

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *ACINETOBACTER*
İZOLATLARINDA METALLOBETALAKTAMAZ VARLIĞININ FENOTİPİK
VE GENOTİPİK YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. FERHAN KORKMAZ

SAMSUN 2018

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *ACINETOBACTER*
İZOLATLARINDA METALLOBETALAKTAMAZ VARLIĞININ FENOTİPİK
VE GENOTİPİK YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. FERHAN KORKMAZ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. ASUMAN BİRİNCİ

Bu tez, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Yönetim Birimi tarafından
PYO. TIP. 1904.17.015 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN 2018

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince, hoşgörü ortamı içerisinde birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, her konuda destek ve yardımlarını gördüğüm, eğitimime büyük katkıları olan, başta tez danışmanım ve bölüm başkanımız sayın Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ olmak üzere, Prof. Dr. Belma DURUPINAR'a, Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI'ya ve Yrd. Doç. Dr. Kemal BİLGİN'e çok teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım ve çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma ve mikrobiyoloji laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Hayatım boyunca sevgilerini ve desteklerini hep yanımda hissettiğim, her türlü doğruyu kendilerinden öğrendiğim canım annem ve babama, desteği ve sevgisiyle her an yanımda olan aynı zamanda ev arkadaşım olan canım kardeşime sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	V
ŞEKİL LİSTESİ	VI
KISALTMALAR	VII
ÖZET	IX
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Acinetobacter</i> Cinsi Bakteriler	3
2.1.1. Tarihçe ve Sınıflandırma	3
2.1.2. Morfolojik, Metabolik ve Kültür Özellikleri	4
2.1.3. Virulans Faktörleri ve Patogenez	5
2.1.4. Epidemiyoloji	7
2.1.5. <i>Acinetobacter</i> Türlerinin Neden Olduğu Enfeksiyonlar	7
2.1.5.1. Pnömoni	7
2.1.5.2. Bakteriyemi	8
2.1.5.3. Menenjit	9
2.1.5.4. Üriner Sistem Enfeksiyonları	9
2.1.5.5. Yumuşak Doku Enfeksiyonları	10
2.1.5.6. Diğer Enfeksiyonlar	10
2.1.6. <i>Acinetobacter</i> Türlerinin Neden Olduğu Enfeksiyonların Tedavisi	10
2.1.7. <i>Acinetobacter</i> Türlerinde Antibiyotik Direnci ve Mekanizmaları	11
2.1.7.1. Aminoglikozid Direnci	12
2.1.7.2. Tetrasiklin Direnci	12
2.1.7.3. Kinolon Direnci	13
2.1.7.4. Polimiksin Direnci	14
2.1.7.5. Beta-Laktam Direnci	14
2.1.8. Metallobetalaktamazlar (MBL)	20
2.1.9. Metallobetalaktamazların Tanısında Kullanılan Yöntemler	24
2.1.9.1. Metallobetalaktamazların Tanısında Kullanılan Fenotipik Testler	24

2.1.9.1.1. Modifiye Hodge Testi	24
2.1.9.1.2. Kombine Disk Difüzyon Testi	24
2.1.9.1.3. Çift Disk Sinerji Testi	24
2.1.9.1.4. Karbapenem İnaktivasyon Testi	25
2.1.9.1.5. Metallobetalaktamaz Gradyent test:	25
2.1.9.1.6. Enzim Ekstraksiyonu Uygulaması.....	25
2.1.9.1.7. Mikrodilüsyon Yöntemi.....	26
2.1.9.2. Metallobetalaktamazların Tanısında Kullanılan Genotipik Yöntemler.	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Gereç.....	27
3.1.1. Etilendiamintetraasetik Asit (EDTA)	27
3.2. Yöntem.....	27
3.2.1. Örneklerin Seçimi	27
3.2.2. Bakterilerin Tanımlanması ve Antimikrobiyal Duyarlılık.....	27
3.2.3. Fenotipik Testler	28
3.2.3.1. Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)	28
3.2.3.2. Kombine Disk Difüzyon Testi (KDDT)	28
3.2.3.3. Modifiye Hodge Testi (MHT)	28
3.2.3.4. Karbapenem İnaktivasyon Testi (KİT)	29
3.2.4. Moleküler Yöntemler.....	29
3.2.4.1. DNA Ekstraksiyonu	29
3.2.4.2. IMP, VIM, NDM Bölgelerinin Amplifikasyonu	29
4. BULGULAR.....	32
4.1. <i>A. baumannii</i> İzolatlarının Gönderildiği Servislerin Dağılımı	32
4.2. <i>A. baumannii</i> İzolatlarının İzole Edildiği Materyallerin Dağılımı	33
4.3. <i>A. baumannii</i> İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları	34
4.4. Fenotipik Testler	35
4.4.1. Çift Disk Sinerji Testi	35
4.4.2. Kombine Disk Difüzyon Testi	35
4.4.3. Modifiye Hodge Testi	36
4.4.4. Karbapenem İnaktivasyon Testi	36
4.4.5. Fenotipik Testlerin Karşılaştırılması	37

4.5. <i>A. baumannii</i> İzolatlarında Metallobetalaktamazın Genotipik Olarak Saptanması	37
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ	50
7. KAYNAKLAR	51



TABLO LİSTESİ

Tablo I. Betalaktamazların sınıflandırılması.....	17
Tablo II. IMP, VIM, NDM genleri primer dizisi.....	30
Tablo III. IMP, VIM, NDM PZR reaksiyon karışımı.....	30
Tablo IV. IMP, VIM, NDM PZR amplifikasyon programı.....	30
Tablo V. <i>A. baumannii</i> izolatlarının gönderildiği servislerin dağılımı	32
Tablo VI. <i>A. baumannii</i> izolatlarının izole edildiği materyallerin dağılımı	33
Tablo VII. <i>A. baumannii</i> izolatlarının direnç profili.....	34
Tablo VIII. Fenotipik testlerin pozitiflik oranları.....	37
Tablo IX. <i>A. baumannii</i> izolatlarında MBL enziminin tespiti için yapılan fenotipik ve genotipik testlerin sonuçları	38

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Metallobetalaktamaz enzimlerinin dünya çapında dağılımı	21
Şekil 2. <i>A. baumannii</i> izolatlarının gönderildiği servislerin dağılımı	32
Şekil 3. <i>A. baumannii</i> izolatlarının izole edildiği materyallerin dağılımı.....	33
Şekil 4. <i>A. baumannii</i> izolatlarının direnç profili	34
Şekil 5. Çift disk sinerji testi.....	35
Şekil 6. Kombine disk difüzyon testi	35
Şekil 7. Modifiye Hodge testi	36
Şekil 8. Karbapenem inaktivasyon testi	36
Şekil 9. IMP, VIM, NDM gen bölgelerinin PZR sonrası jel görüntüsü	37

KISALTMALAR

CLSI	: Clinical Laboratory Standards Institute
ÇDST	: Çift Disk Sinerji Testi
ÇİD	: Çoklu İlaç Direnci
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
EUCAST	: European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing
GIM	: German İmipenemase Metallobetalaktamaz
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu Betalaktamaz
KDDT	: Kombine Disk Difüzyon Testi
KİT	: Karbapenem İnaktivasyon Testi
MALDI-TOF MS	: Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry
MBL	: Metallobetalaktamaz
MDR	: Multi Drug Rezistance
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHT	: Modifiye Hodge Testi
mRNA	: mesajcı Ribonükleik Asit
NDM	: New Delhi Metallobetalaktamaz
OMP	: Outer Membran Protein
PBP	: Penisilin Bağlayan Protein
PDR	: Pan Drug Rezistance
PFGE	: Pulse Field Gel Electrophoresis
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
QS	: Quorum Sensing
RAPD	: Random Amplified Polymorphic DNA
SIM	: Seoul İmipenemase Metallobetalaktamaz
SPM	: Sao Paulo Metallobetalaktamaz
TBE	: Tris-borik asit-EDTA
tRNA	: taşıyıcı Ribonükleik Asit
TSI	: Triple Sugar Iron

VIM	: Verona İmipenemase Metallobetalaktamaz
VİP	: Ventilatör İlişkili Pnömoni
XDR	: Extreme Drug Rezistance
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi



ÖZET

Acinetobacter cinsi bakteriler nonfermentatif, oksidaz negatif, aerop gram negatif mikroorganizmalardır. Geniş spektrumlu betalaktamlar, florokinolonlar ve aminoglikozidleri de içeren çoklu ilaç dirençli izolatlar nedeniyle *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisi çoğu kez güçlükle yapılmaktadır. Bu durumda karbapenemler tercih edilecek ilaçlardır. Fakat karbapenem dirençli *Acinetobacter* izolatları dünyada gittikçe artan oranlarda bildirilmektedir.

Metallobetalaktamazlar (MBL), sınıf B betalaktamazlar olup aztreonam dışında karbapenemler de dahil tüm betalaktamları hidrolize edici kapasiteye sahiptir. Direnç yayılımını sınırlamak ve tedaviye yön vermek amacıyla karbapenem direnç tiplerinin rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında tespit edilmesi gerekmektedir. Genotipik yöntemler en güvenilir olmakla birlikte, alternatif olabilecek ucuz ve kolay fenotipik testler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu amaç doğrultusunda *Acinetobacter baumannii* izolatlarında karbapenem direncine neden olan metallobetalaktamaz varlığını tespit etmek için fenotipik ve genotipik yöntemler uygulandı.

Çalışmaya karbapenem dirençli 103 *A. baumannii* izolatı dahil edildi. Tür düzeyinde tanımlama MALDI-TOF MS (Biomeriux, Fransa) otomatize sistemle, izolatların antibiyotik duyarlılığı ise Vitek2 Compact (Biomeriux, Fransa) otomatize sistemle belirlendi. Metallobetalaktamaz tespiti için fenotipik ve genotipik yöntemler uygulandı. Fenotipik testler için çift disk sinerji testi (ÇDST), kombine disk difüzyon testi (KDDT), modifiye Hodge testi (MHT) ve karbapenem inaktivasyon testi (KİT) yapıldı. Genotipik olarak MBL üretiminden sorumlu NDM, VIM, IMP gen bölgelerini saptamak için multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yapıldı.

Fenotipik testler içinde en yüksek pozitiflik oranı %95,1 ile KİT'e aittir. KİT'i %94,1 ile ÇDST, %86,4 ile KDDT takip etmiştir. En az pozitiflik oranı %70,8 ile MHT'de saptanmıştır. Yapılan tüm PZR'lerde pozitif kontrol olarak kullanılan NDM, VIM, IMP gen bölgelerine ait bandlarda görüntü saptanmasına rağmen klinik izolatların hiçbirinde NDM, VIM, IMP gen bölgelerinde pozitiflik saptanmamıştır.

MBL üretimi fenotipik testlerde yüksek oranda saptanmasına rağmen moleküler yöntemlerle tespit edilememiştir. PZR'de daha çok sayıda gen bölgesi bakılması fenotipik testlerin güvenli bir şekilde duyarlılık ve özgüllüğünün belirlenmesini sağlar.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter*, karbapenem, metallobetalaktamaz, fenotipik, genotipik



ABSTRACT

Acinetobacter bacteria are nonfermentative, oxidase-negative, aerobic, gram-negative microorganisms. *Acinetobacter* infection treatment is frequently difficult due to multi drug resistant isolates including broad spectrum betalactam, fluoroquinolone and aminoglycoside antibiotics. In this situation preferred drug is carbapenem for *Acinetobacter* infections. However, carbapenem resistant *Acinetobacter spp.* isolation rate is increasing in the world.

Metallobetalactamases (MBL) are found in class B betalactamase, have capacity of hydrolyzing all betalactams including carbapenem antibiotics except aztreonam. Carbapenem resistant species should be detected in routine microbiology laboratory for preventing the antibiotic resistance spread and choosing best treatment. Genotypic is the most reliable method and scientists are studying for developing cheap and easy phenotypic tests alternative to genotypic. For this purpose phenotypic and genotypic methods applied to detect presence of metallobetalactamase causing carbapenem resistance on *Acinetobacter baumannii* isolates.

In this study, 103 carbapenem resistance *A. baumannii* strains are included. Species level identification and antibiotic sensitivity of strains are determined with MALDI-TOF MS (Biomeriux, France) automatised system and Vitek2 Compact (Biomeriux, France) respectively. In order to identify metallobetalactamase, phenotypic and genotypic methods are performed. For phenotypical tests; double disk synergy test (DDST), combined disk diffusion test (CDDT), modified hodge test (MHT) and carbapenemase inactivation test (CIT) are performed. Multiplex PCR is performed in order to determine NDM, VIM, IMP gene areas are responsible for production of MBL on *A. baumannii* isolates.

The maximum positive results were obtained at CIT in phenotypic tests. DDST and CDDT follow CIT with 94.1% and 86.4% positiveness ratio respectively. The minimal positiveness ratio with 70.8% is found in MHT. In all performed PCRs, images are determined on NDM, VIM, IMP gene areas bands that used for control, however in NDM, VIM, IMP genes areas of any clinical strains, positiveness are not determined. Although MBL production is determined with phenotypic methods highly, it is not determined with molecular methods. Searching more gene area on PCR provides to determine sensitivity and specificity of phenotypic tests safely.

Keywords: *Acinetobacter*, carbapenem, metalloβ-lactamases, phenotypic, genotypic



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda özellikle yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere hastane enfeksiyonlarında en sık izole edilen etkenlerin başında *Acinetobacter* cinsi bakteriler gelmektedir. Yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastalarda ventilatör ilişkili pnömonilerde giderek artan sayılarda etken olarak gösterildiği rapor edilmektedir. *Acinetobacter baumannii* çoğunlukla daha önce invazif girişim geçirmiş olan hastaları etkiler (Wisplinghoff ve ark., 2012). Bu girişimler mekanik ventilatör takılması, intravasküler veya üriner katater takılması ve önceki cerrahilerdir. Hastaneden kazanılmış pnömonilere ek olarak bakteriyemiye; idrar yolu, santral sinir sistemi, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına da yol açabilmektedirler (Peleg ve ark., 2008).

İlk *in-vitro* çalışmalarda pek çok klinik izolat ampisilin, gentamisin, kloramfenikol ve nalidiksik asit gibi sık kullanılan antimikrobiale ajanlara duyarlı bulunmuş, ancak zaman içerisinde *Acinetobacter baumannii* klinik izolatlarının direnç oranlarında artış gözlenmiştir. Günümüzde izolatların büyük bir kısmı aminopenisilinler, üreidopenisilinler, geniş spektrumlu sefalosporinler, çoğu aminoglikozidler, kinolonlar, kloramfenikol ve tetrasiklinler gibi sık kullanılan antibakteriyel ajanlara dirençlidir. Son yıllarda *Acinetobacter* türlerinde ortaya çıkan çoklu ilaç direnci (ÇİD) *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde karbapenemlerin (imipenem, meropenem) yoğun kullanımına neden olmuştur. İmipenem ve meropenem *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan en etkili geleneksel ilaçlardır. Karbapenemlerin *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanımının başlamasıyla birlikte onların neden olabileceği şu iki şeyden korkulmaktadır: Birisi bu antibiyotikleri hidrolize eden beta laktamaz insidansında artış diğeri de çoklu ilaç dirençli klonların yayılmasıdır (Martins ve ark., 2014). Günümüzde *Acinetobacter* klinik izolatlarında yüksek oranda karbapenem direnci tüm dünyada bildirilmekte, bazı izolatlar da tüm geleneksel antibiyotik ajanlara dirençli bulunmaktadır (Goic-Barisic ve Tonkic, 2009; Çiftci ve Aşık, 2011).

Direnç yayılımını sınırlamak ve tedaviye yön vermek amacıyla karbapenem direnç tiplerinin rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında tespit edilmesi gerekmektedir. Genotipik yöntemler en güvenilir olmakla birlikte, alternatif olabilecek ucuz ve kolay fenotipik testler geliştirilmeye çalışılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter*

izolatlarında karbapenem direncine neden olan MBL üretimini fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırmaktır. Bu amaç doğrultusunda MBL tayininde önerilen fenotipik testler kendi içinde karşılaştırılacak aynı zamanda polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile fenotipik testleri karşılaştırma imkanımız olacaktır.

Bakterilerde var olan direnç mekanizmalarının tespit edilmesinin uygun antibiyotik seçiminde yarar sağlayacağı ayrıca hastanelerin ampirik tedavi seçeneklerini belirlemede ve koruyucu önlemlerin alınmasına da yol gösterici olabileceği düşünölmektedir. Bu durum hastalığın daha kısa sürede tedavi edilebilmesine ve olası komplikasyonların önüne geçilmesine olanak sağlayacaktır.

Bölgemizde bu bakterinin görölme sıklığı ve antimikrobiyal direnç profilleri tespit edilerek, istatistiksel verilere ve literatüre katkıda bulunabileceğimizi düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Acinetobacter* Cinsi Bakteriler

2.1.1. Tarihçe ve Sınıflandırma

Acinetobacter ilk defa 1911 yılında Hollandalı mikrobiyolog Martinus Willem Beijerinck tarafından tanımlanmış ve *Micrococcus calcoaceticus* olarak adlandırılmıştır. Günümüze kadar birçok farklı isimle adlandırılmış, tanımlanmaları ve sınıflandırmaları oldukça karmaşık süreçlerden geçmiştir. Bilim adamları tarafından 15'in üzerinde farklı jenerik isimle adlandırılmışlardır. Bunlardan bazıları *Bacterium anitratum*, *Herellea Vaginicola/Mima polymorpha*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Micrococcus calcoaceticus*, B5W, *Moraxella glucidolytica* ve *Moraxella lwoffii*'dir (Peleg ve ark., 2008). Brisou ve Prevot'un 1954 yılında Yunanca hareketsiz anlamına gelen "Akinetos" sözcüğünden hareketle bu bakterilere '*Acinetobacter*' adının verilmesi önerisi 1968'de Baumann ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmaların ardından kabul görmüş ve 1971'de *Acinetobacter* cinsi olarak *Moraxellaceae* ailesi içinde sınıflandırmadaki yerlerini almışlardır (Baumann ve ark., 1968; Winn ve ark., 2006; Bergogne-Berezin, 2008; Peleg ve ark., 2008).

Amerikan Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezinin (Centers for Disease Control and Prevention (CDC)) sınıflamasına göre *Acinetobacter* türleri nonfermentatif gram negatif basiller içerisinde CDC Grup EO-5, CDC Grup NO-1 ve Bordetella türleri ile birlikte oksidaz negatif grup içerisinde yer alırlar (Schreckenberger ve Graevenitz, 2003). Deoksiribonükleik asit (DNA) benzerlikleri temel alınarak yapılan çalışmalarda 33 genomik tür tanımlanmış, 18 genomik türe isim verilirken diğer türler isimlendirilememiştir (Towner, 2009). Bunlardan bazıları *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. haemolyticus*, *A. junii*, *A. johnsonii*, *A. lwoffii*, *A. radiorezistens*, *A. schindleri*, *A. ursingii*'dir. DNA gruplarını klinik laboratuvarlarda fenotipik testlerle ayırt etmek güç olduğundan *Acinetobacter* türleri sakkarolitik ve asakkarolitik olarak ele alınmıştır. Glikozu okside eden, hemolitik olmayan izolatlarının birçoğu *A. baumannii*, glikoz negatif hemolitik olmayanlar *A. lwoffii*, hemolitik olanlar ise *A. haemolyticus* olarak tanımlanmıştır (Schreckenberger ve Graevenitz, 2003; Bahar ve Esen, 2008). Klinik literatürde sık rapor edilen *Acinetobacter* türleri; *A. baumannii*, *A. calcoaceticus* ve *A. lwoffii*'dir (Munoz-Price ve Weinstein, 2008). En sık ve en önemli

klirik tablolara yol açan tür ise *A. baumannii*'dir (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996).

2.1.2. Morfolojik, Metabolik ve Kültür Özellikleri

Acinetobacter cinsindeki bakteriler 1-1,5 µm x 1,5-2,5 µm boyutlarında nonfermentatif, oksidaz negatif, katalaz pozitif, indol negatif, hareketsiz, nitratları redükte etmeyen, aerop gram negatif mikroorganizmalardır (Bahar ve Esen, 2008). Kan kültür şişelerinden ve taze kültürlerinden hazırlanan yaymalarda gram pozitif boyanabilirler. Kanlı agarda sabit üreme fazında sıklıkla kokobasil formu görülürken, hücre duvarında aktif antimikrobiyal ajanları içeren plaklarda veya sıvı besiyerinde erken üreme döneminde sıklıkla basil formunda görülür. Üç şekerli demirli besiyeri (TSİ) ve oksidatif fermentatif besiyerinde asit oluşturmazlar. Flajellaları yoktur, fimbriaları vardır (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996; Towner, 1998; Bartual ve ark., 2005).

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan koyun kanlı agar, eozin-metilen blue (EMB) agar, triptik soy agar ve MacConkey besiyerlerinde kolay ürer, koyun kanlı agarda 0,5-2 mm çapında, şeffaf veya opak, zeminden kabarık koloniler oluştururken, MacConkey agarda renksiz veya hafif pembe renkte koloniler oluştururlar (Winn ve ark., 2006).

Kültürlerde bu bakterilerin izole edilmesinde kullanılabilen seçici ve ayırt edici besiyerleri geliştirilmiştir. Bu amaçla diğer mikroorganizmaların üremelerini inhibe eden safra tuzları, bromkrezol moru, laktoz, maltoz şekerlerini içeren Herellea agar, vankomisin, sefsulodin, sefradin gibi antibiyotikleri içeren Leeds *Acinetobacter* Medium ve Holton's agar kullanılmaktadır. Bakterileri dışkı gibi kontamine örneklerden izole etmek için amonyum veya nitrat tuzları içeren pH 5.5-6.0 olan sıvı mineral besiyerine 24-48 saat sallanarak yapılan inkübasyon sonrası seçici besiyerine inoküle edilerek izole etmek mümkündür (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996; Jawad ve ark., 1994).

Geleneksel yöntemlerle *Acinetobacter* tür ayrımı yapılırken; glikoza oksidatif etki, hemoliz ve 44°C'de üreyebilme yeteneği değerlendirilir. En sık karşılaştığımız türlerin ayrımına baktığımızda; glukoza oksitleyen ve hemoliz yapmayan, 44°C'de üreyebilen kökenler *A. baumannii*, glukoza oksitleyen ve hemoliz yapmayan, 37°C'de üreyebilen kökenler *A. calcoaceticus*, glukoz negatif kökenlerden hemoliz yapmayanlar *A. lwoffii*, hemoliz yapanlar ise *A. haemolyticus* olarak tanımlanmıştır (Bergogne-

Berezin ve Towner, 1996; Bonomo ve Szabo, 2006; Schreckengerge, 2008). *Acinetobacter*'ler karbon kaynaklarının asimilasyonu temeline dayanan yarı otomatize ve otomatize sistemlerle de tanımlanmakla birlikte moleküler yöntemler en duyarlı metodlardır. Protein profili, serotiplendirme, bakteriyosin ve faj tiplendirme, multilokus enzim elektroforez ile tipleme, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), ribotipleme, Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE), rastgele amplifiye polimorfik DNA analizi (RAPD) gibi yöntemlerle de tanımlanmaktadır (Seifert ve ark.,1993; Bergogne-Berezin ve Towner, 1996).

2.1.3. Virulans Faktörleri ve Patogenezi

Acinetobacter cinsine ait olan bakterilerin geçmiş yıllarda düşük virülans potansiyeline sahip olduğu düşünülmekteydi. Ancak güçlü yeni antimikrobiyal ajanların tedavide yerini alması ve hastanelerde özellikle yoğun bakım ünitelerinde invaziv işlemlerin artmasına bağlı olarak dirençli toplum ve hastane kökenli *Acinetobacter* enfeksiyonlarının prevalansında artış görülmektedir. Toplum kökenli fulminan *Acinetobacter* pnömonisinin görülmesi bu organizmaların yüksek patojeniteye sahip olabildiğini ve invaziv hastalığa yol açabileceğini göstermektedir (Doughari ve ark., 2011).

Genellikle fırsatçı hastane enfeksiyonlarına neden olurlar (Bahar ve Esen, 2008). *A. baumannii* enfeksiyonlarının önlenmesi ve tedavisinde yaşanan zorluklar; bakterinin yaygın antibiyotik direnci geliştirebilme, hastane ortamında ve tıbbi cihazlarda kısıtlı koşullar altında bile yaşayabilme yeteneğinden kaynaklanmaktadır (Towner, 2009). Potansiyel virülans etmenleri arasında aşağıdakiler sayılabilir.

a-Hücre Yüzey Özellikleri: Enfeksiyonların patogenezi bakterilerin yüzey özellikleri ve ürünleri konak dokularında hasara neden olarak önemli rol oynamaktadır. *Acinetobacter* cinsindeki lipopolisakkarid O antijeni hidrofobik özellik göstermektedir ve bakterinin hücrelere hidrofobik yüzey bileşenleri aracılığıyla tutunduğu gösterilmiştir. Polisakkarid kapsül benzeri yapılar ve ince fimbria da bu tutunmada görev almaktadır. K1 kapsül yapısının önemli bir virülans faktörü olduğu son yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Aşık, 2011).

b-Dokulara Yapışma ve Hasar Oluşturma: *A. baumannii* OmpA (AbOmpA), küçük maddelerin geçişinde rol alan, 38 kDa moleküler ağırlığına sahip bir yüzey proteini olup önceleri Omp38 olarak adlandırılmaktadır. *A. baumannii*'nin epitelyal

hücrelere yapışmasından ve invazyonundan sorumludur (Aşık, 2011).

c-Litik/Toksik Bileşik Üretimi: Lipopolisakkarid yapıların konağın immün yanıtı ve klinik semptomlar ile ilişkili virülans faktörleri olabileceği düşünülmektedir (Pantophlet, 2008). Ayrıca ürettikleri ekstraselüler enzimler lipid yıkımına neden olmaktadır (Aşık, 2011).

d-Biyofilm Oluşumu: *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturması bakteriyi bazı antimikrobiyal ajanlara karşı korumaktadır. Ayrıca biyofilm oluşumuyla hastane ortamında ve cihazların yüzeyinde uzun süre canlı kalarak özellikle kateter kaynaklı enfeksiyonlara neden olmaktadır (Can ve Azap, 2006). *A. baumannii*'nin abiyotik yüzeylerde biyofilm oluşumunu, hücrenin çevresine yayılmış aynı zamanda bakterinin hücrenel bir komponenti olan uzun filamanların sağladığı görülmüştür. Bu filamanların, bakterinin hareketsiz olmasından dolayı yüzeylere sıkıca yapışabilen tip-I pililer olduğu düşünülmektedir (Tomaras ve ark., 2008).

e-“Quorum Sensing” (QS): “Minimum popülasyon birimini algılama” olarak adlandırılan QS mekanizması ile bakteri etrafındaki popülasyon yoğunluğunu saptar ve bu bilgiyi birçok genin regülasyonunu kontrol etmekte kullanır. Bu sistem sayesinde bakteri enfeksiyon sırasında virülans faktörlerinin regülasyonu sonucu konağın immün yanıtından kaçabilir. Ayrıca davranışlarını koordine ederek besin kaynaklarına adaptasyon geliştirir ve aynı besin için yarışan diğer bakterilere karşı savaşabilir (Aşık, 2011).

f-Demir Kazanım Mekanizmaları: Bakterinin insan vücudunda üreyebilmesi için gerekli olan demiri sağlayabilme özelliği de önemli virülans etmenleri arasında yer almaktadır. *A.baumannii* izolatları, konağa kolonize olmayı sağlayan bağımsız demir kazanım sistemine ve farklı demir kaynaklarını kullanabilme yeteneğine sahiptir. Bakteriler, demir kazanım kapasitelerindeki farklılığa göre siderofor aracılı ve/veya hemin kazanım fonksiyonlarını eksprese etmektedir (Aşık, 2011).

g-Hastane Ortamında Sağkalım: Bakterinin sınırlı besin koşullarında ve kuru yüzeylerde yaşayabilme yeteneği hastane cihaz ve ekipmanlarındaki kolonizasyonun uzun süreli olmasına yol açmakta ve salgınların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. *A.baumannii*'nin, tıbbi cihazlar, yatak, eldivenler, elektrikli ekipmanlar ve tıbbi giysiler gibi abiyotik yüzeylerde günlerce hatta haftalarca yaşama yeteneğine sahip olması özellikle düşükün hastalar arasında meydana gelen nozokomiyal salgınlarda

A.baumannii'nin hastane ortamındaki inatçı sağkalımının önemini ortaya koymaktadır. Bakterinin nozokomiyal çevrelerde uzun süre canlı kalabilme yeteneğinin yanı sıra geniş antibiyotik direncine sahip olabilmesi enfeksiyonunun kontrolünü ve tedavisini güçleştirmektedir (Fournier ve Richet, 2006; Towner, 2009).

2.1.4. Epidemiyoloji

Acinetobacter türleri kuruluğa dayanıklı olmaları, farklı ısı ve pH ortamlarında canlı kalabilmeleri nedeniyle, cansız yüzeylerde günlerce canlı kalabilmektedirler. *Acinetobacter* türleri hastane havası, buhar makinesi, musluklar, yatak kenarları, tansiyon aletleri, anjiyografi kateterleri ve mekanik ventilasyon cihazlarından izole edilmiş, günlerce canlı kalabildikleri gösterilmiştir (Ayan ve ark., 2003; Allen ve Hartman, 2005). Yaşamlarını sürdürebilmek için gereksinimlerinin az olması ve çeşitli karbon kaynaklarını kullanabilme avantajı nedeniyle doğada toprak, su ve yiyeceklerde saprofit olarak serbest yaşayabilmektedirler (Dagata ve ark., 2000; Bahar ve Esen, 2008). Koltuk altı, kasık gibi nemli bölgeler başta olmak üzere derinin normal florasında, ağız boşluğunda, solunum yollarında, genitoüriner sistemde ve aşağı gastrointestinal sistemde bulunabilirler (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996; Poierel ve Nordmann, 2006). Sağlıklı insanların normal deri florasında kısa süreli düşük yoğunlukta bulunabilirken hastanede yatan hastalarda deri kolonizasyonunun %40'ın üzerinde olduğu bildirilmiştir (Hartzel ve ark., 2007). Deri taşıyıcılığı oranlarının yüksek olması hasta bakımı sırasında sağlık personelinin kontamine olmasına ve etkenin sürekli yayılmasına neden olmaktadır (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996; Bonomo ve Szabo, 2006).

Özellikle yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) yatan hastaların dışkılarında ÇİD *Acinetobacter* türleri izole edilmiş ve trakeostomili hastaların %45'inde kolonizasyon saptanmıştır (Schreckenberger ve Graevenitz, 2003; Bahar ve Esen, 2008). YBÜ'de; antibiyotik tedavisi, cerrahi girişim, yabancı cisim uygulamaları, mekanik ventilasyon, uzun süre YBÜ'de yatış risk faktörlerinden bazılarıdır (Schreckenberger ve Graevenitz, 2003).

2.1.5. *Acinetobacter* Türlerinin Neden Olduğu Enfeksiyonlar

2.1.5.1. Pnömoni

Hastane kökenli pnömoni, hastane enfeksiyonları içerisinde ikinci, yoğun bakım

enfeksiyonları içerisinde ise birinci sıklıkta yer almaktadır (Ewig ve ark., 2002). *Acinetobacter* türleri, özellikle *A. baumannii* ülkemizde yoğun bakım servislerinde en sık izole edilen gram negatif bakteriler arasındadır (Yücesoy ve ark., 2000; Lelebicioğlu ve ark., 2007). *Acinetobacter* türlerinin en sık lokalizasyonu ve en önemli kolonizasyon yeri solunum yollarıdır (Hartzel ve ark., 2007). İmmünsüpresyon, ilerlemiş yaş, kronik akciğer hastalıkları, cerrahi girişimler, gastrik ve endotrakeal tüp kullanımı risk faktörleri arasındadır. YBÜ'den yayılım kolonize sağlık personeli, eldivenler, ventilatör ekipmanları ve kontamine olmuş parenteral nutrisyon solüsyonlarla olmaktadır. Nozokomiyal *Acinetobacter* pnömonisinde sıklıkla multilober tutulum, kavitasyon, plevral efüzyon ve bronkoplevral fistül oluşumu görülmektedir (Allen ve Hartmann, 2009).

Mekanik ventilatör uygulanan hastalarda ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) gelişme riski %28-85'dir. Hastane enfeksiyonları arasında en yüksek mortalite oranının VİP'ye (%24-71) ait olduğu, özellikle *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* gibi dirençli etkenlerin neden olduğu VİP'lerde uygunsuz tedavi ile bu oranın %91'e ulaşabileceği de bildirilmektedir (Karaca ve ark., 2005).

2.1.5.2. Bakteriyemi

Acinetobacter türleri içinde en sık enfeksiyona sebep olan *A.baumannii* olup neden olduğu enfeksiyonların çoğu kan dolaşımı enfeksiyonlarıdır. Bakteriyemi sıklıkla hastaneye yatışın ikinci haftasında, kateter enfeksiyonu veya pnömoniye sekonder gelişir. Üriner sistem enfeksiyonları, yaralar ve abdominal enfeksiyonlar daha az sıklıkta kaynak oluşturur (Allen ve Hartman, 2005). Hastane kökenli primer bakteriyemilerin yaklaşık %87'sinin santral kateterlerle ilişkili olduğu, kateterin izolasyondan sonra 48-72 saat içerisinde çıkarılmasının, gram negatif bakterilerle gelişen tekrarlayan bakteriyemi olasılığını engellediği bildirilmiştir (Richards ve ark., 2000; Hanna ve ark., 2004). Mortalite %17-46 arasında bildirilmekte, polimikrobiyal olgularda mortalite artarken *A. baumannii* dışındaki türlerle gelişen enfeksiyonlarda daha düşük seyretmektedir (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996; Allen ve Hartmann, 2009).

Yetişkinlerde immün sistemi baskılanmış yaşlı hastalar en büyük grubu oluşturmaktadır. Malignansiler, travma ve yanık en yaygın predispozan faktörler olarak görülmektedir. Malignitelere ve yanıkta kötü olan prognoz, travma hastalarında daha

iyi seyrederek (Seifert ve ark., 1993). Yenidoğanlar ikinci önemli hasta grubunu oluşturmakla beraber yenidoğan septisemi için risk faktörleri mekanik ventilasyon, düşük doğum ağırlığı, öncesinde antibiyotik kullanımı ve yeni doğan konvülsiyonlarının varlığı olarak saptanmıştır (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996). Bakteriyeimli yenidoğanların %30'unda septik şok görülebilmektedir (Allen ve Hartmann, 2009).

2.1.5.3. Menenjit

Primer menenjitli vakalar görülmekle birlikte özellikle beyin cerrahisi uygulamaları ve beyin travması sonrası gelişen sekonder menenjit olguları daha sık görülmektedir (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996). Sıklıkla konvülsiyon ve mental durumda bozulma gözlenirken, ense sertliği daha az görülmektedir. Beyin-omurilik sıvısı fistülleri, serebrospinal sıvı kaçağı, ventrikülostomi, beş günden uzun süreli tutulan ventriküler kateterler ve yoğun bakım ünitelerinde aşırı antibiyotik kullanımı sıklıkla karşılaşılan risk faktörlerdendir. Diğer *Acinetobacter* türleri ile kıyaslandığında en sık menenjit nedeninin *A. lwoffii* olduğu bildirilmiştir (Visca ve ark., 2001). *Acinetobacter* nozokomiyal menenjitinde beyin omurilik sıvısı pürülan özelliğindedir. Mortalite oranı %20-27 arasında bildirilmekle birlikte (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996; Allen ve Hartman, 2009). ÇİD *A. baumannii* menenjitlerinde mortalitenin %70'lerin üzerine çıktığını bildiren yayınlar mevcuttur (Metan ve ark., 2007).

2.1.5.4. Üriner Sistem Enfeksiyonları

Acinetobacter türleri genel olarak idrar yollarında enfeksiyon oluşturmadan kolonize olurlar ve hastane kökenli üriner sistem enfeksiyonlarına nadiren sebep olurlar. Bu sebeple üriner kateter taşıyan hastalardan izole edilen her *Acinetobacter* gerçek enfeksiyon etkeni olmayabilir, enfeksiyon/kolonizasyon ayrımının yapılması gerekmektedir. Türkiye'de gerçekleştirilen çok merkezli bir çalışmada kateter ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarında *Acinetobacter* kökenlerinin görülme oranının %7,5 olduğu bildirilmiştir (Leblebicioğlu ve ark., 2007). Genellikle immün sistemi baskılanmış, sürekli üriner kateteri olan, yaşlı ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda görülür. Prostat büyümesi nedeniyle sürekli kateter kullanımında yüksek prevalansa sahip oldukları için erkeklerde daha çok görülür (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996; Başustaoglu ve Özyurt, 1998; Schreckenberger ve ark., 2008).

2.1.5.5. Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Bağışıklık sisteminin baskılanması, damar içi kateter uygulamaları, travmatik yaralar, yanık, cerrahi insizyon bölgeleri başlıca risk faktörleridir (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996). Travmatik yaralar, yanıklar ve postoperatif insizyonlar *Acinetobacter* türleri ile kolonize olabilir (Allen ve Hartman, 2009).

2.1.5.6. Diğer Enfeksiyonlar

Devamlı peritoneal diyaliz olan hastalarda peritonite neden olabilmektedir. Hastaların çoğu antibiyotik tedavisine yanıt verdiğinden diyalizi sonlandırmaya gerek kalmamaktadır (Valdez ve ark., 1991). Ayrıca karaciğer ve pankreas apseleri, gözde lens kontaminasyonu sonrası konjunktivit, endoftalmit, keratit, korneal ülserasyon ve perforasyon, kemik iliği transplantasyonu sonrası nadiren de olsa osteomyelit ve septik artrit vakaları bildirilmektedir (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996; Bahar ve Esen, 2008).

2.1.6. *Acinetobacter* Türlerinin Neden Olduğu Enfeksiyonların Tedavisi

Geniş spektrumlu antibiyotiklerin yoğun ve gereksiz bir şekilde kullanılması dirençli enfeksiyon sayısında artışa sebep olmuştur. *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde genellikle karbapenemler, üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinler, β -laktam- β -laktamaz inhibitör kombinasyonları, kombinasyonla veya tek başına aminoglikozitler, kinolonlar, kloramfenikol, rifampisin, trimetoprim-sülfametoksazol, doksisisiklin ve kolistin kullanılan etkili antimikrobiyal ajanlardır (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996; Schreckenberger ve ark., 2008). Bakterinin tedavi esnasında hızla direnç geliştirebilme olasılığı ve tedavide yeterince başarı sağlanamaması nedeniyle kombinasyon tedavileri önerilmektedir. En sık tercih edilen kombinasyon, düşük direnç oranları ve in vitro sinerji göstermesinden dolayı imipenem+aminoglikozid, seftazidim+aminoglikozid veya florokinolon, imipenem+siprofloksasin, sefoperozon+sulbaktam kombinasyonlarıdır (Marques ve ark., 1997).

Kinolon, sefalosporin ve karbapenem gibi antibiyotik sınıflarından üçüne veya daha fazlasına direnç MDR; kolistin, tigesiklin ve aminoglikozitler hariç tüm antibiyotiklere direnç pan-drug-rezistance (PDR) ve tüm mevcut antimikrobiyal ajanlara direnç extreme-drug-rezistance (XDR) olarak tanımlanmıştır (Paterson ve Doi, 2007; Paterson ve Lipman, 2007; Falagas ve Karageorgopoulos, 2008).

Karbapenemler önceleri *Acinetobacter* enfeksiyonlarında etkili bir şekilde kullanılırken direnç gelişimi sebebiyle kullanımı kısıtlanmıştır. Direnç gelişen imipenem ve meropenem haricinde doripenem gibi yeni karbapenem türevlerinin kullanılması gündeme gelmiştir. Karbapenem-amikasin kombinasyonunun MDR *A. baumannii* enfeksiyonlarının %38-46'sında etkili olduğu bildirilmiştir. İmipenem-sulbaktam kombinasyonunun MDR *A. baumannii*'ye karşı sinerjistik etkiye sahip olduğu ve zamana bağlı olarak bakteriyostatik yahut bakterisidal etkinliğinin olduğu bildirilmiştir (Ermertcan ve ark., 2001). Direnç sorunu nedeniyle kolistine olan ilgi artmıştır (Saltoğlu, 2007). Song ve ark. yapmış oldukları çalışmalarında elde edilen bütün *Acinetobacter* izolatlarının kolistine duyarlı olduğunu tüm karbapenem dirençli izolatlar için kolistin bakterisidal etkili olduğunu saptamışlardır (Song ve ark., 2007).

Dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisi oldukça zordur ve uygun ampirik tedavi başlama oranları düşüktür. Uygun ampirik tedavi başlanmayınca mortalite oranları artmaktadır ve tedaviden sonra kültür sonucuna göre uygun tedaviye geçilmesi bile olumsuz sonucu değiştirmemektedir (Garnacho-Montero ve ark, 2005; Erbay ve ark. 2009).

2.1.7. *Acinetobacter* Türlerinde Antibiyotik Direnci ve Mekanizmaları

İlk *in-vitro* çalışmalarda pek çok klinik izolat ampisilin, gentamisin, kloramfenikol ve nalidiksik asit gibi sık kullanılan antimikrobial ajanlara duyarlı bulunmuş, ancak zaman içerisinde *A. baumannii* kompleksine ait klinik izolatların direnç oranlarında artış gözlenmiştir. Günümüzde izolatların büyük bir kısmı aminopenisilinler, üreidopenisilinler, geniş spektrumlu sefalosporinler, çoğu aminoglikozidler, kinolonlar, kloramfenikol ve tetrasiklinler gibi sık kullanılan antibakteriyel ajanlara dirençlidir. Son yıllarda *Acinetobacter* türlerinde ortaya çıkan ÇİD *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde karbapenemlerin (imipenem, meropenem) yoğun kullanımına neden olmuştur. Ancak, günümüzde *Acinetobacter* klinik izolatlarında yüksek oranda karbapenem direnci tüm dünyadan bildirilmekte, bazı izolatlar da tüm geleneksel antibiyotik ajanlara dirençli bulunmaktadır (Goic-Barisic ve Tonkic, 2009; Çiftci ve Aşık, 2011).

Nozokomiyal *Acinetobacter* izolatlarının direnç mekanizmaları sıklıkla beta laktamaz üretimi, efluks pompası ve porinlerdeki değişikliklerdir. Ayrıca antibiyotikleri değiştiren enzimler, hedef bölge mutasyonları, ribozomal mutasyonlar veya

değişiklikler, metabolik bypass mekanizmaları ve lipopolisakkaritteki mutasyonlar bilinen diğer antibiyotik direnç mekanizmalarıdır (Lee ve ark., 2010).

2.1.7.1. Aminoglikozid Direnci

Aminoglikozidler ribozomun hem 30S hem de 50S alt ünitelerine bağlanarak (sadece streptomisin 30S'e bağlanır) mRNA (mesajcı ribonükleik asit) daki genetik bilginin yanlış okunmasına, buna bağlı olarak bakterinin protein sentezinin durmasına veya yanlış protein sentezlenmesine sebep olur. Dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarında kombine tedavide kullanılmaktadır. Aerop gram-negatif basillere bakterisidal etki gösterirken gram pozitif bakterilere etkisi kısıtlıdır (Kayaalp, 2009).

Acinetobacter türlerinde aminoglikozid direnci çoğunlukla asetiltransferaz, adenil-transferaz ve fosfotransferaz olarak tanımlanan aminoglikozid modifiye edici enzimlerle gelişir. Ayrıca *Acinetobacter haemolyticus* ve ilişkili genomik gruplar doğal N-asetil-transferazlar sentezi ile doğal olarak aminoglikozidlere dirençlidir. Hedef ribozomal protein değişiklikleri ve aminoglikozidlerin hücre içine taşınımı ile ilişkili değişiklikler diğer aminoglikozid direnç mekanizmalarıdır (Shi ve ark., 2005; Gordon ve Vareham, 2010). Aminoglikozid direnç genleri plazmidler, transpozonlar ya da sınıf-1 integronlarla bağlantılıdır (Seward ve ark., 1998). Bu genlerin ekspresyonu farklı aminoglikozidlere karşı değişken duyarlılıklara yol açar. Amikasin ve netilmisin sadece asetilazlar tarafından inaktive edildikleri diğer enzimlere dirençli oldukları için aminoglikozidler içinde en geniş antibakteriyel etki spektrumuna sahiptirler (Gür, 1996). Ayrıca dirençten sorumlu genlerin ve aminoglikozid modifiye edici enzimlerin aynı zamanda diğer gram negatif bakteri cinslerinde de bulunduğu, bu genlerin ve enzimlerin spesifik olmadığı vurgulanmıştır (Nemec ve ark., 2004).

2.1.7.2. Tetrasiklin Direnci

Bakteri hücresinde ribozomların 30S alt ünitesinde tRNA'nın (taşıyıcı ribonükleik asit) bağlanacağı yere geri dönüşümlü bir şekilde bağlanarak protein sentezini durdururlar. Terapotik dozlarda bakteriyostatik etkilidirler. Tetrasiklinlerin kullanım alanı geniş olup riketsiya, klamidya, spiroketler ve mikoplazma türleri dahil olmak üzere gram-pozitif ve gram-negatif, aerop ve anaerop bakterilere etkilidir (Çokça, 2008).

Tetrasiklin dirençli bakteriler genellikle ribozomal koruma sistemi veya efluks

pompası direnç mekanizmasından birine sahiptir. Tetrasiklin direnci için tetA'dan tetE'ye kadar farklı genler tanımlanmıştır ve en sık rastlanan tetrasiklin direnç genleri tetA ve tetB'dir. Bu genler genellikle plazmid veya transpozonla ilişkilidir ve genellikle nonspesifik efluks pompası geni adeB ile kombine olarak bulunurlar (Huys ve ark., 2005).

Tetrasiklin ailesinin yeni üyesi bir glisilsiklin türevi olan tigesiklin gram pozitif ve negatif bakterilere aynı zamanda karbapenemaz üreten *Acinetobacter* izolatlarına karşı etkili bulunmuştur. Ribozomlar üzerine tetrasiklinlerle aynı bağlanma bölgesine sahip olmasına rağmen tetrasiklinler için sözü edilen direnç mekanizmalarından etkilenmemektedir. Ancak son dönem yayınlarda tigesiklin için de %10 düzeylerine varan direnç bildirilmeye başlanmıştır. Komplike deri, yumuşak doku enfeksiyonları, intraabdominal enfeksiyonlarda etkili olan tigesiklinin idrarla atılımı düşük olduğu için üriner sistem enfeksiyonlarında kullanımı önerilmemektedir (Livermore, 2005; Çalık ve Akova, 2007).

2.1.7.3. Kinolon Direnci

Bakterilerde DNA replikasyonunda görev alan topoizomeraz II (DNA giraz) ve topoizomeraz IV'ü inhibe ederek DNA sentezini durdururlar. Konsantrasyona bağlı olarak bakterisidal etki gösteren kinolonların gram pozitif bakterilerde birincil hedefi topoizomeraz IV, gram negatif bakterilerde ise DNA girazdır (Hooper, 2000). Kinolonlarda direnç; sıklıkla DNA giraz (topoizomeraz II) veya topoizomeraz IV'ün yapısal değişikliğini içerir. DNA giraz sırasıyla gyrA ve gyrB genleri tarafından kodlanan iki A subüniti ve iki B subünitinden, topoizomeraz IV de sırasıyla parC ve parE genleri tarafından kodlanan iki subünitten oluşur. *A. baumannii*'de en sık karşılaşılan kinolon direnci mutasyon tipi gyrA'nın 83. kodonunda Ser yerine Leu değişimidir ve siprofloksasinin MİK değerinin >4 mg/L olmasına neden olur. Siprofloksasine yüksek direnç (MİK >64 mg/L) genellikle gyrA ve parC genlerinde çiftli mutasyon gerektirir. İlaç permeabilitesinde ve/veya efluks pompasındaki değişiklikler de direnç oluşumuna neden olabilmektedir. Dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarının kombine tedavisinde siprofloksasin ve levofloksasin kullanılmaktadır (Lee ve ark., 2005; Vila ve ark., 1997).

2.1.7.4. Polimiksin Direnci

Polimiksinler hemen hemen tüm gram negatif basillere etkili polipeptit yapıda antibiyotiklerdir. Gram negatif basillerin hücre membranlarına bağlanır ve membranı çok geçirgen yaparak bakterinin ölümüne yol açarlar. Kolistin direncindeki olası mekanizma *A. baumannii*'nin lipopolisakkaritindeki modifikasyon olarak düşünülmektedir (Van ve ark., 2004; Perez ve ark., 2007). Kolistinin etki mekanizması konsantrasyona bağımlı olarak gerçekleşmektedir. Kolistin 1940'larda bulunmuştur fakat nefrotoksisite ve nörotoksisitesinden dolayı sistemik olarak kullanılmamıştır. Son yıllarda ÇİD *A. baumannii* enfeksiyonlarında özellikle de kolistin dışındaki tüm antibiyotiklere dirençli *A. baumannii* enfeksiyonların tedavisinde diğer antibiyotiklerle kombine edilerek kullanılmaktadır (Akalin, 2007).

2.1.7.5. Beta-Laktam Direnci

Beta-laktam grubu antibiyotikler geniş etki spektrumlarının yanı sıra güvenli olmaları nedeniyle en çok kullanılan antibakteriyel ajanlardır. Bakterisidal etkili olup bakterinin peptidoglikan sentezinde görevli olan karboksipeptidaz ve transpeptidazlarını inhibe ederek hücre duvar sentezini durdururlar. Bu enzimler penisilin bağlayan protein (PBP) olarak adlandırılır ve bakteride çok sayıda PBP bulunur. Hücre duvarı sentezini inhibe ettiğinden dolayı çoğalmakta olan bakterilere etki ederler. Beta-laktam antibiyotikler penisilinler, beta-laktamaz inhibitörleri, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler olmak üzere 5 grupta toplanırlar (Akova ve Kayaalp, 2009). *A. baumannii*'ye karşı en etkili beta-laktam antibiyotikler seftazidim ve karbapenemlerdir (Ruiz, 2003).

Bu grup antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılmasına bağlı olarak direnç oranları da giderek artmaktadır. Beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç oluşumuna neden olan mekanizmalar;

Penisilin bağlayan proteinlerde oluşan değişiklikler: PBP'deki değişiklikler kromozomal mutasyonlara bağlı olarak üç farklı mekanizma ile meydana gelebilmektedir (Lanbaran, 2001). Beta-laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP'lerin edinilmesi, PBP'lerin beta-laktam antibiyotiklere afinitelerinin azalması, PBP sayısında azalma ile direnç oluşabilmektedir (Clark ve ark., 2003; Ferrara, 2006). Bu tip direnç esas olarak gram pozitif bakterilerde görülmekle beraber *Acinetobacter* türlerinde de tanımlanmıştır (Livermore, 1995).

Dış membran porin proteinlerinde azalma veya atım pompalarındaki değişiklikler: Beta-laktamların çoğu suda eriyebilen moleküller olduğundan lipid yapıdaki gram negatif bakteri dış membranını geçemezler. Beta-laktam antibiyotikler gram-negatif bakterilerde bulunan dış membran proteini (Outer Membran Protein (OMP)) adı verilen, porin proteinlerinin oluşturduğu içleri su dolu porlar aracılığıyla hücre içerisine geçmektedirler (Livermore, 1995). Porin proteinlerinin sayısını değiştiren mutasyonlar beta-laktam antibiyotiklere direnç gelişimine neden olabilmektedir (Lanbaran, 2001). Antibiyotiğin yük, çözünürlük, büyüklük gibi özellikleri ile bakterilerdeki porinlerin sayısı ve özellikleri antibiyotiğin bakteri içine giriş hızını belirler. Bakteriler enerji kullanarak antibiyotikleri hücre içi yoğunluklarını azaltmak için atım pompaları ile dışarı atarlar. Antibiyotiklere duyarlı ve dirençli tüm mikroorganizmalarda atım pompaları bulunmakta mutasyonlar sonucunda antibiyotiklere direnç oluşturmaktadır (Hancock, 1998).

Beta-laktamaz enzimleri: Beta-laktam antibiyotiklerin β -laktam halkasındaki amid bağlarını parçalayarak antibakteriyel etkisini ortadan kaldıran enzimler beta-laktamaz olarak adlandırılır (Güler ve ark., 2008). *Acinetobacter* kökenlerinde beta-laktam antibiyotiklere karşı en sık kullandığı direnç mekanizması beta-laktamaz üretimidir. Beta-laktamazların sentezi kromozom, plazmid veya transpozon kontrolündedir (Bou ve ark., 2000). Gram negatif bakterilerde beta-laktamaz enzimleri gram pozitif bakterilere göre daha yaygın ve çeşitlidir. Günümüze kadar 350'ye yakın beta-laktamaz tanımlanması beta-laktamaz enzimlerini sınıflandırılmayı zorunlu kılmıştır. Günümüzde beta-laktamazların sınıflandırmasında en çok Ambler ve Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırmaları kullanılmaktadır. Ambler beta-laktamazları moleküler yapılarına göre sınıflandırır. Ambler sınıflamasına göre:

Sınıf A: Penisilinleri hidrolize eder, aktif bölgelerinde serin aminoasiti taşırlar. Çoğu plazmidlerle taşınırlar. Gram negatif basillerde oldukça yaygın bulunan TEM-1 beta-laktamaz bu gruba örnektir.

Sınıf B: Aktif bölgelerinde Zn^{+2} bağımlı "thiol" grubu bulunan metallobetalaktamazlardır.

Sınıf C: Aktif bölgelerinde serin bulunan, büyük moleküler ağırlıklı sefalosporinazlardır. Tersiyer yapıları PBP'lere kuvvetli benzerlik gösterir, kromozomal AmpC geni tarafından kodlandıkları için AmpC tipi enzimler olarak da adlandırılırlar.

Sınıf D: Oksasilini hidroliz eden serin beta-laktamazlardan oluşur.
Bush-Jacoby-Mederios 1995 yılında biyokimyasal özellikler ve substrat profillerine göre sınıflandırmışlardır ve günümüzde de güncellenerek bu sınıflama kullanılmaktadır (Bush ve Jacoby, 2010).

Betalaktamazların sınıflandırması tablo I'de gösterilmektedir



Tablo I. Betalaktamazların sınıflandırılması (Bush ve Jacoby, 2010).

Bush-Jacoby-Medeiros sınıflaması	Alt grup	Ambler Sınıflaması	Özellikler
Grup 1 Sefalosporinazlar (Klavulanik asitle inhibe olmaz)		C	Gram (-) bakterilerdeki kromozomal enzimler (AmpC) Karbapenem hariç tüm beta laktamlara dirençli
	1e	C	Seftazidime yüksek afinite
Grup 2 Penisilinazlar (Klavulanik asit ile inhibe olur)	2a	A	Gram (+) bakterilerdeki penisilinazlar
	2b	A	Gr (-) bakterilerdeki geniş spektrumlu beta-laktamazlar. (TEM-1, TEM-2, SHV-1) Tikarsilin, ampisilin, karbenisilin, sefalotine direnç
	2be	A	Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (TEM,SHV türevleri, PER-1, CTX-M..) Tikarsilin, ampisilin, karbenisilin, sefalotin, seftazidim, seftriakson, sefotaksim, aztreonam direnci
	2br	A	TEM-30, SHV-10 Klavulanik asit, sulbaktam, tazobaktam dirençli
	2ber	A	TEM-50, Klavulanik asit, sulbaktam, tazobaktam seftazidim, sefotaksim, seftriakson, aztreonam direnci
	2c	A	PSE-1, CARB-3 Karbenisilini hidrolize eder
	2ce	A	RTG-4, CARB-10 Karbenisilin, sefepim, sefpiromu hidrolize eder
	2d	D	OXA-1,OXA-10 Oksasilin ve kloksasilini hidrolize eder
	2de	D	OXA-11, OXA-15 Oksasilin ve kloksasilini hidrolize eder ek olarak seftazidim, seftriakson, sefotaksim, aztreonam direnci
	2df	D	OXA-23, OXA-48 Oksasilin ve kloksasilini hidrolize etmesineler olarak karbapenem hidrolizi
	2e	A	CEP-A Klavulanik asit ile inhibe olan sefalosporinazlar
	2f	A	KPC Karbapenem, seftazidim, seftriakson, sefotaksim, aztreonam, sefamisin direnci
Grup 3 Metallobetalaktamazlar	3a	B	IMP, VIM , NDM, SIM, SPM, GIM Çinko bağımlı karbapenemazlar Karbapenem hidrolizi yüksek Monobaktam hidrolizi zayıf Metal iyonu şelatörleri ile inhibe olurlar Klavulanik asit ve tazobaktamla inhibe olmaz
Grup 4	-	Diğer gruplara girmeyen enzimler	Grup 4

Bush grup 1 veya moleküler sınıf C enzimler (Amp C beta laktamazlar)

Gram negatif basillerde yaygın olarak bulunan, indüklenebilen, klavulonik asit ile inhibe olmayan sefalosporinazlardır. Birçoğu kromozomal enzimlerdir ancak plazmidlerce de kodlanır. Kromozomal Amp C enzimleri, plazmid kontrolündeki FOX-1, LAT-1, MIR-1, BIL-1 beta-laktamazları bu grupta yer alır. Aztreonam, kloksasilin ve karbapenem grubu antibiyotiklere karşı duyarlıdırlar. *E. coli*, *P. mirabilis* ve *Shigella* türlerinde düşük düzeyde sentezlenen yapısal enzimler vardır. *Enterobacter* türleri, *P. aeruginosa*, *C. freundii*, *Serratia* türleri, *M. morgani*, *P. rettgeri*'de sentezlenen betalaktamazlar indüklenebilir türdendir (Yorgancıgil 1999; Gür, 2005). Bu enzimler bakteri tarafından düşük düzeyde sentezlenirken ortama bir penisilin ya da sefalosporin eklenmesiyle enzim sentezi indüklenip birkaç yüz kat artış gösterebilir. Enzim sentezi indükleyici beta-laktamın ortamdaki uzaklaşmasıyla tekrar bazal düzeylere iner. Ancak bu enzimleri sürekli yüksek düzeyde sentezleyen mutant izolatlar doğada bulunur. Bu izolatların enfeksiyonları sırasında indükleyici bir antibiyotik kullanılması duyarlı bakterilerin ortadan kalkması ve dirençli mutant izolatların çoğalmasıyla sonuçlanır (Livermore, 1995; Gür, 1997).

Bush grup 2 veya moleküler sınıf A, D beta laktamazlar:

Bu betalaktamazlar penisilinleri, sefalosporinleri, kloksasilini, karbenesilini, karbapenemleri ve monobaktamları hidroliz etmelerine göre 6'ya ayrılır ve beta-laktamazlar içinde en büyük grubu oluşturur.

2a: Penisilini hidrolize eden klavulonik asit ile inhibe olan enzimlerdir. Gram-pozitif bakterilerin penisilinazlarının bir çoğu bu grupta yer almaktadır *S. aureus*, *B. cereus*, *Clostridium* türleri, *Citrobacter amalonaticus*, *Eikenella corrodens* ve *Fusobacterium nucleatum*'da tanımlanan enzimler bu gruptadır (Bush ve ark., 1995).

2b: Penisilin ve sefalosporinleri hidrolize eden, klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı beta-laktamazlardır. Enterobacteriaceae ailesinde yaygın olarak bulunan plazmid kontrolünde olan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri bu grupta yer alan "geniş spektrumlu" enzimlerdir. Bu üç enzimde ampisilin, amoksisilin ve karboksipenisilinlere direnç oluşturdukları için geniş spektrumlu denilmiştir. Geniş spektrumlu sefalosporinlere, monobaktamlara ve karbapenemlere sınırlı etki gösterirler veya etkisizdirler (Livermore, 1995).

2be: Genişlemiş spektrumlu betalaktamazları (extended spektrumbeta-

lactamases; ESBL) içeren gruptur. TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimlerin moleküler yapısında 1-4 amino asit değişikliği ile geliştirilen yeni TEM ve SHV enzimleridir (Yuluğ, 1997). *Klebsiella* ve *E. coli* izolatlarında yaygın görülür. Penisilinler ve sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, seftizoksim, seftazidim, sefpirom ve sefepim gibi oksiminio-aminotiazolil sefalosporinleri hidroliz ederler. Beta laktamaz inhibitörleri, karbapenemler ve sefamisinler bu enzimlere dayanıklıdır. Bu grupta yer alan enzimlerden biri olan PER-1 enzimi ilk kez Türkiye’den bildirilen bakteriyel izolatlarda saptanmıştır (Danel ve ark., 1995; Vahapoğlu ve ark., 1995).

2br: Genişlemiş spektrumlu betalaktamazlardan (GSBL=ESBL) bir-iki aminoasit değişikliği ile ortaya çıkmakla birlikte GSBL aktivitesi içermemektedirler. TEM-30 dan TEM-36’ya kadar olan TEM enzimleri ile TRC-1 enzimini kapsar. Klavulanik asitten etkilenmezler.

2c: Bu grup içinde karbenisilini hidroliz eden, klavulanik asite duyarlı enzimler bulunmaktadır. *P. aeruginosa*’nın CARB-3, CARB-4 enzimleri, *Moraxella catarrhalis*’in BRO-1 ve BRO-2 enzimleri, *Aeromonas hydrophilia*’nın ER-1enzimi, *V.cholerae*’nin SAR-1 enzimi ile PSE-1, PSE-3, PSE-4 beta-laktamazları bu gruptadır.

2d: Bu grupta, moleküler sınıf D’de yer alan OXA grubu enzimler bulunur. Oksasilini klasik penisilinlerden daha hızlı hidrolize etmelerinden dolayı oksasilinazlar olarak adlandırılan bu grup amoksisilin, metisilin, cefaloridin ve cefalotini hidrolize ederler ve genellikle klavulonik asit ile inhibe olurlar. OXA-1’den OXA-10’a kadar olanlar dar spektrumludurlar. Bunlardan OXA-11 enzimi, Türkiye’de izole edilen bir izolatta saptanmıştır. *A. baumannii*’nin karbapenem direncinden en sık OXA-23 sorumludur (Adams-Haduch ve ark., 2008). *A. baumannii*’de OXA-58 eksprese olduğunda karbapenemlere duyarlılık azalmakta, aşırı eksprese olduğunda ise yüksek karbapenem direnci gelişmektedir (Heritier ve ark., 2005).

2e: Bu grup enzimler düşük konsantrasyonda klavulonik asit ile inhibe olan sefalosporinazları içermektedir (Bush ve ark., 1995).

2f: Karbapenemleri hidrolize eder, klavulanik asitle inhibe olurlar. Bu gruptaki karbapenemazlar, imipeneme meropenemden daha fazla direnç oluştururlar (Bush ve ark., 1995).

Bush grup 3 veya moleküler sınıf B beta laktamazlar (Metallobetalaktamazlar):

Bu grupta aktivite için metal iyonuna (çinko) gereksinim duyan metallobetalaktamazlar yer almaktadır. Geniş ve dar spektrumlu penisilin ve sefalosporinlere ek olarak karbapenemler dahil monobaktamlar dışında tüm betalaktamları hidroliz edebilirler. EDTA ile inhibe olurken betalaktamaz inhibitörleri ile inhibe olmazlar (Watanabe ve ark., 1991).

Bush grup 4 beta laktamazlar:

Klavulanik asit ile inhibe olmayan penisilinazları içermektedir. Henüz dizi analizi yapılmamış, yapıları tam olarak saptanamamıştır. *E. coli*'nin plazmid kontrolündeki SAR-2 beta-laktamazı dışında hepsi kromozomaldir. *B. fragilis*, *A. faecalis*, *C. jejuni*'den izole edilen enzimler, *Clostridium butyricum*'un indüklenebilen enzimi ve *Pseudomonas cepacia*'daki beta-laktamazlar bu gruptadır.

2.1.8. Metallobetalaktamazlar (MBL)

MBL enzimleri hem kromozomal hem de plazmid kökenli çinko bağımlı enzimlerdir. Aktif bölgelerindeki çinko iyonu aracılığıyla karbapenemleri hidrolize ettikleri için karbapenemazlar olarak adlandırılırlar (Bush ve ark., 1995). MBL tüm karbapenemazlar içinde en çok moleküler çeşitliliğe sahip olan ve en fazla klinik tehdit oluşturan gruptur. *Acinetobacter* türlerinde, *P. aeruginosa*'da ve günümüzde Enterobacteriaceae'da yaygın olarak bulunurlar. MBL'ler karbapenemleri hidrolize etmekle birlikte betalaktamaz inhibitörlerine dirençli ancak metal iyon şelatörlerine duyarlı olmaları ile karakterizedirler. MBL'lerin çoğunluğu, penisilinler, genişlemiş spektrumlu sefalosporinler (sefotaksim, seftazidim, sefepim) ve karbapenemleri (imipenem, meropenem) hidrolize eder. MBL, aztreonem dışında tüm betalaktamları hidrolize edebilirler (Queenon ve Bush, 2007; Page ve Badarau, 2008). Son yıllarda MBL aracılı direncin çeşitli patolojik izolatlarda ortaya çıkması, plazmid ve integron kaynaklı genetik elementlerle horizontal transfer yoluyla hızlı yayılımı, betalaktam antibiyotik tedavilerine karşı büyük potansiyel tehdit oluşturmaktadır. En yaygın metallobetalaktamaz aileleri olan VIM, IMP, GIM, SIM enzimleri çeşitli integron yapılarında lokalizedir. Plazmidler veya transpozonlar ile ilişkili olan bu integronlar, bakteriler arasında kolaylıkla transfer olabilirler (Walsh, 2008).

Metallobetalaktamaz enzimlerinin dünya çapındaki dağılımı Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Metallobetalaktamaz enzimlerinin dünya çapında dağılımı (Cornaglia ve ark., 2011).

İlk MBL enzimi olan IMP-1, 1988 yılında, Japonya’da bir *P. aeruginosa* kökeninde tespit edilmiştir (Watanabe ve ark., 1991). Bu direnç genleri diğer *Pseudomonas* izolatlarına kolaylıkla hareket edebilen aktarılabılır bir konjugatif plazmid üzerinde bulunmuştur. Aynı gen üç yıl sonra Japonya’da Okazaki’de bir idrar yolu enfeksiyonundan izole edilen *Serratia marcescens* Tn9106 izolatında, ondan 2 yıl sonra da Okazaki şehrine yakın bulunan Anjyo şehrindeki bir hastaneden *S. marcescens* AK9373 izolatında tespit edilmiştir. Anjyo şehrinde tespit edilen IMP-1 geni (IMP-1) *aac(6’)*Ib-benzeri gene komşu olan sınıf 3 integron içindedir ve büyük bir plazmid (120 kb) üzerinde bulunmuştur (Walsh ve ark., 2005). Farklı coğrafik bölgelerde yapılan çalışmalarda IMP-1 geninin farklı kökenlerde olduğu tespit edilmiştir (Ito ve ark 1995, Senda ve ark., 1996). IMP-1 geni taşıyan bu izolatların imipenem minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin 2 µg/ml’den 128 µg/ml’e kadar çeşitlilik gösterdiği tespit edilmiştir (Walsh ve ark., 2005).

İtalya’da 1997 yılında IMP-2 enzimi, Hong Kong’da 1994-1998 yılları arasında IMP-4 enzimi, Portekiz’de 1998 yılında IMP-5 enzimi, 1995-1999 yılları arasında Kanada’da IMP-7 enzimi, 1998’de Tayvan’da IMP-8 enzimi bir *K. pneumoniae*’da sınıf 1 integronda bildirilmiştir. IMP tipi MBL bildirimleri günümüze kadar artan oranlarda bildirilmeye devam etmiştir (Yann ve ark., 2001; Cornaglia ve ark., 2011).

İntegron ilişkili MBL'lerin yaygın bulunan diğer bir ailesi, VIM enzimleridir. VIM-1 (Verona integronla kodlanan metallobetalaktamaz), ilk olarak 1997'de İtalya-Verona'da. *P. aeruginosa* izolatında bildirilmiştir ve ardından VIM-2 Kore, Fransa ve Yunanistan'dan, VIM-3 enzimi Tayvan'dan bildirilmiştir (Lauretti ve ark., 1999). Günümüzde 20'den fazla farklı VIM türleri bilinmektedir (Cornaglia ve ark., 2011). VIM-1'in IMP enzimleri ile %30'dan daha az oranda aminoasit ortaklığı olmasına rağmen, aztreonam hariç, tüm betalaktamları hidroliz eden aynı geniş spektruma sahiptir. Verona imipenemase tipi enzimlerde integronda taşındığından horizontal olarak yayılmaktadır. İtalya'da VIM-1 üreten *K. pneumoniae*'nin neden olduğu bir salgında, küçük plazmidler üzerindeki VIM-1'in transferi gösterilmiştir. Ülkemizde *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis* ve *Providencia stuartii* yanı sıra *K. pneumoniae* için de benzer vakalar bildirilmiştir.

Ülkemizde Yakupoğulları ve ark.'ı kistik fibrozis hastası olan iki yaşındaki çocuktan izole edilen ÇİD'ne sahip *P. aeruginosa* kökeninde VIM-2 tespit etmişlerdir (Yakupogulları ve ark., 2008). VIM-2, VIM-1 enzimine %90 aminoasit benzerliği ile yakın olarak ilişkilidir. VIM-1'den 5 aminoasit değişikliği (A130K, H224L, E225A, S228R, K291T) ile ayrılan VIM-5, ilk olarak Türkiye *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* kökenlerinde izole edilmiştir. İzole edilen bu kökenlerin karbapenem MİK değerleri yüksek bulunmuştur (Bahar ve ark., 2004).

NDM-1 (New Delhi Metallobetalaktamaz) ilk kez 2008 yılında Hindistan'ın başkenti New Delhi'ye gitmiş olan İsveçli bir hastada izole edilen ÇİD'ne sahip *K. pneumoniae*'den tanımlanmıştır (Yong ve ark., 2009). NDM-1 taşıyan kökenler septisemi, pulmoner enfeksiyon, üriner sistem enfeksiyonu, katater enfeksiyonu, peritonit, yumuşak doku enfeksiyonu, ishal gibi geniş alanda enfeksiyona neden olmaktadır (Nordmann ve ark., 2011). NDM-1 tipi direnç *K. pneumoniae* ve *E. coli* kökenlerinde 2010 yılında kıtalar arası yayılım göstererek epidemi oluşturmuştur. *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii* ve *Citrobacter freundii*' de de bildirilmiştir (Hsueh, 2010). NDM-1 karbapenemlere %90'ın üzerinde direnç gösterebilir, Hindistan'da bazı izolatlarda tigesiklin ve kolistin direncide göstererek tüm antibiyotiklere dirençli olarak tanımlanmıştır. Birçok ülkeden veriler elde edilerek yapılan bir çalışmada 200'ün üzerinde NDM-1 pozitif olgu bildirimi yapılmıştır (Nordmann ve ark., 2011). Ülkemizde ise NDM-1 direnci Irak'tan ülkemize gelen 16

yaşında lösemili bir hastadan ÇİD'ne sahip *K. pneumoniae* kökeninde saptanmıştır (Poirel ve ark., 2012). 2011 yılında Almanya'da bir hastada NDM-2 pozitif *A. baumannii* kökeni tespit edilmiştir (Kaase ve ark., 2011). NDM-2'nin NDM-1'den farkı 28. konumda prolinin yerine alanin aminoasidinin bulunmasıdır (Espinal ve ark., 2011). Hindistan'da 2010 yılında bir hastanın idrar kültüründen izole edilen *E. coli* kökeninde NDM-4 tipi MBL saptanmıştır. NDM-1'den tek aminoasit değişikliği (Met154Leu) ile NDM-2'den iki aminoasit değişikliği (Ala28Pro and Met154Leu) ile farklıdır. Karbapenemaz aktivitesi yüksek olup karbapenemlere yüksek düzeyde direnç göstermektedir (Nordmann ve ark. 2012). Hindistan'dan İngiltere'ye sevk edilen Herpes simpleks ensefalitli 41 yaşındaki bir hastadan NDM-5 enzimine sahip *E. coli* ST648 kökeni izole edilmiştir. NDM-5 mevcut enzimlerden 88. konumda (Val3Leu) ve 154. konumdaki (Met3Leu) değişimler nedeniyle farklıdır. NDM-6, NDM-1'den nokta mutasyonu (698. konumda C yerine T) ile farklılık göstermektedir (Hornsey ve ark., 2011).

SPM-1 (Sao Paulo Metallobetalaktamaz) ilk olarak 1997 yılında Sao Paulo (Brezilya)'da akut lenfoblastik lösemisi olan, febril nötropeni ile başvuran ve daha sonra septik şok nedeniyle hayatını kaybeden bir çocuktan izole edilen *P. aeruginosa* 48-1997A izolatında bulunmuştur. Bu izolat kolistin hariç bütün standart anti-gram-negatif antimikrobiyallere son derece dirençli bulunmuştur. Bu ilk rapordan sonra, Brezilya'da SPM-1 taşıyan *P. aeruginosa* izolatları ile çok sayıda ve mortal seyreden hastane salgınları bildirilmiştir. SPM-1, IMP-1 ile %35.5 oranında aminoasit benzerliğine sahiptir. IMP-1 ve VIM-1 gibi SPM-1'de özellikle klavulanik asit veya aztreonamı etkili bir şekilde hidrolize edemez (Walsh ve ark 2005). SPM-1, IMP ve VIM benzeri enzimler gibi transpozon ya da integronlar içinde yer almamaktadır, 180 kb büyüklüğünde bir plazmid ile taşındığı belirtilmektedir ve SPM-1 bilinen tek SPM türevi enzimdir (Toleman ve ark., 2002).

GIM-1 (German imipenemase) 2002 yılında Almanya'da bir bölgedeki beş farklı hastada *P. aeruginosa* izolatında bulunmuş ve yeni bir sınıf B beta laktamaz olduğu bildirilmiştir. Bu beş izolat sadece polimiksin B'ye duyarlı bulunmuştur (Walsh ve ark. 2005). GIM, VIM ile yaklaşık %30, IMP ile %43, SPM ile %29 oranında aminoasit benzerliğine sahiptir. GIM-1'in IMP ve MEM'ye etkisi eşit orandadır. GIM-1 dışında başka GIM türevi enzim bulunmamaktadır (Watanabe ve ark., 1991).

Güney Kore’de bir hastanın balgam kültüründen izole edilmiş olan *A. baumannii* kökeninde ilk kez SIM-1 (Seoul imipenemaz) tipi MBL tanımlanmıştır. SIM-1 ve IMP tipi MBL’ler arasında %64-69 arasında bir amino asit benzerliği bulunmuştur. SIM-1 içeren izolatlar imipenem ve meropenem için nispeten düşük MİK (8–16 µg/mL) değerleri göstermiş ve bu kökenlerin bir MDR fenotipine sahip oldukları saptanmıştır. SIM-1 bilinen tek SIM türevi enzimdir (Lee ve ark., 2005)

2.1.9. Metallobetalaktamazların Tanısında Kullanılan Yöntemler

2.1.9.1. Metallobetalaktamazların Tanısında Kullanılan Fenotipik Testler

2.1.9.1.1. Modifiye Hodge Testi

Standart *E. coli* ATCC 25922 suşunun MBL üreten bakteri ile birlikte bulunduğu meropenem varlığında da üreyebilmesi esasına dayanan bir testtir. KPC, MBL ve OXA enzimlerinin hepsini tespit etmesi açısından uygulaması kolaydır fakat enzimlerin ayrımını yapamaması dezavantajdır, özgüllüğü düşüktür ve epidemiyolojik olarak kullanışlı bir test değildir. GSBL ya da AmpC üreten izolatlarla azalmış ya da kaybolmuş porin salınımı yalancı pozitif sonuçlara neden olabilir (Budak ve ark., 2012).

2.1.9.1.2. Kombine Disk Difüzyon Testi

MBL aktivitesinin EDTA veya 2-merkaptopropionik asit gibi metal şelatör ajanlarla bloke edilmesi ve IPM inhibisyon zonunun EDTA varlığında genişlemesi esasına dayanır. Bakteri izolatlarının taze kültürlerinden 0,5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanarak Mueller Hinton agara (MHA) homojen inokülasyonu yapılır. Besiyeri yüzeyinin kurumaması takiben aralarında 22 mm olacak şekilde iki imipenem diski (10µg) besiyeri yüzeyine yerleştirilir ve imipenem disklerinden bir tanesinin üzerine 10 µl EDTA (0,5M, pH 8) eklenir. Plaklar 35°C’da 18 saat inkübe edilerek değerlendirilir. EDTA solüsyonunun eklendiği imipenem/EDTA diskinin inhibisyon zonu tek başına imipenem diski zon çapından ≥ 7 mm ise MBL pozitif olarak kabul edilir (Yong ve ark., 2002; Sesli-Çetin ve ark., 2009).

2.1.9.1.3. Çift Disk Sinerji Testi

IPM inhibisyon zonunun EDTA varlığında genişlemesi esasına dayanır. Bakteri izolatlarının taze kültürlerinden 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyonu MHA

besiyerine yayıldıktan sonra, besiyeri yüzeyine imipenem diski (10 µg) ve boş disk yerleştirilir. Boş diskin üzerine 10 µl EDTA (0,5 M, pH 8) eklenir. Plaklar 35°C'da 18 saat inkübe edildikten sonra imipenem disk inhibisyon zonunun EDTA olan boş diske doğru genişlemesi durumunda MBL pozitif olarak kabul edilir (Picao ve ark., 2008).

2.1.9.1.4. Karbapenem İnaktivasyon Testi

Testin çalışma prensibi; karbapenemaz üretimi test edilecek izolatla birlikte inkübasyona bırakılan karbapenem diskinin, bakteri enzimiyle inaktivasyonunun fenotipik olarak tespit edilmesidir. İzole edilmiş saf izolattan bir öze dolusu alınarak mikrosantrifüj tüpünde steril distile su ile karıştırılıp, karışıma meropenem diski atılarak 2 saat inkübasyonda bırakılır. İnkübasyon sonunda karbapenem duyarlı 0,5 McFarland bulanıklığında olan *E. coli* ATCC 25922 süspansiyonu MHA besiyerine yayıldıktan sonra, besiyeri yüzeyine karışımdaki meropenem diski yerleştirilir, 24 saatlik inkübasyon sonrasında değerlendirilir. Normalde *E. coli* izolatının etrafında inhibisyon zonu oluşması beklenirken test edilen bakteride karbapenemaz varlığında inaktive olan meropenem *E. coli* izolatında inhibisyon zonu oluşturamaz, bu durumda karbapenemaz üretimi pozitif olarak değerlendirilir (Kılıç ve ark., 2016).

2.1.9.1.5. Metallobetalaktamaz Gradyent Test:

Test edilecek bakterinin 0,5 McFarland bulanıklığındaki süspansiyonu MHA plaklarına yayıldıktan sonra MBL E-Test stripleri plak üzerine yerleştirilerek etüvde 18–20 saatlik inkübasyona bırakılır. Test stribinin bir tarafında IPM diğer tarafında ise IPM ve EDTA bulunmaktadır. IPM/IPM-EDTA MİK değerleri oranlandığında 8 ve üzerinde bir değer elde edilmesi durumunda MBL pozitif olarak kabul edilir (Walsh ve ark., 2002; Sesli-Çetin ve ark., 2009; Behera ve ark., 2008).

2.1.9.1.6. Enzim Ekstraksiyonu Uygulaması

Bakteriden sonikasyon yöntemiyle elde edilen enzim karbapenem diski üzerine eklenerek enzim içeren kombine diskler oluşturulur. *E. coli* ATCC 25922 süspansiyonları hazırlanan MHA plağına inoküle edilerek üzerine enzim içeren kombine karbapenem diski ve kombine olmayan karbapenem diski yerleştirilir. 35°C'de 24 saat inkübasyondan sonra enzim içeren diskin inhibisyon zon çapında enzim içermeyen diskin inhibisyon zon çapına göre 2 mm ve daha fazla azalma olması karbapenemaz üretimini gösterir (Budak ve ark., 2012).

2.1.9.1.7. Mikrodilüsyon Yöntemi

Standart mikrodilüsyon yöntemiyle sadece imipenem MİK değeri ve imipenem/EDTA ya da imipenem/fenantrolin MİK değeri belirlenir. Bu iki değer karşılaştırıldığında MİK değerleri arasındaki 8 kat azalmanın varlığı MBL pozitif olarak değerlendirilir (Migliavacca ve ark., 2002).

2.1.9.2. Metallobetalaktamazların Tanısında Kullanılan Genotipik Yöntemler

MBL'lerin tesbit edilmesinde genotipik yöntemler de kullanılmaktadır. Fenotipik yöntemlere göre genotipik yöntemlerin duyarlılığı daha yüksektir. Belirli primerler kullanılarak bakterinin MBL geni taşıyıp taşımadığını, enzimi ve tipini PZR yöntemi ile saptamak mümkündür. Bunun dışında DNA probları kullanılarak da bu direnç genleri saptanabilir. Ancak moleküler yöntemlerin altın standardı sekans analizi, protein analizi ve klonlama yöntemleridir (Aktaş, 2012). PZR'ın yapılması kolaydır fakat gen için özgül türevleri ayırt edemez ve yeni türevler saptayamaz. DNA probları özgüldür fakat yoğun emek gerektirir, her gen ailesi için prob gerektirir ve türevleri ayırt edemez. Klonlama ve sekans analizi moleküler altın standarttır, yoğun emek gerektirir ve verilerin yorumu deneyim gerektirir. Saptanan enzimlerin sınıflandırılmasında sekans analizi kullanılmaktadır.

Yeni varyantların artmış sayıları ile genlerin yüksek çeşitliliği sebebiyle PZR sonucu negatif çıksa bile genotipik doğrulama için izolatların referans aboratuvarlarına gönderilmesi önerilmektedir (Budak ve ark., 2012).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Etilendiamintetraasetik Asit (EDTA)

0,5 M EDTA hazırlamak için ticari olarak hazır elde edilen disodium EDTA.H₂O tozundan 18,61 g 100 ml'lik steril distile suda çözülerek pH 8'e ayarlandı. MBL inhibitörü olarak kombine disk difüzyon testi ve çift disk sinerji testinde kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Seçimi

Ocak 2017 ile Mayıs 2017 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıp Laboratuvarları Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 103 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatları çalışmaya dahil edilmiştir. Her hastadan bir örnek çalışmaya alınmıştır.

3.2.2. Bakterilerin Tanımlanması ve Antimikrobiyal Duyarlılık

Laboratuvara gelen klinik örnekler rutin olarak %5 koyun kanlı agar ve Eozin Metilen Blue (EMB) agara ekildi ve 35°C'de, 18-24 saat inkübasyonun ardından besiyerlerinde saf koloni şeklinde üreyen bakterilerde tür düzeyinde tanımlama MALDI-TOF MS (Biomeriux, Fransa) otomotize sisteminde yapıldı. İzolatların antibiyotik duyarlılığı Vitek2 Compact (Biomeriux, Fransa) otomatize sisteminde belirlendi. Antibiyotik duyarlılığı AST N326 kartları kullanarak üretici firma önerileri doğrultusunda çalışıldı. İzolatlar %5 koyun kanlı agarda üretildikten sonra 0,5-0,6 McFarland standart bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanarak, kartlar ve süspansiyonlar cihaza yerleştirildi. Süspansiyonların kartlara inoküle edilmesi, okuma, değerlendirme ve raporlama otomatik olarak yapıldı. Duyarlılık testleri sonuçları The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) standartlarına göre duyarlı (S), orta duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak kategorize edildi. Bakteriler çalışma zamanına kadar -20°C'de %10'luk gliserinli buyyon besiyeri içerisinde saklandı. Standart köken olarak *E. coli* ATCC 25922 kullanıldı. Pozitif kontrol olarak VIM, IMP, NDM tipi MBL üreten *P. aeruginosa* kökenleri kullanıldı.

3.2.3. Fenotipik Testler

3.2.3.1. Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)

Acinetobacter izolatlarının 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyonu Mueller Hinton agar (MHA) besiyerine yayıldıktan sonra, besiyeri yüzeyine imipenem diski (10 µg) ve 12 mm (merkezden merkeze) uzağına boş disk yerleştirildi. Boş diskin üzerine 10 µl EDTA (0,5 M, pH 8) eklendi. Plaklar 35°C'da 18 saat inkübe edilerek değerlendirildi. İmipenem disk inhibisyon zonunun EDTA olan boş diske doğru genişlemesi durumunda test pozitif kabul edildi.

Çalışmamızda farklı kaynaklardan aldığımız metodla diskler arasındaki mesafeyi 20 mm (merkezden merkeze) yaptığımızda sonuçları negatif olarak tespit ettik; her üç testte de (MHT, KİT ve KDDT) pozitif olan izolatlardan biriyle diskler arasındaki mesafeleri farklı uzunlukta deneyerek ÇDST çalıştık. Mesafeyi 12 mm'ye düşürdüğümüzde sonucu pozitif olarak saptadık.

3.2.3.2. Kombine Disk Difüzyon Testi (KDDT)

Acinetobacter izolatlarının taze kültürlerinden 0,5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanarak MHA'ya yayıldı. Besiyeri yüzeyinin kurumasını takiben aralarında 22 mm olacak şekilde iki imipenem diski (10µg) besiyeri yüzeyine yerleştirilerek imipenem disklerinden bir tanesinin üzerine 10 µl EDTA (0,5M, pH 8) eklendi. Plaklar 35°C'da 18 saat inkübe edilerek değerlendirildi. EDTA solüsyonunun eklendiği imipenem/EDTA diskinin inhibisyon zonu tek başına imipenem diski zon çapından ≥ 7 mm ise test pozitif kabul edildi (Yong ve ark., 2002; Sesli-Çetin ve ark., 2009).

3.2.3.3. Modifiye Hodge Test (MHT)

Taze *E. coli* ATCC 25922 suşunun 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlanan süspansiyonu 1:10 sulandırılarak MHA üzerine homojen olarak ekildi. Besiyeri yüzeyinin kurumasını takiben besiyerinin merkezine meropenem diski (10 µg) yerleştirildi. Test edilecek *Acinetobacter* izolatının kanlı agardaki taze kültüründen steril eküvyon yardımıyla bakteri kolonileri toplandı ve meropenem diskinin bir ucundan başlayarak besiyeri kenarına doğru yoğun bakteri ekimi yapıldı. İnokülasyonu takiben plaklar 35°C'da 18 saat inkübe edilerek değerlendirildi. Meropeneme duyarlı olan *E. coli* ATCC 25922 izolatının duyarlılık zon çapının çizgi ekimi yapılan bakteri

taraflarında yonca yaprağı şeklinde bozulması ve bu bölgede *E. coli* üremesi durumunda test pozitif kabul edildi (Budak ve ark., 2012).

3.2.3.4. Karbapenem İnaktivasyon Testi (KİT)

Acinetobacter izolatlarından bir öze dolusu alınarak distile su ile süspanse edildi. Süspansiyona meropenem (10µl) diski atılıp iki saat inkübasyona bırakıldı. İki saatin sonunda süspansiyon içindeki disk alınıp ve karbapenem duyarlı *E.coli* ATCC 25922 standart suşunun yayıldığı MHA plağına konuldu ve 24 saatlik inkübasyon sonrasında değerlendirildi. Meropenem diskinin etrafında üreme olması (inhibisyon zonu oluşmaması) durumunda, testin sonucu pozitif kabul edildi (Kılıç ve ark., 2016).

3.2.4. Moleküler Yöntemler

3.2.4.1. DNA Ekstraksiyonu

Kaynatma yoluyla DNA ekstraksiyonu yapıldı. Bu işlemde;

1. Mueller Hinton agar besiyerine pasajlanan bakteriler 35°C’de 20-22 saat inkübe edildi.
2. Üreyen bakterilerden bir öze dolusu alınıp, 500 µl steril distile su içeren mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı.
3. Homojenizasyon için vorteks işlemi yapıldı.
4. Homojen bir süspansiyon elde edildikten sonra, mikrosantrifüj tüpleri 15 dk süresince 100°C’ye ayarlanmış olan kuru bloğa yerleştirildi.
5. Süre sonunda mikrosantrifüj tüpleri soğutmalı mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 15000x g ve 4°C sıcaklıkta 20 dakika boyunca santrifüj işlemine tabi tutuldu.
6. Santrifüj işleminden sonra üste kalan kısım PZR işleminde kullanılacak template DNA olarak steril DNase ve RNase içermeyen mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı.
7. Elde edilen DNA’lar -20°C’de saklamaya alındı.

3.2.4.2. IMP, VIM, NDM Bölgelerinin Amplifikasyonu

IMP, VIM genlerinin belirlenebilmesi için Woodford’un (2010) , NDM geninin belirlenebilmesi için Zarfel ve ark.’nın (2011) tanımladığı primerler (Tablo II) kullanılarak amplifikasyon programı uygulandı. PZR işleminde kullanılan reaksiyon

karışımı Tablo III’de, amplifikasyon programı da Tablo IV’te belirtilmiştir

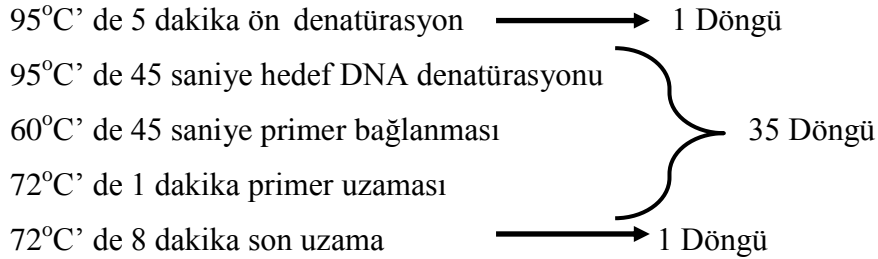
Tablo II. IMP, VIM, NDM genleri primer dizisi.

Gen	Primer adı	Primer dizisi
IMP	IMP-F	5'-GGAATAGAGTGGCTTAATTCTC
	IMP-R	5'-CCAAACCACTACGTTATCT
VIM	VIM-F	5'-GATGGTGTGGTTCGCATA
	VIM-R	5'-CGAATGCGCAGCACCAG
NDM	NDM-F	5'-ACC GCC TGG ACC GAT GAC CA
	NDM-R	5'-GCC AAA GTT GGG CGC GGT TG

Tablo III. IMP, VIM, NDM PZR reaksiyon karışımı.

Malzeme	Miktar
10X PZR tamponu	5 µl
25 mM MgCl ₂	4 µl
dNTP karışımı (10 mM)	1 µl
Taq DNA polimeraz (5U/µl)	1 µl
IMP-F primeri (10 pmol)	1 µl
IMP- R primeri (10pmol)	1 µl
VIM-F primeri (10 pmol)	1 µl
VIM- R primeri (10pmol)	1 µl
NDM-F primeri (10 pmol)	1 µl
NDM- R primeri (10pmol)	1 µl
Kalıp DNA	4 µl
Saf su	29 µl
Toplam	50 µl

Tablo IV. IMP, VIM, NDM PZR amplifikasyon programı.



3.2.4.3. DNA Elektroforezi:

PZR ürünü DNA’ların incelenmesi ve boyutlarının belirlenmesi için

konsantrasyonu %2 olacak şekilde 1X TBE tamponu ile jel hazırlandı. Mikrodalga fırında eritilen agaroz, yatay elektroforez jel kabına dökülecek ve soğumaya bırakıldı. Agaroz jel kuyucuklarına 10 µl amplifikasyon ürünü ile 2 µl 6X yükleme tamponu karıştırılarak uygulandı. 1 saat süresince 120 V elektrik akımı altında moleküler boyutlarına göre DNA bantları ayrıştırıldı. 0,5 µg/ml etidyum bromid içeren distile suda 20 dakika jel boyandıktan sonra örneklere ait DNA bantları “GeneRuler 100 bp DNA Ladder Plus” belirteçleri ile karşılaştırılarak görüntüleme cihazında incelendi.



4. BULGULAR

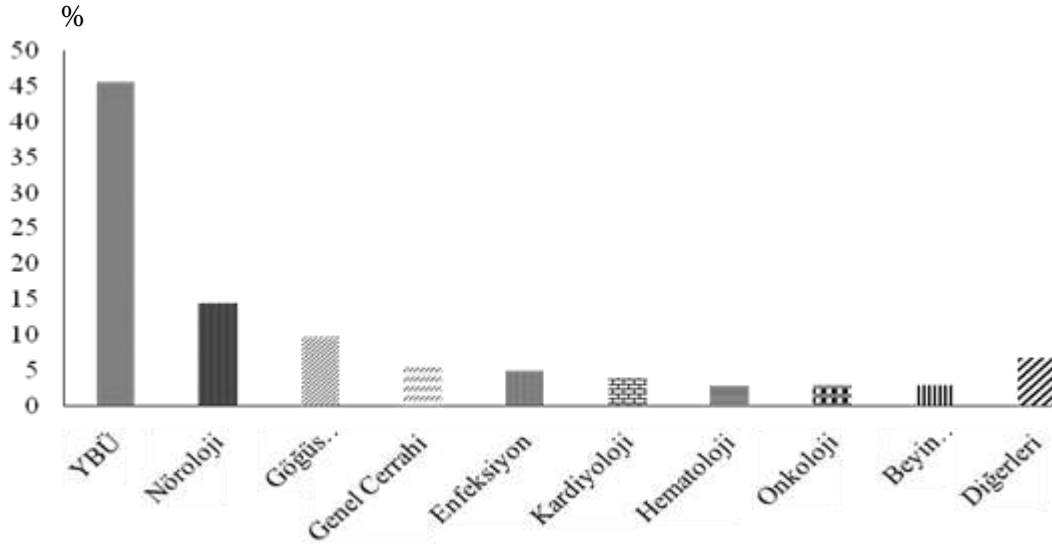
4.1. A. baumannii İzolatlarının Gönderildiği Servislerin Dağılımı

Laboratuvarımıza gönderilen izolatların servis dağılımı Tablo V'de gösterilmiştir.

Tablo V. A. baumannii izolatlarının gönderildiği servislerin dağılımı.

Servis	Sayı	%
YBÜ	47	45,6
Nöroloji	15	14,5
Göğüs Hastalıkları	10	9,7
Genel Cerrahi	6	5,8
Enfeksiyon	5	4,8
Kardiyoloji	4	3,8
Hematoloji	3	2,9
Onkoloji	3	2,9
Beyin cerrahisi	3	2,9
Diğerleri*	7	6,7

*Plastik cerrahi, çocuk genel, gastroloji, kalp damar cerrahisi, koroner, nefroloji



Şekil 2. A. baumannii izolatlarının gönderildiği servislerin dağılımı.

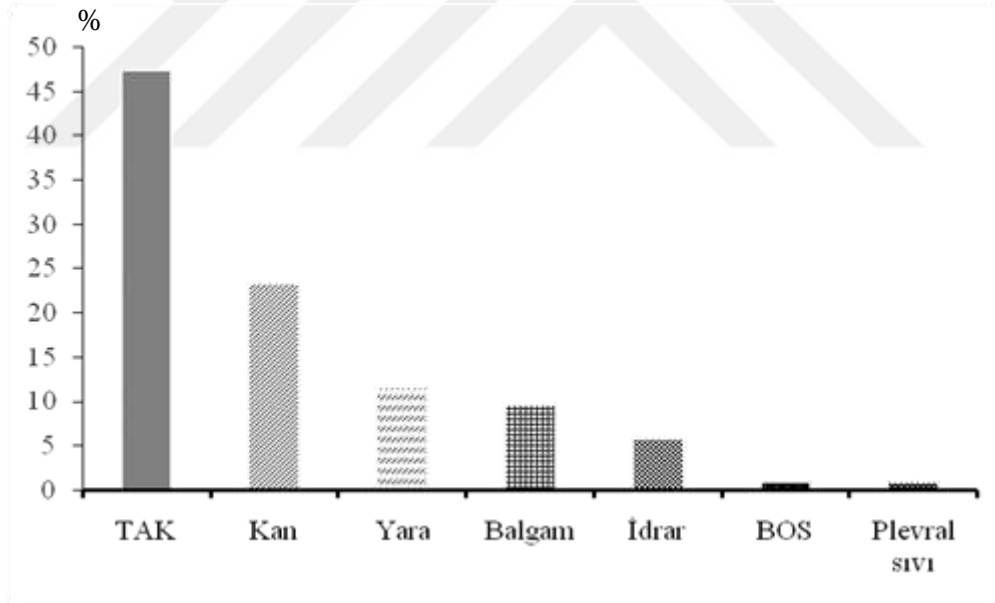
Laboratuvarımıza gönderilen 103 izolatın önemli kısmı YBÜ'den (n:47, %45,6) gelmiştir. YBÜ'sini nöroloji (n:15, %14,5) servisi takip etmiştir.

4.2. A. baumannii İzolatlarının İzole Edildiği Materyallerin Dağılımı

A.baumannii izolatlarının izole edildikleri materyallerin dağılımı Tablo-VI'de verilmiştir.

Tablo VI. A. baumannii izolatlarının izole edildiği materyallerin dağılımı.

Materyal	Sayı	%
Trakeal aspirat	49	47,5
Kan	24	23,3
Yara	12	11,6
Balgam	10	9,7
İdrar	6	5,8
BOS	1	0,9
Plevral sıvı	1	0,9



Şekil 3. A. baumannii izolatlarının izole edildiği materyallerin dağılımı.

İzole edilen 103 materyalin önemli kısmını trakeal aspirat (n:49, %47,5) oluşturmuştur. Trakeal aspiratı kan (n:24, %23,3) takip etmiştir.

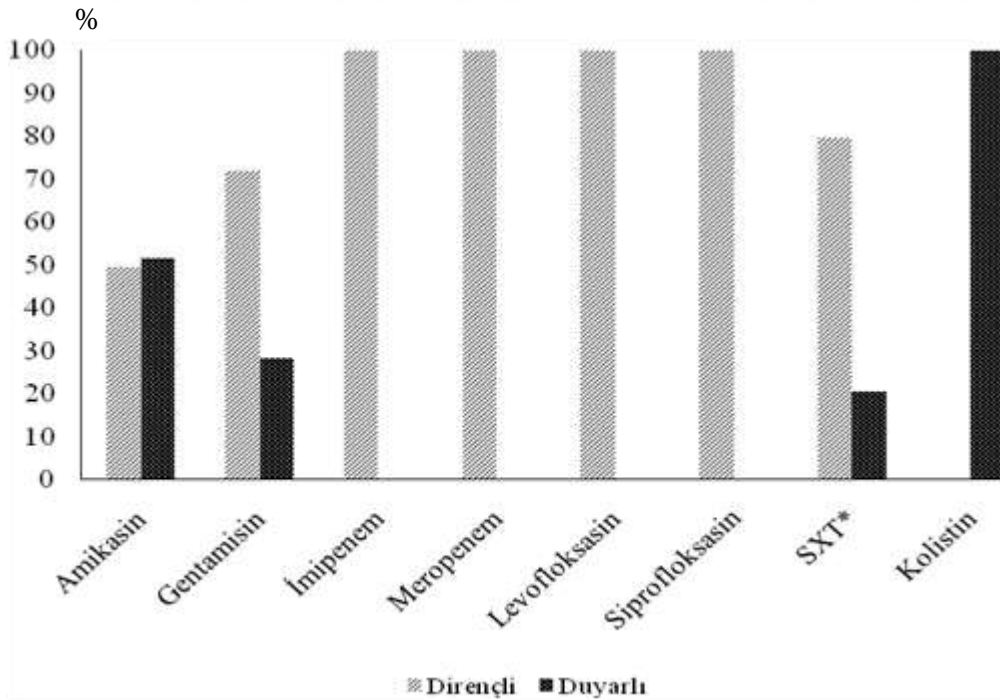
4.3. A. baumannii İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

A. baumannii klinik izolatlarının duyarlılıkları VITEK2 sistemi (bioMerieux, ABD) ile saptanmış olup bu izolatlardan karbapenemlerin her ikisine de (imipenem, meropenem) dirençli izolatlar seçilerek çalışmaya alınmıştır. Çalışmaya alınan karbapenem dirençli A. baumannii izolatlarının direnç profili Tablo VII' de verilmiştir

Tablo VII. A. baumannii izolatlarının direnç profili.

Antibiyotik	Dirençli	%
Amikasin	51	49,5
Gentamisin	74	71,8
İmipenem	103	100
Meropenem	103	100
Levofloksasin	103	100
Siprofloksasin	103	100
SXT*	82	79,6
Kolistin	0	0

SXT: Trimethoprim/sulfamethoxazol



Şekil 4. A. baumannii izolatlarının direnç profili.

İzolatların hepsi kolistine duyarlıdır. Kolistinden sonra en az direnç amikasinde

(n:51, %49,5) saptanmıştır. Levofloksasin ve siprofloksasin ise tüm izolatlarda dirençli olarak bulunmuştur.

4.4. Fenotipik Testler

4.4.1. Çift Disk Sinerji Testi

Çalışmaya alınan 103 izolatin 97'sinde (%94,1) IPM diski inhibisyon zonunun EDTA eklenmiş boş diske doğru genişlediği görüldü ve MBL pozitif kabul edildi. Altı izolat (%5,8) ise negatif olarak saptandı.



Şekil 5. Çift disk sinerji testi (A: Pozitif, B: Negatif).

4.4.2. Kombine Disk Difüzyon Testi

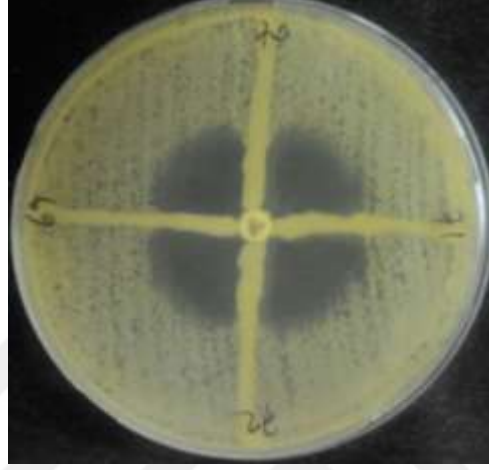
Çalışmaya alınan 103 izolatin 89'ünde (%86,4) EDTA solüsyonunun eklendiği imipenem/EDTA diskinin inhibisyon zonunun tekbaşına imipenem diski zon çapından ≥ 7 mm olduğu görüldü ve MBL pozitif kabul edildi. Ondört izolat (%13,5) ise negatif olarak saptandı.



Şekil 6. Kombine disk difüzyon testi (A: Pozitif, B: Negatif).

4.4.3. Modifiye Hodge Testi

Çalışmaya alınan 103 izolatın 73'ünde (%70,8) meropenem duyarlı olan *E. coli* ATCC 25922 izolatının duyarlılık zon çapının çizgi ekimi yapılan bakteri taraflarında yonca yaprağı şeklinde bozulduğu görüldü ve test pozitif kabul edildi. İzolatların 30'u (%29,1) ise negatif olarak saptandı.



Şekil 7. Modifiye Hodge testi (Pozitif: 69, 70, 72, Negatif:71).

4.4.4. Karbapenem İnaktivasyon Testi

Çalışmaya alınan 103 izolatın 98'inde (%95,1) meropenem diskinin etrafında üreme olması (inhibisyon zonu oluşmaması) durumunda, testin sonucu pozitif kabul edildi. İzolatların 5'i (%4,8) negatif olarak saptandı.



Şekil 8. Karbapenem inaktivasyon testi (Pozitif: 97, 98, 99, 100, Negatif: *E.Coli* ATCC-25922).

4.4.5. Fenotipik Testlerin Karşılaştırılması

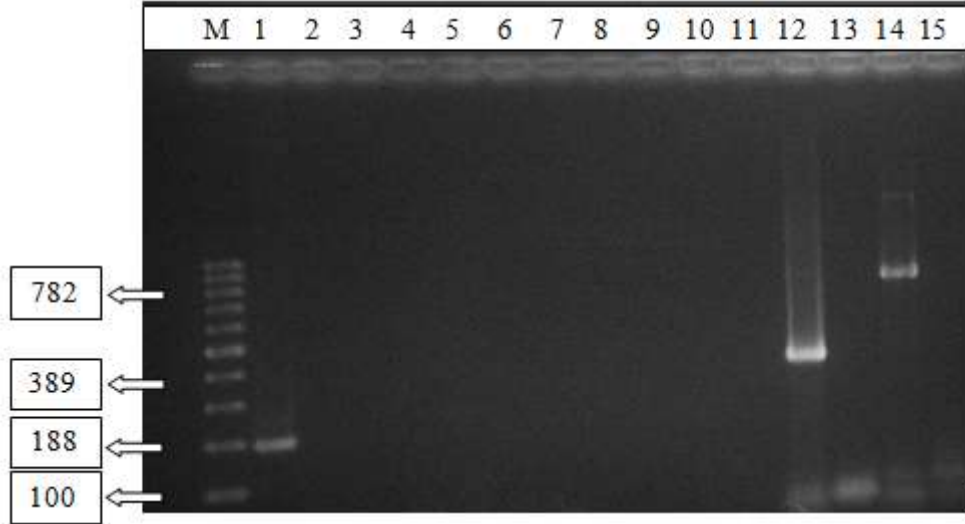
Fenotipik testler içinde en yüksek pozitiflik oranı 98 izolat (%95,1) ile KİT testine aittir. KİT testini 97 izolat (%94,1) ile ÇDST, 89 izolat (%86,4) ile KDDT takip etmiştir. En az pozitiflik oranı 73 izolat (%70,8) ile MHT'de saptanmıştır. Fenotipik testlerin pozitiflik oranları Tablo VIII'de gösterilmiştir.

Tablo VIII. Fenotipik testlerin pozitiflik oranları.

	ÇDST(%)	KDDT(%)	MHT (%)	KİT(%)
Pozitif	97 (94,1)	89 (86,4)	73 (70,8)	98 (95,1)
Negatif	6 (5,8)	14 (13,5)	30 (2,9)	5 (4,8)

4.5. A. baumannii İzolatlarında Metallobetalaktamazın Genotipik Olarak Saptanması

Karbapenem dirençli *A.baumannii* izolatlarında MBL üretiminden sorumlu NDM, VIM, IMP gen bölgelerini saptamak için multipleks PZR yapıldı. Yapılan tüm PZR'larda pozitifkontrol olarak kullanılan NDM, VIM, IMP gen bölgelerine ait bandlarda görüntü saptandı. Her PZR sonrası jelin son kuyucuklarına eklenen negatif kontrollerin hiçbirinde bant gözlenmedi. Multipleks PZR ile NDM, VIM, IMP gen bölgelerinde pozitiflik saptanmadı.



Şekil 9. IMP, VIM, NDM gen bölgelerinin PZR sonrası jel görüntüsü (M:Marker, 1:IMP pozitif kontrol, 12:VIM pozitif kontrol, 14: NDM pozitif kontrol, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13: *Acinetobacter* izolatı, 15:Negatif kontrol).

Tablo IX. *A. baumannii* izolatlarında MBL enziminin tespiti için yapılan fenotipik ve genotipik testlerin sonuçları.

izolat	MHT	KİT	ÇDST	KDDT	PZR
1	P	P	P	P	N
2	P	P	P	P	N
3	P	P	P	P	N
4	P	P	P	P	N
5	P	P	P	P	N
6	P	P	P	P	N
7	P	P	P	P	N
8	P	P	P	P	N
9	P	P	P	P	N
11	P	P	P	P	N
12	N	P	P	P	N
13	N	P	P	P	N
14	P	P	P	P	N
15	P	P	P	P	N
16	P	P	P	P	N
17	N	P	N	N	N
18	P	P	P	P	N
19	P	P	P	P	N
20	N	P	P	N	N
21	P	P	P	P	N
22	P	P	P	P	N
23	N	P	P	P	N
24	P	P	N	P	N
25	N	P	P	P	N
26	N	P	P	N	N
28	N	P	P	P	N
29	P	P	P	P	N
30	P	P	P	P	N
31	N	P	P	P	N
32	N	P	P	P	N
33	P	P	P	P	N
34	P	P	P	P	N
35	P	P	P	P	N
36	P	P	P	P	N
38	P	N	P	P	N
39	P	P	P	P	N
40	N	P	P	P	N
41	P	P	P	P	N
42	P	P	P	P	N
43	P	P	P	P	N

Tablo IX'un devamı

İzolat	MHT	KİT	ÇDST	KDDT	PZR
44	N	P	P	P	N
45	P	P	P	P	N
46	P	P	P	P	N
49	P	P	P	P	N
50	P	P	P	P	N
52	N	N	P	P	N
53	P	P	P	P	N
54	P	P	P	P	N
56	N	P	P	N	N
57	P	P	P	N	N
58	N	P	P	P	N
59	N	N	P	N	N
60	N	N	P	P	N
61	P	P	P	P	N
63	N	P	P	P	N
64	P	P	P	N	N
65	P	P	P	P	N
66	P	P	P	P	N
67	P	P	P	P	N
68	N	P	P	P	N
69	P	P	N	N	N
70	P	P	P	P	N
71	N	P	N	P	N
72	P	P	P	P	N
73	P	P	P	P	N
74	N	P	P	P	N
75	P	P	N	N	N
76	N	P	P	P	N
77	N	P	P	P	N
78	P	P	P	P	N
79	N	P	P	P	N
80	P	P	P	P	N
81	N	P	P	P	N
82	P	P	P	P	N
83	P	P	P	P	N
84	N	P	P	P	N
85	P	P	P	P	N
86	P	P	P	P	N
87	P	P	P	N	N
88	P	P	P	P	N
89	N	P	P	P	N

Tablo IX'un devamı

İzolat	MHT	KİT	ÇDST	KDDT	PZR
90	P	P	N	N	N
91	P	P	P	P	N
92	N	P	P	P	N
95	P	P	P	N	N
96	P	P	P	P	N
97	P	P	P	P	N
98	N	P	P	P	N
99	P	P	P	P	N
100	P	P	P	P	N
102	P	P	P	P	N
103	P	P	P	P	N
105	P	P	P	P	N
106	P	P	P	P	N
107	P	P	P	P	N
108	P	P	P	P	N
109	P	P	P	P	N
110	p	N	P	P	N
111	P	P	P	P	N
112	P	P	P	P	N
113	N	P	P	P	N
114	P	P	P	N	N
115	P	P	P	N	N

P: Pozitif, **N:** Negatif

5. TARTIŞMA

Karbapenem direnci dahil olmak üzere çoklu antibiyotik direncinin giderek artan oranlarda karşımıza çıkması ve özellikle yoğun bakım birimlerinde salgınlara yol açabilmesi, *A. baumannii*'nin öneminin artmasına ve sürekli gündemde olmasına neden olmaktadır (Schreckenberger ve ark., 2008). *Acinetobacter* türlerinin özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastalarda ventilatör ilişkili pnömonilerde giderek artan sayılarda etken olarak gösterildiği rapor edilmektedir. Risk faktörleri, antibiyotik tedavisi, cerrahi girişim, yabancı cisim uygulamaları, mekanik ventilasyon, yoğun bakım ünitesinde yatıştır (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996). YBÜ'de pnömoni dışında dolaşım sistemi enfeksiyonu, menenjit, üriner sistem enfeksiyonu gibi nozokomiyal enfeksiyonlara neden olmaktadır (Schreckengerge, 2008). Ek olarak ayaktan devamlı peritoneal dializ peritoniti, endokardit, menenjit, osteomyelit, artrit, korneal perforasyon da bildirilmiştir (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996).

Yaptığımız çalışmada *Acinetobacter* izolatları en çok YBÜ'lerinden (n:47,%45,6) izole edilmiştir. YBÜ'sini nöroloji (n:15,%14,5) ve göğüs hastalıkları (n:10,%9,7) servisi takip etmiştir. Keskin ve ark. yaptıkları çalışmada çalışmaya dahil edilen 201 *Acinetobacter* izolatının en sık YBÜ (%53,7) ve acil servislerden (%14,4) izole etmişler, bunları nöroşirürji (%12,4) ve genel cerrahi klinikleri (%6,7) izlemiştir (Keskin ve ark., 2014). Gözütok ve ark. 2013'te yaptıkları çalışmada *A. baumannii* izolatlarını en sık YBÜ'den (%84,4), 2.sıklıkla ise ortopedi servisinden (%6,2) izole etmişlerdir (Gözütok ve ark., 2013). Yapılan çok merkezli bir çalışmada Çiftçi ve arkadaşları *Acinetobacter* izolatlarının en fazla (%90,3) yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan izole edildiğini bildirmişlerdir (Çiftçi ve ark., 2013). Iraz ve ark. *Acinetobacter* izolatlarının direnç oranlarını inceledikleri çalışmada örneklerin en sık YBÜ'den (%68), ikinci sıklıkla ise cerrahi bilimlerden (%17) gönderildiğini ortaya koymuşlardır (Iraz ve ark., 2012). Çalışma grubumuz bu yönüyle değerlendirildiğinde izolatların en sık YBÜ'den izole edilmesiyle diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Acinetobacter izolatlarının izole edildiği örneklerin dağılımı çeşitli çalışmalarda farklılıklar göstermektedir. Mansur ve ark. *Acinetobacter* izolatlarının %29'unu trakeal aspirattan, %26'sını kandan, %13'ünü parasentez sıvısından, %12'sini yara örneklerinden elde etmişlerdir (Mansur ve ark., 2009). Gülhan ve ark.'nın çalışmasında izolatların %54,9'u yara, %19,7'si kan, %5,6'sı solunum yolu örneklerinden

oluşmaktadır (Gülhan ve ark., 2009). Altunok ve Koç %67'sini solunum yolundan, %14' ünü kandan, %6'sını ise idrardan izole ettiklerini bildirmişlerdir (Altunok ve Koç, 2014). Zer ve ark. çalışmalarında *A. baumannii* izolatlarını en sık trakeal aspirat (%45,1), ikinci sıklıkta kan (%14,5) ve üçüncü sıklıkta yara yeri (%11,2) materyalinden izole ettiklerini bildirmişlerdir (Zer ve ark., 2007). Aral ve ark. *Acinetobacter* izolatlarının %30'unu balgam, %29'unu yara ve %25'ini kanda (Aral ve ark.,2010); Özdem ve ark. 2007-2010 yıllarında 465 *Acinetobacter* izolatının %39,5'ni trakeal aspirat, %19,8'ini yara ve %15,3'ünü de kandan izole etmişlerdir (Özdem ve ark.,2011). Cesur ve ark. 2017'da YBÜ'de yaptıkları çalışmada *A. baumannii* izolatlarını en çok %42,5 ile trakeal aspirattan, ikinci sıklıkla %20 ile yaradan elde etmişlerdir (Cesur ve ark., 2017). Çalışmamızda *A. baumannii* izolatları en sık trakeal aspirat örneklerinden (n:49, %47,5) izole edilmiştir. Trakeal aspiratı sırasıyla kan (n:24, %23,3), yara (n:12, %11,6), balgam (n:10, %9,7) takip etmektedir. *Acinetobacter* türleri sıklıkla YBÜ'de mekanik ventilatörlü hastalarda solunum sistemi enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Çalışmamızda *A. baumannii*'nin ventilatör ekipmanlarındaki kolonizasyona bağlı olarak yüksek oranda trakeal aspirattan izole edilmiş olabileceği düşünülmüştür.

Mikroorganizmaların üç veya üzerinde farklı antibiyotik grubuna dirençli olmaları çoklu antibiyotik direnci olarak tanımlanmaktadır. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de ÇİD'li izolatların izole edilmeye başlaması ve direncin giderek artması, *A. baumannii* enfeksiyonu şüphesi ile yatan hastalarda klinisyenlerin ampirik tedavi seçeneklerini giderek azaltmaktadır (Aktaş ve ark., 2009). Tedavi seçeneklerinin giderek azalması ile ÇİD olan *A. baumannii* izolatları ile oluşan enfeksiyonlar sağlık kuruluşlarının ciddi bir sorunu haline gelmiştir. Antibiyotiklerin sık ve uygunsuz kullanımı bu sorunun hızlı büyümesine neden olmuştur. Çoklu dirençli *Acinetobacter* türleri polimiksinlere (polimiksin B, kolistin), sulbaktama ve olasılıkla tigesikline duyarlı olmakla birlikte bir tek antimikrobiyal ajana duyarlı olan PDR izolatlar da bildirilmektedir (Lee ve ark., 2005; Queenan ve Bush, 2007). Dirençli türlerin yayılımı hastanede kalış süresini uzatarak, morbidite ve mortalite oranlarını arttırmakta ve tedavi maliyetlerini yükselterek ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

Yaptığımız çalışmada karbapenemlere dirençli izolatlar işleme alınmıştır. İzolatların hiçbirinde kolistine direnç saptanmamıştır. Amikasin %49,5 (n:51), gentamisin %71,8 (n:74), trimethoprim/sulfamethoxazol %79,6 (n:82), levofloksasin

%100 (n:103) ve siprofloksasine %100 (n:103) karşı direnç saptanmıştır. Iraz ve ark.'nın çalışmalarında 143 *A. baumannii* izolatının imipenem duyarlılığı %8, meropenem duyarlılığı %8, amikasin duyarlılığı %31, gentamisin duyarlılığı %46, siprofloksasin duyarlılığı %8, seftazidim duyarlılığı %6, piperasilin tazobaktam duyarlılığı %7, sefepim duyarlılığı %7'dir (Iraz ve ark., 2012). Gözütok ve ark.'nın yaptıkları çalışmada kolistin en etkili (%100) antibiyotik olduğu saptanmıştır, karbapenemler, sefalosporinler, kinolonlar, beta-laktamaz inhibitör kombinasyonlu antibiyotiklere %90'ın üzerinde direnç görülmüştür (Gözütok ve ark., 2013). Shoja ve ark. 2017'de *A.baumannii* izolatları ile yaptıkları çalışmada siprofloksasine %97,5, sefepim ve seftazidime %92,5, amikasine %80, gentamisine %85 oranında direnç tespit etmişlerdir fakat kolistine direnç saptanmamıştır (Shoja ve ark., 2017).

Karbapenemler, *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılan antibiyotikler olmakla birlikte dünyanın birçok bölgesinde *Acinetobacter* türleri arasında karbapenem direnci ortaya çıkmaktadır. Aztreonam ve 3. kuşak sefalosporinlerin kullanımının karbapenem dirençli *Acinetobacter* türlerinde artışa neden olduğu tespit edilmiş ve dirençli türlerin yayılımını azaltmak için antibiyotik kullanımının azaltılması önerilmiştir. Avrupa ülkelerinde 2008 yılında yapılan bir çalışmada *Acinetobacter* türleri arasında karbapenem direnci ortalama %27 olarak bildirilmiştir. Kuzey Amerika, Güney Amerika, Asya-Pasifik ve Avustralya'da çeşitli merkezlerden yapılan bildirimlerde imipenem direnci %1,2–33 arasında, meropenem direnci ise %6-53 arasında değişmektedir (Giske ve ark., 2008). Çin'de 2007 yılında ülke çapında yapılan bir çalışmaya göre imipeneme %40 direnç geliştiği belirlenmiştir (Wang ve ark., 2008). Ancak 2012 yılında Zhang ve ark. karbapeneme duyarlı olmayan *A. baumannii* izolatlarının yaygınlığının hızlı bir şekilde %80'e ulaştığını bildirmişlerdir (Zhang ve ark., 2012). Ülkemizde ise Tatman-Otkun ve ark. 1994–2000 yıllarında *A. baumannii* izolatları ile yaptıkları çalışmada kökenlerin tamamının imipeneme duyarlı olduğunu bulmuşlardır (Tatman-Otkun ve ark., 2003). Hacettepe Üniversitesi'nde 2000-2004 yılları arasında yapılan MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) antimikrobiyal süveyans programı çalışma sonuçlarına göre meropenemde %53, imipenemde %48 duyarlılık oranları saptanmıştır (Zarakolu ve ark., 2006). Savcı ve ark. *A. baumannii* antibiyotik duyarlılık tespiti için yaptıkları çalışmada 2007 yılında imipenem ve meropeneme dirençli izolat tespit edememişken 2012 yılında

direnç oranının her ikisinde de %96 olduğunu saptamışlardır ve 5 yıllık sürede karbapenemlere hızlı bir şekilde direnç geliştiğini belirtmişlerdir (Savcı ve ark., 2015). Cesur ve ark. 2017’da yaptıkları bir çalışmada üç farklı merkezde, yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 80 *A.baumannii* izolatında ÇİD olduğunu tespit etmişlerdir. Kolistine direnç saptanmamışken IMP’e %94, MEM’e %90 oranında direnç gelişmiştir (Cesur ve ark., 2017). Shoja ve ark. ise E Test ile kolistin dirençli izolat saptamamışken, izolatların %92,5’i imipenem ve meropenem dirençli bulunmuştur (Shoja ve ark., 2017).

A. baumannii’de karbapenemlere direnç gelişimine kromozomal ya da plazmid aktarımlı karbapenemazlar, penisilin bağlayıcı proteinlerin modifikasyonu, efflux sistemleri, dış membran proteinlerinde kayıp, CarO geninin yokluğu neden olabilir (Zarrili ve ark., 2009). Karbapenem dirençli *A. baumannii*’de dirençten sorumlu en önemli mekanizma karbapenemi hidrolize eden beta laktamazlardır. *A. baumannii*’de karbapenem direncine neden olan en yaygın beta-laktamaz tipi; bu türe spesifik olan kazanılmış oksasilinazlardan OXA-23, OXA-24 ve OXA-58 enzimleri ve IMP, VIM, NDM tip MBL enzimleridir. Ayrıca OXA-51 tip doğal oksasilinazın aşırı üretimi de kazanılmış karbapenem direncine neden olmaktadır (Poirel ve Nordmann, 2006). Bunlardan MBL’ler dünyanın bazı bölgelerinde sporadik olarak bildirilmiştir ve class1 integron ile ilişkilendirilmiştir (Zarrili ve ark., 2009). İlk MBL enzimi olan IMP-1, 1988 yılında, Japonya’da bir *P. aeruginosa* kökeninde tespit edilmiştir (Toleman ve ark., 2003). İlerleyen zamanlarda VIM-1 İtalya-Verona’da, NDM-1 Hindistan-New Delhi’de, SPM-1 Brezilya-Sao Paulo ’da, GIM-1 Almanya’da, SIM-1 Güney Kore’de, FIM-1 İtalya’da tespit edilmiştir (Cornaglia ve ark., 2011; Pollini ve ark., 2013).

Son yıllarda karbapenem direnci mekanizması üzerinde en çok durulan MBL enzimlerinin varlığıdır (Pournaras ve ark., 2003). *A. baumannii* izolatlarında OXA tipi karbapenemazlar MBL türü enzimlerden daha sık görülmesine rağmen MBL’lerin karbapenemaz aktivitesi OXA tipi karbapenemazlara göre önemli ölçüde daha potenttir (100-1000 kat). MBL’ler karbapenemlerde dahil tüm beta-laktamları (aztreonam hariç) hidrolize edici kapasiteye sahiptir (Peleg ve ark., 2008). Karbapenem antibiyotiklerin tercih edildiği enfeksiyonlarda etkenin karbapenemaz ve MBL üretimini basit ve güvenilir bir laboratuvar metoduyla tespit etmek etkeni izole etmek kadar önemlidir. MBL üreten izolatların zamanla yaygınlaşmaları ve hızla yayılarak ağır klinik

sonuçlara sebebiyet vermeleri; araştırmacıları özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek, rutinde kolay uygulanabilen yöntemler bulma çabasına yöneltmiştir (Peleg ve ark., 2008). Fenotipik testlerin klinik laboratuvarlarda rutin olarak hızlı ve doğru bir şekilde uygulanması klinik ve epidemiyolojik açıdan önemlidir (Aktaş, 2012).

Erdil ve ark. yaptıkları çalışmada *A. baumannii* izolatlarında MBL pozitifliği en çok %98,9 oranı ile KDDT ve ÇDST ile saptarken, MHT'de %95,7 pozitiflik saptanmıştır (Erdil ve ark., 2014). Ulusoy Al ve ark. MBL'in fenotipik tayini amacıyla 79 *Acinetobacter* izolatının KDDT ile 46'sında (%58,2) MBL üretildiği, ÇDST ile 44'ünde (%55,7), MHT ile 55'inde (%69,6) MBL pozitifliği saptandığı belirtilmiştir. PZR yöntemiyle IMP-1 geni araştırılmış ancak pozitiflik bulunamamıştır (Ulusoy Al ve ark., 2011). Yapılan bir çalışmada MBL üretimi imipenem dirençli *A. baumannii* ÇDST ile %84, KDDT ile %75, MHT ile %74 oranında bulunmuştur (Sesli-Çetin ve ark., 2009).

Yamasaki ve ark.'larının yaptığı çalışmada seftazidim ve sefaperazon/sulbaktam dirençli gram negatif izolatlardan ÇDST pozitif saptanan izolatların hepsinin PZR analizi ile IMP-1 ürettikleri saptanmıştır ve ÇDST'nin duyarlılığının %100 olduğunu belirlemişlerdir (Yamasaki ve ark., 2003). Jesudason ve ark., karbapenemaz ve MBL üretimini tespit etmede EDTA ile ÇDST'nin, modifiye Hodge testine göre daha duyarlı olduğunu bulmuşlardır (Jesudason ve ark., 2005). ÇDST'nin değerlendirilmesinde imipenem inhibisyon zonunun EDTA'ya doğru genişlemesi subjektif değerlendirmelere neden olabilmektedir. ÇDST değerlendirmesinde dikkat edilmesi gereken diğer bir nokta imipenem dirençli izolatlarda, imipenem diskinden EDTA diskine doğru genişleyen inhibisyon zonu rahatlıkla gözlenebilirken, imipeneme duyarlı veya orta duyarlı izolatlarda imipenem diski etrafında var olan inhibisyon zonu testin değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır. Bu gibi durumlar yanlış negatif sonuca neden olabilmektedir. Ayrıca ÇDST yapılan çalışmalarda duyarlılığı yüksek bir test olmasına karşın diskler arasındaki mesafe imipenem disk çapının yarısı kadar uzatıldığında sonuçlar negatif olarak değerlendirilebilmektedir. Bu nedenle birçok çalışmada kombine disk yöntemi çift disk sinerji testine tercih edilmektedir (Mükerrem, 2005). Biz de çalışmamızda diskler arasındaki mesafeyi 20 mm'den 12 mm'ye düşürdüğümüzde negatif olan sonuçları pozitif olarak saptadık.

Yan ve ark.'nın fenotipik yöntemleri karşılaştırdıkları çalışmalarında *A. baumannii* ve *Pseudomonas* kökenleri için ÇDST'nin duyarlılığını KDDT'den daha yüksek olarak saptamışlardır. *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* için duyarlılık ve özgülük oranları, sırasıyla ÇDST'de %95,7 ve %95, KDDT'de %87 ve %96,7 olarak tespit etmişlerdir (Yan ve ark., 2004). Oh ve ark. *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* izolatlarından disk difüzyon yöntemiyle imipenem ve/veya seftazidim dirençli saptadıkları izolatlara KDDT uygulamış ve sonuçları PZR analizi ile doğrulamışlardır. KDDT'nin IMP üreten izolatların fenotipik tanısında başarısız olduğunu ancak VIM üreten izolatlarının fenotipik tanısındaki duyarlılığının %93,9 olduğunu bildirmişlerdir (Oh ve ark., 2003). Gupta ve ark.'nın çalıştıkları imipenem dirençli 46 *Acinetobacter* izolatından 19 'unda (%41,3) KDDT ile, 12 izolatta ise E-test yöntemiyle MBL pozitifliği saptamışlardır ve E-test pozitifliği saptanan tüm izolatlarda KDDT'nin de pozitif olduğunu bildirmişlerdir (Gupta ve ark., 2012). Hacettepe Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada *Acinetobacter* izolatlarının %51,6'sında KDDT ile MBL fenotipi izlenmiş, ancak izolatlarda IMP-1 ve VIM-2 genleri negatif saptanmıştır (Eser ÖK., 2009). Benzer şekilde Türk Dağı ve ark. yaptıkları çalışmada karbapenem dirençli 202 *A. baumannii* suşunun 139'unda (%69) KDDT ile MBL pozitifliği bulmalarına rağmen PZR ile kökenlerin hiçbirinde IMP ve VIM genleri tespit edememişlerdir (Türk Dağı ve ark., 2012). Bizde çalışmamızda ÇDST ile %94,1, KDDT ile %86,4 MBL pozitifliği saptamamıza rağmen PZR ile hiçbir izolatta IMP, VIM ve NDM genleri tespit edemedik. Yapılan çalışmalara bakıldığında fenotipik testlerle MBL pozitifliği saptanan izolatlarda PZR analizi ile MBL genine rastlanmamaktadır. KDDT ve ÇDST gibi fenotipik testler MBL'nin EDTA ile inhibisyonu özelliğine dayanmaktadır. EDTA yüksek konsantrasyonlarda bakterinin hücre zarı geçirgenliğini artırabilmektedir ve bakterisidal etkili olabilmektedir. Bu durum yanlış pozitifliklere neden olabilmektedir (Ratkai ve ark., 2009).

MHT MBL tespitinde ÇDST, KDDT gibi EDTA ile inhibisyon temeline dayanmamaktadır. Oh ve ark. (2003) yılında yayınlanan raporlarında MHT'nin MBL üreten izolatların hepsini tanımlayamadığını, yanlış negatif sonuçlar alınabildiğini belirtmektedir (Oh ve ark., 2003). Lee ve ark., 1995-1999 yılları arasında imipenem dirençli *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* izolatlarında modifiye Hodge testinin duyarlılığını %100, özgülüğünü ise %88 olarak saptamışlardır. MHT'nin MBL üreten

izolatların hepsini tanımlayamadığını, yanlış negatif sonuçlar alınabildiğini belirtmişlerdir (Lee, 2001). Amudhan ve ark. 2012’de yaptıkları bir çalışmada MBL pozitifliğini fenotipik testlerden MHT ile %94,4, KDDT ile %80,4 olarak buldukları *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* kökenlerinde genotipik yöntemle %51,4 oranında VIM ve IMP genlerini tespit etmişlerdir (Amudhan ve ark., 2012). MBL dışında bazı enzimler de imipenem hidrolizine neden olmaktadır. MHT kolay uygulanılabilen bir test olmasına rağmen tek başına kullanıldığında KPC, OXA ve MBL gibi karbapenemazların ayırımını yapamaz. Ayrıca sürekli yüksek düzeyde sentezlenen kromozomal AmpC enzimleri de imipenemin hidrolizine yol açabilmektedir. Bu sebeplerden dolayı MHT’nin özgüllüğü düşüktür (Patel ve ark., 2009). Çalışmamızda fenotipik testler içinde en düşük pozitiflik 73 (%70,8) izolatla MHT’de görülmüştür. MHT pozitifliğinin diğer fenotipik testlerden daha düşük olması MHT’nin MBL tespitinde yalancı negatifliklere neden olabileceğini düşündürmüştür. Besiyerine EDTA eklenerek geliştirilecek yeni bir yöntem MHT’de yalancı negatifliği azaltarak testin özgüllüğünü arttırabilir.

Karbapenem inaktivasyon testi (KİT) gram negatif bakterilerde karbapenemaz üretimini 6-24 saatte tespit eden yeni bir testtir. 2008-2014 yıllarında *Enterobacteriaceae* izolatları ile yapılan bir çalışmada karbapenemlerden en az birisine dirençli izolatlardan PZR ile karbapenemaz geni saptanan tüm izolatlarda KİT testi pozitif, PZR ile karbapenemaz saptanmayan tüm izolatlarda KİT testi negatif olarak saptanmıştır. KİT testinin duyarlılığı ve özgüllüğü %100 olarak tespit edilmiştir (Bayramoğlu ve ark, 2016). Van der Zwaluv ve ark. yaptıkları çalışmada KİT’in hem özgüllük hem duyarlılığını %100, Tijet ve ark. özgüllüğünü %100, duyarlılığını ise %98,8 olarak tespit etmişlerdir (Van der Zwaluv ve ark., 2015; Tijet ve ark., 2016). Demiray ve ark. 2017’de *K. pneumoniae* izolatlarında KİT’in tanısal değerinin modifiye Hodge testi ile kıyaslanması ve rutin laboratuvar pratiğinde kullanımının irdelenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada karbapenemaz üreten karbapenem dirençli 60 izolat ve karbapenem duyarlı 60 izolat kullandılar. Moleküler yöntem ile karbapenemaz kodlayan 60 *Klebsiella* izolatında modifiye Hodge testi ile 54 (%90), karbapenem inaktivasyon testiyle 52 (%86,6) adet izolatta pozitiflik saptandı. Moleküler yöntem altın standart olarak değerlendirildiğinde; modifiye Hodge testinin ve karbapenem inaktivasyon testlerinin duyarlılıkları sırasıyla 0,85 ve 0,80, özgüllükleri ise 0,95 ve 0,93 olarak tespit

ettiler (Demiray ve ark., 2017). Biz çalışmamızda %95,1 oranında KİT pozitifliği saptadık ancak pozitif gen bölgesi bulamadığımızdan değerlendirme yapamadık.

Henüz EUCAST'da MBL üretimini saptamak için önerilen standart bir yöntem bulunmamaktadır. MBL varlığını göstermek için uygulanan fenotipik yöntemlerden hangisinin daha iyi bir yöntem olduğu konusunda netlik oluşmamıştır.

Fenotipik testler MBL tespiti için basit, ucuz, rutinde kullanılabilir testler olmasına rağmen şimdilik güvenilir bir fenotipik test bulunmadığından dolayı bu testleri doğrulamak gereklidir. Fenotipik olarak MBL varlığı tespit edilen izolatlar doğrulamak amaçlı genotipik testler çalışılmalıdır.

Ocak ve ark.'ları 2015'de yaptıkları bir çalışmada 150 *Acinetobacter* izolatının %44,7'sinde E-Test ile MBL üretimi saptamış olup hiçbir izolatta IMP-1, IMP-2, VIM-1 ve VIM-2 geni tespit edememişlerdir (Ocak ve ark., 2015). Başka bir çalışmada 2003-2004 yıllarında imipenem dirençli 545 *Acinetobacter* spp. izolatının 135'inde MBL pozitifliği saptanmıştır. PZR ile izolatların %61'inde IMP-1, %33'ünde VIM-2 ve %6'sında SIM-1 geni tespit edilmiştir (Lee ve ark., 2005). Mezzatesta ve ark. 107 *Acinetobacter* izolatında %50 oranında karbapenem direnci saptamıştır ve izolatların hiçbirisinde VIM ve IMP genlerine rastlamamıştır (Mezzatesta ve ark., 2008). Yine 2008'deki bir çalışmada karbapenem dirençli 31 *Acinetobacter* spp. izolatlarından IMP-1 15 izolatta, VIM-2 ise sadece bir izolatta tespit edilmiştir (Sung ve ark., 2008). Karthika ve ark.'nın çalışmasında 39 (%70,9) izolatta ÇDST yöntemiyle MBL pozitifliği saptanmışken IMP-1 geni 23 (%42) izolatta bulunmuş, VIM-2 ise hiçbir izolatta tespit edilememiştir (Karthika ve ark., 2009). Villalon ve ark. fenotipik olarak MBL pozitif buldukları 40 *A.baumannii* izolatlarının hiçbirinde PZR yöntemiyle MBL gen pozitifliği saptamamışlardır (Villalon ve ark., 2013). Azimi ve ark. imipenem dirençli 65 *A. baumannii* izolatında PZR ile %12,5 VIM geni saptamış olup izolatların hiçbirinde IMP, NDM-1 ve SPM-1 genlerini tespit edememişlerdir (Azimi ve ark., 2015). Aksoy ve ark. 52 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatında MHT ile %96 karbapenemaz pozitifliği tespit etmişler, ÇDST ile %21 ve KDDT ile %98 MBL pozitifliği saptamalarına rağmen IMP, VIM, GIM, SIM, SPM ve NDM gen pozitifliği saptamamışlardır (Aksoy ve ark., 2015). Shoja ve ark. 2017'de yaptıkları çalışmada yanık hastalarında izole ettikleri *A. baumannii* izolatlarında ÇDST ve E-test sonuçlarına

göre sırasıyla %55,6 ve %97,3 MBL pozitifliği saptarken, PZR 'de NDM, IMP, VIM, SPM gen bölgelerinin hiçbirini tespit edememişlerdir (Shoja ve ark., 2017).

Biz çalışmamızda MHT'de %70,8, KİT'de %95,1, ÇDST'de %94,1, KDDT'de %86,4 oranında pozitiflik saptamamıza rağmen PZR'da IMP, VIM, NDM genleri tespit edemedik. MBL üretimi fenotipik testlerde yüksek oranda saptanmasına rağmen moleküler yöntemlerle tespit edilememiştir. Bu sonuçlar başka bir MBL geni ile ilişkili gerçek pozitif olabilir. PZR'da daha çok sayıda gen bölgesi bakılması fenotipik testlerin güvenli bir şekilde duyarlılık ve özgüllüğünün belirlenmesini sağlar. Böylece rutin laboratuvarında kullanılmak üzere pratik, ucuz, kolay uygulanabilir fenotipik testler belirlenmiş olur. Ayrıca fenotipik testlerde yalancı pozitiflik yoksa yüksek oranda fenotipik olarak MBL pozitifliğine sebep olan genlerin saptanmasına olanak sağlar.

Bunun dışında KDDT ve ÇDST gibi testler EDTA ile yapılan testler olduğundan dolayı EDTA'nın bakterisidal etkisine bağlı olarak yalancı pozitiflikler oluşmuş olabilir. MHT ve KİT test pozitifliğine diğer karbapenemazlar, penisilin bağlayıcı proteinin değişimi, dışa atım pompaları, porin kaybı ve azalmış permeabilite neden olmuş olabilir.

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de *Acinetobacter* izolatlarında karbapenem direncinde artış görülmektedir. Dirence neden olan enzimleri kodlayan genlerin çoğu yüksek mobil genetik elementlerinde lokalizedir. Karbapenem direncinin ve MBL üretiminin tespiti dirençli izolatların yayılmasını engellemesi açısından önemlidir. Ayrıca bakterilerde var olan direnç mekanizmalarının tespit edilmesinin uygun antibiyotik seçiminde yarar sağlayacağı, hastanelerin ampirik tedavi seçeneklerini belirlemede ve koruyucu önlemlerin alınmasında yol gösterici olabileceği düşünülmektedir. Böylece hastalığın daha kısa sürede tedavi edilebilmesi ve olası komplikasyonların önüne geçilmesi sağlanacaktır.

6. SONUÇ

1. Çalışmaya Ocak 2017 ile Mayıs 2017 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıp Laboratuvarları Bakteriyoloji Altdisiplin Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen tekrarı olmayan karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatları dahil edilmiştir.

2. *A. baumannii* izolatlarının büyük çoğunluğu YBÜ'den (%45,6) gelmiştir. YBÜ'sini nöroloji (%14,5) ve göğüs hastalıkları servisi (%9,7) servisi takip etmiştir.

3. *A. baumannii* izolatlarının büyük çoğunluğu trakeal aspirattan (%47,5) izole edilmiştir. Trakeal aspiratı sırasıyla kan (%23,3), yara (%11,6), balgam (%9,7), idrar (%5,8), BOS (%0,9) ve plevral sıvı (%0,9) takip etmiştir.

4. *A. baumannii* izolatlarının hepsi kolistine duyarlıdır. Kolistinden sonra amikasine en az direnç (%49,5) gelişmiş, amikasini gentamisin (%71,8) ile trimethoprim/sulfamethoxazol (%79,6) takip etmiştir. Levofloksasin ve siprofloksasine ise tüm izolatlarda direnç saptanmıştır.

5. *A. baumannii* izolatlarında MBL pozitifliği saptamak için fenotipik testler yapılmıştır. ÇDST ile %94,1, KDDT ile %86,4, MHT ile %70,8, KİT ile %95,1 pozitiflik saptanmıştır.

6. Karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında MBL üretiminden sorumlu NDM, VIM, IMP gen bölgelerini saptamak için multipleks PZR yapılmıştır. Yapılan tüm PZR'larda pozitif kontrol olarak kullanılan NDM, VIM, IMP gen bölgelerine ait bandlarda görüntü saptanırken klinik izolatlarda NDM, VIM, IMP gen bölgelerinde pozitiflik saptanmamıştır.

7. MBL üretimi fenotipik testlerde yüksek oranda saptanmasına rağmen moleküler yöntemlerle tespit edilememiştir. PZR'da daha çok sayıda gen bölgesi bakılması fenotipik testlerin güvenli bir şekilde duyarlılık ve özgüllüğünün belirlenmesini sağlar. Aynı zamanda fenotipik testlerde yalancı pozitiflik olup olmadığını saptar. Fenotipik testlerde yalancı pozitiflik yoksa yüksek oranda fenotipik olarak MBL pozitifliğine sebep olan genlerin saptanmasına olanak sağlar.

7. KAYNAKLAR

- Adams-Haduch JM, Paterson DL, Sidjabat HE, Pascual Aw, Potoski BA, Muto CA. 2008 Genetic Basis Of Multidrug Resistance In *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates at A Tertiary Medical Center in Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother*; 52: 3837-3843.
- Akalın H. 2007. Kolistin. *Ankem Derg*, 21(Ek 2):26-8,
- Akova M, Kayaalp SO. 2009. Beta-Laktam Antibiyotikler 1: Penisilinler. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Kayaalp SO. 12. Baskı. Ankara: Pelikan Yayıncılık. S.: 167-187
- Aksoy MD, Çavuşlu Ş, Tuğrul HM. 2015. Investigation of Metallo Beta Lactamases and Oxacilinases in Carbapenem Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Inpatients. *Balkan Med J*, 32:79-83
- Aktaş AE, Yiğit N, Kayserili F, Ayyıldız A. 2009. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları ve Metallobetalaktamaz Üretiminin Araştırılması. *Enfeksiyon Dergisi (Turkish Journal Of Infection)*, S. 23 (2): 57-62.
- Aktaş Z. 2012. Direnç Mekanizmaları ve Direnç Belirleme Yöntemleri. *Ankem Derg*, S. 26 (2):278-282
- Allen DM, Hartman BJ. 2005. *Acinetobacter* Species. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, Eds. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice Of Infectious Diseases*. 6 Th Ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2:2632-2636.
- Allen DM, Hartman BJ. 2009. *Acinetobacter* Species In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, Eds. *Mandell, Douglas And Bennett's Principles and Practice Of Infectious Diseases*, 7th Ed. 2281-2285.
- Altunok ES, Koç MM. 2014. Yoğun Bakım Ünitesinden İzole Edilen *Acinetobacter* Suşlarının Yıllara Göre Antibiyotik Direnç Oranlarının Karşılaştırılması. *Ankem Derg*, 28.1: 1-7.
- Amudhan MS, Sekar U, Kamalanathan A, Balaraman S. 2012. bla(IMP) and bla(VIM) mediated carbapenem resistance in *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species in India. *J Infect Dev Ctries*, 6:757-62.
- Aral M, Doğan S, Paköz Nİ. 2010. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Antibiyotiklere Direnç Oranlarının Araştırılması. *Ankem Derg*, 24(4):215-9.
- Aşık G. 2011. *Acinetobacter baumannii* Virülansında Güncel Yaklaşımlar. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 45(2), 371- 380
- Ayan M, Durmaz R, Aktas E, Durmaz B. 2003. Bacteriological, Clinical and Epidemiological Characteristics Of Hospital Acquired *Acinetobacter*

- baumannii* Infection in a Teaching Hospital. J Hosp Infect, 54(1):39–45.
- Azimi L, Talebi M, Pourshafie MR, Owlia P, Lari AR. 2015. Characterization of Carbapenemases in Extensively Drug Resistance *Acinetobacter baumannii* in a Burn Care Center in Iran. Int J Mol Cell Med, Vol:4, No:1
- Bahar G, Mazzariol R, Koncan R, Mert A, Fontana R, Rossolini Gm. 2004. Detection Of *Vim-5* Metallo-Betalactamase in a *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolate From Turkey. J Antimicrob Chemother, 54:282-3.
- Bahar İH, Esen N. 2008. *Acinetobacter* Türleri ve Diğer Gram Negatif Nonfermentatif Basiller. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2195-2201.
- Bartual SG, Seifert H, Hippler C, Luzon MA. 2005. Wisplinghoff H, Rodriguez-Valera F. Development Of A Multilocus Sequence Typing Scheme For Characterization Of Clinical Isolates Of *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol, 43 (9), 4382-4390.
- Başustaoglu A, Özyurt M. 1998. Nozokomiyal Patojen Olarak *Acinetobacter*'lerin Mikrobiyolojik, Klinik ve Epidemiyolojik Özellikleri. Hastane İnfeksiyonları Dergisi, 2: 88-93.
- Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY. 1968. A Study Of The Moraxella Group Oxidative-Negative Species (Genus *Acinetobacter*). J Bacteriol, 95:1520-1541
- Bayramoğlu G, Uluçam G, Özgür GÇ. 2016. Karbapenem Üreten *Enterobacteriaceae* Suşlarının Saptanmasında Karbapenem İnaktivasyon Yönteminin Değerlendirilmesi Mikrobiyol Bul,50(3):505-507
- Behera B, Mathur P, Das A, Kapil A, Sharma V. 2008. An Evaluation Of Four Different Phenotypic Techniques For Detection Of Metallo-Beta-Lactamase Producing *Pseudomonas aeruginosa*. Indian J Med Microbio, S. 26: 233-7.
- Bergogne-Berezin E, Towner KJ. 1996. *Acinetobacter* spp As Nosocomial Pathogens. Microbiological Clinical and Epidemiological Features. Clin Microbiol Rev, 9, 148- 65.
- Bergogne-Berezin E. 2008. Importance Of *Acinetobacter Spp*. Ed: Bergogne-Berezin E. *Acinetobacter* Biology And Pathogenesis, 1-85, Springer, Paris, France
- Bonomo, RA, Szabo D. 2006. Mechanisms Of Multidrug Resistance in *Acinetobacter* Species and *Pseudomonas aeruginosa*. Clinical Infection Diseases, 43: 49–56.
- Bou G, Cervero G, Dominguez MA, Quereda C, Martinez-Beltra J. 2000. Characterization Of A Nosocomial Outbreak Caused By A Multiresistant *Acinetobacter baumannii* Strain With A Carbapenem-Hydrolyzing Enzyme: High-Level Carbapenem Resistance In *A.baumannii* is Not Due Solely To The Presence Of β -Lactamases. J Clin Microbiol, S.3299-3305.

- Budak S, Aktas Z, Erdem H. 2012. Enterik Gram Negatif Bakterilerde Laboratuvaradan Kliniğe Karbapenemazlar. *J Infect Microb Antimicrob*, S. 1(1): 1-11.
- Bush, K., Jacoby GA. 2010. Updated Functional Classification Of Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 54: 969-976.
- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. 1995. A Functional Classification Scheme For Betalactamases and Its Correlation With Molecular Structure. *Antimicrob Agents Chemother*, 39: 1211-33.
- Can F, Azap Ö. 2006. Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Biyofilm Oluşumu. *İnfeksiyon Dergisi*, 20(3), 159-163.
- Cesur S, Irmak H, Yalçın N, Berktaş M, Baysan B, Demiröz AP. 2017. Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastaların Çeşitli Kültür Örneklerinden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. *Ortadoğu Tıp Dergisi*, 9 (2): 51-5
- Clark NM, Patterson J, Lynch JP. 2003. Antimicrobial Resistance Among Gramnegative Organisms In The Intensive Care Unit. *Lippincott Williams & Wilkins*, 9, 413-423.
- Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. 2011. Metallo-B-Lactamases: A Last Frontier For B-Lactams? *Lancet Infect Dis*, 11:381-93.
- Çalık N, Akova M. 2007. Tigesiklin. *Ankem Dergisi*, 21 (Ek 2); 29-33. 76
- Çiftçi İH, Aşık G, Karakeçe E. 2013. Distribution Of Bla_{oxa} Genes In *Acinetobacter baumannii* Strains: A Multicenter Study. *Mikrobiyol Bul*, 47(4): 592-602.
- Çiftçi İH, Aşık G. 2011. *Acinetobacter baumannii*'nin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları. *Ankem*, 25(3):196-207
- Çokça F. 2008. Tetrasiklinler. *Enfeksiyon Hastalıkları Ve Mikrobiyolojisi*. Wilke A, Söyletir G, Doğanay M. 3. Baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri, S.: 308-313.
- Dagata, EMC, Thayer V, Schaffner W. 2000. An Outbreak Of *Acinetobacter baumannii*: The Importance Of Cross-Transmission. *Infection Control And Hospital Epidemiology*, 21: 588-591.
- Danel F, Hall LMC, Gür D, Akalın HE, Livermore DM. 1995. Transferable Production Of Per-1 Betalactamase In *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*, 35: 281-94. 39.
- Demiray T, Aydemir Ö, Kılıç Ü, Yılmaz K, Köroğlu M, Altındış M. 2017. Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Karbapenemaz Saptanmasında Karbapenemaz İnaktivasyon Testinin Kullanımı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 47(2):78-82,
- Doughari HJ, Ndakidemi PA, Human IZ, Benade S. 2011. The Ecology, Biology And

- Pathogenesis Of *Acinetobacter* Spp.: An Overview. *Microbes Environ*, 26:101-112
- Erbay A, Idil A, Gozel MG, Mumcuoglu I, Balaban N. 2009. Impact Of Early Appropriate Antimicrobial Therapy On Survival İn *Acinetobacter baumannii* Bloodstream İnfections. *Int J Antimicrob Agents*, 34(6):575-9,.
- Erdil Z, M. Uyanık H, Yazgı H, Ayyıldız A. 2014. Nonfermentatif Gram Negatif Basillerde Metallobetalaktamaz Varlığının Araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 44(1):10-17,
- Ermertcan S, Hosgor M, Tunger O. 2001. Investigation Of Synergism Of Meropenem And Ciprofloxacin Against *Pseudomonas aeruginosa* And *Acinetobacter* Strains Isolated From İntensive Care Unit İnfections. *Scand J Infect Dis*, 33: 818–821,
- Eser ÖK, Ergin A, Haşçelik G. 2009. Erişkin hastalardan izole edilen *Acinetobacter* türlerinde antimikrobiyal direnç ve metallo-beta-laktamaz varlığı. *Mikrobiyol Bul*;43:383-90.
- Espinal P, Fugazza G, Lopez Y, Kasma M, Lerman Y, Malhotra-Kumar S. 2011. Dissemination Of An Ndm-2-Producing *Acinetobacter baumannii* Clone İn An Israeli Rehabilitation Center. *Antimicrob Agents Chemother*, 55:5396-8.
- Ewig S, Bauer T, Torres A. 2002. The Pulmonary Physician İn Critical Care 4: Nosocomial Pneumonia. *Thorax*, 57(4):366-71.
- Falagas ME, Karageorgopoulos DE. 2008. Pandrug Resistance (Pdr), Extensive Drug Resistance (Xdr) and Multidrug Resistance (Mdr) Among Gram Negativebacilli: Need For İnternational Harmonization İn Terminology. *Clin Infect Dis*, 46:1121-1122.
- Ferrara AM. 2006. Potentially Multidrug-Resistant Non-Fermentative Gram-Negative Pathogens Causing Nosocomial Pneumonia. *Int J Antimicrob Agents*, 27,183–195
- Fournier PE, Richet H. 2006. The Epidemiology And Control Of *Acinetobacter baumannii* İn Health Care Facilities. *Clin Infect Dis*, 42(5), 692-9.
- Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Fernandez-Hinojosa. 2005. *Acinetobacter baumannii* Ventilator-Associated Pneumonia: Epidemiological And Clinical Findings. *Intensive Care Med*, 31:649–655.
- Giske GC, Monnet DL, Cars O. 2008. Clinical and Economic Impact Of Common Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52 (3): 813-821.
- Goic-Barisic I, Tonkic M. 2009. The Review Of Carbapenem Resistance İn Clinical İsolates Of *Acinetobacter baumannii*, *Acta Med Croatica*, 63(4):285-96.
- Gordon NC, Wareham DW. 2010. Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms Of Virulence And Resistance. *Int J Antimicrob Agents*, 35(3), 219-

26.

- Gupta V, Sidhu S, Chander J. 2012. Metallo- β -Lactamase Producing Nonfermentative Gram-Negative Bacteria: An Increasing Clinical Threat Among Hospitalized Patients. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 718-721.
- Gözütok F, Sarıgüzel FM, Çelik İ, Berk E, Aydın B, Güzel D. 2013. Hastane İnfeksiyonu Etkeni *Acinetobacter Baumannii* Suşlarının Antimikrobiyal Direnç Oranlarının Araştırılması. *Ankem Derg*, 27.1: 7-12.
- Güler Ö, Aktaş O, Uslu H. 2008. Klinik Örneklerden İzole Edilen Bakterilerde Betalaktamaz Varlığının ve Çeşitli Antibiyotik Gruplarına Karşı Duyarlılıkların Araştırılması. *Ankem Derg*, 22(2):72-80.
- Gülhan B, Nergiz Ş, Meşe S, Özekinci T, Atmaca S. 2009. *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Tigesiklin İçin Disk Difüzyon Yöntemiyle Elde Edilen Zon Çaplarının İki Farklı Kritere Göre Değerlendirilmesi. *Ankem Derg*, 23(2):78-81
- Gür D. 1996. Gram Negatif Bakterilerde Aminoglikozid Antibiyotiklere Direnç ve Aminoglikozidleri Değiştirici Enzimler. *Ankem Dergisi*, 10: 247-251.
- Gür D. 2005. Beta-Laktamazlar In: Ulusoy (Ed) Beta-Laktamazlar Ve Klinik Önemi. Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara: 35-44.
- Gür D. 1997. Hastane İnfeksiyonlarında Önem Kazanan Gram Negatif Bakterilerde Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları. *Hastane İnfek Derg*, 1: 38-45.
- Hanna H, Afif C, Alakech B, Boktour M, Tarrand J, Hachem R. 2004. Central Venous Catheter Related Bacteremia Due To Gram Negative Bacilli: Significance Of Catheter Removal In Preventing Relapse. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 25(8):646-9,.
- Hancock, R. E. W. 1998. Resistance Mechanisms In *Pseudomonas Aeruginosa* And Other Nonfermentative Gram-Negative Bacteria. *Clinical Infection Diseases*.1: 38-45.
- Hartzel DJ, Kim SA, Kortepeter MG, Moran KA. 2007. *Acinetobacter* Pneumonia: A Review. *Med Gen Med*,9(3):4-11.
- Heritier C, Poirel L, Nordmann P. 2005. Contribution Of Acquired Carbapenem Hydrolyzing Oxacillinases To Carbapenem Resistance In *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 49 (8): 3198-3202.
- Hooper GC. 2000. Quinolones. In: Mandell Gl, Bennett JE, Dolin R (Eds.). *Mandell, Douglas And Bennett's Principles And Practice Of Infectious Diseases*. 5th Ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 404-19
- Hornsey M, Phee L, Wareham DW. 2011. A Novel Variant, Ndm-5, Of The New Delhi Metallo-B-Lactamase In A Multidrug-Resistant *Escherichia Coli* St648 İsolate Recovered From A Patient In The United Kingdom. *Antimicrob Agents*

- Chemother, 55:5952-4.
- Hsueh PR. 2010. New Delhi Metallobeta-Lactamase-1 (Ndm-1): An Emerging Threat Among *Enterobacteriaceae*. J Formos Med Assoc, 109:685-7.
- Huys G, Cnockaert M, Vaneechoutte M, Woodford N, Nemec A, Dijkshoorn L, Swings J. 2005. Distribution of tetracycline resistance genes in genotypically related and unrelated multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains from different European hospitals Research in Microbiology. 156; 348–355
- Iraz M, Ceylan A, Akkoyunlu Y. 2012. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter* Türlerinde Antibiyotik Direnç Oranlarının İncelenmesi. Ankem Derg, 26(2), 80-85.
- Ito H, Arakawa Y, Ohsuka S, Wacharotayankun R, Kato N. 1995. Plasmid Mediated Dissemination Of The Metallo-B-Lactamase Gene Blamp Among Clinically İsolated Strains Of *Serratia Marcescens*. Antimicrob. Agents Chemother, S. 39: 824-829.
- Jawad A, Hawkey PM, Heritage, J, Snelling AM. 1994. Description Of Leeds *Acinetobacter* Medium A New Selective And Differential Medium For İsolation Of Clinically
- Jesudason M.V., Kandathil A.J, Balaji V. 2005. Comparison Of Two Methods To Detect Carbapenemase And Metallo-Beta-Lactamase Production İn Clinical İsolates. Indian Journal Medical Research. 121: 780-783.
- Kaase M, Nordmann P, Wichelhaus TA, Gatermann SG, Bonnin RA, Poirel L. 2011. Ndm-2 Carbapenemase İn *Acinetobacter baumannii* From Egypt. J Antimicrob Chemother, 66:1260-2.
- Karaca S, Çırak K, Halilçolar H: 2005. Ventilatörle İlişkili Pnömoni Tanısında Derin Trakeal Aspirat ve Bronkoalveoler Lavaj Örneklerinin Kantitatif Kültürlerinin Sonuçları Ve Karşılaştırılması, Solunum, 7 (1): 13-17.
- Karthika RU, Rao RS, Sahoo S, Shashikala P, Kanungo R. 2009. Phenotypic and Genotypic Assays For Detecting The Prevalence Of Metallo-B-Lactamases İn Clinical İsolates Of *Acinetobacter baumannii* From A South Indian Tertiary Care Hospital. Journal Of Medical Microbiology, S. 58: 430–435.
- Kayaalp SO. 2009. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji Aminoglikozidler. 12. Baskı. Ankara: Türkiye: Pelikan Yayıncılık. S.: 209-213.
- Keskin H, Tekeli A, Dolapçı İ, Öcal D.,2014. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarında beta-Laktamaz Kaynaklı Direncin Moleküler Karakterizasyonu, Mikrobiyol Bul; 48(3): 365-376
- Kılıç Ü, Demirağ T, Aldındış M. 2016. Karbapenemaz Üreten *Enterobacteriaceae* İzolatlarının Saptanmasında Fenotipik Ve Genotipik Metodlar. Ankem Dergi, 30(2);62-75

- Lanbaran NS. 2001. Nazokomiyal *Acinetobacter baumannii* Kökenlerinde Antibiyotik Direnci ve Antimikrobiyal Sinerjizmin Araştırılması. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi.
- Lauretti L, Riccio MI, Mazzariol A, Cornaglia G, Amicosante G, Fontana R. 1999. Cloning And Characterization Of blaVIM, A New Integron-Borne Metallo-B-Lactamase Gene From A *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolate. *Antimicrob Agents Chemother*, 43:1584-90.
- Leblebicioglu H, Rosenthal VD, Arıkan OA, Özgültekin A, Yalçın AN, Köksal I. 2007. Device-Associated Hospital-Acquired Infection Rates In Turkish Intensive Care Units. Findings Of The International Nosocomial Infection Control Consortium , *J Hosp Infect*, 65(3):251-7.
- Lee K, Chong Y, Shin HB, Kim YA, Yong D. 2001. Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo-beta-lactamase- producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clin Microbiol Infect Dis*, 7:88-102.
- Lee JK, Lee YS, Park YK, Kim BS. 2005. Mutations In The Gyra and Parc Genes In Ciprofloxacin-Resistant Clinical Isolates Of *Acinetobacter baumannii* In Korea. *Microbiol Immunol*, (7), 647-53.
- Lee K, Kim CK, Hong SG. 2010. Characteristics Of Clinical Isolates Of *Acinetobacter* Genomespecies 10 Carrying Two Different Metallo-Beta-Lactamases. *Int J Antimicrob Agents*, 36(3), 259-63
- Lee K, Yum JH, Yong D, Lee HM, Kim HD. 2005. Novel Acquired Metallo-B-Lactamase Gene, BlaSIM-1, In A Class 1 Integron From *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates From Korea. *Antimicrob Agents Chemother*, S. 49:4485-91.
- Livermore DM. 1995. Beta-Lactamases In Laboratory and Clinical Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 8: 557-584.
- Livermore DM. 2005. Tigecycline: What Is It And Where Should It Be Used? *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 56 (4): 611-614.
- Mansur A, Kuzucu Ç, Ersoy Y, Yetkin F. 2009. İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezinde 2008 Yılında Yatan Hastalardan İzole Edilen *Acinetobacter* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. *Ankem Derg*, 23(4), 177-181.
- Martins HS, Bomfim MR, França RO, Farias LM, Carvalho MA, Serufo JC and Santos SG. 2014. Resistance Markers and Genetic Diversity in *Acinetobacter baumannii* Strains Recovered from Nosocomial Bloodstream Infections. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 11,1465-1478
- Marques MB, Brookings ES, Moser SA, Sonke PM, Waites KB. 1997. Comparative In Vitro Antimicrobial Susceptibilities Of Nosocomial Isolates Of *Acinetobacter baumannii* and Synergistic Activities Of Nine Antimicrobial Combinations. *Antimicrob Agents Chemother*, 41, 881- 5.

- Metan G, Alp E, Aygen B, Sumerkan B. 2007. *Acinetobacter baumannii* Meningitis İn Post-Neurosurgical Patients: Clinical Outcome and İmpact Of Carbapenem Resistance. J. Antimicrob. Chemother, 60:197–199
- Mezzatesta ML, Trovato G, Gona F. 2008. Invitro Activity Of Tigecycline And Comparators Againstcarbapenem-Susceptible And Resistant *Acinetobacter baumannii* Clinical İsolates İn Italy. Ann Clin Microbiol Antimicrob, S. 7: 4.
- Migliavacca R, Docquier JD, Mugnaioli C. 2002. Simple Microdilution Test For Detection Of Metallo-Betalactamase Production İn *Pseudomonas aeruginosa*. J Clin Microbiol, S. 40:4388- 4390
- Munoz-Price LS, Weinstein RA. 2008. *Acinetobacter* Infection. N Engl J Med, 358 (12), 1271.
- Mükerrem A. 2005. Rutin Laboratuvarımızda Etken Olarak İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Kökenlerinde Metallo-Beta-Laktamaz Varlığının Fenotipik Ve Genotipik Yöntemlerle Saptanması Ve Elde Edilen Sonuçların KarşıLaştırılması [Yüksek Lisans Tezi]. İstanbul: Marmara Üniversitesi.
- Nemec A, Dolzani L, Brisse S, Van Den Broek P, Dijkshoorn L. 2004. Diversity Of Aminoglycoside-Resistance Genes and Their Association With Class 1 İntegrans Among Strains Of Pan-European *Acinetobacter baumannii* Clones. J Med Microbiol, 53(12), 1233-40.
- Nordmann P, Boulanger AE, Poirel L. 2012. NDM-4 Metallo-B-Lactamase With İncreased Carbapenemase Activity From *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother,56:2184-6.
- Nordmann P, Poirel L, Toleman MA, Walsh TR. 2011. Does Broad Spectrum B-Lactam Resistance Due To NDM-1 Herald The end Of The Antibiotic Era For Treatment Of İnfections Caused By Gram-Negative Bacteria? J Antimicrob Chemother, 66:689-92.
- Ocak M, Özer B, İnci M, Duran N. 2015. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter* Kökenlerinde Antibiyotik Direnci ve IMP-1, IMP-2, VIM-1, VIM-2 Tipi Metallo-B-Laktamazların Araştırılması, Klimik Dergisi, 28(1): 23-7
- Oh Ej, Lee S, Park YJ. 2003. Prevalence Of Metallo-B-Lactamase Among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* İn A Korean University Hospital And Comparison Of Screening Methods For Detecting Metallo-B-Lactamase. J Microbiol Methods, 54:411-8.
- Özdem B, Gürelık FÇ, Çelikkilek N, Balıkçı H, Açıkgöz ZC. 2011. Çeşitli Klinik Örneklerden 2007-2010 Yıllarında İzole Edilen *Acinetobacter* Türlerinin Antibiyotik Direnç Profili. Mikrobiyol Bul, 45(3):526-34.
- Page MI, Badarau A. 2008. Review Article The Mechanism Of Catalysis By Metallo B Lactamases. Bioinorganic Chemistry and Applications, 14 Pages.

- Pantophlet RA. 2008. Lipopolysaccharides Of *Acinetobacter*, In: Gerischer U (Ed), *Acinetobacter* Molecular Biology. Caistr Academic Press, Norfolk, Uk, Pp: 61-98.
- Patel JB, Rasheed JK, Kitchel B. 2009. Carbapenemases In Enterobacteriaceae: Activity, Epidemiology, and Laboratory Detection. Clin Microbiol Newsletter, 31:55-62.
- Paterson DL, Doi Y. 2007. A Step Closer To Extreme Drug Resistance (Xdr) In Gram-Negative Bacilli. Clin Infect Dis, 45:1179-81,
- Paterson DL, Lipman J. 2007. Returning To The Pre-Antibiotic Era In The Critically Ill: The Xdr Problem. Crit Care Med, 35:1789-1791,
- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. 2008. *Acinetobacter baumannii*: Emergence Of A Successful Pathogen. Clin Microbiol Rev, 21(3):538-82.
- Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. 2007. Global Challenge Of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother, 51(10):3471-84
- Picao RC, Andrade SS, Nicoletti AG, Campana EH, Moraes GC, Mendes RE. 2008. Metallo-B-Lactamase Detection: Comparative Evaluation Of Double-Disk Synergy Versus Combined Disk Tests For IMP-, GIM-, SIM-, SPM-, or VIM-Producing Isolates. J Clin Microbiol, 46:2028-37.
- Poirel L, Nordmann P. 2006. Carbapenem Resistance In *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms And Epidemiology. Clin Microbiol Infect, 12(9), 826-36.
- Poirel L, Özdamar M, Ocampo-Sosa AA, Türkoğlu S, Özer UG, Nordmann P. 2012. NDM-1 producing *Klebsiella pneumoniae* now in Turkey. Antimicrob Agents Chemother, 56:2784-5
- Pollini S, Maradei S, Pecile P, Olivo G, Luzzaro F, Docquier JD. 2013. Fim-1, A New Acquired Metallo-B-Lactamase From A *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolate From Italy. Antimicrob Agents Chemother, 57:410-6.
- Pournaras S, Maniati M, Petinaki E. 2003. Hospital Outbreak Of Multiple Clones Of *Pseudomonas Aeruginosa* Carrying The Unrelated Metallo-Beta-Lactamase Gene Variants blaVIM-2 and blaVIM-4. J Antimicrob Chemother, 51(6):1409-14.
- Queenan AM, Bush K. 2007. Carbapenemases: The Versatile β -Lactamases. Clinical Microbiology Reviews, 20 (3): 440-458.
- Ratkai C, Quinteira S, Grosso F, Monteiro N, Nagy E, Peixe L. 2009. Controlling For False Positives: Interpreting Mbl E Test and Mbl Combined Disc Test For The Detection Of Metallo-Beta-Lactamases. J Antimicrob Chemother, 64:657-8.
- Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. 2000. Nosocomial Infections In Combined Medical-Surgical Intensive Care Units In The United States. Infect Control Hosp Epidemiol, 21(8):510-5.

- Ruiz J. 2003. Mechanisms Of Resistance to Quinolones: Target Alterations, Decreased Accumulation and Dna Gyrase Protection. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 51: 1109-1117.
- Saltoğlu N. 2007. *Acinetobacter baumannii* Enfeksiyonları Ve Tedavisi. XIII. Türk Klimik Kongresi (14-18 Mart 2007 Antalya), Kongre Kitabı. İstanbul, 20(Özel Sayı), 204-207.
- Savcı Ü, Özveren G, Yenişehirli G, Bulut Y, Özdaş S. 2015. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarının in-vitro Duyarlılık Durumları. *Turkish Journal Of Clinics And Laboratory*. 6(1):24-29
- Schreckenberger PC, Daneshvar MI, Hollis DG. 2008. *Acinetobacter, Achromobacter, Chryseobacterium, Moraxella* ve Diğer Nonfermentatif Gram-Negatif Basiller. *Manual Of Clinical Microbiology*. Murray, PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Landry ML. 9. Baskı. Ankara: Atlas Yayıncılık. S: 770-802.
- Schreckenberger PC, Graevenitz A. 2003. *Acinetobacter, Achromobacter, Alcaligenes, Moraxella, Methylobacterium*, And Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. In: Murray Pr, Baron Ej, Pfaller Ma, Tenover Fc, Tenover Rh (Eds.). *Manuel Of Clinical Microbiology*. 7 Th Ed. Washington Dc: Asm Pres;; 539-60.
- Seifert HR, Baginski A, Schulze P. 1993. The Distribution Of *Acinetobacter* Species İn Clinical Culture Materials. *Zentralbl Bakteriol*, 279: 544-552.
- Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, Nakashima K, Ito H. 1996. PCR Detection Of Metallo-Betalactamase Gene (blaIMP) İn Gram-Negative Rods Resistant To Broad-Spectrum Beta-Lactams. *J. Clin. Microbiol*, S. 34:2909–2913.
- Sesli-Çetin E, Tetik T, Kaya S, Arıdoğan BC. 2009. *Acinetobacterbaumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarında Metallo-Beta-Laktamaz Üretiminin Dört Farklı Fenotipik Yöntemle Araştırılması. *Enfeksiyon Derg*, S. 23(2):51-5.
- Seward RJ, Lambert T, Towner KJ. 1998. Molecular Epidemiology Of Aminoglycoside Resistance İn *Acinetobacter spp*. *J Med Microbiol*, 47:455–62.
- Shi WF, Jiang JP, Mi ZH. 2005. Relationship Between Antimicrobial Resistance and Aminoglycoside-Modifying Enzyme Gene Expressions İn *Acinetobacter baumannii*. *Chin Med J*, 118(2),141
- Shoja S , Moosavian M, Rostami S, Farahani A, Peymani A, Ahmadi K, Ebrahimifard N. 2017. Dissemination Of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in Patients With Burn İnjuries. *Journal Of The Chinese Medical Association* 80(245)-252
- Song JY, Kee SY, Hwang IS. 2007. In Vitro Activities Of Carbapenem/Sulbactam Combination, Colistin, Colistin/Rifampicin Combination and Tigecycline Against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, 60: 317–32

- Sung JY, Kwon KC, Park JW, Kim YS, Kim JM. 2008. Dissemination Of IMP-1 and OXA Type β -lactamase on Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*. Korean J Lab Med, 28:16-23.
- Tatman-Otkun M, Gürcan Ş, Özer B, Türe M. 2003. Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* kökenlerinde 1994'den 2000'e Yıllık Antibiyotik Direnç Değişimi. Ankem Dergisi, 17: 1-6.
- Tijet N, Patel SN, Melano RG. 2016. Detection Of Carbapenemase Activity İn *Enterobacteriaceae*: Comparison Of The Carbapenem İnactivation Method Versus The Carba Np Test. J Antimicrob Chemother, 71(1):274-6
- Toleman MA, Rolston K, Jones RN, Walsh TR. 2003. Molecular and Biochemical Characterization Of Oxa-45, An Extended Spectrum Class 2d' B-Lactamase İn *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother, 47:2859-63.
- Toleman MA, Simm AM, Murphy TA, Gales AC, Biedenbach DJ, Jones RN. 2002. Molecular Characterization Of SPM-1, A Novel Metallo-Beta-Lactamase İolated İn Latin America: Report From The Sentry Antimicrobial Surveillance Programme. J Antimicrob Chemother; 50:673-9.
- Tomaras AP, Dorsey CW, Mcqueary CN, Actis LA. 2008. Molecular Basis Of *Acinetobacter* Virulence and Pathogenicity, In: Gerischer U (Ed), *Acinetobacter* Molecular Biology, Caistr Academic Press, Norfolk, Uk, Pp: 265-97.
- Towner KJ. *Acinetobacter*. 1998. In: Collier L, Balows A, Susman M, Eds. Topley&Wilson's Microbiology And Microbial Infections. 9 Th Ed. London,1229-1239.
- Towner KJ. 2009. *Acinetobacter*: An Old Friend, But A New Enemy. Journal Of Hospital Infection, 73, 355-363
- Türk Dağı H, Kug H, Keyik G, Arslan U, Tuncer G, Fındık D. 2012. Karbapenemlere Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Metallo-Beta-Laktamaz Varlığının Araştırılması. Ankem Derg, 26:187-92.
- Ulusoy Al M, Mumcuoğlu İ, Dolapçı İ, Karahan ZC, Baran I, Kurşun Ş. 2011. İmipenem Dirençli *Acinetobacter* Suşlarında Metallo-Beta-Laktamaz Üretiminin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Araştırılması, Türk Mikrobiyol Cem Derg, 41(1):29-36,
- Vahapoğlu H, Hall LM, Mülazımoğlu L. 1995. Resistance To Extended Spectrum Cephalosporins, Caused By Per-1 Beta-Lactamase İn *Salmonella Typhimurium* From Istanbul, Turkey. J Med Microbiol, 43: 294-299.
- Valdez JM, Asperilla MO, Smego RA. 1991. *Acinetobacter* Peritonitis İnpatients Receiving Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis. South Med J, 84:607-610
- Van Der Zwaluw K, De Haan A, Pluister GN, Bootsma HJ, De Neeling AJ, Schouls LM. 2015. The Carbapenem İnactivation Method (CİM), A Simple And Low-

- Cost Alternative For The Carba NP Test To Assess Phenotypic Carbapenemase Activity In Gram-Negative Rods; 10(3):E0123690
- Van Looveren M, Goossens H, Group AS. 2004. Antimicrobial Resistance Of *Acinetobacter spp.* In Europe. *Clin Microbial Infect*, 10(8):684-704.
- Vila J, Ruiz J, Goni P, Jimenez De Anta T. 1997. Quinolone-Resistance Mutations In The Topoisomerase IV ParC Gene Of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, 39(6), 757-62.
- Villalón P, Valdezate S, Medina-Pascual MJ, Carrasco G, Vindel A. 2013. Epidemiology Of The *Acinetobacter*-Derived Cephalosporinase, Carbapenem-Hydrolysing Oxacillinase And Metallo-Beta-Lactamase Genes, And Of Common Insertion Sequences, In Epidemic Clones Of *Acinetobacter baumannii* From Spain. *J Antimicrob Chemother*, S. 68: 550–553.
- Visca P, Petrucca A, De Mori P, Festa A, Boumis E, Antinori A. 2001. Community Acquired *Acinetobacter baumannii* Bacteremia In An HIV-Positive Patient. *Emerg Infect Dis*, 7(6):1032-5.
- Walsh RT. 2008. Clinically Significant Carbapenemases: An Update. *Current Opinion In Infectious Diseases*, 21 (4): 367-371.
- Walsh TR, Bolmström A, Qvarnström A, Gales A. 2002. Evaluation Of A New E Test For Detecting Metallo-Beta-Lactamases On Routine Clinical Testing. *J Clin Microbiol*, S. 40:2755-9
- Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. 2005. Metallo-Beta-Lactamases: The Quiet Before The Storm? *Clin Microbiol Rev*, S. 18: 306-25.
- Wang F, Zhu D, Hu F, Ruan F, Ni Y. 2008. Chinet 2007 Surveillance Of Bacterial Resistance In China (Chinese). *Zhongguo Gan Ran Yu Hua Liao Za Zhi*, S. 8: 325-34.
- Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S. 1991. Transferable Imipenem Resistance In *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 35:147-51.
- Winn J, Stephen A, William J, Elmer K, Gary P, Schreckenberger P. 2006. *Gail Woods Koneman's Color Atlas And Textbook Of Diagnostic Microbiology* Washington. Altıncı Baskı, Lippincott Williams & Wilkins:353-355
- Wisplinghoff HH, Paulus TT, Lugenheim MM, Stefanik DD, Higgins PG, Edmond MB, Wenzel RP, Seifert H. 2012. Nosocomial Bloodstream Infections Due To *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter Pittii* and *Acinetobacter Nosocomialis* In The United States. *J. Infect*, 64, 282–290.
- Woodford N. 2010. Rapid Characterization of β lactamases by Multiplex PCR. In: Gillespie SH. and McHugh TD (Eds.). *Antibiotic Resistance Protocols*. 2th ed. London: Humana Press; p.181-92

- Yakupoğullari Y, Poirel L, Bernabeu S, Kizirgil A, Nordmann P. 2008. Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* İsolate Co-Expressing Extended- Spectrum Beta-Lactamase Per-1 and Metallo-Beta-Lactamase VIM-2 From Turkey. J Antimicrob Chemother, 61:221-2.
- Yamasaki K, Komatsu M, Yamashita T. 2003. Production Of Ctx-M-3 Extended Spectrum β -Lactamase and IMP-1 Metallo- β -Lactamase By Five Gram-Negative Bacilli: Survey Of Clinical İsolates From Seven Laboratories Collected İn 1998 and 2000, İn The Kinki Region Of Japan. J Antimicrob Chemother, 51:631-8.
- Yan JJ, Ko WC, Tsai SH, Wu HM, Wu JJ. 2001. Outbreak Of İnfection With Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Carrying blaIMP-8 İn A University Medical Center İn Taiwan. J Clin Microbiol, 39:4433-9.
- Yan JJ, Wu JJ, Tsai SH, Chuang CL. 2004. Comparison Of The Double-Disk, Combined Disk, And E Test Methods For Detecting Metallo-Beta-Lactamases İn Gram-Negative Bacilli. Diagn Microbiol Infect Dis 49:5-11.
- Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM. 2002. Imipenem-Edta Disk Method For Differentiation Of Metallo-Beta-Lactamase-Producing Clinical İsolates Of *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.* J Clin Microbiol, S. 40: 3798-801.
- Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K. 2009. Characterization Of A New Metallo-B-Lactamase Gene, blaNDM-1 and A Novel Erythromycin Esterase Gene Carried On A Unique Genetic Structure İn *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 14 From India. Antimicrob Agents Chemother, 53:5046-54.
- Yorgancıgil B. 1999. Beta-Laktam Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi, 6(2): 176-182.
- Yuluğ N. 1997. Beta-Laktamazlar Ve Klinik Açıdan Önemi. Ankem Derg, 11: 205-7
- Yücesoy M, Yuluğ N, Kocagöz S, Ünal S, Çetin S, Çalangu S. 2000. Antimicrobial Resistance Of Gram Negative İsolates From İntensive Care Units İn Turkey: Comparison To Previous Three Years. J Chemother, 12(4): 294-8.
- Zarakolu P, Haşçelik G, Ünal S. 2006. Antimicrobial Susceptibility Pattern Of Nosocomial Gram Negative Pathogens: Results From Mystic Study İn Hacettepe University Adult Hospital (2000-2004). Mikrobiyoloji Bülteni, 40: 147-154.
- Zarfel G, Hoenigl M, Leitner E, Salzer HJ, Feierl G, Masoud L. 2011. Emergence of New Delhi metallo- β -lactamase, Austria. Emerg Infect Dis, 17:129-30.
- Zarrili R, Giannouli M, Tomasone F, Triassi M, Tsakris A. 2009. Carbapenem Resistance İn *Acinetobacter baumannii*: The Moleculer Epidemic Features Of An Emerging Problem İn Health Cae Facilities. J Infect Dev Ctries, 3(5), 335-341.
- Zer Y, Akın E, Namıduru M. 2007. *Acinetobacter baumannii* suşlarında tigesiklin etkinliğinin araştırılması, İnfeksiyon Derg, 21(4), 193-6.

Zhang L, Yang W, Xiao M, Xu Y, Zheng B. 2012. Mohnarin Annual Report 2010: Surveillance Of Antimicrobial Resistance In Bacteria Isolated From Intensive Care Units (Chinese). Zhonghua Yi Yuan Gan Ran Xue Za Zhi, S. 28: 330-5.

