 10 izolatta, bu oran %100'dür.

Örnekleme, toplam sekiz genotip kümesi (GK01-GK08) saptanmıştır. GK01 içinde, 30 izolat (örneklemin %83.3'ü, 30/36) yer almıştır. GK01 içinde, dört genotip (G01-G04) saptanmıştır. Enfeksiyon izolatlarının tamamı (10/10, %100) GK01 içinde yer almaktadır. GK01 içinde en sık izolat içeren hastaneler, sırasıyla, GZT (12/30, %40), FSM (6/30, %20), HNH (4/30, %13.3) olarak bulunmuştur. Örnekleme, Rs değeri en yüksek olan iki izolat (Rs=31), GK01 içinde yer almaktadır. GK01 içinde, 20 farklı direnç fenotipi (R) saptanmıştır. Örnekleme, toplam 11 genotip (G01-G11) saptanmıştır. Genotipler arasında, G01 (14/36, %38.8) ve G02'nin (12/36, %33.3) baskın olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak, bu çalışmada, İstanbul ilinden elde edilen *A. baumannii* örneklemindeki GK01 genotip kümesi izolatlarının, enfeksiyon patotipi ile istatistik olarak anlamlı düzeyde ilişkili ($p=0.021$) olduğu saptanmıştır. Buna göre, örnekleme, "Patotip-Genotip Kümelenmesi" saptanmış, "Rezistotip" çeşitliliğinin ise yüksek olduğu, kümelenme sergilemediği belirlenmiştir. Ayrıca, çalışma örnekleminde, "Patotip-Rezistotip-Genotip" incelemelerine ilişkin bulguların tamamı dikkate alındığında,

patojen ve antibiyotik direncinin evrilmesindeki ekolojik etkileşimler bakımından ve özellikle bu çerçevede “kaynak-gider dinamiği” (“source-sink dynamics”) yönünden, GZT hastanesinin “kaynak-çeşitliliği artırıcı ve yayıcı” (“source-diversifier-spreader”) (açk. özellikle genotip ve direnç çeşitliliğini artırıcı ve yayıcı nitelikte), FSM ve HNH hastanelerinin “gider-çeşitliliği azaltıcı ve yayıcı” (“sink-converger”) (açk. “import” olgularda özellikle patotip ve direnç çeşitliliğini enfeksiyon ve direnç artışı yönünde etkilediği), diğer hastanelerin ise “gider-etkisiz” (açk. “import” olgularda genotip-patotip-rezistotip bakımından etkisinin nötral olduğu) niteliklerde olduğu değerlendirilmiştir (121-126). Bu nedenle, kanımızca, bu çalışmanın sonuçları, İstanbul ilinde, *A. baumannii* enfeksiyonların kontrolü için yapılabilecek intervansiyonlara yön gösterici nitelikte önemli veriler sağlamaktadır.

6. KAYNAKLAR

- 1) a. http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates/en/ (erişim; Ekim 2018)
b. http://www.who.int/infection-prevention/publications/burden_hcai/en/ (erişim; Ekim 2018)
c. Yüce A. 2003. Hastane infeksiyonlarının önemi. In: *Hastane İnfeksiyonları*. Yüce A., Çakır N., eds. İzmir Güven Kitabevi. 3-6.
- 2) a. Bahar İH. 2003. Hastane infeksiyon kontrol komitesinin organizasyonu ve görevleri. In: *Hastane İnfeksiyonları*. Yüce A., Çakır N., eds. İzmir Güven Kitabevi. 13-18.
b. Struelens M. 2002. Molecular typing: a key tool for the surveillance and control of nosocomial infection. *Cur Opin Infect Dis*. 15: 383-385.
c. Chastre J, et al. 2002. Ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 165: 867-903.
d. Hsueh PR, et al. 1999. Nosocomial pseudoepidemic, caused by *Bacillus cereus* traced to contaminated ethyl alcohol from a liquor factory. *J Clin Microbiol*. 7: 2280-2284.
- 3) Zaidi N, et al. 2003. The role of molecular biology and nucleic acid technology in the study of human infection and epidemiology. *Arch Pathol Lab Med*. 127: 1098-1105.
- 4) The Quality Indicator Study Group. 1995. An approach to the evaluation of quality of the outcome of care in hospitalized patients, with a focus on nosocomial infection indicators. Society of the Healthcare Epidemiology of America Position Paper. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 16: 308-316.
- 5) Erkan F. 2000. Sağlık performans göstergelerinin belirlenmesinde uzmanlık derneklerinin rolü. Sağlıkta Kalite Çalışma Grubu. *İTO Uzmanlık Eğitimi Çalışma Grubu Toplantısı*. İstanbul. 13.06.2000.
- 6) a. McCormick JB. 1998. Epidemiology of emerging/re-emerging antimicrobial-resistant bacterial pathogens. *Curr Opin Microbiol*. 1:125-129.
b. Murchan S et al. 2003. Harmonization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*:

- a single approach developed by consensus in 10 european laboratories and its application for tracing the spread of related strains. *J Clin Microbiol.* 4: 1574-1585.
- 7) Howard DH, et al. 2003. The global impact of drug resistance. *Clin Infect Dis.* 36 (Suppl 1): 4-10.
 - 8) Töreci K. 2003. Hastane infeksiyon kontrolünün tarihçesi: dünyadaki ve Türkiye'deki durumu. In: *Hastane İnfeksiyonları*. Doğanay M, Ünal S, eds. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara. 17-33.
 - 9) Tenover FC, et al. 1997. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. Society of Healthcare Epidemiology of America Position Paper. The Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 18:426-439.
 - 10) a. Scheckler WE, et al. 1998. Requirements for infrastructure and essential activities of infection control and epidemiology in hospitals: A consensus panel report. Society of Healthcare Epidemiology of America Position Paper. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 19: 114-124.
b. Harbarth S, et al. 2003. The preventable proportion of nosocomial infections: an overview of published reports. *J Hosp Infect.* 4:258-266.
 - 11) van Belkum A. 2003. High-throughput epidemiologic typing in clinical microbiology. *Clin Microbiol Infect.* 9: 86-100.
 - 12) Peterson LR, Brosette SE. 2002. Hunting health care-related infections from the clinical laboratory: passive, active, and virtual surveillance. *J Clin Microbiol.* 40 (1):1-4.
 - 13) Hindler JF, Stelling J. 2007. Analysis and presentation of cumulative antibiograms: a new consensus guideline from the Clinical and Laboratory Standards Institute. *Clin Infect Dis.* 44(6):867-73.
 - 14) ReAct. Action on Antibiotic Resistance. Moving Towards Concerted Action. (<http://www.reactgroup.org/>)
 - 15) IDSA. Antibiotic Development: The 10 x '20 Initiative. (<http://www.idsociety.org/10x20/>)
 - 16) Strategic Research Agenda. JPIAMR. Joint Programming Initiative on Antimicrobial Resistance. (<http://www.jpamr.eu/>) (http://www.jpamr.eu/wp-content/uploads/2014/05/SRA1_JPIAMR.pdf)

- 17) ISGlobal. Antibiotic Resistance Initiative. (http://www.isglobal.org/en/web/guest/initiative//asset_publisher/S6tuWEK6F8B/content/resistencias-a-antibioticos)
- 18) ECDC/EMA Joint Technical Report. 2009. The bacterial challenge: time to react (A call to narrow the gap between multidrug-resistant bacteria in the EU and the development of new antibacterial agents).
- 19) WHO. 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance.
- 20) O'Brien TF, Stelling J. 2011. Integrated Multilevel Surveillance of the World's Infecting Microbes and Their Resistance to Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev.* 24(2):281-95.
- 21) Grundmann H, Klugman KP, Walsh T, Ramon-Pardo P, Sigauque B, Khan W, Laxminarayan R, Heddini A, Stelling J. 2011. A framework for global surveillance of antibiotic resistance. *Drug Resist Updat.* 14(2):79-87.
- 22) O'Brien TF, Stelling J. 2014. The world's microbiology laboratories can be a global microbial sensor network. *Biomedica.* 34 Suppl 1:9-15.
- 23) Struelens M. 2002. Molecular typing: a key tool for the surveillance and control of nosocomial infection. *Cur Opin Infect Dis.* 15: 383-385.
- 24) Pfaller MA. 2001. Molecular approaches to diagnosing and managing infectious diseases: practicality and costs. *Emer Infect Dis.* 2: 312-318.
- 25) a. Hacek DM, et al. 1999. Medical and economic benefit of a comprehensive infection control program that includes routine determination of microbial clonality. *Am J Clin Pathol.* 111:647-654.
- b. Neidell MJ, Cohen B, Furuya Y, Hill J, Jeon CY, Glied S, Larson EL. 2012. Costs of healthcare- and community-associated infections with antimicrobial-resistant versus antimicrobial-susceptible organisms. *Clin Infect Dis.* 55(6):807-15.
- 26) Wu F, et al. 2002. Molecular typing strategies. *Semin Perinat.* 5: 357-366.
- 27) Gülay Z. 2003. Hastane infeksiyonlarının kontrolünde mikrobiyoloji laboratuvarının rolü. In: *Hastane İnfeksiyonları*. Yüce A., Çakır N., eds. İzmir Güven Kitabevi. 28-36.
- 28) Acuner I.C. 2013. Use of molecular methods in the diagnosis of bacterial infections. *5th Euroasia Congress of Infectious Diseases*. 15-18 May, Tirana, Albania.

- 29) Acuner I.C. 2009. Which method to choose for different purposes? *3rd Euroasia Congress of Infectious Diseases*, 30 September – 4 October 2009, *Abstract Book*. S-7. Epidemiological Typing Methods. L-26. p: 318-326, Baku, Azerbaijan.
- 30) Acuner I.C. 2006. Investigation of an outbreak at hospital settings. *1st International Congress of Central Asia Infectious Diseases*. 1-4 November 2006,. *Abstract Book*. L-45., p43-p45, Bishkek, Kyrgyzstan.
- 31) Acuner İ.Ç. 2008. Moleküler Epidemiyolojik Belirteçlerin Seçiminde Kullanılan Ölçütler. *XXXIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi*, 21-25 Ekim, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, Bodrum. *Kongre Kitabı*, s:76-103.
- 32) Acuner İ.Ç. 2008. Moleküler Tiplendirme Yöntemlerinin Hastane Enfeksiyonlarının Kontrolündeki Yeri: Güncel Bilgiler Işığında Genel Bir Bakış. *5. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi*, 24-28 Haziran, Ankara Mikrobiyoloji Derneği, Ankara. *Program ve Bildiri Özetleri Kitabı*, s: 28-43.
- 33) Goering RV, Köck R, Grundmann H, Werner G, Friedrich AW; ESCMID Study Group for Epidemiological Markers (ESGEM). 2013. From theory to practice: molecular strain typing for the clinical and public health setting. *Euro Surveill*. 18(4):20383.
- 34) Goering RV. 2010. Pulsed field gel electrophoresis: a review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease. *Infect Genet Evol*. 10(7):866-75.
- 35) Sibley CD, Peirano G, Church DL 2012. Molecular methods for pathogen and microbial community detection and characterization: current and potential application in diagnostic microbiology. *Infect Genet Evol*. 12(3):505-21.
- 36) Sabat AJ, Budimir A, Nashev D, Sá-Leão R, van Dijl Jm, Laurent F, Grundmann H, Friedrich AW; ESCMID Study Group of Epidemiological Markers (ESGEM). 2013. Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *Euro Surveill*. 18(4):20380.
- 37) Carriço JA, Sabat AJ, Friedrich AW, Ramirez M; ESCMID Study Group for Epidemiological Markers (ESGEM). 2013. Bioinformatics in bacterial molecular epidemiology and public health: databases, tools and the next-generation sequencing revolution. *Euro Surveill*. 18(4):20382
- 38) Almeida LA, Araujo R. 2013. Highlights on molecular identification of closely related species. *Infect Genet Evol*. 13:67-75.

- 39) Miller JM. 2013. Whole-genome mapping: a new paradigm in strain-typing technology. *J Clin Microbiol.* 51(4):1066-70.
- 40) Strommenger B, Bartels MD, Kurt K, Layer F, Rohde SM, Boye K, Westh H, Witte W, De Lencastre H, Nübel U. 2014. Evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* towards increasing resistance. *J Antimicrob Chemother.* 69(3):616-22.
- 41) Kirca Yılmaz S, Acuner IC, Strommenger B, Bek Y, Witte W. 2014. [Infectivity-resistotype-genotype clustering of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in the Central Blacksea Region of Turkey]. *Mikrobiyol Bul.* 48(1):14-27.
- 42) Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. 2013. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 11(3):297-308.
- 43) Riley, W. *Acinetobacter* and *Moraxella*. Borriello SP, Murray PR, Funke G, editors. *Topley & Wilson's Microbiology & Microbial Infections, Bacteriology, vol. 2*, 10th ed. Hodder Arnold; London: 2005. p. 1301-1305.
- 44) Vaneechoutte M., Nemeč A., Kämpfer P., Cools P., Wauters G. 2015. *Acinetobacter, Chryseobacterium, Moraxella*, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. p 813-837. In: Jorgensen J, Pfaller M, Carroll K, Funke G, Landry M, Richter S, Warnock D (ed), *Manual of Clinical Microbiology*, Eleventh Edition. ASM Press, Washington, DC.
- 45) Beijerinck, M.W. 1911. Über pigmentbildung bei essigbakterien. *Proc. K. Ned. Akad.Wet.* 13: 1066–1077.
- 46) Baumann, P.,M. Doudoroff and R.Y. Stanier. 1968. A study of the *Moraxella* group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*). *J. Bacteriol.* 95: 1520–1541.
- 47) Approved Lists of Bacterial Names. 1980. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 30, 225-420.
- 48) <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem>, <http://www.bacterio.net/acinetobacter.html> (Erişim; Ekim, 2018)
- 49) Bouvet, P.J.M. and P.A.D. Grimont. 1986. Taxonomy of the genus *Acinetobacter*, *gen. nov.*, with the recognition of *Acinetobacter baumannii*, *sp. nov.*, *Acinetobacter haemolyticus*, *sp. nov.*, *Acinetobacter johnsonii*, *sp. nov.* and *Acinetobacter junii*, *sp. nov.* and emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36: 228–240.
- 50) Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. 2008. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews.* 21(3):538-82.

- 51) Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. 2007. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol.* 5(12):939-51.
- 52) Phillips M. 2015. *Acinetobacter* species. p: 2552-2558. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. John E. Bennett, Raphael Dolin, Martin J. Blaser (ed), Eighth edition, Elsevier, Saunders, Philadelphia.
- 53) https://www.cdc.gov/nhsn/PDFs/pscManual/2PSC_IdentifyingHAIs_NHSNcurrent.pdf (Erişim: Ekim 2018)
- 54) https://www.cdc.gov/nhsn/PDFs/pscManual/17pscNosInfDef_current.pdf (Erişim: Ekim 2018)
- 55) Cardoso T, Almeida M, Friedman ND, Aragão I, Costa-Pereira A, Sarmiento AE, Azevedo L. 2014. Classification of healthcare-associated infection: a systematic review 10 years after the first proposal. *BMC Med.* 12:40.
- 56) Wong D, Nielsen TB, Bonomo RA, Pantapalangkoor P, Luna B, Spellberg B. 2017. Clinical and Pathophysiological Overview of *Acinetobacter* Infections: a Century of Challenges. *Clin Microbiol Rev.* 30(1):409-447.
- 57) Harding CM, Hennon SW, Feldman MF. 2018. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nat Rev Microbiol.* 16(2):91-102.
- 58) Mortensen BL, Skaar EP. 2012. Host-microbe interactions that shape the pathogenesis of *Acinetobacter baumannii* infection. *Cell Microbiol.* 14(9):1336-44.
- 59) Gordon NC, Wareham DW. 2010. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *Int J Antimicrob Agents.* 35(3):219-26.
- 60) Aşık G. 2011. [Current approaches to explain the virulence of *Acinetobacter baumannii*]. *Mikrobiyol Bul.* 45(2):371-80.
- 61) Eraç B, Yılmaz FF, Hoşgör Limoncu M, Oztürk I, Aydemir S. 2014. [Investigation of the virulence factors of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates]. *Mikrobiyol Bul.* 48(1):70-81.
- 62) Rice LB. 2008. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *J Infect Dis.* 197(8):1079-81.
- 63) Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, Scheld M, Spellberg B, Bartlett J. 2009. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 48(1):1-12.
- 64) Peterson LR. 2009. Bad bugs, no drugs: ESCAPE revisited. *Clin Infect Dis.* 49(6):992-3.

- 65) Neonakis IK, Spandidos DA, Petinaki E. 2011. Confronting multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a review. *Int J Antimicrob Agents*. 37(2):102-9.
- 66) Souli M, Galani I, Giamarellou H. 2008. Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. *Euro Surveill*. 13(47). pii: 19045.
- 67) Visca P, Seifert H, Towner KJ. 2011. *Acinetobacter infection*--an emerging threat to human health. *IUBMB Life*. 63(12):1048-54.
- 68) Durante-Mangoni E, Zarrilli R. 2011. Global spread of drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: molecular epidemiology and management of antimicrobial resistance. *Future Microbiol*. 6(4):407-22.
- 69) Kempf M, Rolain JM. 2012. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *Int J Antimicrob Agents*. 39(2):105-14.
- 70) García-Quintanilla M, Pulido MR, López-Rojas R, Pachón J, McConnell MJ. 2013. Emerging therapies for multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Trends Microbiol*. 21(3):157-63.
- 71) Asif M, Alvi IA, Rehman SU. 2018. Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infect Drug Resist*. 11:1249-1260.
- 72) Isler B, Doi Y, Bonomo RA, Paterson DL. 2018. New Treatment Options Against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infections. *Antimicrob Agents Chemother*. pii: AAC.01110-18.
- 73) Cegelski L, Marshall GR, Eldridge GR, Hultgren SJ. 2008. The biology and future prospects of antivirulence therapies. *Nat Rev Microbiol*. 6(1):17-27.
- 74) Spicknall IH, Foxman B, Marrs CF, Eisenberg JN. 2013. A modeling framework for the evolution and spread of antibiotic resistance: literature review and model categorization. *Am J Epidemiol*. 178(4):508-20.
- 75) Fournier PE, Richet H. 2006. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis*. 42(5):692-9.
- 76) Karah N, Sundsfjord A, Towner K, Samuelsen Ø. 2012. Insights into the global molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible clones of *Acinetobacter baumannii*. *Drug Resist Updat*. 15(4):237-47.

- 77) Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. 2013. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents*. 41(1):11-9.
- 78) Antunes LC, Visca P, Towner KJ. 2014. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. *Pathog Dis*. 71(3):292-301.
- 79) Hsueh PR, Teng LJ, Chen CY, Chen WH, Yu CJ, Ho SW, Luh KT. 2002. Pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. *Emerg Infect Dis*. (8):827-32.
- 80) Chan PC, Huang LM, Lin HC, Chang LY, Chen ML, Lu CY, Lee PI, Chen JM, Lee CY, Pan HJ, Wang JT, Chang SC, Chen YC. 2007. Control of an outbreak of pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* colonization and infection in a neonatal intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 28(4):423-9.
- 81) Basustaoglu AC, Kisa O, Sacilik SC, Ozyurt M, Yildiran ST. 2001. Epidemiological characterization of hospital-acquired *Acinetobacter baumannii* isolates from a 1500-bed teaching hospital by phenotypic and genotypic methods. *J Hosp Infect*. 47(3):246-7.
- 82) Aygün G, Demirkiran O, Utku T, Mete B, Urkmez S, Yilmaz M, Yaşar H, Dikmen Y, Oztürk R. 2002. Environmental contamination during a carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak in an intensive care unit. *J Hosp Infect*. 52(4):259-62.
- 83) Ayan M, Durmaz R, Aktas E, Durmaz B. 2003. Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital-acquired *Acinetobacter baumannii* infection in a teaching hospital. *J Hosp Infect*. 54(1):39-45.
- 84) van Dessel H, Dijkshoorn L, van der Reijden T, Bakker N, Paauw A, van den Broek P, Verhoef J, Brisse S. 2004. Identification of a new geographically widespread multiresistant *Acinetobacter baumannii* clone from European hospitals. *Res Microbiol*. 155(2):105-12.
- 85) Güdücüoğlu H, Durmaz R, Yaman G, Cizmeci Z, Berktas M, Durmaz B. 2005. Spread of a single clone *Acinetobacter baumannii* strain in an intensive care unit of a teaching hospital in Turkey. *New Microbiol*. 28(4):337-43.
- 86) Akalin H, Ozakin C, Gedikoglu S. 2006. Epidemiology of *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Turkey. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 27(4):404-8.

- 87) Alp E, Esel D, Yildiz O, Voss A, Melchers W, Doganay M. 2006. Genotypic analysis of *Acinetobacter* bloodstream infection isolates in a Turkish university hospital. *Scand J Infect Dis.* 38(5):335-40.
- 88) Meric M, Kasap M, Gacar G, Budak F, Dundar D, Kolayli F, Eroglu C, Vahaboglu H. 2008. Emergence and spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital in Turkey. *FEMS Microbiol Lett.* 282(2):214-8.
- 89) Gur D, Korten V, Unal S, Deshpande LM, Castanheira M. 2008. Increasing carbapenem resistance due to the clonal dissemination of oxacillinase (OXA-23 and OXA-58)-producing *Acinetobacter baumannii*: report from the Turkish SENTRY Program sites. *J Med Microbiol.* 57(Pt 12):1529-32.
- 90) Cetin ES, Durmaz R, Tetik T, Otlu B, Kaya S, Caliskan A. 2009. Epidemiologic characterization of nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections in a Turkish university hospital by pulsed-field gel electrophoresis. *Am J Infect Control.* 37(1):56-64.
- 91) Durmaz R, Otlu B, Koksall F, Hosoglu S, Ozturk R, Ersoy Y, Aktas E, Gursoy NC, Caliskan A. 2009. The optimization of a rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for the typing of *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *Jpn J Infect Dis.* 62(5):372-7.
- 92) Dinc U, Bayramoglu G, Buruk K, Ulusoy H, Tosun I, Kaklikkaya N. 2010. Molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* complex isolated from clinical specimens at an intensive care unit. *Saudi Med J.* 31(4):453-5.
- 93) Di Popolo A, Giannouli M, Triassi M, Brisse S, Zarrilli R. 2011. Molecular epidemiological investigation of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in four Mediterranean countries with a multilocus sequence typing scheme. *Clin Microbiol Infect.* 17(2):197-201.
- 94) Kulah C, Mooij MJ, Comert F, Aktas E, Celebi G, Ozlu N, Rijnsburger MC, Savelkoul PH. 2010. Characterisation of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak strains producing OXA-58 in Turkey. *Int J Antimicrob Agents.* 36(2):114-8.
- 95) Zarrilli R, Giannouli M, Rocco F, Loman NJ, Haines AS, Constantinidou C, Pallen MJ, Triassi M, Di Nocera PP. 2011. Genome sequences of three *Acinetobacter baumannii* strains assigned to the multilocus sequence typing genotypes ST2, ST25, and ST78. *J Bacteriol.* 193(9):2359-60.

- 96) Bayramoglu G, Kaya S, Besli Y, Cakır E, Can G, Akınenen O, Aydın F, Koksall I. 2012. Molecular epidemiology and the clinical significance of *Acinetobacter baumannii* complex isolated from cerebrospinal fluid in neurosurgical intensive care unit patients. *Infection*. 40(2):163-72.
- 97) Ergin A, Hascelik G, Eser OK. 2013. 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*. 45(1):26-31.
- 98) Metan G, Sariguzel F, Sumerkan B, Reijden Tv, Dijkshoorn L. 2013. Clonal diversity and high prevalence of OXA-58 among *Acinetobacter baumannii* isolates from blood cultures in a tertiary care centre in Turkey. *Infect Genet Evol*. 14:92-7.
- 99) Cicek AC, Karagoz A, Koksall E, Erturk A, Ozgumus OB, Koksall ZS, Durmaz R. 2013. A single clone *Acinetobacter baumannii* outbreak in a state hospital in Turkey. *Jpn J Infect Dis*. 66(3):245-8.
- 100) Cicek AC, Saral A, Iraz M, Ceylan A, Duzgun AO, Peleg AY, Sandalli C. 2014. OXA- and GES-type β -lactamases predominate in extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a Turkish University Hospital. *Clin Microbiol Infect*. 20(5):410-5.
- 101) Çiçek AÇ, Düzgün AÖ, Saral A, Kayman T, Çizmecı Z, Balcı PÖ, Dal T, Fırat M, Tosun İ, Alıntop YA, Çalışkan A, Yazıcı Y, Sandallı C. 2013. Detection of class 1 integron in *Acinetobacter baumannii* isolates collected from nine hospitals in Turkey. *Asian Pac J Trop Biomed*. 3(9):743-7.
- 102) Sarı AN, Biçmen M, Gülay Z. 2013. The first report on the outbreak of OXA-24/40-like carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in Turkey. *Jpn J Infect Dis*. 66(5):439-42.
- 103) Ciftci IH, Aşık G, Karakeçe E, Oksüz L, Yağcı S, Sesli Çetin E, Ozdemir M, Atasoy AR, Koçoğlu E, Gül M, Kurtođlu MG, Köksall Çakırlar F, Seyrek A, Berktaş M, Gültepe B, Ayyildiz A. 2013. Distribution of blaOXA genes in *Acinetobacter baumannii* strains: a multicenter study]. *Mikrobiyol Bul*. 47(4):592-602.
- 104) Zeka AN, Poirel L, Sipahi OR, Bonnin RA, Arda B, Ozinel M, Ulusoy S, Bor C, Nordmann P. 2014. GES-type and OXA-23 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in Turkey. *J Antimicrob Chemother*. 69(4):1145-6.

- 105) Oğutlu A, Guclu E, Karabay O, Utku AC, Tuna N, Yahyaoglu M. 2014. Effects of carbapenem consumption on the prevalence of *Acinetobacter infection* in intensive care unit patients. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.*13:7.
- 106) Özgür ES, Horasan ES, Karaca K, Ersöz G, Naycı Atış S, Kaya A. 2014. Ventilator-associated pneumonia due to extensive drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors, clinical features, and outcomes. *Am J Infect Control.* 42(2):206-8.
- 107) Mengeloğlu FZ, Copur Çiçek A, Koçoğlu E, Sandallı C, Budak EE, Özgümüş OB. 2014. [Carriage of class 1 and 2 integrons in *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens and a novel gene cassette array: blaOXA-11-cmlA7]. *Mikrobiyol Bul.* 48(1):48-58.
- 108) Eraç B, Yılmaz FF, Hoşgör Limoncu M, Öztürk I, Aydemir S. 2014. [Investigation of the virulence factors of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates]. *Mikrobiyol Bul.* 48(1):70-81.
- 109) Gulbudak H, Aslan G, Tezcan S, Ersoz G, Ulger M, Otag F, Kuyucu N, Emekdas G. 2014. [Investigation of the clonal relationship between nosocomial *Acinetobacter baumannii* isolates by rep-PCR]. *Mikrobiyol Bul.* 48(2):316-24.
- 110) Arduino SM, Quiroga MP, Ramírez MS, Merquier AK, Errecalde L, Di Martino A, Smayevsky J, Kaufman S, Centrón D. 2012. Transposons and integrons in colistin-resistant clones of *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* with epidemic or sporadic behaviour. *J Med Microbiol.* 61(Pt 10):1417-20.
- 111) Ertürk AE, Çiçek AE, Gümü A, Cüre E, En A, Kurt A, Karagöz A, Aydo An N, Sandall C, Durmaz RZ. 2014. Molecular characterisation and control of *Acinetobacter baumannii* isolates resistant to multi-drugs emerging in inter-intensive care units. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 13(1):36.
- 112) Grisold AJ, Zarfel G, Strenger V, Feierl G, Leitner E, Masoud L, Hoenigl M, Raggam RB, Dosch V, Marth E. 2010. Use of automated repetitive-sequence-based PCR for rapid laboratory confirmation of nosocomial outbreaks. *J Infect.* 60(1):44-51.
- 113) Fluit AC, Terlingen AM, Andriessen L, Ikawaty R, van Mansfeld R, Top J, Cohen Stuart JW, Leverstein-van Hall MA, Boel CH. 2010. Evaluation of the DiversiLab system for detection of hospital outbreaks of infections by different bacterial species. *J Clin Microbiol.* 48(11):3979-89.

- 114) Deplano A, Denis O, Rodriguez-Villalobos H, De Ryck R, Struelens MJ, Hallin M.J. 2011. Controlled performance evaluation of the DiversiLab repetitive-sequence-based genotyping system for typing multidrug-resistant health care-associated bacterial pathogens. *Clin Microbiol.* 49(10):3616-20.
- 115) Ahmed SS, Alp E, Ulu-Kilic A, Dinc G, Aktas Z, Ada B, Bagirova F, Baran I, Ersoy Y, Esen S, Guven TG, Hopman J, Hosoglu S, Koksall F, Parlak E, Yalcin AN, Yilmaz G, Voss A, Melchers W. 2016. Spread of carbapenem-resistant international clones of *Acinetobacter baumannii* in Turkey and Azerbaijan: a collaborative study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 35(9):1463-8.
- 116) VITEK MS İş Akışı Kullanım Kılavuzu - Klinik Kullanım, BioMerieux, Fransa.
- 117) VITEK 2 Compact Kart Kullanım İşlemleri, BioMerieux, Fransa.
- 118) Diversilab-Kolay Başvuru Rehberi / DNA Ekstraksiyonu, BioMerieux, Fransa.
- 119) Agilent 2100 Bioanalizör 2100 Expert Kullanım Klavuzu, BioMerieux, Fransa.
- 120) Higgins PG., Hujer AM, Hujer KM, Bonomo RA, Seifert H. 2012. Interlaboratory reproducibility of DiversiLab rep-PCR typing and clustering of *Acinetobacter baumannii* isolates. *J Med Microbiol.* 61(Pt 1): 137–141.
- 121) Smith DL, Dushoff J, Perencevich EN, Harris AD, Levin SA. 2004. Persistent colonization and the spread of antibiotic resistance in nosocomial pathogens: resistance is a regional problem. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101(10):3709-14.
- 122) Perron GG, Gonzalez A, Buckling A. 2007. Source-sink dynamics shape the evolution of antibiotic resistance and its pleiotropic fitness cost. *Proc Biol Sci.* 274(1623):2351-6.
- 123) Perron GG, Gonzalez A, Buckling A. 2008. The rate of environmental change drives adaptation to an antibiotic sink. *J Evol Biol.* 21(6):1724-31.
- 124) Hermsen R, Deris JB, Hwa T. 2012. On the rapidity of antibiotic resistance evolution facilitated by a concentration gradient. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 109(27):10775-80.
- 125) Chang HH, Cohen T, Grad YH, Hanage WP, O'Brien TF, Lipsitch M. 2015. Origin and proliferation of multiple-drug resistance in bacterial pathogens. *Microbiol Mol Biol Rev.* 79(1):101-16.
- 126) Sokurenko EV, Gomulkiewicz R, Dykhuizen D. 2006. Source-sink dynamics of virulence evolution. *Nat Rev Microbiol.* 4 (7):548-55.



**T.C. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
HASTANESİ**

08.04.2015

KARAR NO:055/464

KONU: İnci Deniz Etik Kurul Başvurusu hk;

Sayın İnci Deniz ,

Kurulumuzun 08.04.2015 tarihli toplantısında görüşülen "Klinik Kaynaklı Acinetobacter baumannii izolatlarında patotip -rezistotip-genotip kümelenmesi varlığının araştırılması" konulu çalışmanız değerlendirilmiş ve yapılan inceleme sonucunda; çalışmanın onaylanmasına toplantıya katılan değerlendirme kurulu üyelerinin oy çokluğu ile karar verilmiştir,

Bilgilerinize sunar, çalışmalarınızda başarılar dileriz.

Saygılarımızla,

Prof. Dr. Turgay Çelik

Yeditepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Devlet Yolu Ankara Cad. No: 102 / 104 34752 Kozyatağı – İSTANBUL

Tel: (0 216) 578 40 00 Fax: (0 216) 469 37 96

www.yeditepehastanesi.com.tr

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	İnci	Soyadı	Deniz
Doğum Yeri	İstanbul	Doğum Tarihi	01.03.1984
Uyruğu	T.C	E-mail	incideniz@gmail.com

Öğrenim Durumu

Derece	Alan	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Biyoloji Öğretmenliği	İstanbul Üniversitesi	2009
Lisans	Biyoloji	İstanbul Üniversitesi	2007
Lise	Fen Bilimleri	Kenan Evren Anadolulisesi	2002

Yabancı Dil	Sınav Notu
İngilizce	-

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Biyolog	Yeditepe Üniversitesi	2011-
Biyolog	Gnc-Türkiye	2009-2011

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Windows 98/2000/XP	Çok iyi
Microsoft Office	Çok iyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Bilimsel Çalışmaları

SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler

Demet Us Yılmaz, Hazal Terlemez, Tansu Turnalar, Hande Sipahi, Beril Kadioglu, İnci Deniz and Hulya Akgun, Synthesis and pharmacological activities of Some novel N,N'-disubstituted urea derivatives, International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry, 6(2), 363-371, 2016.

Atay Balkan İrem, Taşkın Turgut, Doğan Hacer Tuğba, Deniz İnci, Akaydın Galip, Yeşilada Erdem (2017). A comparative investigation on the in vitro anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial potentials of subextracts from the aerial parts of *Daphne oleoides* Schreb. subsp. *oleoides*. Industrial Crops and Products, 95(), 695-703. , Doi: 10.1016/j.indcrop.2016.11.038 (Yayın No : 3508448)

Diğer dergilerde yayınlanan makaleler

Çelen Ş., Duman S., Kizilcikli İ., Çelik H. , Deniz İ., "Bazı 2-Hidroksialdehit Tiyosemikarbazon'ların Solvate Dioksomolibden(Vi) Komplekslerinin Sentezi Ve Antimikrobiyel Çalışmaları", V. Ulusal Anorganik Kimya Kongresi, İÇEL, TÜRKİYE, 22-25 Nisan 2015, ss.79-79

Çelen Ş., Eğlence S., Kizilcikli İ., Çelik H. , Deniz İ., "3-Etoksisalisilaldehit Tiyosemikarbazon'un Solvate Dioksomolibden(VI) Komplekslerinin Sentezi, Karakterizasyonu Ve Antimikrobiyel Özelliklerinin İncelenmesi ", 27. Ulusal Kimya Kongresi, ÇANAKKALE, TÜRKİYE, 23-28 Ağustos 2015, ss.463-463

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler

Atay Balkan İrem, Taşkın Turgut, Doğan Hacer Tuğba, İnci Deniz, Akaydın Galip, Yeşilada Erdem (2017). A comparative investigation on the in vitro Biological Activities of subextracts from the aerial parts of Daphne oleoides Schreb. subsp. oleoides. International Symposium on Biodiversity and Edible Wild Species, (Özet bildiri) (Yayın No:4067920)

Hakemli konferans/sempozyumların bildiri kitaplarında yer alan yayınlar

Atay Balkan İrem, Taşkın Turgut, Doğan Hacer Tuğba, Deniz İnci, Akaydın Galip, Yeşilada Erdem (2017). A comparative investigation on the in vitro anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial potentials of subextracts from the aerial parts of Daphne oleoides Schreb. subsp. oleoides. Industrial Crops and Products, 95(), 695-703. , Doi: 10.1016/j.indcrop.2016.11.038 (Yayın No : 3508448)

Diğer (Görev Aldığı Projeler/Sertifikalari/Ödülleri)

TS EN ISO/IEC 17025:2017 Deney ve Kalibrasyonlar Laboratuvarlarının Yetkinliği için Genel Gereklilikler
Genel Metroloji ve Ölçüm Belirsizliği
QDMS Entegre Yönetim Sistemi
İyi Klinik Uygulamalar (IKU) Temel Eğitim
Kozmetikte Koruyucuların Geleceği
Personal Care / Household
Sigma Life Science - Where Bio Begins
Kozmetik Ürünlerde Mikrobiyoloji Uygulamalı Eğitimi
Deney Hayvanlarının Biyolojik Araştırmalarda Kullanılması Kursu
Öngörüsül ve Bireye Özgü Tıp İçin Farmakogenetik Yaklaşımlar Kuramsal ve Uygulamalı Kurs
Kozmetik Kimyası, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi
Uluslararası Kozmetik Kongresi