

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN HASTANE ENFEKSİYON
ETKENİ OLARAK İZOLE EDİLEN KARBAPENEM DİRENÇLİ
ACINETOBACTER BAUMANNII SUŞLARININ PFGE
YÖNTEMİYLE GENOTİPLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Yasemin KIRIK

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Kutbeddin DEMİRDAĞ

ELAZIĞ
2014

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan Orhan

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ayhan AKBULUT

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden “Uzmanlık Tezi” olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Kutbeddin DEMİRDAĞ

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

..... _____
..... _____
..... _____
..... _____
..... _____

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimlerini bizlerle sürekli paylaşan çok değerli hocalarım Prof. Dr. Ayhan AKBULUT, Prof. Dr. Mehmet ÖZDEN ve Yrd. Doç. Dr. Affan DENK'e ve tezimin hazırlanma aşamasında bana vakit ayıran sayın hocam Prof. Dr. Kutbettin DEMİRDAĞ'a teşekkürlerimi sunarım.

İhtisasıma başladığım ilk yıllarda anabilim dalımızda bulunan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ahmet KALKAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin çalışma aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD öğretim görevlisi Sayın Doç. Dr. Barış OTLU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım boyunca beraber çalıştığım kıdemlilerim Uzm. Dr. Arzu ŞENOL, Uzm. Dr. Gülden ESER KARLIDAĞ, Uzm. Dr. Özlem ÇAĞAŞAR, Uzm. Dr. Şafak ÖZER BALİN, Uzm. Dr. Kürşat KARADABAN, Uzm. Dr. Necmettin YILDIRIM, Uzm. Dr. Müge ÖZGÜLER, Uzm. Dr. Meral GÜLBENAT ŞİMŞEK, Uzm. Dr. Ayşe SAĞMAK TARTAR'a ve beraber çalışmakta olduğum Dr. Derya BESLENTİ, Dr. Birhan AKBAYIR, Dr. Sümeyye SELİM KARA, Dr. Hatice ÜDÜRGÜCÜ, Dr. İsa Ahmet BAL ve Dr. Büşra TANIR'a teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince bana destek olan, kliniğimizde görev yapan hemşire arkadaşlarıma, personel arkadaşlarıma ve klinik sekreterimize teşekkür ederim. Tezimin laboratuvar aşamasında yardımcı olan Mustafa ŞEKER ve İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD araştırma görevlisi Dr. Nafia Canan GÜRSOY'a teşekkürlerimi sunarım.

Sevgileri ve destekleri ile hep yanımda hissettiğim canım aileme, bu zorlu süreçte benimle birlikte tezimin tamamlanması için uğraş veren, desteğini esirgemeyen sevgili eşim Serkan KIRIK'a, hayatıma girdiği andan beri neşe kaynağım olan birtanecik oğlum Eymen KIRIK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Hastane enfeksiyonları morbidite ve mortalite oranlarını, hastanede kalış süresini ve tedavi maliyetini önemli ölçüde arttırdığı için, önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. *Acinetobacter* cinsi bakteriler hastane enfeksiyonlarına yol açan etkenler içinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu etkenlerin hastane enfeksiyonlarında sık olarak saptanmalarının nedenleri, dış ortam koşullarında kolaylıkla yaşayabilmeleri ve antibiyotiklere karşı çoğul direnç kazanabilmeleridir.

Acinetobacter baumannii salgınlarının kaynağının doğru ve hızlı tespiti, enfeksiyonun tedavisi ve salgının kontrolü açısından önemlidir. Salgın epidemiyolojisinde Pulsed-Field Gel Electrophoresis ile total genom polimorfizminin analizi en güvenilir yöntemdir ve genotiplendirmede altın standart olarak kabul edilmektedir.

Çalışmamızda Fırat Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı ile Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvar'ına 1 Aralık 2013 – 30 Haziran 2014 tarihleri arasında gönderilen çeşitli klinik materyallerden hastane enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 93 adet karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatının PFGE yöntemiyle moleküler benzerliklerinin araştırılması amaçlandı. 93 adet *A. baumannii* suşunun disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyogramlarına göre, tümünün imipeneme karşı dirençli olduğu bulundu. Tiplendirilen 93 *A. baumannii* suşu 30 farklı PFGE profili gösterdi. Klonal yönden ilişkili suşlar, 7 farklı küme içerisinde yer aldı. Toplam 93 *A. baumannii* suşunun 80'i herhangi bir küme içerisinde yer aldı. Suşların kümeleşme oranı %86 bulundu. Çalışmamızda en fazla izolat sayısına sahip I kümesinde yer alan 55 suşun izolasyon tarihleri incelendiğinde, bu klonun hastanemizde yaklaşık 7 ay varlığını sürdürdüğü görüldü.

Sonuç olarak; bu çalışma hastanemizde *A. baumannii* izolatlarının, aradan 7 ay gibi uzun bir süre geçmesine rağmen benzer olduğunu gösterdi. Ayrıca PFGE'nin diğer çalışmalarla benzer şekilde izolatlar arası benzerlik ya da farklılıkların tespitinde mevcut en önemli ayırıcı yöntem olduğu düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, karbapenem direnci, PFGE, genotipleme

ABSTRACT

Hospital infections continue to be an important health problem since they seriously increase the rate of mortality and morbidity as well as hospital care period and treatment costs. *Acinetobacter* species of bacteria, factors of hospital infections led to an important place. Reasons of these factors are, they can live easily in outdoor conditions and their ability to acquire multiple resistance to antibiotics.

Fast and accurate detection of *Acinetobacter baumannii* outbreaks is important in the treatment and control of epidemic infections. In the outbreak epidemiology analyze of total genome polymorphism by Pulsed-Field Gel Electrophoresis is the most confident method and gold standard method in genotyping.

Purpose of our study, investigate the various clinical materials cause of nosocomial infection was isolated as 93 pieces of carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates of PFGE with the molecular similarity between 1 December 2013 - 30 June 2014 in the Firat University Hospital Central Laboratory and Department of Infectious Diseases Laboratory.

93 units of *A. baumannii* strains by disc diffusion method according to the antibiograms, imipenem resistant ratio was found 100%. Typing 93 *A. baumannii* strains showed 30 different PFGE profiles. Strains to clonal correlates, located in the seven different clusters. A total of 93 strains of *A. baumannii*, 80 of them are located within any cluster. Clustering of strain rate %86. In our study, the maximum number of isolates with 1 cluster of the 55 strains set of dates in the isolation were examined, this clone seen to persist for about 7 months in our hospital.

As a result; this study showed in our hospital *A. baumannii* isolates similar, after 7 months is a long time to pass. In addition, PFGE is a manner similar to other studies in the identification of similarities or differences between isolates available was considered to be the most important insulting method.

Key Words: *Acinetobacter baumannii*, carbapenem resistance, PFGE, genotyping

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Hastane Enfeksiyonları	3
1.2. Acinetobacter	3
1.2.1. Morfolojik, Mikrobiyolojik Özellikler	4
1.2.2. Patogenez ve Virulans Faktörleri	5
1.2.3. <i>Acinetobacter</i> 'in Neden Olduğu Hastane Enfeksiyonları	6
1.2.3.1. Solunum Sistemi Enfeksiyonları	6
1.2.3.2. Bakteriyemi	7
1.2.3.3. Üriner Sistem Enfeksiyonları	8
1.2.3.4. Yumuşak Doku Enfeksiyonları	8
1.2.3.5. Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonları	8
1.2.3.6. Diğer Enfeksiyonlar	9
1.2.4. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarında Tedavi	9
1.2.4.1. Sulbaktam	10
1.2.4.2. Karbapenemler	10
1.2.4.3. Sefalosporinler	10
1.2.4.4. Aminoglikozidler	11
1.2.4.5. Polimiksinler	12
1.2.4.6. Tigesiklin	12
1.2.4.7. Kinolonlar	13
1.2.5. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotiklerin Direnç Mekanizmaları	13
1.2.5.1. Beta-laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları	14

1.2.5.2. Aminoglikozidlere Karşı Direnç Mekanizmaları	17
1.2.5.3. Polimiksinlere Karşı Direnç Mekanizması	17
1.2.5.4. Tigesikline Karşı Direnç Mekanizması	17
1.2.5.5. Kinolonlara Karşı Direnç Mekanizmaları	18
1.2.6. Tiplendirme Yöntemleri	18
1.2.6.1. Fenotipik Metotlar	19
1.2.6.2. Genotipik Metotlar	20
2. GEREÇ VE YÖNTEM	23
2.1. Çalışmanın Akışı	23
2.1.1. Bakteri kültürü, mikroorganizmanın izolasyonu ve tür tayini	23
2.1.2. Disk difüzyon metodu ile antibiyotik duyarlılık testi yapılması	24
2.1.3. Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) Çalışma Yöntemi	24
2.1.3.1. İzolatların hazırlanması	24
2.1.3.2. İzolatların agaroz gömülmesi	25
2.1.3.3. Agaroz içindeki hücrelerin parçalanması:	25
2.1.3.4. Hücre lizizinden sonra agaroz kalıpların yıkanması:	26
2.1.3.5. Agaroz kalıpları içindeki DNA'nın RE ile kesilmesi:	26
2.1.3.6. Elektroforez jelinin hazırlanması ve kalıpların jele yüklenmesi	27
2.1.3.7. Elektroforez	28
2.1.3.8. Sonucun gözlenmesi ve analizi	28
2.1.3.9. PFGE için gerekli solusyonlar	29
3. BULGULAR	31
4. TARTIŞMA	35
5. KAYNAKLAR	42
6. ÖZGEÇMİŞ	54

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Beta-laktamaz grupları ve genel özellikleri.	15
Tablo 2. Hastane enfeksiyon etkenlerini tiplendirme metotları	18
Tablo 3. Klinik izolatların materyallere göre dağılımı	31
Tablo 4. İzolatların kliniklere göre dağılımı	32
Tablo 5. Hastane kökenli Acinetobacter enfeksiyonu tiplerinin dağılımı	32

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Kanlı agarda <i>Acinetobacter</i> kolonileri	5
Şekil 2. Aynı izolatlar	28
Şekil 3. Yakın ilişkili izolatlar	29
Şekil 4. Muhtemel ilişkili izolatlar	29
Şekil 5. İlişkısiz izolatlar	29
Şekil 6. PFGE ile elde edilen dendrogram görüntüsü	34

KISALTMALAR LİSTESİ

BOS	: Beyin omurilik sıvısı
CLSI	: Clinical and Laboratory Standart Institute
ÇİD	: Çoklu ilaç dirençli
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDP	: Energy-Dependent Phase
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
EMB	: Eosine metilen blue
GSBL	: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz
HE	: Hastane enfeksiyonu
HST	: Hücre süspansiyon tamponu
LPS	: Lipopolisakkarit
MBL	: Metallo-beta-laktamaz
MIC	: Minimum inhibitör konsantrasyon
MLST	: Multi Locus Sequence Typing
mRNA	: Messenger ribonükleik asit
MR-SA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
OXA	: Oksasilinaz
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PBP	: Penisilin bağlayıcı protein
PFGE	: Pulsed Field Gel Electrophoresis
RAPD	: Random Amplified polymorphic DNA Analysis
RE	: Restriksiyon enzimi
RNA	: Ribonükleik asit
SDS	: Sodyum dodezil sülfat
TE	: Tris-EDTA
tRNA	: Transfer Ribonükleik asit
TSI	: Üç şekerli demirli
UPGMA	: Unweighted pair group method with mathematical averaging
YBÜ	: Yoğun bakım ünitesi

1. GİRİŞ

Hastane enfeksiyonları (HE) , hasta hastaneye başvurduğunda inkübasyon döneminde olmayan, hastaneye yatıştan itibaren 48 saatten uzun bir sürenin sonunda veya bazen taburcu olduktan sonra ortaya çıkabilen ya da sık poliklinik muayenelerine bağlı olarak gelişen enfeksiyonlardır. Bu grup enfeksiyonların morbidite ve mortalitesi yüksektir. Bu açıdan, sebep oldukları morbidite-mortalite ve maliyet artışı göz önüne alındığında, günümüzün en ciddi enfeksiyon türü olarak gözükmektedir (1).

Son 20 yıldır gelişmiş ülkelerde, çoklu ilaç dirençli (ÇİD) Gram negatif basillerin neden olduğu hastane enfeksiyonları önemli bir problem oluşturmaktadır (2). Geniş spektrumlu antibiyotiklerin 1970’li yıllardan itibaren yaygın kullanımı sonucunda, artan oranda dirençli patojenler ile oluşan hastane enfeksiyonları karşımıza çıkmaktadır. Bunlardan en sık nonfermenter bakteriler *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* hastalık etkeni olarak izole edilmektedir (3).

Acinetobacter spp., özellikle de *Acinetobacter baumannii*, yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) yatan, solunum desteği gerektiren, bağışıklık sistemi zayıf, uzun süreli antibiyotik tedavisi ya da kemoterapi alan, cerrahi müdahaleye maruz kalan hastalarda fırsatçı HE etkeni olarak daha sık izole edilmeye başlanmıştır (4).

Acinetobacter cinsi bakteriler; 35-37 °C’de üremeyi seven, nonfermentatif, oksidaz negatif, indol negatif, katalaz pozitif, hareketsiz, nitratları redükte edemeyen, zorunlu aerop üreyen Gram negatif mikroorganizmalardır. Üç şekerli demirli (TSI) besiyeri ve oksidatif fermentatif besiyerinde asit oluşturmazlar. Flajellaları yoktur, fimbriaları vardır (5). Hastane enfeksiyonlarında önemli bir yer teşkil eden ve mortalitesi %70’lere ulaşan *Acinetobacter* türleri önemli bir enfeksiyon kaynağıdır. Son yıllarda yoğun bakım yatak sayısının da artmasıyla doğru orantılı olarak önemi artan nozokomiyal bir patojendir. Diğer önemli bir neden de hızlı bir şekilde *Acinetobacter* spp.’nin antibiyotik direnci kazanmasıdır (6).

Acinetobacter türleri, yatan hastalarda kolonizasyon, bakteriyemi, sekonder menenjit, üriner sistem enfeksiyonları ve özellikle YBÜ’lerde ventilatör kaynaklı olmak üzere pnömonilerde önemli bir rol oynamaktadır. Etkin antibiyotiklere karşı gelişen direnç bu patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde klinisyenler için büyük sorun oluşturur ve etkin tedavide genelde antibiyotiklerin kombine

kullanımına gerek duyulur. *Acinetobacter* türlerinin hastane ortamında uzun süre canlılığını koruması ve insandan insana geçişinin çok kolay olması, sorunu bir kat daha artırmaktadır (2).

Acinetobacter spp.'ye bağlı oluşan enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı giderek artan direnç hem ülkemizde hem de diğer ülkelerde önemli bir sağlık problemi haline gelmiştir (7). Taşıdıkları ÇİD nedeniyle de artan oranda mortalite ve morbiditeye neden olmaktadır. Karbapenemler, *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilen beta laktam türü seçkin ilaçlardır ancak son zamanlarda bu antimikrobiyal ilaçlara karşı da direnç artmıştır (8). Bunların etkilerini azaltan en yaygın mekanizma, özellikle karbapenem hidrolize eden sınıf-D beta-laktamazlardır (9).

Acinetobacter enfeksiyonları hastane içinde, hastaneler arasında, hatta ülkeler arasında salgınlara neden olmaları açısından önemlidir. Aynı türden izolatlar arasında klonal ilişkiyi ortaya koymak amacıyla yapılan moleküler tiplendirme yöntemleri epidemiyolojik bilgiler eşliğinde değerlendirilmekte ve izolatların iki aynı veya farklı kaynaktan köken aldıkları kabul edilmektedir (10). Dirençli suşlar arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesiyle epidemik izolatlar, sporadik veya endemik olanlardan ayrılmakta, salgınla ilişkili suşlar belirlenmekte, salgının kapsamı, kaynak ve rezervuarı hakkında bilgi sağlanabilmektedir. Ayrıca salgınlara ait veri bankaları oluşturulabilmekte, herhangi bir yer ve zaman içindeki enfeksiyonun özellikleri tanımlanabilmektedir (11). Bu yöntemler enfeksiyon kontrol önlemlerinin etkinliğini artırmaktadırlar.

Bir salgın durumunda *A. baumannii* izolatları arasındaki ayrımın uygun bir şekilde tanımlanması, salgının bu teknikle daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır. Moleküler tekniklere ilgi her geçen gün artmakta ve enfeksiyonların epidemiyolojik araştırmalarına artan bir oranda dahil edilmektedirler. Çeşitli moleküler yöntemler geliştirilmiş olmasına karşın bakteriyel türlerin çoğunda kullanılacak en uygun metod Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) olarak görülmektedir (12).

Bu çalışmadaki amacımız; mortalite oranı her geçen gün artan, kontrolü zor olan ve artan yoğun bakım yatak sayılarıyla beraber ülkemiz sağlık sisteminde daha önemli bir yere sahip olan HE' ye yol açan *Acinetobacter* izolatları arasındaki klonal ilişkinin PFGE yöntemiyle belirlenmesidir.

1.1. Hastane Enfeksiyonları

Hastaneye başvuru esnasında inkübasyon periyodunda olmayan bir hastada hastaneye yattıktan sonraki süreçte ortaya çıkan enfeksiyon, hastane enfeksiyonu olarak kabul edilir. Hastane enfeksiyonları, genellikle hasta hastaneye yattıktan 48–72 saat sonra gelişir. Hasta taburcu olduktan sonra 10 gün içinde gelişen enfeksiyon da hastane enfeksiyonu olarak değerlendirilir. Cerrahi girişim sonrası 30 gün içinde ortaya çıkan cerrahi alan enfeksiyonları ve bir yıl içinde ortaya çıkan protez enfeksiyonları da hastane enfeksiyonu kapsamında değerlendirilir (13-15).

Tıp alanındaki teknolojik gelişmelere bağlı olarak tanı ve tedavi amaçlı yapılan invaziv girişimlerdeki artış, kateter ve sonda uygulamaları, uygunsuz antibiyotik kullanımı ve bağışıklık sisteminin zayıfladığı durumlar HE riskini artırmaktadır (16, 17). Hastane enfeksiyonları morbidite ve mortalite oranlarını, hastanede kalış süresini ve tedavi maliyetini önemli ölçüde arttırdığı için, önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir (18, 19).

Ülkemizde farklı hastanelerden bildirilen hastane enfeksiyonları insidansı %3–7.8 arasındadır. Bu oranlar hastaneden hastaneye değişiklik gösterebildiği gibi, aynı hastanenin değişik servisleri arasında da birbirinden farklı olabilir (20).

Hastane enfeksiyonlarında sıklıkla izole edilen mikroorganizmalar antibiyotik ve tıbbi uygulamalardaki değişikliklere bağlı olarak zaman içinde farklılıklar göstermektedir. Günümüzde uygunsuz ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ile invaziv girişimlerin artması sonucu *Acinetobacter* türleri, *Pseudomonas aeruginosa*, koagulaz negatif stafilokoklar, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter* türleri, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus* türleri, enterokoklar ve *Candida* türlerinde anlamlı artış görülmektedir. *Acinetobacter* enfeksiyonları hastane enfeksiyonlarına neden olması, hastane içinde, hastaneler arasında, hatta ülkeler arasında salgınlara neden olması, antibiyotiklere yüksek oranda dirençli olması nedeniyle önem arz etmektedir (21).

1.2. *Acinetobacter*

Acinetobacter ilk defa 1911 yılında Beijerinck tarafından topraktan izole edilmiş ve *Micrococcus calco-aceticus* olarak adlandırılmıştır. 1939 yılında DeBord'un Gram-negatif kokobasilleri üretral örnekten izole etmesiyle

tanımlanmıştır. *Acinetobacter* cinsleri *Moraxellaceae* ailesinde ve Gammaproteobacteria sınıfında yer almaktadırlar (22).

Acinetobacter cinsi bakteriler HE'ye yol açan etkenler içinde önemli bir yer tutmaktadır (2). *Acinetobacter* enfeksiyonu, YBÜ'lerdeki hastalarda gittikçe artan sıklıkta görülmektedir (23). Bu etkenlerin HE'de sık olarak saptanmalarının nedenleri, dış ortam koşullarında kolaylıkla yaşayabilmeleri ve antibiyotiklere karşı çoğul direnç kazanabilmeleridir (24). *Acinetobacter* türleri hastane ortamında uzun süre canlılığını korur ve toprak, su, yiyecek gibi maddelerden izole edilebilir. Sağlıklı kişilerin florasında bulunabildiği gibi hastaneye yatırılarak tedavi edilen hastalarda kolonizasyon da yapabilirler (25).

1.2.1. Morfolojik, Mikrobiyolojik Özellikler

Acinetobacter cinsi bakteriler 35-37 °C'de üremeyi seven, nonfermentatif, oksidaz negatif, katalaz pozitif, indol negatif, hareketsiz, nitratları redükte etmeyen, zorunlu aerop üreyen gram negatif mikroorganizmalardır. Flajellaları yoktur, fimbriaları vardır. Üç şekerli demirli (TSI) besiyeri ve oksidatif fermentatif besiyerinde asit oluşturmazlar (5).

Diğer nonfermentatif bakterilerden ayırmada kullanılacak ilk test oksidaz testidir. Üremenin logaritmik fazında kısa, iri, bazen renksizleştirme problemi yaşanan, gram negatif, 1,0–1,5 µm uzunluğunda basil, üremenin duraklama fazında kok veya kokobasil şeklinde görülmektedir. Genellikle düzgün, bazen mukoid, renksiz koloniler oluşturur. *Acinetobacter* türleri arasında en sık ve en önemli klinik tablolara yol açan etken *A. baumannii*'dir (26). Rutin laboratuvar koşullarında, biyokimyasal reaksiyonlara ve üreme özelliklerine göre *Acinetobacter* tür ayrımı yapılmaktadır. Glukozu oksitleyen ve hemoliz yapmayan, 44 °C'de üreyebilen kökenler *A. Baumannii* olarak tanımlanmıştır (27).

Acinetobacter cinsi bakterileri klinik örneklerden izole etmek için kanlı agar ve eozin metilen blue (EMB) agar gibi besiyerleri kullanılır. Hem klinik hem de çevreden bu bakterilerin izole edilmesinde kullanılabilen seçici ve ayırt edici besiyerleri geliştirilmiştir. Bu amaçla diğer mikroorganizmaların üremelerini inhibe eden bromkrezol moru, safra tuzları, laktoz, maltoz şekerlerini içeren Herellea agar,

vankomisin, sefsulodin, sefradin gibi antibiyotikleri içeren Leeds *Acinetobacter* Medium ve Holton's agar kullanılmaktadır (2, 28).



Şekil 1. Kanlı agarda *Acinetobacter* kolonileri

1.2.2. Patogenez ve Virulans Faktörleri

Acinetobacter cinsi bakteriler genel olarak virulansı düşük patojenlerdir. Konak savunma mekanizmaları normal olan bireylerde enfeksiyon oluşturmaları oldukça zordur. Genellikle hastane kaynaklı fırsatçı enfeksiyonlara neden olmaktadır. Yanık, malignite, konağın savunma sistemini baskılayan durumlar ve konağın yaşı enfeksiyon gelişimini kolaylaştıran bazı faktörlerdir. Ağır cerrahi girişim, uzun süreli antibiyotik kullanımı, uzun süre yoğun bakım ünitesinde kalma, uzun süre mekanik ventilatöre bağlı kalma, enteral beslenme, damar içi kateterizasyon, idrar sondası, endotrakeal tüp ve trakeostomi varlığı başlıca risk faktörleridir. Son 30 yıldır hastane ortamında yeni, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın ve uygunsuz kullanımı, hem *Acinetobacter* türleri ile gelişen HE oranını artırmış hem de bu bakterilerde birçok antibiyotiğe karşı direnç gelişmesine neden olmuştur (16, 26).

Acinetobacter cinsi bakteriler genel olarak düşük virulanslı olarak kabul edilmelerine rağmen virulanstan sorumlu faktörler de vardır;

1. Polisakkarit kapsül: L-ramnoz, D-glukoz, D-mannoz ve D-glukronik asitten oluşup, bakteri yüzeyinin hidrofilik olmasını sağlar ve fagositozdan korur. Ek olarak intravenöz kateter, trakeal kanül gibi yüzeylere tutunmayı kolaylaştırır.

2. Fimbria ve/veya kapsüler polisakkarit: İnsan epitel hücrelerine bağlanmayı sağlar.

3. Lipopolisakkarit ve lipid A: Hücre duvarında bulunan lipid A potansiyel toksik etki göstererek patojeniteyi artırır.

4. Dokulardaki lipidleri yıkan enzimler üretirler.

5. Aerobaktin ve siderofor gibi demir tutucu dış membran reseptör proteinlerinin üretimi ile bakteri üremesi için gerekli demir temin edilmektedir.

Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalarda antibiyotik direnci sağlayan PER-1 enziminin virülansı arttırdığı ve klinik olarak mortalitesi yüksek enfeksiyonlara neden olduğu gösterilmiştir (26, 29, 30).

1.2.3. *Acinetobacter* 'in Neden Olduğu Hastane Enfeksiyonları

Acinetobacter türleri doğada yaygın bulunurlar. İnsanda deri florasında yer aldıklarından klinik örneklerden izole edilebilirler. Zaman zaman fırsatçı patojen bakteriler olarak enfeksiyon yaparlar. Solunum sistemi enfeksiyonları (entübasyon ve trakeostomi sonrası), genitoüriner sistem enfeksiyonları (kateter uygulamasına bağlı sistit ve piyelonefrit gibi), yumuşak doku enfeksiyonları, intrakraniyal enfeksiyonlar (cerrahi girişimlerden sonra görülen menenjit gibi) oluşturduğu fırsatçı enfeksiyonlardandır (31). *Acinetobacter* türleri sıklıkla hastane kaynaklı olmasına rağmen toplum kökenli alt solunum yolu enfeksiyonlarından da izole edilmiştir (32).

Acinetobacter türlerinin hastane personelinin %15-33'ünde ellerinde kolonize olduğu, bu kökenleri hastalara ve ekipmanlara aktardıkları gösterilmiştir (16).

1.2.3.1. Solunum Sistemi Enfeksiyonları

A.baumannii hastanede yatan, özellikle ventilatör bağımlı, immün sistemi baskılanmış hastalarda görülen trakeobronşit ve pnömonilerden izole edilen en önemli patojenlerden birisidir. Hastada gelişen alt solunum yolu tutulumunun klinik ve radyolojik olarak diğer tipik pnömoni ve hastane kökenli gram negatif bakteri pnömoni tablolarından ayırt edilmesi zordur (33, 34). Hastalar genellikle tedaviye cevap vermezler. Bu sebeple tedavi ve buna bağlı olarak yatış süresi uzar. Çok sayıdaki izlem çalışması sonuçlarına göre *A. baumannii*'nin etken olduğu alt solunum yolu enfeksiyonu olan hastalar diğer mikroorganizmaların sebep olduğu

pnömonili hastalara göre ortalama 7 gün daha fazla hastanede yatmakta ve tedavi almaktadır (35).

Yayınlanmış birçok araştırmaya göre nozokomiyal pnömonilerin %3-12'sini *Acinetobacter* türleri özellikle de *A. baumannii* oluşturmaktadır. Alt solunum yollarında *Acinetobacter* kolonizasyonu veya pnömoni oluşmasında kronik akciğer hastalıkları, immünsüpresyon, cerrahi girişimler, gastrik ve endotrakeal tüp kullanımı gibi risk faktörleri rol oynamaktadır. Ventilatör kaynaklı *Acinetobacter* nozokomiyal pnömonisi olan hastalarda ölüm oranı %30-75'dir. Bu enfeksiyonların prognozu *P. aeruginosa* dışındaki diğer Gram negatiflerle oluşan pnömonilerden çok daha ağırdır (36, 37). Yoğun Bakım Ünitesinde (YBÜ) yayılım ventilatör ekipmanları, eldivenler, kolonize sağlık personeli ve kontamine olmuş parenteral nutrisyon solüsyonlarına bağlanmıştır. Nozokomiyal *Acinetobacter* pnömonisinde sıklıklamultilober tutulum, kavitasyon, plevral efüzyon ve bronkoplevral fistül oluşumu gözlenmiştir (38).

1.2.3.2. Bakteriyemi

Bakteriyemide en sık rastlanan *Acinetobacter* türü *A. baumannii*'dir. Ayrıca *A. baumannii*'ye bağlı bakteriyemilerde diğer türlere göre klinik tablo daha ağır seyretmektedir. Bazen tek başına patojen olarak izole edilirken bazen de polimikrobiyal bakteriyemilerde yer alır. Polimikrobiyal bakteriyemilerde mortalite oranı daha fazladır (37). Yetişkinlerde immün yetmezlikli hastalar en büyük grubu oluşturmaktadır. Bu hastalarda kaynak solunum sistemi enfeksiyonlarıdır ve genellikle hastanede yatışın ikinci haftasında ortaya çıkar. Maligniteler, yanık, travma sıklıkla görülen diğer predispozan faktörlerdir. Yetişkinlerde bakteriyemi ile sonuçlanan cerrahi yara ve yanık enfeksiyonları sıklıkla görülmektedir. Damar içi kateterizasyon uygulamaları *Acinetobacter* enfeksiyonları için risk faktörü olarak kabul edilmektedir ve asepsi kurallarına uyularak 48 saatte bir kateterlerin değiştirilmesi bu riski azaltmaktadır. Yenidoğanlar ikinci önemli hasta grubunu oluştururlar ve bu hastalarda predispozan faktörler; düşük doğum ağırlığı, mekanik ventilasyon, önceden uygulanan antibiyotik tedavileri ve neonatal konvülsiyonlar olarak sayılabilir (39).

1.2.3.3. Üriner Sistem Enfeksiyonları

Acinetobacter türleri ile oluşan nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonları oldukça nadir görülür. Genellikle debil, yaşlı, üriner kateteri olan, YBÜ'lerinde yatan hastalarda görülmektedir. Prostatik genişleme nedeniyle kateter kullanımına bağlı olarak hastaların %80'i erkektir. Ancak şu da bir gerçektir ki, üriner kateteri olan hastalardan izole edilen her *Acinetobacter* gerçek enfeksiyon etkeni olarak değerlendirilmemelidir (3, 36). Bu organizma daha çok kateter ile ilişkili olup, yapılan bir çalışmaya göre yoğun bakım hastalarında üriner sistem enfeksiyonu %1.6 bulunmuştur (40).

1.2.3.4. Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Acinetobacter türleri venöz kateterle ilişkili selülitte neden olabilirler. Ayrıca travmatik yara, yanık ve postoperatif insizyon yerinde kolonizasyon veya enfeksiyona da yol açabilirler (41). Irak ve Afganistan'da yaralanan Amerikan Askeri Birlikleri'nde ÇİD'li *A. baumannii*'ye bağlı gelişen ciddi yara yeri enfeksiyonları ve osteomyelit bildirilmiştir. Burada sahra hastanesi çevresindeki toprakta *Acinetobacter* kolonizasyonunun kaynak olduğu düşünülmektedir (42).

1.2.3.5. Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonları

Primer menenjitli sporadik vakalar bildirilmesine rağmen, özellikle beyin cerrahisi uygulamalarından sonra, lomber ponksiyon, travma, miyelografi ve ventrikülografi sonrası gelişen sekonder menenjit olguları baskın form olarak saptanmaktadır (41). Ventrikülostomi, yoğun antibiyotik kullanımı, beş günden fazla tutulan ventriküler kateterler ve beyin omurilik sıvısı fistülleri gibi risk faktörleri menenjit gelişiminde etkilidir (16). *Acinetobacter* türleri ile gelişen nozokomiyal menenjit olgularında beyin omurilik sıvısı bulguları pürülan menenjit özelliğindedir. Klinik bulgu olarak sıklıkla mental durumda bozulma ve konvülsiyon gözlenirken, ense sertliği nispeten daha geri planda saptanan bulgudur (43).

A. lwoffii, diğer *Acinetobacter* türlerine göre menenjit ile daha sık ilişkilidir (44). Mortalite oranı %20-27 arasında bildirilmektedir (43). ÇİD *Acinetobacter* menenjitinde sulbaktam, kolistin ve polimiksin B gibi geleneksel olmayan antibiyotikler kullanılmaktadır (45).

1.2.3.6. Diğer Enfeksiyonlar

Acinetobacter türlerinin neden olduğu doğal kapak endokarditi genellikle akut ve şiddetli bir hastalıktır ve mortalite oranı prostetik kapak endokarditinden daha yüksektir (46).

Acinetobacter kökenleri devamlı periton diyalizi uygulanan hastalarda peritonite neden olabilmektedir (47). Sık görülen belirtileri karın ağrısı ve bulanık diyaliz sıvısıdır (48).

Perkütan transhepatik kolanjiografi ve perkütan safra drenajıyla ilişkili kolanjit, pankreas ve karaciğer abseleri, otolog kemik iliği transplantasyonundan sonra gelişen tiflit, osteomyelit, travma sonrası ekstremitte enfeksiyonu, travma ve keratoplasti sonrası oftalmik enfeksiyonlar bildirilen diğer nadir olgulardır (41).

1.2.4. *Acinetobacter* Enfeksiyonlarında Tedavi

Acinetobacter ile ilgili ana problemlerden biri enfeksiyonun kendisinin tanımlanmasıdır. *Acinetobacter* suşları, sıklıkla enfeksiyondan ziyade kolonizasyonu olan, hastanede yatan hastalardan elde edilen solunum yolu ve idrar örneklerinden izole edilmektedir. *Acinetobacter* kolonizasyonu; enfeksiyonun klinik ve/veya biyolojik bulgularına sahip olmayan hastada tipik olarak steril olmayan örneklerden *Acinetobacter* izolasyonu, *Acinetobacter* enfeksiyonu ise; enfeksiyonun klinik ve biyolojik bulgularına sahip olan hastada kan veya beyin omurilik sıvısı (BOS) gibi steril bir örnekten *Acinetobacter* türlerinin izole edilmesi olarak tanımlanabilir. *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarında tedavi, olağan duyarlılık paternlerinde bile problemlidir. Tedavi başlangıcında duyarlı görünen bakteri tedavi sonlanmadan dirençli hale gelebilir. Bu korku nedeni ile önlenebilirliği kesin olmasa da kombine tedaviler seçilir. *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu hastane kökenli enfeksiyonların genellikle hem komorbidite hem de kötü prognoza sahip genel durumu kötü hastaları etkilemesinden dolayı klinik sonuçları hala tartışmalıdır ve değerlendirmesi zordur. Mortalitenin vaka kontrol ve karşılaştırmalı kohort çalışmalarının sistematik derlemesi yakın zamanda yayınlanmıştır ve metodolojik olarak heterojeniteli altı çalışmayı kapsar. Sonuçta hasta mortalitesi hastanede %7.8-23, YBÜ'de %10-43 arasında bildirilmiştir (49).

1.2.4.1. Sulbaktam

Beta-laktamaz inhibitörleri (klavulanik asit, sulbaktam, tazobaktam) *Acinetobacter* türlerine karşı antibakteriyel etkiye sahiptir. Sulbaktamın etkisi diğer iki ajandan fazladır ve bu nedenle kombinasyon tedavisinde kullanılmaktadır. Sulbaktamın, *Acinetobacter* ve *Bacteroides* türlerine karşı klinik olarak intrinsek antimikrobiyal aktivitesi bulunmaktadır (50). Sulbaktam, *Acinetobacter* türleri üzerine bakterisidal etkilidir. Beta laktam antibiyotikle kombine edilmiş sulbaktam (sefoperazon + sulbaktam, ampisilin + sulbaktam) tedavide iyi bir alternatiftir.

1.2.4.2. Karbapenemler

İmipenem ve meropenem günümüzde kullanımda olan iki karbapenem derivativesidir. Karbapenemler kimyasal olarak sentetik ya da yarı sentetik beta laktam türevi antibiyotiklerdir. Penisilinlerden farklı olarak, C1 atomuna bir kükürt atomu buna da bir tiazolidin halkası bağlanmıştır. C2 ve C3 atomlarında doymamış bağlar vardır. 6- transhidroksimetil grubunun varlığı birçok beta-laktamaz türüne karşı molekülün direncini sağlar. Karbapenemler, başta penisilin bağlayıcı protein 2 (PBP2) olmak üzere PBP1A, PBP1B, PBP3, PBP4 ve PBP5'e bağlanarak hücre duvar sentezini engellerler (51).

Karbapenemler tüm antibiyotikler içerisinde en geniş spektrumlu gruptur. Gram negatif çomaklar ve koklar, Gram pozitif koklar ve anaeroplara üzerine etkilidirler. Diğer beta-laktam antibiyotiklerde post-antibiyotik etki sadece Gram pozitif bakterilerde görülürken imipenemin hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler için post-antibiyotik etkisi saptanmıştır. Bu farkın nedeni, imipenemin PBP2'ye de bağlanarak bakterilerde sferoblast formasyonu oluşturmasıdır (51).

1.2.4.3. Sefalosporinler

Bu grupta yer alan antibiyotikler hücre duvar sentezinde rol oynayan PBP'lere bağlanarak sentezi bozarlar ve dozdan bağımsız olarak bakterisidal etki gösterirler. Sefalosporinler beş kuşak altında sınıflandırılırlar. Birinci kuşaktan beşinci kuşağa gidildikçe Gram negatif etkinlikte artış görülmektedir. Özellikle üçüncü kuşak sefalosporinlerden seftazidim, sefaperazonun sulbaktamla

kombinasyonu ve dördüncü kuşak sefalosporinlerden sefepim *Acinetobacter* enfeksiyonlarında etkilidirler (52-54).

Seftazidim, aminotiazolil grubu yarı sentetik bir üçüncü kuşak sefalosporindir. Antipsödomonal etkinliği ön plandadır. Tüm vücut sıvılarında dağılımı oldukça iyidir. Duyarlı *Acinetobacter* enfeksiyonlarında kullanılabilir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda yüksek direnç oranları bildirilmiştir (55).

Sefepim dördüncü kuşak yarı sentetik, parenteral kullanıma uygun çift iyonik karakterde aminotiazolil sefalosporindir. Aminotiazolil grubunun varlığı Gram negatif etkinliği ve beta-laktamazlara direnci sağlayan bir özelliktir. Üçüncü karbon atomunda N-metilpirolidin bulunması da Gram negatif bakterilerin hücre duvarından geçebilme ve beta-laktamaz direnci özelliği sağlar. *Pseudomonas* kökenleri de dahil tüm Gram negatif çomaklara, Gram pozitif koklara ve anaeroplara karşı etkilidir. Gram pozitif koklara karşı etkisi üçüncü kuşak sefalosporinlerden fazla, ikinci kuşak sefalosporinlerden azdır. Tip 1 kromozomal betalaktamazlardan daha az etkilenmesi nedeni ile Gram negatif enterik basillere üçüncü kuşak sefalosporinlerden daha etkilidir (52).

1.2.4.4. Aminoglikozidler

Aminoglikozidler, *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinsi mantarlardan elde edilen doğal ya da yarı sentetik bakterisidal etkili antibiyotiklerdir. Etkilerini, ribonükleik asitteki (RNA) kodonların okunuşunu azaltarak ve taşıyıcı ribonükleik asit (tRNA) antikodonlarındaki bilginin ribozomlarda yanlış okunması ile proteinlerin yanlış kodlanmasına yol açarak gösterirler. Bunun sonucunda bakteri protein sentezi sonlanır. Bu etkinin gerçekleşebilmesi için streptomisin ribozomal 30S alt birimine bağlanırken diğer aminoglikozidler 30S ribozom üzerinde birçok bölgeye ve aynı zamanda ribozomun 50S alt ünitesine de bağlanırlar (56).

Aminoglikozidler, bakterilerin dış membranlarındaki porin kanallarından periplazmik aralığa difüzyonla girerler, ancak bakteri sitoplazmik membranını geçebilmeleri enerji ve oksijene bağımlı aktif transport mekanizması ile olmaktadır. Bu işlem Energy-Dependent Phase 1 (EDP 1) ve Energy-Dependent Phase 2 (EDP 2) olmak üzere iki fazda gerçekleşir. Diğer protein sentezini inhibe eden antibiyotikler bakteriyostatik etki gösterirken, aminoglikozidlerin bakterisidal etki göstermesinin

transport esnasında hücre membranında delikler oluşmasına ve sonuçta hücre duvar geçirgenliğinin bozulmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (56).

Aminoglikozidler, *A. baumannii* enfeksiyonlarında kombinasyon tedavisinde kullanılan ilaçlardır. Joshi ve ark. aminoglikozidler arasında en az dirence sahip ajanın amikasin olduğunu belirtmişlerdir (57).

1.2.4.5. Polimiksinler

Polimiksinler 1947 yılında keşfedilen bir antibiyotik grubu olup, bu grupta polimiksin A, B, C, D ve E olmak üzere beş farklı kimyasal bileşik yer almaktadır. Klinik pratikte kullanılan polimiksin grubu antibiyotikler polimiksin B ve polimiksin E (kolistin)'dir. Kolistinin hedefi bakteri hücre membranıdır. Katyonik bir peptid olan kolistin ile Gram negatif bakterilerin dış membranındaki anyonik lipopolisakkarit (LPS) molekülleri elektrostatik ilişkiye girerler ve hücre membranında düzensizliğe yol açarlar. Kolistin, LPS moleküllerini stabil halde tutan magnezyum ve kalsiyumun yerini değiştirerek dış membranda bozulmaya ve oluşan permeabilite bozukluğu bakterinin ölümüne neden olur. Kolistin konsantrasyona bağımlı olarak etki göstermektedir (58).

Kolistinin akciğer parankimine, plevral kaviteye, BOS'a ve kemiğe geçişi zayıftır. BOS/serum konsantrasyon oranı sadece 0.05'tir. Bununla beraber, intratekal kolistin ile tedavi edilmiş, santral sinir sistemi enfeksiyonları da bildirilmektedir (59).

Kolistin son yıllarda tüm dünyada gittikçe sıklığı artan panrezistan *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türü bakterilerin neden olduğu hastane kökenli enfeksiyonlarda adeta bir kurtarma tedavisi olarak kullanılmaya başlanmıştır (58).

Kolistine karşı gelişen ve artmasından korkulan direnç sorunu, diğer antibiyotiklerle kombine kullanımını gündeme getirmiştir. Klinik veriler geriye dönük çalışmalara dayanmaktadır. Çok ilaca dirençli *A. baumannii* için yapılan in vitro çalışmalarda kolistin ve imipenemle; kolistin, imipenem ve rifampisin kombinasyonlarının sinerjik etki gösterdiği belirlenmiştir (60).

1.2.4.6. Tigesiklin

Tigesiklin Gram negatif, aerobik Gram pozitif ve anaerobik patojenlere karşı etkinlik gösterir. Ayrıca tigesiklin karbapenemaz üreten *Acinetobacter* suşlarına karşı

da etkili bulunmuştur (61). Ancak *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Providencia* spp. ve *Morganella* spp. bakterilerinde tigesikline karşı azalmış duyarlılık veya direnç gösterilmiştir (62). Yapılan klinik çalışmalarda polimikrobiyal deri, yumuşak doku enfeksiyonları ve intraabdominal enfeksiyonlarda tigesiklin tek başına etkili bulunmuştur. Sitokrom P450 enziminden bağımsız olarak etki gösterdiğinden ilaç etkileşimi azdır (61). Dirençli suşlara rağmen tigesiklinin, imipenem dirençli ve ÇİD suşları da kapsayacak şekilde *A. baumannii* suşlarına karşı etkili olduğu bildirilmiştir (63).

1.2.4.7. Kinolonlar

Deoksiribonükleik asit (DNA) sentezini direkt olarak inhibe eden tek antimikrobiyal gruptur. Kinolonlar bakterilerde DNA replikasyonu için gerekli olan DNA-giraz (topoizomeraz II) ve topoizomeraz IV enzimleri ile etkileşime girer, DNA'nın replikasyonu ve RNA-polimeraz enziminin DNA'ya bağlanarak mesajcı ribonükleik asit (mRNA) oluşturması engellenir, sonuçta da nükleik asit sentezi durur. Etkileri konsantrasyona bağımlı bakterisidaldir. Ofloksasin, levofloksasin ve siprofloksasin, *Acinetobacter* spp. türlerine etki gösterir. Dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonlarında kombine tedavide siprofloksasin sıklıkla kullanılan bir ajandır. Fakat günümüzde dirençli kökenler ön plandadır (64).

1.2.5. *Acinetobacter* Enfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotiklerin Direnç Mekanizmaları

Acinetobacter türlerinde birçok antibiyotiğe karşı hızla direnç gelişmektedir. Çoklu antibiyotik direnci en sık *A. haemolyticus* ve *A. baumannii/calcoaceticus* kompleksinde görülmektedir. Kazanılmış veya intrensek direnç mekanizmaları nedeniyle bu enfeksiyonların tedavisi oldukça güçleşmiştir (5). Çoğunlukla imipenem tek etkili tedavi seçeneğidir. Yeni ilaçların aşırı ve uygunsuz kullanımı direncin ortaya çıkışına katkıda bulunmaktadır. *A. baumannii* dışındaki türlerle oluşan enfeksiyonların tedavisinde ciddi problem görülmemektedir. (65).

Nozokomiyal enfeksiyonlarda sıklıkla karşılaşılan ÇİD *Acinetobacter* türlerinin YBÜ'lerindeki enfeksiyonlarının tedavisinde büyük problemler yaşanmaktadır. Aminoglikozidler, florokinolonlar, üreidopenisilinler ve üçüncü

kuşak sefalosporinler gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı, *Acinetobacter* türlerini antibiyotiklere dirençli hale getirmiştir (66).

1.2.5.1. Beta-laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları

Bu grupta yer alan antibiyotikler bakterinin peptidoglikan sentezinde görevli olan transpeptidaz ve karboksipeptidaz enzimlerini inhibe edip, hücre duvar sentezini durdurarak bakterisidal etki gösterirler. Bu enzimler penisilin bağlayan protein (PBP) olarak adlandırılır. Bir bakteride çok sayıda PBP bulunur. Bu enzimler moleküler ağırlığı en büyükten başlanarak PBP-1, PBP-2, PBP-3 vb. olarak gösterilir. Beta-laktam antibiyotikler, hücre duvarı sentezi yapılan, yani çoğalmakta olan bakterilere etki ederler. Bu grupta yer alan antibiyotikler penisilinler, beta-laktamaz inhibitörleri, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler olmak üzere 5 grupta toplanırlar (67).

Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç; beta-laktamaz enzimleriyle antibiyotiğin parçalanması, beta-laktam antibiyotiğin hücre içine girişinin engellenmesi, PBP' lerde oluşan değişiklikler sonucunda üç farklı mekanizma ile gelişebilmektedir (41).

- **Beta-laktamaz enzimleriyle antibiyotiğin parçalanması:** *Acinetobacter* türlerinde beta-laktam direncinin en önemli sebebi beta-laktamaz üretimidir. Beta-laktamazlar plazmid, kromozom veya transpozon kontrolünde sentezlenirler (50). *Acinetobacter* türlerinde bulunan kromozomal enzimlerin büyük çoğunluğu Ambler sınıf C içerisinde yer almakta ve sefalosporinaz aktivitesi göstermektedir. Bu beta-laktamaz enzimleri penisilin ve sefalosporinlere direnç gelişiminden sorumludur. Yapılan çalışmalarda *A. baumannii* izolatlarının %98'inde sefalosporinaz aktivitesi saptanmıştır (68, 69).

Beta-laktamaz enzimleri genellikle iki genel şemaya göre sınıflandırılırlar: Ambler moleküler sınıflandırma ve Bush-Jacoby-Medeiros fonksiyonel sınıflandırma. Ambler sınıflandırması, enzimleri moleküler homolojilerine uygun olarak dört gruba ayırır. Bunlar; sınıf A, C ve D serin beta-laktamazlar ve sınıf B metallo-beta-laktamazlardır (MBL). Bush-Jacoby-Medeiros ise beta-laktamazları, antimikrobiyal substrat profil spektrumu, enzim inhibisyon profili, enzimin net yükü ve protein molekül ağırlığı gibi biyokimyasal özelliklerine göre dört gruba ayırır;

Grup 1 sefalosporinazlar klavulanik asitle iyi inhibe olmazken, Grup 2'deki beta-laktamazlar tam inhibe olurlar, Grup 3'te yer alan MBL'ler etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve p-kloramotribenzoat hariç, beta-laktamaz inhibitörleriyle zayıf inhibe olur, Grup 4'tekiler ise beta-laktamaz inhibitörleriyle inhibe olmazlar (Tablo 1) (70).

Tablo 1. Beta-laktamaz grupları ve genel özellikleri.

Beta-laktamaz	Moleküler sınıf (Ambler)	Tercih edilen substrat	KA*	Örnek enzimler
1	C	Sefalosporinler	-	Gram negatif bakterilerin AmpC enzimleri; MIR-1
2a	A	Penisilinler	-	Gram pozitif bakterilerin penisilinazları
2b	A	Penisilinler, sefalosporinler	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Penisilinler, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	+	TEM-3 ile TEM 26, SHV-2 ile SHV-6, <i>Klebsiella oxytoca</i> K1
2br	A	Penisilinler	+/-	TEM-30 ile TEM-36, TRC-1
2c	A	Penisilinler, karbenisilin	+	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	D	Penisilinler, kloksasilin	+/-	OXA-1 ile OXA-11, PSE-2 (OXA -10)
2e	A	Sefalosporinler	+	<i>Proteus vulgaris</i> 'in indüklenebilir sefalosporinazları
2f	A	Penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler	+	<i>Enterobacter cloacae</i> 'nin NMC-A'sı, <i>Serratia marcescens</i> 'in Sme-1'i
3	B	Birçok beta-laktam (karbapenemler dâhil)	-	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 'nin L-1'i, <i>Bacteroides fragilis</i> 'in CcrA'sı
4	Belirlenmemiş	Penisilinler	-	<i>Pseudomonas cepacia</i> 'nın penisilinazı

*KA: Klavulanik asit

Grup 2d oksasilinaz ve grup 3 MBL içeren karbapenem hidrolize eden beta-laktamazlar (karbapenemazlar) karbapenem direncinden sorumlu enzimlerdir. Bu enzimler kromozom ve plazmid kontrolünde üretilir.

Günümüzde 120' den fazla D grubu beta-laktamaz tanımlanmıştır. Bu enzimlerden 45 kadarı karbapenem hidrolize eden oksasilinazdır. Bunlar oksasilini klasik penisilinlerden daha hızlı hidrolize etmeleri nedeniyle oksasilinazlar olarak tanımlanmışlardır. Klavulanik asit ve etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) ile zayıf bir inhibisyon gösterirler, tazobaktam ve sulbaktamdan etkilenmezler. Genellikle sefotaksim, seftazidim ve aztreonamı ya hiç hidrolize etmezler ya da zayıf bir şekilde hidrolize ederler (71). Oksasilinaz (OXA) tipi karbapenemazların çoğu meropenem ve imipeneme karşı zayıf hidrolitik aktivite gösterirler. Ayrıca diğer direnç mekanizmalarından dış membran proteinlerinin kaybı veya efluks pompalarının artmış aktivitesi ile birlikte olduklarında daha geniş spektrumlu direncin gelişmesine neden olurlar (72).

-Beta-laktam antibiyotiğin hücreye girişinin engellenmesi: Enzimlerle beta-laktam antibiyotiklerin inhibisyonu direnç gelişiminde tek neden değildir. Hücre duvar geçirgenliğinde azalma direnç gelişimine önemli bir katkı sağlamaktadır (26, 73).

Bakterinin dış membranı, antibiyotikler ve diğer moleküller için yarı geçirgen bir engel oluşturmaktadır. Beta-laktam gibi küçük hidrofilik moleküller, bakteri içine dış membran porin proteinleri aracılığı ile girer. *Acinetobacter* türlerinde dış membran geçirgenliği, *Escherichia coli*'nin %1-3'ü kadardır. Protein 1 ve 2, *A. baumannii*'nin dış membran porinlerini oluşturmaktadır (74).

Yapılan çalışmalarda carO tarafından kodlanan 29 kDa'lık dış membran proteininde azalma karbapenem direncinde önemli rol oynamaktadır. Porin protein sayısını değiştiren mutasyonlar sonucu direnç gelişebilir (75-77).

-Penisilin bağlayan proteinler (PBP)' nin değişikliklerin olması: Penisilin bağlayan proteinlerin aşırı sentezi, duyarlı bir PBP' nin daha dirençli PBP ile kombinasyon yapması, PBP'lerdeki nokta mutasyonları sonucu beta-laktam antibiyotiklere afinitelerinin azalması, beta-laktam antibiotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP sentezlenmesi şeklinde gelişebilir. Bu tip direnç esas olarak

stafilokok ve enterokok gibi Gram pozitif türlerde görülmekle birlikte *Acinetobacter* türlerinde de tanımlanmıştır (78).

1.2.5.2. Aminoglikozidlere Karşı Direnç Mekanizmaları

Aminoglikozidler 30S ribozomlara geri dönüşsüz olarak bağlanıp protein sentezini engelleyerek bakteri ölümüne neden olurlar. Bu antibiyotiklere karşı direnç üç mekanizma ile gelişmektedir:

- Ribozomal hedeflerde mutasyonlara bağlı değişiklik oluşması
- Aminoglikozidlerin hücre içine girişinin azalması ve/veya dışarı pompalanması
- Aminoglikozidlerin enzimlerle değiştirilmesi (79, 80).

Aminoglikozidlerin enzimlerle değiştirilmesi en sık görülen aminoglikozid direnç mekanizmasıdır. Başlıca fosfotransferaz, asetilaz ve adenilaz gibi enzimlerin antibiyotiklerin amino ve hidroksil gruplarını değiştirmesi sonucu oluşur (79, 81). Bu enzimler plazmid veya kromozomda kodlanmakta ve aminoglikozid direncinin yayılmasında önemli rol oynamaktadır. Amikasin de dahil olmak üzere tüm aminoglikozidlerin aktivitesini baskılayabilen bu enzimatik mekanizma dirençli izolatların çoğunda bulunmaktadır (79).

1.2.5.3. Polimiksinlere Karşı Direnç Mekanizması

A. baumannii'nin lipopolisakaritindeki modifikasyon kolistin direncindeki olası mekanizmadır (82-84). Gram negatif bakteriler adaptasyon ve mutasyon mekanizmaları ile kolistine direnç geliştirmektedir. Mutasyon kalıtsal, düşük düzeyli ve antibiyotiğin sürekli varlığına bağlıyken, adaptasyon bunun tam tersidir (58).

1.2.5.4. Tigesikline Karşı Direnç Mekanizması

Tigesiklin de tetrasiklinler gibi bakteri ribozomlarının 30S alt ünitlerine bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Bakterilerde tetrasiklin direncinden sorumlu ribozomal korunma ve efluks mekanizmasına karşı dirençli olması tigesiklinin en önemli özelliğidir (85).

Yapılan çalışmalarda tetrasiklin direnç genlerini taşıyan birçok bakterinin tigesikline duyarlı olduğu gösterilmiştir. Bağlanma noktası tetrasiklinlerden farklı

olduğu için Tet(M) proteininden etkilenmez ve tetrasiklinlere göre beş kat daha güçlü olarak bağlanır (60, 85).

Geniş spektrumlu bir glisilsiklin antibiyotik olan ve tetrasiklinlere karşı gelişen direnç mekanizmalarından etkilenmeyen tigesikline karşı direnç mekanizması incelenmiştir. Tigesikline karşı direncin AdeABC efluks pompasının aşırı ekspresyonuna bağlı olabileceği bildirilmiştir (62).

1.2.5.5. Kinolonlara Karşı Direnç Mekanizmaları

Kinolonlara karşı direnç gelişiminde en önemli mekanizmalar *gyrA* ve *parC* genlerindeki mutasyonlardır (86). Kinolonlara karşı direnç oluşması plazmidler tarafından taşınmamaktadır (87).

1.2.6. Tiplendirme Yöntemleri

Tiplendirme yöntemleri başlıca; hastalardaki epidemiyolojik ilişkilerin ortaya konulması, hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonların belirlenmesi, dirençli suşların tanımlanması ve yaygınlığının belirlenmesi, enfeksiyon etkenlerinin yayılımının belirlenmesi, reaktivasyonun reenfeksiyondan ayırt edilmesi, salgın araştırmalarında epidemik suşların kaynağı ile yayılım yolunun belirlenmesi gibi amaçlarla kullanılmaktadır (2). Bu amaçla kullanılan birçok fenotipik ve genotipik tiplendirme yöntemi bulunmaktadır (Tablo 2) (88).

Tablo 2. Hastane enfeksiyon etkenlerini tiplendirme metotları

1) Fenotipik Metotlar:

- a) Biyotiplendirme
- b) Serotiplendirme
- c) Antibiyotik duyarlılık paterni
- d) Bakteriyofaj tiplendirme
- e) Bakteriyosin tiplendirme
- f) Protein analizi, Multilokus enzim elektroforezi, hücresel veya membran proteinlerin poliakrilamid jel elektroforezi, immun blotlama vs.

2) Genotipik Metotlar:

- a) Plazmid analizi
- b) Kromozomal DNA'nın restriksiyon enzim analizi: RFLP, PFGE
- c) Ribotiplendirme
- d) Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) temelli metotlar: Rep-PZR, AP-PZR
- e) 'Microarray - DNA chip' teknolojisi

AP-PZR: Arbitrarily primed polymerase chain reaction **RFLP:** Restriction fragment length polymorphism **Rep-PZR:** Repetitive sequence-based polymerase chain reaction

1.2.6.1. Fenotipik Metotlar

Biyotiplendirme; bakterilerin biyokimyasal özelliklerinin ve farklı besiyerlerindeki üreme kabiliyetlerinin kullanıldığı tiplendirme yöntemidir. Gen ekspresyonundaki çeşitlilikten ve rastlantısal mutasyonların mikroorganizmanın biyolojik özelliklerini değiştirebilmesinden dolayı ayırım gücü zayıftır (89). Özellikle hastane enfeksiyonu salgınlarında az sayıda biyotip bulunması nedeniyle biyotiplenimin ayırt etme yeteneği yetersiz bulunmaktadır (90).

Serotiplendirme; bakterilerin yüzeyindeki antijenleri onlara spesifik antikorları kullanarak belirlemeye dayanan tiplendirme yöntemidir. Antiserumun elde edilme güçlüğü ve farklı metotlar arasındaki standardizasyon problemleri nedeniyle değeri düşüktür (89, 91). Bu sistem hastane kaynaklı salgın çalışmaları için umut vericidir fakat yoğun emek gerektirmektedir (92).

Antibiyotik duyarlılık paterni; birçok çalışma, oluşan direnç paternlerini tespit etmek ve benzer izolatları gruplamak için minimal inhibitör konsantrasyonu (MIC), breakpoint veya disk difüzyon zon değerlerini baz alarak antibiyotik duyarlılık paternlerini kullanmaktadır. Sonuçlar genellikle duyarlı, dirençli ya da orta duyarlı olarak ifade edilir. Tiplendirme için antibiyogram sonuçlarının diğer yöntemlerle ve epidemiyolojik verilerle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Bazen benzer olmayan suşlar aynı antibiyogram profilini gösterirken, bazen de enfeksiyon atakları sırasında duyarlılık profilleri değişmektedir (2, 3).

Bakteriyofaj tiplendirme; Fransa ve diğer Avrupa ülkelerinde *Acinetobacter* izolatlarının farklı epidemiyolojik çalışmalarında görülen faj tipleri (17 ve 124 numaralı faj) salgın suşu olarak izole edilmiştir. Zaman alıcı olmasına rağmen diğer yöntemlerle birlikte çalışıldığında kullanışlı bir yöntem olarak tanımlanmaktadır (2).

Bakteriyosin tiplendirme; DNA-DNA hibridizasyon tekniği ile birlikte çalışıldığında klinik olarak önemli *Acinetobacter* suşlarının tiplendirilmesinde yararlı bir tiplendirme yöntemi olmaktadır (3). Bakteriyofaj tiplendirmeden daha az zahmetlidir ve serotiplendirme, antibiyotik duyarlılık paterni veya biyotiplendirmeye birlikte epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilir (91).

Protein analizi; *Acinetobacter* türleri ile ilgili epidemiyolojik ve taksonomik çalışmalarda hem hücre duvarı proteini hem de tüm hücre proteinleri kullanılmıştır (2). Bu yöntem hastane salgınlarında ve endemik ataklarda başarı ile

uygulanabilmektedir. Tüm hücre proteinlerinin elektroforetik analizi örnek hazırlama aşamasında hücre duvarı proteinlerine kıyasla daha basit olması nedeniyle avantajlı bulunmuştur (93).

1.2.6.2. Genotipik Metotlar

Plazmid analizi; epidemiyolojik yönden incelenecek kökenlerin plazmidlerinin ayrılarak, agaroz jel elektroforezi ile analiz edilmesine dayanan bu yöntem mikroteknik uygulamalar nedeni ile fazla gereç ve yer gerektirmeyen, ucuz, kolay, hızlı ve tekrarlanabilir olma özelliğine sahiptir. Sonuca varmak için gen ekspresyonuna gereksinim olmaması diğer bir avantajlı yönüdür.

Plazmidler, bakteri türleri ve hatta cinsleri arasında başta konjugasyon olmak üzere birçok mekanizma ile nakledilebildiğinden, hastanelerdeki epidemiler bazen tek kökenin yayılması ile değil, bir plazmidin yayılması ile ortaya çıkar. Epidemik kökenin plazmid taşıması, birçok plazmidin kolayca kaybedilmesi veya kazanabilmesi ve birer ekstrakromozomal element olduklarından, doğal olarak bakterinin genotipini yansıtmaması bu yöntemin olumsuz yönlerini oluşturur (94). Diğer türlerde plazmid saptanmaz iken *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks türünde 1-4 adet plazmid bulunmuştur (2).

Ribotiplendirme; ribozomal operonlar ile ilgili DNA sıralarındaki değişiklikleri belirlemek için cins, tür veya gruba özel ribozomal RNA'lar birer prob olarak kullanılır. Ribotiplendirmede kökenlerin DNA'sı izole edilir, restriksiyon enzimleri ile kesilir ve elektroforez ile DNA parçaları ayrıştırıldıktan sonra seçilmiş prob ile hibridize edilir. Ribozomal gen modellerinin bir tür içinde nispeten stabil halde bulunması, epidemiyolojik kökenleri birbirinden ayırmada yöntemin gücünü bir dereceye kadar azaltır (94).

Ribotiplendirme diğer tip metotlarla kombine edilerek kullanıldığında değerli epidemiyolojik bilgiler sağlanabilir (2).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) temelli metotlar; polimeraz zincir reaksiyonu, 50–2000 baz çiftli DNA veya RNA'nın tek zincirinin bir yarı otomatik sistem içinde birkaç saatte primerler kullanılarak bir milyondan fazla kat çoğalmasını sağlayan üç basit reaksiyonun (denatürasyon, birleşme, DNA sentezi) bir döngü halinde tekrarlanmasıdır. Duyarlılık ve özgüllüğü yüksek ve hızlı bir yöntem olması,

mikroorganizmaların ve ürünlerin direkt olarak tiplendirilmesi avantajlı özellikleridir. Buna karşın, kontaminan DNA'nın amplifikasyonuna ya da epidemi ile ilgisi bulunmayan mikroorganizmaların çok benzer nükleik asit sıralarının tanımlanmasına bağlı olarak yanlış pozitif sonuç vermesi, primerlerin sadece hedeflenen nükleik asit sırasını tanımlaması da, epidemiyolojik araştırmalarda PZR'nin güvenilirliğini azaltan başlıca olumsuz özelliklerdir (94).

Acinetobacter baumannii'nin tiplendirilmesinde kullanılan Arbitrarily Primed Amplification (AP)-PZR yönteminde hedefe bağlı kalınmadan, rastgele seçilmiş, kısa primerler kullanılarak, agaroz jel elektroforezinde farklı bant profilleri oluşturabilecek, değişik uzunluklarda DNA amplifikasyon ürünleri elde edilmektedir. Uygulama kolaylığı, kısa sürede sonuç verebilme özellikleri ve nispeten ucuz olmalarından dolayı yaygın kullanım alanı bulan bu yöntemlerin en önemli dezavantajı henüz standardizasyonun sağlanamamış olmasıdır (95, 96).

Microarray - DNA Chip Teknolojisi; hibridizasyon esasına dayanıp, tek zincirli nükleik asit sekansları komplementerlerine bağlanır. Dizisi bilinen DNA probu cam yüzeylere veya kuyucuklara sabitlenir. Tür ve cins tanımlanması, duyarlılık testleri, genom ve mutasyon analizleri, yeniden dizilenme mikrobiyolojideki mikroçip uygulamalarıdır (97).

Southern blotting ve restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (RFLP); gen belirleme için tam kromozomal DNA, bir restriksiyon enzimi ile kesilir ve parçalar agaroz jel içinde elektroforez ile ayrılır. Parçalar, agaroz jelden nitroselüloza veya naylon membrana Southern blotting ile geçirilir. Membrana bağlı nükleik asit daha sonra bir veya daha çok işaretli ve incelenen gen ile homolog olan prob ile hibridize edilir. Restriksiyon fragman uzunluk polimorfizm analizinde sadece problemlerle hibridize olan DNA parçaları görülür hale geldiği için sonuçların analizi de büyük ölçüde kolaylaşmıştır (94).

Pulsed field gel electrophoresis (PFGE); yüksek oranda tekrarlanabilirlik özelliğine sahip olduğundan, bu yöntem birçok araştırmacı tarafından moleküler yöntemler içinde altın standart olarak kabul edilmiştir.

Bu yöntemde kökenler eritilmiş agaroz ile karıştırılır, bir deterjan enzim ile lizise uğratılır ve restriksiyon enzimleri ile kesilir. Daha sonra agaroz jelde PFGE uygulanır. Aynı türün farklı alt tiplerindeki genomik farklılıklar, restriksiyon

enzimleri ile kesildikleri bölgelerin de farklı olmasına neden olur. İncelenen kökenler, genotipik yönden benzer bulunduğunda, epidemik ve endemik kökenlerin kesin olarak ayırt edilebilmesi için en az iki enzim ile restriksiyon analizi yapılması önerilmektedir (94).

Acinetobacter kökenlerinin DNA' sını izole edildikten sonra ApaI, NheI ve SmaI restriksiyon enzimleri ile parçalanması sonucu oluşan DNA parçalarının uzunluk polimorfizmi gösterilmektedir. Bu yöntem, *A. baumannii* için bir hastanın izole edilen farklı kökenlerin tiplendirilmesinde veya salgınlarda yararlı bir metottur. Pahalı ve uzun süreye ihtiyaç duyulması dezavantajlarıdır. PFGE oldukça ayırt edici ve epidemiyolojik çalışmalar için çok yararlı bir metottur (98).

PFGE'de epidemiyolojik yorumlar

Aynı İzolat: PFGE'de sayı ve boyutları aynı, bant paterni sergileyen bakterilerin genetik olarak aynı ve epidemiyolojik olarak ilişkili oldukları kabul edilir. Tek bant farklılığı gösteren izolatların klonal olarak ilişkili oldukları gösterilmiştir (12, 91).

Yakın İlişkili İzolat: Tek bir nokta mutasyon, insersiyon veya delesyon oluşması nedeniyle aralarında 2-3 bant farkı oluşan izolatlar yakından ilişkili olarak değerlendirilmekte ve epidemiyolojik olarak salgının bir parçası oldukları düşünülmektedir (89, 91).

Muhtemel İlişkili İzolat: İnsersiyon veya delesyon ile restriksiyon bölgelerinin kazanımı veya kaybı gibi iki bağımsız genetik değişiklik meydana geldiğinde aralarında 4-6 bant farkı olan izolatlar oluşur. Çok sayıda hastanın kullanıldığı ve 3-6 aydan uzun bir süreyi kapsayan çalışmalarda sıklıkla gözlenir. Bu tür izolatlar muhtemel ilişkili izolatlar olarak değerlendirilir (89, 91). Ancak genetik olarak yakından ilişkili olmadıklarından epidemiyolojik olarak ilişkili olma olasılıkları daha düşüktür (12).

İlişkisiz İzolat: DNA'sında meydana gelen üç ya da daha fazla genetik değişiklikten dolayı, yedi ya da daha fazla bant farkı sergileyen bakteriler epidemiyolojik olarak ilişkisiz izolatlar olarak kabul edilir (12).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızla ilgili etik kurul kararı Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı' nın 12.11.2013-04 tarih ve karar numarası ile alınmıştır.

Fırat Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı ile Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarına Aralık 2013 - Haziran 2014 tarihleri arasında gönderilen çeşitli klinik materyallerden hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen 97 adet *A. baumannii* izolatu çalışmaya alındı. Aynı hastadan birkaç kez *A. baumannii* izole edildi ise bu suşlardan sadece biri çalışmaya alındı. Karbapenem dirençli *A.baumannii* kökenlerine İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında PFGE uygulandı. Hastalardan uygun koşullarda alınan (kan, bronko alveolar lavaj, trakeal aspirat, idrar, yara, plevral mayi ve BOS gibi) örnekler çalışmamıza dahil edildi.

2.1. Çalışmanın Akışı

- 1) Bakteri kültürü, mikroorganizmanın izolasyonu ve tür tayini
- 2) Disk difüzyon metodu ile antibiyotik duyarlılık testi yapılması ve sonuçların 'Clinical and Laboratory Standarts Institute' (CLSI) kriterlerine göre yorumlanması
- 3) Karbapenem dirençli suşların genotiplemesi için Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) uygulanması

2.1.1. Bakteri kültürü, mikroorganizmanın izolasyonu ve tür tayini

Farklı klinik ve yoğun bakım ünitelerinden gönderilen klinik materyallerden izole edilen, katalaz pozitif, oksidaz negatif, %7 koyun kanlı besiyerinde hemoliz oluşturmayan, EMB besiyerinde de renksiz koloniler oluşturarak üreyip mikroskopik olarak Gram negatif basil veya kokobasil görünümüne sahip olanlar, *A.baumannii* yönünden şüpheli kabul edilerek saf koloni elde etmek amacı ile %7 koyun kanlı agar besiyeri ve EMB besiyerlerine pasajlanmıştır. II.pasaj ile elde edilen saf koloniler Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı laboratuvarında Vitek-2 (BioMerieux-USA) ve Merkez laboratuvarında Phoenix (Becton Dickinson-USA) otomatize sistemleri ile biyokimyasal ve enzimatik özelliklerine göre tür düzeyinde

A.baumannii olarak tanımlanmış suşlar, test suşu olarak çalışmaya dahil edilmiştir. *A. baumannii* olarak isimlendirilen suşlar çalışma gününe kadar boncuklu saklama besiyerinde - 20°C’de saklandı.

2.1.2. Disk difüzyon metodu ile antibiyotik duyarlılık testi yapılması

Çalışmaya alınan suşların antibiyotik duyarlılıkları Kirby Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapıldı. Toz halindeki Müller-Hinton Agar besiyerinden (MHA) 38 gr alınarak hacim distile su ile 1000 ml’ye tamamlandı. Otoklavda 121°C’de 15 dk tutularak sterilizasyon sağlandı, 50°C’ ye soğutulduktan sonra kalınlığı dört mm olacak şekilde steril petrilere döküldü. Her bir suşun %0.09’ luk NaCl içerisinde 0,5 Mc Farland standardına eşdeğer koloni süspansiyonu hazırlandı. Steril eküvyonla agar yüzeyine ekim yapıldı. Antibiyotik diskleri (Oxoid, İngiltere) birbirlerine, uzaklıkları merkezden merkeze en az 24 mm olacak şekilde yerleştirildi. 35°C’de 24 saat inkübe edildikten sonra inhibisyon zon çapları ölçüldü. Ölçülen zon çapları CLSI’nın (Clinical and Laboratory Standards Institute) önerdiği sınırlara göre duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak değerlendirildi. Kalite kontrol suşu olarak *P.aeruginosa* ATCC 27853 suşu kullanıldı.

2.1.3. Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) Çalışma Yöntemi

Klinik meteryallerden izole edilen *A.baumannii* suşları hastane kökenli salgın olup olmadığını belirlemek amacıyla yüksek ayırım gücüne sahip genotipik bir yöntem olan PFGE yöntemi ile tiplendirilmiştir. Çalışmanın bu bölümü İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında yapılmıştır.

2.1.3.1. İzolatların hazırlanması

1. Saf kültür halinde üreyen koloniler plastik öze ile toplanarak, 1 ml hücre süspansiyon tamponu (HST) içinde süspanse edildi.
2. Bakteri yoğunluğu yaklaşık McFarland 4 bulanıklığı olacak şekilde ayarlandı.
3. Hücre süspansiyonu, 2500 x g’de, 4°C’de, 15 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonrasında üstteki HST atıldı.
4. Pelletin üzerine tekrar 1 ml HST eklenerek, kısa süreli vorteks yapıldı.

2.1.3.2. İzolatların agaroz gömülmesi

1. HST içerisinde %2'lik düşük erime ısılı agaroz hazırlandı.
 - 0.200 g düşük erime ısılı agaroz, 100 ml'lik balona konuldu.
 - Üzerine 9 ml HST eklendi, yavaşça karıştırılarak agarın dağılması sağlandı.
 - Agaroz iyice çözülünceye kadar kısa süreli mikrodalgada tutma işlemi tekrarlandı.
 - Agaroz iyice çözüldükten sonra, balon 45-50°C'lik su banyosuna konuldu.
 - %10'luk sodyum dodezil sülfattan (50°C de ısıtılmış) 1 ml eklenerek iyice karıştırıldı.
2. HST içinde hazırlanmış bakteri süspansiyonundan 200 µl ependorf tüplere aktarıldı. Daha sonra 50°C'de tutulan ve içerisinde 200 µl düşük erime ısılı agaroz-SDS bulunan tüpe eklendi. Birkaç defa pipetaj yapılarak hücrelerin agaroz içinde homojen dağılması sağlandı.
3. Bekletilmeden, hücre-agaroz-SDS karışımından agaroz kalıbına 100 µl dağıtıldı.
4. Kalıplar, agaroz katılaşımına kadar +4°C'de, 10 dakika bekletildi.

2.1.3.3. Agaroz içindeki hücrelerin parçalanması:

1. 5 ml'lik steril kapaklı tüplere, 0.5 ml hücre liziz solusyon-1 konuldu.
6 ml hücre parçalama tamponu-1 (2.5 mg/ml lizozim, 1.5 mg/ml proteinaz K) hazırlamak için;

proteinaz K (10 mg/ml)	→ 900 µl
lizozim (100mg/ml)	→ 150 µl
10X hücre parçalama tamponu-1	→ 600 µl
Distile su	→ 4350 µl
2. İçerisinde bakteri bulunan agaroz, kalıptan çıkarılarak hücre parçalama tamponu-1 içerisine yerleştirildi.
3. 37°C'de 1 saat çalkalamalı su banyosunda bekletildi.
4. Hücre parçalama tamponu-1 dökülerek, yerine 0.5 ml hücre parçalama tamponu-2 konuldu.

6 ml hücre parçalama tamponu-2 (400µg/ml proteinaz K) hazırlamak için;
proteinaz K (10 mg/ml) → 240 µl

hücre parçalama tamponu-2 → 5760 µl

5. 55°C’de 2 saat çalkalamalı su banyosunda bekletildi.

2.1.3.4. Hücre lizizinden sonra agaroz kalıpların yıkanması:

1. Lizis aşamasından sonra agaroz kalıbının katılaşması için tüpler buz içerisinde en az 15 dakika bekletildi.
2. Dikkatlice hücre parçalama tamponu-2 aspire edildi.
3. İçinde agaroz kalıp bulunan tüpe, 4 ml steril ultra saf sudan eklenerek, 50°C çalkalamalı su banyosunda 15 dakika bekletildi.
4. Su tamamen aspire edildi. Üçüncü maddede belirtilen su ile yıkama işlemi iki defa daha tekrarlandı. Su tamamen aspire edildi.
5. Daha sonra agaroz kalıpları üç defa (her biri 50°C’de 15 dakika olmak üzere), 4 ml TE tamponuyla yıkandı.
6. Böylece içinde saflaştırılmış DNA bulunan agaroz, restriksiyon enzimi ile kesime hazır hale getirilmiş oldu.

2.1.3.5. Agaroz kalıpları içindeki DNA’nın RE ile kesilmesi:

***A. baumannii* için etkinliği daha önce araştırılmış olan ApaI enzimi kullanılmıştır.**

***A. baumannii* DNA’sını içeren kalıpların ApaI RE ile kesimi:**

1. DNA içeren agaroz kalıbı bir lam üzerine alınarak bir bistürü yardımıyla ¼ oranında kesildi. Parçalardan biri, 100 µl 1x ApaI tamponu içine konularak çalkalamalı su banyosunda 37°C’de 10 dakika bekletildi. (Diğer parçalar sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere TE tamponu içinde saklandı). Sonra sıvı aspire edildi.

2. Her agaroz kalıbı için aşağıdaki karışım hazırlandı.

10x ApaI tamponu	→ 10 µl
ApaI enzimi (10 U /µl)	→ 3 µl
<u>steril ultra saf su</u>	<u>→ 87 µl</u>
Toplam hacim	→ 100 µl

3. Bu karışımın içerisine, enzimin tamponu ile yıkanmış agaroz kalıbı konulup, çalkalamalı su banyosunda 37°C’de 2 saat inkübe edildi.
4. İnkübasyon sonunda tüpler buzdolabında 15 dakika bekletildi.
5. Kalıplar elektroforez için hazırdır.

2.1.3.6. Elektroforez jelinin hazırlaması ve kalıpların jele yüklenmesi

1. 0.5x TBE içinde 100 ml olacak şekilde %1’lik agaroz (pulsed-field certified agarose, Bio-Rad Laboratories) hazırlandı.
 - i. 1 g “pulsed-field certified agarose” 200 ml’lik balona konuldu.
 - ii. Üzerine 100 ml 0.5 x TBE eklendi, yavaşça karıştırılarak agarın dağılması sağlandı.
 - iii. Balonun ağzına aliminyum folyo kapatılarak mikrodalga fırında 60 saniye tutuldu, çıkarılarak hafifçe karıştırıldı, tekrar 15 saniye mikrodalga fırınında tutuldu.
 - iv. Agaroz iyice çözüldükten sonra, balon 45-50°C’lik su banyosuna konuldu.
2. Agaroz dökülecek kaset hazırladı, sızdırmaması için etrafı bantlandı. Su terazisi ile tamamen düzgün olduğu kontrol edilmiş bir zemine konuldu.
3. Restriksiyon enzimi ile kesilmiş olan agaroz kalıplarının her biri, 15 dişli tarağın dişlerinin uç kısmına (tarağın uç çizgisine tam paralel olacak şekilde) yerleştirildi. Tarağın iki kenar ve ortasındaki dişlerine kontrol suşuna ait kalıplar yüklendi.
4. Kurutma kâğıdı veya havlu ile agaroz kalıplarının etrafındaki sıvının fazlası alındı. Maksimum 5 dakika oda ısısında bekletildikten sonra, örnek konulan kısım DNA’nın yürüyeceği yöne gelmek kaydıyla, tarak agaroz dökülecek kaset içine yerleştirildi.
5. Su banyosundan çıkarılmış ve sıcaklığı yaklaşık 45-50°C (çok önemli) olan agaroz dikkatli bir şekilde hava kabarcığı oluşturulmadan kaset içine döküldü.
6. Oda ısısında 20–30 dakika katılaşmaya bırakıldı. Tarak dikkatlice çıkarıldı. İstenirse çukurlar %1’lik agarozla doldurulabilir.
7. Sonra, agaroz kasetinin çerçeveleri çıkarıldı, tabla üzerindeki agaroz, içerisinde 1900–2000 mililitre 0.5x TBE tamponu bulunan PFGE tankına yerleştirildi.

2.1.3.7. Elektroforez

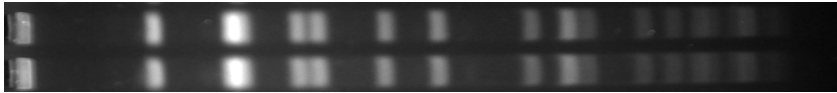
A. baumannii için CHEF-DR II sisteminde (Bio-Rad Laboratories, Nazareth, Belgium) uygulanan elektroforez koşulları:

Başlangıç vuruş süresi 5 sn, bitiş vuruş süresi 30 sn, vuruş açısı 120°, akım 6 V/cm², sıcaklık 14°C, süre 20 saat (TBE tamponu pH=8.0).

2.1.3.8. Sonucun gözlenmesi ve analizi

1. Elektroforezden sonra jel, 5 µg/ml etidyum bromür içeren 400 ml ultra saf su içine alındı. 20 dakika boyandı.
2. UV ışığa altında görüntülendi.
3. Gel logic 2200 imaging system (ayrım gücü: 1708x1280 pixel, Kodak Company, NY, USA) kullanılarak DNA bant görüntülerinin fotoğrafı çekildi. Resimler TIFF formatında kayıt edildi.
4. GelCompar II yazılım sistemi (version 3.0; Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) kullanılarak bant profilleri analiz edildi. Öncelikle her resimde bulunan üç adet standart (1, 7, 15. kuyucuklarda yürütülen) yardımı ile resimler arası normalizasyon yapıldı. “Unweighted pair group method with mathematical averaging (UPGMA)” kullanılarak PFGE profillerinin, denrogramı oluşturuldu ve kümeleşme analizi yapıldı. Bantlara bağlı “Dice” benzerlik katsayısına göre suşlar arasındaki ilişki belirlendi. Benzerlik katsayısının hesaplanmasında bant ve profil toleransı, %1-1.5 olarak alındı.

Aynı izolatlar: Aynı sayı ve boyutlarda bant içeren izolatlar için kullanılır. Bu izolatlar, genetik olarak farksız kabul edilir. Epidemiyolojik olarak ilişkilidir.



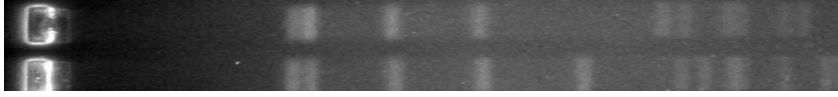
Şekil 2. Aynı izolatlar

Yakın ilişkili izolatlar: Salgın suşu ile aralarında 2-3 bant farkı vardır. Büyük bir olasılıkla salgınla ilişkili suşlardır.



Şekil 3. Yakın ilişkili izolatlar

Muhtemel ilişkili izolatlar: Salgın suşları ile aralarında 4-6 bant farkı vardır. Muhtemelen salgınla ilişkilidirler.



Şekil 4. Muhtemel ilişkili izolatlar

İlişkisiz izolatlar: Aralarında ≥ 7 bant farkı olan suşlardır. Salgınla ilişkileri bulunmayan suşlardır.



Şekil 5. İlişkisiz izolatlar

2.1.3.9. PFGE için gerekli solusyonlar

Tris-HCl M=157.6 g/mol, EDTA M=372,24 g/mol

Trisma Base M=121.1 g/mol, Borik Asit M=61.83g/mol

%10 Sodyum Dodezil Sülfattan (SDS)

Hücre Süspansiyon Tamponu (pH=8.0)

- **100 mM Tris-HCl, 100 mM EDTA,**
- 100 ml 1,58 gr 3,72 gr
- 250 ml 3,94 gr 9,31 gr
- 500 ml 7,88 gr 18,61

Hücre Parçalama Tamponu-1

- 50 mM Tris-HCl [pH=8.0], 50 mM EDTA, 2.5 mg/ml lizozim, 1.5 mg/ml proteinaz K
- 100 ml 0,79 gr 1,86 gr
- 250 ml 1,97 gr 4,65 gr
- 500 ml 3,94 gr 9,31 gr

Hücre Parçalama Tamponu-2

- 0.5 M EDTA, %1 sarkozil, 400 µg/ml proteinaz K
- 100 ml 18,6 gr
- 250 ml 46,53
- 500 ml 93,06

TE Buffer (pH=7.6)

- 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA
- 500 ml 0.79 gr 0,19 gr

TBE Buffer 0.5X (pH=8.0)

- 44.5 mM Trisma Base, 44.5 mM Borik asit, 1 mM EDTA
- 1000 ml 5.39 gr 2,75 gr 0,37

3. BULGULAR

Aralık 2013 - Haziran 2014 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik materyallerden hastane enfeksiyonu etkeni olarak 97 adet *A. baumannii* suşu izole edildi. Bu izolatların 4 tanesi yapılan tiplendirme çalışmaları sonrası farklı bakteri türleri (*Klebsiella*, *Pseudomonas* vs.) olduğu tespit edilmesi üzerine çalışmadan çıkarıldı. 93 adet *A. baumannii* suşunun disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyogramlarına göre, imipeneme karşı %100 oranında dirençli olduğu bulundu. İzole edilen klinik örneklerin 62' si erkek, 31' i kadın hastaya ait idi. Hastaların yaş ortalaması 65,8 (17-100) olarak tespit edildi.

En sık *Acinetobacter* üremesi; 71 hastada (%76.3) trakeal aspirat kültüründe saptandı. *Acinetobacter* üremesi saptanan klinik örneklerin dağılımı Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3. Klinik izolatların materyallere göre dağılımı

Üreme yeri	n(%)
Trakeal aspirat	71(76.3)
Yara	12(12.9)
İdrar	4(4.3)
Bronkoalveolar lavaj	2(2.1)
Kan	1(1.07)
Plevral mayi	1(1.07)
Balgam	1(1.07)
Beyin omurilik sıvısı	1(1.07)
Toplam	93

Acinetobacter baumannii' nin en fazla izole edildiği birim %44.08 (41/93) ile dahiliye yoğun bakım ünitesi olarak saptandı. Suşların izole edildikleri kliniklere göre dağılımı Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. İzolatların kliniklere göre dağılımı

Klinik	n(%)
Dahili Yoğun Bakım Ünitesi	41(44.08)
Anestezi Yoğun Bakım Ünitesi	37(39.7)
Plastik Cerrahi	4(4.3)
Yanık Ünitesi	2(2.1)
Üroloji	2(2.1)
Ortopedi	2(2.1)
Jinekoloji	2(2.1)
Beyin Cerrahisi	1(1.07)
Beyin Cerrahisi Yoğun Bakım	1(1.07)
Hematoloji	1(1.07)
Toplam	93

Acinetobacter baumannii' nin neden olduğu en sık enfeksiyon tipi %80.6 (75/93) ile pnömoni olarak saptandır. Hastane kökenli *Acinetobacter* enfeksiyon tiplerinin dağılımı Tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5. Hastane kökenli *Acinetobacter* enfeksiyonu tiplerinin dağılımı

Enfeksiyonun tipi	n (%)
Pnömoni	75 (80.6)
Cerrahi alan enfeksiyonu	11 (11.8)
Üriner enfeksiyon	4 (4.3)
Primer kan dolaşımı enfeksiyonu	1 (1.07)
Menenjit	1 (1.07)
Osteomyelit	1 (1.07)
Toplam	93

PFGE bulguları

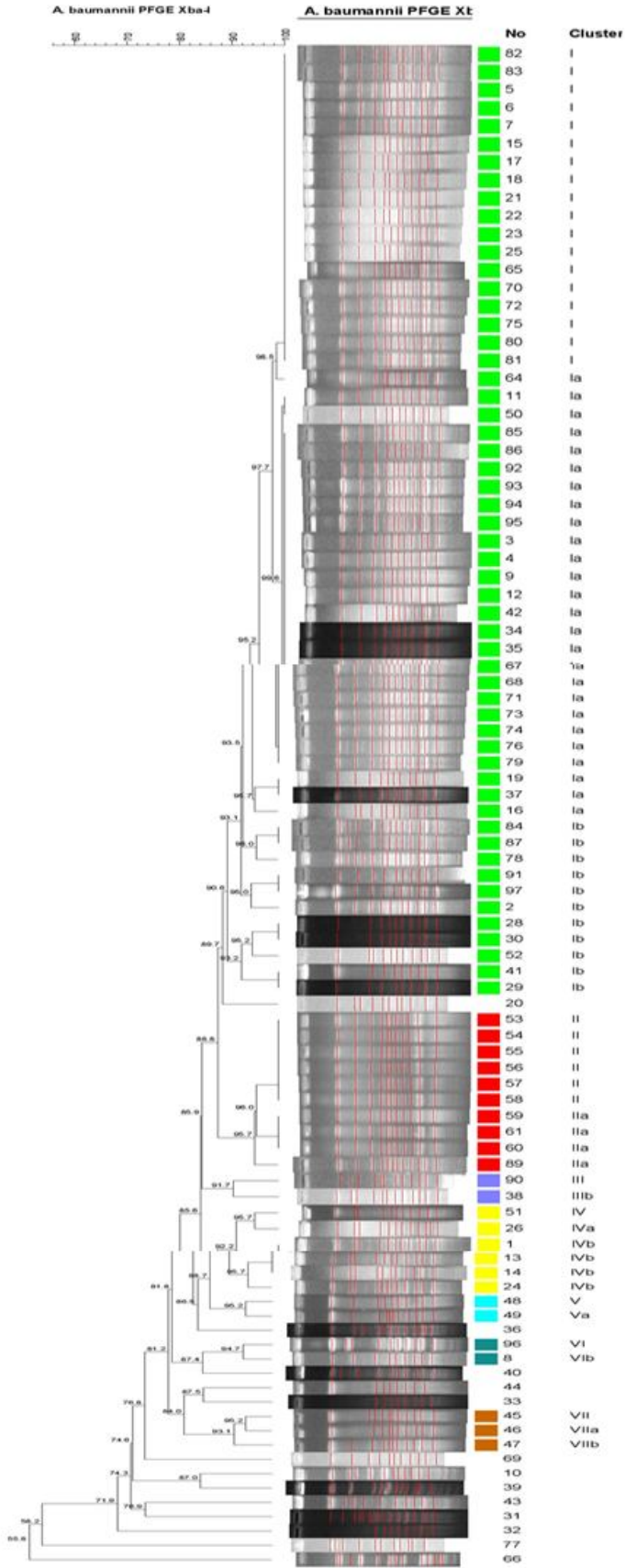
Moleküler tiplendirme çalışması için, Durmaz ve ark. (99) *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella* türlerinin moleküler tiplendirmesinde kullandıkları ortak PFGE protokolü uygulandı.

Bant analizleri için benzerlik hesaplarının yapılmasında Pearson korelasyon katsayısı ve kümeleşme analizi için de UPGMA ("Unweighthed Pairwise Grouping Matematical Avenaging" matematiksel ortalamaıyla ağırlıksız çiftlerin

gruplandırılması) yöntemi kullanıldı. İzolatlar benzerlik katsayıları göz önüne alınarak ayırt edilemez (benzerlik >%95), benzer (benzerlik >%90-95) ve farklı (benzerlik <%90) olarak sınıflandırıldı. Birbirleriyle %95'in üzerinde benzerlik gösteren suşlar ana klon; ana klonlar içerisinde de %90'nin üzerinde benzer klonlar alt tip olarak kabul edildi. Benzerlik oranları %90'in altında olan suşlar ise diğerlerinden farklı olarak değerlendirildi.

Tiplendirilen 93 *A. baumannii* suşu 30 farklı PFGE profili göstermiştir. Klonal yönden ilişkili suşlar, 7 farklı küme içerisinde yer almaktadırlar. Toplam 93 *A. baumannii* suşunun 80'i herhangi bir küme içerisinde yer almaktadır. Suşların kümeleşme oranı %86'dır.

En büyük küme; 55 izolatın yer aldığı I ile kodlanan kümedir. Bunu sırasıyla; II (10 izolat), IV (6 izolat), VII (3 izolat), III (2 izolat), V (2 izolat), VI (2 izolat) kümeleri takip etmektedir.



Şekil 6. PFGE ile elde edilen dendrogram görüntüsü

4. TARTIŞMA

Hastane enfeksiyonları (HE) hastanede kalış süresini uzatarak, mortalite ve morbidite oranlarını arttıran ve tedavi maliyetlerini yükselterek ekonomik kayıplara yol açan önemli bir sağlık problemidir. Hastanelerde enfeksiyon oranı yaklaşık %3-17 arasında değişmektedir (100). Hastanemizde 2006 yılında yapılan çalışmada bu oran %5.97 olarak saptanmıştır (101). 2013 yılında hastane enfeksiyon hızı ise %1.04 olarak bulunmuştur (102).

Yoğun bakım imkanlarının artması ve buna paralel olarak daha ağır hastaların takip edilmesi, girişimsel işlemler ve izlemler, hastaların konak savunmasının bozulması, çoklu antibiyotiklere maruz kalma ve dirençli mikroorganizmalarla kolonizasyon gibi nedenler YBÜ’de hastane kökenli enfeksiyonların artmasındaki başlıca risk faktörleridir (103). Çalışmamızda da suşların 79 ‘ u YBÜ’de takip edilen hastalardan izole edilmiştir.

Yoğun bakım üniteleri sıklıkla nozokomiyal salgınlarnın merkezidirler. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MR-SA), Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Enterobacteraceae*, *Pseudomonas* spp. ve *A.baumannii* bu salgınlarda öne çıkan patojenlerdir (104).

Acinetobacter yakın zamana kadar enfeksiyona göre kolonizasyon kapasitesi daha fazla olan düşük virülanslı bir mikroorganizma olarak düşünülmekteydi. Fakat günümüzde *A. baumannii* başta olmak üzere *Acinetobacter* türlerine bağlı hastane kökenli enfeksiyonlar tüm dünyada hızla artış göstermektedir (105). Kuruluğa ve dezenfektanlara gösterdiği direnç nedeniyle; tıbbi cihazlarda ve hastane yüzeylerinde uzun süre canlılığını koruyabilmesi, karbapenem direnci dahil olmak üzere çoklu antibiyotik direncinin giderek artan oranlarda karşımıza çıkması ve özellikle yoğun bakım birimlerinde salgınlara yol açabilmesi, *A. baumannii*’nin sürekli gündemde olan bir patojen olmasına neden olmaktadır (106).

Acinetobacter türleri herhangi bir bölgede hastane enfeksiyonu olarak karşımıza çıkabilirken başlıca üriner sistem enfeksiyonu, solunum sistemi enfeksiyonu ve yara enfeksiyonuna neden olurlar. Pek çok merkezde *A. baumannii*’ye bağlı hastane kökenli pnömoni olgularında önemli bir artış söz konusudur (49, 107). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak en sık hastane

kökenli enfeksiyon tipi VİP ve *Acinetobacter*'in en sık üreme bölgesi olarak ise trakeal aspirat kültürü (%76,3) saptandı.

Salgın ve sporadik enfeksiyon suşlarının ayrımı ancak, şüpheli bakteri izolatlarının arasındaki genomik benzerlik ve farklılıkların ortaya konulduğu laboratuvar yöntemleri ile yapılabilmektedir. Hastane kaynaklı enfeksiyonların ortaya çıkması, antibiyotik direncinin artması ve bunlara bağlı olarak mortalite ve morbiditedeki artışa gösterilen ilgi, nozokomiyal enfeksiyonların tanısına ve epidemiyolojik analizine yardımcı olacak moleküler tekniklerin geliştirilmesine yol açmışlardır. Aynı türdeki izolatların genetik ilişkileri hakkında bilgi sağlayan DNA analizi temeline dayanan çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (108).

Hastane enfeksiyonu etkeni olan ve dirençli bakterilerin tiplendirilmesinde kullanılan en iyi yöntemler kromozomal DNA polimorfizmine dayalı olanlardır. Hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın mutlaka klasik epidemiyolojik veriler göz önünde bulundurulmalıdır. *A.baumannii* salgınlarının kaynağının doğru ve hızlı tespiti, enfeksiyonun tedavisi ve salgının kontrolü açısından önemlidir. Bakteriler arasındaki konal ilişkiyi araştırmak için değişik moleküler tiplendirme yöntemleri denenmekle beraber bunlar arasında ayırım gücü en yüksek olan PFGE yönteminin olduğu kabul edilmektedir (109).

Literatüre bakıldığında salgın epidemiyolojisinde PFGE ile total genom polimorfizminin analizi en güvenilir yöntemdir ve genotiplendirmede altın standart olarak kabul edilmektedir. PFGE yönteminin uygulama standartları dışındaki zayıf yönü suşlarda görülebilen spontan gen kırılmaları nedeni ile meydana gelen polimorfizm farklılıklarıdır. Buradaki olumsuz durum hem Tenover kriterleri hem de numerik dendrogram uygulamaları ile ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır (110).

Seifert ve ark. (90) 1993 yılında yaptıkları bir çalışmada 9 hastaneden izole edilen 103 *A.baumannii* salgın suşunu epidemiyolojik olarak plasmid profile analizi, antibiyotik duyarlılığı, biyotipleme ve PFGE yöntemleri ile değerlendirmişlerdir. PFGE yöntemi ile suşların 8 farklı kümeye dağıldıklarını, buna karşılık biyotipleme ile 4, antibiyotik direnç fenotipi ile 5 ve plazmid profili analizi ile de 6 farklı küme tespit ettiklerini bildirmişler, salgın tanımlamasında PFGE yönteminin diğer yöntemlere göre ayırım gücünün oldukça yüksek olduğunu, yöntemin salgınlarda tekrarlanılabilirliği ve kolay yorumlanabilirliği ile yararlı olduğunu öne sürmüşlerdir.

Villalon ve ark. (111) İspanya’ da 19 merkezden topladıkları 729 *A. baumannii* salgın suşu PFGE ve Multi Locus Sequence Typing (MLST) yöntemleri ile ilişkilendirdikleri çalışmalarında PFGE’nin izolatları 58 küme içerisinde topladığını, salgın ilişkili suşların izlenmesi ve kümelenmesi, hastaneler arası geçişin belirlenmesi ve uzun süreli sürveyans için bu yöntemin MLST’ den daha başarılı olduğunu söylemişlerdir.

Durmaz ve ark. (99) 2009 yılında yaptıkları çalışmada PFGE yöntemiyle *A.baumannii*, *E. coli* ve *Klebsiella* spp. tiplendirmesinde optimizasyon üzerine çalışmışlar. Bu üç organizmanın önemi nozokomiyal enfeksiyonlar açısından çoğu hastanede sıklıkla izole ediliyor olmalarıydı. 62 *A.baumannii*, 50 *E. coli* ve 62 *Klebsiella* spp. klinik izolatu değerlendirilmişti. Çalışma 4 farklı laboratuarda 2-3 haftalık aralıklarla uygulanmıştı. Kültürden 28 saat sonra prosedür tamamlanmıştı. Tiplendirilemeyen suş bildirilmemişti. Bu yöntemin tekrarlanabilir ve çok yönlü olduğu sonucunu bildirmişlerdir. Böylelikle salgınları ve bulaş yüzdelerinin daha doğru gösterilebileceği sonucunu ileri sürmüşlerdir. Buna karşın daha maliyetli, daha fazla zamana ihtiyaç duyan ve enzim konsantrasyonuna ihtiyaç duyan yönlerini bildirmişlerdir.

Grisold ve ark. (103) 2010 yılında yayınlanan bir makalede, Avusturya’daki 6 hastane salgınına ait iyi belgelenmiş 70 salgın izolatu ve 52 salgınla ilgisi olmayan toplam 122 farklı klinik izolatu araştırmışlar. 31’i *A.baumannii*, 29’u MRSA, 13’ü GSBL üreten *K.oxytoca* ve 49’u GSBL üreten *K.pneumoniae* olan 122 izolatuın DiversiLab ve PFGE yöntemleri ile genomik benzerlikleri karşılaştırılmış. Farklı bakteri gruplarını içeren bu çalışmada *A.baumannii* için her iki yöntemde de %100 uyumlu sonuçlar alınmış.

Othman ve ark. (112) 2004 ve 2005 yıllarında Tunus’da yaptıkları çalışmada, PFGE yöntemi ile elde ettikleri verilerde suşlar arasında benzerlikler saptamışlardır. Random Amplified polymorphic DNA Analysis (RAPD) metoduyla ayırt edilemeyen genomik tiplendirmeyi PFGE yöntemiyle elde etmişlerdir. Böylelikle daha fazla genomik yapı PFGE yöntemiyle ayırt edilmiştir. Hem RAPD hem de PFGE yöntemiyle elde ettikleri sonuçlar arasında büyük benzerlik saptamışlardır.

Gökmen ve ark. (109) 2008 yılında Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Yanık Ünitesi’ nde 36 çevresel örneğin 11’ inde (%31) *A.baumannii* izole etmişlerdir.

Bunların tamamının karbapenemaz ürettiğini belirlemişlerdir. Klonal ilişkilerin tespiti için PFGE ile yapılan genotipik analizde suşların tamamının bir ana küme içinde yakın ilişkili (> %80) iki alt kümede toplandığını tespit etmişlerdir. Bu bulgularını yeni dezenfektanlara ve dezenfeksiyon işlemlerine rağmen persistan suşun tek bir klona ait olmasına yorumlamışlardır.

Herruzo ve ark. (113) PFGE yöntemi aracılığıyla, aynı hastanenin yanık ünitesinde iki ardışık *Acinetobacter* salgınına bir klonun yol açtığını saptamışlardır. Bu bulguyu, salgınların saptanması kadar sürekli takip edilmesinin de önemli olduğunu belirterek yorumlamışlardır. Persiste edilen suşun hastanedeki diğer yoğun bakım ünitelerine de hakim olduğunu saptamışlardır. Buralardan çapraz bulaşla tekrar yanık ünitesine dönmüş olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Dettori ve ark. (114) İtalya’ da yaptıkları bir çalışmada *A. baumannii* salgınlarını bunun çevreyle ilişkisini araştırmışlar. Çalışma Kuzey Sardinya’ da yapılmış. 10 çoklu ilaç direnci saptanan suş izole edilen hasta ve 2 hasta yatağı arasında benzer elektroforetik band paterni saptanıldığını bildirmişlerdir. Hijyen önlemlerinin arttırılmasının ve koruyucu ekipmanların değişim sıklığının arttırılmasının bu salgınları azaltabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Huang ve ark. (115) 2002-2003 yılları arasında 7 ay süreyle Tayvan’ daki nöroloji yoğun bakım ünitesinde yaptığı çalışmada yoğun bakım ünitesindeki çevresel etkenleri araştırmışlardır. *A. baumannii* %62,5 oranında hasta başı dosyalarında, %31,8 oranında yardımcı sağlık görevlilerinin ellerinde, %25 oranında monitörlerde saptamışlardır. Buna karşın dezenfeksiyon eğitimi sonrası sağlık görevlilerinin ellerinde *A. baumannii* izole edilememiştir. Ek olarak 22 personelin 20’ sinde hiçbir bakteri üretilmemiştir. PFGE yöntemiyle elde edilen 11 suşun 5’ i hem hastalarda hem de ekipmanlarda ve sağlık görevlilerinin ellerinde tespit edilmiştir.

Thom ve ark. (116) 2008 Ekim ve 2009 Ocak ayları arasında hastalar ve çevresel etkenler üzerinden bir kohort çalışması yapmışlar. Morbidite ve mortalitede önemli bir etken olan ÇİD *A. baumannii* suşlarını araştırmışlar. Her hastanın odasındaki 10 yüzeyden örnekler alınmış. 50 oda örneklendirilmiş. %48’ sinde 1 ya da daha fazla alanda örnekler izole edilmiş. Hasta dosyalarında %20, zeminde %8, infüzyon pompalarında %14 izolasyon saptanmış. Vakaların %85’ inde çevresel suşlar ile hastalardan izole edilen suşlar arasında benzerlik saptamışlardır. Çalışmada

bu sonucun orataya çıkmasında en önemli etken olan sağlık çalışanlarının hijyen kurallarına dikkat etmeyişlerini öne sürmüşlerdir.

Irfan ve ark. (117) Karbapenem dirençli *A. baumannii* suşlarını 2 farklı yoğun bakım ünitesinde yaptıkları çalışmayla incelemişlerdir. Çalışma 2007 Kasım ve 2008 Ağustos ayları arasında Karaçi kentinde 50 hasta ile yapılmıştır. Her 2 klinikteki hastalar arasında yaş, komorbidite, üriner katater varlığı ve yatış süreleri arasında anlamlı fark izlenmiş. PFGE ile elde edilen suşların 3' ü her iki merkezde de saptanmış. Epidemiyolojik açıdan yakın birliktelik görülmüş. Karbapenem dirençli *A. baumannii* suşları her 2 yoğun bakım ünitesinde oldukça benzermiş. Burada risk faktörleri değişse de olası patojenlerin benzediğini ileri sürmüşlerdir.

Çetin ve ark. (118) Türkiye' deki üniversite hastanelerindeki nozokomiyal *A. baumannii* suşlarının epidemiyolojik karakterizasyonlarını PFGE yöntemi ile araştırmayı hedeflemişler. 14 ay boyunca 66 hasta kaydedilmiş. *A. baumannii* insidansı Ocak, Nisan, Mayıs ve Haziran 2006 dönemlerinde özellikle yüksek bulunmuş. Örneklerin çoğunluğu yoğun bakım ünitelerindeki hastaların kan ve trakeal aspiratlarından elde edilmişti. En yüksek yüzdeye sahip predispoze faktörler serebrovasküler hastalık ve cerrahi operasyonlar olarak tespit edilmiş. Bu hastalardaki ana risk faktörleri ise kataterizasyon ve mekanik ventilasyon şeklinde değerlendirilmiş. PFGE suşlarından Tip A ve Tip K suşların %44' ünü oluşturmaktaymış. 13 antibiyotiplendirme tespit edilmiştir. Çoğunluğu çoklu antibiyotik direncine sahipmiş. Hastane içinde özellikle 2 epidemik klonun salgınlara sebep olabileceğini düşünmüşlerdir. Bu yakın klonal ilişkiye bağlı olarak uzun süre bu enfeksiyonların görüldüğünü ve nozokomiyal enfeksiyonlara neden olduğunu öne sürmüşlerdir.

Çalışmamızda hastanemizde çeşitli kliniklerden izole edilen karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatları arasındaki klonal ilişkinin araştırılması için genotiplendirmede altın standart olarak kabul edilen PFGE yöntemi kullanıldı. Bu yöntemle toplam 93 *A. baumannii* izolatu 30 farklı PFGE profili göstermiştir. İzolatlar arasındaki klonal yakınlığın bir göstergesi olan "kümeleşme oranı" %86 olarak bulundu. Bu kümeleşme oranı, izolatlar arasındaki klonal yakınlığın oldukça yüksek olduğunun, diğer bir deyişle hastalar arasında çapraz bulaş oranının yüksekliğinin önemli bir göstergesidir. Çetin ve ark. (118) Türkiye' deki üniversite

hastanelerindeki nozokomiyal *A. baumannii* suşlarının epidemiyolojik karakterizasyonlarını PFGE yöntemi ile araştırdıkları çalışmada 14 aylık bir dönemde izole edilen 66 *A. baumannii* izolatu tiplendirilmiş ve bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak kümeleşme oranı %80.3 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda en fazla izolat sayısına sahip I kümesinde yer alan 55 suşun izolasyon tarihleri incelendiğinde, bu klonun hastanemizde yaklaşık 7 ay varlığını sürdürdüğü görülmektedir. Çetin ve ark. (118) yaptığı çalışmada da salgın klonu olan *A. baumannii* izolatlarının hastanede 9-24 ay kalabileceği gösterilmiştir. Bu sonuçlar, özellikle dirençli salgın klonlarının tedbir alınmadığı durumda hastane ortamında uzun yıllar kalabileceğini ve hastadan hastaya taşınabileceğini göstermektedir.

Acinetobacter türü bakterilerin çevre şartlarına dayanıklı olmaları bu tür ile oluşan enfeksiyonlarla savaşta işimizin zorlaştırmasının en önemli nedenlerinden biridir. *A. baumannii* ve diğer sorunlu mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyon oranlarını azaltmak için öncelikle YBÜ’de olmak üzere çapraz bulaş engellenmeli, bu amaçla sık aralıklarla personel eğitilmeli, hastalar arasında ortak kullanılan malzemeler azaltılmalıdır. El hijyenine ve eldiven kullanımına gereken özen gösterilmelidir. İyileşip servislere çıkarılan hastalar yeni servislerinde sürveyans kültürleri sonuçlanana kadar temas izolasyonuna alınmalı ve servisteki diğer hastalara sorunlu mikroorganizmaların geçişi engellenmelidir. YBÜ’lerinde salgınların zamanında fark edilebilmesi için sürveyans çalışmaları yapılmalı, salgınlar sırasında çok önemli bilgiler sağlanması ve salgın yapan mikroorganizmanın rezervuarının saptanması amacıyla mutlaka çevresel örnekleme yapılmalıdır. Çalışmamızda çevre taraması yapılamadığı için herhangi bir kaynak tanımlanmamıştır.

Antimikrobiallere duyarlılık, ülkeler, merkezler ve hatta hastanelerin birimlerine göre değişebilmektedir. Bu farklılığa sebep olabilen faktörler sosyoekonomik koşullar, antibiyotik kullanımı ve antibiyotik kontrol politikası gibi risk faktörleridir. Dolayısıyla risk faktörlerini azaltmanın yanında, *A. baumannii*’ye bağlı gelişen enfeksiyonların ampirik tedavisinde o hastanedeki direnç durumuna göre protokol belirlenmelidir. Böylece çoklu ilaç kullanımı ve buna bağlı gelişebilecek direnç, sistemik yan etkiler gibi olumsuz durumların azaltılması

muhtemeldir. Ayrıca antibiyogram sonucuna göre, uygun sürede antibiyotik kullanımının yararlı olacağı düşünülmektedir (79).

Sonuç olarak; bu çalışma hastanemizde *A. baumannii* izolatlarının, aradan 7 ay gibi uzun bir süre geçmesine rağmen benzer olduğunu gösterdi. Ancak ortaya çıkan bu duruma sebep olan faktörlerin önlenmesi ve karbapenem direnci açısından antibiyotik kullanım politikalarının tekrar gözden geçirilmesi gerektiği kanaatine varılmıştır. Ayrıca PFGE 'nin izolatlar arası benzerlik ya da farklılıkların tespitinde mevcut en önemli ayırıcı yöntem olduğu düşünülmüştür.

5. KAYNAKLAR

1. Trilla A. Epidemiology of nosocomial infections in adult intensive care units. *Intensive Care Med* 1994; 20: 1-4.
2. Berezin BE, Towner KJ. *Acinetobacter* spp as nosocomial pathogens: microbiological, clinical and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9: 148-165.
3. Bergogne-Berezin E, Joly-Guillou ML. Hospital infection with *Acinetobacter* spp.: an increasing problem. *J Hosp Infect* 1991; 18: 250-255.
4. Chastre J. Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU. *Semin Respir Crit Care Med* 2003; 24: 69-78
5. Schreckenberger PC, Daneshvar MI, Weyant RS, Hollis DG. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella* and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, (eds). *Manuel of Clinical Microbiology*. 7 th ed. Washington DC: ASM Pres, 2002: 749-775.
6. Fagon JY, Chastre J, Nance AJ, Montravers P, Novara A, Gibert J. Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay. *Am J Med* 1993; 94: 281-288.
7. Afzal-Shah M, Livermore DM. Worldwide emergence of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41: 576-577.
8. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 309-317.
9. Zarrilli R, Giannouli M, Tomasone F, Triassi M, Tsakris A. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of 65 an emerging problem in health care facilities. *J Infect Dev Ctries* 2009; 3: 335-341.
10. Durmaz R. Moleküler epidemiyolojinin prensipleri. Durmaz R (ed). *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji*. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2001; 139-147.

11. Wu F, Delle-Latta P. Molecular typing strategies. *Semin Perinatol* 2002; 26: 357-366.
12. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2233-2239.
13. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections. *Am J Infect Control* 1988; 16: 128-140.
14. Horan TC, Gaynes RP. Surveillance of nosocomial infections. Mayhall CG (ed). *Hospital Epidemiology and Infection Control*. 3rd ed, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004; 1659-1702.
15. Larson E, Horan T, Coopers B, Kotilainen HR, Landry S, Terry B Study of the definition of nosocomial infections (SDNI). Research committee of the association for practitioners in infection control *Am J Infect Control* 1991; 19: 259-267.
16. Taşova Y, Akgün Y, Saltoğlu N, Yılmaz G, Kara O, Dündar İH. Nazokomiyal *Acinetobacter* infeksiyonları *Flora* 1999; 4: 170-176.
17. Weinstein RA. Nosocomial infection update. *Emerg Infect Dis* 1998; 4: 416-420.
18. Yalçın AN. İnfeksiyon kontrolünde maliyet analizi. Doğanay M, Ünal S (eds). *Hastane İnfeksiyonları*. 1. Baskı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2003; 125–134.
19. Peşken Y. Hastane infeksiyonlarının epidemiyolojisi. Günaydın M, Esen Ş, Saniç A, Leblebicioğlu H (eds). *Sterilizasyon, Dezenfeksiyon ve Hastane İnfeksiyonları*. Samsun: Deomed Medikal Yayıncılık, 2002; 203–213.
20. Willke A. Hastane infeksiyonları etkenleri ve antibiyotik duyarlılık durumları. Akalın HE (ed). *Hastane İnfeksiyonları*. Ankara: İnfeksiyon Hastalıkları Derneği Yayınları, 1993; 1: 45-53.
21. Biçmen C, Şenol G, Eriş FN, Florat N. Bir göğüs hastalıkları eğitim hastanesinde yatan hastaların çeşitli örneklerinden soyutlanan gram negatif çomakların antibiyotiklere duyarlılıkları ve karbapenem direnç özellikleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 2004; 34: 37–45.

22. Rossau R, Landschoot A van, Gillis M, Ley J. Taxonomy of *Moraxellaceae* fam. nov., a new bacterial family to accommodate the genera *Moraxella*, *Acinetobacter* and *Psychrobacter* and related organisms. *Int J Syst Bacteriol* 1991; 41: 310–319
23. Peterson DL. Serious infections in the intensive care unit: *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 41–42.
24. Ardiç N, Özyurt M, İlga U, Erdemoğlu A, Haznedaroğlu T. Yatan hastalardan izole edilen *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarının karbapenemlere ve bazı antibiyotiklere duyarlılıkları. *Ankem Dergisi* 2004; 18: 145–148.
25. Javad A, Seifert H, Snelling AM, Heritage J, Hawkey PM. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1938–1941.
26. Speller DCE, Humphreys H. Hospital-acquired infection. Collier L, Balows A, Sussman M (eds). *Topley & Wilson's Microbiology and microbial infections*. 9th ed, London: Arnold, 1998: 187–229.
27. Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter species* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 49–56.
28. Javad A, Hawkey PM, Heritage J, Snelling AM. Description of Leeds *Acinetobacter* medium, a new selective and differential medium for isolation of clinically important *Acinetobacter* spp. and comparison with Herellea agar and Holton's agar. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2353–2358.
29. Goel KV, Kapil A. Monoclonal antibodies against the iron regulated outer membraneproteins of *Acinetobacter baumannii* are bactericidal. *BMC Microbiol* 2001; 1: 16–23.
30. Vahaboglu H, Coskuncan F, Tansel O, Ozturk R, Sahin N, Koksali I et al. Clinical importance of extended-spectrum beta-lactamase (PER-1-type) producing *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas aeruginosa* strains. *J Med Microbiol* 2001; 50: 642–645.
31. Baysal B. Bakteriyel infeksiyonların patogenezi. Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Ustçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (eds). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1. Baskı, Ankara: Güneş Kitapevi, 1999; 109–112.

32. Allen DM, Hartman BJ. *Acinetobacter* species. Mandel GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Principles and Practice Infectious Diseases. 5th ed, Philadelphia: Churchill Livingstone Inc, 2000: 2339–2344.
33. Aygün G, Dikmen Y, Mete B, Utku T, Ürkmez S, Demirkıran O et al. Yoğun bakım ünitesinde hastane infeksiyonu etkeni olarak belirlenen *Acinetobacter baumani* kökenlerinin antibiyotik duyarlılığı. Ankem Dergisi 2002; 16: 85-88.
34. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Fernández-Hinojosa E, Aldabó-Pallás T, Cayuela A, Marquez-Vácaro JA et al. *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: epidemiological and clinical findings. Intensive Care Med 2005; 31: 649–655.
35. Sunenshine RH, Wright MO, Maragakis LL, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter* infection mortality rate and length of hospitalization. Emerg Infect Dis 2007; 13: 97–103.
36. Lortholary O, Fagon JY, Buu Hoi A. Nosocomial acquisition of multiresistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors and prognosis. Clin Infect Dis 1995; 20: 790-796.
37. Pennington JE. Nosocomial respiratory infections. Mandel GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed, New-York: Churchill Livingstone, 1995; 2599-2606.
38. Allen DM, Hartman BJ. *Acinetobacter* species. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone, 1995; 2009-2013.
39. Tilley PA, Roberts FJ. Bacteremia with *Acinetobacter* species: risk factors and prognosis in different clinical settings. Clin Infect Dis 1994; 18: 896-900.
40. R. Gaynes JR, Edwards. Overview of nosocomial infections caused by gram negative bacilli Clin Infect Dis 2005; 41: 848- 854.
41. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996; 9: 148-165.

42. Griffith ME, Lazarus DR, Mann PB, Boger JA, Hospenthal DR, Murray CK. *Acinetobacter* skin carriage among US army soldiers deployed in Iraq. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28: 720-722.
43. Metan G, Alp E, Aygen B, Sumerkan B. *Acinetobacter baumannii* meningitis in post-neurosurgical patients: clinical outcome and impact of carbapenem resistance. *J Antimicrob Chem* 2007; 60: 197-199.
44. Visca P, Petrucca A, De Mori P, Festa A, Boumis E, Antinori A, Petrosillo N. Community acquired *Acinetobacter radioresistens* bacteremia in an HIV-positive patient. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 1032-1035.
45. Gleeson T, Petersen K, Mascola J. Successful treatment of *Acinetobacter* meningitis with meropenem and rifampicin. *J Antimicrob Chem* 2005; 56: 602-603.
46. Gradon JD, Chapnick EK, Lutwick LI. Infective endocarditis of a native valve due to *Acinetobacter*: case report and review. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 1145-1148.
47. Lye WC, Lee EJ, Ang KK. *Acinetobacter* peritonitis in patients on CAPD: characteristics and outcome. *Adv Perit Dial* 1991;7: 176-179.
48. Valdez JM, Asperilla MO, Smego RA. *Acinetobacter* peritonitis in patients receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Sout Med J* 1991; 84: 607-610.
49. Kempf M, Rolain JM. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 39: 105-114.
50. Williams JD. Beta-Lactamase inhibition and in vitro activity of sulbactam and sulbactam/cefoperazone. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 494-497.
51. Chambers HF. Other beta-lactam antibiotics. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed, Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000; 264-272.
52. Çakır N. Gram negatif etkili antibakteriyel ajanlar ve klinik kullanımları (sefalosporinler). Ulusoy S, Leblebicioğlu H, Usluer G (eds). *Önemli ve Sorunlu Gram Negatif Bakteri İnfeksiyonları*. 1. Baskı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004; 410-428.

53. Erdiñ FŞ. Sefalotinden, Seftobiprole, Seftaroline, ANKEM Derg 2013; 27: 124-126.
54. Karchmer AW. Cephalosporins. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed, New York: Churchill Livingstone, 2000; 224-291.
55. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Antimibiyotikler ve Kemoterapotikler. Asya Mikrobiyoloji. 5.Basım, İzmir: Asya Tıp Kitabevi, 2005; 1-59.
56. Gilbert DN. Aminoglycosides. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed, Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000; 279-306.
57. Joshi SG, Litake GM, Niphadkar KB, Ghole VS. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a teaching hospital. J Infect 2003; 9: 187-190.
58. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clin Infect Dis 2005; 40: 1333-1341.
59. Fernandez-Viladrich P, Corbella X, Corral L, Tubau F, Mateu A. Successful treatment of ventriculitis due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* with intraventricular colistin sulfomethate sodium. Clin Infect 1999; 28: 916-917.
60. Akalın H. Dirençli Mikroorganizma İnfeksiyonlarına Yaklaşım. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2009; 133-147.
61. Bauer G, Berens C, Projan SJ, Hillen W. Comparison of tetracycline and tigecycline binding to ribosomes mapped by dimethylsulphate and drug-directed Fe²⁺ cleavage of 16S rRNA. J Antimicrob Chemother 2004; 53: 592-599.
62. Livermore DM. Tigecycline: what is it, and where should it be used? J Antimicrob Chemother 2005; 56: 611-614.
63. Vila J, Pachon J. Therapeutic options for *Acinetobacter baumannii* infections: an update. Expert Opin Pharmacother 2012; 13: 2319-2336.

64. Ruiz J. Mechanisms of resistance to quinolones: Target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 1109-1117.
65. Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G. Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* species. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 750-753.
66. Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydna E, Lal H, Quale J. Endemic carbapenem resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: Citywide prevalence, interinstitutional spread and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 101–106.
67. Akova M., Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 12. Baskı, Ankara: Pelikan Yayıncılık, 2009; 167-187.
68. Livermore DM. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 557-584.
69. Thomson JM, Bonomo RA. The threat of antibiotic resistance in Gram-negative pathogenic bacteria: beta-lactams in peril! *Cur Opin Microbiol* 2005; 8: 518-524.
70. Öcal D. Gram negatif bakterilerde antibakteriyal direncin fenotipik yöntemler ile tayin ve bildiri ANKEM Dergisi 2012; 26: 154-164.
71. Walther-Rasmussen J, Hoiby N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chem* 2006; 57: 373-383.
72. Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, epidemiology and genetics of class D β -lactamaseb. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 24-38.
73. Rice LB, Sahn D, Bonomo RA. Mechanisms of resistance to antibacterial agents. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. ASM Press, 2003; 1074-101.
74. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 306-325.
75. Bradford AP, Urban C, Mariano N, Projan SJ, Rahal JJ, Bush K. İmipemen resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a

- plasmid mediated Amp C β laktamase and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 563-569.
76. Hancock R. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria *Clin Infect Dis* 1998; 1: 38-45.
 77. Limansky AS, Mussi MA, Viale AM. Loss of a 29-kilodalton outer membrane protein in *Acinetobacter baumannii* is associated with Imipenem resistance *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4776-4778.
 78. Livermore D. M. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 557-584.
 79. Shi WF, Jiang JP, Mi ZH. Relationship between antimicrobial resistance and aminoglycoside-modifying enzyme gene expressions in *Acinetobacter baumannii*. *C Med J* 2005; 118: 141-145.
 80. Cisneros JM, Rodriguez-Bano J. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. *Clin Microbiol Inf Dis* 2002; 8: 687-693.
 81. Magnet S, Courvalin P, Lambert T. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454 *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 3375-3380.
 82. Akalın H. Kolistin. *Ankem Dergisi* 2007; 21: 26-28.
 83. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA, et al. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* *Antimicrob agents chemother* 2007; 51: 3471-3484.
 84. Van Looveren M, Goossens H, Group AS. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. *Clin Microbiol Inf Dis* 2004; 10: 684-704.
 85. Pankey GA. Tigecycline. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 470-480.
 86. Akalın H. Çoğul dirençli gram negatif bakteriler. Doğanay M, Ünal S (eds). *Hastane İnfeksiyonları'nda*. 1. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2003; 269-289.

87. Dökmeci İ. Kemoterapötik ilaçlar. Dökmeci İ (ed). Farmakoloji İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar'ında. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 1992; 705-86.
88. Durmaz R. IV. Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji Kursu Kitapçığı Malatya 3-7 Eylül 2007: 64.
89. Singh A, Goering R.V, Simjee S, Foley S.L, Zervos M.J. Application of molecular techniques to the study of hospital infection. Clin Microbiol Rev 2006; 512-530.
90. Seifert H, Schulze A, Baginski R, Pulverer G. Comparison of four different methods for epidemiologic typing of *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol 1994; 32: 1816-1819.
91. Andrei A, Zervos MJ. The application of molecular techniques to the study of hospital infection Arch pathol lab med 2006; 130: 662-668.
92. Seifert H, Schulze A, Baginski R, Pulverer G. Plasmid DNA fingerprinting of *Acinetobacter* species other than *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol 1994; 32: 82-86.
93. Dijkshoorn L, Michel M. F, Degener J, E. Cell. Envelope protein profiles of *Acinetobacter Calcoaceticus* strains isolated in hospitals. J Med Microbiol 1987; 23: 313-319.
94. Derbentli Ş. Hastane infeksiyonlarının epidemiyolojisinde moleküler yöntemlerin yeri. Ağaçfıdan A, Badur S, Türkoğlu S (eds). İnfeksiyon Hastalıklarının Laboratuvar Tanısında Moleküler Yöntemler. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınevi, 2002; 6-13.
95. Olive DM, Principles PB. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms J Clin Microbiol 1999; 37: 1661.
96. Nolte FS, Caliando A, Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Landry ML. Mikroorganizmaların moleküler yöntemlerle tespit edilmesi ve tanımlanması. Manuel of Clinical Microbiology. 9. Baskı. Ankara: Atlas Yayıncılık, 2008; 218-244.

97. Tanısal moleküler mikrobiyoloji Teorik ve Uygulamalı Kursu Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Teorik Ders Notları, 2009.
98. Ayan M. Hastanemizdeki *Acinetobacter baumannii* İnfeksiyonlarının Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Malatya: İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2002.
99. Durmaz R, Otlu B, Koksall F, Hosoglu S, Ozturk R, Ersoy Y, et al. 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* 2009; 62: 372-377.
100. Öztürk R, Çetinkaya-Şardan Y, Kurtoğlu D. TC. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Sağlıkta Dönüşüm Programı, Hastane Enfeksiyonlarının Önlenmesi: Türkiye Deneyimi Eylül 2004-Aralık 2010. Ankara 2011.
101. Çelik İ, Şenol A, Eser-Karlıdağ G, Akmirza-İnci N. Fırat Üniversitesi Hastanesi 2006 yılı hastane enfeksiyonları sürveyans sonuçları. *Fırat Tıp Dergisi* 2009; 14: 242-246.
102. Fırat Üniversitesi Hastanesi Enfeksiyon Kontrol Komitesi Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı (UHESA) verileri 2013.
103. Meric M, Willke A, Caglayan C, Toker K. Intensive care unit-acquired infections: incidence, risk factors and associated mortality in a Turkish university hospital *Japanese J Infect Dis* 2005; 58: 297-302.
104. Grisold AJ, Zarfel G, Strenger V, Feierl G, Leitner E, Masoud L, et al. Use of automated repetitive sequence based PCR for rapid laboratory confirmation of nosocomial outbreaks *J Infect* 2010; 60: 44-51.
105. Routsis C, Pratikaki M, Platsouka E, Sotiropoulou C, Nanas S, Markaki V, et al. Carbapenem-resistant versus carbapenem-susceptible *Acinetobacter baumannii* bacteremia in a Greek intensive care unit: risk factors, clinical features and outcomes. *Infection* 2010; 38: 173-180.
106. Souli M, Galani I, Giamarellou H. Emergence of extensively drug resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. *Euro surveill* 2008; 13: 1-11.

107. Dizbay M, Tunccan OG, Sezer BE, Hizel K. Nosocomial imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections: epidemiology and risk factors. *Scandinavian J Infec Dis* 2010; 42: 741-746.
108. Ligozzi M, Fontana R, Aldegheri M, Scalet G, LoCascio G. Comparative evaluation of an automated repetitive sequence based PCR instrument versus pulsed field gel electrophoresis in the setting of a *Serratia marcescens* nosocomial infection outbreak. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 1690-1695.
109. Durmaz R. Dirençli bakteri suşları arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesi. *Ankem Derg* 2007; 21: 178-183
110. Gökmen T, Güran M, Benk G, Kızılyıldırım S, Köksal F. Yanık ünitesinde kısa-dönem/uzun-dönem *Acinetobacter baumannii* salgını. *Ankem Derg* 2012; 26: 120-125.
111. Villaon P, Valdetaze S, Medina- Pascual M, Rubio V, Vindel A, Saez-Nieto J. Clonal Diversity of Nosocomial Epidemic *Acinetobacter baumannii* Strain Isolated in Spain. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 875-882
112. Ben Othman A, Zribi M, Masmoudi A, Abdellatif S, Ben Lakhal S, Fendri C. Multiresistance and endemic status of *acinetobacter baumannii* associated with nosocomial infections in a tunisian hospital: a critical situation in the intensive care units. *Braz J Microbiol.* 2011; 42: 415-422.
113. Herruzo R, de la Cruz J, Fernández-Aceñero MJ, Garcia-Caballero J. Two consecutive outbreaks of *Acinetobacter baumannii* 1-a in a burn intensive care unit for adults. *J Burns* 2004; 30: 419-423.
114. Dettori M, Piana A, Deriu MG, Lo Curto P, Cossu A, Musumeci R, et al. Outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit. *New Microbiol* 2014; 37: 185-191.
115. Huang CH, Lee CL, Chen WY, Teng PC, Hsieh YJ, Jang TN, et al. Different strains of *Acinetobacter baumannii* spreading in an intensive care unit. *J Acute Med* 2011; 1: 5-10.

116. Thom KA, Johnson JK, Lee MS, Harris AD. Environmental contamination because of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* surrounding colonized or infected patients. *Am J Infect Control* 2011; 39: 711-715.
117. Irfan S, Turton JF, Mehraj J, Siddiqui SZ, Haider S, Zafar A, et al. Molecular and epidemiological characterisation of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from public and private sector intensive care units in Karachi, Pakistan. *J Hosp Infect* 2011; 78: 143-148.
118. Cetin ES, Durmaz R, Tetik T, Otlu B, Kaya S, Calışkan A. Epidemiologic characterization of nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections in a Turkish university hospital by pulsed-field gel electrophoresis. *Am J Infect Control* 2009; 37: 56-64.

6. ÖZGEÇMİŞ

4 Kasım 1983 yılında Malatya’da doğdum. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimimi Malatya’ da tamamladıktan sonra 2002 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi ‘nde tıp eğitimime başladım. 2008 yılında Tıp fakültesinden mezun oldum. 2009 yılında Tıpta Uzmanlık Sınavını kazanarak 03 Temmuz 2009 tarihinde Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Yabancı dilim İngilizce. Evli ve 1 çocuk annesiyim.