

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

KARBAPENEM DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII*
KLİNİK İZOLATLARINDA SINIF D BETA LAKTAMAZ
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. DEMET GÜR

SAMSUN 2013

T.C.

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

KARBAPENEM DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII*
KLİNİK İZOLATLARINDA SINIF D BETA LAKTAMAZ
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. DEMET GÜR

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. BELMA DURUPINAR

Bu tez, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Yönetim Birimi tarafından
PYO.TIP.1904.11.013 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN 2013

TEŞEKKÜR

Tezimin fikir aşamasından sonuçlanmasına kadar olan süreçte değerli vaktini ve bilimsel desteğini sunan tez danışman hocam Prof. Dr. Belma Durupınar'a çok teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim boyunca sundukları bilimsel, destekleyici ve verimli ortam için başta anabilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Murat Günaydın'a, değerli hocalarım Prof. Dr. Asuman Birinci, Prof. Dr. Cafer Eroğlu, Prof. Dr. Murat Hökelek, Doç. Dr. Ahmet Yılmaz Çoban, Yrd. Doç. Dr. Çağatay Acuner, Yrd. Doç. Dr. Adil Karadağ, Yrd. Doç. Dr. Keramettin Yanık'a çok teşekkür ederim.

Çalışmamızda kullanılmak üzere bize gönderdikleri OXA pozitif suşlar için Prof. Dr Zeynep Gülay'a ve Prof. Dr Fatih Köksal'a çok teşekkür ederiz.

Çalışma ortamındaki uyum, özveri ve saygıları yanı sıra en kötü günlerimde yardımlarını ve sevgilerini hiç esirgemeyen kendileriyle çalışmaktan mutlu olduğum Uzm. Dr. Nevzat Ünal, Dr. Egemen İpek, Dr. Dilek Emir, Dr. Hakan Odabaşı ve tüm mikrobiyoloji laboratuvar personeline her şey için çok teşekkür ederim. Bilgi ve deneyimleriyle her zaman yanımda olan değerli dostlarım Uzm. Dr. Akif Koray Güney, Öğr. Gör. Dr. Kemal Bilgin ve Uzm. Dr. Yeliz Çaycı' ya çok teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca her zaman destek ve sevgilerini hep yanımda hissettiğim, saygıdeğer anneme ve babama, canım kardeşime tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	VI
ŞEKİL LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR	IX
ÖZET	XI
ABSTRACT	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Acinetobacter Cinsi Bakteriler	3
2.1.1. Taksonomi ve Tarihçe	3
2.1.2. Mikrobiyolojik ve Metabolik Özellikler	4
2.1.3. Patogeneze ve Virülans Faktörleri	6
2.1.4. Epidemiyoloji	8
2.1.5. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonları	9
2.1.5.1. Pnömoni	9
2.1.5.2. Bakteriyemi	9
2.1.5.3. Menenjit	10
2.1.5.4. Üriner Sistem Enfeksiyonları	10
2.1.5.5. Yumuşak Doku Enfeksiyonları	11
2.1.5.6. Diğer Enfeksiyonlar	11
2.1.6. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarının Tedavisi	11
2.1.7. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler	12
2.1.7.1. Beta-laktamaz inhibitörleri ile kombine antibiyotikler	12
2.1.7.2. Antipsödomonal penisilinler	14
2.1.7.3. Sefalosporinler	15
2.1.7.4. Karbapenemler	15

2.1.7.5. Kinolonlar	16
2.1.7.6. Aminoglikozidler	17
2.1.7.7. Tigesiklin	17
2.1.7.8. Polimiksinler	18
2.1.8. <i>Acinetobacter</i> Türlerinde Antibiyotik Direnci ve Mekanizmaları	19
2.1.8.1. Beta-laktam Antibiyotikler	20
2.2.8.1.2. Beta-laktamaz Üretimi	21
2.2.8.1.3. Kromozomal Beta-laktamazlar	21
2.2.8.1.4. Plazmid Aracılığı ile Sentezlenen Beta-laktamazlar	21
2.2.8.1.5. β -laktam Antibiyotiğin Hücre İçine Girişinin Azalması	21
2.2.8.1.6. Penisilin Bağlayan Proteinlerde Değişiklik	22
2.1.8.2. Aminoglikozidler	22
2.1.8.3. Kinolonlar	22
2.1.8.4. Tetrasiklin ve Diğer Antibiyotikler	23
2.2. KARBAPENEM DİRENCİ	23
2.2.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> ' de Karbapenem Direnç Mekanizmaları	23
2.2.1.1. Betalaktamazlar	24
2.2.1.2. OXA Tip Karbapenemazlar	24
2.2.1.3. Metallobetalaktamazlar	27
2.2.1.3. Dış membran proteinlerindeki (OMP) değişiklikler	28
2.2.1.4. Penisilin-bağlayıcı proteinler (PBP)	29
2.3. KARBAPENAMAZLARIN SAPTANMASI	29
2.4. TİPLENDİRME YÖNTEMLERİ	30
2.4.1. Fenotipik Yöntemler	31
2.4.1.1. Antibiyotiplendirme	31
2.4.1.2. Serotiplendirme	31
2.4.1.3. Biyotiplendirme	31

2.4.1.4. Bakteriosin Tiplendirme	32
2.4.1.5. Bakteriyofaj Tiplendirme	32
2.4.1.6. Multilokus enzim elektroforezi	32
2.4.1.7. Hücresel proteinlerin poliakrilamid jel elektroforezi	32
2.4.2. Moleküler Yöntemler	33
2.4.2.1. Plasmid profili	33
2.4.2.2. Değişken Alanlı (Pulsed Field) Jel Elektroforezi	34
2.4.2.3. Multiloküs Sekans Tipleme (MLST)	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Çalışma grubu	35
3.2. İzolatların Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi	35
3.3. İmipenem ve Meropenem Duyarlılığının Standart Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi İle Belirlenmesi	35
3.4. OXA Karbapenemazların PCR Yöntemiyle Araştırılması	36
3.4.1. <i>Acinetobacter Baumannii</i> İzolatlarından DNA ekstraksiyonu	36
3.4.2. PZR Yöntemi	37
3.4.2.1. OXA Karbapenemazların PZR Yöntemiyle Araştırılmasında Kullanılan Primerler	38
3.4.2.2. PZR Reaksiyon Karışımı	38
3.4.2.3. Amplifikasyon	39
3.4.2.4. PCR Ürünlerinin Analizi	40
4. BULGULAR	42
4.1. <i>A. baumannii</i> İzolatlarının İzole Edildiği Materyallerin Dağılımı	42
4.2. <i>A. baumannii</i> İzolatlarının Gönderildiği Servislerin Dağılımı	42
4.3. <i>A. baumannii</i> İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları	44
4.3.1. <i>A. baumannii</i> İzolatlarının VITEK2 Sistemiyle Saptanan Antibiyotik Duyarlılıkları	44
4.3.2. <i>A. baumannii</i> İzolatlarının Sıvı mikrodilüsyon ve VITEK2	

Sistemiyle Saptanan Antibiyotik Duyarlılıkları	44
4.4. Karbapenem Dirençli <i>A.baumannii</i> İzolatlarının PZR’de <i>bla</i> _{OXA-23} , <i>bla</i> _{OXA-24} , <i>bla</i> _{OXA-51} , <i>bla</i> _{OXA-58} Gen Bölgelerinin Amplifikasyonu	47
4.4.1. Karbapenem Dirençli <i>A.baumannii</i> İzolatlarında PZR ile Saptanan <i>bla</i> _{OXA-23} , <i>bla</i> _{OXA-24} , <i>bla</i> _{OXA-51} , <i>bla</i> _{OXA-58} Gen Bölgelerinin Dağılımı	49
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇLAR	61
7. KAYNAKLAR	62

TABLO LİSTESİ

	sayfa
Tablo I : <i>A. baumannii</i> 'nin sahip olduğu antibiyotik direnç Mekanizmaları	20
Tablo II : OXA tipi Karbapenemazlar	27
Tablo III : Çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan suşlar	38
Tablo IV : Çalışmada kullanılan primer çiftleri	38
Tablo V : <i>bla</i> _{OXA-23} , <i>bla</i> _{OXA-24} , <i>bla</i> _{OXA-51} , <i>bla</i> _{OXA-58} gen bölgelerinin PZR'de çoğaltılması için kullanılan reaksiyon karışımı	39
Tablo VI : <i>bla</i> _{OXA-23} gen bölgesinin PCR Metodundaki Sıcaklık Döngüleri	39
Tablo VII : <i>bla</i> _{OXA-24} gen bölgesinin PCR Metodundaki Sıcaklık Döngüleri	40
Tablo VIII : <i>bla</i> _{OXA-51} gen bölgesinin PCR Metodundaki Sıcaklık Döngüleri	40
Tablo IX : <i>bla</i> _{OXA-58} gen bölgesinin PCR Metodundaki Sıcaklık Döngüleri	40
Tablo X : Gönderilen Materyallerin Servislere Göre Dağılımı	43
Tablo XI : <i>A. baumannii</i> izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık sonuçları	44
Tablo XII : <i>A. baumannii</i> izolatlarında VITEK2 Sistemi ve Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi İle Elde Edilen İmipenem ve Meropenem Duyarlılık Sonuçları	45

Tablo XIII	: Karbapenem Dirençli <i>A.baumannii</i> İzolatlarında PZR ile saptanan <i>bla</i> _{OXA-23} , <i>bla</i> _{OXA-24} , <i>bla</i> _{OXA-51} , <i>bla</i> _{OXA-58} Gen Bölgelerinin Dağılımı	50
Tablo IV	: OXA Tipi Karbapenemazların Pozitiflik Oranları	52

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	: Işık mikroskopunda <i>Acinetobacter</i> görüntüsü	4
Şekil 2	: Kanlı agarda <i>Acinetobacter</i> kolonileri	5
Şekil 3	: Örnek türlerinin dağılımını gösteren grafik	42
Şekil 4	: Örneklerin gönderildiği servisleri gösteren grafik	43
Şekil 5	: bla OXA-23 gen bölgesinin PZR sonrası jel görüntüleri	47
Şekil 6	: bla OXA-24 gen bölgesinin PZR sonrası jel görüntüleri	48
Şekil 7	: bla OXA-51 gen bölgesinin PZR sonrası jel görüntüleri	47
Şekil 8	: bla OXA-58 gen bölgesinin PZR sonrası jel görüntüleri	49

KISALTMALAR

<i>A. baumannii</i>	: <i>Acinetobacter baumannii</i>
ADCs	: Acinetobacter-Derived Cephalosporinases
AP-PZR	: Arbitrary Primed PZR
AFLP	: Amplified fragment length polymorphism
BHI	: Brain Heart Infüzyon
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CFU	: Koloni Oluşturan Ünite
CHDL	: Karbapenem hidroliz eden sınıf D β -laktamaz
CLSI	: Clinical and Laboratory Standarts Institute
ÇİD	: Çoklu İlaç Direnci
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DRE	: Double Repetitive Element
EDP	: Energy-Depent Phase 1
EDTA	: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
FDA	: Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi
EMB	: Eozin Metilen Blue agar
EPS	: Ekstrasellüler polisakkaritler
ERIC	: Enterobacterial Repetitive İntergenic Consensus Sequences
GSBL	: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz
IEF	: İzoelektrik odaklama yöntemi
IS	: İnsertional Sequence
IMP	: İmipenem
MER	: Meropenem
KAMHB	: Katyon Ayarlı Mueller-Hinton-Buyyon
KHO	: Karbapenem hidrolize eden oksasilinazlar
LPS	: Lipopolisakkaridler
μ g	: Mikrogram
MBL	: Metallo betalaktamazlar
MDR	: Multidrug-resistant
MHB	: Mueller Hinton Broth

MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MLST	: Multilocus sequence typing
OTK	: OXA-tipi karbapenamazlar
OMP	: Outer Membran Protein
OmpA	: Outer membrane protein A
PBP	: Penisilin Bağlayan Protein
PDR	: Pandrug resistant
PFGE	: Pulsed field gel electrophoresis
PGRS	: Polymorphic Guanine/Cytosine-Rich Repetitive Sequences
RAPD	: Randomly amplified polymorphic DNA
RE	: Restrüksiyon enzim
REP	: Repetitive Extragenic Palindromic Sequences
RFLP	: Restriction fragment length polymorphism
RNA	: Ribonükleik asit
TSB	: Triptikaz Soy Buyyon
TSI	: Triptik Sugar Iron
XDR	: Extensively drug resistant
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi

ÖZET

KARBAPENEM DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII* KLİNİK İZOLATLARINDA SINIF D BETA LAKTAMAZ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Acinetobacter baumannii aerobik, gram negatif, glukozu fermente etmeyen çoğunlukla yoğun bakım ünitelerinde meydana gelen infeksiyon salgınlarında sıklıkla yer alan fırsatçı bir patojendir. Son yıllarda *A.baumannii*' ye artan ilginin başlıca nedenlerinden biri salgınlar ve çoğul ilaca dirençli suşların (MDR) ortaya çıkmasına yol açan direnç belirleyicilerini kazanma ve biriktirme yeteneğine olan eğilimidir.

Karbapenemler *Acinetobacter baumannii* tedavisinde kullanılan beta laktam grubu önemli ajanlardır. *Acinetobacter* türlerinde karbapenem direnci dünya çapında giderek artan oranlarda rapor edilmekte ve gelişmekte olan antimikrobiyal direncin habercisi olmaktadır. *Acinetobacter* türlerinin karbapenem direnç mekanizmaları arasında en yaygın olanı OXA-tipi enzimlerdir. *A.baumannii*, OXA-23 ve türevleri, OXA-24 ve türevleri, OXA-51 ve türevleri ve OXA-58 olarak özetlenebilecek 4 farklı karbapenemleri hidrolize edebilen enzim ailesini içerebilmektedir.

Çalışma kapsamına çeşitli klinik örneklerden soyutlanan 100 karbapenem dirençli *A. baumannii* klinik izolatu dahil edildi. VITEK2 sistemi (bioMerieux, ABD) ile izolatlar tür düzeyinde tanımlandı ve antimikrobiyal duyarlılık testleri yapıldı. İmipenem ve meropenemin MİK değerleri CLSI önerileri doğrultusunda sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptandı. Antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarına göre tüm izolatlar piperasilin, sefepim ve seftazidime dirençli bulunmuştur. Çalışmadaki *A. baumannii* klinik izolatlarının tamamı kolistine duyarlı görülmektedir. İzolatlarda OXA karbapenemazlardan olan *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerinin varlığı PCR ile araştırıldı. İzolatların tamamında *A.baumannii*' ye özgü olan *bla*_{OXA-51} pozitif bulundu. İzolatların %93' ünde *bla*_{OXA-23} pozitif bulunurken, *bla*_{OXA-24} ve *bla*_{OXA-58} gen bölgelerine ise saptanmadı.

Çalışmamız sonucunda karbapenem direncinin; OXA-51 tip doğal oksasilinazın aşırı üretimi sonucu ve OXA-23 enzim geninden kaynaklanabileceği; bunun yanında diğer direnç mekanizmalarının ileri çalışmalarda incelenmesinin gerekliliği düşünülmüştür

Anahtar Sözcükler: *Acinetobacter baumannii*, karbapenem, oksasilinazlar

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF CLASS D BETA-LACTAMASES IN CLINICAL ISOLATES OF CARBAPENEM-RESISTANT *ACINETOBACTER BAUMANNII*

Acinetobacter baumannii is an aerobic, gram negative and non-glucose fermenting opportunistic pathogen that is frequently associated with outbreaks most often occur in intensive care units. One of the main reasons for the growing interest in *A. baumannii* in recent years is outbreaks and its tendency to the ability of acquisition and accumulating of resistance determinants that lead to the emergence of multidrug-resistant (MDR) strains.

Carbapenems are beta-lactam agents that are used in the treatment of *Acinetobacter baumannii* infections. Carbapenem resistance in *Acinetobacter* species has been increasingly reported throughout the world and has been the indicator of emerging antimicrobial resistance. The most common mechanism of carbapenem resistance in *Acinetobacter* species is OXA-type enzymes. *A.baumannii* can produce four different families of enzymes including OXA-23 and its derivatives, OXA-24 and its derivatives, OXA-51 and its derivatives and OXA-58 that can hydrolyze carbapenems.

One hundred clinical isolates of carbapenem-resistant *A. baumannii* isolated from various clinical specimens were included in the study. Isolates were identified and their antibiotic susceptibility testing was performed by VITEK 2 system (bioMerieux, USA). Imipenem and meropenem MIC values were detected by broth microdilution method according to the recommendations of CLSI.

All isolates were found to be resistant to piperacillin, cefepime and ceftazidime in the antibiotic susceptibility tests. All *A. baumannii* clinical isolates in the study were susceptible to colistin. The presence of OXA carbapenemases, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gene regions was investigated by PCR. *A.baumannii* specific *bla*_{OXA-51} was found to be positive in all of the isolates. While *bla*_{OXA-23} was positive in 93% of the isolates, *bla*_{OXA-24} ve *bla*_{OXA-58} gene regions weren't detected.

As conclusion of the study, we suggest that carbapenem resistance may occur as a result of the overproduction of OXA-51 type natural oxacillinase and the presence of

OXA-23 gene, in addition, further studies are needed to investigate other resistance mechanisms.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, carbapenem, oxacillinases

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Acinetobacter baumannii hastane kaynaklı ve bazen toplumdan kazanılmış enfeksiyonların etkeni olarak son on yılda önem kazanmış gram negatif bir kokobasildir (Kempf ve Rolain, 2011). 1960'lı yıllarda patojenitesinin oldukça düşük olması nedeniyle klinik örneklerden izole edildiğinde göz ardı edilmiş olsa da, günümüzde *A.baumannii* özellikle Yoğun Bakım Üniteleri (YBÜ)'nde en önemli patojenlerden biri olmuştur (Kempf ve Rolain, 2011).

Nozokomiyal *A.baumannii* enfeksiyonları, kritik hastalarda ventilatör ilişkili pnömoni, bakteriyemi, yara enfeksiyonları ve nozokomiyal menenjit; toplumdan kazanılmış enfeksiyonları ise, olağan dışı durumlarda başlıca pnömoni ve yara enfeksiyonlarından oluşur (Kempf ve Rolain, 2011). *A.baumannii* enfeksiyonları için predispozan faktörler; antibiyotik tedavisi, major cerrahi, yanıklar, immüsupresyon, invaziv araç varlığı ve özellikle mekanik ventilasyondur (Kempf ve Rolain, 2011).

Son yıllarda *A.baumannii*' ye artan ilginin başlıca nedenlerinden biri salgınlar ve çoğul ilaca dirençli suşların (MDR) ortaya çıkmasına yol açan direnç belirleyicilerini kazanma ve biriktirme yeteneğine olan eğilimidir (Kempf ve Rolain, 2011). Bu organizmanın hastane çevresinde uzun süre yaşayabilme özelliği, genetik fleksibilitesi ve yüksek uyum yeteneği, karbapenemleri de içeren bir çok antimikrobial sınıfa dirençli MDR *A. baumannii* suşlarının özellikle son bir kaç yılda hızlı ve global yayılımının nedeni olmuştur (Kempf ve Rolain, 2011). YBÜ'nde *A.baumannii* klinik izolatlarının %30'dan fazlası sıklıkla fluorokinolonlar ve karbapenemleri içeren en az üç antibiyotik sınıfa dirençlidir (Kempf ve Rolain, 2011).

Acinetobacter türlerinde karbapenem direnci dünya çapında giderek artan oranlarda rapor edilmekte ve gelişmekte olan antimikrobiyal direncinin habercisi olmaktadır (Wang ve ark., 2007). Surveyans çalışmaları karbapenem dirençli izolatların oranının son on yılda Avrupa, Kuzey Amerika ve Latin Amerika'da kademeli olarak arttığını göstermektedir (Zarrili ve ark., 2009). Karbapenem dirençli *A.baumannii* salgınları Türkiye'nin de içinde bulunduğu bir çok Avrupa, Ortadoğu, Kuzey Amerika ve Latin Amerika, Uzak Doğu ve Kuzey Afrika ülkelerinde farklı coğrafik bölgelerden dökümante edilmiştir (Zarrili ve ark., 2009). Günümüzde artık karbapenem dirençli *A.baumannii*, antibiyotik tedavisi için seçeneklerin sınırlı olması nedeniyle önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir.

Karbapenemler çoklu ilaca dirençli *A.baumannii* infeksiyonlarında tercih edilen antibiyotiklerdir. Kazanılmış karbapenem direnci sıklıkla IMP-, VIM- ve SIM-tipi metallo-beta-laktamazlar (MBL) ya da OXA-tipi karbapenamazlar (OTK) ile ilişkilidir. OXA-23, OXA-24, OXA-58 tip sınıf D karbapenamazlar ve doğal oksasilinaz (OXA-51)'in aşırı üretimi *A.baumannii*'de kazanılmış karbapenem direncinden sorumludur (Wang ve ark., 2007).

Bu çalışmada hastanemiz servislerinden izole edilen karbapenem dirençli *A.baumannii* izolatlarında OXA tipi Sınıf D Beta Laktamazların araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Acinetobacter Cinsi Bakteriler

2.1.1 Taksonomi ve Tarihçe

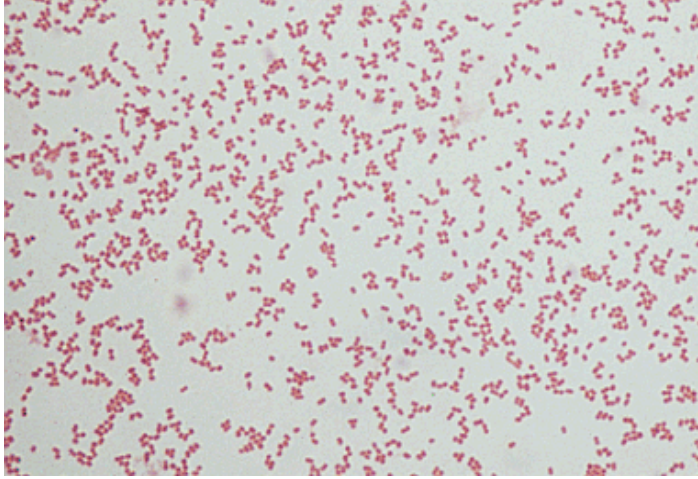
Acinetobacter türleri ilk kez 1911 yılında Beijerinck tarafından topraktan izole edilmiş ve *Micrococcus calco-aceticus* olarak isimlendirilmiş, 1939 yılında DeBord'un gram negatif kokobasilleri üretral örnekten izole etmesiyle tanımlanmıştır (Munoz-Price ve Weinstein, 2008; ASM pres 2003; Bahar ve Esen, 2008). Günümüze kadar 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. Taksonomik çalışmalar sonucu *Acinetobacter* cinsi günümüzde *Moraxella*, *Psychrobacter* ve ilgili diğer cinslerle birlikte *Moraxellaceae* ailesi içinde yer almaktadır (Berezin ve Towner, 1996).

Deoksiribonükleik asit (DNA) benzerlikleri temel alınarak yapılan çalışmalarda *Acinetobacter calcoaceticus*, *A.baumannii*, *A.haemolyticus*, *A.junii*, *A.johnsonii*, *A.lwoffii*, *A.radiorezistens*, *A.schindleri*, *A.ursingii* ile birlikte 19'dan fazla tür belirlenmiştir. Bu yedi türden dördü birbirlerine çok yakın olduklarından *A. calcoaceticus*-*A.baumannii* kompleksi olarak kabul edilmektedirler. Klinik laboratuarda DNA gruplarını fenotipik testlerle ayırt etmek güç olduğundan, *Acinetobacter* türleri sakkarolitik ve asakkarolitik olarak incelenmiştir. Glikozu okside eden, hemolitik olmayan suşların bir çoğu *A. baumannii*, glikoz negatif hemolitik olmayanlar *A. lwoffii*, hemolitik olanlar ise *A. haemolyticus* olarak tanımlanmıştır (Schreckenberger ve ark.,2003; Bahar ve Esen, 2008) *A.baumannii*, *A.calcoaceticus* ve *A.lwoffii*, klinik literatürde sık rapor edilen *Acinetobacter* türleridir (Munoz-Price ve Weinstein, 2008). Tüm bu türler içerisinde en sık ve önemli klinik tablolara yol açan tür *A. baumannii*'dir (Bergogone-Berezin ve Towner, 1996).

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 ark., 2003).

2.1.2 Mikrobiyolojik ve Metabolik Özellikler

Acinetobacter cinsi bakteriler; nonfermentatif, oksidaz negatif, katalaz pozitif, indol negatif, hareketsiz, nitratları redükte etmeyen, 35-37°C'de üremeyi seven, kesin aerop üreyen gram negatif mikroorganizmalardır (Bahar ve Esen, 2008). Flajellaları yoktur, fimbriaları vardır. Üç şekerli demirli besiyeri (TSI) ve oksidatif fermentatif besiyerinde asit oluşturmazlar (Bergogone-Berezin ve Towner, 1996; Bartual, 2005; Towner, 1998). Her biri 1-1,5 x 1,5-2,5 µm ölçülerinde, bazen zor dekolorize olup sıklıkla çiftler halinde yerleşim gösterirler. *Acinetobacter* türleri özellikle kan kültür şişelerinden hazırlanan direkt yaymalarda gram-pozitif kok görünümünde olabilirler. Seçici olmayan agarda, sabit üreme fazında kokobasil formu predominans gösterirken, sıvı besiyerinde erken üreme döneminde veya hücre duvarında aktif antimikrobiyal ajanları içeren plaklarda sıklıkla basil formunda izlenirler.



<http://www.medic.med.uth.tmc.edu>

Şekil 1. Işık mikroskopunda *Acinetobacter* görüntüsü

Acinetobacter kolonileri düzgün, opak ve *Enterobacteriaceae* ailesinin üyelerine göre daha küçük kolonilerdir. Bir çok suş Mac Conkey agarda renksiz veya hafif pembe renkte koloniler oluşturur. Bazı suşlar daha zor ürer ve kanlı garda ortası delik koloniler meydana gelir. Bu koloniler sıvı besiyerinde üreyemezler (Schreckenberger ve ark., 2003).



<http://www.thepetridishmicrobe.blogspot.com>

Şekil 2. Kanlı agarda *Acinetobacter* kolonileri

Enterobakterilerden anaerobik şartlarda ürememesi ve nitratları redükte etmemesi ile kolayca ayrılabilir. Klinik örneklerden izole etmek için seçici-ayırıcı besiyerleri geliştirilmiştir. Safra tuzları, şeker ve bromkrezol moru içeren Herelea agar, Holton's agar, Leeds *Acinetobacter* Medium bu amaçla kullanılabilir. Bakterileri, dışkı gibi kontamine örneklerden izole etmek için tek bir karbon ve enerji kaynağı, nitrojen kaynağı olarak amonyum veya nitrat tuzları içeren pH 5.5- 6.0 olan sıvı mineral besiyerine inoküle ederek izole etmek mümkündür (Berezin ve Towner; 1996; Jawad, 1994).

Tür düzeyinde ayırma glukoz oksidatif etki, hemoliz ve 44°C'de üreyebilme genelde yeterli olmaktadır. *A.baumannii* hemoliz yapmayarak, glukozu oksitleyerek ve 44°C'de üreyebilme yeteneği ile kolayca diğerlerinden ayırt edilebilir. Glukoz negatif kökenlerden hemoliz yapmayan *A.lwoffii*, hemoliz yapan *A.haemolyticus* olarak adlandırılır. *A.johnsonii* diğer türlerden 37°C'de üreyememesi nedeni ile ayırt edilebilir (Bahar ve Esen, 2008; Bergogone-Berezin ve Towner, 1996; Weaver ve Actis, 1994).

Klasik yöntemlerin dışında otomatize sistemlerle *Acinetobacter*'lerde tür ayrımı yapılabilmektedir. Fakat moleküler yöntemler en duyarlı metotlardır. Bakteriyosin ve faj tiplendirme, protein profili, serotiplendirme, multilokus enzim elektroforez ile tipleme, PZR, ribotipleme, Pulsed Field Gel Electrophoresis yöntemleri de kullanılabilir (Berezin ve Towner, 1996).

2.1.3 Patogenez ve Virülans Faktörleri

Son yıllarda yapılan çalışmalar, *A.baumannii*'nin daha dirençli ve virülan hale gelerek temel nozokomiyal tehdit oluşturduğunu göstermektedir. *A.baumannii* enfeksiyonlarının önlenmesi ve tedavisinde yaşanan zorluklar; bakterinin hastane ortamında ve tıbbi cihazlarda kısıtlı koşullar altında bile yaşayabilme ve yaygın antibiyotik direnci geliştirebilme yeteneğinden kaynaklanmaktadır. Farklı mekanizmalar ile birçok antibiyotik grubuna karşı direnç geliştirebilen *A.baumannii*'de ortaya çıkan bu direnç, umulmadık fenotipik ve fizyolojik değişikliklere neden olabilmektedir (Towner, 2009). *A.baumannii*'nin insan sağlığı için önemi ortadadır ve bakteri tarafından eksprese edilen virülans mekanizmalarının doğasının anlaşılması gerekmektedir. Potansiyel virülans etmenleri arasında;

a-Hücre Yüzey Özellikleri; Genel olarak bakterilerin yüzey özellikleri ve ürünleri konak dokularında hasara neden olup, enfeksiyonların patogenezinde önemli rol oynamaktadır. *Acinetobacter* cinsindeki lipopolisakkarid O antijeni, yapısındaki tekrarlayan deoksiamino şekerler ve bu polimerlerin çoğundaki yapısal dallanmalar nedeniyle hidrofobik özellik göstermektedir. Bakterinin hücrelere hidrofobik yüzey bileşenleri aracılığıyla tutunduğu gösterilmiştir. Bu tutunmada ince fimbria ve polisakkarid kapsül benzeri yapılarda rol almaktadır. Yeni yapılan çalışmalarda K1 kapsül yapısının önemli bir virülans faktörü olduğu vurgulanmaktadır (Aşık, 2011).

b-Litik/Toksik Bileşik Üretimi; Çoğu *A.baumannii* izolatu, yapısı ve antijenik özellikleri iyi bilinen çeşitli lipopolisakkaridler (LPS) üretmektedir. Bu yapıların, serum direnci, konağın endotoksine karşı immün yanıtı ve klinik semptomlar ile ilişkili virülans faktörleri olabileceği düşünülmektedir (Pantophlet, 2008). Diğer bir virülans özelliğide ekstraselüler enzim üretebilme yeteneğidir. Bu enzimler lipid yıkımına neden olurlar. Ayrıca bir çalışmada da, *A.baumannii* tarafından salgılanan dış membran veziküllerinin, konak hücre üzerinde sitotoksik aktivite gösteren bir protein (outer membrane protein A; OmpA) içerdiği saptanmış ve bu proteininin önemli bir virülans faktörü olduğu ifade edilmiştir (Aşık, 2011).

c-Dokulara Yapışma ve Hasar Oluşturma; Bakterinin intraselüler alanında lokalize olmuş, uzun, ince ve mannoza dirençli polisakkarid fimbrialar aracılığıyla dokulara yapışma gerçekleşmektedir. *A.baumannii* OmpA (AbOmpA), 38 kDa moleküler ağırlığına sahip bir yüzey proteini olup küçük maddelerin geçişinde rol

almaktadır. Daha önceden Omp38 olarak adlandırılan bu protein, *A.baumannii*'nin epitelyal hücrelere yapışmasından ve invazyonundan sorumludur (Aşık, 2011).

d-Biyofilm Oluşumu; *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturması, hastane ortamında ve aygıtların yüzeyinde uzun süre canlı kalabilmesi nedeniyle, özellikle kateter kaynaklı enfeksiyonlarda önemli bir virülans faktörüdür. Biyofilm oluşturma özelliği hastane ortamında uzun süre canlı kalmasını sağlamasının yanısıra, bakteriyi bazı antimikrobiyal ajanlara karşı da korumaktadır (Can ve ark., 2006). *A.baumannii*'nin abiyotik yüzeylerde biyofilm oluşturmada temel bileşenin, bakterinin hücrel bir komponenti olan ve hücrenin çevresine yayılmış uzun filamanlar olduğu gösterilmiştir. Bakterinin hareketli olmaması, bu filamanların, yüzeylere sıkıca yapışabilen tip-I pililer olma olasılığını güçlendirmiştir. Diğer bakterilerde tutunma özelliğini inceleyen çalışmalarda, bakteri ve yüzey arasında gelişen bağlantılardan bakteride oluşan ekzopolimerik yapıların oluşturulması, pili ve flajella gibi uzantıların sorumlu olduğu gösterilmiştir (Tomaras ve ark., 2009).

e-Demir Kazanım Mekanizmaları; Konakta varlığını sürdürmek için mikroorganizmalar, öncü demir moleküllerini kullanma yeteneklerini ortaya koyar ve bunu da, yüksek afiniteli demir kazanım sistemlerini eksprese ederek sağlar. *A.baumannii* izolatları, farklı demir kaynaklarını kullanabilme yeteneğine ve konağa kolonize olmayı sağlayan bağımsız demir kazanım sistemine sahiptir. Bu bakteriler, demir kazanım kapasitelerindeki farklılığa göre siderofor aracılı ve/veya hemin kazanım fonksiyonlarını eksprese etmektedir (Aşık, 2011).

f- “Quorum Sensing” (QS); Bir bakterinin patogenezi için gerekli olan şartlardan biri, yeni çevreye uyum sağlamak ve çevreden gelen uyarınları algılayarak yanıt geliştirmektir. “Minimum popülasyon birimini algılama” olarak ifade edilen QS mekanizması, bakterinin etrafındaki popülasyon yoğunluğunu saptamasına yarayan bir sistem olup, bakteri bu bilgiyi birçok genin regülasyonunu kontrol etmekte kullanır. Bu sistem sayesinde bakteri davranışlarını koordine ederek besin kaynaklarına adaptasyon geliştirir, aynı besin için yarışan diğer bakterilere karşı savaşılabılır, enfeksiyon sırasında virülans faktörlerinin regülasyonu sonucu konağın immün yanıtından kaçabilir (Aşık, 2011).

g-Hastane Ortamında Sağkalım; Bir bakteriyel patojenin, sınırlı besin koşullarında ve kuru yüzeylerde yaşayabilme yeteneği, doğal ve tıbbi çevrelerde canlı

kalarak yayılmasına yardımcı olmaktadır. Bu durum bakterinin, hastane cihaz ve ekipmanlarındaki kolonizasyonun uzun süreli olmasına yol açmakta ve salgınların ortaya çıkışı ile sonuçlanabilmektedir. *A.baumannii*'nin, tıbbi cihazlar, yatak/şilte ve yastıklar, eldivenler, elektrikli ekipmanlar ve tıbbi giysiler gibi abiyotik yüzeylerde günlerce hatta haftalarca yaşama yeteneğine sahiptir (Towner ve ark., 2009). Bu veriler, özellikle düşük hastalar arasında meydana gelen nozokomiyal salgınlarda *A.baumannii*'nin hastane ortamındaki inatçı sağkalımının önemini ortaya koymaktadır (Urban ve ark., 2003; Fournier ve ark., 2006). Bakterinin geniş antibiyotik direncine sahip olabilmesinin yanı sıra doğal ve nozokomiyal çevrelerde uzun süre canlı kalabilme yeteneği, enfeksiyonun kontrolünü ve tedavisini güçleştirmektedir.

2.1.4 Epidemiyoloji

Bir bakteriyel patojenin, sınırlı besin koşullarında ve kuru yüzeylerde yaşayabilme yeteneği, doğal ve tıbbi çevrelerde canlı kalarak yayılmasına yardımcı olmaktadır. Bu durum bakterinin, hastane cihaz ve ekipmanlarındaki kolonizasyonun uzun süreli olmasına yol açmakta ve salgınların ortaya çıkışı ile sonuçlanabilmektedir. Diğer mikroorganizmalarla kıyaslandığında *Acinetobacter* türleri kuruluğa dayanıklı olmaları, farklı ısı ve pH derecelerinde yaşayabilme özellikleri ile cansız yüzeylerde günlerce canlılıklarını sürdürebilmektedirler. Doğada toprak, su ve yiyeceklerde saprofit olarak serbest yaşayabilmektedirler (Berezin ve Towner, 1996). *Acinetobacter* türleri insan derisinin doğal konakçısı olarak benimsenmekte ve özellikle salgınlar sırasında hastanede yatan hastalarda %25'e varan yüksek oranlarda taşıyıcılık saptanmaktadır. Bu durum en çok hastane personeline derideki kalıcı taşıyıcılığa bağlanmaktadır (Bahar ve Esen, 2008; Allen ve Hartman, 2009). *A.baumannii*, tıbbi cihazlar, yatak/şilte ve yastıklar, eldivenler, elektrikli ekipmanlar ve tıbbi giysiler gibi abiyotik yüzeylerde günlerce hatta haftalarca yaşama yeteneğine sahiptir (Towner, 2009).

Yoğun bakım ünitelerinde özellikle ventilasyon uygulanan hastalarda, solunum sisteminde taşıyıcılığın yüksek oranda arttığı ve salgınlara yol açtığı gösterilmiştir. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların dışkılarında çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter* türleri izole edilmiş ve trakeostomili hastaların %45'inde kolonizasyon saptanmıştır (Bahar ve Esen, 2008; Schreckenberger ve ark., 2003). Özellikle YBÜ'de değişik risk faktörleri bu duruma etkili olmaktadır. Antibiyotik tedavisi, cerrahi girişim,

yabancı cisim uygulamaları, mekanik ventilasyon, uzun süre YBÜ’de yatış ile birlikte kolonize olan bakteriler risk faktörlerinden bazılarıdır Schreckenberger ve ark., 2003). Son yirmi yılda *Acinetobacter* enfeksiyonları ılıman iklimlerde giderek yaygınlaşan ortak bir nozokomiyal sorun haline gelmiştir (Munoz-Price ve Weinstein, 2008).

2.1.5 *Acinetobacter* Enfeksiyonları

2.1.5.1 Pnömoni

YBÜ’de nozokomiyal pulmoner infeksiyon salgınları çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmektedir ve bunların başında ventilatör kaynaklı pnömoniler ilk sırayı almaktadır. Yayınlanmış birçok araştırmaya göre nozokomiyal pnömonilerin %3-12’sini *Acinetobacter*’ler özellikle de *A. baumannii* oluşturmaktadır. Alt solunum yollarında *Acinetobacter* kolonizasyonu veya pnömoni oluşmasında ilerlemiş yaş, kronik akciğer hastalıkları, immünsüpresyon, cerrahi girişimler, gastrik ve endotrakeal tüp kullanımı gibi risk faktörleri rol oynamaktadır. Ventilatör kaynaklı *Acinetobacter* nozokomiyal pnömonisi olan hastalarda ölüm oranı %30-75’dir. Bu infeksiyonların prognozu *P. aeruginosa* dışındaki diğer Gram negatiflerle oluşan pnömonilerden çok daha ağırdır (Lortholary ve Fagon 1995; Pennington 1995). YBÜ’den yayılım ventilatör ekipmanları, eldivenler, kolonize sağlık personeli ve kontamine olmuş parenteral nutrisyon solüsyonlarına bağlanmıştır. Nozokomiyal *Acinetobacter* pnömonisinde sıklıkla multilober tutulum, kavitasyon, plevral efüzyon ve bronkoplevral fistül oluşumu gözlenmiştir (Allen ve Hartmann, 2009).

2.1.5.2. Bakteriyemi

Acinetobacter bakteriyemisi sıklıkla pnömoni ve damar içi kateter kullanımından sonra gelişen enfeksiyonlara sekonder gelişmektedir. Üriner sistem kateterizasyonu, yaralar, deri ve abdominal enfeksiyonlar daha az sıklıkla kaynak oluşturur (Allen ve Hartmann, 2009).

Acinetobacter ile gelişen bakteriyemi insidansı % 8,4’ün üzerinde bildirilmekte ve en sık hastaneye yatışın ikinci haftasında gelişmektedir. En sık rastlanan tür *A.baumannii*’dir. Polimikrobiyal veya tek başına bakteriyemilere neden olabilir. Mortalite %17-46 arasında bildirilmekle birlikte, polimikrobiyal olgularda mortalitenin arttığı, *A.baumannii* dışındaki türlerde ise klinik tablonun daha hafif seyrettiği

vurgulanmaktadır (Allen ve Hartmann, 2009). Berezin ve Towner, 1996). Gerçek bakteriyemi, yanlış kan kültürü alma tekniğinden kaynaklanan deri kontaminasyonundan ayırt edilmelidir (Allen ve Hartmann, 2009).

Yetişkinlerde en büyük grubu immün sistemi baskılanmış yaşlı hastalar oluşturur. Malignansiler, travma ve yanık en yaygın predispozan faktörler olarak görülmektedir. Yenidoğanlar ikinci önemli hasta grubunu oluşturur. Septisemi için risk faktörleri düşük doğum ağırlığı, mekanik ventilasyon, öncesinde antibiyotik kullanımı ve yeni doğan konvülsiyonlarının varlığı olarak tanımlanmıştır (Berezin ve Towner, 1996). Septik şok, bakteriyemili hastaların %30'unda görülebilmektedir (Allen ve Hartmann, 2009).

2.1.5.3. Menenjit

Primer menenjitli sporadik vakalar bildirilmesine rağmen özellikle beyin cerrahisi uygulamalarından sonra, travma, lomber ponksiyon, ventrikülografi ve miyelografi sonrası gelişen sekonder menenjit olguları baskın form olarak saptanmaktadır (Berezin ve Towner, 1996). *Acinetobacter* türleri ile gelişen nozokomiyal menenjit olgularında beyin omurilik sıvısı bulguları pürülan menenjit özelliğindedir. Klinik bulgu olarak sıklıkla konvülsiyon ve mental durumda bozulma gözlenirken, ense sertliği nispeten daha geri planda saptanan bulgudur. Ventrikülostomi, serebrospinal sıvı kaçağı, beyin-omurilik sıvısı fistülleri, beş günden uzun süreli tutulan ventriküler kateterler ve bu hastaların kaldığı yoğun bakım ünitelerinde aşırı antibiyotik kullanımı sıklıkla karşılaşılan risk faktörlerdendir. Mortalite oranı %20-27 arasında bildirilmektedir (Berezin ve Towner, 1996; Allen ve Hartman, 2009; Gantz ve Tkatch 1999).

2.1.5.4. Üriner Sistem Enfeksiyonları

Genellikle immün sistemi baskılanmış, yaşlı, sürekli üriner kateteri olan ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda görülmektedir. Prostatik genişleme nedeniyle kateter kullanımına bağlı olarak hastaların %80'i erkektir. Unutulmamalıdır ki üriner kateter taşıyan hastalardan izole edilen her *Acinetobacter* gerçek enfeksiyon etkeni olmayabilir ve kolonizasyonu göz ardı etmemek gerekir (Berezin ve Towner, 1996; Başustaoğlu ve Özyurt, 1998).

2.1.5.5. Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Travmatik yaralar, yanık, cerrahi insizyon bölgeleri, damar içi kateter uygulamaları, bağışıklık sisteminin baskılanması başlıca risk faktörlerini oluşturur (Berezin ve Towner, 1996). Damar içi kateter yerinde *Acinetobacter* kaynaklı sellülit gelişebilir ve katererin uzaklaştırılmasıyla enfeksiyon iyileşebilmektedir. Travmatik yaralar, yanıklar ve postoperatif insizyonlar *Acinetobacter* türleri ile kolonize olabilir (Allen ve Hartman, 2009).

2.1.5.6. Diğer Enfeksiyonlar

Acinetobacter enfeksiyonu vücudun çeşitli bölgelerinde oluşabilir. Konjonktivit, endoftalmit, yumuşak lens kontaminasyonu sonucunda korneal ülserasyon ve perforasyon bildirilmiştir. Prostetik kapak endokarditi, osteomyelit, artrit, pankreas ve karaciğer absesi rapor edilmiştir (Allen ve Hartman, 2009). Ayrıca periton diyalizi, perkutan transhepatik kolanjiografi, perkütan safra drenajı sonrası enfeksiyon gelişen olgular bildirilmiştir (Bahar ve Esen, 2008). Devamlı peritoneal diyaliz sonrası gelişen peritonit vakalarının çoğu diyalizi sonlandırmaya gerek kalmadan antibiyotik tedavisine cevap vermektedir (Vallez ve ark., 1991).

2.1.6 *Acinetobacter* Enfeksiyonlarının Tedavisi

A. baumannii antimikrobiyal direncin hızla geliştiği bir bakteridir. Bu direnç tedavide ciddi sonuçlara yol açan bir problemdir. Özellikle hasta sirkülasyonu ve antimikrobiyal kullanımı yüksek olan YBÜ'lerinde daha önemli sorundur (Saltoğlu, 2007).

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 (Berezin ve Towner, 1996; Schreckenberger ve ark., 2007). Ancak *Acinetobacter* enfeksiyonlarında direnç nedeniyle tedavi seçenekleri sınırlıdır. Karbapenemler, sulbaktam, kolistin ve tigesiklin en etkili antibiyotiklerdir. Direnç sorunu nedeniyle kolistine olan ilgi artmıştır. Kolistin kullanımı ile ilgili başarılı

sonuçlar bildirilmekle birlikte bu ilaçla klinik deneyim sınırlıdır. Kolistin dahil tüm ilaçlara dirençli suşlar panrezistan olarak adlandırılmıştır (Saltoğlu, 2007).

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).

ođul ilaç dirençli *A. baumannii*'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için yapılan *in vitro* alışmalarda polimiksin B veya kolistin+imipenem veya rifampin veya azitromisin; polimiksin veya kolistin+imipenem+rifampin; rifampin+azitromisin; sulbaktam+rifampin veya azitromisin veya kinolon kombinasyonlarının kullanımı tek başına kullanıma göre etkiyi değiştirdiği gösterilmiştir (Rahal, 2006; Appleman ve ark., 2000).

Tigesiklin bazı çoğul ilaca dirençli *A. baumannii* izolatlarına karşı in vitro ve klinik olarak aktif olan yeni glisiklin antibiyotiktir, fakat son zamanlarda tigesikline karşı da direnç rapor edilmiştir (Munoz-Price ve Weinstein, 2008).

2.1.7 Acinetobacter Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler

2.1.7.1 Beta-laktamaz inhibitörleri ile kombine antibiyotikler:

Beta-laktamazlar yapısal olarak PBP'lere benzerler ve beta-laktam antibiyotikleri hidrolize ederek etkisiz kılarlar. Pratikte beta-laktamaz inhibitörleri olarak klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam kullanılır. Bunlar antibakteriyel etkileri zayıf beta-laktam molekülleridir. Bu üç molekülde beta-laktamaz inhibisyonunda benzer yolları kullanır ve irreversible inhibitör olarak davranır. Yalnız bu inhibitörler *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarında bulunan kromozomal beta-laktamazları inhibe edemez, plazmid kökenli enzimleri inhibe eder. Sulbaktam diğerlerinden farklı olarak, *Acinetobacter* türleri üzerinde antibakteriyel etki gösterir ve sulbaktam kombinasyonlarına bu bakterilerin duyarlılıkları yüksek bulunur. Bu bileşiklerle

(sulbaktam-ampisilin ve sulbaktam-sefoperazon) çoklu dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde yüksek başarı bildirilmektedir (Vahaboğlu, 2008).

a) Ampisilin-sulbaktam: Ampisilin ile beta-laktamaz inhibitörü olan sulbaktamın kombinasyonudur ve 2:1 oranında ampisilin ve sulbaktam içerir. Yapısal olarak bakterilerin hücre duvar sentezinde rol alan disakkarid peptidlerin karboksi terminali ile benzerlik gösterir. Bu benzerlik nedeniyle penisilin bağlayan proteinlere bağlanarak hücre duvar sentezi inhibisyonu yaparak, bakterisidal etki gösterir. Ampisiline sulbaktam eklenmesi, dar spektrumlu ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz yapan ve ampisiline dirençli olan gram-negatif, gram-pozitif ve anaerob bakterilere karşı etkinliğini artırır (Leblebicioğlu, 2004).

Sulbaktam, 1-1 didioksi penisilanic asit-sülfondur. Yapısal ve farmakokinetik özellikleriyle ampisiline benzer; serum yarı ömrü 1.1-1.3 saattir (Vahaboğlu, 2003). Sulbaktam, gram negatif bakterilerde PBP2'ye bağlanarak inhibisyona yol açar. Bu özellik tek başına antibakteriyel etkinliğe yol açmamakla birlikte penisilin veya sefalosporinlerle kombine edildiğinde antibakteriyel etkinliğin güçlenmesine neden olmaktadır (Williams, 1997).

Ampisilin aminopenisilinler grubunda yer alan beta-laktam bir antibiyotiktir. Yapısal olarak bakterilerin hücre duvar sentezinde rol alan disakkarid peptidlerin karboksi terminali ile benzerlik gösterir. Bu benzerlik nedeniyle PBP'lere bağlanarak hücre duvar sentezini durdurur. Oral kullanımda biyoyararlanımı düşüktür, oral alımı takiben %30-55'i emilir. Ampisilin vücut sıvılarında dağılımı oldukça iyidir. Yarılanma ömrü 1-2 saat, plazma proteinlerine bağlanma oranı %20'dir. İntravenöz uygulamadan 1 saat sonra serum konsantrasyonu 12-29 mg/lt'ye ulaşır; erişkin dozu 6 saatte bir uygulanır. Beta-laktamaz salgılayan gram negatif bakterilere karşı etkinliği yoktur. Bu nedenle bir beta-laktamaz inhibitörüyle kombine edilmiş ticari formu bu tip enfeksiyonlarda kullanılır (Dökmetaş, 2003).

b) Sefaperazon-sulbaktam: Sefoperazon bir üçüncü kuşak sefalosporindir. Diğerlerinden farklı olarak antipsödomonal etki gösterir. Beta-laktamaz sentezlemeyen enterik gram-negatifler ve *P.aeruginosa*'ya karşı yüksek etkinlik gösterir. Özellikle enterik gram-negatif mikroorganizmaların ve *P.aeruginosa*'nın beta-laktamaz üretimiyle sefoperazonun etkinliğini belirgin derecede azaltmasının önüne geçmek için, sefoperazon sulbaktam ile kombine edilerek kullanıma sunulmuştur. Ülkemizde

sefoperazon ve sulbaktam kombinasyonu, içinde her iki etken maddenin de 1'er gramını içeren 1:1 kombinasyonu şeklinde bulunmaktadır. Sefoperazon, sulbaktam ile kombine edildikten sonra beta-laktamaz üreten pek çok mikroorganizmaya karşı yeniden etkin hale geçer (Akova, 2006).

Acinetobacter türlerine karşı sulbaktamla sefaperozonun 1:1 oranında kombine formu oldukça etkilidir (Williams, 1997). Türk Antibiyotik Direnç Grubu tarafından 9 merkezin katılımı ile gerçekleştirilen bir çalışmada 716 bakteri kullanılmış ve E-test yöntemi ile in vitro sefaperazon–sulbaktam duyarlılıkları tespit edilmiştir. Bu çalışmada *Acinetobacter* izolatlarına en etkili antibiyotiklerin sefaperazon-sulbaktam ve imipenem olduğu saptanmıştır (Pfaller ve ark. 1999). Aygün ve ark. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi yoğun bakım ünitesinden hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilen 50 *A. baumannii* izolatının disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarını saptamışlardır. Sefaperazon-sulbaktam (%80) netilmisinden sonra ikinci en etkili antibiyotik olarak saptanmıştır (Aygün ve ark., 2002).

Sefoperazon-sulbaktam sadece parenteral yolla kullanılır. Bu iki ajanın kombinasyon biçiminde kullanımının tek tek kullanımlarından farklı farmakokinetik özelliklere sahip olmadığı saptanmıştır. Sefoperazon-sulbaktamın dokulara dağılımı oldukça iyidir. Sefoperazon çoğunlukla safra yoluyla atıldığı için safra kesesi içinde ve kese duvarında yüksek yoğunluklarda bulunur. Sefoperazon-sulbaktam inflamasyon varlığında bile beyin omurilik sıvısına tedavi edici yoğunluklarda geçmez. Günlük doz normalde 12 saat arayla verilen 2 g sefoperazona karşılık gelecek biçimdedir. Ciddi enfeksiyonlarda bu miktar 4 grama kadar çıkarılabilir (Akova, 2006).

2.1.7.2 Antipsödomonal penisilinler:

Karboksi penisilinler (karbenisilin ve tikarsilin) ve üreidopenisilinler (azlosilin, mezlosilin ve piperasilin) olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Aminopenisilinlerle karşılaştırıldığında etkinlikleri gram negatif basiller üzerine daha fazladır. Bakteri hücre duvar sentezinin son basamağını inhibe ederek etki ederler. Bunlar içerisinde piperasilin ve tikarsilinin beta-laktam inhibitörlü kombinasyonları *Acinetobacter* izolatlarına karşı etkinlik göstermektedir.

Piperasilin ile bir beta-laktamaz inhibitörü olan tazobaktam 8/1 oranında kombine edilerek kullanılır. Tikarsilin etkinliği ise klavulonik asitle artar.

Tikarsilin/klavulonik asit 15/1 oranında kombine edilerek kullanılır (Çakır, 2004). Tikarsilin ile karbenisilinin etkisi benzerdir, fakat tikarsilinin etkin dozu daha düşüktür (Dökmeçi, 1992).

2.1.7.3. Sefalosporinler

Bu grupta yer alan antibiyotikler hücre duvar sentezinde rol oynayan PBP'lere bağlanarak sentezi bozarlar ve dozdan bağımsız olarak bakterisidal etki gösterirler. Sefalosporinler dört kuşak altında sınıflandırılırlar. Birinci kuşaktan dördüncü kuşağa gidildikçe Gram negatif etkinlikte artış görülmektedir. Özellikle üçüncü kuşak sefalosporinlerden sefaperazonun sulbaktamla kombinasyonu, seftazidim ve dördüncü kuşak sefalosporinlerden sefepim *Acinetobacter* infeksiyonlarında etkilidirler (Yıldırım, 2006).

Seftazidim, aminotiazolil grubu yarı sentetik bir üçüncü kuşak sefalosporindir. Tüm vücut sıvılarında dağılımı oldukça iyidir. Antipsödomonal etkinliği ön plandadır. Duyarlı *Acinetobacter* infeksiyonlarında kullanılabilir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda yüksek direnç oranları bildirilmiştir (Tünger ve ark., 2005).

Sefepim dördüncü kuşak yarı sentetik, parenteral kullanıma uygun çift iyonik karakterde aminotiazolil sefalosporindir. Aminotiazolil grubunun varlığı Gram negatif etkinliği ve beta-laktamazlara direnci sağlayan bir özelliktir. Üçüncü karbon atomunda N-metilpirolidin bulunması da Gram negatif hücre duvarından geçebilme ve beta-laktamaz direnci özelliği sağlar. *Pseudomonas* kökenleri de dahil tüm Gram negatif çomaklara, Gram pozitif koklara ve anaeroplara karşı etkilidir. Gram pozitif koklara karşı etkisi üçüncü kuşak sefalosporinlerden fazla, ikinci kuşak sefalosporinlerden azdır. Tip 1 kromozomal betalaktamazlardandaha az etkilenmesi nedeni ile Gram negatif enterik basillere üçüncü kuşak sefalosporinlerden daha etkilidir (Çakır, 2004).

2.1.7.4 Karbapenemler

Karbapenemler en geniş spektruma sahip beta-laktam grubu antibiyotikler olup hem enterik hem de nonenterik gram negatif çomak ve koklar, gram pozitif koklar, anaerop bakteriler üzerine etkindirler. Ortak bir karbapenem molekülü içeren yarı sentetik beta laktam türevi antibiyotiklerdir. Penisilinlerden farklı olarak C1 atomuna bir kükürt atomu buna da bir tiazolidin halkası bağlanmıştır. C2 ve C3 atomlarında

doymamış bağlar vardır. 6-transhidroksimetil grubunun varlığı birçok beta-laktamaz türüne karşı molekülün direncini sağlar. Karbapenemler başta PBP2 olmak üzere, PBP1A, PBP1B, PBP3, PBP4 ve PBP5'e bağlanarak hücre duvar sentezini engellerler (Çakır, 2008).

Geniş spektrumları ile birlikte AmpC ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz enzimlerine karşı dirençli olmaları ve indüklenmiş bakteri topluluklarında AmpC mutantların seçimine meydan vermemesi karbapenemlere üstünlük sağlamaktadır. İmipenem ve meropenemden sonra üç yeni üye daha ruhsatlandırılarak klinik kullanıma verilmiştir. Bunlar; ertapenem, doripenem ve faropenemdir.

İmipenemin plazma yarılanma ömrü yaklaşık 1 saattir. Serum proteinlerine bağlanma oranı %10-20 arasındadır, vücut sıvılarına dağılımı iyidir. Klinik kullanımda imipenem/silastatin intravenöz infüzyon şeklinde 6 saatte bir 500 mg olarak uygulanır.

Plazmada dolaşan imipenemin %50-70'i vücutta moleküler değişikliğe uğramadan böbrek yolu ile atılır. Bu nedenle böbrek yetmezliğinde doz ayarı gerekmektedir (Usluer ve Ünal, 2004).

Meropenem genellikle sekiz saat arayla 1 gr şeklinde uygulanır. Meropenem de imipenem gibi böbrekler yoluyla ve genellikle değişmeden atılır. Bu nedenle böbrek yetmezliklerinde doz ayarlanmasına gerek vardır.

Karbapenemler birçok plazmid kökenli beta-laktamaza dirençlidir. Kromozomal beta laktamazların kuvvetli indükleyicisidirler. Çinko metalloenzimlere duyarlıdır. Karbapenemler, TEM ve SVH tip beta laktamazlardan (Richmond Sykes Tip 3) ve Richmond Sykes Tip 1 enzimlerden klinik düzeyde etkilenmezler (Çakır, 2008).

2.11.3.1. Kinolonlar

DNA sentezini direkt olarak inhibe eden tek antimikrobiyal gruptur. Kinolonlar bakterilerde DNA replikasyonu için gerekli olan DNA-giraz (topoizomeraz II) ve topoizomeraz IV enzimleri ile etkileşime girer. Dolayısıyla DNA'nın replikasyonu ve RNA-polimeraz enziminin DNA'ya bağlanarak mRNA oluşturması engellenir ve nükleik asit sentezi durur. Etkileri konsantrasyona bağımlı bakterisidaldir. Genel olarak Gram-negatif bakteriyel aktivite DNA giraz, Gram-pozitif bakteriyel aktivite ise topoizomeraz IV inhibisyonu ile ilişkilidir (Arda ve Ulusoy, 2008).

Kinolonlar sentez edildikleri sıraya göre dört gruba ayrılırlar:

1.Kuşak kinolonlar: Nalidiksik asit

2.Kuşak kinolonlar: Siprofloksasin, ofloksasin, pefloksasin, norfloksasin, enoksasin, fleroksasin.

3.Kuşak kinolonlar: Levofloksasin, grepafloksasin, sparfloksasin, travofloksasin.

4.Kuşak kinolonlar: Moksifloksasin, gatifloksasin, gemifloksasin.

Ofloksasin ve siprofloksasin, enterik bakterilerin yanı sıra *Acinetobacter spp.* türlerine de etkilidir. Dirençli *Acinetobacter* infeksiyonlarında kombine tedavide siprofloksasin sıklıkla kullanılan bir ajandır. *Acinetobacter* türlerine karşı, 1988’li yıllara kadar oldukça etkili olan florokinolonların günümüzde dirençli kökenleri ön plandadır (Gür, 2008).

2.1.7.6 Aminoglikozidler

Aminoglikozidler, *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinsi mantarlardan elde edilen doğal yada yarı sentetik bakterisidal etkili antibiyotiklerdir. Etkilerini mRNA’daki kodonların okunuşunu azaltarak ve tRNA antikodonlarındaki bilginin ribozomlarda yanlış okunması ile proteinlerin yanlış kodlanmasına yol açarak gösterirler. Bunun sonucunda bakteri protein sentezi sonlanır. Bu etkinin gerçekleşebilmesi için streptomisin ribozomal 30S alt birimine bağlanırken diğer aminoglikozidler hem 30S hem de 50S alt birimlerine bağlanırlar. Aminoglikozidler bakterilerin dış membranlarındaki porin kanallarından periplazmik aralığa difüzyonla girer, ancak bakteri sitoplazmik membranını geçebilmeleri enerji ve oksijene bağımlı aktif transport mekanizması ile olmaktadır. Bu işlem Energy-Depent Phase 1 (EDP) ve EDP 2 olmak üzere iki fazda gerçekleşir. Diğer protein sentezini inhibe eden antibiyotikler bakteriyostatik etki gösterirken aminoglikozidlerin bakterisid etki göstermesinin transport esnasında hücre membranında delikler oluşmasına ve sonuçta hücre duvar geçirgenliğinin bozulmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (Gilbert, 2000) . Aminoglikozidler *P. aeruginosa* başta olmak üzere gram negatif aerop bakterilere etkilidir. Gram pozitif bakterilere etkinlikleri ise kısıtlıdır. *Acinetobacter*’lerin klinik izolatlarının arasında aminoglikozid direnci yaygındır (Shakil ve ark., 2008).

2.1.7.7 Tigesiklin

Bir minosiklin türevidir olan tigesiklin, Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA) tarafından onaylanan glisilsiklin grubundan ilk antibiyotiktir. Tigesiklin (GAR 936)

tetrasiklin grubundan minosiklinin semisentetik olarak türetilmesi ile oluşan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Glisiklin grubunun ilk üyesidir. Tetrasiklinlerin temel çekirdeğindeki 9 pozisyonunda yapılan N-alkil-glisilamido modifikasyonu bu yeni moleküle çok geniş bir antibakteriyel spektrum ve tetrasikline direnç mekanizmalarına karşı dayanıklılık sağlamaktadır (Esen, 2008).

Tigesiklin de tetrasiklinler gibi bakteri ribozomlarının 30S alt ünitlerine bağlanarak protein sentezini elongasyon basamağında inhibe ederler. Bağlanma noktası tetrasiklinlerden farklı olduğu için Tet(M) proteininden etkilenmez ve tetrasiklinlere göre beş kat daha güçlü olarak bağlanır (Çalık ve Akova, 2007).

Tigesiklin aerobik gram-pozitif, gram-negatif ve anaerobik patojenlere karşı etkinlik gösterir. Aynı zamanda *Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.* ve *Morganella spp.* hariç tetrasiklinlere efluks veya ribozomal bağlanma ünitesinde değişiklik yoluyla direnç geliştirmiş tüm mikroorganizmalara etkilidir. Ayrıca tigesiklin karbapenemaz üreten *Acinetobacter* izolatlarına karşı etkili bulunmuştur (Çalık ve Akova, 2007).

2.1.7.8 Polimiksinler

Polimiksinler polipeptid katyonik antibiyotiklerdir. Bu sınıfta kolistin (polimiksin E) ve polimiksin B tanımlanmıştır. 1940'lı yıllarda tanımlanan bu ilaç ciddi toksisitesi nedeni ile kullanım dışı kalmıştır. İki kolistin formu ticari olarak kullanımdadır. Kolistin sulfat genellikle topikal veya oral selektif barsak dekontaminasyonu ve kolistimetat sodyum parenteral yolla kullanılır. 1993'te sadece kolistine duyarlı gram negatif suşlar bildirilmesi tekrar bu ilaca ilgiyi arttırmıştır. Son çalışmalarda i.v kolistin ve polimiksin B'nin bakteremi, pnömoni, deri yumuşak doku enfeksiyonları, üriner sistem gibi farklı alanlarda enfeksiyonu olan hastalarda kullanılabilirliği önerilmiştir. Polimiksinlerin intratekal ya da intraventriküler kullanımının yararı multidrug rezistan gram negatif SSS enfeksiyonları için bildirilmiştir. Kan beyin bariyerini de geçmesi nedeni ile de SSS enfeksiyonlarında kullanılmıştır (Saltoğlu, 2007).

Kolistinin hedefi bakteri hücre membranıdır. Katyonik bir peptid olan kolistin ile gram-negatif bakterilerin dış membranındaki anyonik LPS molekülleri elektrostatik ilişkiye girerler ve hücre membranında düzensizliğe yol açarlar. Kolistin, LPS moleküllerini stabil halde tutan magnezyum ve kalsiyumun yerini değiştirerek dış

membranda bozulmaya ve oluşan permeabilite bozukluğu bakterinin ölümüne neden olur. Ek olarak kolistin güçlü endotoksin aktivitesiyle direkt antibakteriyel etki de gösterir (Akalin, 2007).

Kolistin ciddi yan etkileri, nefrotoksisite, nörotoksisite ve nöromuskuler blokaj nedeni ile kullanımını sorunlu bir antimikrobiyaldir. İlk olarak dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonlarında yara yerine topikal olarak kullanılmıştır. Dirençli enfeksiyonlarda 2.55 milyon ünite/kg/gün i.v yolla, maksimum 300 mg'a kadar, iki ya da 3 doza bölünerek kullanımı önerilir. Renal yetersizlikte doz azaltılmasına gerek vardır. Hastaların %58'inde iyi klinik sonuç alınmıştır. Diğer tedavi seçeneklerinin kalmadığı durumlarda kolistin hastayı yakın izleme koşulu ile önerilebilmektedir. Kolistin dahil tüm ilaçlara dirençli suşlar panrezistan olarak adlandırılmıştır (Saltoğlu, 2007).

Kolistin, *Acinetobacter* türleri, *P.aeruginosa*, *Klebsiella* türleri, *Enterobacter* türleri, *Escherichia coli*, *Salmonella* türleri, *Shigella* türleri, *Citrobacter* türleri, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Morganella morganii* ve *Haemophilus influenzae*'ya karşı bakterisidal etki gösterir. *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarına da etkili olduğu gösterilmiştir. Gram negatif bakterilerde mutasyon ya da adaptasyon yolu ile bu antibiyotiğe karşı direnç gelişebilmektedir (Falagas, 2005).

Son yıllarda çok ilaca dirençli *A.baumannii* ve *P.aeruginosa* enfeksiyonlarında yeniden gündeme gelmiştir ve tedavide kullanılmıştır. Çok ilaca dirençli *P.aeruginosa* veya *A.baumannii*'nin neden olduğu nozokomiyal pnömonilerde kolistine klinik yanıt oranları % 25-73.3 arasında değişmektedir (Akalin, 2007).

Dirençli *A.baumannii* enfeksiyonlarında kombinasyon tedavileri önerilmiştir. Polimiksin B veya kolistinle rifampin, imipenem veya azitromisinle; rifampin+azitromisin;sulbaktam+rifampin, azitromisin, veya bir kinolon ve de polimiksin B'nin rifampin ve imipenemle üçlü kombinasyonunun tek başına kullanımına göre etkiyi değiştirdiği gösterilmiştir (Saltoğlu, 2007).

2.1.8 *Acinetobacter* Türlerinde Antibiyotik Direnci ve Mekanizmaları

A.baumannii izolatlarına bağlı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı giderek artan direnç tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir (Demirtürk ve Demirdal, 2004). 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* infeksiyonlarının 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 ve Tonkic, 2009). *A. baumannii* izolatlarının antibiyotik direnç mekanizmaları tablo 1’de özetlenmiştir.

Tablo 1: *A. baumannii*’nin sahip olduğu antibiyotik direnç mekanizmaları (Çiftçi ve Aşık, 2011)

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

2.1.8.1 Beta-Laktam Antibiyotikler

Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç üç mekanizma ile gelişebilmektedir (Clark ve ark., 2004; Cisneros ve Rodriguez, 2002).

- 1- Beta-laktamaz üretimi.
- 2- Beta-laktam antibiyotiğin hücre içine girişinin azalması.
- 3- Penisilin Bağlayan Proteinlerde (PBP) değişiklik.

2.2.8.1.2. Beta-laktamaz Üretimi

Acinetobacter kökenlerinde beta-laktam antibiyotiklere karşı olan direnç büyük ölçüde beta-laktamaz üretimine bağlıdır. Beta-laktamazların sentezi kromozom, plazmid veya transpozon kontrolündedir (Bou ve ark., 2000, , Cisneros ve Rodriguez, 2002).

2.2.8.1.3 Kromozomal Beta-laktamazlar

Sefalosporinaz aktivitesi gösteren enzimler *Acinetobacter* kökenlerindeki en önemli kromozomal beta-laktamazlardır. *A. baumannii* izolatlarının %98'inde sefalosporinaz aktivitesi olduğu gösterilmiştir (Clark ve ark., 2004). Kromozomal sefalosporinazlardan olan AmpC'nin varlığı beta-laktamlara karşı dirençte önemli bir rol oynamaktadır (Clark ve ark., 2004).

2.2.8.1.4 Plazmid Aracılığı ile Sentezlenen Beta-laktamazlar

TEM-1, TEM-2 gibi plazmid aracılı beta-laktamazlar penisilinleri inaktive etmekte ancak sefalosporinleri etkilememektedir (Clark ve ark., 2004). Ambler sınıflamasına göre A sınıfında bulunan PER-1 ve VEB-1 enzimleri Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) aktivitesi göstermekte, penisilin ve sefalosporinlerin her ikisini de etkileyebilmektedir (Ferrara, 2006). B sınıfında yer alan, Metallo-Beta-Laktamaz (MBL) aktivitesi gösteren ve plazmid aracılı karbapenemazlardan olan IMP ve VIM ise aztreonam dışındaki tüm beta-laktam antibiyotikleri hidroliz edebilme yeteneğindedir (Ferrara, 2006; Clark ve ark., 2004).

2.2.8.1.5 β -laktam Antibiyotiğin Hücre İçine Girişinin Azalması

Beta-laktam antibiyotikler gram-negatif bakterilerde bulunan dış membran proteini (Outer Membran Protein (OMP)) adı verilen, porin proteinlerinin oluşturduğu

porlar aracılığıyla hücre içerisine geçmektedirler. (Lanbaran, 2001). Porin proteinlerinin sayısını değiştiren mutasyonlar beta-laktam antibiyotiklere direnç gelişimine neden olabilmektedir (Lanbaran, 2001).

2.2.8.1.6 Penisilin Bağlayan Proteinlerde Değişiklik

Penisilin bağlayan proteinlerdeki değişiklikler kromozomal mutasyonlara bağlı olarak üç farklı mekanizma ile meydana gelebilmektedir (Lanbaran, 2001).

1. Beta-laktam antibiyotiğe PBP'lerin afinitesinin azalması.

2. PBP sayısında azalma.

3. Beta-laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP'lerin sentezlenmesi; beta-laktamlara karşı dirençte önemli bir rol oynamaktadır (Ferrara, 2006; Clark ve ark., 2004).

2.1.8.1 Aminoglikozidler

Acinetobacter türlerinde aminoglikozid direnci çoğunlukla aminoglikozid modifiye edici enzimlerin üretiminden kaynaklanır. *Acinetobacter* türlerinde asetiltransferaz, adenil-transferaz ve fosfotransferaz olarak tanımlanan aminoglikozid modifiye edici enzimlerin tümünün varlığı gösterilmiştir. Ayrıca *Acinetobacter haemolyticus* ve ilişkili genomik grupların doğal N-asetil-transferazların sentezi nedeniyle doğal olarak aminoglikozidlere dirençli olduğu vurgulanmıştır. Aminoglikozid direncinin diğer mekanizmalarının, hedef ribozomal protein değişiklikleri ve aminoglikozidlerin hücre içine taşınımı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Gordon ve Varetham, 2001; Shi ve ark., 2005).

Aminoglikozid direnç genleri *Acinetobacter* türlerinde bulunan sınıf 1 integron yapısının bir parçası olan gen kasetleridir. *Acinetobacter* türlerinde aminoglikozid direnç genlerinin yayılımının plazmidlerin ve transpozonların transferini de içeren çeşitli genetik mekanizmalarla gerçekleştiği gösterilmiştir. 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., 2005).

2.1.8.2 Kinolonlar

1990'a kadar kinolonlar *Acinetobacter* türlerine karşı oldukça iyi aktivite göstermişler ancak daha sonra klinik izolatlar bu antibiyotiklere hızla direnç geliştirmişlerdir. Diğer Gram negatif bakterilerde olduğu gibi, enzimleri kodlayan ve kromozoma lokalize genleri kodlayan alanda meydana gelen mutasyonunun neden olduğu 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 oluşur. Benzer şekilde 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. *parC*'deki en sık mutasyon da *parC*'nin 80. kodonunda Ser yerine Leu değişimidir. İzolatlar arasında dirençteki minor değişimler ilaç permeabilitesinde ve/veya efluks pompasını etkileyen değişikliklerin sonucu da olabilir (Lee ve ark., 2005; Vila ve ark., 1993).

2.1.8.3 Tetrasiklin ve Diğer Antibiyotikler

Tetrasiklin dirençli bakteriler genellikle efluks pompası veya ribozomal koruma sistemi olarak adlandırılan iki farklı direnç mekanizmasından birini eksprese eder. Gram negatif bakterilerde tetrasiklin direnci için *tetA*'dan *tetE*'ye kadar farklı genler tanımlanmıştır. Bu genlerin genellikle plazmid veya transpozonla ilişkili olduğu ifade edilmiş olup *Acinetobacter* türleri için de bu genel kuralın geçerliliği söz konusudur. Diğer Gram negatif bakterilerde olduğu gibi, *A.baumannii* klinik izolatlarında en sık rastlanan tetrasiklin direnç genleri *tetA* ve *tetB*'dir. Ek olarak bu genler genellikle non-spesifik efluks pompası geni *adeB* ile kombine olarak bulunurlar (Huys ve ark., 2005).

Glisilsiklin grubu yeni bir ajan olan tigesiklin geniş spektrumlu ve 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 başlamıştır. Söz konusu direncin kaynağı hakkında henüz bir bilgi bulunmamaktadır.

2.2. KARBAPENEM DİRENCİ

2.2.1 *Acinetobacter baumannii*' de Karbapenem Direnç Mekanizmaları

Acinetobacter türlerinde karbapenemleri de içeren betalaktam antibiyotiklere karşı direncin temel mekanizması kromozom ya da plazmid tarafından kodlanan betalaktamaz üretiminin sonucudur. Beta-laktamazlara ilave olarak porin değişimi ve penisilin bağlayıcı proteinlerin (PBP) modifikasyonu sonucu da direnç oluşabilir.

2.2.1.1. Betalaktamazlar

2.2.1.2. OXA Tipi Karbapenemazlar

Sınıf D oksasilinazlar oksasilinleri hidrolize eden ve sık rastlanmayan betalaktamazlar olup karbapenem hidrolize eden oksasilinazlar (KHO) olarak adlandırılır. Günümüzde 120'den fazla D grubu beta-laktamaz tanımlanmış olup bunlardan 45 kadarı KHO aktivitesi gösterirler (Walther ve Hoiby, 2006). *A.baumannii* türleri zayıf karbapenemaz aktivitesi gösteren OXA-51 benzeri enzim kümesine ait doğal sınıf D oksasilinaz üretir. Buna ek olarak, karbapenemlere karşı aktivite gösteren üç kazanılmış sınıf D oksasilinaz kümesi de tanımlanmış, MBL sınıfı ile karşılaştırıldığında bu enzimlerin karbapenemlere karşı hidrolitik etkinliğinin oldukça düşük olduğu vurgulanmıştır (Woodford ve ark., 2006). Bu özellik tanınmalarını zor bir hale getirebilir. Bu tipin karbapenem hidroliz eden sınıf D β -laktamazları (CHDL) sıklıkla *Acinetobacter baumannii*'de identifiye edilmektedir (Poirel ve Nordmann, 2006).

Karbapenem hidroliz eden sınıf D β -laktamaz (CHDL) kodlayan bir genin belirlenmesi ilk defa 1995'de *Acinetobacter baumannii*'de raporlanmıştır. Başlangıçta ARI-1 olarak adlandırılan bu enzim İskoçya'da identifiye edilmiştir ve plazmid ile kodlandığı bulunmuştur. Enzimin genetik ve biyokimyasal incelenmesini takiben OXA-23 olarak adlandırılmıştır (Donald ve ark., 1995). OXA-23, *A.baumannii*'de doğal olarak bulunan OXA-51 benzeri enzimlerle % 56 amino asit benzerliğine sahip olup, KHO'ların ilk temsilcisidir (Brown ve Amyes, 2006). Daha sonra Singapur'dan OXA-27 bildirilmiştir (Afzal-Shah ve ark., 2001). OXA-27'nin OXA-23'ten sırasıyla, DBL95 ve 247 pozisyonlarında Thr/Ala ve Asn/Lys yer değişimi ile ayrıldığı gösterilmiştir (Poirel ve Nordmann, 2006). OXA-49 ise Çin'den tek karbapenem-dirençli bir *Acinetobacter baumannii* izolatında identifiye edilmiştir ve OXA-23'den DBL 178 pozisyonunda Glu yerine Lys geçmesi ve DBL 222 pozisyonunda ek bir Ala

rezidü'si ile ayrılır (Poirel ve Nordmann, 2006). *bla*_{OXA-23} geni, 2003 ve 2004 yıllarında İngiltere'de hastanelerde hızla yayılan iki karbapenem dirençli klonda ve Güney Fransa'nın geniş bir alanında identifiye edilen diğer bir klonda belirlenmiştir. (Turton ve ark., 2005). Ek olarak, bazı OXA-23 üreticileri salgınlar sırasında Romanya, Brezilya, Güney Kore ve Fransız Polinezya'sında identifiye edilmiştir (Marque ve ark., 2005). Dikkat çekici bir şekilde, *bla*_{OXA-23} ayrıca, Fransa'dan bir *Proteus mirabilis* klinik izolatında kromozomal olarak lokalize bir şekilde identifiye edilmiştir (Bonnet ve ark., 2002)

Çalışmalarda IS4 ailesine ait *ISAbal*'in her zaman *bla*_{OXA-23} genine yakın bir bölgede yer aldığı gösterilmiştir (Turton ve ark., 2006). Bu durum *ISAbal*'in düzenleyici rol oynadığını ve *bla*_{OXA-23}'ün ekspresyonunda ve muhtemelen kazanılmasında kilit rol aldığını düşündürmüştür. Benzer şekilde *IS982* ailesine ait *ISAbal4*'ün de *ISAbal* gibi *bla*_{OXA-23}'e yakın bir bölgede yer aldığı bildirilmiş, rolü hakkında bilgi verilmezken önemi vurgulanmıştır (Poirel ve Nordmann, 2006).

Kazanılmış ikinci küme KHO'lar OXA-24, OXA-25, OXA-26 ve OXA-40'ı içerir. Bu enzimler OXA-23 ile % 60 ve OXA-51 enzimleri ile % 62 oranında amino asit benzerliği göstermiştir (Poirel ve Nordmann, 2006). Bu kümedeki enzimlerin pek çoğu birbirinin yakın varyantı gibi görünmektedir. OXA-26 ilk başta Belçika'daki bir izolatta gösterilmiştir (Shah ve ark., 2001). OXA-40'ın İspanya ve Portekiz'deki *A.baumannii* izolatlarında yaygın olduğu bildirilmiştir (Da Silva ve ark., 2004).

Kazanılmış KHO üçüncü potansiyel kümesi ilk olarak Fransa'da saptanan OXA-58'dir. OXA-58, OXA-51 doğal enzim kümesi ile % 59 benzerliğine sahiptir (Poirel ve ark., 2005). OXA-58 tipi enzimler tüm dünyada farklı coğrafi bölgelerde saptanmıştır (Poirel ve Nordmann, 2006). OXA-58'in *A.baumannii*'de eksprese olduğunda karbapenemlere duyarlılığı azaltıp, aşırı ekspresyon durumunda da yüksek karbapenem direncine yol açtığı bildirilmiştir (Poirel ve Nordmann , 2006).

KHO'ların orijini veya muhtemel kazanım mekanizmaları ile ilgili çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Bazı türlerde OXA-23 ve OXA-58'i kodlayan genlerin plazmid tarafından da kodlandığı, poliklonal olarak yayıldığı gösterilmiştir (Merkier ve ark., 2008, Poirel ve ark., 2005). Ancak bugüne kadar *Acinetobacter*'de tanımlanan OXA-24 KHO'ların kromozomal olarak kodlandığı gözlenmiştir. Pek çok suştan elde edilen OXA-40 sekans analizlerinde gen bölgesinin hareketliliği ya da aktarımı ile ilgili delil

bulunamamıştır. OXA-58 her zaman olmasa da genellikle ekspresyonunda rol oynayan IS elementlerince çevrelenmiştir (Poirel ve ark., 2005). Söz konusu IS elementlerinin OXA-58 geninin kazanılmasında etkili olduğu düşünülmemiştir. Ancak Fransa’da izole edilen bir suşun OXA-58 geni analizinde 27-bp uzunluğunda tekrarlayan bir DNA fragmanına sahip olduğu gösterilmiş ve bu fragmanın rekombinasyon sürecinde rol oynayabileceği ifade edilmiştir (Poirel ve Nordmann, 2006).

OXA-51 benzeri beta laktamazlar *A.baumannii* türleri tarafından üretilen ve doğal beta-laktamaz olan bu enzim kümesi sınıf D oksasilinazlardan biridir. Bu doğal grup, bilinen diğer oksasilinazlardan farklı olarak % 63’e varan amino asit homolojisi gösteren bir enzim kümesi oluşturur. OXA-51 geni dizi analizleri diğer major OXA enzim kümeleri ile karşılaştırıldığında sınıf D motiflerden bariz farklılıklar gösterir. Çeşitli coğrafik bölgelerde şu ana kadar en az 18 OXA-51 varyantı saptanmıştır (Turton ve ark., 2006; Vahaboglu ve ark., 2006). Bu varyantlar 1-15 amino asit modifikasyonu ile birbirinden ayrılır. Ancak bu enzimlerin tümü zayıf karbapenemaz aktivite gösterir ve ampisilinden daha zayıf substrat olan sefaloridin hariç sefalosporinlerin hiçbirisi bu enzimlerle hidrolize olmaz. Bu genler ve ilişkili enzimlerin ekspresyon seviyesinin düşük olduğu görülmektedir. *A.baumannii* OXA-51 enzim kümesi üyelerinden sadece OXA-69 karbapenemler dahil tüm beta-laktamlara dirençte etkin rol oynamaktadır. Ek olarak *A.baumannii* OXA-51 benzeri enzim analizleri, tüm izolatlarda *bla*_{OXA-51} benzeri gen bulunmasına rağmen sadece *ISAbal* ile komşu olan *bla*_{OXA-51} benzeri genleri taşıyan suşların karbapenem dirençli olduğunu göstermiştir (Turton ve ark., 2006). Bu nedenle *ISAbal bla*_{OXA-51} için düzenleyici gibi görünmektedir.

OXA-51 benzeri enzim kümesinin genomik kaynağı halen bilinmemektedir. Muhtemelen antibiyotik üreten toprak mikroorganizmalarına karşı direnç mekanizması olarak veya bilinmeyen organizmalardan kaynaklanıp kromozoma integre olmuştur. Kaynağı ne olursa olsun OXA-51 enzim kümesi üyeleri *A.baumannii*’nin hemen hemen tüm izolatlarında doğal yapı olmasına rağmen diğer *Acinetobacter* türlerinde bulunmaz (Merkie ve Centron, 2006). Bu enzimlerin sıklıkla diğer kümelere ait kazanılmış OXA-tipi enzimlerle kombine olarak bulunduğu ve belirli şartlar altında karbapenem direncinde en azından sinerjik rolü olabileceği öne sürülmüştür (Woodford ve ark., 2006). *Acinetobacter*’de OXA tipi karbapenemazların altfamilyaları tablo 2’de özetlenmiştir (Poirel ve Nordmann, 2006; Higgins ve ark., 2010; Nowak ve ark., 2012).

Tablo II: OXA-tipi karbapenemazlar

Enzim Altfamilyası	OXA üyeleri
OXA-23 (ARI1)	OXA-23 OXA-27 OXA-49
OXA-24	OXA-24 OXA-25 OXA-26 OXA-40 OXA-72
OXA-51	OXA-64-71 OXA-75-78 OXA-83-84 OXA-86-89 OXA-91-92 OXA-94-95
OXA-58	OXA-58 OXA-96 OXA-97 OXA-164

2.2.1.3. Metallobetalaktamazlar

Günümüze kadar kazanılmış beş MBLs grubu tanımlanmıştır. (IMP, VIM, SIM, SPM, GIM ve GSO). Bunlardan IMP, VIM, SIM ve GSO *Acinetobacter* türlerinin klinik izolatlarında bildirilmiştir. Halen, IMP grubu yedi filogrupta kümelenecek şekilde 19 varyanttan oluşmaktadır. *Acinetobacter baumannii*'de üç farklı filogruba ait altı IMP varyantı tanımlanmıştır (Poirel ve Nordmann, 2006). IMP-1 İtalya'da, Japonya'da ve Güney Kore'de, IMP-2 İtalya'da ve Japonya'da, IMP-4 Hong Kong'ta, IMP-5 Portekiz'de, IMP-6 Brezilya'da, ve IMP-11 Japonya'da. Ek olarak, Avustralya'da bir *Acinetobacter junii* klinik izolatında IMP-4 tanımlanmıştır. Dikkat çekici bir şekilde, VIM enzimleri *Acinetobacter baumannii*'de çok nadiren tanımlanmıştır, sadece VIM enzimlerinin *P. aeruginosa* ve Enterobacteriaceae 'da yaygın olduğu bilinen Güney Kore'de VIM-2 raporlanmıştır. SIM-1 sadece Güney Kore'den

Acinetobacter baumannii'de raporlanmıştır, ki bunun ülke genelinde yaygın olma ihtimali vardır(Lee ve ark., 2010). *Acinetobacter* izolatlarında IMP ve VIM varyantları karbapenem (>32 mg/L) ve diğer beta-laktam antibiyotiklere (aztreonam hariç) karşı güçlü hidrolitik etkinliğe sahip olup yüksek düzeyde dirence neden olurlar. SIM-1 üreten izolatlar ilginç olarak karbapenemler için (8-16 mg/L) düşük düzey MİK değerine sahiptirler. Beta-laktamlar arasında sadece sefepim ve sefpirom ve daha az miktarda piperasilin-tazobaktam MBL üreten suşlara karşı aktiviteye sahiptir. *A.baumannii*'deki MBL-kodlayan genlerin DNA sekans analizleri *blaIMP*, *blaVIM* ve *blaSIM* genlerinin sınıf 1 integron yapılarının korunmuş bölgeler arasına eklenmiş gen kasetleri olarak bulunduğunu ortaya koymuştur. MBL-kodlayan gen kasetlerinin genellikle diğer antibiyotik direnç kasetleriyle, özellikle aminoglikozidleri modifiye eden enzimleri kodlayanlarla ilişkili olduğu da düşünülebilir.

2.2.1.3. Dış membran proteinlerindeki (OMP) değişiklikler

A.baumannii'de karbapenem direnci ile ilişkili 33-36 kDa'lık OMP 2005 yılında klonlanmış ve dizi analizi yapılmıştır. Bu veri ile OMP'nin amino asit dizisinin ve içeriğinin diğer Gram negatif bakterilerdeki ile benzer olduğu gösterilmiştir. Bunun nedeni olarak da diğer Gram negatif bakterilerde olduğu gibi, *A. baumannii*'de OMP'nin yüksek glisin içeriği, sistein rezidüleri taşımaması, negatif yüklü olması, ılımlı hidrofobik rezidülerinin yokluğu, 33-36 kDa'lık OMP fonksiyonel protein analizleri ile gösterilen transmembran, membran ve hücre yüzey proteinlerinin benzerliği sayılabilir (Tomas ve ark., 2007).

Konuyla ilgili çalışmalar, saptanabilir karbapenemaz aktivitesi göstermeyen *Acinetobacter* klinik izolatlarında 20-kDa'luk OMP kaybının imipenem direnci ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Limansky ve ark., 2002). İmipenem ve meropenem direnci CarO adı verilen ısıyla değişebilen 25-29 kDa'luk OMP kaybı ile de ilişkilendirilmiştir (Siroyve ark., 2005). Karbapenem direncinin CarO proteinine eklenen rekombinant genler aracılığı ile bozulması sonrası olduğu gözlenmiş ve CarO'nun *A.baumannii* içerisine karbapenem akışı ile ilgili olduğu hipotezi ortaya atılmıştır. İlgili çeken diğer bir gerçek de şu ana kadar elde edilen verilerin incelenmesi ile CarO homologlarının sadece *Acinetobacter*, *Moraxella* ve *Psychrobacter* cinslerinde bulunduğu saptanmasıdır (Mussi ve ark., 2002).

Son olarak *A.baumannii*'nin aynı zamanda *P.aeruginosa*'daki karbapenem direnci ile ilişkili olduğu bilinen 43-kDa'luk D2 porin homologuna (OprD) sahip olduğu gösterilmiştir (Dupont ve ark., 2005).

2.2.1.4. Penisilin-bağlayıcı proteinler (PBP)

Çalışmalarda penisilin bağlayıcı proteinlerdeki değişikliğin *A.baumannii*'de de beta-laktam direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Karbapenem direncinin araştırıldığı çalışmalarda; dirençli mutant *A.baumannii* suşlarının 24-kDa'luk PBP'yi aşırı ürettiği, aynı zamanda duyarlı suşlar ile karşılaştırıldığında bakterinin sahip olduğu diğer altı PBP'nin dirençli mutant suşlarca daha düşük düzeylerde eksprese edildiği bildirilmiştir (Gehrlein, 1991). İmipenem dirençli ve duyarlı *A.baumannii* izolatlarına ait PBP'lerin sulbaktam, klavulanik asit ve tazobaktam ilişkisinin araştırıldığı çalışmada; beta-laktamaz inhibitörlerinin tümünün imipenem duyarlı izolatların PBP'lerine bağlandığı gösterilmiştir (Urban ve ark., 1995). Bu gözlem *A.baumannii*'ye karşı beta-laktamaz inhibitörlerinin in-vitro doğal antimikrobiyal özelliklerinin açıklanmasında yardımcı olabilir şeklinde yorumlanmıştır. Ancak halen klinik kullanım için formüle edilmiş ve in-vivo etkinlik gösteren mevcut formülasyon sadece sulbaktam gibi görünmektedir.

2.3. Karbapenemazların Saptanması

Karbapenemleri hidrolize eden enzimler, karbapenemleri ve diğer beta-laktamları hidrolize etmek açısından farklı nitelikleri olan çeşitli enzimlerden oluşmaktadır. KPC, OXA ve MBL'ler plazmit, integron ve transpozonlar gibi hareketli elementler üzerinde bulduklarından dolayı, direnç yayılımını sınırlamak ve tedaviye yön vermek amacıyla karbapenem direnç tiplerinin rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında tespit edilmesi gerekmektedir. Karbapenemazların identifikasyonu için çeşitli fenotipik yöntemler geliştirilmiştir ve bu testler bu enzimlerin spesifik inhibitörleri kullanılarak belirlenebilmektedir. Fenotipik testlerin klinik laboratuvarlarda rutin olarak hızlı ve doğru olarak uygulanması klinik ve epidemiyolojik açıdan önemlidir (Aktaş, 2012).

Modifiye Hodge Testi (MHT): MHT testi *Enterobacteriaceae* ailesinde karbapenem grubu antibiyotikler için saptanan ertapenem için >2 mg/L, imipenem, meropenem için MİK değeri 2-4 mg/L ise KPC tipi karbapenemaz aktivitesini

belirlemek için tarama testi olarak kullanılmakla birlikte, diğer karbapenemazlardan ayırımını yapamamaktadır (CLSI, 2012). Bu test KPC, OXA ve MBL enzimlerinin hepsini birden tespit edebilmesi nedeniyle oldukça kullanışlı bir yöntemdir.

KPC tipi karbapenemazların tespiti için inhibitör olarak boronik asit (3 aminofenil boronik asit), metallo-beta-laktamazların tespiti için etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) ya da dipikolinik asidin inhibitör olarak kullanılması önerilmektedir (Giske ve ark., 2011). NDM-1’de diğer MBL enzimleri gibi EDTA ile inhibe edilir (Bonnin ve ark., 2012). E-test, kombine disk sinerji testi veya disk sinerji testleri, bu enzimlerin EDTA ya da 2-merkaptopropionik asit (2-MPA) gibi metal şelatörler varlığında inhibe olma özelliğinden faydalanarak geliştirilmiştir.

OXA enzimlerini tespit eden güvenilirliği onaylanmış ve standardize edilmiş fenotipik bir test günümüze kadar geliştirilememiştir. Bu enzimler ancak PCR gibi moleküler yöntemler kullanılarak tespit edilebilmektedir (Aktaş, 2011).

Karbapenemazların tesbit edilmesinde genotipik yöntemler de kullanılmaktadır. Genotipik yöntemlerin fenotipik yöntemlere göre duyarlılığı daha yüksektir. Bakterinin karbapenemaz geni taşıyıp taşımadığını, enzimi ve tipini PCR yöntemi ile saptamak olasıdır. DNA problemleri kullanılarak da bu direnç genleri tesbit edilebilir (Figueiredo, 2011; Poirel ve ark., 2010). Moleküler yöntemlerin altın standardı ise dizi analizi, protein analizi ve klonlama yöntemleridir (Figueiredo, 2011).

2.4. Tiplendirme Yöntemleri

Tiplendirme yöntemleri başlıca; hastalardaki epidemiyolojik ilişkilerin ortaya konulması, reaktivasyonun reinfeksiyondan ayırt edilmesi ve salgın araştırmalarında epidemik suşların kaynağının ve yayılım yolunun belirlenmesi, hastane ve toplumsal kaynaklı infeksiyonların belirlenmesi, dirençli suşların tanımlanması ve yaygınlığının belirlenmesi ve infeksiyon etkenlerinin yayılımının belirlenmesi gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan birçok fenotipik ve genotipik tiplendirme yöntemi bulunmaktadır (Berezin ve Towner, 1996). Tiplendirme yöntemleri standartize edilmiş, duyarlı ve özgül olmalı ayrıca tüm tiplendirme sistemlerinin tekrar edilebilirliği, ayırım gücü, uygulama ve değerlendirme kolaylığı belirlenmiş olmalıdır (Andrei ve Zervos, 2006). Ayırım gücü epidemiyolojik olarak ilişkisiz izolatları ayırt etme kabiliyeti olarak tanımlanmaktadır (Singh ve ark., 2006). Fenotipik yöntemlerle

karşılaştırıldığında moleküler yöntemlerin ayırım gücü daha yüksektir ve birçok türe uygulanabilme avantajı sağlamaktadır (Andrei ve Zervos, 2006; Singh ve ark., 2006).

2.4.1. Fenotipik Yöntemler

Mikroorganizmalar arasındaki ilişkiyi belirlemede birçok farklı fenotipik metod kullanılabilir. Ancak genellikle fenotipik metodların tekrarlanabilirliği, tiplendirme yeteneği ve ayırım gücü yetersizdir (Prashanth ve Badrinath, 2005).

- Antibiyotiplendirme
- Serotiplendirme
- Biyotiplendirme
- Bakteriofaj tiplendirme
- Bakteriyosin tiplendirme
- Multilokus enzim elektroforezi
- Hüresel proteinlerin poliakrilamid jel elektroforezi
- Immunoblot fingerprinting

2.4.1.1. Antibiyotiplendirme

İzolatların benzerliklerine göre gruplandırmak ve direnç gelişimini tespit etmek amacıyla kullanılmaktadır. Genellikle minimal inhibitör konsantrasyon (MIK) ve disk difüzyon zon değerleri kullanılmaktadır (Towner, 1998). Tiplendirme için antibiyogram sonuçlarının diğer yöntemlerle ve epidemiyolojik verilerle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Bazen benzer olmayan suşlar aynı antibiyogram profilini gösterirken, bazen de infeksiyon atakları sırasında duyarlılık profilleri değişmektedir (Berezin ve Towner, 1996).

2.4.1.2. Serotiplendirme

Bakterilerin yüzeyindeki antijenleri onlara spesifik antikorları kullanarak belirlemeye dayanan tiplendirme yöntemidir. Antiserumun elde edilme güçlüğü ve farklı metodlar arasındaki standardizasyon problemleri nedeniyle değeri düşüktür (Andrei ve Zervos, 2006, Singh ve ark., 2006). Bu sistem hastane kaynaklı salgın çalışmaları için umut vericidir fakat yoğun emek gerektirmektedir. (Seifert ve ark., 1994).

2.4.1.3. Biyotiplendirme

Bakterilerin farklı besiyerlerindeki üreme kabiliyetlerinin ve biyokimyasal özelliklerinin kullanıldığı tiplendirme yöntemidir. Gen ekspresyonundaki çeşitlilikten ve rastlantısal mutasyonların mikroorganizmanın biyolojik özelliklerini değiştirebilmesinden dolayı ayırım gücü zayıftır (Singh ve ark., 2006). Özellikle hastane infeksiyonu salgınlarında az sayıda biyotip bulunması nedeniyle biyotiplenmenin ayırt etme yeteneği yetersiz bulunmaktadır (Seifert ve ark., 1994).

2.4.1.4. Bakteriosin Tiplendirme

DNA-DNA hibridizasyon tekniği ile birlikte çalışıldığında klinik olarak önemli *Acinetobacter* suşlarının tiplendirilmesinde yararlı bir tiplendirme yöntemi olmaktadır (Berezin ve Towner, 1991). Bakteriyofaj tiplendirmeden daha az zahmetlidir ve serotiplendirme antibiyotiplendirme veya biyotiplendirmeye birlikte epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilir (Andrei ve Zervos, 2006).

2.4.1.5. Bakteriyofaj Tiplendirme

Zahmetli ve tekrarlanabilirliği düşük bir yöntem olması ve standardizasyonundaki problemler metodun kullanımını sınırlandırmaktadır (Singh ve ark., 2006).

2.4.1.6. Multilokus enzim elektroforezi

Çok sayıdaki hücresel enzimin elektroforetik aktivitesiyle ilişkilidir ve tür identifikasyonu için faydalı bir teknik olarak değerlendirilmektedir (Berezin ve Towner, 1996).

2.4.1.7. Hücresel proteinlerin poliakrilamid jel elektroforezi

Acinetobacter türleri ile ilgili epidemiyolojik ve taksonomik çalışmalarda hem hücre duvarı proteini hem de tüm hücre proteinleri kullanılmıştır (Berezin ve Towner, 1996). Hücre duvarı proteinlerinin sodyum dodezil sülfat poliakrilamid jel elektroforezindeki analizinde epidemiyolojik olarak ilişkili suşlarda benzer profiller bulunurken, ilişkisiz suşlarda farklılıklar gözlenmiştir. Bu yöntem hastane salgınlarında ve endemik ataklarda başarı ile uygulanabilmektedir (Dijkshoorn ve ark., 1987).

2.4.2. Moleküler Yöntemler

Moleküler tekniklere ilgi her geçen gün artmakta ve infeksiyonların epidemiyolojik araştırmalarına artan bir oranda dahil edilmektedirler (Andrei ve Zervos, 2006).

I. Nükleik asit temelli yöntemler

Plasmid profilleri

Restriction fragment length polymorphism (RFLP)

Pulsed field gel electrophoresis (PFGE)

Segmented RNA gel electrophoresis

Ribosomal RNA gel electrophoresis

Multilocus sequence typing (MLST)

II. PZR temelli yöntemler

Hedefi bilinen tekrarlayan sekanslar

Enterobacterial Repetitive İntergenic Consensus Sequences (ERIC)

Repetitive Extragenic Palindromic Sequences (REP)

Double Repetitive Element (DRE)

İnsertional Sequence (IS)

Polymorphic Guanine/Cytosine-Rich Repetitive Sequences (PGRS)

Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)

Arbitrary Primed PZR (AP-PZR)

Amplified fragment length polymorphism (AFLP)

2.4.2.1. Plasmid profili

Acinetobacter türlerinin tiplendirilmesinde kolay ve hızlı bir şekilde uygulanmaktadır. *Acinetobacter* türlerinde çeşitli sayı ve büyüklükte plazmid bulunmaktadır. Diğer türlerde plazmid saptanmaz iken *A. calcoaceticus*- *A. baumannii* complex içindeki 13 türde 1-4 adet plazmid bulunmuştur (Berezin ve Towner, 1996). Benzer plazmid profilli suşlar plazmid DNA'larının restriksiyon enzimlerle parçalanması veya işaretli problarla hibridizasyonu sonrası farklı bulunabilmektedir. Plazmid tiplendirmesi epidemiyolojik çalışmalarda oldukça yararlı olmasının yanı sıra

ek moleküler yöntemlerle desteklendiğinde daha da faydalı olabilmektedir (Kropec ve ark., 1991).

2.4.2.2. Değişken Alanlı (Pulsed Field) Jel Elektroforezi

Agaroz içine gömülü haldeki bakteriden, yapısal bütünlüğü bozulmadan elde edilen kromozomun, restriksiyon enzim (RE) ile kesim sonucu oluşan profilinin belirlenmesi esasına dayanır. 10-800 kb arasında uzunluğa sahip parçalar etkin bir şekilde göç ettirilmekte ve sonuçta yaklaşık 5-20 farklı yapıda restriksiyon enzim profili ortaya çıkmaktadır (Durmaz, 2001). Makro-restriksiyon endonükleaz enzimleriyle 29 oluşturulmuş kromozomal DNA parçalarının, PFGE ile ayrıştırılmasından elde edilen DNA parmak izi, birçok bakterinin klonal ilişkisini analiz etmede yaygın olarak kullanılan referans yöntemdir (Durmaz, 2007).

2.4.2.3. Multiloküs Sekans Tipleme (MLST)

Mikroorganizmaların tiplendirilmesi için yüksek derecede ayırt edici bir yöntemdir ve klinik olarak önemli bakteriyel patojenlerin epidemiyolojik karakterizasyonu için başarıyla uygulanmaktadır. MLST multilokus enzim elektroforez ile aynı prensiplerden temel almaktadır fakat direkt olarak protein kodlayan yapısal genlerin internal fragmanlarının DNA sekans karşılaştırmasına dayanmaktadır. Hayati fonksiyonları olan proteinleri kodlayan gen bölgeleri seçilmektedir (Bartual ve ark., 2005).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Çalışma grubu

Ocak 2011-Haziran 2011 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıp Laboratuvarları Mikrobiyoloji Bölümü Bakteriyoloji Alt disiplin Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen tekrarı olmayan karbapenem dirençli 100 *A.baumannii* izolatu çalışmaya dahil edildi.

3.2 İzolatların Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örnekler %5 koyun kanlı agar ve Eozin Metilen Blue agar (EMB) besiyerlerine ekildi. 18- 24 saat inkübasyonun ardından besiyerlerinde saf koloni şeklinde üreyen, Gram negatif, aerob, hareketsiz, diplokok veya kokobasil morfolojisinde, katalaz pozitif, oksidaz negatif, glukoz ve laktoz fermentasyonu yapmayan bakteriler *Acinetobacter* şüphesiyle ileri identifikasyon testlerine alındı. İzolatların tür düzeyinde tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları VITEK2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistem kullanılarak belirlendi. Duyarlılık testleri sonuçları CLSI M100-S21 standartlarına göre duyarlı (S), ara duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak kategorize edildi. Bakteriler çalışma zamanına kadar -80°C'de %10'luk gliserinli buyyon besiyeri içerisinde saklandı.

3.3 İmipenem ve Meropenem Duyarlılığının Standart Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi İle Belirlenmesi

Testte CLSI M100-S21' in önerileri doğrultusunda katyon ayarlı Mueller-Hinton-Buyyon (KAMHB) ve U tabanlı 96 kuyucuklu plaklar kullanıldı. Kontrol suş olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanıldı. Çalışmada kullanılan İmipenem (Merck&CoInc, ABD) ve Meropenem (AstraZenica, ABD) üretici firmadan temin edildi. İmipenem distile su, Meropenem DMSO ile çözülerek 4096 µg/ml'lik stok çözeltileri hazırlandı. Mikrodilüsyon duyarlılık testlerinde, imipenem ve meropenemin çabuk bozulabilme olasılıkları nedeniyle her çalışma için plaklar yeniden hazırlandı. Plaklarda ilk konsantrasyon 256 µg/ml, son konsantrasyon 0.5 µg/ml olacak şekilde stok solüsyon dilue edildi. 4096 µg/ml olarak hazırladığımız antibiyotik stok solüsyonu, besiyeri ve bakteri süspansiyonu ile de 4 kat dilue ettiğimiz göz önünde bulundurularak MHB ile 1/3 dilüe edilerek konsantrasyon 256 µg/ml'ye düşürüldü. Steril U tabanlı MIK plağının

tüm kuyucuklarına KAMHB besiyerinden 100 µl dağıtıldı. Daha sonra 2 numaralı sütündeki kuyucuklara 256 µg/ml antibiyotik içeren besiyerinden 100 µl konulup seri dilüsyon yapıldı. Antibiyotik konulmayan 1 numaralı sütündeki kuyucuklar bakteri üreme kontrolü (pozitif kontrol) olarak kullanıldı. Seri dilüsyonda 11. kuyucuğa kadar gelindi. 12 numaralı sütündeki kuyucuklar negatif kontrol olarak belirlendiği için dilüsyon yapılmadı.

CLSI önerileri doğrultusunda 24 saatlik bakteri kültüründeki kolonilerden 0.5 McFarland bulanıklığına eşit olacak şekilde bakteri süspansiyonu hazırlanıp, 1/100 oranında dilüe edildi. Her yatay sıraya ayrı bir bakteri süspansiyonundan 100'er µl 11. kuyucuğa kadar eklendi. Plakların ilk yatay sırasına kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC 25922'den hazırlanan süspansiyondan 100 µl konuldu. Mikroplaklar 35 ±2°C'de 24 saat inkübe edildi ve gözle üreme görülmeyen en düşük antibiyotik konsantrasyonları MİK olarak saptandı. Sonuçlar CLSI M100-S21' e göre değerlendirildi.

İmipenem ve meropenem için; ≥16 µg/ml dirençli, ≤ 4 µg/ml duyarlı olarak kabul edilmiştir. Standart suşun imipenem ve meropenem için CLSI'ın önerdiği MİK değerleri sırasıyla 0.06-0.25 ve 0.008-0.06 µg/ml'dir ve çalışma süresince bu değerler arasında kalmıştır.

3.4 OXA Karbapenemazların PCR Yöntemiyle Araştırılması

3.4.1 *Acinetobacter Baumannii* İzolatlarından DNA ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu yapılacak klinik ve pozitif kontrol suşları bir gün öncesinden saklama stoklarından MHA plaklarına pasajlandı. Üreyen saf kolonilerden Invitrogen PureLink Genomic DNA Kit'i kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda aşağıdaki şekilde DNA ekstraksiyonu yapıldı (Invitrogen User Manual, 2007).

1. 1.2×10^9 gram negatif bakteri ürünü 180 µl PureLink Genomic Digestion Buffer ile süspanse edildi. 20 µl proteinaz K eklenerek vortekslendi.

2. Karışım 55 °C de 4sa arasında inkübe edildi. Hücreler çözülünceye kadar arada bir vortekslendi.

3. Lizata 20 µl RNase A eklenerek vortekslendi ve oda sıcaklığında 2 dk inkübe edildi.

4.200 µl Genomic Lysis/Binding Buffer eklenerek homojen karışım elde edinceye kadar vorteklendi.

5.Lizata 200 µl %96-100 etil alkol eklenerek, homojen solusyon elde edilene kadar 5 dk vorteklendi. Binding DNA aşamasına ilerlendi.

6.Lizat Spin kolon koleksiyon tüplerine alındı.

7.10000× G' de 1 dk santrifüj edildi. Spin kolon çıkarılarak temiz bir mikrosantrifüj tüpüne alındı.

8.DNA yıkama aşamasına geçildi.

9.500 µl 1.yıkama bufferı kolona eklendi.

10.10000× G' de 1 dk santrifüj edildi. Spin kolon çıkarılarak temiz bir mikrosantrifüj tüpüne alındı.

11.500 µl 2.yıkama bufferı kolona eklendi.

12. Firmanın önerileri doğrultusunda santrifüj cihazının maksimum hızı olan 20000× G' de oda sıcaklığında 3 dk santrifüj edildi. Spin kolon çıkarılarak steril DNase ve RNase içermeyen mikrosantrifüj tüpüne alındı.

13.Eluting DNA aşamasına geçildi.

14.Kolona 150 µl Genomic Elution Buffer eklendi. Oda sıcaklığında 1 dk inkübe edildi.

15.Firmanın önerileri doğrultusunda santrifüj cihazının maksimum hızı olan 20000× G' de oda sıcaklığında 1 dk santrifüj edildi. Kolon kısmı çıkarılıp atıldı. Tüpde kalan kısım saflaştırılmış genomic DNA içeriyordu.

3.4.2 PZR Yöntemi

Çalışmada Woodford ve ark.nın çalışması referans alınarak *bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-24}*, *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-58}* gen bölgelerinin multiplex PCR ile çalışılması planlanmıştır (Woodford ve ark., 2006). Ancak yapılan magnezyum klorür ve ısı optimizasyon çalışmalarında olumlu sonuç alınamaması nedeniyle *bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-24}*, *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-58}* gen bölgelerinin ayrı ayrı çalışılmasına karar verilmiştir. PCR çalışmasında *bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-24}*, *bla_{OXA-51}*, *bla_{OXA-58}* gen bölgelerini taşıdığı bilinen suşlardan DNA ekstraksiyonu yapılarak pozitif kontrol olarak kullanıldı. Kullanılan suşlar Tablo III'de sunulmuştur

Tablo III : Çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan suşlar

Suş	Taşıdığı gen
<i>A. baumannii</i>	<i>bla</i> _{OXA-23} ve <i>bla</i> _{OXA-51}
<i>A. baumannii</i>	<i>bla</i> _{OXA-51} ve <i>bla</i> _{OXA-58}
<i>A. baumannii</i>	<i>bla</i> _{OXA-24}

3.4.2.1 OXA Karbapenemazların PZR Yöntemiyle Araştırılmasında Kullanılan Primerler

PZR’de *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerinin çoğaltılması için gerekli primer çiftleri Tablo IV’de sunulmuştur.

Tablo IV : Çalışmada Kullanılan Primer Çiftleri (Woodford et al., 2006).

Primer adı	Primer dizisi (5’→3’)	Baz Çifti (bp)
<i>bla</i> _{OXA-23}	5-GATCGGATTGGAGAACCAGA-3 5-ATTTCTGACCGCATTTCAT-3	501bp
<i>bla</i> _{OXA-24}	5-GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA-3 5-AGTTGAGCGAAAAGGGGATT -3	246bp
<i>bla</i> _{OXA-51}	5-TAATGCTTTGATCGGCCTTG-3 5-TGGATTGCACTTCATCTTGG-3	353bp
<i>bla</i> _{OXA-58}	5-AAGTATTGGGGCTTGTCTG-3 5-CCCCTCTGCGCTCTACATAC-3	599bp

3.4.2.2 PZR Reaksiyon Karışımı

PCR’de *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerinin çoğaltılması için gerekli reaksiyon karışımı (master mix) Güçlü’nün çalışmasındaki içerik referans alınarak, bizim çalışmamıza uyarlanmıştır ve Tablo V’de sunulmuştur (Güçlü 2011).

Her reaksiyona pozitif kontrol olarak *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerini içeren *A.baumannii* suşu eklendi. Ayrıca her reaksiyona, kalıp DNA yerine steril distile suyun kullanıldığı, bir negatif kontrol de eklendi.

Tablo V : *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerinin PZR’de çoğaltılması için kullanılan reaksiyon karışımı.

10X PCR buffer	5 µl
40 mM dNTP	0.25 µl
100mM MgCl ₂	2 µl
0.5 µl primer (50 pmol/µl)	1 µl
<i>Taq</i> DNA polymerase (5U/ µl)	0,2 µl
dH ₂ O	38.55µl
Kalıp DNA	3 µl
Toplam	50 µl

3.4.2.3 Amplifikasyon

Hazırlanan reaksiyon karışımı ‘Thermal cycler’ (Sanyo DNA Amplifies MIR-D40, Japan) cihazına yüklendi ve *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerinin amplifikasyonu için sırasıyla Tablo VI-IX’ daki programlar kullanıldı (Woodford ve ark., 2006).

Tablo VI: *bla*_{OXA-23} Gen Bölgesinin PCR Metodundaki Sıcaklık Döngüleri

94 °C’de 5 dakika (ön denatürasyon)	→ 1 döngü	
94 °C’de 25 saniye (hedef DNA denatürasyonu)		} 30 döngü
55 °C’de 40 saniye (primer bağlanması)		
72 °C’de 50 saniye (primer uzaması)		
72 °C’de 6 dakika (son uzama)	→ 1 döngü	

Tablo VII: *bla*_{OXA-24} Gen Bölgesinin PCR Metodundaki Sıcaklık Döngüleri

94 °C'de 5 dakika (ön denatürasyon)	→ 1 döngü	
94 °C'de 25 saniye (hedef DNA denatürasyonu)		} 30 döngü
57 °C'de 40 saniye (primer bağlanması)		
72 °C'de 50 saniye (primer uzaması)		
72 °C'de 6 dakika (son uzama)	→ 1 döngü	

Tablo VIII: *bla*_{OXA-51} Gen Bölgesinin PCR Metodundaki Sıcaklık Döngüleri

94 °C'de 5 dakika (ön denatürasyon)	→ 1 döngü	
94 °C'de 25 saniye (hedef DNA denatürasyonu)		} 30 döngü
52 °C'de 40 saniye (primer bağlanması)		
72 °C'de 50 saniye (primer uzaması)		
72 °C'de 6 dakika (son uzama)	→ 1 döngü	

Tablo IX: *bla*_{OXA-58} Gen Bölgesinin PCR Metodundaki Sıcaklık Döngüleri

94 °C'de 5 dakika (ön denatürasyon)	→ 1 döngü	
94 °C'de 25 saniye (hedef DNA denatürasyonu)		} 30 döngü
55 °C'de 40 saniye (primer bağlanması)		
72 °C'de 50 saniye (primer uzaması)		
72 °C'de 6 dakika (son uzama)	→ 1 döngü	

3.4.2.4. PCR Ürünlerinin Analizi

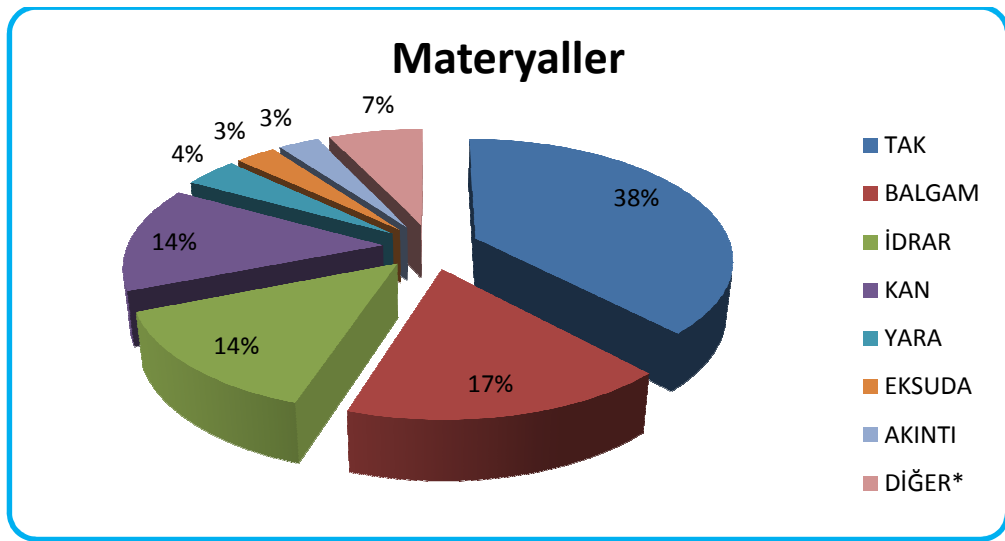
PCR ürünü DNA'ların (amplikonların) tespiti için DNA jel elektroforezi kullanıldı. Agaroz konsantrasyonu %1,5 olacak şekilde 1X TBE tamponu ile agaroz jel hazırlandı. Mikrodalga fırında eritilen agaroz, yatay elektroforez jel kabına döküldü ve soğumaya bırakıldı. İlk agaroz jel kuyucuğuna “Promega 100 bp DNA Ladder Plus” veya “Promega 100 bp DNA Ladder” belirteçlerinden 10 µl eklendi. İkinci kuyucuğa pozitif kontrol suşu amplikonu, geri kalan kuyucuklara ise sırasıyla klinik izolatların

amplikonlarından 10 µl, 2 µl 6X yükleme tamponu ile karıştırılarak uygulandı. 1 saat süresince 120 V elektirik akımı altında moleküler boyutlarına göre DNA bantları ayrıştırıldı. 5 µg/ml etidyum bromid içeren distile suda 20 dakika jel boyandı. Jel U.V. ışığı altında Bio-Rad Gel Doc XR cihazı ile görüntülendi ve Quantity One yazılımı kullanılarak görüntüler kaydedildi. Beklenen yerde DNA bandı saptanan örnekler PCR pozitif olarak kaydedildi.

4. BULGULAR

4.1. A. baumannii İzolatlarının İzole Edildiği Materyallerin Dağılımı

Çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 *A. baumannii* izolatu kullanıldı. Bu izolatların 38 (%38)'i trakeal aspirat örneklerinden, 17 (%17) 'si balgam, 14 (%14) 'ü kan, 14 (%14) 'ü idrar, 4 (%4) 'ü yara, 3 (%3) 'ü eksuda, 3 (%3) 'ü akıntı ve 7 (%7) 'si de çeşitli klinik örneklerden (abse, ameliyat materyali, BOS gibi) izole edildi. Laboratuvarımıza gönderilen materyallerden izole ettiğimiz *A. baumannii* izolatlarının materyal dağılımı şekil 3'de görülmektedir.



Şekil 3: Hastalardan gönderilen materyallerin dağılımı

*: 2 sürüntü, 1 abse, 1 katater, 1 mayi, 1 BOS, 1 plevral sıvı,.

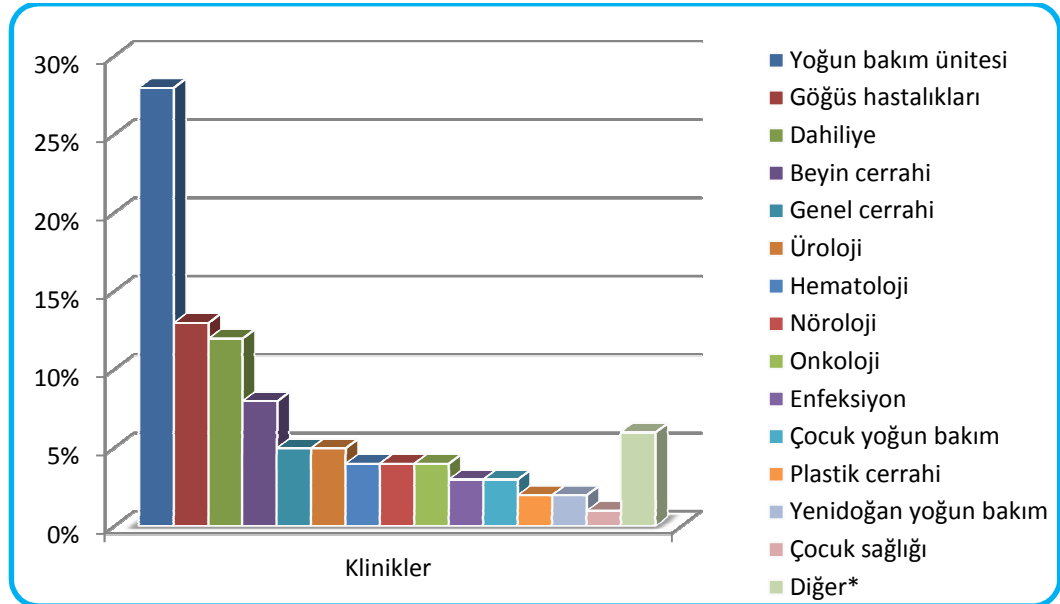
4.2. A. baumannii İzolatlarının Gönderildiği Servislerin Dağılımı

Laboratuvarımıza gelen materyallerin kliniklere göre dağılımı Tablo X ve Şekil 4'de sunulmuştur. Laboratuvarımıza materyallerin büyük bölümü yoğun bakım ünitesinden gönderilmiştir. Bunu göğüs hastalıkları ve dahiliye servisleri izlemiştir.

Tablo X: Gönderilen Materyallerin Servislere Göre Dağılımı

KLİNİK	SAYI	%
Yoğun bakım ünitesi	28	28
Göğüs hastalıkları	13	13
Dahiliye	12	12
Beyin cerrahi	8	8
Genel cerrahi	5	5
Üroloji	5	5
Hematoloji	4	4
Nöroloji	4	4
Onkoloji	4	4
Enfeksiyon	3	3
Çocuk yoğun bakım	3	3
Plastik cerrahi	2	2
Yenidoğan yoğun bakım	2	2
Çocuk sağlığı	1	1
Diğer *	6	6

* : Çocuk cerrahi 1, Kardiyoloji 1, Kulak burun boğaz 1, Koroner yoğun bakım 1, Kalp Damar cerrahisi 1, ortopedi 1.



Şekil 4: Gönderilen materyallerin servislere göre dağılımı

4.3. *A. baumannii* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

4.3.1. *A. baumannii* İzolatlarının VITEK2 Sistemiyle Saptanan Antibiyotik Duyarlılıkları

Çalışmaya alınan karbapenem dirençli *A. baumannii* klinik izolatlarının VITEK2 sistemi (bioMerieux, ABD) ile yapılan antimikrobiyal duyarlılık sonuçları Tablo XI' de verilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi tüm izolatlar piperasilin, sefepim ve seftazidime dirençli bulunmuştur. Çalışmadaki *A. baumannii* klinik izolatlarının tamamı kolistine duyarlı görünmektedir.

Tablo XI: *A. baumannii* izolatlarının VITEK2 sistemi ile saptanan antimikrobiyal duyarlılık sonuçları

Antibiyotik	Duyarlı %	Ara duyarlı %	Dirençli %
amikasin	27	11	62
sefepim*	–	–	100
seftazidim*	–	–	100
siprofloksasin	1	–	99
kolistin**	100	–	–
gentamisin	38	–	62
levofloksasin	2	8	90
imipenem*	–	–	100
meropenem*	–	–	100
piperasilin*	-	–	100
piperasilin-tazobaktam	1	–	99
tetrasiklin	16	12	72
trimetoprim-sulfametoksazol	27	–	73

*: İzolatların tümü dirençlidir. **: İzolatların tamamı duyarlıdır.

4.3.2 *A. baumannii* İzolatlarının Sıvı mikrodilüsyon ve VITEK2 Sistemiyle Saptanan Antibiyotik Duyarlılıkları

CLSI önerileri doğrultusunda Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile elde edilen imipenem ve meropenem duyarlılık sonuçlarının VITEK2 (bioMerieux, ABD) sistemiyle elde edilen sonuçlarla karşılaştırılması tablo XII ' de verilmiştir. CLSI

tarafından verilen MİK yorumlama standartları ($\mu\text{g/mL}$) imipenem ve meropenem için ≤ 4 duyarlı (S), 8 ara duyarlı (I), ve ≥ 16 dirençli (R) dir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile ara duyarlı bulunan izolatlar dirençli kabul edilmiştir (Fillaux ve ark., 2006). Buna göre bütün izolatlar imipenem ve meropeneme dirençli bulunmuştur.

Tablo XII: *A. baumannii* izolatlarında VITEK2 Sistemi ve Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi İle Elde Edilen İmipenem ve Meropenem Duyarlılık Sonuçları

İzolat Numarası	VITEK2 SİSTEMİ*		Sıvı Mikrodilüsyon		İzolat Numarası	VITEK2 SİSTEMİ*		Sıvı Mikrodilüsyon	
	IMP	MER	IMP	MER		IMP	MER	IMP	MER
1	≥ 16	≥ 16	64	64	26	≥ 16	≥ 16	16	32
2	≥ 16	≥ 16	16	32	27	≥ 16	≥ 16	16	32
3	≥ 16	≥ 16	32	32	28	≥ 16	≥ 16	32	64
4	≥ 16	≥ 16	64	64	29	≥ 16	≥ 16	32	128
5	≥ 16	≥ 16	128	64	30	≥ 16	≥ 16	32	128
6	≥ 16	≥ 16	64	128	31	≥ 16	≥ 16	32	128
7	≥ 16	≥ 16	64	32	32	≥ 16	≥ 16	16	64
8	≥ 16	≥ 16	64	32	33	≥ 16	≥ 16	16	32
9	≥ 16	≥ 16	64	32	34	≥ 16	≥ 16	32	64
10	≥ 16	≥ 16	32	32	35	≥ 16	≥ 16	32	32
11	≥ 16	≥ 16	32	32	36	≥ 16	≥ 16	32	64
12	≥ 16	≥ 16	16	64	37	≥ 16	≥ 16	32	64
13	≥ 16	≥ 16	16	32	38	≥ 16	≥ 16	16	32
14	≥ 16	≥ 16	16	16	39	≥ 16	≥ 16	16	32
15	≥ 16	≥ 16	32	64	40	≥ 16	≥ 16	16	32
16	≥ 16	≥ 16	32	64	41	≥ 16	≥ 16	16	64
17	≥ 16	≥ 16	16	16	42	≥ 16	≥ 16	32	64
18	≥ 16	≥ 16	32	32	43	≥ 16	≥ 16	32	64
19	≥ 16	≥ 16	32	128	44	≥ 16	≥ 16	16	128
20	≥ 16	≥ 16	16	64	45	≥ 16	≥ 16	32	32
21	≥ 16	≥ 16	32	32	46	≥ 16	≥ 16	16	32
22	≥ 16	≥ 16	32	64	47	≥ 16	≥ 16	16	8
23	≥ 16	≥ 16	32	32	48	≥ 16	≥ 16	16	16
24	≥ 16	≥ 16	32	32	49	≥ 16	≥ 16	16	16
25	≥ 16	≥ 16	32	64	50	≥ 16	≥ 16	16	16

İzolot Numarası	VITEK2 SİSTEMİ*		Sıvı Mikrodilüsyon		İzolot Numarası	VITEK2 SİSTEMİ*		Sıvı Mikrodilüsyon	
	IMP	MER	IMP	MER		IMP	MER	IMP	MER
51	≥16	≥16	16	16	76	≥16	≥16	16	32
52	≥16	≥16	32	32	77	≥16	≥16	32	64
53	≥16	≥16	64	32	78	≥16	≥16	16	32
54	≥16	≥16	16	16	79	≥16	≥16	16	32
55	≥16	≥16	32	32	80	≥16	≥16	256	256
56	≥16	≥16	16	32	81	≥16	≥16	16	128
57	≥16	≥16	16	8*	82	≥16	≥16	16	16
58	≥16	≥16	16	16	83	≥16	≥16	16	64
59	≥16	≥16	16	16	84	≥16	≥16	32	64
60	≥16	≥16	32	16	85	≥16	≥16	32	64
61	≥16	≥16	32	32	86	≥16	≥16	8*	16
62	≥16	≥16	16	32	87	≥16	≥16	16	32
63	≥16	≥16	16	32	88	≥16	≥16	16	32
64	≥16	≥16	32	32	89	≥16	≥16	16	16
65	≥16	≥16	8*	32	90	≥16	≥16	32	64
66	≥16	≥16	8*	16	91	≥16	≥16	16	32
67	≥16	≥16	32	32	92	≥16	≥16	64	64
68	≥16	≥16	32	64	93	≥16	≥16	64	64
69	≥16	≥16	16	32	94	≥16	≥16	64	64
70	≥16	≥16	8*	32	95	≥16	≥16	16	32
71	≥16	≥16	64	64	96	≥16	≥16	32	64
72	≥16	≥16	32	64	97	≥16	≥16	64	64
73	≥16	≥16	16	16	98	≥16	≥16	16	32
74	≥16	≥16	64	64	99	≥16	≥16	64	64
75	≥16	≥16	32	64	100	≥16	≥16	16	64

*: Ara duyarlı suşlar dirençli kabul edilmiştir.

** : VITEK 2 sistemi saptanan en yüksek MİK değeri ≥16 dır.

4.4. Karbapenem Dirençli *A.baumannii* İzolatlarının PZR'de *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} Gen Bölgelerinin Amplifikasyonu

Karbapenem dirençli *A.baumannii* izolatının PZR'lerinde tüm reaksiyonlarda pozitif kontrol olarak kullanılan *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerine ait bandlarda görüntü saptandı. Her reaksiyon sonrası jelin son kuyucuklarına eklenen negatif kontrollerin hiçbirinde bant gözlenmedi. 100 karbapenem dirençli *A.baumannii* izolatının PZR'de, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerinin tespit edildiği jel görüntüleri Şekil 5-8' de sunulmuştur.



Şekil 5. *bla*_{OXA-23} gen bölgesinin PZR sonrası jel görüntüsü

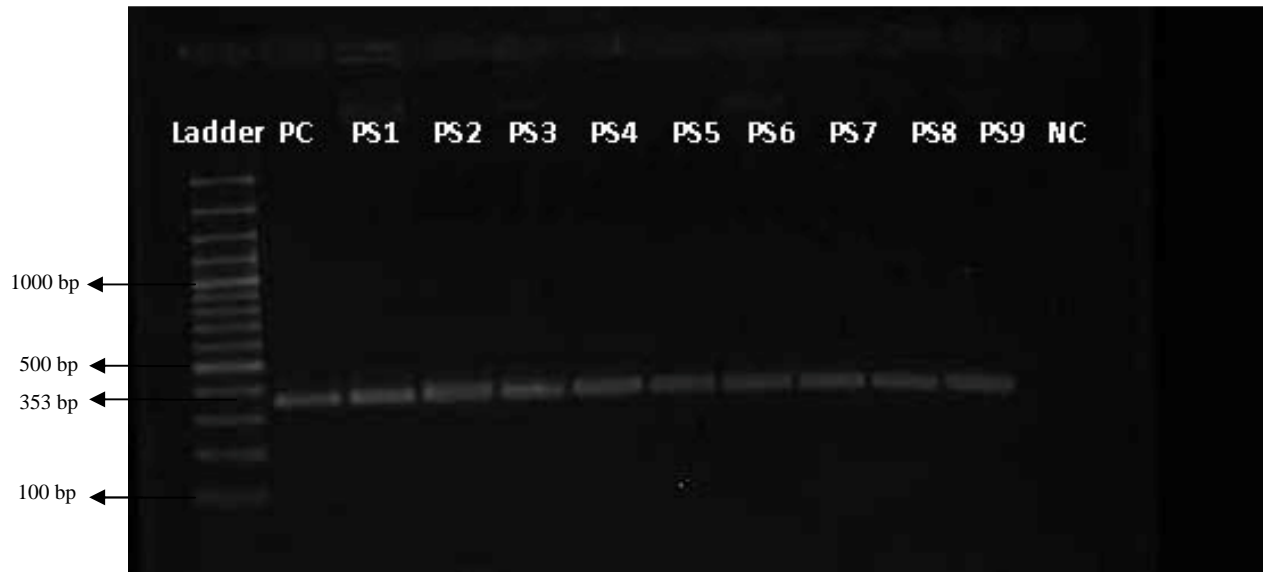
Ladder: Promega 100 bp DNA Ladder Plus PS 1-4:Pozitif Suş NS 1-5: Negatif Suş
PC: *bla*_{OXA-23} pozitif *A.baumannii* NC:Negatif Kontrol.



Şekil 6. *bla*_{OXA-24} gen bölgesinin PZR sonrası jel görüntüsü

Ladder: Promega 100 bp DNA Ladder Plus PS:Pozitif Suş NS1-9: Negatif Suş

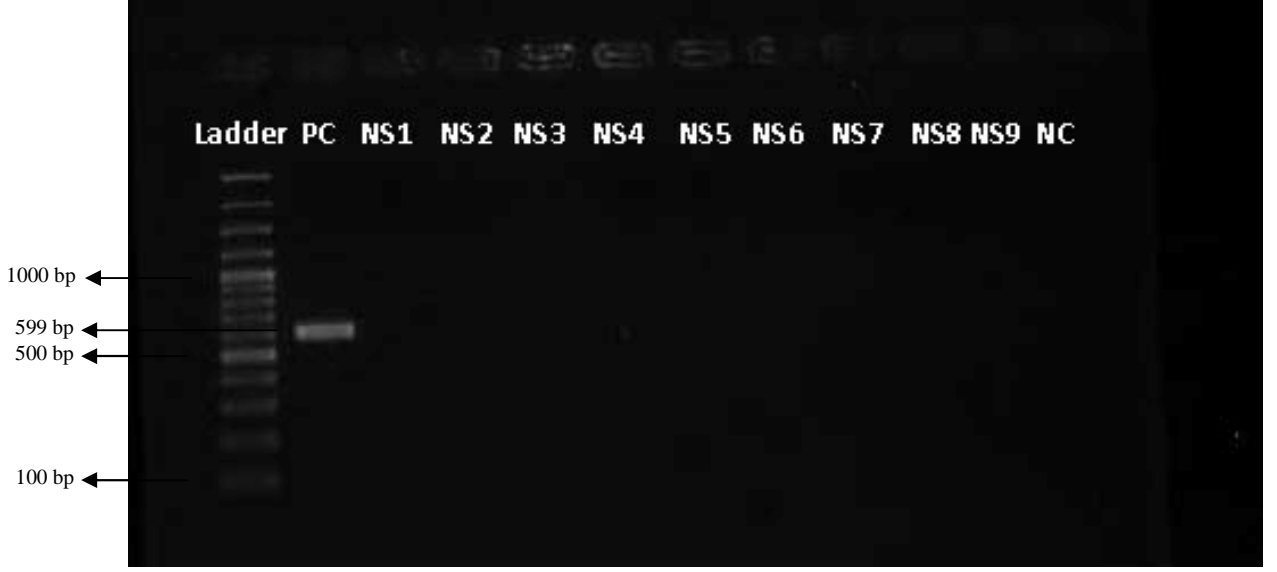
PC: *bla*_{OXA-24} pozitif *A.baumannii* NC:Negatif Kontrol



Şekil 7. *bla*_{OXA-51} gen bölgesinin PZR sonrası jel görüntüsü

Ladder: Promega 100 bp DNA Ladder Plus PS1-9:Pozitif Suş NS: Negatif Suş

PC: *bla*_{OXA-51} pozitif *A.baumannii* NC:Negatif Kontrol



Şekil 8. *bla*_{OXA-58} gen bölgesinin PZR sonrası jel görüntüsü

Ladder: Promega 100 bp DNA Ladder Plus PS:Pozitif Suş NS1-9: Negatif Suş

PC: *bla*_{OXA-58} pozitif *A.baumannii* NC:Negatif Kontrol

4.4.1. Karbapenem Dirençli *A.baumannii* İzolatlarında PZR ile saptanan *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} Gen Bölgelerinin Dağılımı

Çalışmaya dahil edilen 100 karbapenem dirençli *A.baumannii* izolatının yapılan PZR'lerinde, izolatların tümünde *bla*_{OXA-51} gen bölgesi pozitif bulundu. İzolatların PZR sonuçları Tablo XIII'de sunulmuştur.

Tablo XIII: OXA Tipi Karbapenemazların Dağılımları

Suş No	OXA51	OXA23	OXA58	OXA24	Suş No	OXA51	OXA23	OXA58	OXA24
1	+	+	-	-	26	+	+	-	-
2	+	+	-	-	27	+	+	-	-
3	+	+	-	-	28	+	+	-	-
4	+	+	-	-	29	+	+	-	-
5	+	+	-	-	30	+	+	-	-
6	+	+	-	-	31	+	+	-	-
7	+	+	-	-	32	+	+	-	-
8	+	+	-	-	33	+	+	-	-
9	+	+	-	-	34	+	+	-	-
10	+	+	-	-	35	+	+	-	-
11	+	+	-	-	36	+	+	-	-
12	+	+	-	-	37	+	+	-	-
13	+	+	-	-	38	+	-	-	-
14	+	+	-	-	39	+	+	-	-
15	+	+	-	-	40	+	+	-	-
16	+	+	-	-	41	+	+	-	-
17	+	+	-	-	42	+	+	-	-
18	+	+	-	-	43	+	+	-	-
19	+	+	-	-	44	+	+	-	-
20	+	+	-	-	45	+	+	-	-
21	+	+	-	-	46	+	+	-	-
22	+	+	-	-	47	+	+	-	-
23	+	-	-	-	48	+	+	-	-
24	+	+	-	-	49	+	+	-	-
25	+	-	-	-	50	+	+	-	-

Tablo XIII: OXA Tipi Karbapenemazların Dağılımları

Suş No	OXA51	OXA23	OXA58	OXA24	Suş No	OXA51	OXA23	OXA58	OXA24
51	+	-	-	-	76	+	+	-	-
52	+	-	-	-	77	+	+	-	-
53	+	+	-	-	78	+	+	-	-
54	+	+	-	-	79	+	+	-	-
55	+	+	-	-	80	+	+	-	-
56	+	+	-	-	81	+	+	-	-
57	+	+	-	-	82	+	-	-	-
58	+	+	-	-	83	+	+	-	-
59	+	+	-	-	84	+	+	-	-
60	+	+	-	-	85	+	+	-	-
61	+	+	-	-	86	+	+	-	-
62	+	+	-	-	87	+	-	-	-
63	+	+	-	-	88	+	+	-	-
64	+	+	-	-	89	+	+	-	-
65	+	+	-	-	90	+	+	-	-
66	+	+	-	-	91	+	+	-	-
67	+	+	-	-	92	+	+	-	-
68	+	+	-	-	93	+	+	-	-
69	+	+	-	-	94	+	+	-	-
70	+	+	-	-	95	+	+	-	-
71	+	+	-	-	96	+	+	-	-
72	+	+	-	-	97	+	+	-	-
73	+	+	-	-	98	+	+	-	-
74	+	+	-	-	99	+	+	-	-
75	+	+	-	-	100	+	+	-	-

PCR ile izolatların hepsinde *bla*_{OXA-51} gen bölgesi saptandı. 93 izolatta *bla*_{OXA-23} gen bölgesi saptanırken, *bla*_{OXA-24} ve *bla*_{OXA-58} gen bölgesi hiçbir izolatta saptanmadı. OXA Tipi karbapenemazların pozitiflik oranları Tablo XIV' de sunulmuştur.

Tablo XIV: OXA Tipi Karbapenemazların Pozitiflik Oranları

Enzim	Sayı (%)
OXA-51	100
OXA-23	93
OXA-23 ve OXA-51	93
OXA-24	0
OXA-58	0

5. TARTIŞMA

Acinetobacter baumannii enfeksiyonları, dünya genelinde hastane kaynaklı enfeksiyonların en önemli nedenlerinden biridir. Kuruluğa ve dezenfektanlara gösterdiği direnç nedeniyle; hastane yüzeylerinde ve tıbbi cihazlarda uzun süre canlılığını koruyabilmesi, karbapenem direnci dahil olmak üzere çoklu antibiyotik direncinin giderek artan oranlarda karşımıza çıkması ve özellikle yoğun bakım birimlerinde salgınlara yol açabilmesi, *A. baumannii*'nin sürekli gündemde olan bir patojen olmasına neden olmaktadır.

Acinetobacter baumannii özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda, klinik örneklerden en fazla izole edilen türdür (Schreckenberger ve ark., 2007). Hastane kaynaklı enfeksiyonlar, sıklıkla endotrakeal tüp veya trakeostomilere bağlı olarak solunum sistemini, üriner sistemi ve yara yerini tutmakta, septisemiye kadar ilerlemektedir. Ek olarak ayaktan devamlı peritoneal dializ peritoniti, endokardit, menenjit, osteomyelit, artrit, korneal perforasyon da bildirilmiştir (Bergogone-Berezin ve Towner, 1996). *Acinetobacter* türlerinin özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastalarda ventilatör ilişkili pnömonilerde giderek artan sayılarda etken olarak gösterildiği rapor edilmektedir. Risk faktörleri, antibiyotik tedavisi ve/veya cerrahi girişim, yabancı cisim uygulamaları, mekanik ventilasyon, yoğun bakım ünitesinde yatış olmakla birlikte klinik izolasyon enfeksiyon etkeni olmaktan ziyade kolonize olan bakterilerdir (Bergogone-Berezin ve Towner, 1996).

Acinetobacter suşlarının izole edildiği örneklerin dağılımı çeşitli çalışmalarda farklılıklar göstermektedir. Çolpan ve ark.'nın Ankara'da yaptıkları çalışmada *A. baumannii* izolasyonları en sık trakeal aspirat, (%36.1), ikinci sıklıkta kan (%25), üçüncü sıklıkta idrar (%22.2) örneklerinde tespit edilmiştir (Çolpan ve ark., 2002). Yavuz ve ark. yapmış oldukları çalışmada *A. baumannii* izolasyonlarını %27 ile en sık trakeal aspirat, %21 ile ikinci sıklıkta idrar, %16 ile üçüncü sıklıkta balgam örneklerinden elde etmişlerdir (Yavuz ve ark., 2006). Zer ve ark. çalışmalarında *A. baumannii* izolasyonlarını en sık trakeal aspirat (%45.16), ikinci sıklıkta kan (%14.51) ve üçüncü sıklıkta yara yeri (%11.29) materyalinden izole etmişlerdir (Zer ve ark., 2007). Gülhan ve ark.'nın çalışmasında ise izolasyonların %3'ü trakeal aspirat, %20'si kan, %40'ı yara ve %24'ü idrar örneklerinden oluşmaktadır (Gülhan ve ark., 2009). Çalışmamızda izolasyonlarımızın izole edildiği örnekler arasında ilk sırayı trakeal aspirat (%38) alırken kan kültürleri (%17)

ikinci, balgam örnekleri (%14) ise üçüncü sırada yer almaktadır. *Acinetobacter* türleri sıklıkla mekanik ventilatörlü hastalarda solunum sistemi enfeksiyonlarına yol açmaktadır. Çalışmamızda *A. baumannii*'nin yüksek oranda trakeal aspirattan izole edilmesinin ventilatör ekipmanlarındaki kolonizasyona bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda *A.baumannii* izolatlarının servislere göre dağılımı incelendiğinde, 100 *A. baumannii* izolatının en fazla yoğun bakım ünitesinden izole edildiği, ikinci sırada göğüs hastalıkları kliniği, üçüncü sırada ise dahiliye kliniğinin yer aldığı görülmektedir. Çetin ve ark. yaptıkları çalışmada, 129 *A. baumannii* suşunun en sık yoğun bakımlardan ve ikinci sıklıkla beyin cerrahisi ünitesinden izole edildiğini belirtmişlerdir (Çetin ve ark., 2006). Özdemir ve ark. 215 *A. baumannii* suşunu en sık olarak reaminasyon yoğun bakımdan ve ikinci sıklıkta ise göğüs hastalıkları yoğun bakım ünitesinden izole etmişlerdir (Özdemir ve ark., 2009). Aral ve ark.'nın yaptıkları çalışmada 130 *A. Baumannii* suşu en sık yoğun bakım, ikinci sıklıkta çocuk hastalıkları ve üçüncü sıklıkta cerrahi kliniklerinden elde etmişlerdir (Aral ve ark., 2010). Çalışma grubumuz bu yönüyle değerlendirildiğinde, diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Mikroorganizmaların üç veya üzerinde farklı antibiyotik gurubuna dirençli olmaları çoklu antibiyotik direnci olarak tanımlanmaktadır (Magiorakos ve ark., 2011). *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde en önemli problem ise ÇİD kökenlerin izole edilme oranlarında artma ve tedavide kullanılacak antibiyotik seçeneklerindeki azalmadır (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996; Kwon ve ark., 2007). Araştırmamız boyunca incelediğimiz *Acinetobacter* kökenlerinin tamamının antibiyotiklere çoğul dirençli olduğu belirlenmiştir. ÇİD olan *A. baumannii* suşları ile oluşan enfeksiyonlar sağlık kuruluşlarının ciddi bir sorunu haline gelmiştir. Bu sorunun hızlı büyümesinin başlıca nedeni yoğun ve uygunsuz antibiyotik kullanımudur. Aztreonam ve 3. kuşak sefalosporinlerin kullanımının karbapenem dirençli *Acinetobacter* türlerinde artışa neden olduğu bulunmuş ve dirençli türlerin yayılımını azaltmak için antibiyotik kullanımının azaltılması önerilmiştir (Manikal ve ark., 2000). Zarilli ve ark. çalışmalarında dirençli *A. baumannii* kökenlerinin epidemik duruma gelmesi ile bu grup antibiyotiklerin yoğun kullanımının paralel olduğunu göstermişlerdir (Zarilli ve ark., 2004). ÇİD suşların sürekli olarak antibiyotiklere direnç geliştirmeleri sadece bir tek antimikrobiyal ajana duyarlı olan ve giderek mevcut tüm ilaçlara dirençli olan "pandrugresistance" (PDR) izolatların ortaya çıkmasına neden

olmuştur. Antimikrobiyallere karşı olan direnç sorunu mortalite ve morbiditeyi artırmakta ve buna ilaveten ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. PDR klinik izolasyonlarının sıklığı, bu izolasyonlarla ilişkili enfeksiyonların tedavi seçenekleri, mortalite ve morbidite oranlarına ilişkin veriler klinik ve halk sağlığı açısından büyük öneme sahiptir (Falagas, 2007). Bu yüzden, hem ülkemizde hem de diğer ülkelerde *Acinetobacter* spp.'nin antimikrobiyallere karşı direnç dağılımının tespiti önemlidir.

Yaptığımız çalışmada karbapenem dirençli *A.baumannii* izolasyonlarında kolistin %100, piperasilin tazobaktam %1, tetrasikline %16, trimetoprim sülfometaksazole %17, levofloksasine %28, siprofloksasine % 1, gentamisine % 38 ve amikasine % 22 oranında duyarlılık saptanmıştır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada 215 *A. baumannii* izolasyonunun imipenem duyarlılığı %30, amikasin duyarlılığı %24, gentamisin duyarlılığı %18, siprofloksasin duyarlılığı %14, seftazidim duyarlılığı %11, piperasilin tazobaktam duyarlılığı %10, sefepim duyarlılığı %7'dir (Özdemir ve ark., 2009). Aral ve ark. çalışmalarında imipenemi %28 duyarlılık ile en etkili antibiyotik bulmuşlar ve seftazidime % 8, levofloksasine % 9, trimetoprim-sulfametoksazole % 15, gentamisine %15, amikasine % 19 duyarlılık bildirmişlerdir (Aral ve ark., 2009). Iraz ve ark.'nın çalışmalarında 143 *A. baumannii* izolasyonunun imipenem 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). Hastanemizde Sezgin'in 2012 yılında yaptığı çalışmada *A.baumannii* izolasyonlarında kolistin %100, imipenem %21, meropenem %22.3, piperasilin tazobaktam %15.7, piperasiline %8.5, tetrasikline %17.1, trimetoprim sülfometaksazole %24.3, levofloksasine %17.1, siprofloksasine % 17.7, gentamisine %22.3, seftazidime %14.5, sefepime %14.5 ve amikasine %32.2 oranında duyarlılık saptamışlardır (Sezgin, 2012). Bu veriler hastanemizdeki ve ülkemizdeki azalmış duyarlılık sorununu ortaya koymaktadır.

Karbapenemler *A. baumannii*'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen ilaçlardır. Ancak son yıllarda dünyada karbapenem dirençli izolasyonlarının sayısında artış gözlenmektedir. *Acinetobacter* türlerinde karbapenem direnç oranları ülkelere ve coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. 11 Avrupa ülkesinden (Belçika, Bulgaristan, Rusya, Türkiye, Çek Cumhuriyeti, İsveç, Almanya, İtalya, İngiltere, Polonya ve İsviçre) 37 merkez 1997-2000 yılları arasında MYSTIC 58 (Yıllık

Meropenem Duyarlılık Test Bilgisinin Toplanması) programına katılmıştır. *A. baumannii*'nin antibiyotik duyarlılık raporlarına göre Türkiye bu çalışmaya göre en yüksek direnç seviyesine sahip olup onu İtalya ve İngiltere takip etmektedir. Bu çalışmada Türkiye'de ortalama direnç oranı %35 olarak tespit edilmiştir (Turner ve ark., 2003). 2000-2003 yılları arasındaki MYSTIC çalışmasında ülkemizdeki meropenem ve imipenem direnç oranları sırasıyla %42 ve %48 bulunmuştur (Korten ve ark., 2007). 2004 yılında Karslıgil ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada *Acinetobacter* suşlarının imipenem direnci %9.6 oranında, 2009 yılında Özgür Akın'ın yaptığı çalışmada %53.5 oranında, Kırkgöz' ün çalışmasında ise %98 olarak saptanmıştır (Karslıgil ve ark, 2004; Özgür Akın ve ark., 2009; Kırkgöz, 2011). 2012' de Sezgin'in yaptığı çalışmada imipeneme %79, meropeneme %72.7 oranında direnç bulunarak oldukça yüksek bir artış gözlenmiştir (Sezgin, 2012). Maalesef, Türkiye'de ve diğer ülkelerde bu direnç oranları son yıllarda giderek artmaktadır.

A. baumannii'de karbapenemlere direnç gelişimine neden olan bir çok mekanizma vardır. Karbapenem direncinde etkili olan mekanizmalar kromozomal ya da plazmid aktarımlı karbapenemazlar, dış membran proteinlerinde kayıp, CarO geninin yokluğu, penisilin bağlayıcı proteinlerin modifikasyonu, efflux sistemleri olarak sıralanabilir. (Zarrili ve ark., 2009). Karbapenem dirençli *A. baumannii* 'de dirençten sorumlu en önemli mekanizma karbapenem hidrolize eden beta laktamazlardır. *A. baumannii*'de şimdiye kadar bir çok karbapenem hidrolize eden beta laktamaz tespit edilmiştir. Bunlardan metallo beta laktamazlar (VIM, SIM, IMP) dünyanın bazı bölgelerinde sporadik olarak bildirilmiştir ve class1 integron ile ilişkilendirilmiştir (Zarrili ve ark. 2009). *Acinetobacter baumannii*'de karbapenemaz aktivitesi olan en yaygın beta laktamaz grubu, çoğunlukla bu türler için spesifik olan karbapenem hidroliz eden sınıf D β -laktamazlardır (Poirel ve Nordmann, 2006). Bu grupta *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24/40} ve *bla*_{OXA-58} ile temsil edilen, kromozomal ya da plazmid aktarımlı üç ana kazanılmış karbapenem hidrolize eden sınıf D oksasilinaz gen kümesi tanımlanmıştır. Ayrıca OXA-51 tip doğal oksasilinazın aşırı üretimi de kazanılmış karbapenem direncine neden olmaktadır (Poirel ve Nordmann, 2006)

OXA tipi karbapenemazların ilk grubu olan OXA-23 1995 yılında rapor edilmiştir (Scaife ve ark., 1995). İngiltere hastanelerinde 2003-2004 yıllarında hızla yayılan *bla*_{OXA-23} genine sahip iki karbapenem dirençli klon saptanmıştır (Poirel ve

Nordmann , 2006). Romanya, Brezilya, Güney Kore ve Fransız Polinezyasında OXA-23 karbapenemaz üreten *Acinetobacter* suşlarına bağlı nozokomiyal salgınlar rapor edilmiştir (Poirel ve Nordmann, 2006). bla_{OXA-23} çoğunlukla Asya ülkelerinde tespit edilmiş olmakla birlikte Güney Amerika ve Avrupa'dan da bildirilmiştir (Zarrili ve ark., 2009). Meriç ve arkadaşları Ekim 2005-Ekim 2006 zaman diliminde YBÜ'de ÇİD olan ve OXA-23 enzimi üreten *Acinetobacter baumannii* suşlarıyla meydana gelen bir salgın bildirmişlerdir (Meriç ve ark., 2006).

OXA tipi karbapenemazların ikinci grubu olan OXA-24 ilk olarak İspanya'da tespit edilmiştir. Bu izolatlarda yüksek düzey karbapenem direnci saptanmıştır (Poirel ve Nordman, 2006). bla_{OXA-25} , bla_{OXA-26} ve bla_{OXA-40} ; bla_{OXA-24} ailesine aittir. bla_{OXA-24} pozitif izolatlar sıklıkla İspanya,Portekiz ve Asya'dan bildirilmekle birlikte; İran, Belçika, Çek Cumhuriyeti ve Amerika'da da saptanmıştır (Zarrili ve ark., 2009). Bizim çalışmamızda bla_{OXA-24} varlığı saptanmadı. Ülkemizde yapılan benzer çalışmalarda da bla_{OXA-24} varlığı saptanmamıştır. (Sarı ve Gülay, 2010; Aşık, 2011; Özen, 2012; Uluçam ve ark., 2012.; Merdan ve ark., 2012).

Diğer grup bir grup olan OXA-58 ise ilk olarak Fransa'da tespit edilmiş ve yanık ünitesinde bir salgına neden olmuştur. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda klinik örneklerdeki *A. baumannii* suşlarında bla_{OXA-58} geni gösterilmiştir. Bu çalışmalar farklı coğrafi bölgelerden (İspanya, Türkiye, Romanya, Bulgaristan, Avusturya, İngiltere, Arjantin ve Kuveyt'den) bildirilmiştir (Poirel ve Nordmann , 2006). Bulgaristan'da da bir yoğun bakım ünitesinde karbapenem dirençli ve OXA-58 üreten klonlara bağlı nozokomiyal bir salgın rapor edilmiştir (Poirel ve Nordmann , 2006). Ülkemizde ise Külah ve arkadaşları karbapenem dirençli suşların yaptığı bir salgında izolatların % 78 'de bla_{OXA-58} tipi oksasilinaz tespit etmişlerdir (Külah ve ark., 2006). Güçlü 2006-2011 yılları arasında yaptığı çalışmada bla_{OXA-58} taşıyan izolatların oranını %18 olarak saptamıştır (Güçlü, 2012). Telli ve ark. ise çalışmalarında izolatların %12 'nde bla_{OXA-58} varlığını tespit etmişlerdir (Telli ve ark, 2012). Ülkemizde çeşitli çalışmalarda bla_{OXA-58} varlığı saptanmıştır (Sarı ve Gülay, 2012; Aşık, 2011). Bizim çalışmamızda izolatlarımızda bla_{OXA-58} gen bölgesi saptanmamıştır. Benzer şekilde Nowak ve ark. 104 karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatında bla_{OXA-58} gen bölgesi tespit etmemişlerdir (Nowak ve ark., 2012).

Acinetobacter baumannii 'de doğal oksasilinazlar olan bla_{OXA-51} benzeri beta-laktamazları kodlayan genler bugüne kadar çalışılan tüm *Acinetobacter baumannii* izolatlarında kromozomal yerleşimlidir. Diğer ilginç özellik ise doğal olarak meydana gelen OXA-51/69-benzeri oksasilinazların bazılarının üretimi ve *Acinetobacter baumannii*'de karbapenem direnci arasında bir bağlantının kurulmasıdır. Bu enzimlerin karbapenemleri hidroliz etmek için göreceli olarak zayıf becerilerine rağmen, bu oksasilinazların bazen aşırı eksprese edilebileceği gösterilmiştir, bu da karbapenemlere duyarlılıkta azalmayla sonuçlanmaktadır. Bu durum sadece IS*Aba1* ile komşu olan $bla_{OXA-51/69}$ -benzeri genleri taşıyan izolatlarda gözlenmiştir. IS*Aba1* ilişkili genlerin ekspresyonunu kuvvetlendiren promoter sekansları sağlayabilir. Muhtemelen bu promoter sekanslar *Acinetobacter baumannii*'de aşırı derecede etkindir, böylece IS*Aba1*'in bla_{OXA-51} -benzeri genlere insersiyonu karbapenem direncinin veya en azından azalmış duyarlılığının doğru bir mekanizmasını temsil edebilir. OXA-51/69 üretiminin karbapenemlerin direnci üzerine olan etkisini daha kesin tespit edebilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamızda izolatlarımızın hepsinde bla_{OXA-51} gen bölgesi tespit edildi. Ülkemizden yapılan bir çok çalışmada *A. Baumannii* izolatlarında bla_{OXA-51} gen bölgesi saptanmıştır (Güçlü, 2011; Aşık, 2011; Telli ve ark., 2012 ; Uluçam ve ark., 2012).

OXA türlerinin yayılması yıllara göre farklılıklar göstermiştir. bla_{OXA-23} genleri son yıllarda diğer OXA genlerinden daha fazla bildirilmiştir. Mendes ve arkadaşlarının çalışmasında; *Acinetobacter* izolatlarında Asya Pasifik bölgesinde 2006-2007 yılları arasında bla_{OXA-23} taşıyan izolatların oranı %70.4 iken, bla_{OXA-24} ve bla_{OXA-58} daha az yaygın olarak raporlamışlardır, D'Arezzo ve arkadaşları İtalya da 2005-2009 arasında *A.baumannii* izolatları arasında karbapenem direnciyle ilişkili izolatların %71'nde bla_{OXA-23} ve %22.8' de bla_{OXA-58} varlığını tespit etmişlerdir (D'Arezzo ve ark., 2011) Bu veriler 2004-2005 verileri ile karşılaştırıldığında bla_{OXA-58} taşıyan izolatların büyük ölçüde azalmış görülmektedir (bla_{OXA-58} taşıyan izolatlar 2004-2005' de %80.7 iken 2005-2009'da %22.8 olarak raporlanmıştır). Bununla birlikte bla_{OXA-23} gen bölgesi 2008' de yaygın olmuş ve bundan sonra bla_{OXA-58} gen bölgesi ile tamamen yer değiştirmiştir (D'Arezzo ve ark., 2011). Gür ve arkadaşlarının 2000-2006 arasında yaptıkları çalışmada, Ankara bölgesine ait izolatlarda %94.4 oranında bla_{OXA-58} pozitif saptanmış iken, İstanbul' dan gelen izolatlarda bla_{OXA-23} pozitiflik oranı %94.4

olmuştur. Ergin ve arkadaşlarının çalışmalarında salgın dışı *A.baumannii* izolatları arasında *bla*_{OXA-23} (%31) ve *bla*_{OXA-58} (%24) genlerinin yayılması yıllara göre değişme göstermiştir. 2004-2009 arasında *bla*_{OXA-58} gen bölgesinde artma olmuştur. Ama 2008-2010 arasında *bla*_{OXA-23} genleri yaygın olmuştur ve bundan sonra *bla*_{OXA-58} in yerine geçmiştir (Ergin ve ark., 2012). Sarı ve Gülay 2000-2011 yılları arasında karbapenem dirençli *A.baumannii* izolatlarının %52.8'inde *bla*_{OXA-58} benzeri gen bölgesi bulunurken, %40.2'sinde *bla* OXA-23 benzeri gen bölgesi saptamışlardır (Sarı ve Gülay, 2012). Bu iki gen bölgesinin yıllara göre dağılımının ise değişiklik gösterdiği görülmüştür. *bla*_{OXA-58} gen bölgesi çalışmayı kapsayan tüm yıllarda pozitifdir. Ancak *bla*_{OXA-23} gen bölgesi pozitifliği 2004 yılından itibaren görülmeye başlanmıştır. 2009-2011 yılları arasında *bla*_{OXA-23} prevalansı *bla*_{OXA-58} den daha yüksek bulunmuştur (Sarı ve Gülay, 2012). Epidemiyolojik çalışmalar tamamlanmamış olmakla birlikte bu prevalans değişikliğinin türe ait klon değişiminden kaynaklandığı düşünülmektedir (Sarı ve Gülay, 2012).Bizim verilerimiz dünya çapında *bla*_{OXA-23} kökenlerinin ortaya çıkışı ile uyumludur.

Bu çalışmada, *A. baumannii*'ye özgü olan *bla*_{OXA-51} gen bölgesi suşların hepsinde pozitif bulunmuştur. Karbapenem dirençli suşlarda *bla*_{OXA-23} oranı % 93 dür. Suşların %93'ünde *bla*_{OXA-23} ve *bla*_{OXA-51} gen bölgeleri birlikte bulunmaktadır. Yedi karbapenem dirençli suşta *bla*_{OXA-51} hariç diğer gen kümeleri tespit edilememiştir. OXA tipi karbapenemazların yaygınlığı ile beta-laktam antibiyotiklere karşı direncin yüksek seviyede olması dikkat çekicidir.

Bu çalışmada ve diğer ülkelerdeki çalışmalarda OXA-23, OXA-24, OXA-51 ve OXA-58 enzimlerinin varlığının ya da bu enzimlerin beraber bulunmasının karbapenem direncine veya ilaç duyarlılığının azalmasına neden olduğu tespit edilmiştir. Bunların dışında karbapenemlere karşı azalan duyarlılığın penisilin bağlayıcı protein ve porinlerin modifikasyonu veya AdeABC efluks sisteminin artması gibi sekonder direnç mekanizmalarıyla bağlantılı olabileceği ve değişik mekanizmaların karşılıklı etkileşimlerinin *A.baumannii*'de yüksek seviyede karbapenem direncine sebep olabileceği dikkate alınarak daha ileri çalışmalarda bu mekanizmaların olup olmadığının incelenmesi uygundur (Zarrili ve ark., 2009).

Sonuç olarak bizim çalışmamızda PZR ile oksasilinaz enzimlerinden OXA-23, OXA-24, OXA-51 ve OXA-58 araştırılmış ve tüm izolatlarda OXA-51 pozitif, OXA-24 ve OXA-58 enzimleri ise negatif olarak bulunmuştur. Bu bulgular doğrultusunda

karbapenemaz direncinin; OXA-51 tip doğal oksasilinazın aşırı üretimi ile ilişkili olarak ve OXA-23 enzim geninden kaynaklanabileceği düşünölmüştür.

6. SONUÇLAR

1. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıp Laboratuvarları Mikrobiyoloji Bölümü Bakteriyoloji Alt disiplin Laboratuvarı'na Ocak 2011-Haziran 2011 tarihleri arasında gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen tekrarı olmayan karbapenem dirençli 100 *A.baumannii* izolatu çalışmaya dahil edilmiştir.
2. *A.baumannii* izolatlarının en sık izole edildiği örnek türü %38 ile trakeal aspirat olup, onu %17 ile balgam ve %14 ile kan örnekleri takip etmiştir.
3. *A.baumannii* izolatlarının büyük bölümü yoğun bakım ünitesinden ünitesinden (%28) gönderilmiştir. Bunu göğüs hastalıkları (%13), ve dahiliye servisleri (%12) izlemiştir.
4. Çalışmamızdaki karbapenem dirençli *A. baumannii* klinik izolatlarının tamamı kolistine duyarlı; piperasilin, sefepim ve seftazidime ise dirençli bulunmuştur.
5. Çalışmada OXA tipi karbapenemazlar PCR yöntemiyle araştırılmıştır. *bla*_{OXA-51} gen bölgesi, *A. baumannii* klinik izolatlarının tümünde, *bla*_{OXA-23} gen bölgesi ise, izolatların %93'ünde saptanmıştır. *bla*_{OXA-24} ve *bla*_{OXA-58} gen bölgeleri ise hiçbir izolatta saptanmamıştır.
6. OXA tipi karbapenemazlar ile ilgili olarak çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, karbapenem direncinin; OXA-51 tip doğal oksasilinazın aşırı üretiminin bir sonucu ve OXA-23 enzim geni ile ilişkili olabileceği; bunun yanında diğer direnç mekanizmalarının da ileri çalışmalarda incelenmesinin gerekliliği düşünülmüştür.

7. KAYNAKLAR

Afzal-Shah M, Woodford N, Livermore DM. 2001. Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27 molecular class D beta-lactamases associated with carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 45(2): 583-8.

Akalın H. Çoklu ilaç direncinde tedavi yaklaşımı ve ilaç politikaları. 2007. *Ankem Derg*, 21 (Ek2):186-191.

Akova M. 2006. Sulbaktam-Sefoperazon: In Vitro Çalışmalar ve Klinik Kullanımında Yeni Veriler. *Flora*, 11(Ek 2).

Allen DM, Hartman JB. 2009. *Acinetobacter* species In: Mandel G.L., Bennet J.E., Dolin R., ed(s). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. 2281-2285.

Andrei A, Zervos MJ. 2006. The Application of Molecular Techniques to the Study of Hospital Infection. *Arch Pathol Lab Med*; 130, 662-668.

Appleman MD, Belzberg H, Citron DM. 2000. *In vitro* activities of nontraditional antimicrobials against multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated in an intensive care unit outbreak. *Antimicrob. Agents Chemother.*; 44, 1035- 40.

Arda B, Ulusoy S. 2008. Kinolonlar. İn. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. eds. *Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 497-512.

Aşık G. 2011. *Acinetobacter baumannii* virülansında güncel yaklaşımlar. *Mikrobiyoloji Bülteni*,; 45(2), 371- 380

Aşık G, Çiftçi İH, Aktepe OC. 2012. *Acinetobacter baumannii* izolatlarında OXA türü Direnç Genlerinin Araştırılması. I. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya. P-005

Aral M, Doğan S, Paköz NİE. 2010. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotiklere direnç oranlarının araştırılması, ANKEM Derg;24(4), 215-9.

Aygün G. 2007. Yoğun bakım birimlerinde antibiyotik direnç problemi ve tedavide güncel durum: Nonfermentatifler. III. Ulusal Yoğun Bakım İnfeksiyonları Simpozyumu. Simpozyum Kitabı, 16-18.-1281.

Bahar İH, Esen N. 2008. *Acinetobacter* türleri ve diğer gram negatif nonfermentatif basiller. İçinde: 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.

Başustaoğlu A, Özyurt M. 1998. Nozokomiyal Patojen Olarak *Acinetobacter*'lerin Mikrobiyolojik, Klinik ve Epidemiyolojik Özellikleri. Hastane İnfeksiyon Derg , 2, 2, 88-93.

Berezin BE, Towner KJ. 1996. *Acinetobacter* spp as nosocomial pathogens. Microbiological, clinical and epidemiological features. Clin Microbiol Rev , 9, 148- 65.
Bergogne-Berezin E, Joly-Guillou ML. 1991. Hospital infection with *Acinetobacter* spp. An increasing problem. J Hosp Infect, 18, 250-5.

Bonnet R, Marchandin H, Chanal C et al. 2002. Chromosome encoded class D beta-lactamase OXA-23 in *Proteus mirabilis*. Antimicrob. Agents Chemother, 46: 2004–2006.

Bonnin RA, Naas T, Poirel L, Nordmann P. 2012 Phenotypical-, biochemical- and molecular-based techniques for detection of metallo- β -lactamase NDM in *Acinetobacter baumannii*, J Clin Microbiol, 50(4), 1419-1421

Bou G, Cervero G, Dominguez M.A, 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.

Brown S, Amyes S. 2006. OXA (beta)-lactamases in *Acinetobacter*: the story so far, J Antimicrob. Chemother, 57(1), 1-3

Can F, Azap Ö. 2006. Demirbilek ve ark. Kan kültürlerinden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında biyofilm oluşumu. İnfeksiyon dergisi, 20(3), 159-163.

Çakır N. 2004. Gram negatif etkili antibakteriyel ajanlar ve klinik kullanımları (sefalosporinler). Ulusoy S, Leblebicioğlu H, Usluer G, eds. Önemli ve sorunlu gram negatif bakteri infeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 410-428

Clark N.M, Patterson J, Lynch J.P. 2003. Antimicrobial resistance among gram-negative organisms in the intensive care unit. Lippincott Williams & Wilkins, 9, 413-423.

Clinical And Laboratory Standards Institute. 2012.Performance Standads for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty- First Informational Supplement. M100-S21.2011; 61.

Clinical And Laboratory Standards Institute. 2012.Performance Standads for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty- First Informational Supplement. M100-S22.2012; 61.

Çalık N, Akova M. 2007. Tigesiklin. *Ankem Derg*, 21(Ek 2), 29-33.

Çetin ES, Kaya S, Tetik T. 2006. Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının suşlarının örneklere göre dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları, *Ankem Derg*, 20(4), 202-5.

Çiftçi İH, Aşık G. 2011. *Acinetobacter baumannii*'nin antibiyotik direnç mekanizmaları. *Ankem Derg*, 25(3), 196-207.

Çolpan A, Güngör Ş, Baykam N, Dokuzoğlu B. 2002. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Acinetobacter* suşlarının antibiyotik direnç durumlarının araştırılması. *İnfeksiyon Derg*, 16,55-8.

D'Arezzo S, Principe L, Capone A, Petrosilla N, Petrucca A, Visca P. 2011. Changing carbapenemase gene pattern in an epidemic multidrug resistant *Acinetobacter Baumannii* lineage causing multiple outbreaks in central Italy. *J Antimicrob Chemother*, 66, 54-55.

Da Silva GJ, Quinteira S, Bértolo E et al. 2004. Long-term dissemination of an OXA-40 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* clone in the Iberian Peninsula, *J Antimicrob Chemother*; 54(1), 255-8.

Demirtürk N, Demirdal T. 2004. Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 5(2), 17-21.

Dijkshoorn L, Michel MF, Degener JE. 1987. Cell envelope protein profiles of *Acinetobacter calcoaceticus* strains isolated in hospitals. *J Med Microbiol*, 23,313-319.

Donald HM, Scaife W, Amyes SG, Young HK. 2000. Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA b-lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents Chemother*, 44, 196–199.

Dökmeci İ. 1992. Kemoterapötik ilaçlar. Dökmeci İ (Editör). *Farmakoloji ilaç uygulamalarında temel kavramlar*'ında. İstanbul. Nobel Tıp Kitapevleri, s.705–86.

Dökmetaş İ. 2003. Aminopenisililer. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S (Editörler). Güncel bilgiler ışığında antibiotikler. 1. Baskı. Ankara. Bilimsel Tıp Yayınevi;, s.239-48.

Dupont M, Pagès JM, Lafitte D, Siroy A, Bollet C. 2005. Identification of an OprD homologue in *Acinetobacter baumannii*, *Proteome Res*, 4(6), 2386-90.

Durmaz R. 2001. Moleküler epidemiyolojinin prensipleri, Durmaz R (ed): Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji, 2.basım' kitabında, İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri, s.139-47.

Durmaz R. 2007. Dirençli bakteri suşları arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesi. *Ankem Derg*, 21(Ek 2), 178-183 .

Ergin A, Hasçelik G, Eser EK. 2012. Molecular characterization of oxacillinases and genotyping of invasive *Acinetobacter baumannii* isolates using repetitive extragenic palindromic sequence-based polymerase chain reaction in Ankara between 2004 and 2010. *Scand J Infect Dis*, 45,1, 26-21.

Esen Ş. Tigesiklin. 2008. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S (Editörler). Güncel bilgiler ışığında antibiotikler. 1. Baskı. Ankara. Bilimsel Tıp Yayınevi, s.275-86.

Falagas ME, Kasiakou SK. 2005. Colistin: The revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram negative bacterial infections. *Clin Infect Dis* 40, 1333-41.

Falagas ME, Bliziotis IA. 2007. Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: the dawn of the post-antibiotic era? *Int J Antimicrob Agents*, 29, 630–636

Ferrara AM. 2006. Potentially multidrug-resistant non-fermentative Gram-negative pathogens causing nosocomial pneumonia. *Int J Antimicrob Agents*, 27,183–195

- Figueiredo S, Bonnin RA, Poirel L, Duranteau J, Nordmann P. 2012. Identification of the naturally occurring genes encoding carbapenem-hydrolysing oxacillinases from *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii*, and *Acinetobacter calcoaceticus*, *Clin Microbiol Infect*, 18(9), 907-13
- Fillaux, J, Dubois A, Maria Jonil J, Laguerra J, Marty N. 2006. Retrospective Analysis of Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains Isolates During a 4 Year Period in a University Hospital. *Infect Control and Hosp Epidemiol*, 27, 647-653
- Fournier PE, Richet H. 2006. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis*, 42(5), 692-9.
- Gantz NM, Tkatch LS. 1999. Nosocomial central nervous system infections. In: Mayhall C.G., eds. *Hospital Epidemiology and Infection Control*. 2 th ed. Philadelphia: Williams &Wilkins, 301-322
- Gehrlein M, Leying H, Cullmann W, Wendt S, Opferkuch W. 1991. Imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* is due to altered penicillin-binding proteins, *Chemotherapy*, 37(6), 405-12.
- Gilbert P, Das J, Foley I. 1997. Biofilm susceptibility to antimicrobials. *Adv Dent Res*, 11, 160-167.
- Giske CG, Gezelius L, Samuelsen O, Warner M, Sundsfjord A, Woodford N. 2011. A sensitive and specific phenotypic assay for detection of metallo-beta-lactamases and KPC in *Klebsiella pneumoniae* with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacillin, *Clin Microbiol Infect*, 17(4), 552-6.
- Goic-Barisic I, Tonkic M. 2009. The review of carbapenem resistance in clinical isolates 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.

Güçlü Üsküdar A. 2011. Molecular Analysis of Beta-Lactamases in Clinical *Acinetobacter Baumannii* Isolates From Intensive Care Units; Ankara Orta Doğu Teknik Üniversitesi Biyoloji Departmanı. Doktora Tezi.

Gülhan B, Nergiz Ş, Meşe S, Özekinci T, Atmaca S. 2009. *Acinetobacter baumannii* suşlarında tigesiklin için disk difüzyon yöntemiyle elde edilen zon çaplarının iki farklı kritere göre değerlendirilmesi, *Ankem Derg*, 23(2), 78-81.

Gür D. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları. 2008. İn. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S, eds. Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 39-52.

Gur D, Korten V, Unal S, Deshpande L, Castanheira M. 2008. Increasing carbapenem resistance due to the clonal dissemination of oxacillinase (OXA-23 and OXA-58) Producing *Acinetobacter Baumannii*: report from the Turkish SENTRY Program sites. *J Med Microbiol*, 57, 1529-1532.

Higgins P G, Schneiders T, Hamprech A, Seifert H. 2010. *In Vivo* Selection of a Missense Mutation in *adeR* and Conversion of the Novel *bla*OXA-164 Gene into *bla*OXA-58 in Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates from a Hospitalized Patient. *Antimicrob Agents Chemother*, 54, 12, 5021–5027.

<http://www.medic.med.uth.tmc.edu>.

<http://www.thepetridishmicrobe.blogspot.com>.

Iraz M, Ceylan A, Akkoyunlu Y. 2012. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter* Türlerinde Antibiyotik Direnç Oranlarının İncelenmesi *Ankem Derg*, 26(2), 80-85.

Jawad A, Hawkey PM, Heritage J, Snelling AM. 1994. Description of Leeds *Acinetobacter* Medium, a new selective and differential medium for isolation of clinically important *Acinetobacter spp.*, and comparison with Herellea agar and Holton's agar. J Clin Microbiol, 32, 2353- 58.

Karlıgil T, Balcı I, Zer Y. 2004. Antibacterial Sensitivity of *Acinetobacter* Strains Isolated from Nosocomial Infections. J Intern Med Research, 32, 436-441.

Kempf M, Rolain MJ. 2012. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. Int J Antimicrob Agents, 39,105-114.

Kırkgöz E. 2011. Yoğun Bakım Hastalarından ve Yoğun Bakım Ünitesi Ortamından İzole Edilen *Acinetobacter* Suşlarının Genotipik Olarak Karşılaştırılması. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

Korten V, Ulusoy S, Zarakolu P, Mete B. 2007. Turkish MYSTIC Study Group: Antibiotic resistance surveillance over a 4- year period (2000-2003) in Turkey: results of the MYSTIC Program, Diagn Microbiol Infect Dis, 59(4), 453-7.

Kropec A., Hubner J., Daschner F.D. 1993. Comparison of three typing methods in hospital outbreaks of *Acinetobacter calcoaceticus* infection. J Hosp Infect; 23, 133-141.

Kwon KT, Oh WS, Song JH, Chang HH, Jung SI, Kim SW. 2007. Impact of imipenem resistance on mortality in patients with *Acinetobacter* bacteraemia. J Antimicrob Chemother.; 59(3), 525- 30.

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.

Leblebicioğlu H. 2004. Polimikrobiyal İnfeksiyonlarda Tedavi ve Ampisilin-sulbaktam Kullanımı. Flora, 9(Ek 2).

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* genomospecies 10 carrying two different metallo-beta-lactamases, Int J Antimicrob Agents 36(3), 259-63.

Limansky AS, Mussi MA, Viale AM. 2002. Loss of a 29-kilodalton outer membrane protein in *Acinetobacter baumannii* is associated with imipenem resistance, J Clin Microbiol, 40(12), 4776-8.

Lortholary O, Fagon JY, Buu Hoi A. 1995. Nosocomial acquisition of multiresistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors and prognosis. Clin Infect Dis, 20,790-6.

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.

Marque´ S, Poirel L, He´ritier C et al. 2005. Regional occurrence of plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-58 in *Acinetobacter* spp. in Europe. J Clin Microbiol, 43, 4885–4888.

Mendes RE, Bell JM, Turnidge JD. 2011. Castanheira M, Jones RN. Emergence and widespread dissemination of OXA-23, -24/40 AND -58 Carbapenamases among *Acinetobacter* spp. In Asia-Pasific nations:report from the SENTRY surveillance program. J Antimicrob Chemother, 66:54-61

Merdan GD., Aksu B., Hasdemir M. 2012. Karbapenem ve Kolistin Dirençli *Acinetobacter Baumannii* İzolatlarının Klonal İlişkisi ve Karbapenemaz Genleri. XXXV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi.Kuşadası. P110.

Meric M, Kasap M, Gacar G, Budak F, Dundar D, Kolayli F. ve ark. 2008. Emergence and spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital in Turkey. FEMS Microbiol Lett, 282(2), 214-8.

Merkier AK, Centrón D. 2006. bla(OXA-51)-type beta-lactamase genes are ubiquitous and vary within a strain in *Acinetobacter baumannii*, Int J Antimicrob Agents, 28(2), 110-3.

Merkier AK, Catalano M, Ramírez MS et al. 2008. Polyclonal spread of bla(OXA-23) and bla(OXA-58) in *Acinetobacter baumannii* isolates from Argentina, J Infect Dev Ctries, 2(3), 235-40.

Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* Infection. 2008.N Engl J Med,358 (12), 1271.

Mussi MA, Limansky AS, Viale AM. 2005. Acquisition of resistance to carbapenems in multidrug-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of beta-barrel outer membrane proteins, Antimicrob Agents Chemother, 49(4), 1432-40.

Nemec A, Dolzani L, Brisse S, Van den Broek P, Dijkshoorn L. 2004. Diversity of aminoglycoside-resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European *Acinetobacter baumannii* clones, J Med Microbiol, 53(12), 1233-40.

Novak P, Paluchowska P, Budak A. 2012. Distribution of blaOXA gene among carbapenem resistant *Acinetobacter Baumannii* nosocomial strains in Poland. New Microbiol, 35;317-325.

Özdemir M, Erayman İ, Gündem NS, Baykan M, Baysal B. 2009. Hastane infeksiyonu etkeni *Acinetobacter baumannii* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması, *Ankem Derg*, 23(3), 127-32

Özgür Akın FE. 2009. Çoğul Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Tigesiklin, Kolistin ve Polimiksin Saptanmasında Disk Difüzyon, E Test ve Broth Mikrodilüsyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması., Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, uzmanlık tezi.

Pantophlet RA. 2008. Lipopolysaccharides of *Acinetobacter*, In: Gerischer U (ed), *Acinetobacter Molecular Biology.*, Caistr Academic Press, Norfolk, UK, pp: 61-98.

Poirel L, Marqué S, Héritier C, Segonds C, Chabanon G, Nordmann P. 2005. OXA-58, a novel class D {beta}-lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*, *Antimicrob Agents Chemother*, 49(1), 202-8.

Poirel L, Nordmann P. 2006. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology, *Clin Microbiol Infect*, 12(9), 826-36.

Prashanth K, Badrinath S. 2005. Epidemiological investigation of nosocomial *Acinetobacter* infections using arbitrarily primed PCR & pulse field gel electrophoresis. *Indian J Med Res* ,122, s. 408-418.

Rahal JJ. 2006. Novel antibiotic combinations against infections with almost completely resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin Infect Dis*, 43, 95- 9.

Rodríguez-Martínez JM, Nordmann P, Ronco E, Poirel L. 2010. Extended-spectrum cephalosporinase in *Acinetobacter baumannii*, *Antimicrob Agents Chemother*, 54(8),3484-8.

Saltoğlu N. 2007. *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonları ve tedavisi. In. XIII. Türk Klimik Kongresi (14-18 Mart 2007 Antalya), Kongre Kitabı. İstanbul, 20(özel sayı), 204-207.

Sarı A, Gülay Z. 2012. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Kan Kültürlerinde Üremiş *Acinetobacter Baumannii* Suşlarında OXA-58 Tipi Karbapenemaz Üretiminin Polimeraz Zincir Tepkimesi (PZT) Yöntemi ile Araştırılması. XXXV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kuşadası,P115.

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 FC, Tenover FC, Yolken RH (Eds.). *Manuel of Clinical Microbiology*. 7 th ed. Washington DC: ASM pres;; 539-60.

Schreckenberger PC, Daneshvar MI, Weyant RS, Hollis DG. 2007. *Acinetobacter, Achromobacter, Chryseobacterium, Moraxella,* and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Landry ML, Jorgensen JH. (Eds.). *Manuel of Clinical Microbiology* 9 th ed. Washington ASM Pres; 770- 802.

Sezgin Milleti F. 2012. *Acinetobacter Baumannii* İzolatlarında Biyofilm Üretimi ve Kolistin Duyarlılıklarının Biyofilm Formasyonunda Araştırılması.Samsun 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Uzmanlık Tezi.

Shakil S, Khan R, Zarrilli R, Khan AU. 2008. Aminoglycosides versus bacteria a descriptionof the action, resistance mechanism, and nosocomial battleground. *J Biomed Sci*, 15,5–14.

Seifert H, Schulze A, Baginski R, Pulverer G. 1994. Comparison of four different methods for epidemiologic typing of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*, 32,1816-1819.

Seifert H, Schulze A, Baginski R, Pulverer G. 1994. Plasmid DNA fingerprinting of *Acinetobacter* species other than *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*, 32,82-86

Shi WF, Jiang JP, Mi ZH. 2005. Relationship between antimicrobial resistance and aminoglycoside-modifying enzyme gene expressions in *Acinetobacter baumannii*, *Chin Med J*, 118(2),141

Singh A, Goering R.V, Simjee S, Foley S.L, Zervos M.J. 2006. Application of Molecular Techniques to the Study of Hospital Infection. *Clin Microbiol Rev*, s.512–530.

Siroy A, Molle V, Lemaître-Guillier C, Valledet D, Pestel-Caron M, Counne T. 2005. Channel formation by CarO, the carbapenem resistance-associated outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii*, *Antimicrob Agents Chemother*, 49(12), 4876-83.

Telli M, Gültekin B., Eyigör M., Aydın N. 2012. Karbapenem Dirençli *Acinetobacter* spp. Suşlarında Çeşitli Direnç Mekanizmalarının Araştırılması. XXXV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kuşadası, P111.

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.

Tomás M, Beceiro A, Pérez A et al. 2005. Cloning and functional analysis of the gene encoding the 33- to 36-kilodalton outer membrane protein associated with carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*, *Antimicrob Agents Chemother*, 49(12), 5172-5.

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. *J Hosp Infect*; 73(4), 355-63

Turner PJ, Greenhalgh JM, and the MYSTIC Study Group (Europe). 2003. The activity of meropenem and comparators against *Acinetobacter* strains isolated from European hospitals (1997-2000), *Clin Microbiol Infect*,9(6):, 563-7

Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. 2006, Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species, *J Clin Microbiol*, 44(8), 2974-6.

Turton JF, Ward ME, Woodford N. 2006. The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*, *FEMS Microbiol Lett*, 258(1), 727.

Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. 2005. Antimibiyotikler ve Kemoterapotikler. *Asya Mikrobiyoloji* (5.basım). İzmir, Asya Tıp Kitabevi; 1-59.

Uluçam G, Bayramoğlu G, Tosun İ, Kaklıkkaya N, Aydın F. 2012. Dirençli *Acinetobacter Baumannii* İzolatlarının Karbapenem Dirençli Moleküler Mekanizmalarının Araştırılması XXXV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi.Kuşadası, P104

Urban C, Go E, Mariano N, Rahal JJ. 1995. Interaction of sulbactam, clavulanic acid and tazobactam with penicillin binding proteins of imipenem-resistant and susceptible *Acinetobacter baumannii*, *FEMS Microbiol Lett*;125(2):193-7.

Usluer G, Ünal S. 2004. İmipenem. *Flora* 9(Ek7), 3-16.

Vahapoğlu H. 2008. *Acinetobacter* infeksiyonları. *Ankem Derg* 22, 44-45.

Vahaboglu H, Budak F, Kasap M, Gacar G, Torol S, Kolaylı F, Eroğlu C. 2006. High prevalence of OXA-51-type class D beta-lactamases among ceftazidime-resistant clinical isolates of *Acinetobacter* spp.: co-existence with OXA-58 in multiple centres, *J Antimicrob Chemother* 58(3), 537-42.

Valdez JM, Asperilla MO, Smego RA. 1991. *Acinetobacter* peritonitis inpatients receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis. *South Med J*;84:607-610.

Vila J, Ruiz J, Goñi 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.

Walther-Rasmussen, Hoiby N. 2006. OXA-type carbapenemases, J Antimicrob Chemother 57(3), 373-83.

Wang H., Guo P., Sun H., Wang H., Yang Q., Chen M., Xu Y., Zhu Y. 2007. Molecular Epidemiology of Clinical Isolates of Carbapenem Resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese Hospitals. Antimicrob Agents Chemother.;51(11), 4022-4028.

Weaver R, Actis LA. 1994. Identification of *Acinetobacter* species. J Clin Microbiol, 32 (7), 1833-1838.

Williams JD. 1997. Beta-lactamase inhibition and in vitro activity of sulbactam and sulbactam/cefaperazone. Clin Infect Dis, 24,494-7.

Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, Amyes SG, Livermore DM. 2006. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp., Int J Antimicrob Agents 27(4), 351-3.

Yavuz MT, Şahin İ, Behçet M, Öztürk E, Kaya D. 2006. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. Ankem Dergisi, 20(2), 107-110.

Yıldırım İH. 2006. Sefaperazon-Sulbaktam, İmipenem ve Sefepimin Antibiyoterapi Etkinliklerinin Çoğul Dirençli ve Duyarlı *Acinetobacter baumannii* ile Oluşturulan Deneysel İkili Apse Modelinde Karşılaştırılması.Edirne Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD, Uzmanlık Tezi

Zarrili R, Giannouli M, Tomasone F, Triassi M, Tsakris A. 2009. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* : the molecular epidemic features of an emerging problem in health care 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.

