

TC
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**ÇOĞUL İLAÇ DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII*
İZOLATLARININ PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS İLE
KLONAL İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Mehmet Reşat CEYLAN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mustafa Kasım KARAHOCAGİL

VAN-2014

TC
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

ÇOĞUL İLAÇ DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANII*
İZOLATLARININ *PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS* İLE
KLONAL İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Mehmet Reşat CEYLAN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mustafa Kasım KARAHOCAGİL

VAN-2014

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından
2012-TF-U037 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Yüzüncü Yıl Üniversitesi İlaç Dışı Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'nın
09.05.2013 tarih 08 no'lu etik kurul kararı ile çalışmaya başlanmıştır.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------|------|
| ÖNSÖZ..... | I |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | II |
| TABLOLAR DİZİNİ | III |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | IV |
| RESİMLER DİZİNİ | V |
| ÖZET | VI |
| SUMMARY | VIII |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 4 |
| 2.1 <i>Acinetobacter</i> Cinsinin Genel Özellikleri | 4 |
| 2.2 MDR <i>Acinetobacter baumannii</i> | 5 |
| 2.2.1 MDR tanımı ve epidemiyolojisi | 5 |
| 2.2.2 Türkiye’de MDR <i>A.baumannii</i> | 8 |
| 2.2.3 Avrupada MDR <i>A. baumannii</i> | 9 |
| 2.3 <i>Acinetobacter</i> Kökenlerinin Virülans Faktörleri | 10 |
| 2.4 <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarının Gelişimi İçin Risk Faktörleri | 12 |
| 2.5 <i>Acinetobacter</i> Nedenli Enfeksiyonlar | 14 |
| 2.5.1 Toplum kökenli pnömoni | 14 |
| 2.5.2 Hastane kökenli pnömoni | 15 |
| 2.5.3 Bakteriyemi | 16 |
| 2.5.4 Üriner sistem enfeksiyonları | 16 |
| 2.5.5 Yumuşak doku enfeksiyonları | 17 |
| 2.5.6 Diğer enfeksiyonlar..... | 18 |
| 2.6 <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarında Tedavi | 18 |
| 2.6.1 Sulbaktam | 19 |
| 2.6.2 Karbapenemler | 19 |
| 2.6.3 Polimiksinler | 20 |
| 2.6.3.1 Polimiksin B | 21 |
| 2.6.3.2 Polimiksin E (Kolistin) | 21 |
| 2.6.4 Tigesiklin | 22 |
| 2.6.5 Aminoglikozitler | 23 |
| 2.6.6 Rifampisin | 24 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.6.7 Kombinasyon tedavileri | 24 |
| 2.7 Antibiyotik Direnç Mekanizmaları | 25 |
| 2.7.1 β -laktam antibiyotiklere direnç mekanizmaları | 26 |
| 2.7.2 Polimiksinlere direnç mekanizmaları | 28 |
| 2.7.3 Tetrasiklin ve glisilsiklinlere direnç mekanizmaları | 29 |
| 2.7.4 Aminoglikozidlere direnç mekanizmaları | 29 |
| 2.7.5 Rifampisinlere direnç mekanizmaları | 30 |
| 2.8 <i>Acinetobacter</i> 'lerin Tiplendirilmesinde Kullanılan Yöntemler..... | 30 |
| 2.8.1 Fenotipik yöntemler | 32 |
| 2.8.2 Moleküler yöntemler | 34 |
| 2.8.2.1 Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) | 35 |
| 2.8.3 Moleküler Tiplendirmede Kullanılan Diğer Yöntemler | 41 |
| 2.8.3.1 PCR temelli tiplendirme yöntemleri | 41 |
| 2.8.3.2 Dizi analizine dayalı tiplendirme yöntemleri | 43 |
| 3.GEREÇ VE YÖNTEM | 45 |
| 3.1 Hastalar ve <i>A.baumannii</i> İzolatları | 45 |
| 3.2 Epidemiyolojik İlişki Ve Risk Faktörlerine Ait Bilgilerin Toplanması | 46 |
| 3.3 Bakterilerin Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri..... | 46 |
| 3.3.1 Disk difüzyon yöntemi | 47 |
| 3.3.2 E-Test yöntemi | 48 |
| 3.4. Suşlar Arasındaki Klonal İlişkinin Araştırılması | 49 |
| 3.4.1 <i>Acinetobacter baumannii</i> 'nin PFGE Uygulaması | 50 |
| 3.4.2 İzolatların hazırlanması | 50 |
| 3.4.3 İzolatların agaroz gömülmesi | 51 |
| 3.4.4 Agaroz içindeki hücrelerin parçalanması | 52 |
| 3.4.5. Hücre lizisinden sonra agaroz kalıplarının yıkanması | 52 |
| 3.4.6 Agaroz kalıpları içindeki DNA'nın RE ile kesilmesi | 52 |
| 3.4.7 Elektroforez jelinin hazırlanması ve kalıpların jele yüklenmesi | 53 |
| 3.4.8. Elektroforez | 54 |
| 3.4.9. Sonuçların gözlenmesi ve analizi | 54 |
| 3.5 İstatistiksel Analizler | 55 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4. BULGULAR | 56 |
| 4.1. Epidemiyolojik İlişki ve Risk Faktörlerine Ait Bilgiler | 56 |
| 4.2. Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları | 58 |
| 4.3. Moleküler Tiplendirme | 59 |
| 4.4. Küme İçinde Yer Alan Suşların Epidemiyolojik İlişkileri | 59 |
| 5. TARTIŞMA | 68 |
| 6. SONUÇ ve ÖNERİLER | 87 |
| 7. KAYNAKLAR | 89 |
| 8. ÖZGEÇMİŞ | 108 |

ÖNSÖZ

Çok değerli anne ve babama,

Uzmanlık eğitimim süresince, hoşgörü ortamı içerisinde, desteği ve yardımları ile her zaman arkamda olduğumu hissettiğim, mesleki eğitim ve hayata dair kendilerinin pek çok değerli bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim, tezimin her aşamasında bilgi ve deneyimleri ile her zaman yol gösteren, beraber çalışmaktan onur duyduğum, saygıdeğer hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Mustafa Kasım KARAHOCAGİL'e

Eğitimim boyunca bilgisini, desteğini ve anlayışını esirgemeyen değerli hocalarım, Prof. Dr. Hayrettin AKDENİZ, Yrd. Doç. Dr. Mahmut SÜNNETÇİOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Ali İrfan BARAN'a

Tezimin moleküler aşamasında, yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Rıza Durmaz ve Vet. Hek. Alper KARAGÖZ'e, biyoistatistik çalışmalarında katkılarından dolayı Prof. Dr. Sıddık KESKİN'e

Sonsuz, şükran ve saygılarımı arz ederim.

Eğitimim boyunca huzurlu bir çalışma ortamı içinde, birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım, birçok güzelliği paylaştığım, dostluklarıyla hayatıma renk katan tüm asistan arkadaşlarıma, kliniğimizin tüm yardımcı sağlık personeline,

Yoğun çalışma sürecinde her türlü yardım ve desteğini büyük bir sabırla benden esirgemeyen hayat arkadaşım, eşim Naile'ye ve kızım Betül ile oğlum Muhammed Naim'e

teşekkür ederim.

Dr. Mehmet Reşat CEYLAN

Van-2014

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- APACHE** : “Acute Physiology Assessment and Chronic Health Evaluation” Akut Fiziyojik ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi
- ARDS** : Akut Respiratuar Distres Sendromu
- MDR** : “Multi Drug Resistant” Çoklu İlaç Direnci
- YBÜ** : Yoğun Bakım Ünitesi
- HE** : Hastane Enfeksiyonu
- CLSI** : “Clinical and Laboratory Standards Institute” Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
- MHA** : Mueller-Hinton Agar
- FDA** : Food and Drug Administration
- PBP** : Penisilin Bağlayan Proteinler
- MİK** : Minimal İnhibitör Konsantrasyon
- BOS** : Beyin Omurilik Sıvısı
- SVK** : Santral Venöz Kateter
- KOAH** : Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
- PCR** : Polimeraz Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
- SVK** : Santral Venöz Kateter

TABLULAR DİZİNİ

| | | |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1 | : <i>Acinetobacter</i> enfeksiyonları için tanımlanmış risk faktörleri | 13 |
| Tablo 2 | : Epidemiyolojik tiplendirme amacıyla kullanılan yöntemler | 31 |
| Tablo 3 | : Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) tipleri | 36 |
| Tablo 4 | : Disk difüzyon yöntemiyle <i>A.baumannii</i> 'de kullanılan diskler ve zon çapları | 48 |
| Tablo 5 | : Hastaların yaş grubuna göre dağılımı..... | 56 |
| Tablo 6 | : Yıllara ve YBÜ'lere göre izolat sayıları ve oranları..... | 56 |
| Tablo 7 | : Çalışmaya dahil edilen hastaların genel özellikleri..... | 57 |
| Tablo 8 | : <i>A. baumannii</i> izolatlarının antibiyotiklere karşı direnç durumu..... | 58 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | | |
|---------|-------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1 | : CHEF çalışma şeması..... | 37 |
| Şekil 2 | : <i>A. baumannii</i> izolatlarının PFGE dendogram görüntüsü..... | 67 |

RESİMLER DİZİNİ

| | | |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Resim 1 | : PFGE, CHEF DR II Sistemi..... | 37 |
| Resim 2 | : Elektroforez tankı görüntüsü..... | 37 |
| Resim 3 | <i>A. baumannii</i> 'nin imipenem, kolistin ve tigesikline duyarlılığının E-test yöntemiyle gösterilmesi..... | 49 |
| Resim 4 | : PFGE 1.grup; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 No'lu suşlara ait PFGE görüntüleri..... | 64 |
| Resim 5 | : PFGE 2.grup; 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, No'lu suşlara ait PFGE görüntüleri..... | 64 |
| Resim 6 | : PFGE 3.grup; 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37 No'lu suşlara ait PFGE görüntüleri..... | 65 |
| Resim 7 | : PFGE 4.grup; 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47 No'lu suşlara ait PFGE görüntüleri..... | 65 |
| Resim 8 | : PFGE 5.grup; 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, No'lu suşlara ait PFGE görüntüleri..... | 66 |
| Resim 9 | : PFGE 6.grup; 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 No'lu suşlara ait PFGE görüntüleri..... | 66 |

ÖZET

ÇOĞUL İLAÇ DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII* İZOLATLARININ PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS İLE KLONAL İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Giriş ve Amaç: Bu çalışma ile, yoğunbakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen *A. baumannii* suşlarının antibiyotiklere direnç oranının saptanması ve hastane enfeksiyonu etkeni çoklu ilaç direncine sahip izolatların klonal ilişkisinin, pulsed-field jel elektroforez (PFGE) yöntemi kullanılarak gösterilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi; Anesteziyoloji ve Reanimasyon Yoğunbakım Ünitesi (AYBÜ), Göğüs Hastalıkları Yoğunbakım Ünitesi ve Pediatri Yoğun Bakım Ünitesi' nde Ocak 2010-Ekim 2011 tarihleri ve AYBÜ'de Temmuz-Kasım 2012 tarihleri arasında takip edilen, *A. baumannii* ile oluşan, Ventilatör İlişkili Pnömoni (VİP) ve Primer Kan Dolaşımı Enfeksiyonu (PKDE) tanısı alan 69 hasta ve aynı sayıda izolat çalışmaya alındı.

Bulgular: Hastaların 63 (%91) tanesi VİP, 6 (%9) tanesi ise PKDE tanısı almıştı. Tüm hastalara YBÜ yatışı boyunca en az iki invaziv girişim uygulanmıştı. Üriner kateterizasyon (%100), mekanik ventilasyon (%94,2) ve periferik venöz kateterizasyon (%91,3) en sık uygulanan invaziv girişimlerdi. Antibiyotik duyarlılıkları imipenem, kolistin ve tigesiklin için E-test, diğer antibiyotikler için disk difüzyonla çalışıldı. Tüm suşlar için en etkili antibiyotik kolistin (%98,6) idi. Daha sonra tigesiklin (%97,1) ve levofloksasin (%69,6) gelmekteydi. Suşların tamamı seftriakson, piperasilin/tazobaktam, sefotaksim, meropenem ve imipeneme dirençli bulundu.

A. baumannii izolatlarının *ApaI* ile kesilen genomik DNA'sına yapılan PFGE analizi ile, 69 *A. baumannii* suşunun 62 (%89,9)'sinin küme içinde olduğu saptandı. Bu suşlar 16 küme içinde yer almakta idi. Suşların 7 (%10,1)'si özgül PFGE profili gösterdi ve suşlar arasında 23 pulsotip saptandı.

Sonuç: Çoğul ilaç dirençli *A. baumannii* izolatlarının kümeleşme oranının yüksek bulunması ve benzer genotipteki izolatların farklı ünitelerdeki hastalardan izole edilmesi bu bakterinin hastanemiz YBÜ' lerinde endemik duruma geçtiğinin göstergesidir. Önlem alınmadığı takdirde *A. baumannii* uzun yıllar boyunca hastanelerde kalabilmekte ve hastalar arasında kolaylıkla bulaş olabilmektedir. Özellikle çapraz bulaşın önlenmesi için enfeksiyon kontrol programlarının gerekliliği ve önemi bir kez daha vurgulandı.

Anahtar kelimeler: *A. baumannii*, direnç, PFGE, klonal ilişki,

SUMMARY

THE INVESTIGATION OF CLONAL RELATIONSHIP AMONG MULTIPLE DRUG RESISTANT ACINETOBACTER BAUMANNII ISOLATES WITH *PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS*

Introduction and Aim: With this study, the detection of the resistance rates of *A. baumannii* strains isolated from the patients in the intensive care units to the antibiotics and the demonstration of the clonal relationship of the isolates with multi-drug resistant of the factor of nosocomial infection were aimed by using the method of pulsed-field gel electrophoresis (PFGE).

Material and Method: At the Medical Faculty Hospital of Yuzuncu Yıl University, 69 patients followed between January 2010-October 2011 at the Intensive Care Unit of Anesthesiology and Reanimation (ICUAR), Intensive Care Unit of Chest Diseases and Pediatric Intensive Care Unit and July-November 2012 at ICUAR and the same number of isolates formed with *A. baumannii*, Ventilator Associated Pneumonia (VAP) and diagnosis of Primary Bloodstream Infection (PBI) were enrolled to the study.

Findings: 63 (91%) of the patients were diagnosed with VAP and 6 (9%) of them with PBI. At least two invasive interference had been performed to the all patients during the staying at the ICU. Urinary catheterization (100%), mechanical ventilation (94.2%) and peripheral venous catheterization (91.3%) were the most frequently performed invasive interferences. Antibiotic susceptibilities to imipenem, colistin and tigecycline were studied with the E-test and to the other antibiotics with the disk diffusion. Colistin was the most effective antibiotic for all of the strains (98.6%). Then, tigecycline (97.1%) and

levofloxacin (69.6%) were in the second place. All of the strains were resistant to ceftriaxone, piperacillin/tazobactam, cefotaxime, meropenem and imipenem.

With the PFGE analysis of *A. baumannii* isolates performed to the genomic DNA cut with *ApaI*, it was found that 62 of the 69 *A. baumannii* strains (89.9%) were within the cluster. These strains were located within 16 clusters. 7 of the strains (10.1%) showed the profiles of specific PFGE and 23 pulsotip were detected among the strains.

Result: Being high of clustering rate of multidrug-resistant *A. baumannii* isolates and isolating the isolates in similar genotypes from the patients in different units is the indicator of these bacteria to be endemic situation in the ICUs of our hospital. If precautions are not taken, *A. baumannii* has been able to remain in the hospitals for many years and can be easily transmitted among the patients. Especially for the prevention of cross-contamination, the necessity and importance of infection control programs have once again emphasized.

Key Words: *A. Baumannii*, resistance, PFGE, clonal relationship

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Acinetobacter cinsi bakteriler zorunlu aerop, hareketsiz, non-fermentatif, Gram-negatif çomaklardır (1). *Acinetobacter* türleri doğada toprak, bitkiler, su ve yiyeceklerde saprofit olarak serbest yaşayabilmektedirler (2, 3). Hastane ortamında uzun süre canlı kalması, farklı ısı ve pH derecelerinde yaşayabilmesi, kuru ortamlara dayanıklı olması ve hastadan hastaya kolaylıkla bulaşabilmesi nedeniyle son yıllarda *A. baumannii* YBÜ'de giderek artan oranda HE'ye neden olmaktadır. Aynı zamanda antimikrobiyallere karşı kolaylıkla direnç geliştirebilmesi nedeniyle kontrolü zor epidemilere yol açabilmektedir (4). Hastaneye yatan hastalarda solunum yolları kolonizasyon ve enfeksiyon açısından en önemli yerleşim yeridir (2, 4). Ayrıca deri ve gastrointestinal sistem kolonizasyonunda önemli oranda tespit edilmiştir (5, 6). Hastanelerin mobilya ve ekipmanları gibi çevresel ortamlarda ikincil rezervuar yerleridir (4, 7).

A. baumannii' nin antibiyotik direnci yıllar içinde tüm dünyada artış göstermektedir. Avrupa da karbapenem direnci % 50-85 oranlarında iken, ülkemizde bazı merkezlerde bu oran %90'ların üzerine çıkmıştır (8-14). *A.baumannii* özellikle girişimsel tanı ve tedavi araçlarının yoğun bir şekilde kullanıldığı YBÜ'de yatan hastalarda, sorunlu enfeksiyonlara yol açmaya devam eden fırsatçı bir patojendir. Son üç dekatta pnömoni, idrar yolu enfeksiyonu ve cerrahi alan enfeksiyonlarında görülme sıklığı artan tek Gram-negatif bakterinin *A. baumannii* olduğu tespit edilmiştir (15).

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2009-2010 yılları arasında hastane enfeksiyonu oranı % 3,5 olarak bulunmuş ve hastane enfeksiyonlarına yol açan mikroorganizma dağılımında *A. baumannii*' nin ilk sırada olduğu tespit edilmiştir (16).

Bugün ülkemizde birçok merkezde *A. baumannii* ile oluşan hastane enfeksiyonları ilk sırada yerini korumakta ve giderek daha fazla oranlarda tespit edilmektedir (17-22). En sık alt solunum yolu enfeksiyonlarına neden olurlar. Birçok çalışmada ventilatörle ilişkili pnömoni ve kateterle ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarının en sık nedeni oldukları gösterilmiştir (16-18). Travma, mekanik ventilasyon, trakeotomi, invaziv girişimler, çoklu antibiyotiklere maruz kalma ve dirençli mikroorganizmalarla kolonizasyon gibi nedenler hastane kökenli *A. baumannii* enfeksiyonların artmasındaki başlıca risk faktörleridir (23).

Acinetobacter türlerinin, özellikle çoğul ilaç dirençli olanlarında tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması, kolonizasyonun genelde enfeksiyona öncülük etmesi, sıklıkla önlenmesi zor salgınlara neden olması ve yüksek mortaliteden dolayı *Acinetobacter* enfeksiyon/kolonizasyonu için risk faktörlerinin belirlenmesi ve bu risk faktörlerine yönelik önlem alınması büyük önem taşımaktadır.

Geçmişte farklı kaynaklardan izole edilen nozokomiyal patojenlerin arasındaki epidemiyolojik ilişkilerin belirlenmesi, fenotipik karakteristiklerinin karşılaştırılmasına dayandırılıyordu. Bu yaklaşım moleküler analiz uygulamalarındaki gelişmeler ışığında son üç dekatta hızlı bir şekilde değişim göstermeye başladı (24-27). Özellikle dirençli suşların moleküler epidemiyolojik metodlarla klonal düzeyde sürveyansı, yeni ve daha etkin kontrol tedbirlerinin geliştirilmesine ışık tutacak, mevcut kontrol tedbirlerinin de gözden geçirilerek revize edilmesine sebep olacaktır.

Günümüzde kullanılan birçok moleküler yöntemin yanında, *A. baumannii*'nin genotiplemesinde Pulsed-Field Jel Elektroforez (PFGE) tekrarlanabilirliği ve yüksek ayırım gücü gibi özellikleri nedeniyle altın standart yöntem olarak kabul görmüştür. Bu yöntemi uygulamada eğitilmiş personel gereksinimi, özel ekipman ihtiyacı, uzun ve meşakkatli süren

işlemlere sahip olması ve sonuçların değerlendirilmesinde standardizasyonların henüz sağlanmamış olması yöntemin dezavantajlarındandır.

Bu çalışma ile, hastanemiz yoğunbakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen *A. baumannii* suşlarının antibiyotiklere direnç oranının saptanması, yıllar içinde gelişen direnç artışlarının izlenmesi, çoğul ilaç dirençli olan suşların PFGE ile genotiplemesinin yapılarak suşlar arasında klonal ilişkinin olup olmadığının belirlenmesi, bu sonuçlar ile hastaların epidemiyolojik ve klinik verileri değerlendirilerek *A.baumannii* ile oluşan hastane kökenli enfeksiyonlar için risk faktörlerinin belirlenmesi, mortalitesi ve maliyeti yüksek olan bu enfeksiyonun özelliklerinin incelenmesi ve önlenmesi için değerlendirme yapılması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. *Acinetobacter* Cinsinin Genel Özellikleri

Acinetobacter cinsi bakteriler zorunlu aerop, hareketsiz, non-fermentatif, oksidaz negatif, katalaz pozitif, daha çok kokkoid formda, Gram-negatif çomaklardır. *Neisseria*, *Pseudomonas* ve *Moraxella* gibi diğer Gram-negatif organizmalardan oksidaz negatif olması ile ayırt edilebilir. Boyanma özelliğinden dolayı Gram-negatif veya Gram-pozitif kok olarak görülebilir. *Acinetobacter* türlerinin özellikle pozitif kan kültür şişelerinden hazırlanan direkt yaymalarda gram pozitif kok görünümünde olabileceği ve bu konuda klinik mikrobiyologların dikkatli olması gerektiği vurgulanmaktadır (1, 28). Morfolojik özellikleri mikroorganizmanın üreme fazına göre değişkenlik göstermektedir. Seçici olmayan agarda sabit üreme fazında kokobasil formu baskın iken, sıvı besiyerinde erken üreme döneminde veya hücre duvarında aktif antimikrobiyal ajanları içeren plaklarda sıklıkla basil formunda izlenir (28). Normal laboratuvar ortamında 20°- 30°C’ de ürer. Kanlı agarda 37°C’ de inkübasyonun 24. saatinden sonra koloniler 0,5–2 mm çapında, yarı saydam-opak, dışbükey ve bütün olarak görünmektedir. Çoğu suş MacConkey agarda iyi ürer ve zayıf bir pembe renk tonu oluşturur. Bazı glukozu oksitleyen *Acinetobacter* türleri ise glukoz eklenmiş tirozinli kalp infuzyon agar ya da kanlı agarın rengini esmerleştirebilir (29).

Taksonomik çalışmalar sonucu *Acinetobacter* cinsi günümüzde *Moraxellaceae* ailesi içinde yer almaktadır (7). DNA benzerlikleri temel alınarak yapılan çalışmalarda, en son 31 genomik tür tanımlanmıştır. Bugün tanımlanan tüm türlere özel isimler verilmiştir. Bu türler: *A. baumannii*, *A. baylyi*, *A. beijerinckii*, *A. bereziniae*, *A. boissieri*, *A. bouvetii*, *A. brisouii*, *A. calcoaceticus*, *A. gernerii*, *A. guillouiae*, *A. grimontii*, *A. gyllenbergii*, *A.*

haemolyticus, *A. indicus*, *A. johnsonii*, *A. junii*, *A. lwoffii*, *A. nectaris*, *A. nosocomialis*, *A. parvus*, *A. pittii*, *A. puyangensis*, *A. radioresistens*, *A. rudis*, *A. schindleri*, *A. soli*, *A. tandooi*, *A. tjernbergia*, *A. townneri*, *A. ursingii* ve *A. venetianus* 'tur (30).

Acinetobacter türleri yaygın olarak toprak ve su örneklerinde bulunurlar. Hastane enfeksiyonlarında önemli bir kaynağını oluşturan *A. baumannii* ve *A.nosocomialis*'in doğal ortamları şuan için tam olarak bilinmemektedir (1, 31). Bununla birlikte çoğu hastane kaynaklı *Acinetobacter* enfeksiyonları *A. baumannii* ile ilişkili olmasına rağmen diğer türlerde insan hastalıkları ile ilişkili bulunmuştur (32). Örneğin, *A. ursungii* hastane kaynaklı kan dolaşımı enfeksiyonları ile ilişkili bulunmuştur (33, 34). HIV pozitif bir hastadan toplum kaynaklı *A. radioresistens* bakteriyemisi bildirilmiştir (35). Ayrıca bu hastalıklara ek olarak üç aylık bir infantta shiga-toksin üreten *A. haemolyticus*' un yol açtığı bir kanlı ishal vakası rapor edilmiştir (36).

2.2. MDR *Acinetobacter baumannii*

2.2.1. MDR Tanımı ve Epidemiyolojisi

MDR *A.baumannii* tanımlaması için birçok görüş ileri sürülmüştür. En çok kabul gören tanıma göre bakteri, aşağıdaki beş gruptan ikisinden fazlasına dirençli ise "çok ilaca dirençli (multi-drug resistant, MDR)" *A. baumannii* olarak tanımlanır: antipsödomonal sefalosporinler (seftazidim veya sefepim), antipsödomonal karbapenemler (imipenem veya meropenem), ampisilin-sulbaktam, florokinolonlar (siprofloksasin veya levofloksasin) ve aminoglikozidler (gentamisin, tobramisin veya amikasin). "Extrem-resistan (XDR)" terimi; kolistin ve tigesiklin hariç tüm antibiyotiklere dirençli patojenler, Pandrug-rezistan (PDR) tanımı ise; genelde *A.baumannii* için terapötik potansiyeli olan ilk

sıra ilaçların hepsine karşı direnç varlığında geçerlidir. Bunlar arasında tüm beta-laktamlar, florokinolonlar ve aminoglikozidler bulunmaktadır (1). Diğer bir görüş ise pan-rezistans tanımının kolistin ve tigesiklin dahil tüm antibiyotiklere dirençli patojenler için kullanılmasını önermişlerdir (37).

Acinetobacter türleri, canlı kalabilmek için gereksinimlerinin oldukça az olması ve çeşitli karbon kaynaklarını kullanabilmeleri nedeniyle doğada toprak, bitkiler, su ve yiyeceklerde saprofit olarak serbest yaşayabilmektedirler (2, 3, 38). Yapılan bir çalışmada, taze meyve ve sebzelerde %17 oranında *Acinetobacter* türlerine rastlanmış ve *A. baumannii*'nin en sık izole edilen türlerden biri olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada hastane yiyeceklerinin *Acinetobacter* türlerinin kazanılmasında bir kaynak olabileceği ileri sürülmüştür (39).

Hastane ortamında uzun süre canlı kalması, kuru ortamlara dayanıklı olması ve hastadan hastaya kolaylıkla bulaşabilmesi nedeniyle son yıllarda *A. baumannii* YBÜ'de giderek artan oranda HE'ye neden olmaktadır (4). Kuru ortamda 21-30 gün canlı kalabilmektedir. Farklı ısı ve pH derecelerinde yaşayabilmesi de dayanıklı olmasının diğer nedenlerini oluşturmaktadır (40).

İnsanda *Acinetobacter* türlerinin varlığı her zaman enfeksiyonu göstermemektedir. *Acinetobacter* türleri, normal deri florasında bulunabilmektedir. *Acinetobacter*, insan örneklerinden ikinci en sık izole edilen non-fermentatif grup bakteridir. Özellikle aksilla, inguinal bölge ve parmak araları gibi nemli bölgeler başta olmak üzere derinin normal florasında yer alabilmekte ve sağlıklı bireylerin yaklaşık % 25'inin derilerinde *Acinetobacter* türlerini taşıdığı düşünülmektedir (7).

Hastaneye yatırılan hastalarda solunum yolları hem kolonizasyon hem de enfeksiyon açısından en önemli yerleşim yeridir (2, 41). Burun, nazofarinks ve trakeotomi bölgesinde de kolonizasyona rastlanmaktadır. Hastaneye yatışı olmayan bireylerde ise bu durumun son derece nadir olduğu görülmektedir. Yoğun bakım ünitesinde yatış sırasında hastalarda *Acinetobacter* kolonizasyonu artmaktadır. Özellikle salgın dönemlerinde taşıyıcılık hızı yüksek olup %7-18 boğaz taşıyıcılığı görülmektedir. Trakeostomi sürüntülerinde bu oran %45'e kadar çıkmaktadır (7, 41, 42). Sağlıklı gönüllüler ve yatan hastalar üzerinde karşılaştırmalı yapılan bir çalışmada hastalarda *Acinetobacter* türleri ile kolonizasyon oranı %75 iken kontrol grubunda bu oran %42.5 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada en sık kolonizasyon bölgesi eller (%26), kasık bölgesi (%25), ayak parmak arası (%24), alın (%23) ve dış kulak yolu (%21) olarak tespit edilmiştir (5). Ayrıca yoğun bakım hastalarında gastrointestinal sistem kolonizasyonunun %41 olabildiği saptanmıştır (6).

Hastane mobilya ve ekipmanları gibi çevresel ortamlarda *Acinetobacter* türleri için ikincil rezervuar olabilir. Salgınlarda birçok ekipmanın kontaminasyonu tespit edilmiştir. Bu ekipmanlar; infüzyon pompaları, bandajlar, tansiyon aletleri, vakum ekipmanları, duş başlık ve muslukları, resüsitasyon ekipmanları, masa, ventilatör, sandalye, yastık, minder, nemlendirici, yeterli sterilize edilmemiş arteriyel kateter ve transduser, distile su ve idrar torbası olarak sayılabilir (4, 7).

Hastane kaynaklı *Acinetobacter* infeksiyonları tüm sistemleri tutabilmektedir. Ancak özellikle solunum sistemi, cilt ve yaralarda yaygın görülmektedir. Cilt ve solunum yollarından izole edilenlerin büyük kısmı enfeksiyon değil kolonizasyon olarak değerlendirilmektedir (6, 7, 43). Özellikle mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda izlenen salgınlar solunum yollarında yüksek bir taşıyıcılık hızı ile birlikte görülmektedir.

Hastane personelinde el deri florasında taşıyıcılık oranı %3-23 olarak saptanmıştır. Deri taşıyıcılığı oranlarının yüksek olması hasta bakımı sırasında sağlık personelinin kontamine olmasına ve etkenin sürekli yayılmasına neden olmaktadır (44). *Acinetobacter*' lerin izolasyon oranları son yıllarda artmaktadır. Gelecekte hastane enfeksiyonu salgınlarında önemli yer tutacağı bildirilmektedir (7, 43).

Ayrıca *Acinetobacter* türleri; eşlik eden hastalığı olan, yoğun alkol ve sigara içicilerinde özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde, nadir olarak toplum kökenli enfeksiyonlara yol açabilmektedir (45).

2.2.2. Türkiye'de MDR *A.baumannii*

Giderek artan direnç gelişimi, tedavide kullanılacak yeni ajanların henüz olmayışı ve sık HE' ye neden olmasından dolayı Türkiye'de de *A.baumannii* dikkatleri üzerine çekmiş ve bu konuda daha fazla çalışma yapılmaya başlanmıştır.

Uluslararası bağlantılı ve çok merkezli bir çalışma olan MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) ile Türkiye'deki *A.baumannii* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç durumları araştırılmıştır. Bu çalışmanın 1997-2000 yılları arasındaki verilere göre, birçok ülkede meropenem direnci %10'un altında iken, İngiltere ve İtalya'da %30 civarı bulunmuş. Türkiye ise %35 ile en fazla direncin görüldüğü ülkelerden birisi olmuştur (46). Aynı çalışmanın 2000-2003 arası yapılan Türkiye ayağında ise imipenem direnci %48, meropenem direnci ise %42 olarak tespit edilmiştir. Ülkemizde direnç artışının yüksek olmasının nedeni; enfeksiyon kontrol önlemlerinin yeterince uygulanamaması ve buna bağlı dirençli suşların yayılımı olabileceği belirtilmiştir (47). Özer ve ark. (8) 2003-2004 yılları arasında HE etkeni olarak elde edilen

36 *A. baumannii* kökeninin 33' ünü (%92) MDR olarak tespit etmişler. *Acinetobacter* türlerine en etkili antibiyotiklerin sefaperazon/sulbaktam ve ampisilin/sulbaktam olduğunu ve bu antibiyotikler için de duyarlılık yüzdesinin çok düşük olduğunu belirtmişler. Evren ve ark. (9) 2011-2012 yılları arasında HE etkeni olan ve çeşitli klinik örneklerden izole edilen 50 çoklu ilaca dirençli *A.baumannii* suşu üzerinde yaptıkları çalışmada imipenem direncini %92, meropenem direncini %96 olarak saptamışlar. Çalışmada bu oranın dünya verileriyle uyumlu olmakla birlikte Türkiye verilerine göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Ülkemizde yıllar içinde *Acinetobacter* suşlarında direnç gelişiminin arttığı gözlenmiştir. 2000'li yılların başında imipenem direnci ortalama %20-30 civarında iken, 2010'lu yıllara gelindiğinde direnç oranları bazı merkezlerde imipenemde %90'lara kadar çıkmıştır. Sağlık Bakanlığı 2011 yılı Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı (UHESA) raporunda *A. baumannii* suşlarında karbapenem direncinin Türkiye genelinde ortalama değeri %83.7 olarak bildirmiştir (10).

2.2.3 Avrupada MDR *A. baumannii*

A.baumannii'nin çoğul ilaç direnci Avrupa'nın birçok bölgesinde Türkiye'den farklıdır. Avrupa'da 1980'li yıllardan sonra hastanelerde *A. baumannii* salgınları görülmeye başlanmış ve son yıllarda MDR suşları artış göstermiş. Yayılım aynı şehirdeki bir hastaneden diğerine yayılma şeklinde olabildiği gibi, bir ülkeden diğerine şeklinde de olabilmektedir. Kolonize hastaların yardımıyla dirençli suşların bir ülkeden diğerine taşınması da görülen bir durumdur (11). Avrupa klon I, II ve III diye isimlendirilen, üç uluslar arası *A.baumannii* klonu, Avrupa çapında birçok ülkede rapor edilmiş ve salgınlara neden olmuştur. Klon I İspanya, Polonya ve İtalya'da; klon II İspanya, Fransa, Portekiz,

Yunanistan ve Türkiye’de; klon III ise İtalya, Fransa, İspanya ve Hollanda’da görülmüştür (12).

İspanya’da 6 yıllık bir periyotta (1991-1996) 1532 klinik izolatla yapılan bir çalışmada direnç oranlarında siprofloksasin için % 54.4’den % 90.4’e, amikasin için % 21’den % 83.7’ye, imipenem için % 1.3’den % 80’e, ampisilin/sulbaktam için % 65.7’den % 84.1’e varan artışlar bildirilmiştir (13). Yine aynı ülkeden Corbella ve ark.(14) 1991 yılında kandan izole ettikleri *A.baumannii* suşlarının % 100’ünü imipeneme duyarlı bulmuşken bu oranın 2000 yılında ise % 50’ye düştüğünü göstermişlerdir. Yunanistan direnç oranlarının yüksek olduğu ülkelerden biridir. Avrupa sörveyans raporuna göre 2007 yılında bu ülkede yoğun bakımlarda imipenem direnç oranları %85 civarındadır. Yine aynı rapora göre Bulgaristan’da karbapenem direnci %75 iken, İngiltere’de bu oran %55 civarında bulunmuştur. Direnç oranları İskandinavya ülkelerinde en düşük oranda iken, Doğu Avrupa ülkeleri ve Türkiye’de en yüksek oranlarda rapor edilmiştir (12).

Karbapenem direncinden dolayı alternatif tedaviler olan kolistin ve tigesiklin kullanımının artmasından dolayı Avrupa’da da dirençli olgular bildirilmeye başlanmıştır. Yunanistan, Slovakya, İngiltere ve Almanya’dan dirençli olgular rapor edilmiştir. Almanya’da yapılan bir sörveyans çalışmasında, kolistin direnç oranı %2,8 iken, tigesiklin direnç oranı %6 olarak bulunmuştur (12).

2.3 *Acinetobacter* Kökenlerinin Virülans Faktörleri

Acinetobacter kökenleri düşük virülanslı bakteriler olarak tanımlanmalarına rağmen bazı özellikleri virülanslarını arttırmaktadır (7).

1. L-ramnoz, D-glukoz, D-glukuronik asid ve D-mannoz içeren bir polisakkarit kapsülün varlığı (48).
2. Fimbria ve/veya polisakkarit kapsül varlığında bakterinin insan epitelyal hücrelerine adezyon özelliği (49).
3. Doku lipit hasarı yapabilen enzim üretimi (7).
4. Hücre duvarı lipopolisakkarit içeriğinin potansiyel toksik rolü (7).
5. Biyofilm oluşumu (50, 51).
6. Bağımsız demir kazanım sistemlerine sahip olması (52).

A.baumannii'nin polisakkarit yapıdaki kapsülü, bakteri yüzeyinin daha hidrofilik olmasını sağlar ve bakteriyi fagositozdan korur. İçerdiği fimbrialar sayesinde konakçı epiteline, intravenöz kateter ve trakeal kanül gibi materyallerin yüzeyine tutunmayı sağlayarak bakterinin virulansını artırır (7).

A.baumannii polistren ve cam gibi abiyotik yüzeylerde olduğu gibi epitel hücreler ve fungal filamentler gibi biyotik yüzeylerde de biyofilm oluşturur. Pilus ve Bap yüzey adezyon proteininin üretimi, abiyotik yüzeye ilk yapışmayı takiben biyofilm oluşumu ve olgunlaşmasında rol oynar (50). Bununla birlikte bazı klinik izolatların adezyonu ve biyofilm fenotipi, geniş spektrumlu antibiyotik direnci varlığı ile ilişkili gibi görünmektedir. MDR izolatların belirgin bir şekilde fazla biyofilm oluşturduğu ve bunun diğer membran proteinlerinin birikimi ile korele olduğu görülmüştür. MDR *A.baumannii* suşlarında oluşan biyofilm miktarı ile epitel hücreye yapışmasının doğru orantılı olduğu, PER-1 beta-laktamaz geni taşıyan *A.baumannii* izolatlarının biyofilm oluşturma ve epitel hücrelere yapışma kapasitesinin bu geni içermeyen izolatlara göre daha fazla olduğu belirtilmektedir (51).

A.baumannii 'nin bir diğeri virulans faktörü, demir kullanımınıdır. Bakteri, siderofor ve acinetobaktin gibi demir elde etmesini sağlayan molekülleri salgılar ve aynı zamanda bir hemin utilizasyon sistemini üretir. *A.baumannii* bakteriyemisi geçirdikten sonra iyileşen bireylerde, demir bağlayıcı proteinlere karşı bir immünolojik aktivite geliştiği gözlenmiştir (53).

2.4 *Acinetobacter* Enfeksiyonlarının Gelişimi İçin Risk Faktörleri

Acinetobacter, çoğunlukla yoğun bakım ünitelerinde enfeksiyonlara yol açan fırsatçı bir patojendir. Yoğun bakım ünitelerinde son yirmi yıl içinde invaziv tanı ve tedavi yöntemlerinin artması ile *Acinetobacter* enfeksiyonlarında görülen artış paralel seyretmektedir. Son on yıl içinde ise çoklu ilaç direnci olan *Acinetobacter* enfeksiyonlarında, özellikle antimikrobiyal ilaçların aşırı ve düzensiz kullanımına bağlı artış gözlenmektedir (54).

1990 yılında New York'ta ilk kez imipenem dirençli *A. baumannii* salgınının görülmesinden sonra risk faktörlerini belirlemek için birçok çalışma yapılmıştır. *Acinetobacter* enfeksiyonlarının oluşumu açısından birçok çalışmada farklı risk faktörleri gösterilmiştir. Gomez ve ark.(55) yaptıkları 6 yıllık prospektif bir çalışmada *A. baumannii* bakteriyemisi için risk faktörleri olarak; enfeksiyon öncesinde geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı (özellikle seftazidim ve imipenem), idrar sondasının bulunması, mekanik ventilasyon desteği ve geçirilmiş cerrahi tespit edilmiştir.

Katsaragakis ve ark.(56) cerrahi yoğun bakım ünitesinde yaptıkları çalışmada; enfeksiyon öncesi kullanılan antibiyotik sayısı ve aminoglikozid kullanımı, önceki ARDS varlığı, septik şok ve tekrar operasyon yapılmasını MDR *Acinetobacter* enfeksiyonu için

risk faktörleri olarak değerlendirmişler. YBÜ’de *Acinetobacter* kolonizasyonu olan hastalarda MDR *A. baumannii* ile bakteriyemi gelişiminde rol alan risk faktörlerinin incelendiği bir diğer çalışmada; santral venöz kateterizasyon ve mekanik ventilasyon ihtiyacının MDR *A. baumannii* enfeksiyonunun gelişimi için risk faktörü olduğu gösterilmiş (57).

Acinetobacter enfeksiyonları için tanımlanmış risk faktörleri tablo 1’de özetlenmektedir (55-63).

| Tablo 1: <i>Acinetobacter</i> enfeksiyonları için tanımlanmış risk faktörleri |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none">• Septik şok• İmmüsupresyon• Hastane kökenli pnömoni• Travma ve yanık yaraları• Prematürite, İleri yaş• Yüksek APACHE II skoru• Kan ürünü transfüzyonu• Kontamine parenteral solüsyonlar• İnvaziv işlemler: Santral kateterizasyon, enteral beslenme, mekanik ventilasyon, idrar sondası, trakeotomi• Altta yatan hastalıklar: Diyabet, böbrek yetmezliği, malignite• Hastanede veya yoğun bakımda uzamış yatış süresi• Cerrahi işlem uygulanması (özellikle reoperasyon yapılan hastalarda)• Kardiyovasküler ve solunum yetmezliği• Daha önce kullanılan antibiyotikler (karbapenemler, üçüncü kuşak sefalosporinler, aminoglikozidler, florokinolonlar)• Primer enfeksiyon için uygun olmayan tedavi yaklaşımı.• Personelin yüksek iş yükü• Kolonizasyon yoğunluğu (Serviste yatan <i>Acinetobacter</i> ile enfekte/kolonize hasta sayısının fazla olması) |

Garnacho-Montero ve ark.(58)'nin yaptıkları bir çalışmada reentübasyon sıklığının da önemli bir risk faktörü olduğu görülmüştür. YBÜ'de takip edilen hastaların orofaringeal sekresyonlarının *A. baumannii* ile kolonize olduğu, entübasyon sırasında sekresyonların aspirasyonu ile enfeksiyona zemin oluşturulduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışmada enfeksiyon öncesi imipenem kullanımının, imipenem dirençli *A. baumannii* pnömoni riskini dört kat arttırdığını tespit etmişlerdir.

2.5 Acinetobacter Nedenli Hastane Enfeksiyonları

Acinetobacter, özellikle girişimsel tanı ve tedavi araçlarının yoğun bir şekilde kullanıldığı ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin yetersiz olduğu YBÜ'de yatan hastalarda, sorunlu enfeksiyonlara yol açan fırsatçı bir patojendir. Son otuz yılda pnömoni, idrar yolu enfeksiyonu ve cerrahi alan enfeksiyonlarında görülme sıklığı artan tek Gram-negatif bakterinin *A. baumannii* olduğu gösterilmiştir (15). Karahocagil ve ark.(16) Ocak 2009-Mart 2010 tarihleri arasında, hastanemiz servislerinde takip ve tedavisi yapılan 3254 hastayı izleme almışlar ve bu hastaların 97'sinde toplam 112 hastane enfeksiyon atağı tespit etmişler ve hastane enfeksiyon oranını %3.5 olarak bildirmişlerdir. Hastane enfeksiyonlarına neden olan mikroorganizmalar arasında *A. baumannii* %23.2 oranı ile ilk sırada yer almakta iken, bunu %20.5 ile *Klebsiella spp*, %19.6 ile *E. coli*, %11.6 ile *Pseudomonas spp.*'nin takip ettiğini bildirmişlerdir. HE nedeni olan 26 *Acinetobacter* izolatının 7'sinde (%27) imipenem direnci tespit etmişler.

2.5.1. Toplum Kökenli Pnömoni

Acinetobacter enfeksiyonları sıklıkla hastane kaynaklı olmasına rağmen toplum kökenli alt solunum yolu enfeksiyonlarından da izole edilmiştir. Pnömoni, en sık gözlenen

toplum kökenli enfeksiyon tipidir. Sigara içenlerde, diyabetiklerde, yoğun alkol kullananlarda, KOAH ve kanser olan bireylerde daha sık gözlenmektedir (45). Tropikal ve gelişmekte olan ülkeler ile sıcak ve nemli aylarda daha çok tespit edilmektedir (59). Prospektif bir çalışmaya göre; *A.baumannii* enfeksiyonlarının % 90'ından fazlası hastane kökenli olup, sadece %4'ü toplum kökenli bulunmuştur (64).

2.5.2 Hastane Kökenli Pnömoni

Hastane kökenli pnömoni (HKP); genellikle hastaneye yatıştan 48 saat sonra gelişen ve yatış sırasında inkübasyon döneminde olmadığı bilinen pnömoni olguları ile hastaneden taburcu olduktan sonraki 48 saat içerisinde ortaya çıkan pnömoni olguları olarak tanımlanır (65). HKP içinde önemli yer tutan ventilatörle ilişkili pnömoni (VİP) ise; entübasyon sırasında pnömonisi olmayan, invazif mekanik ventilasyon desteğindeki hastada entübasyondan 48 saat sonra gelişen pnömonidir (66). Hastaneye yatıştan sonraki ilk beş günde meydana gelen pnömoni erken başlangıçlı, beş günden sonra meydana gelen pnömoni ise geç başlangıçlı pnömoni olarak isimlendirilmektedir. Toplum kaynaklı pnömoni etkenleri olan *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. aureus* ve enterik Gram-negatif basiller erken başlangıçlı pnömoninin başlıca etkenleriyken; *P. aeruginosa*, *A. baumannii* ve *S. maltophilia* geç başlangıçlı pnömoniyle ilişkilidirler (67).

Pnömoni, *Acinetobacter* kökenlerinin en sık neden olduğu hastane kaynaklı enfeksiyondur (68). *Acinetobacter* türlerinin hastane personelinin %15-33'nün ellerinde kolonize olduğu, bu kökenleri hastalara ve ekipmanlara aktardıkları gösterilmiştir (69). *Acinetobacter* kökenlerinin neden olduğu hastane kaynaklı pnömoni sıklıkla mekanik ventilasyonun bir komplikasyonu olarak ortaya çıkmaktadır. VİP, sıklıkla subglottik bölgede kolonize olan bakterilerin mikroaspirasyonlarla trakeobronşial ağaca ve alt

solunum yollarına ulaşmaları sonucu oluşmaktadır ve % 13-49'unda etken *A. baumannii*'dir (70). YBÜ'de yatma, ilerlemiş yaş, kronik akciğer hastalığı, cerrahi, immünoşüpresyon, antimikrobiyal ilaç kullanımı, trakeostomi ve endotrakeal entübasyon gibi risk faktörlerinin varlığı *Acinetobacter* kökenlerine bağlı pnömoni oluşma riskini arttırmaktadır (67). Ülkemizde yapılan çok merkezli bir çalışmada yoğun bakım ünitelerinde *A. baumannii*'nin ventilatörle ilişkili pnömonilerin %29.2' sinde görüldükleri ve en sık karşılaşılan etken haline geldikleri tespit edilmiştir (17). Dikmen ve ark.(18) çalışmasında da en sık VİP etkeni *A. baumannii* (%59.4) olarak saptanmıştır.

2.5.3 Bakteriyemi

Bakteriyemi, *Acinetobacter* enfeksiyonu sırasında sık görülen, mortalitesi yüksek bir durumdur. Yetişkin hastalarda *A. baumannii* en yaygın *Acinetobacter* türü olarak görülmektedir (61). İmmün sistemi baskılanmış hastalar bu yetişkin hastaların çoğunluğunu oluşturmakta iken, yenidoğanlar ise ikinci önemli grubu oluşturmaktadırlar. Septisemi için risk faktörleri; düşük doğum ağırlığı, öncesinde antibiyotik kullanımı, mekanik ventilasyon ve yenidoğan konvülsiyonlarının varlığı olarak tanımlanmıştır (7). En sık kaynak, solunum sistemi enfeksiyonları ve intravenöz kataterlerdir (69). Malignansiler, travma ve yanık en yaygın predispozan faktörler olarak görülmektedir (7). Yapılan çalışmalarda; nozokomiyal *Acinetobacter* enfeksiyonlarının %10'u bakteriyemiye bağlı bulunmuş ve mortalitenin %60'larda seyrettiği belirtilmiştir (69, 71).

2.5.4 Üriner Sistem Enfeksiyonları

Acinetobacter türleri çoğunlukla idrar yollarında enfeksiyon oluşturmaksızın kolonize olmalarına karşın nadiren invazyon yaparak enfeksiyon etkeni olarak da

karşımıza çıkabilmektedirler. Son yıllarda *Acinetobacter* kökenlerinin neden olduğu idrar yolu enfeksiyonlarının görülme sıklığında anlamlı bir artış görülmüştür (15). Üriner sistem enfeksiyonları; çoğunlukla yaşlı, yoğun bakım ünitesinde kalan, uzun süredir sondalı ve böbrek taşı olan erkek hastalarda görülmektedir. Avrupa'da 228 hastanenin katıldığı bir nokta prevalans çalışmasında, *Acinetobacter* cinsi bakterilerle gelişen üriner sistem enfeksiyonları %1,8 oranında bildirilmiştir (72). Türkiye'de yapılan çok merkezli bir çalışmada kateter ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarında *Acinetobacter* kökenlerinin görülme oranı %7,5 olarak rapor edilmiştir (17). Bununla birlikte üriner kateterli hastalardan *Acinetobacter* türleri izole edildiğinde enfeksiyon/kolonizasyon ayrımı yapılması gerekmektedir.

2.5.5 Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Acinetobacter türleri travmatik yara, yanık ve postoperatif insizyon yerinde kolonizasyon veya enfeksiyona da yol açabilirler (7). Irak ve Afganistan'da çarpışmalar sonucu ateşli silahlar ile yaralanan Amerikan Askeri Birlikleri'ne bağlı askerlerde, MDR *A. baumannii*'ye bağlı gelişen ciddi yara yeri enfeksiyonları ve osteomyelit bildirilmiştir. Burada sahra hastanesi çevresindeki toprakta *Acinetobacter* kolonizasyonunun kaynak olduğu düşünülmektedir (73). Ülkemizde 1999 yılında yaşanan Marmara bölgesindeki depremden sonra yumuşak doku enfeksiyonu (YDE) saptanan birçok hastada; enfeksiyona neden olan bakteriler arasında *A. baumannii*'nin en yüksek oranda saptandığı rapor edilmiştir (74). Ayrıca köpek ısırığından sonra gelişen *A. baumannii*'ye bağlı bir YDE rapor edilmiştir (2).

2.5.6 Diğer Enfeksiyonlar

Sporadik primer menenjit olguları rapor edilmesine rağmen *Acinetobacter* menenjitinin baskın formu sekonder menenjittir. Hastaların çoğunu yetişkin erkekler ve lomber müdahale geçirmiş (miyelografi, ventrikülografi ve diğer nöroşirürjik müdahaleler) hastalar oluşturmaktadır (7, 75). *Acinetobacter*'lere bağlı menenjitler nadir görülen ancak mortalitesi yüksek olan (%34–54) önemli enfeksiyonlardır. *A. lwoffii* diğer *Acinetobacter* türlerine göre menenjit ile daha sık ilişkilidir (69). Ventriküller ile dış çevre arasında devamlı bir ilişki bulunması, ventrikülostomi, serebrospinal sıvı fistüllerinin olması, beş günden uzun süre kalan ventriküler kateter varlığı önemli risk faktörleridir (7). *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu doğal kapak endokarditi genellikle akut, şiddetli bir hastalıktır ve klinik olarak diğer organizmaların neden olduğu enfektif endokarditlerden ayıramamaktadır. Çoğu prostetik kapak ile ilişkili, az sayıda endokardit vakası bildirilmiştir (76). Devamlı peritoneal diyaliz yapılan hastalarda peritonite neden olabilmektedir. Karın ağrısı hastalarda görülen yaygın bir tablodur ve çoğunlukla diyalizat sıvısı bulanıklaşır. Çoğunlukla diyalizi sonlandırmaya gerek kalmadan antibiyotik tedavisine cevap vermektedir (7, 77). Endoftalmit, konjunktivit, yumuşak kontak lenslerin kontaminasyonuna bağlı korneal ülserasyon ve korneal delinme gibi göz enfeksiyonları da tanımlanmıştır (78).

2.6 *Acinetobacter* Enfeksiyonlarında Tedavi

A. baumannii enfeksiyonlarında tedavi, olağan duyarlılık paternlerinde bile problemlidir. Tedavi başlangıcında duyarlı görünen bakteri tedavi sonlanmadan dirençli hale gelebilir. *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu hastane kökenli enfeksiyonlar çoğunlukla hem komorbidit, hem de kötü prognoza sahip genel durumu kötü hastaları

etkilemesinden dolayı klinik sonuçları hala tartışmalıdır ve değerlendirmesi oldukça güçtür (79). Antimikrobiyallere duyarlılık, ülkeler, merkezler ve hatta hastanelerin birimleri arasında bile değişebilmektedir. Bu farklılıklar farklı antibiyotik kullanım paternleri, farklı epidemiyolojik koşullar, antibiyotik kontrol politikalarının yansması olabilir. Dolayısıyla risk faktörlerini azaltmanın yanında, *A. baumannii*'ye bağlı gelişen enfeksiyonların ampirik tedavisinde lokal sürveyans verilerinin göz önüne alınması önemlidir.

2.6.1 Sulbaktam

Sulbaktam, penisilin bağlayan protein 2'ye (PBP-2) bağlanarak *A.baumannii*'ye karşı intrensek bir aktivite yürüten β -laktamlara benzer yapıya sahip bir Ambler sınıf A β -laktamaz inhibitörüdür. β -laktamaz inhibitörleri arasında *A.baumannii* izolatlarına karşı en yüksek intrinsik bakterisidal aktiviteye sahip ajandır (1,80). Asit, plevra, snoviyal ve oküler sıvıda terapötik konsantrasyona ulaşırken, enflamasyon varlığında dahi BOS'a geçişi sınırlıdır (81). *A.baumannii* pnömoni veya bakteriyemisi olan hastalarda eğer organizma sulbaktama duyarlıysa, sulbaktamın etkinliğinin imipenem kadar iyi olduğunu belirten çalışmalar vardır (82). Karbapenem dirençli *A.baumannii* infeksiyonlarında sulbaktam polimiksinlere oranla daha etkili görünmektedir (83). Ancak diğer antibiyotik sınıflarında olduğu gibi, sulbaktama da direnç gelişimi ve bu direncin yaygınlaşması, ilacın gelecekteki kullanımını sınırlandıracak gibi görünmektedir.

2.6.2. Karbapenemler

Karbapenemler Gram-negatif çomaklar ve koklar, Gram-pozitif koklar ve anaeroplara üzerine etkilidirler. Ortak bir karbapenem molekülü içeren yarı sentetik beta-laktam türevi antibiyotiklerdir. Diğer beta-laktamlar gibi hücre duvar sentezini inhibe

ederler ve bu özelliklerini PBP'ler ile kovalan bağlanarak yaparlar. İmipenem, meropenem ve ertapenemden sonra iki yeni üye daha ruhsatlandırılarak kullanıma girmiştir. Bunlar doripenem ve faropenemdir (84). MDR *A. baumannii* enfeksiyonlarında meropenemle karşılaştırıldığında; imipenem ile daha iyi sonuçlar alınmıştır (63). Bir tanesine duyarlılığın saptanması, diğer karbapeneme duyarlı olduğunu göstermemektedir (85). Bir vaka raporunda imipenem duyarlılığı esas alınarak meropenem tedavisi verilen bir *A.baumannii* pnömonisi vakasının ölümle sonuçlandığını ve sonradan bu izolatın meropenem dirençli olduğunun gösterildiğini bildirmişlerdir (86). Ertapenemin çok az etkisi bulunmasından dolayı kullanılmamalıdır (85). Doripenem, iyi bir antipseudomonal olarak nozokomiyal enfeksiyonların ampirik tedavisinde önerilen bir karbapenem olmakla birlikte *Acinetobacter* enfeksiyonlarında etkinliği diğer karbapenemlerden farklı bulunmamıştır (87, 88). *Acinetobacter* enfeksiyonlarında en etkili ilaç grubu olarak görülen karbapenemlerin sık kullanımı sonucu oluşan direnç gelişimi nedeniyle bugün kullanımı oldukça kısıtlanmıştır.

2.6.3. Polimiksinler

Polimiksinler 1947 yılında bulunan polikatyonik lipopolipeptid yapısında bir antibiyotik grubu olup, membran bütünlüğünün kaybına sebep olacak şekilde hem dış membran hem de sitoplazmik membran üzerine etkilidirler. Bu grupta polimiksin A, B, C, D ve E olmak üzere beş farklı kimyasal bileşik yer almaktadır. Klinik pratikte kullanılan polimiksin grubu antibiyotikler polimiksin B ve polimiksin E(kolistin)'dir. Yüksek düzeyde dirençli Gram-negatif bakterilerin tedavisinde son seçenek, kurtarıcı ajanlardır. MDR suşların çoğunluğu polimiksinlere duyarlıdır ve bu durum ilacın toksisitesine yönelik

kaygılara rağmen tedavide polimiksinlere olan ilgiyi artırmaktadır. Fakat kolistin dirençli izolatların sebep olduğu enfeksiyon vakalarında da artış olduğu bildirilmiştir (83, 87).

2.6.3.1 Polimiksin B

Polimiksin B'nin Gram-pozitif bakterilere karşı etkinliği yoktur, ama Gram-negatif bakterilere karşı farklı düzeylerde etkilidir. Polimiksin B'nin etki spektrumu kolistine benzerdir. Diğer tüm antibiyotik gruplara dirençli olan MDR *P. aeruginosa* ve MDR *Acinetobacter* izolatları polimiksin B'ye intrinsek olarak duyarlıdır (89). Ülkemizde yapılan çalışmalarda polimiksin B direnç oranları % 3-5 arasında bulunmuştur (90, 91). Ülkemizde sadece göz pomadı ve merhem formu bulunmaktadır.

2.6.3.2 Polimiksin E (Kolistin)

Kolistin son yıllarda tüm dünyada gittikçe sıklığı artan panrezistan *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türü bakterilerin neden olduğu hastane kökenli enfeksiyonlarda bir kurtarma tedavisi olarak kullanılmaya başlanmıştır (92). Kolistin katyonik yapıda bir polipeptid molekülüdür. Gram-negatif bakterilerin dış membranındaki anyonik lipopolisakkarit molekülleri ile güçlü bir şekilde etkileşir ve buradaki Ca^{++} ve Mg^{++} 'un yerlerini değiştirip membran hasarına yol açar, hücre içeriğinin boşalmasına ve bakterinin ölümüne neden olur. Etkisi hızlı olup, konsantrasyona bağlı bakterisidal etki gösterir (92, 93).

Ticari olarak kolistinin iki formu mevcuttur. Bunlar kolistin sülfat ve kolistimetat sodyumdur. Kolistin sülfat barsak dekontaminasyonu için oral, bakteriyel cilt enfeksiyonları için topikal olarak kullanılır. Kolistimetat sodyum kolistin sülfata göre daha az etkili ve daha az toksiktir. Kolistimetat sodyumun parenteral kullanım için ticari formu

mevcuttur ve intravenöz, intramusküler ve inhaler şekilde uygulanabilir (87, 92). Kolistinin plevral kaviteye, akciğer parankimine, kemiğe ve BOS'a geçişi zayıftır. Bununla birlikte, VIP tedavisinde inhaler ve santral sinir sistemi enfeksiyonlarında intratekal kolistin tedavisi ile başarılı sonuçların alındığı çalışmalar mevcuttur. (1, 87, 94) MDR *A. baumannii*'nin neden olduğu nozokomiyal pnömonilerde kolistine klinik yanıt oranları %25-73.3 arasında değişmektedir (93). Ülkemizde yapılan farklı çalışmalarda kolistin duyarlılığı %70-%100 arasında değişmektedir (9, 95, 96).

Dirençli Gram-negatif basillerle oluşan enfeksiyonların tedavisinde bir önemli konu da tedaviye başlama zamanıdır. Ülkemizden yapılan retrospektif bir çalışmada YBÜ'de yatan ve sadece kolistine duyarlı *A.baumannii*'ye bağlı enfeksiyon gelişen olguların tedavileri değerlendirilmiş. Kolistin uygulamasının bir günden fazla geciktiği durumlarda mortalite riskinin beş kat arttığı görülmüştür (97).

Kolistinin en önemli yan etkisi nefrotoksitedir. Nefrotoksisite ile ilgili farklı veriler bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada; *A. baumannii* ile enfekte 93 hastanın 71'ine kolistin tedavisi uygulanmış, 24 (%30,8) hastada nefrotoksisite geliştiği bildirilmiştir (98). Dört haftadan uzun süre kolistin kullanan 17 hastanın rapor edildiği başka bir çalışmada ise; hiç nefrotoksisite bildirilmemiş, ortalama serum kreatinin artışı 0.25 mg/dL olarak tespit edilmiş, tedavi sonrası kreatinin düzeyleri bazal değerine yakın seviyeye gerilemiştir (99).

2.6.4 Tigesiklin

Glisilsiklinler, klasik tetrasiklinlerin semi-sentetik analoglarıdır. Tigesiklin, glisilsiklinler adı verilen bu yeni antibiyotik grubunun ilk üyesidir. Tetrasiklinlerin temel çekirdeğindeki dokuz pozisyonunda yapılan N-alkil-glisilamido modifikasyonu bu yeni

moleküle çok geniş bir antibakteriyel spektrum ve tetrasiklin direnç mekanizmalarına karşı dayanıklılık sağlamaktadır. Tigesiklin, geri dönüşlü olarak 30S ribozomal alt birimine tetrasiklinlerden beş kat daha güçlü bir şekilde bağlanır ve protein sentezini elongasyon basamağında inhibe eder. Genel olarak bakteriyostatiktir, ancak bazı mikroorganizmalara karşı bakterisidal aktivitesi olduğu bildirilmiştir (83, 100).

Komplike deri ve yumuşak doku infeksiyonlarının ve intra abdominal infeksiyonların tedavisinde etkili ve lisanslı bir ajandır. Genellikle MDR *A.baumannii*'ye karşı invitro olarak iyi etki göstermektedir. Alternatif tedavi seçeneklerinin olmadığı durumlarda, standart tedavi endikasyonunun dışında kalan, kan ve solunum yolu infeksiyonlarında da %68 ile %84 arasında klinik cevapların alındığı rapor edilmiştir (53).

Akciğer dokusunda yüksek konsantrasyona ulaşabilme özelliği; *A. baumannii*'ye bağlı VİP tedavisinde kullanılabileceğinin bir göstergesi olabilsede tek başına uygulanması uygun olmayıp diğer antibiyotiklerle kombine şekilde verilebilir. Toplam 2384 *Acinetobacter* izolatının tigesikline duyarlılıklarının incelendiği 22 ayrı çalışmayı kapsayan bir meta analiz raporunda; izolatların en az % 90'ının tigesikline duyarlı oldukları bildirilmiştir (101).

2.6.5. Aminoglikozitler

Aminoglikozidler, *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinsi mantarlardan elde edilen doğal ya da 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. Amikasin ve tobramisin *A.baumannii* izolatlarında etkili olan iki ajandır. *A. baumannii* klinik izolatlarının arasında aminoglikozid direnci yaygın olduğundan amikasin; genellikle kombinasyon tedavilerinde kullanılmaktadır (102).

2.6.6. Rifampisin

Rifamisinler ilk kez 1957'de *Streptomyces mediterranei*'den elde edilen fermentasyon ürünü olup, aromatik bir nukleus ile alifatik bir köprüden oluşan yapıya sahiptir. DNA bağımlı RNA polimerazın beta alt birimini inhibe eder ve böylece RNA transkripsiyonunu bozarak etkisini göstermektedir (2). Yiyeceklerle birlikte alındığında emilim oranı düşer. Renal yetmezlik veya hemodiyaliz hastalarında rifampisinin doz ayarlanmasına gerek yoktur. *Acineobacter*'lere etkilidir fakat tek başına kullanımda direnç çok kısa sürede geliştiği için kombine tedavide kullanımı uygundur.

2.6.7 Kombinasyon Tedavileri

Ciddi *A. baumannii* enfeksiyonlarında monoterapiyi destekleyen randomize çalışmalar azdır ve yüksek morbidite ve mortalite nedeniyle kombinasyon tedavileri daha önplana çıkmaktadır (103). Monoterapiye oranla kombinasyon tedavileri, sinerjik etki oluşturmanın yanında direnç gelişimini de önlemektedirler.

Ülkemizde yapılan invitro bir çalışmada; meropenem, rifampisin, azitromisin ve doksisisiklin, kolistin ile kombinasyon tedavileri denenmiş ve kolistin/rifampisin kombinasyonunda tam bir sinerji sağlanırken, diğer kombinasyonlarda anlamlı bir etki artışı sağlanamamıştır (104). Diğer bir in vitro çalışmada; MDR *A. baumannii* suşlarında tigesiklin/sulbaktam ve tigesiklin/kolistin kombinasyonları denenmiş ve sırasıyla %64.3 ile

%24.3 oranlarında sinerjistik ve parsiyel sinerji tespit edilmiş. Yapılan kombinasyonlarda antagonizma görülmemiş ve kombinasyon tedavilerinin kullanılması tavsiye edilmiş (105). Başka bir çalışmada; karbapeneme dirençli *A. baumannii* için invitro artmış etki gösteren kombinasyonların; meropenem veya imipenem/ampisilin-sulbaktam, rifampin/ampisilin-sulbaktam ve sefepim/ampisilin-sulbaktam olduğu ifade edilmiş (106).

Ülkemizde 89 hasta üzerinde yapılan klinik bir çalışmada; VIP hastalarında, kolistin monoterapi ve kolistin/sulbaktam kombinasyon tedavileri karşılaştırılmış. Tedavinin beşinci gününde klinik yanıt oranları sırasıyla %40.4 ve %43.2 bulunmuş. Tedavilerinin sonunda klinik yanıt oranları %29.8 ile %40, bakteriyolojik eradikasyon oranları %72.3 ile %85.7 olarak bulunmuş. Tedavi sonu klinik yanıt ve bakteriyolojik eradikasyon oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen, kombinasyon kolunda daha iyi sonuçların görülmesinden dolayı, kombinasyon tedavisi önerilmiş (107). Yine 26 hasta üzerinde yapılan başka bir klinik çalışmada: 16 hastane kökenli pnömoni ve 9 bakteriyemili hastaya inhaler kolistin/intravenöz rifampisin, 1 hastane kökenli menenjit hastasına ise intratekal kolistin/intravenöz rifampisin kombinasyon tedavileri verilmiş. Rifampisin dozu 10 mg/kg 12 saatte bir şekilde yüksek dozda kullanılmış. Tüm hastalarda tedavinin başarılı bir şekilde kullanıldığı, hasta sayılarının az olmasına rağmen sonuçların teşvik edici olduğu vurgulanmış (108).

2.7 Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Acinetobacter türleri birçok antibiyotiğe direnç gösterme eğilimindedir. Antibiyotik kullanımı ile antibiyotik direnci arasında oldukça yakın ilişki olduğu bilinmektedir. Hastanelerde geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımıyla dirençli suşların seleksiyonuna bağlı olarak hızla direnç gelişebilmektedir. *A. baumannii* de gittikçe

artan bir direnç söz konusu olup, hastanelerde önemli bir sağlık problemi haline gelmiştir (109).

Direnç mekanizmaları arasında, β -laktamlara karşı enzim üretimi, aminoglikozitlere karşı modifiye enzimleri, kinolonlara karşı bağlanma bölgelerinin yok edilmesi, birkaç çeşit eflux mekanizması ve dış membran proteini değişiklikleri bildirilmiştir. Bunların bir kaçı veya hepsi bir araya gelerek *A.baumannii*'nin MDR ve PDR fırsatçı bir patojen haline gelmesine sebep olur (1).

Direnci belirleyen faktörlerin genetik çeşitliliğini sağlayan üç tip hareketli genetik eleman tanımlanmıştır: Sınıf 1 integronlar, transpozonlar ve insersiyon sekans (IS) elemanları. Hareketli genetik elemanlar, aynı veya farklı kromozom veya plazmidde; kromozom veya plazmidin bir yerinden diğer bir yerine hareket edebilen elemanlardır. Transpozonlar ve IS elemanları bağımsız bir birim olarak yer değiştirebilirler. İntegronlar, yere özgün lokalizasyonda, bir veya daha fazla direnç geni ve gen kasetlerindeki direnç genlerini yakalayabilen hareketli genetik elemanlardır (110).

2.7.1. β -laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

Beta-laktam ilaçlar, kimyasal yapılarında ortak bir beta-laktam halkası taşıyan ve hücre duvar sentezini inhibe ederek antibakteriyel etki gösteren geniş bir antibiyotik grubunu oluşturmaktadır. Bu grupta penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler, bir monobaktam olan aztreonam yer almaktadır (23). Beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç dört farklı mekanizma ile gelişmektedir, bunlar; beta-laktamaz enzimleriyle antibiyotiğin parçalanması, beta-laktam antibiyotiğin hücre içine girişinin engellenmesi, PBP'lerde oluşan değişiklikler ve eflüks pompasının aktive olmasıdır (111).

A.baumannii'nin β -laktam direnci, enzimatik ve non-enzimatik yollarla olmaktadır (111).

β -laktamazlar (Enzimatik β -laktam Direnci): β -laktam direncinin en yaygın mekanizmasıdır. Genellikle tek bir direnç mekanizması değil, birçok mekanizma birlikte çalışarak β -laktam direncine yol açar. *A.baumannii* intrinsek bir sınıf-D oksasilinaz ve indüklenemeyen kromozomal bir AmpC sefalosporinaz içerir. Bu sefalosporinazlar bütün *A.baumannii* suşlarında mevcuttur ve günümüzde *Acinetobacter* kaynaklı sefalosporinazlar (ADCs) olarak da adlandırılırlar. Bu enzimin aşırı salınımını düzenleyen *ISAbal* olarak bilinen bir IS elementidir. *ISAbal* elementi *A.baumannii*'ye özgüdür ve varlığı, artmış AmpC gen ekspresyonu ve geniş spektrumlu sefalosporinlere gözlenen direnç ile yüksek oranda korelasyon gösterir (1, 112, 113).

A.baumannii'de MBL'ler OXA-tip karbapenemazlardan daha az sıklıkta görülmesine rağmen, karbapenemlere karşı hidrolitik aktiviteleri daha fazladır. Bugüne kadar tanımlanan beş MBL grubundan sadece üçü *A.baumannii*'de gözlenir. Bunlar, İMP, VIM ve SIM tipleridir (1). *A.baumannii*'de birçok kazanılmış MBL geni sınıf 1 integronlar içinde yer alır ve integron taşıyan izolatlarda integronsuz olanlara göre daha fazla ilaç direnci görülmektedir (114).

Non Enzimatik Mekanizmalar: Bunlar, dış membran proteinlerinde değişiklikler (OMPs), eflux pompaları ve penisilin bağlayan proteinlerin (PBPs) afinitesi ve ekspresyonundaki değişikliklerdir (1, 53).

i) Porin değişiklikleri (permeabilite defektleri): Membran permeabilitesinde dış membrandan madde transportunu sağlayan porinler olarak görev alan OMP'lerin

azalmasına sebep olacak şekilde değişimler olması ile direnç artmaktadır. Günümüzde CarO adıyla bilinen 29 kDa protein kaybının imipenem ve meropenem direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. CarO üzerinde imipenemin bağlandığı özel bir bölge yoktur. Yani bu porin, spesifik olmayan kanallar meydana getirir. *A.baumannii*'deki imipenem direnci CarO porinlerinin kaybıyla oluşur (1, 53).

ii) Multidrug eflux sistemleri: Aktif eflux mekanizmalarıyla ilaçların uzaklaştırılması çoklu ilaç direncinin oluşumuna yardım eder. MDR *A.baumannii* genomu çok sayıda eflux pompası kodlamaktadır. RND (resistance-nodulation-cell division) tipi pompalar periplazmik iç ve dış membran bölümlerini içeren 3 komponentli pompalardır. *A.baumannii*'de iki sistem karakterize edilmiştir. Bunlar, AdeABC ve AdeIJK'dır (40, 115). Bu güne kadar en iyi tanımlanan RND tipindeki AdeABC pompası, β - laktamları, aminoglikozitleri, eritromisini, tetrasiklinleri, florokinolonları ve trimetoprimi etkileyen geniş bir profile sahiptir (1).

iii) Penisilin bağlayan proteinlerde (PBP) değişikliklerin oluşması: Bu direnç, kromozomal mutasyonlar sonucu PBP'lerin antibiyotiklere afinitelerinin azalması veya afinitesi düşük yeni PBP'lerin sentezlenmesi şeklinde görülmektedir (116).

2.7.2. Polimiksinlere Direnç Mekanizmaları

Gram-negatif bakteriler adaptasyon ve mutasyon mekanizmaları aracılığıyla kolistine direnç geliştirmektedir. Mutasyon kalıtsal, düşük düzeyli ve antibiyotiğin sürekli varlığına bağlıyken, adaptasyon bunun tam tersidir (92). *A.baumannii*'de polimiksinlere karşı gün geçtikçe artan düzeyde in vitro direnç ve heteroresistansı gösteren raporlar olmasına rağmen, direnç mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak bakterinin LPS

miktarında, spesifik dış membran proteinlerinde, lipid içeriğinde, hücrenin Mg^{++} ve Ca^{++} içeriklerinde azalma gibi bakteri hücrenin dış duvarının bütünlüğünü bozucu etkilerle ilişkilidir (1, 83, 117).

2.7.3. Tetrasiklin ve Glisilsiklinlere Direnç Mekanizmaları

Tetrasikline karşı bakteriyel direnç iki farklı mekanizma ile meydana gelmektedir (118). Bu mekanizmalar; sitoplazmik zarındaki proteinler ile ilacın enerjiye bağlı olarak hücre dışına pompalanması ve rRNA'daki mutasyonlar ile ribozomun sitozolik proteinlerle korunmasıdır. *A. baumannii* klinik izolatlarında en sık rastlanan tetrasiklin direnç genleri *tetA* ve *tetB*'dir. Direnç çoğunlukla tet determinantlarının alınması ile ortaya çıkmaktadır (118). Bakterilerde tetrasiklin direncinden sorumlu ribozomal korunma ve effluks mekanizmaya karşı dirençli olması tigesiklinin en önemli özelliğidir. Yapılan çalışmalarda tetrasiklin direnç genlerini taşıyan birçok bakterinin tigesikline duyarlı olduğu gösterilmiştir (119). Tigesikline direnç mekanizması incelenmiş ve direncin AdeABC effluks pompasının aşırı ekspresyonuna bağlı olabileceği bildirilmiştir (120).

2.7.4 Aminoglikozidlere Direnç Mekanizmaları

Aminoglikozidlere karşı direnç *Acinetobacter* türlerinde üç mekanizma ile gerçekleşir; Ribozomlarda oluşan mutasyonlar sonucu ribozomal hedeflerde değişiklik gelişmesi, ilacın hücre içine girişinin azalması ve/veya dışarı pompalanması ve aminoglikozidleri modifiye eden enzimlerle, bu antibiyotiklerin amino ya da hidroksil gruplarının enzimatik olarak değiştirilmesidir (1, 121). Aminoglikozidleri değiştiren asetilaz, adenilaz ve fosfotransferaz gibi başlıca enzimler sıklıkla plazmid kontrolünde sentezlenmekte ve transpozonlarla taşınabilmektedir (7, 121).

2.7.5 Rifamisinlere Direnç Mekanizmaları

Bir rifamisin olan rifampisine karşı en sık direnç mekanizmasının, RNA polimerazın B-alt ünitesini kodlayan rpoB genindeki mutasyonlar olduğu bulunmuştur. Diğer daha az sıklıkta görülen direnç mekanizması ise effluks pompalarının aşırı ekspresyonudur (120).

2.8 *Acinetobacter*'lerin tiplendirilmesinde kullanılan yöntemler

Acinetobacter'ler nozokomiyal enfeksiyonların önemli sebeplerinden biri olmaları ve sıklıkla çoğul ilaç direnci göstermelerinden dolayı; epidemiyolojik çalışmalar ve enfeksiyon kontrolünde tip ve subtiplerinin belirlenmesine giderek artan oranda ihtiyaç duyulmaktadır.

Tiplendirme yöntemleri başlıca; hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonların belirlenmesi, dirençli suşların tanımlanması ve yaygınlığının belirlenmesi, reaktivasyonun reenfeksiyondan ayırt edilmesi, enfeksiyon etkenlerinin yayılımının belirlenmesi, kökenlerin identifikasyonu ve klonal benzerliklerin saptanması, antibiyotik direncinin saptanması ve izlemi, salgın araştırmalarında epidemik suşların kaynağı ile yayılım yolunun belirlenmesi ve hastalardaki epidemiyolojik ilişkilerin ortaya konulması gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Fenotipik yöntemlerle karşılaştırıldığında, moleküler yöntemlerin ayırım gücü daha yüksektir ve birçok türe uygulanabilme avantajı sağlamaktadır. Özellikle son yıllarda kullanımı artan parmak izi “fingerprint” analizleri hastane bulaşma kaynaklarını belirlemede ciddi katkı sağlamaktadır (7, 122, 123). Bu amaçla kullanılan birçok fenotipik ve genotipik (moleküler) tiplendirme yöntemi geliştirilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2: Epidemiyolojik tiplendirme amacıyla kullanılan yöntemler (7, 122-127).

| FENOTİPİK YÖNTEMLER |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none">• Biyotipleme• Serotipleme• Bakteriyofaj ve bakteriyoson tiplendirmesi• Antibiyotik duyarlılık paterni• Protein temelli yöntemler<ul style="list-style-type: none">○ İmmunoblot parmakizi (fingerprinting)○ Multilokus enzim elektroforezi (MLEE)○ Hücresel veya membran proteinlerin poliakrilamid jel elektroforezi |
| MOLEKÜLER YÖNTEMLER |
| <p>1. Direkt genotipleme</p> <ul style="list-style-type: none">• Plazmid parmakizi (fingerprinting)• Genomik DNA restriksiyon fragment length polimorfizmi• Kromozomal DNA-RFLP• rDNA-RFLP (Ribotipleme)• Southern hibridizasyon• Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)• Mitokondrial DNA-RFLP <p>2. PCR temelli tiplendirme yöntemleri</p> <ul style="list-style-type: none">• Poymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)• Amplified fragment length polymorphism (AFLP)• Enterobacterial repetitive intergenic consensus elements (Eric-PCR)• Single strand confirmation polymorphism (SSCP)• Repetitive extragenic palindromic element-PCR (Rep-PCR)• Arbitrarily primed PCR (AP-PCR)• Random amplified polimorphic DNA (RAPD)• DNA amplification fingerprinting (DAF)• Multylocus variable number tandem repeat (VNTR) analysis (MLVA) <p>3. Dizi analizine dayalı tiplendirme yöntemleri</p> <ul style="list-style-type: none">• Single-locus sequence typing (SLST)• Single-nucleotide polymorphism (SNPs)• Multilocus sequence typing (MLST)• High-density DNA array ve DNA chips |

2.8.1. Fenotipik yöntemler

Biyotipleme: Biyotipleme suş tanımlama ve tiplendirmede kullanılan en eski metotlardan biridir. Mikroorganizmanın metabolik ve fizyolojik karakterlerini esas alır. Bu bağlamda enerji metabolizması, karbonhidrat kullanımı ve farklı enzimatik aktiviteleri ölçen test yöntemleri kullanılır. Elde edilen bulgular mikroorganizmanın genel morfolojik özellikleri ile birlikte sıklıkla otomatize edilmiş bir nümerik değerlendirme sistemi içerisinde sorgulanır. *Acinetobacter*'lerin tür ayrımında glukozdan asit oluşumu, jelatin hidrolizi, karbon kaynağı olarak; levulinate, sitrakonate, L-fenilalanin, fenil asetat, 4-hidroksi benzoat veya L-tartaratın kullanımı, değişik ısılarda üreme özelliği (37°C, 41°C, 44°C) gibi biyokimyasal özellikler kullanılmaktadır (124).

Serotipleme: Bir dizi antikor kullanılarak bakterilerin yüzeyindeki antijenlerin tespit edilmesi yoluyla antijenik çeşitliliğin gösterilmesidir. Antiserumun elde edilme güçlüğü ve farklı metodlar arasındaki standardizasyon problemleri nedeniyle değeri düşüktür. Serotipin mikroorganizmanın değişmez bir özelliğini yansıtması yöntemin avantajıdır (122, 123).

Bakteriyofaj ve Bakteriyosin Tiplendirmesi: Faj ve bakteriyosin tiplendirmesi bir takım bakteriyofajlar ya da bakterisidal toksinlere (bakteriyosinler) maruz bırakılan test izolatlarının litik paternlerini değerlendiren bir methoddur. Bu geleneksel tiplendirme metodları sınırlı sayıda tür için uygulanabilmektedir. Çünkü mevcut bakteriyofajlar ve toksinler bu türler için yeterli ayırım gücünü sağlayabilecek sayıda identifiye edilmiştir. Fajların üretimi ve kesintisiz kalite kontrolü oldukça önemli olup, yoğun tecrübe ve zaman isteyen bir uğraştır. Ayrıca tekrarlanabilirliği düşük bir yöntem olması ve standardizasyonundaki problemler faj tiplendirmesi metodunun kullanımını

sınırlandırmaktadır (123). Bakteriyosin tiplendirmesi; daha az zahmetlidir ve serotiplendirme antibiyotiplendirme veya biyotiplendirmeye birlikte epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilir (122).

Antibiyotik duyarlılık paterni: Bu tiplendirme yöntemi; izolatların benzerliklerine göre gruplandırmak ve direnç gelişimini tespit etmek amacıyla kullanılmaktadır. Solid besiyerinde ilaç difüzyon yöntemi ya da sıvı ortamda ilaç dilüsyon yöntemleri ile yapılabilen ve uygun ilaçların seçimi ile pek çok türe uygulanabilen bir metoddur. Çoğunlukla minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) ve disk difüzyon zon değerleri kullanılmaktadır. Sonuçlar genellikle duyarlı, dirençli ya da orta duyarlı olarak ifade edilir. Tiplendirme için antibiyogram sonuçlarının diğer yöntemlerle ve epidemiyolojik verilerle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Genetik ve epidemiyolojik ilişkisi olmayan birçok tür aynı plasmidi alarak benzer duyarlılık paternine sahip olabildiğinden ve enfeksiyon sırasında duyarlılıkta değişiklik meydana gelebildiğinden epidemiyolojik çalışmalardaki değeri sınırlıdır (7, 122, 123, 128, 129).

Protein Bazlı Yöntemler: *Acinetobacter* türleri ile ilgili taksonomik ve epidemiyolojik çalışmalarda hücre duvarı proteini ve tüm hücre proteinlerinin herikisi kullanılmıştır (7). Hücre duvarı proteinlerinin sodyum dodezil sulfat poliakrilamid jel elektroforezi ile yapılan analizinde ilişkisiz suşlarda farklılıklar gözlenirken, ilişkili suşlarda benzer profiller bulunmuş. Bu yöntem endemik ataklar ve hastane salgınlarında saptanan özgül suşları takip etmede başarılı bir şekilde kullanılmıştır (7, 130). Örnek hazırlama aşamasında hücre duvarı proteinlerine kıyasla basit olması nedeniyle; tüm hücre proteinlerinin elektroforetik analizi daha avantajlı bulunmuştur. Fakat diğer fenotipik

yöntemler gibi, ortak kaynaktan gelen izolatların arasındaki farklılıkları yorumlarken dikkatli olunmalıdır (7, 123).

Elektroforetik Multiloküs Enzim Tipleme (MLEE): Aynı genin farklı alelleri tarafından kodlanan ve bu şekilde protein büyüklük ve yüklerinde tespit edilebilir varyasyonlara neden olan bir dizi fonksiyonel enzimin elektroforetik varyantlarını tanımlar (131). Bu yöntem hücre içi enzimlerin elektroforetik hareket yeteneğine göre karakterize edilmesini esas alır ve organizmaları oluşturdukları elektromorfo tiplerine göre diğerlerinden ayırır. 65 *Acinetobacter* izolatında tanımlanan 13 enzimle ilgili bir çalışmada; 14 farklı tip tanımlanmış, bir numaralı tip ortak tüm hücre protein profillerini içeren 41 multiresistant izolatında bulunmuştur (132). Bu sonuçlar suşların tanımlanmasında MLEE' nin yararlı bir yöntem olarak geliştirilme potansiyeli olduğunu göstermektedir (7).

2.8.2. Moleküler Yöntemler

Moleküler tiplendirme; DNA temelli tipleme metodlarını kullanarak aynı tür içindeki mikroorganizma suşları arasında klonal ilişkinin araştırılması, mikrobiyal parmak izinin belirlenmesi esasına dayanır. Patojenlerin klonalitesinin belirlenmesi, mikroorganizmaların kaynağının tanımlanmasına, noninfeksiyöz suşların infeksiyöz suşlardan ayırımına ve reinfeksiyonun reaktivasyondan ayrılmasına yardımcı olabilmektedir. Moleküler yöntemler fenotipik yöntemlere göre; tiplendirme başarısı, tekrarlanabilirlik ve ayırım gücü yönünden daha üstündürler. Çeşitli moleküler yöntemler (tablo 2) geliştirilmiş olmasına karşın hastane enfeksiyon etkenleri olan *Acinetobacter*'lerin epidemiyolojisinde; tiplendirme özelliği, tekrarlanabilirliği ve ayırım

gücünün oldukça yüksek olması nedeniyle bugün için **altın standart** olarak değerlendirilen yöntem **pulsed-field jel elektroforezidir** (133-135).

2.8.2.1 Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)

Jel elektroforezi DNA moleküllerinin analizinde yararlanılan en basit yöntemlerden biridir. DNA'nın elektroforetik analizinin temelleri, DNA molekülünün elektriksel bir alanda, jel üzerindeki göçüyle başlamıştır. Jel elektroforezdeki bu göçün hızı; molekülün büyüklüğü ve yapısına, jelde kullanılan maddenin konsantrasyonuna, iyonik kuvvete ve uygulanan akımın şekli ve kuvvetine bağlı olarak değişmektedir. Standart yöntemli DNA elektroforezinde; 20kb'dan büyük DNA molekülleri elektrik alanında aynı hareketliliği gösterdiğinden DNA molekülleri arasındaki farkı görmek neredeyse imkansız gibiydi. Bu büyük kesitleri çözmeye yönelik ilk girişimler, düşük yoğunlukta agaroz jel ve düşük voltaj farkının kullanımı idi. Bu uç koşullar altında bile büyük DNA moleküllerinin birbirinden ayrılması oldukça zordu. 1984 yılında David Schwartz yeni bir teknik önerdi. Bu öneriye göre; elektrik alanının yönünü periyodik olarak değiştirmek (pulsed-field), ilk elektrik alanının ortadan kalkmasından dolayı jel içindeki DNA moleküllerinin gevşemesine ve yeni alanda uzayarak hizaya girmesine neden olacaktı. Bu şekilde Pulsed-field jel elektroforezinin temelleri atılmış ve daha sonraları geliştirilen farklı metodları ile 1000 kb uzunluğundan daha büyük DNA moleküllerinin ayrıştırılması mümkün olmuştur (123, 125, 135-137).

PFGE; bakteri ve ökaryotik hücrelerden yapısal bütünlüğü bozulmadan izole edilen kromozomun, restriksiyon enzimleri ile kesim profilinin belirlenmesi esasına dayanır. DNA izolasyonu ve restriksiyon enzimi (RE) ile kesim işlemleri agaroz kalıpları içinde yapılmakta, daha sonra içinde kesime uğratılmış DNA parçaları bulunan kalıplar,

elektroforez uygulanacak agaroz içindeki uygun çukurlara yerleştirilerek belirli zaman aralıklarıyla, birbirlerine farklı açıda elektrik akımına tabi tutulmaktadır. Bu elektriksel akımın zamanı molekülün büyüklüğüne bağlı olarak değişmektedir. PFGE’de belirli aralıklarla elektrik akımının yönü değiştirilerek; RE enzimle kesilmiş kromozomal DNA’dan oluşan 10-800 kb arasında uzunluğa sahip parçalar, etkin bir şekilde göç ettirilmekte ve bunun neticesinde yaklaşık 5-20 kadar, farklı büyüklükte DNA bant profili ortaya çıkmaktadır. PFGE, mikroorganizma genomunun mutasyonlara uğrayabilmesi esasına dayalı olarak geliştirilmiştir. Nükleotid dizisindeki değişiklikler kromozomal DNA’nın restriksiyon endonükleazlarca oluşturulmuş bant profillerine yansımaktadır. Elektroforez sonrası jelin “ethidium bromid” ile boyaması sonrası jeldeki DNA fragmentleri ultraviyole ışıkta görüntülenmekte ve elde edilen bant polimorfizmi gözle veya bilgisayar programları kullanılarak değerlendirilmektedir (122, 123, 138, 139). Bu amaçla çeşitli elektroforetik teknikler tanımlanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3: Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) tipleri (1, 31, 32, 34).

| Pulsed-Field Gel Electrophoresis Tipleri |
|---------------------------------------------------------------------|
| ▪ Rotating Gel Electrophoresis (RGE) |
| ▪ Programmable Autonomously Controlled Electrodes (PACE) |
| ▪ Orthogonal-Field Alternation Gel Electrophoresis (OFAGE) |
| ▪ Transverse Alternating Field Electrophoresis (TAFE) |
| ▪ Pulsed Homogeneous Orthogonal Field Gel Electrophoresis (PHOGE) |
| ▪ Field Inversion Gel Electrophoresis (FIGE) |
| ▪ Counter-Clamped Homogeneous Electric Field Electrophoresis (CHEF) |

Counter-Clamped Homogeneous Electric Field Electrophoresis (CHEF):

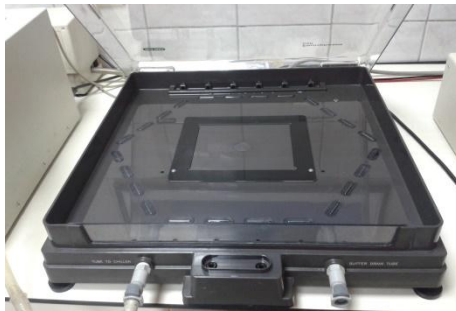
Bugün itibariyle PFGE’nin en yaygın kullanılan tipidir. Sistem elektroforez tankı, elektrik akımını düzenleyen kontrol modülü, güç kaynağı ve bir pompadan oluşmaktadır (Resim 1).

Elektroforez tankında altıgen biçiminde yerleştirilen çerçeve etrafında bulunan 24 elektrot yardımıyla 120°'lik açı ile sabit hızda elektrik akımı verilmekte ve diğer sistemlerden farklı olarak bantlar daha net ve değerlendirilebilir şekilde ayrılmaktadır (Resim 2 ve Şekil 1). Tankta jel orta kısma yerleştirilmektedir. Elektroforez esnasında tank içindeki tampon sürekli bir sirkülasyon döngüsündedir. Tanktaki tampon bir hortum ile soğutucu modüle gelir ve soğutulduktan sonra başka bir hortum ile tekrar tanka gönderilir. Elektroforez esnasında tampondaki bozulmaları ve jelde ısınmaya bağlı oluşan değişiklikleri engellemek için ısı genellikle 4-15°C arasında tutulmaya çalışılır (133, 140).

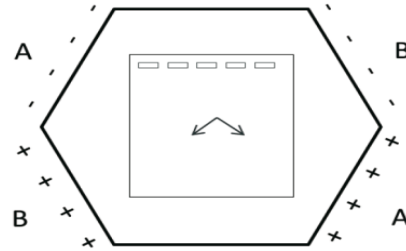
Resim 1: PFGE, CHEF DR II Sistemi



Resim 2: Elektroforez tankı görüntüsü



Şekil 1: CHEF çalışma şeması



Günümüzde birçok ticari restriksiyon enzimi (RE) bulunmaktadır. RE seçerken bakteriyel DNA'nın G(guanin) + C(sitozin) içeriği göz önünde bulundurulması gerekir. Düşük G+C içerikli DNA'lar, tanıma bölgesi G+C bakımından zengin olan RE ile muamele edildiğinde yeteri kadar kesilememektedir. Genel olarak Gram pozitif bakteriler için *SmaI*, *CspI*, *SgrAI* enzimleri, Gram negatifler için *NotI*, *SfiI*, *SpeI* veya *XbaI* enzimleri tercih edilmektedir. *Acinetobacter*'ler için *SmaI* ve *ApaI* enzimleri tercih edilmektedir (24, 140).

Yüksek ayırıştırma gücü ve tekrarlanabilirliğinden dolayı PFGE pek çok nozokomiyal ve toplumda gözlenen patojenin tiplendirilmesi için günümüzde tercih edilen yöntemdir. Üstün adaptasyon kolaylığı nedenleriyle birçok hastane kökenli patojenin ve bazı toplum kökenli patojenlerin tiplendirilmesinde "altın standart" olarak kabul edilmektedir. Stafilokoklar, salmonella, enterokoklar, *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri, *Acinetobacter* türleri, *P. aeruginosa* ve diğer gram negatif çomaklar PFGE ile başarıyla tiplendirilmektedir (25, 122, 133).

PFGE Sonuçlarının Yorumlanması: PFGE tiplendirme sonuçlarından anlamlı sonuçların elde edilebilmesi için DNA bant profillerinin analizini dikkatli yapmak gerekmektedir. PFGE izolatları birbirleriyle aynı ve epidemiyolojik olarak ilişkisiz suşlardan tamamen farklı olan bir salgın suşunu temsil eder. İlk yapılması gereken PFGE'deki ortak band profillerinin belirlenmesidir (122). Salgın suşunun profili diğer izolatların bantlarının sayı ve boyutları ile karşılaştırılır. Bir salgını temsil eden suşun diğer salgın suşlarından farkının olmaması ve salgın dışı bir suş ile benzerliğinin bulunmaması gerekmektedir. Ancak salgın sırasında DNA'da oluşacak nokta mutasyonlar, yada DNA'nın insersiyon ve delesyonları, restriksiyon profillerini değiştirebilir. Restriksiyon

profillerinin doğru yorumlama kriterlerinin oluşturulması, bir suşun salgın suşuyla olan ilişkisinin ortaya çıkarılmasında önemlidir. (25, 122).

PFGE yöntemiyle elde edilen bant profillerinin analizinde manuel veya bilgisayar programları ile yapılan değerlendirmeler kullanılmaktadır (133, 134, 139).

Manuel Yöntemlerle PFGE Sonuçlarının Yorumlanması: Manuel analizde; en yaygın kullanılan değerlendirme kriterleri Tenover ve ark. (134) tarafından önerilen sistemdir. Bu kriterlere göre; salgınlarda ilk izole edilen suş indeks olgu veya salgın suşu olarak adlandırılır. PFGE işlemi sonrası her suş için oluşan bant profillerinin sayı ve molekül ağırlıkları salgın suşu ile karşılaştırılarak salgın ile ilişkisi belirlenir. Tenover kriterlerinin güvenli kullanılabilmesi için bir suşa ait DNA profillerinde 10'dan fazla bant profilinin olması gerekmektedir. Daha az sayıda bant tespit edildiğinde kriterlerin güvenilirliği ve ayırt etmedeki yeterliliği bilinmemektedir (25, 134).

Aynı İzolatlar: İzolatların DNA paterninde bulunan bant sayısı ve molekül ağırlıkları aynıdır. Bu bakterilerin genetik olarak aynı ve epidemiyolojik olarak ilişkili oldukları kabul edilir. Epidemiyolojik verilerle desteklenen tek bant farklılığı gösteren izolatların da klonal olarak ilişkili oldukları kabul edilir (122, 134).

Yakın İlişkili İzolatlar: İndeks olgu ile aralarında iki-üç bant farklılığı bulunan izolatlar için kullanılır. İzolat indeks olgu ile yakın ilişkili olarak kabul edilir ve epidemiyolojik olarak salgının bir parçası oldukları kabul edilir. Bant değişikliklerinin nokta mutasyonu, insersiyon veya delesyonla gerçekleştiği düşünülmektedir (122, 123, 134).

Muhtemel İlişkili İzolatlar: İndeks olgu ile aralarında dört-altı bant farklılığı bulunan izolatlar için kullanılır. Bu tarz değişikliklerin insersiyon, delesyon, restriksiyon bölgelerinin kazanımı veya kaybı sonucu ortaya çıktığı belirlenmiştir. İzolatlarda bu mutasyonların gerçekleşme süresi altı aydan daha uzun bir süre alır. Bu izolat indeks olgu ile muhtemel ilişkili olarak değerlendirilir. Bu izolatlar indeks olgu ile aynı genetik kökenden gelebilir, ancak genetik olarak yakın ilişkili olmadıklarından epidemiyolojik olarak ilişkili olma ihtimalleri daha düşüktür (122, 123, 134).

İlişkisiz İzolatlar: İndeks olgu ile aralarında yedi veya daha fazla bant farklılığı bulunan izolatlar için kullanılır. Bu değişim izolatların DNA'sında birçok genetik olayın ardı sıra gerçekleşmesi sonucu oluşur. Epidemiyolojik olarak indeks olgu ile ilişkisiz oldukları kabul edilir (122, 123, 134).

Bilgisayar Programları Yardımı İle PFGE Sonuçlarının Yorumlanması: Moleküler epidemiyolojik çalışmalarda incelenen izolat sayısı arttıkça bant profillerinin değerlendirilmesi ve yorumlanması için bilgisayar analizine ihtiyaç duyulmaktadır. Farklı bölgelerdeki laboratuvarlarda farklı zamanlarda elde edilmiş çok sayıdaki profilin sonuçlarının karşılaştırılması için, bilgisayar programları ile yapılan küme veya patern analizleri en yaygın olarak kullanılan analitik yöntemlerdir. Bu amaçla Gel Compar ve BioNumerics (Applied Maths, Belgium) gibi çeşitli yazılım programları kullanılır. İzolatlar ikili gruplar halinde karşılaştırıldıktan sonra benzerlikleri temel alınarak gruplandırılır ve “dendogram” adı verilen ağaca benzer bir yapı ile ilişki durumları belirlenir (26, 133, 139).

İzolatlar arası ilişkilerin değerlendirilmesi için DNA fragment büyüklükleri karşılaştıran belirli bir benzerlik katsayısı seçilir. Bu amaçla en sık kullanılan analiz yöntemi “Dice” benzerlik katsayısıdır (139). Benzerlik katsayısının hesaplanmasında bant

ve profil toleransı, %1-1.5 olarak alınır ve %80'in üzerinde benzerlik gösteren suşlar aynı kümeye ait olarak değerlendirilir. Dice benzerlik katsayısına göre, \geq %85 benzerlik oranı, üç veya daha fazla bant farklılığına denk gelir ve yakın ilişkili olarak kabul edilir. İlişkisiz suşlar arasındaki benzerlik oranı ise %50'nin altındadır (133, 134).

Sonuçların Rapor Edilmesi: İndeks olgu ile aralarında bant farkı olmayan suşlar tip A, yakın ve muhtemel ilişkili izolatlar tip A1, A2, A3..., ilişkisiz izolatlar ise tip B, C, D... olarak ifade edilir ve rapor edilir (25, 134).

2.8.3 Moleküler Tiplendirmede Kullanılan Diğer Yöntemler

2.8.3.1 PCR temelli tiplendirme yöntemleri

PCR temelli tiplendirme yöntemlerinde bir veya iki primer kullanılarak kromozom üzerindeki belirli bölgelerin çoğaltılması yapılmaktadır. Aynı gün içinde sonuç verebilen, kısa süreli salgınlarda başarılı bir şekilde kullanılabilen ekonomik yöntemlerdir. Uzun zaman periyodunda izole edilen suşların tiplendirilmesinde; bu yöntemlerin stabilitesi ve etkinliği hakkında sınırlı bilgiler mevcuttur. Bu yöntemlerin etkinliğini arttırmak için RFLP aşaması eklenmiştir. Genotiplendirmede kullanılan başlıca PCR temelli yöntemler: PCR-RFLP, AFLP, Eric-PCR, SSCP, Rep-PCR, AP-PCR, RAPD ve DAF' tır (27, 139).

“Amplified fragment length polymorphism” (AFLP): Bu yöntem total genomik DNA'nın genellikle iki restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu oluşan DNA parçalarının bir grubunun selektif amplifikasyonu esasına dayanır. Amplifikasyon yapılan DNA parçalarının görüntülenmesi için jel elektroforezleri (agaroz veya poliakrilamid) veya floresan veren boyalarla işaretli primerlerin kullanılmasıyla oluşan ürünlerin kapiller elektroforezi ile floresan okuması yapılarak, floresan ışımaya pikleri ile DNA parçalarının

büyüklüğü değerlendirilir. DNA virüsleri, bütün bakteriler ve ökaryotik hücreler için ortak bir protokol kullanılması önemli bir avantajdır. Hedef organizmanın baz diziliminin bilinmesine gerek yoktur. *A. baumannii*'nin tiplendirilmesinde kullanılabilen yöntemlerdendir (27, 139).

“Repetitive extragenic palindromic element-PCR” (Rep-PCR): Repetitive-PCR metodu bakteriyel genomda dağılmış olarak bulunan tekrarlayan DNA dizilerinin kopyalarının, PCR ile gösterimine dayalıdır. Bu tekrarlayan elementleri hedef alan primerlerin kullanıldığı amplifikasyon sonucunda değişik uzunluklarda DNA fragmentleri oluşur. Oluşan bu fragmentlerin ayrımı; agaroz jel veya kapiller elektroforez gibi çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilir. Bu fragmentlerin polimorfizmi spesifik DNA fingerprinting (parmak izi) olarak değerlendirilir. Suşlar arasında tekrar elementlerinin sayısı ve lokalizasyon farkı, moleküler tiplendirme için gerekli olan tipe özgü bant profilini oluşturmaktadır (139, 141).

AP-PCR, RAPD ve DAF tiplendirme yöntemleri: Bu tiplendirme yöntemlerinde hedefe bağlı kalınmadan, rastgele seçilmiş, kısa primerler kullanılarak, agaroz jel elektroforezinde farklı bant profilleri oluşturabilecek, değişik uzunluklarda DNA amplifikasyon ürünleri elde edilmektedir. Amplifikasyonda kullanılan rastgele primer herhangi bir spesifik bakteriyel DNA dizisini amplifiye etmek için hedeflemez. Primerin rastgele bağlanmaları, amplifikasyon sırasında kullanılan düşük annealing ısısı ile sağlanır ve bunun sonucu olarak çok sayıda rastgele kromozomal bölgelere eksik hibridizasyon ile DNA sentezi gerçekleştirilir. Eğer primerlerin ikisi de komplementer zincirler üzerinde DNA fragmentinin sentezini sağlamak için birbirlerine yeteri kadar yakın bağlanırsa amplifikasyon devam eder. Aynı tür içinde farklı suşlarda primerlerin bağlanma yerlerinin

sayısı ve birbirlerine uzaklıkları farklı olduğu için, jel elektroforezinde, amplifiye edilen parçaların sayı ve büyüklüğü de farklı olmaktadır. Suşlar arasında primerlerin bağlanma yerlerinde bir mutasyon gerçekleşirse bant polimorfizmi ortaya çıkmaktadır. Yöntem nozokomiyal patojenler için öteki tiplendirme yöntemlerinin çoğundan çok daha hızlı olsa da henüz standardizasyonu sağlanamamıştır. Sıkı kontrol edildiğinde, özellikle farklı primerlerle çoklu amplifikasyonlar yapıldığında AP-PZR yüksek düzeyde bir ayırışma sağlayabilir (27, 123, 139).

2.8.3.2 Dizi analizine dayalı tiplendirme yöntemleri

“Multilocus sequence typing” (MLST): Geleneksel multilokus enzim elektroforezinin genom bazlı versiyonudur. Housekeeping genlerin internal parçalarının DNA dizisindeki allelleri tanımlama temelli bir yöntemdir. MLST başta Gram-pozitif koklar olmak üzere birçok bakterinin tiplendirilmesinde giderek daha fazla kullanılır hale gelmiştir. Bu yöntemle virülen veya antibiyotiklere dirençli klonların tiplendirilmesi yapılabilmektedir. Kültür yapılmasına gereksinim duyulmaması, sonuçların oldukça net olması; bu sonuçların elektronik ortama kolayca aktarılabilmesi ve saklanabilmesi, standardizasyonunun kolay olması yöntemin avantajlarından (139, 142).

“High-density DNA array” ve “DNA chips”: DNA microarray; birçok değişikliği aynı anda gözlemeye olanak veren hibridizasyon temelli bir yöntemdir. Binlerce oligonükleotid bir düzen içinde katı bir matriksin yüzeyine bağlanarak; yüksek yoğunlukta microarray veya DNA chip’leri oluşturmaktadır. Floresans veren maddelerle işaretli nükleotidler kullanılarak PCR ile çoğaltılan hedef DNA örnekleri, silikon üzerine bağlanmış olan problemlerle hibridizasyona tabi tutulmaktadır. DNA chip ve DNA array teknolojisinin gelişmesiyle mikroorganizmaların varlığının gösterilmesi, tanımlanması ve

tiplendirilmesi yanında antibiyotiklere direnç profillerinin belirlenmesi ve virülans faktörleri eş zamanlı olarak araştırılabilecek duruma gelecektir. Sistemin maliyeti yüksek olduğundan şimdilik sınırlı sayıda mikroorganizma (mikobakteriler, *Helicobacter pylori*, mantarlar gibi) için uygulanmış ve güvenilir sonuçlar vermiştir (139).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Hastalar ve *A.baumannii* İzolatları

Çalışmamıza, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi; Anesteziyoloji ve Reanimasyon Yoğunbakım Ünitesi (AYBÜ), Göğüs Hastalıkları Yoğunbakım Ünitesi (GHYBÜ) ve Pediatri Yoğun Bakım Ünitesi (PYBÜ)'nde Ocak 2010- Ekim 2011 tarihleri ve AYBÜ'de Temmuz-Kasım 2012 tarihleri arasında takip edilen nozokomiyal *Acinetobacter* türlerine bağlı Ventilatör İlişkili Pnömoni (VİP) ve Primer Kan Dolaşımı Enfeksiyonu (PKDE) tanısı alan hastalar ve bu hastalardan Merkez Bakteriyoloji Laboratuvarı'na gönderilen derin trekeal aspirat (DTA) ve kan kültür örneklerinden üreyen çoğul ilaç direnci olan *A.baumannii* izolatları kabul edildi. 23 Ekim 2011 tarihinde ilimizde gerçekleşen depremden dolayı hastanemiz hasar görmüş ve çalışmamız durdurulmuştu. Haziran 2012 tarihinde yeni yapılan hastanemize (Dursun Odabaş Tıp Merkezi) taşındıktan sonra AYBÜ'de yatan, VİP ve PKDE tanısı alan hastalar ve *A. baumannii* izolatları çalışmaya dahil edildi. Hastaların bilgileri retrospektif olarak hasta dosyaları, Enfeksiyon Kontrol Ekibi (EKE), hastane ve yoğun bakım kayıt sisteminden elde edildi Kültür materyellerinde *Acinetobacter spp.* üreyen bütün hastalar, hastanemiz Enfeksiyon Kontrol Komitesi tarafından değerlendirilerek Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi [Centers for Disease Control and Prevention (CDC)] kriterlerine göre hastane enfeksiyonu (HE) olup olmadıklarına karar verildi (143). Hastaların yatışları süresince ilk enfeksiyon atağı değerlendirmeye alındı. Bir hastanın aynı dönemde farklı kültür numunelerinde üreyen birden fazla bakteri olduğu durumlarda çalışmaya sadece bir numenede üreyen *A. baumannii* izolatları alındı. Kolonizasyon veya kontaminasyon olarak değerlendirilen kültür sonuçları çalışmaya alınmadı.

3.2 Epidemiyolojik İlişki Ve Risk Faktörlerine Ait Bilgilerin Toplanması

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yatarak tedavi gören hastalar EKK tarafından, Enfeksiyon Kontrol Hekimi (EKH) gözetiminde; aktif sürveyans yöntemi ile izlenmektedir. Günlük sürveyans, hastalar YBÜ'den taburcu edilene veya eksitus olana kadar devam etmektedir ve hasta bilgileri sürveyans takip formuna kaydedilmektedir. Sürveyans takip formunda hastanın: Adı-soyadı, yaşı, cinsiyeti, yatış tarihi, yattığı bölüm, klinik tanısı, altta yatan hastalıkları, risk faktörleri, geçirdiği operasyonlar, yapılan girişimler, aldığı hastane enfeksiyonları tanıları, kullanılan antibiyotikler, üreyen etkenler ve antibiyotiklere duyarlılıkları yer almaktadır.

Hastaların demografik özellikleri, hangi üniteye tedavi gördüğü (AYBÜ, GHYBÜ veya PYBÜ) hastane ve yoğun bakım yatış - çıkış tarihleri, yatış tanıları ve altta yatan hastalıkları (DM, KOAH, vb.), enfeksiyon için risk faktörleri (mekanik ventilasyon, enteral ve parenteral beslenme, santral venöz kateter varlığı, nazogastrik tüp, toraks tüpü, trakeotomi varlığı, malignite, steroid kullanımı, immunsupresyon durumu, cerrahi girişim varlığı vb.), *Acinetobacter* türü üreme zamanı ve yeri, almakta oldukları antibiyotik tedavileri ve hastalardan alınan kan kültürü, varsa kateter kültürü veya DTA örneklerinin sonuçları standart forma kaydedildi.

3.3 Bakterilerin Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Merkez Bakterioloji Laboratuvarı'na gelen klinik örnekler %5 koyun kanlı agar ve Eozin Metilen Blue agar (EMB) kültür ortamlarına ekilerek 18-48 saat 37 °C'de etüvde inkübe edildi. Kan kültürleri ise BACTEC 9120 BD (Becton Dickinson, ABD) otomatize kan kültürü sistemi ile çalışıldı. Üreme gösteren örnekler kan kültürü şişelerinden uygun

katı besiyerine ekilerek yine 18-48 saat 37 °C’de etüvde inkübe edildi. İnkübasyon sonrası %5 koyun kanlı agar ve EMB agarda saf koloni halinde üreyen bakteriler konvansiyonel yöntemlerle identifiye edildi. Aerob, non-fermenter (glukoz ve laktozu fermente etmeyen) üreme özelliği gösteren ve Gram boyamasında Gram-negatif koko-basil veya diplokok morfolojisinde saptanan, TSI besiyerinde dipte ve yatıkta alkali reaksiyon veren, Simons sitrat besiyerinde üreyerek besiyerinin rengini maviye dönüştüren, hareket besiyerinde hareketsiz olarak tespit edilen, İndol testi negatif bakterilerin *Acinetobacter spp.* olabileceği düşünüldü. Daha sonra Phoneix 100 BD (Becton Dickinson, ABD) identifikasyon sistemi ile suşların otomatize tip tayini yapıldı. *A.baumannii* olarak tiplendirilen suşların antibiyotik direnci disk difüzyon ve E-test yöntemleri ile çalışıldı.

3.3.1 Disk Difüzyon Yöntemi

Suşların antibiyotik duyarlılıkları MHA (Oxoid, İngiltere) ve standart antibiyotik diskleri (Oxoid, İngiltere) kullanılarak CLSI M02-A11’e göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle yapıldı ve inkübasyonu takiben elde edilen sonuçlar CLSI M100-S23’e göre yorumlandı (144, 145). Test için dört mm kalınlığında dökülmüş Muller Hinton Agar (MHA) besiyeri kullanıldı. Kanlı agarda üreyen saf *A.baumannii* suşları steril serum fizyolojik içerisinde; yoğunluğu türbidometrik yöntemle 0,5 McFarland olacak şekilde (Oxoid turbidometer, İngiltere) süspanse edildi ve steril eküvyon yardımı ile agar yüzeyine ekim yapıldı. Antibiyotik diskleri dispenser (Oxoid, İngiltere) ile birbirlerine uzaklıkları standart 25-30 mm olacak şekilde yerleştirildikten sonra petriler 37 °C’de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında her antibiyotik için inhibisyon zon çapı milimetrik olarak ölçülerek; test sonuçları, CLSI’ın önerdiği sınırlara göre duyarlı (S), orta duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak değerlendirildi (145). Kalite kontrol olarak *P. aeruginosa*

ATCC 27853 suşu kullanıldı. Disk difüzyon yöntemiyle *A.baumannii*'de kullanılan diskler ve zon çapları tablo 4'te özetlenmiştir (145).

Tablo 4: Disk difüzyon yöntemiyle *A.baumannii*'de kullanılan diskler ve zon çapları (mm).

| Antibiyotik | Duyarlı (S) mm | Orta duyarlı (I) mm | Dirençli (R) mm |
|-------------------------------------------------|----------------|---------------------|-----------------|
| Ampisilin/sulbaktam (SAM, 10/10µg) | ≥15 | 12-14 | ≤11 |
| Piperasilin/tazobaktam (TZP, 100/10µg) | ≥21 | 18-20 | ≤17 |
| Tikarsilin/klavulanik asit (TCL, 75 µg/10 µg) | ≥20 | 15-19 | ≤14 |
| Seftazidim (CAZ, 30µg) | ≥18 | 15-17 | ≤14 |
| Sefepim (FEP, 30µg) | ≥18 | 15-17 | ≤14 |
| Sefotaksim (CTX, 30µg) | ≥23 | 15-22 | ≤14 |
| Seftriakson (CRO, 30µg) | ≥21 | 14-20 | ≤13 |
| İmipenem (IPM, 10µg) | ≥16 | 14-15 | ≤13 |
| Meropenem (MEM, 10µg) | ≥16 | 14-15 | ≤13 |
| Gentamisin (CN, 10µg) | ≥15 | 13-14 | ≤12 |
| Amikasin (AK, 30µg) | ≥17 | 15-16 | ≤14 |
| Siprofloksasin (CIP, 5µg) | ≥21 | 16-20 | ≤15 |
| Levofloksasin (LEV, 5µg) | ≥17 | 14-16 | ≤13 |
| Trimetoprim/sülfametoksazol (SXT, 1.25/23.75µg) | ≥16 | 11-15 | ≤10 |

3.3.2 E-Test Yöntemi

Disk difüzyon yöntemi ile çoğul dirençli olarak değerlendirilen *A. baumannii* suşlarının imipenem, kolistin ve tigesikline duyarlılıklarının Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) düzeyinde saptanması için E-test yöntemi kullanıldı. Çalışmaya alınan MDR *A. baumannii* kökeninin her biri ile steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 Mc Farland bulanıklıkta süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyondan steril eküvyon ile MHA besiyeri içeren 15 cm çapındaki plak yüzeyine yaygın ekim yapıldı. Plaklar kurduktan sonra imipenem, kolistin ve tigesiklin stripleri (Etest-bioMeriux, ABD) yerleştirildi.

Plaklar 37 °C de, 18-24 saat inkübe edildikten sonra E-test striplerinin inhibisyon elipsleri ile kesiştiği noktalardaki MİK değerleri okunarak kaydedildi (Resim 2).

Resim 3: *A. baumannii*'nin imipenem, kolistin ve tigesikline duyarlılığının E-test yöntemiyle gösterilmesi.



İmipenem ve kolistin için elde edilen MİK değerleri CLSI'nin önerileri doğrultusunda değerlendirildi. Buna göre E-test striplerinin MİK değeri imipenem için; ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$ ise dirençli, 8 $\mu\text{g/ml}$ ise orta derecede duyarlı ve ≤ 4 $\mu\text{g/ml}$ ise duyarlı kabul edildi. Kolistin için MİK değerleri ise; ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ olduğunda dirençli, ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$ olduğunda duyarlı olarak değerlendirildi (145). Tigesiklin için CLSI standartları olmadığından Food and Drug Administration'in (FDA) *Enterobacteriaceae*'lerde önerdiği (≤ 2 mg/L duyarlı, 4 mg/L orta duyarlı ve ≥ 8 mg/L dirençli) kriterlere göre değerlendirildi (146). Çoğul ilaç dirençli *A. baumannii* izolatları moleküler çalışmada kullanılmak üzere boncuklu tüpler (Cryoinstant, Deltalab, İspanya) içerisine alınarak çalışma başlanıncaya kadar -80 °C'de buzdolabında (Sanyo, Japon) saklandı.

3.4. Suşlar Arasındaki Klonal İlişkinin Araştırılması

3.4.1 *Acinetobacter baumannii*'nin PFGE Uygulaması

Çalışmanın moleküler tiplendirme aşaması; Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Moleküler Mikrobiyoloji Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. PFGE uygulamasında Seifert ve ark. (135) standardize ettikleri protokol esas alınarak Prof. Dr. Rıza DURMAZ gözetiminde aşağıda kısaca özetlenen protokol ile moleküler tiplendirme yapıldı.

3.4.2 İzolatların hazırlanması

Biyokimyasal ve/veya moleküler yöntemlerle tür düzeyinde tanımlaması yapılmış ve -80°C'de saklanan *A. baumannii* izolatları, kanlı triptikaz soy agar besiyerine tek koloni ekimi yapıldı. Bir gecelik inkübasyondan sonra kültürün saflığı kontrol edildi. Saf kültür halinde olmayan kültürler tek koloniden tekrar uygun besiyerine, tek koloni ekimine uygun olacak şekilde pasaj yapıldı ve bir gece daha inkübasyona bırakıldı. Saf kültür halinde üreyen koloniler çalışmaya alındı.

Saf kültür halinde üreyen koloniler disposable öze ile toplandı ve 4 ml hücre süspansiyon tamponu (HST; 100 mM Tris, 100 mM EDTA, pH 8) içinde süspansiyon edildi.

Bakteri yoğunluğu, spektrofotometre (UV/Vis. Spectrophotometer, Boeco, Germany) yardımıyla 590 nm'de 1 absorbans (yaklaşık McFarland 4 bulanıklığı) olacak şekilde ayarlandı. Bakteri süspansiyonu 55 °C'de 10 dakika bekletildi. Hazırlanan süspansiyon, kısa süre içinde (yaklaşık 5 dakika) agarozaya gömülecek ise oda ısısında, daha gecikecek ise kırık buz içinde bekletildi.

3.4.3 İzolatların agaroz gömülmesi

HST içerisinde %1'lik SeaKem Goldagaroz (Gibco BRL Paisley, UK) hazırlandı.

- 0.1 g SeaKem Goldagaroz, 100 ml'lik balona konuldu.
- Üzerine 10 ml HST eklendi ve yavaşça karıştırılarak agarın erimesi sağlandı.
- Balonun ağzına alüminyum folyo kapatılarak mikrodalga fırında 10 saniye tutuldu, çıkarılarak hafifçe karıştırıldı. Tekrar 2-3 saniye mikrodalga fırınında tutuldu. Agaroz iyice çözülünceye kadar kısa süreli mikrodalgada tutma işlemi tekrarlandı. İçinde hava kabarcığı ve partikül kalmayınca kadar eritilip karıştırıldı
- Agaroz iyice çözüldükten sonra, balon daha önce sıcaklığı 50°C'ye getirilmiş çalkalamalı su banyosuna konuldu.
- Steril ependorf tüplere, 100 µl dağıtıldı ve 50°C'deki kuru ısı bloğunda bekletildi.

Her suş için bir agaroz kalıbı (10 mm x 5 mm x 1.5 mm, BioRad Laboratories) işaretlenip, kalıpların alt kısmı otoklav bandı ile sıkıca kapatıldı. Kalıplardaki her bölme için suşların numaraları cama yazar kalem ile yazıldı ve kalıp buz kabına oturtuldu.

HST içinde hazırlanmış bakteri süspansiyonundan 100 µl alınarak üzerine 5µl proteinaz K (Fermentas, Litvanya),(20 mg/ml stok solüsyondan) eklendi. 50 °C'de tutulan ve içerisinde 100 µl SeaKeam Goldagaroz bulunan tüpe eklendi. Üzerine TE tamponu (10 mMTris, 1mM EDTA, pH8.0) içinde hazırlanmış %1'lik sodyum dodesil sülfat (SDS),(Sigma, Almanya) eklendi. Birkaç defa pipetaj yapılarak hücrelerin agaroz içinde homojen dağılması sağlandı. Bekletilmeden, hücre-agaroz-SDS karışımından 100 µl hava

kabarcığı olmayacak şekilde agaroz kalıbına dağıtıldı. Kalıplar, agaroz katılaşmaya kadar oda ısısında 5 dakika ve buzdolabında (+4°C'de) 5 dakika olmak üzere 10 dakika bekletildi.

3.4.4 Agaroz içindeki hücrelerin parçalanması

15 ml'lik steril kapaklı tüplere, 5 ml hücre lizis solüsyonu (HLS; 50mMTris, 50 mMEDTA (pH 8), %1 sarkozil) ve 25µl proteinaz K (20 mg/ml stok solüsyondan) konuldu. Agaroz kalıbının arkasındaki otoklav bandı yavaşça söküldü ve +4°C'de katılmış şeffaf kalıplar, zedelenmeden lizis solüsyonu bulunan tüplere konuldu. Tüpler çalkalamalı su banyosuna hafif yatık pozisyonda yerleştirildi ve 55 °C'de 2 saat çalkalamalı su banyosunda bekletildi.

3.4.5 Hücre lizisinden sonra agaroz kalıplarının yıkanması

Lizis aşamasından sonra agaroz kalıbının katılması için tüpler buz içerisinde en az 15 dakika ekletildi. HLS dikkatli bir şekilde pipet yardımıyla aspire edildi. Bu aşamada agaroz kalıplarının parçalanmamasına özen gösterildi. Daha sonra agaroz kalıpları 10 ml ultra saf su (Reagent Grade Type 1) ile iki defa ve 10ml TE tamponuyla üç kez yıkandı. Her bir yıkama işlemi çalkalamalı su banyosunda 55 °C'de, 15 dakika yapıldı. Yıkama işlemleri sonrasında agaroz kalıplarının şeffaflaştığı görüldü. Böylece içinde saflaştırılmış DNA bulunan agaroz, restriksiyon enzimi (RE) ile kesime hazır hale getirilmiş oldu.

3.4.6 Agaroz kalıpları içindeki DNA'nın RE ile kesilmesi

Bu aşamada *A. baumannii* için etkinliği daha önce araştırılmış olan *ApaI* restriksiyon enzimi (10 U/µl) (Fast Digest Fermentas, Litvanya) kullanıldı.

DNA içeren agaroz kalıbı bir lam üzerine alınarak bir bistürü yardımıyla ¼ oranında kesildi. Parçalardan biri, 100 µl 1x *ApaI* tamponu içine konularak 37°C'de 10 dakika bekletildi. (Diğer parçalar sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere TE tamponu içinde +4 derecede saklandı). Daha sonra sıvı aspire edildi.

Her agaroz kalıbı için aşağıdaki karışım hazırlandı.

| | |
|---------|-------------------------|
| 10 µl | 10x <i>ApaI</i> tamponu |
| 2.5 µl | <i>ApaI</i> enzimi |
| 87.5 µl | Ultra saf su |
| <hr/> | |
| 100 µl | Toplam hacim |

Hazırlanan karışımın içerisine, enzimin tamponu ile yıkanmış agaroz kalıbı konuldu ve çalkalamalı su banyosunda 37 °C'de 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüpler buzdolabında 15 dakika bekletildi. Böylece kalıplar elektroforez için hazır hale getirildi.

3.4.7 Elektroforez jelinin hazırlanması ve kalıpların jele yüklenmesi

100 ml 0.5xTBE (44.5mM Trismabase, 44.5mM Borik asit, 1 mM EDTA, pH 8.4) içinde % 1 'lik SeaKem Gold agaroz hazırlandı.

1 g SeaKem Gold agaroz 200 ml'lik balona konuldu. Üzerine 100 ml 0.5xTBE eklendi ve yavaşça karıştırılarak agarın dağılması sağlandı. Balonun ağzına aliminyum folyo kapatılarak mikrodalga fırında 60 saniye tutuldu, çıkarılarak hafifçe karıştırıldı, tekrar 15 saniye mikrodalga fırınında tutuldu. Agaroz iyice çözüldükten sonra, balon 50 °C'lik çalkalamalı su banyosuna konuldu. Agaroz dökülecek kaset hazırlandı, sızdırmaması için etrafı bantlandı ve daha sonra su terazisi ile tamamen düzgün olduğu kontrol edilmiş bir zemine konuldu.

RE ile kesilmiş olan agaroz kalıplarının her biri, 15 dişli tarağın dişlerinin uç kısmına, yuvarlak uçlu öze yardımıyla, tarağın uç çizgisine tam paralel olacak şekilde yerleştirildi. Tarağın iki kenar ve ortasındaki dişlerine (1., 8. ve 15.) kontrol suşuna ait kalıplar yerleştirildi. Kurutma kağıdı ile agaroz kalıplarının etrafındaki sıvının fazlası alındı. Maksimum beş dakika oda ısısında bekletildikten sonra, örnek konulan kısım DNA'nın yürüyeceği yöne gelmek kaydıyla, tarak agaroz dökülecek kaset içine dik gelecek şekilde yerleştirildi.

Su banyosundan çıkarılmış ve sıcaklığı yaklaşık 45-50°C olan agaroz dikkatli bir şekilde, hava kabarcığı oluşturulmadan kaset içine yavaşça döküldü. Oda ısısında 20-30 dakika katılaşmaya bırakıldıktan sonra tarak dikkatli bir şekilde çıkarıldı. Daha sonra, agaroz kasetinin çerçeveleri çıkarılıp, tabla üzerindeki agaroz, içerisinde 2000 mililitre 0.5x TBE tamponu bulunan PFGE tankına dikkatlice yerleştirildi.

3.4.8. Elektroforez

CHEF-DR II sistemi (Bio-Rad Laboratories, Nazareth, Belgium) kullanıldı. Uygulanan elektroforez koşulları: Başlangıç vuruş süresi **5sn**, bitiş vuruş süresi **20sn**, vuruş açısı **120°**, akım **6 V/cm²**, sıcaklık **14 °C**, süre **19 saat** olarak uygulandı.

3.4.9. Sonuçların Gözlenmesi ve Analizi

Elektroforezden sonra jel, 5 µl/ml etidyum bromür (Sigma, Almanya) içeren 400 ml ultra saf su içine alındı, 30 dakika boyanması için bekletildi. Daha sonra jel 400 ml ultra saf su içerisinde 5-10 dakika bekletilerek DNA'ya bağlanmamış boya uzaklaştırıldı.

Boyanan jel, Gel Logic 2200 imaging system (ayrım gücü 1708x1280 pixel, Kodak Company, NY, USA) kullanılarak DNA bant görüntülerinin fotoğrafı çekildi, resimler TIFF formatında kayıt edildi.

Gel Compar II yazılım sistemi (version 3.0, Applied Maths, Belçika) kullanılarak bant profilleri analiz edildi. Öncelikle her resimde bulunan üç adet standart (1., 8. ve 15. kuyucuklarda yürütülen) yardımı ile resimler arası normalizasyon yapıldı. “Unweighted pair group method with mathematical averaging (UPGMA)” kullanılarak PFGE profillerinin, dendrogramı oluşturuldu ve kümeleşme analizi yapıldı. Bantlara bağlı "Dice" benzerlik katsayısına göre suşlar arasındaki ilişki belirlendi. Benzerlik katsayısının hesaplanmasında bant ve profil toleransı, %1-1.5 olarak alındı. Bant profilleri %80 benzerlik gösteren izolatlar aynı küme içinde değerlendirildi ve büyük harfle isimlendirildi. Aynı küme içerisindeki subtipler ise rakamlar ile gösterildi. Buna göre; %90-100 uyum gösteren suşlar aynı, %80-90 arası uyum gösterenler yakın ilişkili, %70-80 arası uyum gösterenler muhtemel ilişkili olarak değerlendirildi. %70'in altında uyum ise iliskisiz olarak kabul edildi.

Tenover ve ark(134).tarafından geliştirilmiş olan kriterler kullanılarak izolatlar aynı, yakın ilişkili, muhtemel ilişkili ve iliskisiz olarak değerlendirildi.

3.5 İstatistiksel Analizler

Üzerinde durulan özelliklerden sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler olarak ifade edilirken, kategorik değişkenler için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Hesaplamalar için SPSS (ver:13) istatistik paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Epidemiyolojik İlişki ve Risk Faktörlerine Ait Bilgiler

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde AYBÜ, GHYBÜ ve PYBÜ'de yatan *A. baumannii* nedenli Ventilator İlişkili Pnömoni (VİP) ve Primer Kan Dolaşımı Enfeksiyonu (PKDE) tanısı doğrulanmış, hastane kayıtlarına ulaşılabilen 72 hasta ve 72 *A. baumannii* izolatu çalışmaya alındı. 3 izolatin PFGE ile tiplendirmesi yapılamadığından çalışmaya 69 hasta ve izolat ile devam edildi.

Çalışmaya dahil edilen 69 hastanın 35(%50,7)'i erkek ve 34(%49,3)'ü kadındı. Hastaların yaşları 1-86 arasında değişmekte idi (ortalama yaş 54). *Acinetobacter*'ler sıklıkla 61–80 yaş aralığındaki hastalardan izole edildi (Tablo 5).

Tablo 5: Hastaların yaş grubuna göre dağılımı.

| Yaş aralığı | 0–20 yaş | 21–40 yaş | 41–60 yaş | 61–80 yaş | 81 yaş ve üstü |
|-------------|----------|-----------|-----------|-----------|----------------|
| Sayı | 9 | 8 | 16 | 31 | 5 |
| Yüzde | 13 | 11,6 | 23,2 | 44,9 | 7,2 |

Acinetobacter izolatlarının 41 (%59,4) tanesi AYBÜ, 24 (%34,8) tanesi GHYBÜ ve 4 (%5,8) tanesi PYBÜ'de izole edildi. Örneklerin 45(%65,2)'i derin trakeal aspirat ve 24(%34,8)'ü kan kültüründen izole edildi. Bu izolatlardan 29 (%42) tanesi 2010, 28 (%40,6) tanesi 2011 ve 12 (%17,4) tanesi 2012 yılına aitti (Tablo 6).

Tablo 6: Yıllara ve YBÜ'lere göre izolat sayıları ve oranları.

| Yıl | 2010 | | | 2011 | | | 2012 | | |
|------|------|-------|------|------|-------|------|------|-------|------|
| | AYBÜ | GHYBÜ | PYBÜ | AYBÜ | GHYBÜ | PYBÜ | AYBÜ | GHYBÜ | PYBÜ |
| Sayı | 18 | 10 | 1 | 11 | 14 | 3 | 12 | 0 | 0 |
| Oran | 26 | 14,4 | 1,4 | 16 | 20 | 4,3 | 17,3 | | |

Hastaların 63 (%91) tanesi VİP, 6 (%9) tanesi ise PKDE tanısı almıştı. Hastaların hastaneye yatış nedenleri arasında; akciğer ve toraks hastalıkları (%58) ilk sırada, daha

sonra travmalar (%20,3) ve SSS hastalıkları (%18,8) gelmekte idi. Tüm hastalara YBÜ yatışı boyunca en az iki invaziv girişim uygulanmıştı. Üriner kateterizasyon (%100), mekanik ventilasyon (%94,2) ve periferik venöz kateterizasyon (%91,3) en sık uygulanan invaziv girişimlerdi (Tablo 7).

Tablo 7: Çalışmaya dahil edilen hastaların genel özellikleri.

| Hastaneye Başvuru Nedenleri* | Sayı (%) |
|-------------------------------------------------------|-----------|
| • SSS hastalıkları | 13 (18,8) |
| • Akciğer ve toraks hastalıkları | |
| ▪ Pnömoni | 16 (23,2) |
| ▪ Malignite | 5 (7,2) |
| ▪ KOAH | 19 (27,5) |
| • Travmalar | |
| ▪ AİTK | 6 (8,7) |
| ▪ ADTK | 5 (7,2) |
| ▪ Künt travma | 3 (4,3) |
| • Kardiyovasküler sistem hastalıkları | 11 (15,9) |
| • Gastrointestinal sistem hastalıkları | 8 (11,6) |
| • Hematolojik ve onkolojik hastalıklar | 3 (4,3) |
| • Endokrinolojik sistem hastalıkları | 7 (10) |
| Acinetobacter enfeksiyonu için risk faktörleri | |
| Reentübasyon | 15 (21,8) |
| Nazogastrik sonda | 60 (87) |
| Üriner kateter | 69 (100) |
| Mekanik ventilasyon | 65 (94,2) |
| Trakeotomi | 29 (42) |
| Diabetes mellitus | 22 (31,9) |
| Kronik böbrek yetmezliği | 4 (5,8) |
| Periferik venöz kateter | 63 (91,3) |
| Santral venöz kateter | 56 (81,2) |
| İmmünsüpresyon | 31 (44,9) |
| Enteral beslenme | 61 (88,4) |
| TPN ile beslenme | 44 (63,8) |
| Cerrahi girişim | 11 (15,9) |
| Malignite | 10 (14,4) |

*Hastalarda birden fazla başvuru nedenlerinden dolayı toplam sayı 69'dan fazladır.

Hastaların 41 (%59,4)'inin son üç ay içinde hastaneye yatış öyküsü ve 53 (%76,8)'ünün birden fazla antibiyotik kullanma öyküsü vardı. YBÜ'ye yatan hastaların 65 (%94,2)'ine invaziv mekanik ventilasyon uygulanmıştı. Mekanik ventilasyon günü kültür

öncesi ortalama 17 gün (st. sapma 12,9) ve kültür sonrası ortalama 14 gün (st. sapma 12) idi. Hastalarda YBÜ'ye yatışlarının ortalama 17. gününde *A. baumannii*'ye bağlı enfeksiyon gelişti. 65 (%94,2) hasta YBÜ'de kültür alındığında birden fazla grup antibiyotik kullanmakta idi. Siprofloksasin (%47,8), piperasilin-tazobaktam (%40,6) ve karbapenemler (%37,6) en çok kullanılan antibiyotiklerdi. Hastalar ortalama 33.4 gün YBÜ'de yatmıştı. 16 (%23,2) hasta taburcu edilmiş, 53 (% 76,8) hasta kaybedilmişti.

4.2 A. *baumannii* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları

Disk difüzyon ve E-test ile yapılan duyarlılık testlerinde; tüm suslar için en etkili antimikrobiyal ajan %98,6 duyarlılık oranı ile kolistin olarak tespit edildi. İkinci sırada ise en etkili antimikrobiyal ajan tigesiklin (%97) idi. Suşların tamamı piperasilin/tazobaktam, seftriakson, sefotaksim, meropenem ve imipenem dirençli bulundu (Tablo 8).

Tablo 8: *A. baumannii* izolatlarının antibiyotiklere karşı direnç durumu.

| Antibiyotik | Disk Difüzyon Testi | | E-test | |
|-----------------------------|---------------------|-----------|---------------|-----------|
| | Direnç (n:69) | Yüzde (%) | Direnç (n:69) | Yüzde (%) |
| Ampisilin/sulbaktam | 66 | 95,7 | | |
| Piperasilin/tazobaktam | 69 | 100 | | |
| Tikarsilin/klavulanik asit | 64 | 92,8 | | |
| Seftazidim | 66 | 95,7 | | |
| Sefepim | 66 | 95,7 | | |
| Sefotaksim | 69 | 100 | | |
| Seftriakson | 69 | 100 | | |
| Levofloksasin | 48 | 69,6 | | |
| Meropenem | 69 | 100 | | |
| Gentamisin | 64 | 92,8 | | |
| Amikasin | 59 | 85,5 | | |
| Siprofloksasin | 66 | 95,7 | | |
| Trimetoprim/sülfametoksazol | 52 | 75,4 | | |
| İmipenem | 69 | 100 | 69 | 100 |
| Kolistin | | | 1 | 1,4 |
| Tigesiklin | | | 2 | 2,9 |

Test edilen suşlardan üç veya daha fazla grup antibiyotiğe (MDR) dirençli suş sayısı 60 (%87), kolistin ve tigesiklin hariç (XDR) diğer antibiyotiklere dirençli 8 (%11,6) ve çalışılan tüm antibiyotiklere (PDR) dirençli 1 (%1,4) suş bulundu.

4.3. Moleküler Tiplendirme

A. baumannii izolatlarının antibiyogram tiplendirilmesi yapıldıktan sonra genotipik tiplendirilmesi amacıyla yapılan PFGE çalışmasında *A. baumannii* DNA'ları *ApaI* restriksiyon enzimiyle kesildikten sonra çeşitli bant paternlerinin görüldüğü PFGE jel görüntüleri ortaya çıktı (Resim 4, 5, 6, 7, 8, 9).

PFGE bant profillerinin sergilendiği *A. baumannii* suşlarının jel görüntülerinden bir sonraki aşamada dendogram analizi yapıldı. Gel-Compare-II kullanılarak yapılan bant profil analizinden sonra PFGE profil dendogramları oluşturularak Dice benzerlik katsayısına göre suşlar arasındaki ilişkiler belirlendi. Bu istatistiksel analizde %90-100 uyum gösteren suşlar aynı; %80-90 arası uyum gösterenler yakın ilişkili; %70-80 arası uyum gösterenler muhtemel ilişkili olarak değerlendirildi. %70'in altında uyum ise iliskisiz olarak kabul edildi.

PFGE ile tiplendirilmesi yapılan 72 suşun üç tanesinden düzgün bant görüntüleri alınamadı. İki kez aynı protokol ile çalışılmasına rağmen sonuç alınamadı. PFGE yöntemiyle 69 *A. baumannii* suşunun 62(%89,9)'sinin küme içinde olduğu saptandı. Bu suşlar 16 küme içinde yer almaktaydı. Suşların 7(%10,1)'si özgül PFGE profili gösterdi. Kümeleşmede suş aralığı 2-9 arasında değişmekteydi. Tiplendirmeye alınan suşlar arasında 23 pulsotip saptandı. Hasta ve *A.baumannii* suşları aynı numara ile adlandırılarak kümelere göre yorumları yapıldı (Hasta no;1 : suş no;1).

4.4 Küme İçinde Yer Alan Suşların Epidemiyolojik İlişkileri

Birinci küme (Patern 1): İki suş içermektedir (29 ve 35). İlk suş 06.02.2011 tarihinde AYBÜ'de izole edildi, ikinci suş dört ay sonra aynı üniteye izole edildi.

İkinci küme (Patern 3): İki suş içermektedir (53 ve 57). İlk suş 07.10.2012 tarihinde AYBÜ’de izole edildi, ikinci suş bir ay sonra aynı ünite de izole edildi.

Üçüncü küme (Patern 5): Dört suş içermektedir (18, 63,15 ve 19). Bu kümedeki ilk suş (19) 25.01.2010 tarihinde AYBÜ’de izole edildi. 18 ve 15 no’lu suşlar bir ve dokuz ay sonra aynı ünite de izole edildi. 63 no’lu hasta Ocak 2010 da AYBÜ’de hematolojik malignite tanısıyla yatmış, daha sonra Dahiliye servisine yatırılmış. Şubat 2010 da kardiyak arrest gelişen hasta entübe edilerek GHYBÜ’ye alınmış. 10.03.2010 tarihinde VİP gelişen hastanın kan kültüründe 63 no’lu suş izole edildi.

Dördüncü küme (Patern 6): İki suş içermektedir (30 ve 42). Aynı zamanda üçüncü küme ile yakın ilişkilidir. Her iki suş Ağustos 2010 tarihinde GHYBÜ’de aynı dönemde yatmış, VİP tanısı alan iki ayrı hastadan izole edildi.

Beşinci küme (Patern 7): İki suş içermektedir (14 ve 61). 61 no’lu hasta 10.01.2010 tarihinde beyin kanaması nedeniyle Nöroloji servisine yatırılmış, beş gün sonra solunum arresti gelişen hasta entübe edilip AYBÜ’ye alınmış. Aynı günlerde 14 no’lu hasta araç dışı trafik kazası nedeniyle AYBÜ’ye yatırılmış. 25 gün sonra her iki hastadan gönderilen kan kültürlerinde yakın ilişkili olan suşlar izole edildi.

Altıncı küme (Patern 9): En fazla suş içeren küme olup dokuz suş içermektedir (47, 64, 23, 24, 16, 17, 4, 5 ve 11). 4, 5 ve 11 no’lu izolatlar aynı suş olarak değerlendirildi. İlk suş 06.02.2011 tarihinde GHYBÜ’de izole edilmiş, diğer iki suş iki ay sonra aynı ünite de izole edilmişti. 16 ve 17 no’lu suşlar aynı suşlar olup Haziran ve Ağustos 2011 tarihlerinde AYBÜ’de izole edilmişti. 23 ve 24 no’lu suşlar aynı suşlar olup ilk suş Haziran 2010 tarihinde GHYBÜ’de, ikinci suş yedi ay sonra aynı ünite de izole edildi. 47

ve 64 nolu izolatlar yakın ilişkili olup, aralık 2010 ve şubat 2011 tarihlerinde PYBÜ'de izole edildi.

Bu kümedeki izolatlar kendi içerisinde yakın ilişkili olup ilk suş (23) 11.06.2010 tarihinde GHYBÜ'de izole edilmiş, bu suş tüm yoğunbakım ünitelerini dolaşarak 14 ay sonra 30.08.2011 tarihinde AYBÜ'de izole edilmişti. Bu klondaki suşlar üç YBÜ'de de izole edildiler.

Yedinci küme (Patern 10): İki suş içermektedir (37 ve 39). Aynı zamanda altıncı küme ile yakın ilişkilidir. İlk suş 19.02.2011 tarihinde GHYBÜ'de izole edilirken ikinci suş üç ay sonra AYBÜ'de izole edildi.

Sekizinci küme (Patern 11): Sekiz suş içermektedir (65, 67, 3, 25, 27, 31, 32 ve 36). Bu kümedeki 25, 27 ve 31 no'lu izolatlar aynı suş olarak değerlendirildi. İlk suş (31) 27.06.2010 tarihinde AYBÜ'de izole edildikten sonra ikinci suş altı ay sonra aynı üniteye izole edildi. Üçüncü suş ilk izolattan sekiz ay sonra 14.02.2011 tarihinde GHYBÜ'de izole edildi. Bu kümedeki klon en son 11 ay sonra GHYBÜ'de 24.05.2011 tarihinde izole edildi.

Dokuzuncu küme (Patern 12): Dört suş içermektedir (41, 44, 20, 21). İlk suş 27.10.2010 tarihinde AYBÜ'de izole edildi. Daha sonra şubat 2011'de PYBÜ'de görülen suş (41), son olarak (21) 20.04.2011 tarihinde AYBÜ'de izole edildi.

Onuncu küme (Patern 14): İki suş içermektedir (26, 28). İlk suş(28) 15.03.2010 tarihinde AYBÜ'de izole edildi. İkinci suş (26) beş ay sonra aynı üniteye izole edildi.

On birinci küme (Patern 16): Üç suş içermektedir (54, 58, 52). İlk suş (58) 01.07.2012 tarihinde AYBÜ’de izole edildi. İkinci suş (54) 58 no’lu hasta ile aynı dönemde yatan VİP tanısı almış hastanın kan kültüründen izole edildi. Üçüncü suş (52) bir ay sonra aynı üniteden izole edildi.

On ikinci küme (Patern 17): Altı suş içermektedir (55, 56, 59, 48, 49, 60). Aynı zamanda on birinci küme ile muhtemel ilişkilidir. İlk suş (60) hastanemiz eski binasında AYBÜ’de 15.01.2010 tarihinde izole edildi. İkinci suş (59) yeni binada AYBÜ’de 10.07.2012 tarihinde izole edildi. Diğer suşlar (55, 56, 48, 49) sonraki dört aylık dönem içinde yeni binadaki AYBÜ’de izole edildiler. Bu klon AYBÜ’de (eski ve yeni bina) 34 ay süre ile varlığını sürdürdü.

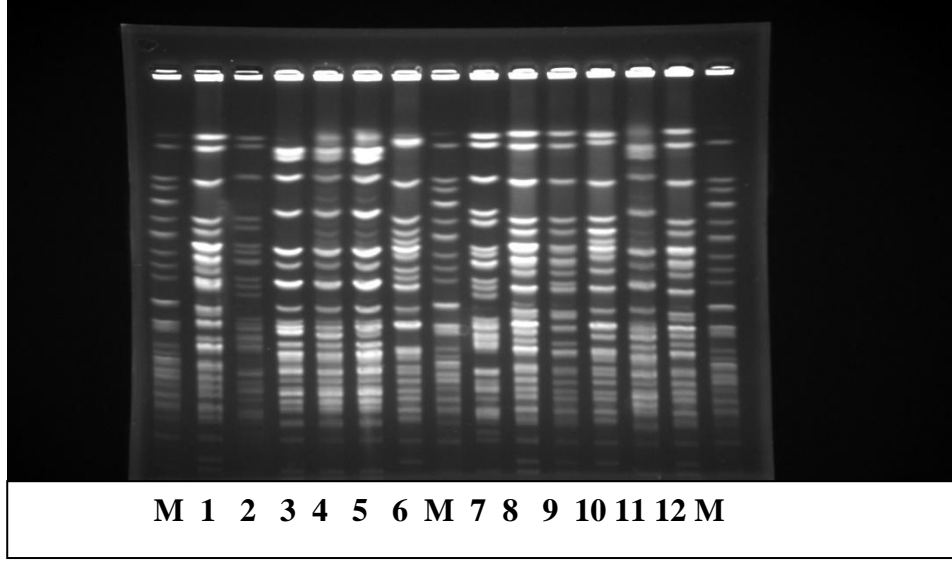
On üçüncü küme (Patern 18): Altı suş içermektedir (8, 12, 1, 9, 66, 51). Kümedeki suşlardan ilk ikisi (1, 9) 2010 Aralık ayında KOAH akut alevlenmesi nedeniyle GHYBÜ’de yatan iki ayrı hastanın dta kültürlerinden izole edildi. Daha sonra Şubat 2011’de PYBÜ’de görülen suş (66), Mayıs 2011 de tekrar GHYBÜ’de aynı gün kültürleri alınan VİP tanılı iki ayrı hastanın (8, 12) kan ve dta kültürlerinden izole edildi. Bu klondaki son suş (51) 13.09.2011 tarihinde AYBÜ’de izole edildi. Bu klondaki suşlar üç YBÜ’de de izole edildiler.

On dördüncü küme (Patern 19): İki suş içermektedir (34, 50). İlk suş 03.12.2010 tarihinde GHYBÜ’de izole edildi. İkinci suş 17.10.2012 tarihinde hastanemiz yeni binadaki AYBÜ’de izole edildi.

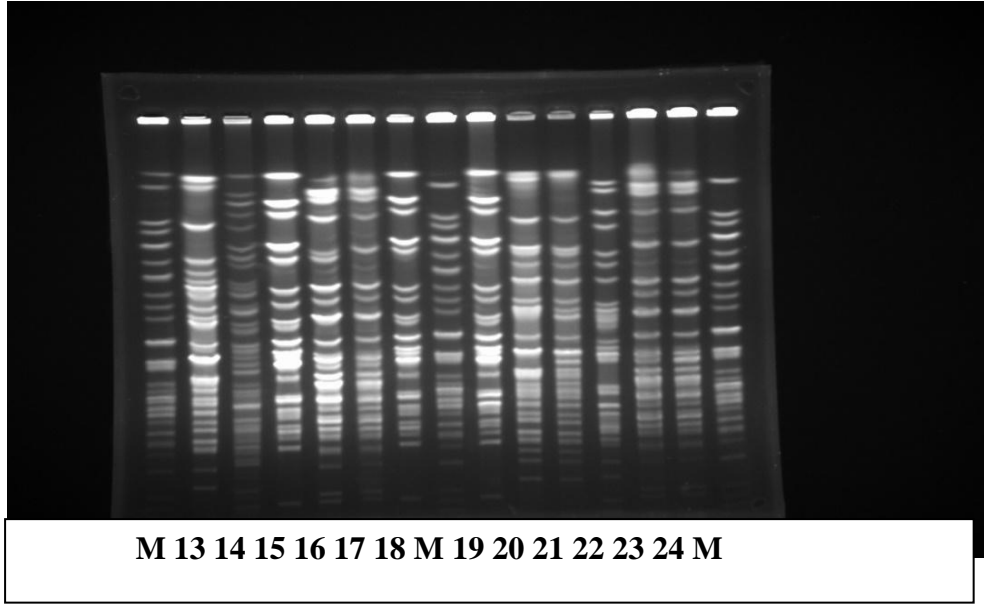
On beşinci küme (Patern 20): Altı suş içermektedir (62, 69, 10, 13, 40, 6). İlk suş 12.05.2010 tarihinde AYBÜ’de izole edildi. İkinci suş dört ay sonra aynı ünite de izole

edildi. Üçüncü suş 07.10.2010 tarihinde GHYBÜ'de izole edildi.10 ve 13 no'lu suşlar 2011 nisan ayında aynı dönemde yatmış iki ayrı VİP hastasının kan ve dta kültürlerinden izole edildi.

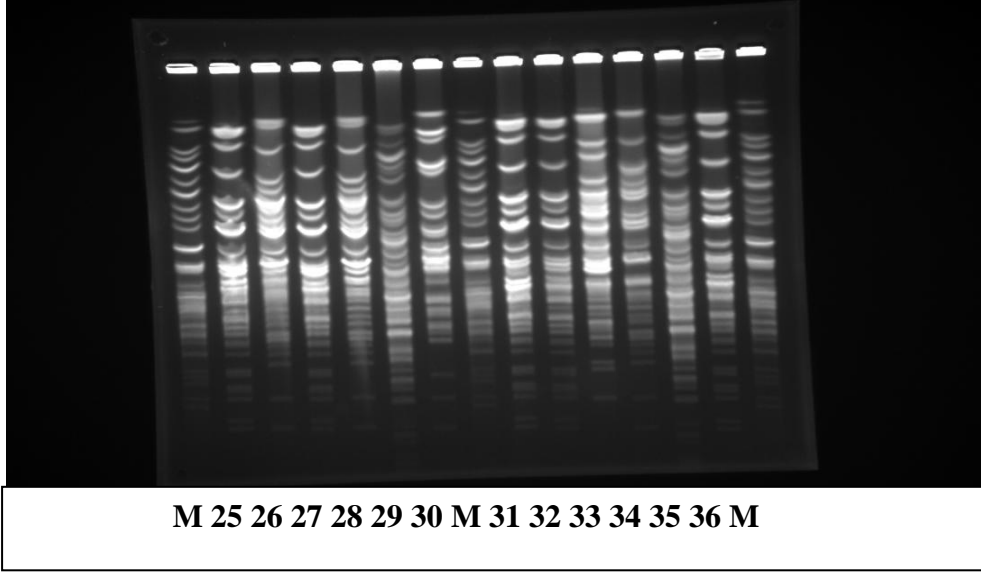
On altıncı küme (Patern 21): İki suş içermektedir (2,7). Bu kümedeki suşlar nisan 2011 tarihinde aynı dönemde yatan ve VİP tanısı alan iki ayrı hastanın kan ve dta kültürlerinden izole edildiler.



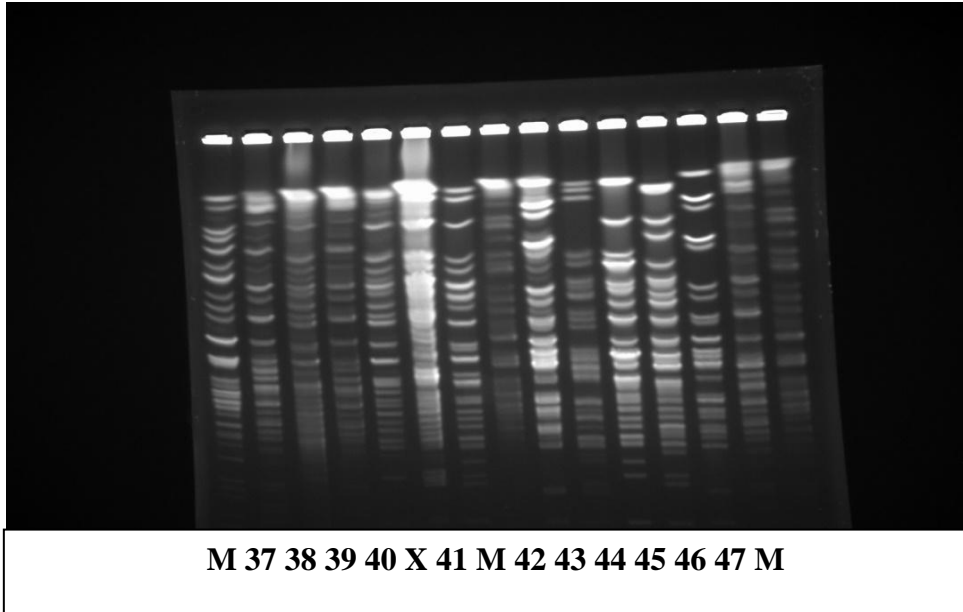
Resim 4: **PFGE 1.grup**; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 No'lu suşlara ait PFGE görüntüleri. M: Marker; kontrol suşu.



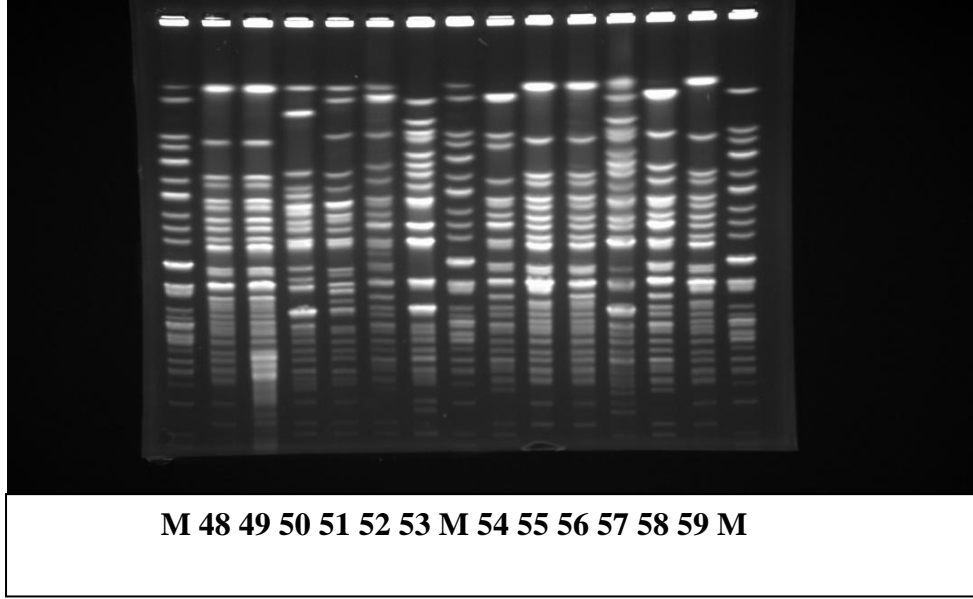
Resim 5: **PFGE 2.grup**; 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, No'lu suşlara ait PFGE görüntüleri.



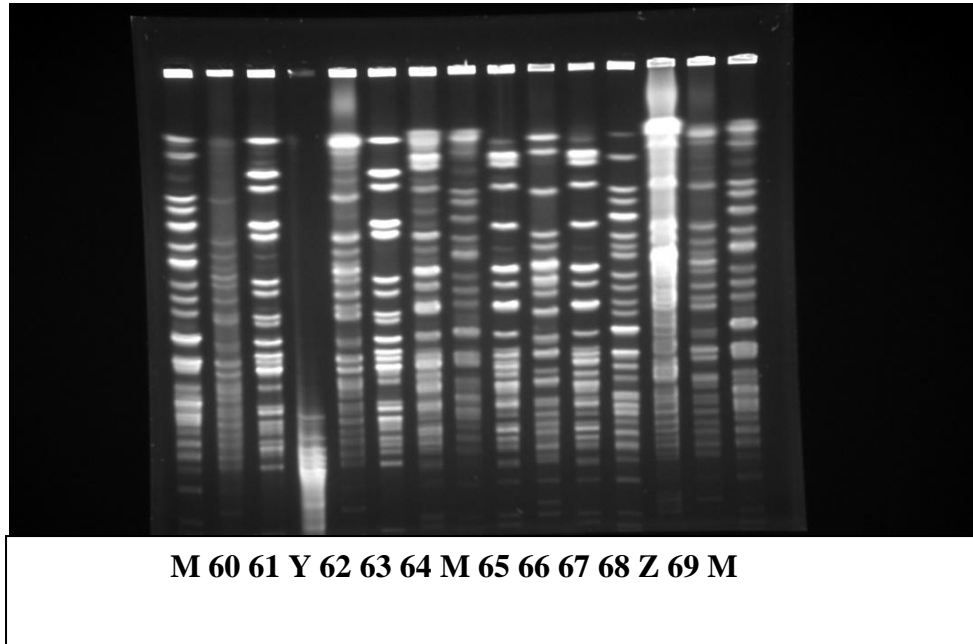
Resim 6: **PFGE 3.grup**; 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37 No'lu suşlara ait PFGE görüntüleri.



Resim 7: **PFGE 4.grup**; 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47 No'lu suşlara ait PFGE görüntüleri. X izolat iki kez çalışılmasına rağmen jel görüntüsü iyi alınamadı.

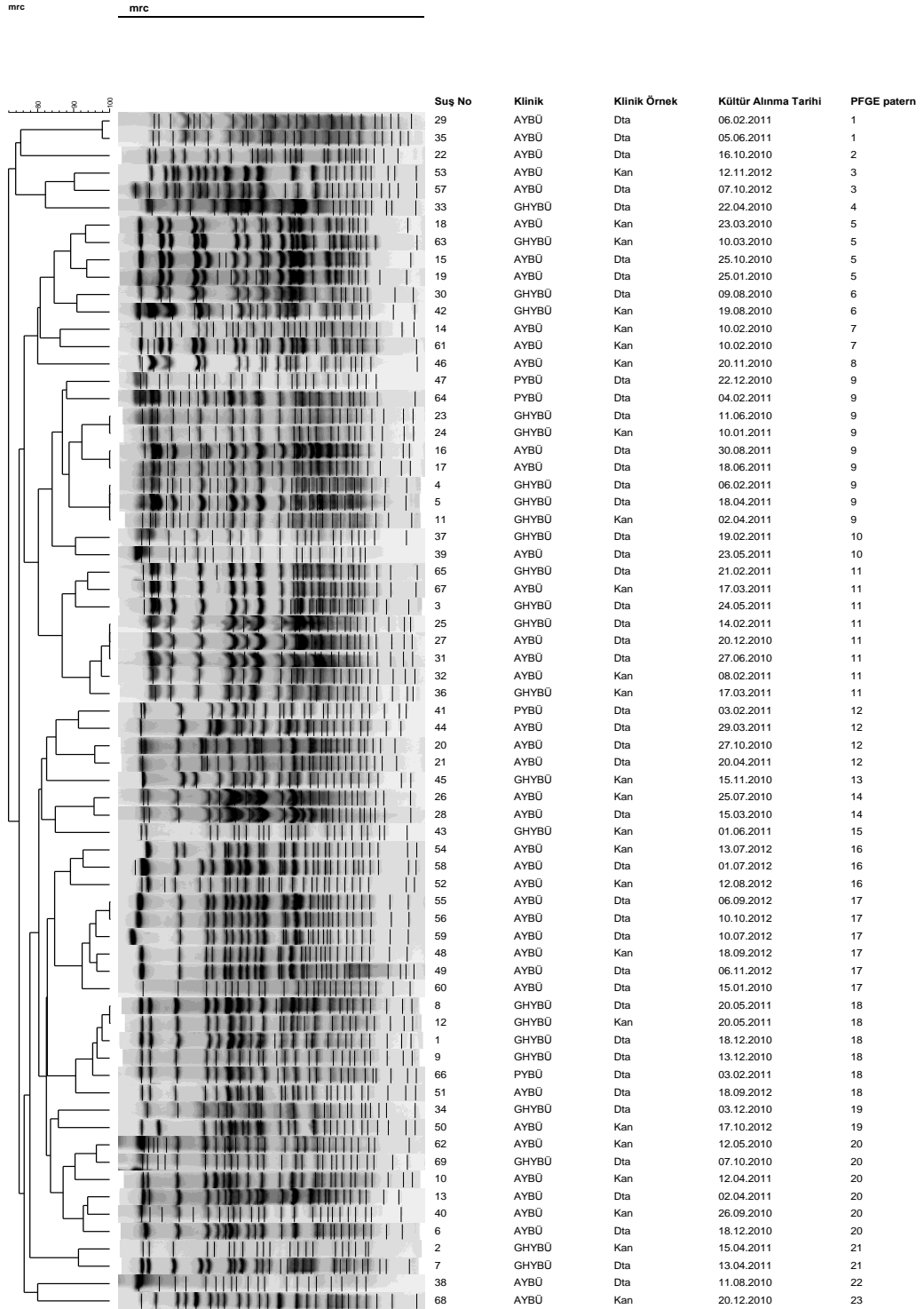


Resim 8: **PFGE 5.grup**; 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, No'lu suşlara ait PFGE görüntüleri.



Resim 9: **PFGE 6.grup**; 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 No'lu suşlara ait PFGE görüntüleri. Y ve Z izolatları iki kez çalışılmasına rağmen jel görüntüleri iyi alınmadı.

Şekil 2: *A. baumannii* izolatlarının PFGE dendogram görüntüsü



5. TARTIŞMA

Artmış morbidite ve mortalitenin yanı sıra, uzamış hastanede kalış süresi, giderek artan direnç oranları ve yüksek tedavi maliyetleri ile ilişkili *Acinetobacter* enfeksiyonları, hastane de yatan hastaların sağlığını tehdit eden önemli bir sorundur (17, 69). Bu sorun ile mücadelede, konağa ait etmenlerin, etkene ait yaşam döngüsünün ve etkenin epidemiyolojik özelliklerinin, etken-hasta-ortam ilişkilerinin, bakterinin tedavi seçeneklerine karşı gösterdiği direncin mekanizmasının ve yayılımının belirlenmesi ana unsurların başında gelmektedir.

Yoğun bakım imkanlarının artması ve buna paralel olarak YBÜ'lerde daha ağır hastaların takip edilmesi, hastaların konak savunmasının bozulması, mekanik ventilasyon, trakeotomi, entübasyon, damar içi kateterizasyon ve üriner kateter gibi invaziv girişimlerin daha sık olması, çoklu antibiyotiklere maruz kalma ve dirençli mikroorganizmalarla kolonizasyon gibi nedenler hastane kökenli enfeksiyonların YBÜ'de artmasındaki başlıca risk faktörleridir (23).

Acinetobacter yakın bir zamana kadar enfeksiyona nispeten kolonizasyon yapma kapasitesi daha yüksek olan, düşük virülanslı bir mikroorganizma olarak bilinmekteydi. Fakat günümüzde *A. baumannii* başta olmak üzere *Acinetobacter* türlerinin enfeksiyon oluşturma yeteneklerinin yüksek olduğu ve bu etkenlere bağlı hastane kökenli enfeksiyonların tüm dünyada hızla artış gösterdiği bilinmektedir (147, 148).

Yapılan bir çalışmada hastanede kazanılmış enfeksiyonların gerek uzamış yatış süresi, gerekse de artmış maliyet açısından anlamlı risk teşkil ettiği belirlenmiştir. Hastanede kazanılmış enfeksiyonlar; uzamış yatış süresi, antibiyotik tedavisinin maliyeti,

antibiyotik düzey takibi ve organ toksisitesinin monitörizasyonu için yapılan biyokimyasal parametrelerin takibi, enfeksiyon nedeniyle yapılan ek görüntüleme ve cerrahi girişimler nedeniyle artmış maliyetle ilişkili olabileceği, hastanede kazanılmış enfeksiyonların önlenmesinin hasta maliyetlerini düşürmede faydalı olabileceği; bu enfeksiyonların önemli bir kısmının yoğun bakım ekibinin eğitimi ve enfeksiyon kontrol programlarının etkin olarak çalıştırılmasıyla engellenebileceği bildirilmiştir (149).

Hastane enfeksiyonlarının antibiyotik tedavi maliyeti, HE'ye bağlı ek maliyetin en önemli parçasıdır (150). Antibiyotik tedavisinin gerçek maliyetini hesaplamak için intravenöz uygulamalar, serum antibiyotik düzeyinin tespiti, hasta için ayrıca harcanan emek, hematolojik ve biyokimyasal bulguların incelenmesi ve antibiyotik yan etkileri olarak düşünülmelidir. Uygunsuz antibiyotik kullanımına bağlı tedavinin yetersiz kalması maliyeti arttırmaktadır (151).

Ülkemizde; İnan ve ark. (19) yaptıkları bir çalışmada 2004 yılında YBÜ'de *Acinetobacter* enfeksiyonlarının görülme oranlarını %5,8 gibi düşük bir oranda tespit ederken, bu oran 2010 yılında %76,6 gibi yüksek bir oranda görülmeye başlanmış ve her üç enfeksiyon etkeni patojeninden ikisini oluşturduğunu tespit etmişler. Hastanemizde de benzer şekilde 2009-2010 yılları arasında yapılan bir çalışmada HE' na neden olan mikroorganizmalar arasında *A. baumannii* %23.2 oranı ile ilk sırada yer almakta idi (16). Bugün itibariyle ülkemizde birçok hastanede *A. baumannii* nedenli hastane enfeksiyonları özellikle YBÜ'lerde ilk sırada yerini korumaktadır (17-22). Yoğun bakım enfeksiyonlarının sıklığındaki artış, bu enfeksiyonların ciddiyeti ve ilaç direnci tedavide zorluklara neden olmaktadır. Çoğul ilaç dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkışı ile yeni

tedavi arayışları gündeme gelmiştir. MDR ve uygun olmayan tedavi yanı sıra altta yatan hastalıkların ciddiyeti de mortalitede rol oynayan önemli bir faktördür (56).

Acinetobacter türlerinin neden olduğu hastane enfeksiyonlarında risk faktörlerine yönelik yapılan daha önceki çalışmalarda birçok olası risk faktörleri tanımlanmıştır (55-63). Falagas ve ark. (63) yaptıkları bir metaanalizde; 20 vaka-kontrollü çalışma değerlendirilmiş olup çoğul ilaç dirençli *A. baumannii*'nin, kolonizasyonu/enfeksiyonuna en sık neden olan faktörün 20 çalışmanın 11'inde önceki antibiyotik kullanımı olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmalarda en sık üçüncü kuşak sefalosporin (4/11 çalışmada) ve karbapenemlerin (4/11 çalışmada) risk faktörü olduğu, bu antibiyotik gruplarını takiben sırası ile florokinolon, aminoglikozit ve metronidazolün diğer risk faktörlerini oluşturduğu belirtilmiştir.

Ülkemizde, İnönü Üniversitesi'nde yapılan bir tez çalışmasında (152) tek değişkenli regresyon analizi sonuçlarına göre, hastane kökenli *Acinetobacter* enfeksiyonu gelişimini etkileyen risk faktörleri; yaş, pulmoner hastalık, serebrovasküler hastalık, üriner kateter, mekanik ventilatör uygulanması, trakeotomi, SVK, enteral beslenme, karbapenem kullanımı, 3. kuşak sefalosporin kullanılmaması, CRP düzeyi ve yüksek APACHE II skoru olarak tespit edilmiş. Çok değişkenli regresyon analizi sonrasında ise; yaş, mekanik ventilatör uygulaması, trakeotomi uygulaması, karbapenem kullanımı ve sefalosporin kullanılmaması hastane kökenli *Acinetobacter* enfeksiyonu gelişimi için bağımsız risk faktörü olarak tespit edilmiştir.

Hacettepe Üniversitesinde yapılan bir tez çalışmasında (153) ise; enteral beslenmenin, YBÜ' de yatan hastalar için, hem antibiyotik direncinden bağımsız, hem de çoğul antibiyotik dirençli *Acinetobacter* suslarında kolonizasyonu/enfeksiyonu için

bağımsız risk faktörü olduğu tespit edilmiş ve enteral beslenmenin *Acinetobacter* üreme riskini 9 kat arttırdığı, çoğul antibiyotik dirençli *Acinetobacter* üreme riskini ise 8,5 kat arttırdığını tespit etmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada sonuçlar literatür ile karşılaştırıldığında; HE tanısı alan hastaların tamamına, yatışı boyunca en az iki invaziv girişim uygulanmıştı. Üriner kateterizasyon (%100), mekanik ventilasyon uygulaması (%94,2), enteral beslenme (%88,4) nazogastrik sonda uygulaması (%87), santral venöz kateterizasyon (%81,2), trakeotomi (%42) , reentübasyon (%21,8), immünsüpresif tedavi uygulanması (%44,9) ve cerrahi girişim (%15,9) olası risk faktörlerindendi. Hastaların 48 (%69,6)' inde *Acinetobacter* enfeksiyonları için risk faktörlerinden olabilecek bir ve/veya birden fazla altta yatan hastalık bulunmakta idi. Bu hastalardan; 22 tanesi diyabet, 19'u kronik obstruktif akciğer hastalığı, 10'u malignite ve 4 tanesi kronik böbrek yetmezliği tanısı almıştı. Bulgular literatür ile uyumlu olmasına rağmen; mekanik ventilasyon oranının yüksek olması (%94,2); izolatlar arasında solunum yolu örneklerinin çoğunluğu (%65,2) oluşturmasından kaynaklanmakta idi.

A. baumannii enfeksiyonlarının morbidite ve mortalite artışlarına etkisi ile ilgili tartışmalar hala devam etmektedir. Bir kısım araştırmacılar *A. baumannii* enfeksiyonlarının mortalite ile ilişkili olduğunu destekleyen bulgulara ulaşmalarına rağmen, bazıları ise bu sonucun sadece *A. baumannii* enfeksiyonu veya kazanımına bağlı olmadığını, kritik hastaların birçok faktörden etkilendiğini ve ölümlerin bu sebeplerden dolayı arttığını düşünmektedirler.

Falagas ve ark.(154) *A. baumannii* ile ilgili eşleştirilmiş kohort ve vaka-kontrol çalışmalarının sistematik bir incelemesinin yapıldığı çalışmalarında, enfeksiyona atfedilen

mortalitenin %7,8 ile %23 arasında değiştiği görülmüştür. Yoğun bakımda görülen *A. baumannii* enfeksiyonları için bu oran %10 ile %43 arasında değişmektedir. Blot ve ark. (155) ise yaptıkları retrospektif eşleştirilmiş kohort çalışmasında *A. baumannii* bakteriyemisinin mortalite artışına yol açmadığını göstermişlerdir. YBÜ’ de yatan *A. baumannii* bakteriyemili 45 ve kontrol grubu 90 hasta çalışmaya alınmış, atfedilebilir mortalite; olguların kaba ölüm hızı ile kontrollerin kaba ölüm hızı çıkarılarak belirlenmiştir. Bakteriyemi olan hastaların belirgin olarak daha fazla hemodinamik instabilite, uzun süre yoğun bakımda kalma durumu ve kontrollere göre ventilatör bağımlılığı daha yüksek bulunmuş. Vakalar ve kontroller için hastanede ölüm oranlarını, sırasıyla% 42.2 ve % 34.4 olarak tespit etmişler ve böylece atfedilebilir mortalitenin % 7.8 olduğunu bulmuşlardır. Bu oranın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını kabul etmişlerdir. Bu sonuç, uygun antibiyotik tedavisinin kullanım oranının yüksek olmasına ve tedavinin erken evrede başlanmasına bağlanmıştır.

Yaptığımız çalışmada; hastaların çoğu bir aydan fazla olmak üzere uzun süre (ortalama 33,4 gün) YBÜ’de yatmış, 16 (%23,2) hasta taburcu edilmiş ve 53 (% 76,8) hasta kaybedilmişti. Bu oran literatür ile uyumlu ve hatta yüksek olarak bulundu. Bunun nedeni *A. baumannii* izolatlarının MDR olması, yatan hastalarımızın ciddi yatış tanıları ve ilaveten çoğunda invaziv girişim ve enfeksiyon açısından risk oluşturacak ilave hastalıkların bulunması olabilir. Ayrıca *Acinetobacter* enfeksiyonu olan hastalarda hastane mortalitesinin % 76,8 olduğu tespit edilmiştir. Diğer bir deyişle çalışmamız kontrollü bir çalışma olmamasına rağmen; *Acinetobacter* enfeksiyonlarının yatış süreleri yanında, mortalite oranlarını da arttırdığını desteklemektedir.

Abbo ve ark. (156) yaptıkları retrospektif eşlenik kohort çalışmasında vaka ve kontrol grubu arasında yapılan çoklu değişkenli analizde MDR *A. baumannii* ediniminin mortalitede ve mekanik ventilasyon ihtiyacında artış ile sonuçlanan bir ilişkinin olduğunu tespit etmişlerdir. Blot ve ark. (155) ise mekanik ventilasyon ihtiyacının 22 (15-30) gün ve yoğun bakımda kalış süresinin 25 (16-34) gün olduğunu ve bu sürenin kontrol grubuna göre 5 gün uzadığını saptamışlardır. Çalışmamızda; YBÜ'ye yatan hastaların 65 (%94,2)'ine invaziv mekanik ventilasyon uygulanmış ve hastalar ortalama 33,4 gün (6-81) YBÜ'de yatmıştı. Sonuçlar literatür ile uyumlu idi. Ayrıca kontrol grubu olmadığından *A.baumannii* enfeksiyonunun mekanik ventilasyon ihtiyacına katkısı ve ortalama yoğun bakım yatış süresine artı katkısı değerlendirilemedi.

A. baumannii'nin HE etkenleri sıralamasında bugün için ilk sırada yer alması sorundur, ancak daha da önemli sorun çoğul ilaç dirençli suşların izolasyon sıklığının artması ve tedavide kullanılacak ajanların oldukça kısıtlı olmasıdır. Yıllar içinde artan oranlarda görülen antibiyotik direnci, *Acinetobacter* enfeksiyonlarında tedavi seçeneklerinin sınırlı olmasının en önemli nedenidir. Ülkemizde ve yurt dışında son yıllarda izole edilen *Acinetobacter*'lerin duyarlılık profilleri incelendiğinde, izolatların çoğunda çoğul ilaç direncinin yaygın olduğu görülmektedir (8-13).

Acinetobacter'lerde direnç gelişimi açısından birçok olası risk faktörünün olduğu iddia edilmiştir. MDR gelişimi açısından; çoklu travma ile hastaneye başvuru, mekanik ventilasyon uygulanması, kan ve kan ürünü transfüzyonu, alınan antibiyotik sayısı ve önceki antibiyotik tedavisi, geniş spektrumlu antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı, hospitalizasyonun özellikle yoğun bakım ünitesinde yapılması, immünsupresif tedavi, altta yatan hastalıkların ciddiyeti, enfeksiyon öncesi septik şok ve daha önce geçirilmiş

karbapenem dirençli *A. baumannii* enfeksiyonunun risk faktörleri olabileceği ifade edilmiştir (56, 157, 158). Kim ve ark. (159) da benzer şekilde sefalosporin ve karbapenem kullanımının karbapenem dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonlarında risk faktörü olduğunu tespit etmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada; hastaların 41 (%59,4)'inin son üç ay içinde hastaneye yatış öyküsü ve YBÜ yatış öncesi 53 (%76,8)'ünün birden fazla antibiyotik kullanma öyküsü vardı. 65 (%94,2) hasta YBÜ'de kültür alındığında birden fazla grup antibiyotik kullanmakta idi. Siprofloksasin (%47,8) piperasilin-tazobaktam (%40,6) ve karbapenemler (%37,6) en çok kullanılan antibiyotiklerdi. Bulgularımız daha önce yapılmış çalışmalar ile uyumlu idi. Hastaların son üç ay içinde hastaneye yatış öyküsünün bulunması, yatış öncesi antibiyotik kullanımının yüksek olması ve siprofloksasin, piperasilin-tazobaktam ve karbapenem kullanımının mevcut veriler ile MDR *A. baumannii* enfeksiyonlarının gelişiminde risk faktörleri olabileceği düşünüldü.

Gazi ve ark. (160) YBÜ ve yoğun bakım dışı ünitelerden izole edilen 402 *A. baumannii* suşunun antibiyotiklere direncini disk difüzyon yöntemi ile belirlemişler. İzole edilen suşların % 20.9'u amikasine, % 29.9'u netilmisine, % 36.3'ü meropeneme, % 40.5'i imipeneme, % 57.2'si siprofloksasine, % 66.4'ü piperasilin/tazobaktama, % 69.4'ü seftazidime, % 69.7'si ampisilin/sulbaktama, % 71.1'i gentamisine, % 82.6'sı seftriaksona ve % 84.6' sını aztreonama dirençli olarak bulmuşlardır. YBÜ'den ve diğer servislerden izole edilen suşlardaki direnç oranları karşılaştırıldığında netilmisin ve amikasin dışındaki diğer antibiyotiklere direnç oranlarının yoğun bakım ünitelerinde daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Benzer bir çalışmada Yavuz ve ark. (161) 2003-2004 yılları arasında hastanelerinde izole ettikleri 114 *A. baumannii* suşunun antibiyotiklere direncini disk

difüzyon yöntemi ile belirlemişler. Bu suşların imipenem direnci % 17, amikasin direnci % 61, sefepim direnci %66, piperasilin/tazobaktam direnci %72, siprofloksasin direnci % 75, gentamisin direnci %81, ampisilin/sulbaktam ve seftazidim direnci %82, trimetoprim/sulfametoksazol direncini %84 ve seftriakson direncini %88 olarak bulunmuştur. Evren ve ark. (9) 2011-2012 yılları arasında hastane enfeksiyonu etkeni olan ve çeşitli klinik örneklerden izole edilen 50 çoklu ilaca dirençli *A.baumannii* suşu üzerinde yaptıkları çalışmada sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle 46 (%92) izolat imipeneme, 48 (%96) izolat meropeneme dirençli bulunmuştur. İmipeneme dirençli olan suşların tamamı meropeneme de dirençlidir. İki izolat (%4) meropeneme dirençli iken imipeneme orta duyarlılıktadır.

Dede ve ark.(162) ise retrospektif bir çalışmada 2010 Ocak-2011 Aralık tarihleri arasında, yoğun bakım ünitesinde yatan hastalara ait çeşitli klinik örneklerden izole edilen 172 *A.baumannii* suşunun antibiyotik duyarlılıklarını incelemiştir. Antibiyotik direnç oranları sırasıyla; amikasin için %64, gentamisin için %67, levoflaksasin için %73, siprofloksasin için %76, sefoperazon sulbaktam için %79, piperasilin tazobaktam için %84, meropenem ve imipenem için ise %92 olarak bulunmuştur. Ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada; Ağustos 2007 - Haziran 2010 tarihleri arasında, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahili ve Nöroloji YBÜ'lerinde izole edilen 100 *A.baumannii* suşunda; meropenem, imipenem, , piperasilin-tazobaktam, ampisilin-sulbaktam direnci sırasıyla; % 96, %84, %97, %84, olarak tespit edilmiştir (163).

Hastanemizde yapılan bir çalışmada 1997-2000 yılları arası, dört yıllık dönemde izole edilen *A. baumannii* izolatlarının direnç gelişiminin takip edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 1997 ve 2000 yılları için direnç oranları sırasıyla; Amikasin için %39 ve %61,

gentamisin için %57 ve %72, imipenem için %4 ve %17, siprofloksasin için %35 ve %50, tetrasiklin için %52 ve %83, trimetoprim/ sulfametaksozol için %57 ve %83, seftriakson için %65 ve %100 olarak tespit edilmiştir (164). Yine hastanemizde yapılan başka bir çalışmada; Ocak 2009-Mart 2010 tarihleri arasında YBÜ' leri ve servislerden izole edilen 26 *A. baumannii* izolatının duyarlılık profili; amikasin için %19.2, gentamisin için %15.3, imipenem için %27, siprofloksasin için % 7.7, sefoperazon/sulbaktam için %30.8, tetrasiklin için %84.6, trimetoprim/sulfametaksozol için %38.5 olarak tespit edilmişti. Piperasilin-tazobaktam ve seftazidime ise tüm suşlar dirençli idi (16).

Bu çalışmada 69 *A. baumannii* izolatının disk difüzyon yöntemi ile yapılan duyarlılık testinde; ampisilin/sulbaktam'a % 95,7, tikarsilin/klavulanik asit'e %92,8, seftazidim'e %95,7, sefepim'e %95,7, levofloksasin'e %69,6, gentamisin'e %92,8, amikasin'e %85,5, siprofloksasin'e %95,7, ve trimetoprim/sulfametoksazol'e %75,4 oranında direnç tespit edildi. Tüm suşlar disk difüzyon ile imipenem, meropenem, sefotaksim, seftriakson ve piperasilin/tazobaktam'a dirençli olarak bulundu. 1997 yılları hastanemiz verileri ile karşılaştırıldığında tüm antibiyotik gruplarında direnç oranlarının arttığı görülmektedir. Çalışmada izole edilen suşların direnç oranları ülkemiz verilerine göre yüksek olarak tespit edildi. Bunun nedeninin; çalışmaya başlamadan önce tüm suşların MDR *A. baumannii* olanlardan seçilmesi, çalışmaya sadece YBÜ'lerde izole edilen suşların dahil edilmesi, suşların çoğunluğunun yatış öncesi ve yatış esnasında yoğun antibiyotik kullanan hastalardan izole edilmesinin olabileceği düşünüldü.

Acinetobacter türlerinin mevcut kullanılan antibiyotiklere karşı dirençte artış; tedavi seçeneklerini oldukça kısıtlamakta ve klinisyenlerin alternatif antibiyotiklere yönelmesine neden olmaktadır. Ülkemizden ve dünyadan veriler ışığında çoğul dirençli

bakterilerde alternatif tedavi seçeneklerinin kısıtlı olduğu görülmektedir. Bugün *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilen ilaçların başında kolistin ve tigesiklin gelmektedir.

Eski bir ilaç olan kolistin, Gram-negatif bakterilerin dış membranlarındaki anyonik lipopolisakkarid moleküller ile elektrostatik ilişkiye girmek suretiyle hücre membranını bozarak etkisini gösterir. Birçok Gram-negatif mikroorganizmaya karşı hızlı bakterisidal etkinlikleri vardır. Ciddi yan etkisinden dolayı seksenli yıllarda kullanımını kısıtlanmış olan bu ilaç, sadece kolistine duyarlı susların ortaya çıkması ile tekrar gündeme gelmiştir (20). Nefrotoksisite, nörotoksisite ve nöromusküler blokaja neden oldukları bilinmektedir. Ancak yeni çalışmalar, yan etkilerin korkulandan daha az olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Koomanachai ve ark. (165) çoğul dirençli *A. baumannii*' nin neden olduğu enfeksiyonlarda kolistin kullanan hastalarda mortalite oranının % 46.2, kullanmayan hasta grubunda ise %80 olduğunu göstermişlerdir. Garcia-Penuela ve ark. (166) 2004 yılında 74, 2005 yılında 30 *Acinetobacter baumannii* suşuyla yaptıkları çalışmada kolistin direnç oranını sırasıyla %1,4, %3,3 bulmuşlardır. Ülkemizde Mansur ve ark. (167) 2008 yılında yaptıkları çalışmada kolistin direncini % 9, Evren ve ark. (9) %4 olarak tespit etmişlerdir. Özdemir ve ark.(168) ile Dede ve ark. (162) çalışmalarında kolistine direnç saptamamışlardır.

Bu çalışmada kolistin direnci E-test yöntemi ile; %1,4 olarak tespit edildi. Çalışmamızda direnç oranı ülkemiz ve yurtdışı verileri ile uyumlu olarak tespit edildi. Ülkemizde yapılan farklı çalışmalarda kolistin duyarlılığı %70-%100 arasında değişmektedir (9, 95, 96). Bu direnç farkının uzun aralıkta olmasının sebebi, otomatize

sistemler ve disk difüzyon, E-test ve buyyon mikrodilüsyon gibi farklı yöntemlerin kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bir glisilsiklin derivesi olan tigesiklin, çoğul dirençli *A. baumannii* kökenlerine etkili bir antibiyotiktir. Yapısal olarak tetrasiklinlere benzerlik göstermesine karşın tigesiklin; tetrasikline karşı bakterilerin geliştirdiği direnç mekanizmalarından daha az etkilenir. Tigesiklin ayrıca bakteri ribozomlarında tetrasiklin bağlanmasını engelleyen proteininin neden olduğu değişikliklerden etkilenmemekte ve ribozomlara bağlanmasını sürdürebilmektedir (169). Dünyada ve ülkemizde tigesikline dirençli *A. baumannii* suşları son yıllarda bildirilmeye başlanmıştır. İleride daha yüksek direnç oranlarının gelişmesi muhtemel gibi gözükmemektedir.

Karageorgopoulos ve ark. (101) Toplam 2384 *Acinetobacter* (1906 *A. baumannii*) izolatının tigesikline duyarlılıklarının incelendiği 22 ayrı çalışmayı kapsayan bir araştırmada, izolatların en az % 90'ının tigesikline duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Çalışmada özellikle tigesiklin direnci için broth mikrodilüsyon ile yapılan çalışmalar tercih edilmiştir. Ülkemizde Özdemir ve ark. (168) çalışmalarında tigesiklin duyarlılığını %99 olarak saptamışlardır. Mansur ve ark. (167) ile Dede ve ark. (162) çalışmalarında izole edilen tüm suşları tigesiklin duyarlı bulmuşlardır. Zer ve ark. (170) ise E test stripleri kullanılarak tigesikline test edilen suşlarda % 6.45 dirençli ve %12.9 orta derecede duyarlı olarak saptamışlardır. Kuşçu ve ark. (171) da benzer şekilde E-test kullanılarak çoğul dirençli izolatlarda; tigesiklin için %5 direnç ve %16 orta derecede duyarlı tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada tigesiklin direnci E-test yöntemi ile %2,9 olarak tespit edildi. Tigesiklin direnç oranları ülkemiz verileri ile uyumlu olarak bulundu. Tigesiklin hastanemizde kolistin ile uygun tanılarda, kombinasyon tedavilerinde kullanılabilir.

Dirençli ve orta duyarlı suşların oranı ülkemizde yapılan çalışmalarda farklılık göstermektedir. Mansur ve ark. (172) yaptıkları bir çalışmada Turgut Özal Tıp Merkezi'nde 2008 yılında yatan hastalara ait 30 (5'i MDR ve 25'i XDR) *Acinetobacter* suşunu çalışmaya almışlar. *Acinetobacter* izolatları konvansiyonel yöntemler ile tanımlanmış, antibiyotik duyarlılık testleri CLSI standartlarına göre yapılmıştır. İzolatların tümü karbapenem dirençli olarak değerlendirilmiştir. Tigesiklin duyarlılığı için disk difüzyon, E test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmıştır. MDR ve XDR izolatlarının tümü buyyon mikrodilüsyon testi ile tigesikline duyarlı bulunmuştur. Buyyon mikrodilüsyon çalışılan 30 suşun MİK değerleri 0.03-0.5 µg/ml değerleri arasında olup, MİK50 değeri 0.12 µg/ml, MİK90 değeri 0.25 µg/ml olarak saptanmıştır. Tigesiklin disk difüzyon testinde ≥ 16 mm duyarlı ve ≤ 12 mm dirençli inhibisyon zon çapları kullanılarak 25 suş (% 83) duyarlı bulunmuştur. E test çalışılan 30 suşun MİK değerleri 1-8 µg/ml arasında saptanmıştır. E test ile elde edilen MİK değerleri gerçek MİK değerlerinden 8-64 kat fazla olup, çalışılan *Acinetobacter* suşlarının %30 (9/30)'u hatalı olarak dirençli bulunmuştur (2 µg/ml MİK kırılma noktasına göre). Çalışmada disk difüzyon yöntemi ve E test ile tigesikline dirençli bulunan *Acinetobacter* suşları için direnci doğrulamada buyyon mikrodilüsyon yönteminin kullanılması tavsiye edilmiştir.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında epidemik potansiyeli olan *A.baumannii* izolatlarının çabuk ve doğru saptanması kontrol önlemlerinin alınması açısından son derece önemlidir. Bu suşların kolonize olabilmeleri, hastane ortamında yaşayabilmeleri,

antibiyotiklere dirençli olmaları yayılmalarına katkıda bulunan faktörlerdir. Epidemik *A.baumannii* izolatları sporadik olanlardan çok daha dirençlidir ve herhangi bir çoklu ilaca dirençli *A.baumannii* suşunun nozokomiyal salgın yapma potansiyeli vardır. Ayrıca bu suşlar çoğunlukla ortak bir klondan köken alırlar (173).

Direncin ortaya çıkmasında hatalı antibiyotik kullanımları kadar, laboratuvar yöntemlerindeki yetersizlikler de önemli rol oynamaktadır. Direncin belirlenmesinde geç kalınması veya doğru olarak ortaya konulamaması durumunda, dirençli suşlara bağlı infeksiyonların tedavisi ve kontrolü sorun haline gelmektedir. Sorunların üzerinden gelinmesinde direncin mekanizması ve yayılma yollarının belirlenmesinin büyük önemi vardır. Bu noktada moleküler yöntemlerin büyük katkıları olmaktadır (174). Hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın mutlaka klasik epidemiyolojik veriler dikkate alınmalıdır. PFGE genotipik yöntemler içinde ayrıştırma gücü ve tekrarlanabilirliği yüksek olduğu için günümüzde pek çok etyolojik ajan için altın standart olarak kabul edilen moleküler yöntemdir (24).

Dirençli klonların yayılmasının önlenmesinde geleneksel infeksiyon kontrol önlemlerine ilave olarak moleküler tiplendirme yöntemlerinin uygulamaya girmesinin büyük katkıları olmuştur. Tayvan'da yapılan bir çalışmada; Hastanedeki MRSA enfeksiyonlarının kaynağı ve kontrol önlemlerinin etkinliğini denetlemek amacıyla sağlık personeli ve hastalardan alınan kültürlerde üretilen MRSA suşlarının PFGE ile tiplendirmesi yapılmış, iki predominant genotip saptanmıştır. Daha sonra taşıyıcılar topikal nasal mupirosin ile tedavi edilerek nozokomiyal MRSA enfeksiyonlarında kaydadeğer bir azalma gözlenmiştir (175). Bir KBB servisinde yatan hastalarda on gün içinde ortaya çıkan ve yedi kişiyi etkileyen penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae* salgını, PFGE

yöntemiyle doğrulanmış. Standart kaynak izolasyonunun yanında taşıyıcılara; topikal nasal mupirosin ve oral rifampisin kullanımı sonrası dirençli suşların yayılması kontrol altına alınabilmiştir. Böylece suşların hastane içerisinde yayılması engellenmiştir (176).

A.baumannii salgınlarının kaynağının hızlı ve doğru tespiti, enfeksiyonun tedavisi ve salgının kontrolü açısından önemlidir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda diğer moleküler teknikler PFGE ile kıyaslanmıştır.

Seifert ve ark. (177) dokuz farklı hastane salgınından elde edilen, epidemiyolojik olarak iyice tanımlanmış 103 *A.baumannii* izolatu ve 21 salgınla ilişkisiz suşu PFGE kullanarak tiplendirmişlerdir. Salgınlar iki aydan 12 aya kadar sürmüş ve tamamı yoğun bakım ünitelerinde gerçekleşmiş. PFGE yönteminde; salgın suşları ile sekiz farklı patern ve beş muhtemel ilişkili patern oluşmuş. Sonuçlar plazmid analizi, antibiyotik duyarlılık profilleri ve biyotiplendirme gibi geleneksel yöntemler ile karşılaştırılmış. Buna göre, plazmid analizi ile altı farklı patern ve iki ilişkili patern oluşmuş. Antibiyotik duyarlılıklarına göre beş farklı grup oluşurken biyotiplendirme ile dört farklı gruba ayrılmışlardır. Bu çalışmaya göre antibiyotik duyarlılık ve biyotiplendirme paternleri, epidemiyolojik araştırmalarda tarama yöntemi olarak uygun olmakla beraber, sonuçların tamamlayıcı başka tekniklerle desteklenmesinin gerekli olduğu sonucuna varılmıştır. Plazmid analizi *A.baumannii* salgılarının incelenmesinde faydalı bir yöntem olarak bulunmuş ve maliyet-etkin olduğundan ilk aşamada kullanılması tavsiye edilmiştir. PFGE ise bu dört yöntem arasında izolatların birbiri ile ilişkisini göstermede en üstün yöntem olmuştur. Başka bir çalışmada; Seifert ark. (178) 73 *A. calcoaceticus* - *A. baumannii* kompleks izolatını ribotiplendirme ve PFGE ile karşılaştırmalı olarak analiz etmişler ve PFGE'yi ribotiplendirmeden daha ayırt edici bulmuşlardır.

Ayan ark. (179) yaptıkları bir çalışmada; Ocak 2000- Ağustos 2001 tarihleri arasında hastanelerinde 50 hastadan izole edilen, 14'ü pediatri, 20'si ortopedi, 18'i yoğun bakım servislerinden olmak üzere toplam 52 *A.baumannii* suşunu çalışmaya dahil etmişler. *A.baumannii* enfeksiyonları antibiyogram profilleri, PCR temelli parmakizi analizi ve PFGE yöntemleri ile incelenmiş. Ayrıca, tarama amaçlı, 97 çevresel örnek ve 57 çalışanlardan örnekler toplanmış. Çalışmada 38 *A. baumannii* tiplendirilmiş ve 12 farklı antibiyogram profili elde edilmiş. AP-PCR ile sekiz tip ve beş subtip oluşmuş. PFGE ile dokuz farklı patern oluşmuş. Antibiyogram tiplendirme ve PFGE arasındaki uyum %59 iken, AP-PCR ve PFGE arası uyum % 87 olarak bulunmuş. PFGE sonuçları klinik ve epidemiyolojik bilgi ile en iyi uyumu göstermiştir. Bu çalışmaya göre antibiyogram tiplendirme kolay ancak ayırım gücü zayıf bulunmuştur. Salgınlar sırasındaki suşlardaki epidemiyolojik ilişki, AP-PCR ile %77 bulunurken PFGE ile %91 bulunmuştur. PFGE'nin ayırım gücünün yüksek olması, klinik ve epidemiyolojik veriler ile uyumlu olmasından dolayı bizde çalışmamızda *A. baumannii* izolatlarını tiplendirmek için bu moleküler metodu kullandık.

Karbepenem dirençli *A. baumannii* suşların klonal yayılımla bütün dünyada hastanelere hakim olmaya başladıkları çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (11, 12). *Acinetobacter* suşlarının hastane içi, hastaneler arası, bölgesel, ulusal ve uluslararası hareketlerinin takibi büyük önem taşımaktadır. Özellikle dirençli suşlarla yapılan sürveyans çalışmaları mevcut kontrol önlemlerinin değerlendirilmesine, yeni ve daha etkin kontrol sistemlerinin geliştirilmesine olanak verecektir.

Wang ve ark. (180) 1999-2005 yılları arasında 11 hastaneden izole ettikleri 221 imipenem dirençli *Acinetobacter* izolatını PFGE ile tiplendikleri çalışmalarında; iki veya

daha fazla subtipten oluşan 15 patern tanımlamışlar. Çalışma peryodu esnasında dört şehirde on hastanede klonal yayılımın olduğunu saptamışlardır. Bu izolatlardan 74 tanesi enfeksiyon etkeni iken 28 tanesi kolonizasyon nedeni olarak bulunmuştur. Ancak klonal yayılım olan hastaneler arasındaki, hasta transferlerine rastlanmamıştır.

İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi'nde yapılan bir tez çalışmasında (181): İmipenem dirençli 34 izolat PFGE analizi ile yapılan incelemede on beş patern ve iki kümeden oluştuğunu, klonun hastanedeki varlığını yaklaşık dokuz ay sürdürdüğünü ve on serviste klonal yayılımın mevcut olduğunu tespit etmişlerdir. Yayılım ve bulaşın; servisler arası hasta transferi, ortak hastane personeli, ortak kullanılan ventilatör cihazlarından kaynaklanmış olabileceğini ifade etmişlerdir. Çetin ve ark. (182) tarafından yapılan benzer bir çalışmada genotip analizi yapılan 66 *A. baumannii* izolatında 36 PFGE paterni, on iki küme oluşturmaktadır. Epidemiyolojik ilişki oranını %80,3 olarak bulmuşlardır. Araştırmacılar nemlendiriciler, monitörler, hasta bakıcıların elleri gibi çevresel kaynakların salgınlara sebep olabileceğini ifade etmişlerdir.

Bu çalışmada *A. baumannii* izolatlarının PFGE ile tiplendirilmesi yapıldı. PFGE yöntemiyle 69 *A. baumannii* suşunun 62 (%89,9)' sinin küme içinde olduğu saptandı. Bu suşlar 16 küme içinde yer almakta idi. Suşların 7(%10,1)'si özgül PFGE profili gösterdi. Kümeleşmede suş aralığı 2-9 arasında değişmekte idi. Tiplendirmeye alınan suşlar arasında 23 pulsotip saptandı. Çalışmada elde edilen kümelerden beş tanesinde (3, 7, 8, 14 ve 15. küme) GHYBÜ ve AYBÜ'nün her ikisinden izole edilen suşlar bulunmakta idi. Ayrıca 9. küme ise PYBÜ ve AYBÜ'den izole edilen suşları içermekte idi. 6. ve 13. kümelerde ise her üç YBÜ'den suşlar bulunmakta idi. Yıllar içinde benzer genotipteki, çoğul ilaç direnci

olan *A. baumannii*'nin farklı ünitelerdeki hastalardan izole edilmesi bu bakterinin hastanemiz YBÜ'lerinde endemik duruma geçtiğinin göstergesidir.

PFGE tiplendirmesinin sonucunda hastanemizdeki *Acinetobacter spp.* suşlarının yaklaşık on tanesinden dokuzu gibi oldukça yüksek bir kısmının klonal yönden ilişkili oldukları saptandı. Hastanemizde yoğun bakımlar arasında hasta transferleri sık yapılmaktadır. Ayrıca servis-YBÜ-servis arasında da hasta transferleri çok sık olmaktadır. Bu da hastanemizde *A.baumannii* klonlarının yayılmasını arttırmaktadır. İzolatlar arasındaki klonal yakınlığın bir göstergesi olan kümeleşme oranı %89,9 olarak bulundu. Bu kümeleşme oranı, izolatlar arasındaki klonal yakınlığın oldukça yüksek olduğunun, diğer bir deyişle hastalar arasında çapraz bulaş oranının yüksekliğinin önemli bir göstergesidir. Bu da elimizdeki epidemiyolojik verilerle karşılaştırıldığında üniteler arası yoğun bir bulaşın söz konusu olduğunu göstermektedir.

Salgınlar sırasında önemli bilgiler sağlanması ve salgın yapan mikroorganizmanın rezervuarının saptanması amacıyla çevresel örnekleme mutlaka yapılmalıdır. Çalışmamızda üç yıllık süre içinde hastanemizde dönemsel bir artış olmadığından dolayı, salgın olarak düşünülen bir durum oluşmadığından çevre taraması yapılmamış ve herhangi bir rezervuar kaynak tanımlanmamıştır. Yayılım ve bulaşın nedenleri; *A.baumannii* ile hasta veya kolonize hastalar arasında çapraz bulaş, servisler arası hasta transferleri, hastane personeli, hastanede ortak kullanılan malzemeler (sedye, çarşaf, yatak başı, vb.) ve ortak kullanılan ventilatör cihazlarından kaynaklanmış olabilir.

Bazı kümelerde suş sayısı dokuz gibi yüksek rakamlara ulaşmaktadır. Bu durum çapraz bulaş derecesinin büyüklüğünü ciddi biçimde ortaya koymaktadır. Bu küme içinde yer alan suşlar yaklaşık 14 ay hastanemizde varlığını sürdürmüştür. Diğer bir kümenin

hastanemizde kalış süresi 34 aya kadar uzamıştır. Bu veriler *A. baumannii* gibi önemli nozokomiyal patojenin hastanede kolayca yayılabildiğini ve uygun korunma ve kontrol önemlerinin alınmaması halinde yıllarca hastane ortamında kalabileceğini vurgulamaktadır.

A. baumannii hastane ortamında uzun süre canlı kalabilir. Kuru ortamlara oldukça dayanıklı ve hastadan hastaya kolaylıkla bulaşabilmesi nedeniyle son yıllarda YBÜ’de giderek artan oranda HE’ye neden olmaktadır (4). Kuru ortamda 21-30 gün canlı kalabilmektedir. Farklı ısı ve pH derecelerinde yaşayabilmesi de dayanıklı olmasının diğer nedenlerini oluşturmaktadır. Wendt ve ark. (183) yaptıkları bir çalışmada, *Acinetobacter* izolatlarının kuru ortamlarda varlığını dört aydan daha uzun süre bile koruyabildiklerini göstermişler. Wang ve ark. (180) ise bir klonun altı yıl boyunca hastane çevresinde varlığını sürdürmüş olduğunu tespit etmişlerdir. Catalano ve ark. (184) bu etkenin canlı kalabilmesi için yatak kenarları gibi kuru zeminlerin yeterli ortamlar olabileceğini ifade etmişlerdir.

Bu çalışmada on ikinci kümeyi oluşturan klon hastanemiz eski binasında ilk izolasyondan sonra yaklaşık 30 ay sonra yeni binamızda enfeksiyon etkeni olarak tespit edilmişti. Bu klon cansız ortamda (depremden sonra hastane malzemeleri eski binada kalmıştı) yaklaşık altı ay yaşamını sürdürmüş olabilir. Diğer bir şekilde ise kolonize eşyalardan veya hastane personelinden yeni binaya taşınmış olabilir.

Yoğun bakım ünitelerinde antibiyotiklerin kullanımını düzenleyerek bakterilerdeki antibiyotik direncinin en aza ineceği bildirilmektedir (185). Gruson ve ark. (186) yaptıkları çalışmada, YBÜ’de antibiyotik kullanımını azaltarak ventilatör ile ilişkili pnömoni ve dirençli mikroorganizmaları azalttıklarını bildirmişlerdir. Bu düzenlemeleri yapmak için

antimikrobiyal ilaçların kullanımını hedef alan birçok öneriler vardır; antimikrobiyallerin kombinasyonlar halinde ve ilaçların sırayla kullanımı örnek olarak verilebilir. Kullanılacak ilaçların sırası, YBÜ'deki mikrobiyolojik floraya bağlı olarak saptanabilir. Antibiyotiklerin sırayla kullanımı var olan antimikrobiyal direnç problemini azaltmayacaktır, ancak yeni gelişebilecek dirençleri önleyecektir (187).

Antibiyotiklere çoğul dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yaşanan güçlükler, hastane kaynaklı enfeksiyonların gelişimini azaltan enfeksiyon kontrol programlarının uygulanmasını zorunlu hale getirmiştir (17, 188). *Acinetobacter* kökenlerinin YBÜ'de neden olduğu hastane kaynaklı her üç enfeksiyondan ikisi enfeksiyon kontrol önlemlerinin titizlikle uygulanması halinde önlenmektedir. (189, 190). Epidemiyolojik surveyans çalışmaları, enfeksiyon kontrol programlarının ayrılmaz bir parçasını oluşturur. Salgının kaynağının bulunması dirençli *A. baumannii* kökenlerinin neden olduğu epideminin sonlandırılması açısından büyük önem taşımaktadır. Günümüz moleküler tiplendirme yöntemleri içerisinde, ayırım gücü ve tekrarlanabilirliği yüksek olan PFGE'nin epidemiyolojik surveyans çalışmalarında kullanılması *Acinetobacter* salgınlarının ve salgına neden olan kaynağın tespitine izin vererek, uygun enfeksiyon kontrol önlemlerinin geliştirilmesini sağlayabilmekte ve gelecekte bu programların ayrılmaz bir parçası olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak *A. baumannii* enfeksiyonları bugün itibariyle diğer ülkelerde olduğu gibi ülkemizde ve hastanemizde önemli bir sorun haline gelmiştir. Bu sorun yoğun bakım ünitelerinde daha da önem kazanmıştır. Mikroorganizma hastanemizde endemik bir patojen haline gelmiş, kolistin ve tigesiklin dışında kullanılacak antibiyoterapi neredeyse kalmamıştır. Mikroorganizmalar arasındaki klonal ilişkiyi ortaya çıkarmayı

hedefleyen moleküler tiplene yöntemleri, özellikle tedavideki zorluklar nedeniyle kontrol edilmesinde özel çabalar gerektiren dirençli bakterilere bağı infeksiyonların kontrolünde, önemli yararlar sağlamaktadırlar. Moleküler tiplene yöntemini uygulayan hastaneler, dirençli bakterilere bağı infeksiyonları önemli oranlarda azaltmışlardır. PFGE yaygın olarak kullanılan moleküler metotlardandır. Ancak, hangi tiplene yöntemi kullanılırsa kullanılsın, mutlaka klasik epidemiyolojik bulgularla beraber değerlendirilmesi gerekmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Hastane etkeni olarak izole edilen *A. baumannii* suşları arasında yüksek antibiyotik direnci olduğu ve bu direncin yıllar içinde önemli artışlar gösterdiği görülmektedir. Kolistin ve tigesiklin yüksek derecede duyarlı bulunmuşlardır. Bu antibiyotiklerin yaygın kullanılması sonucu, direnç gelişim oranlarının da zamanla artacağı öngörülmektedir.

2. Hastanemizde izole edilen *A. baumannii* suşları arasında MDR, XDR, PDR oranlarının dikkate değer bir artış gösterdiği görülmektedir.

3. Hastalar arasında çapraz bulaş ve üniteler arası izolatların dolaşımının oldukça yüksek olduğu, hastanedeki klonun canlı veya cansız ortamda uzun periyotlarda kalabildiği, genel hasta ölüm oranlarının diğer çalışmalardan daha yüksek olduğu saptanmıştır.

4. Bu tür moleküler temelli çalışmaların prospektif çalışmalarla desteklenmesi ve daha fazla yapılmasına ihtiyaç vardır. Bu sayede daha ucuz, kolay ve hızlı moleküler temelli yöntemlerin rutinde kullanılmasına imkân sağlanabilir.

5. *A. baumannii*'nin antibiyotiklere olan direncin yavaşlatılması için doğru tanının konulması, kolonizasyon/enfeksiyon ayırımının iyi yapılması, uygun antibiyoterapinin uygun doz ve sürede kullanılması, dirençli olan ilaçların kullanımına ara verilmesi sağlanmalıdır.

6. Salgının zamanında fark edebilmesi için düzenli ve sürekli sürveyans çalışmaları yapılmalıdır. Ünitelerde izolatların belirgin artışı saptanırsa, salgın olduğu düşünülmeli, çevre ve personel taraması yapılmalı ve bulaşın kaynağı belirlenmelidir. PFGE gibi bir moleküler yöntemle salgının epidemiyolojisi aydınlatılmalıdır.

7. Yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere tüm servislerde çapraz bulaşın engellenmesi, üniteler arası hasta transferlerinin sınırlandırılması, hastalar arasında kullanılan ortak malzemelerin mümkün olduğunca azaltılması sağlanmalıdır.

8. YBÜ' lere yatış kriteri taşımayan hastalar bu ünitelere alınmamalı ve yatırılan hastalar en kısa zamanda taburcu edilmelidir. İyileşip servislere çıkarılacak hastalar yeni servislerinde sürveyans kültürleri sonuçlanana kadar temas izolasyonuna alınmalı ve servisteki diğer hastalara bulaş engellenmelidir.

9. VİP tanısı alan hastaların mekanik ventilatörden en kısa sürede ayrılması sağlanmalı ve mümkün olduğunca reentübasyondan kaçınılmalıdır. İnvaziv işlemlerin kullanım endikasyonlarının belirlenmesi, mümkün olduğunca sınırlandırılması ve gereksiz işlemlerden sakınılması sağlanmalıdır.

10. Düzenli aralıklara personel eğitimi yapılmalı, hasta bakımında rol alan tüm sağlık personelinin el yıkama, eldiven kullanımı gibi enfeksiyon kontrol protokollerine uyması ve temas izolasyon önlemlerine yönelik farkındalık bilincinin artırılması sağlanmalıdır.

11. *A. baumannii* enfeksiyonlarının gelecekte tüm klinikler için ciddi problem olabileceği düşünülmektedir. Sadece EHU onayı gereken antibiyotiklerin değil tüm antibiyotiklerin kullanılmasının kontrol altına alınması gerekmektedir.

12. Her hastanede antibiyotik kullanımı kontrol alt komitesi kurulmalıdır. Böylece gereksiz ilaç kullanımının ve direnç gelişiminin önüne geçilebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Peleg A.Y, Seifert H and Paterson D.L.: *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*. 21(3):538-582, 2008.
2. Allen M.D., Hartman B.J., *Acinetobacter* spp, In: Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases, Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R., (Eds), 7th ed., 2881-2885, Churchill Livingstone, Philadelphia, 2010.
3. Towner K.J.: Clinical importance and antibiotic resistance of *Acinetobacter* spp. *Journal of medical microbiology*, 46(9): 721-746, 1997.
4. Fournier, P.E., Richet, H. and Weinstein, R.A.: The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clinical infectious diseases*. 42(5):692-699, 2006.
5. Seifert, H., Dijkshoorn, L., Gerner-Smidt, P., Pelzer, N., Tjernberg, I., Vaneechoutte, M.: Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. *Journal of Clinical Microbiology*. 35(11): 2819-2825,1997.
6. Corbella, X., Pujol, M., Ayats, J., Sendra, M., Ardanuy, C., Domínguez, M. A., .. and Gudiol, F.: Relevance of digestive tract colonization in the epidemiology of nosocomial infections due to multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Clinical infectious diseases*, 23(2), 329-334,1996.
7. Bergogne-Berezin, E. and Towner K.J.: *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological and epidemiological features. *Clinical Microbiology Reviews*, 9(2):148-165, 1996.
8. Özer, B., Tatman-Otkun, M., Memiş, D., Otkun, M.: Yoğun bakım ünitesinde hastane infeksiyonu etkenleri, antibiyotik duyarlılıkları ve antibiyotik kullanımı, *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*. 20 (3): 165-170, 2006.
9. Evren, E., Göçmen, J.S., Demirbilek, M., Alışkan, H.E.: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarının imipenem, meropenem, kolistin, amikasin ve fosfomisin duyarlılıkları. *Gazi Medical Journal*, 24(1): 1-4, 2013.
10. T.C. Sağlık Bakanlığı, Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Sağlık Hizmet Standartları Dairesi Başkanlığı Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı (UHESA) Raporu, Özet Veri 20, 2012.

11. Schulte, B., Goerke, C., Weyrich, P., Gröbner, S., Bahrs, C., Wolz, C. and Borgmann, S.: Clonal spread of meropenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in hospitals in the Mediterranean region and transmission to South-west Germany. *Journal of Hospital Infection*. 61(4):356-357, 2005.
12. Souli, M., Galani, I. and Giamarellou, H.: Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. In: *Euro surveillance: bulletin européen sur les maladies transmissibles= European communicable disease bulletin*, Kristinsson, K.G., Monnet, D.L.(Eds), 13(47):30-40, 2008.
13. Ruiz, J., Núñez, M.L., Pérez, J., Simarro, E., Martínez-Campos, L. and Gómez, J.: Evolution of resistance among clinical isolates of *Acinetobacter* over a 6-year period, *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*.18(4):292-295, 1999.
14. Corbella, X., Montero, A., Pujol, M., Domínguez, M.A., Ayats, J., Argerich, M.J, Garrigosa, F., Ariza, J. and Gudiol, F.: Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of clinical microbiology*, 38(11): 4086-4095, 2000.
15. Weinstein, R. A., Gaynes, R. and Edwards, J. R.: Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clinical Infectious Diseases*, 41(6): 848-854, 2005
16. Karahocagil, M.K., Yaman, G., Göktaş, U., Sünnetçioğlu, M., Çıkman, A., Bilici, A. ve Akdeniz, H.: Hastane enfeksiyon etkenlerinin ve direnç profillerinin belirlenmesi, *Van Tıp Dergisi*, 18(1):27-32, 2011
17. Leblebicioglu, H., Rosenthal, V. D., Arıkan, Ö. A., Özgültekin, A., Yalcin, A. N., Koksall, I. and Ulusoy, S.: Device-associated hospital-acquired infection rates in Turkish intensive care units. Findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC). *Journal of Hospital infection*, 65(3): 251-257, 2007.
18. Dikmen Y, Aygün G, Öztürk R. Yoğun bakım ünitesinde ventilatör ilişkili pnömonilerin değerlendirilmesi. *Klimik Dergisi*, 17(2):117-119, 2004
19. İnan A, Özgültekin A, Akçay SS, Engin DÖ, Turan G, Ceran N, Dincer E, Aksaray S, Göktaş P, Erdem I. Alterations in bacterial spectrum and increasing resistance rates in isolated microorganisms from device-associated infections in an intensive care unit of a teaching hospital in İstanbul (2004-2010). *Jpn J Infect Dis* 2012; 65: 146-151.

20. Dizbay M, Altunçekiç A, Kanat DÖ, Sezer BE, Baş S, Özer F, Arman D. Anestezi-reaminasyon ve nöroloji yoğun bakım ünitelerinde gelişen nozokomiyal infeksiyonlar: iki yılın değerlendirilmesi. *Hastane İnfeksiyonları Derg* 2007; 4:252-257.
21. Akata F, Otkun M, Kuloğlu F, Erkan T, Keskin S, Tuğrul M. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde nozokomiyal infeksiyon oranlarının değerlendirilmesi. *Hastane İnfeks Derg* 2006;10 (ek 1):s.38.
22. Akın, A., Esmoğlu Çoruh, A., Alp, E., & Günay Canpolat, D. (2011). Anestezi yoğun bakım ünitesinde beş yıl içerisinde gelişen nozokomiyal enfeksiyonlar ve antibiyotik direncinin değerlendirilmesi. *Erciyes Tıp Derg*, 33(1), 7-16.
23. Meric M, Willke A, Caglayan C, Toker K. Intensive care unit-acquired infections: incidence, risk factors and associated mortality in a Turkish university hospital. *Japanese journal of infectious diseases*. 2005;58(5):297-302.
24. Goering, R.V.: Molecular epidemiology of nosocomial infection: analysis of chromosomal restriction fragment patterns by pulsed-field gel electrophoresis. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 14(10): 595-600, 1993.
25. Durmaz, B., Durmaz, R.: Pulsed-field gel electrophoresis, *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji*, Durmaz R,(Ed) 2:161-168, Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 2001.
26. Güven Gökmen, T., Kızılyıldırım, S: Hastane infeksiyonlarının tanı ve tedavisinde moleküler biyolojik yöntemler: DNA fingerprinting analizlerinde kullanılan bir yazılım: *Gel Compar II*, *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 15(1):18-20, 2011
27. Van Belkum, A., Tassios, P. T., Dijkshoorn, L., Haeggman, S., Cookson, B., Fry, N. K. and Struelens, M.: Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. *Clinical microbiology and infection*, 13(s3):1-46, 2007.
28. Schreckenberger P.C, Daneshvar M.I, Weyant R.S. and Hollis D.G.: *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and other nonfermentative Gram-negative rods. In *Manuel of Clinical Microbiology*, Murray, P. R., Baron E. J., Jorgensen J. H., Pfaller M. A., Tenover F. C., Tenover F. C., (Eds), 8th edition, 749-779, American Society for Microbiology, Washington DC, USA, 2003.
29. Siau H, Yuen K.Y, Ho P.L, Luk W.K, Wong S.S, Woo P.C, Lee L.A. and Hui W.T. Identification of acinetobacters on blood agar in presence of D-glucose by unique browning effect. *Journal of clinical microbiology*, 36(5):1404-1407, 1998.
30. <http://www.bacterio.cict.fr/a/acinetobacter.html>, 27.10.2013

31. Dijkshoorn, L., Nemec, A. and Seifert, H.: An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nature Reviews Microbiology*, 5(12): 939–951, 2007.
32. Seifert, H., Baginski, R., Schulze, A. and Pulverer, G.: The distribution of *Acinetobacter* species in clinical culture materials. *Zentralblatt für Bakteriologie: international journal of medical microbiology* 279(4): 544–552, 1993.
33. Horii, T., Tamai, K., Mitsui, M., Notake, S. and Yanagisawa, H.: Blood stream infections caused by *Acinetobacter ursingii* in an obstetrics ward. *Infection, genetics and evolution*, 11(1): 52–56, 2011.
34. Nemec, A., De Baere, T., Tjernberg, I., Vaneechoutte, M., van der Reijden, T.J. and Dijkshoorn, L.: *Acinetobacter ursingii* sp. nov. and *Acinetobacter schindleri* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 51(5): 1891–1899, 2001.
35. Visca, P., Petrucca, A., De Mori, P., Festa, A., Boumis, E., Antinori, A. and Petrosillo, N.: Community-acquired *Acinetobacter radioresistens* bacteremia in an HIV-positive patient. *Emerging infectious diseases*. 7(6):1032-1035, 2001.
36. Grotiuz, G., Sirok, A., Gadea, P., Varela, G. and Schelotto, F.: Shiga toxin 2-producing *Acinetobacter haemolyticus* associated with a case of bloody diarrhea. *Journal of clinical microbiology*. 44(10): 3838-3841, 2006.
37. Giske, C.G., Monnet, D.L., Cars, O. and Carmeli, Y.: Clinical and economic impact of common multidrug-resistant gram-negative bacilli. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(3): 813-821, 2008.
38. Towner, K.J.: *Acinetobacter* spp, In: Topley and Wilson's *Microbiology and Microbial Infections*. Collier, L., Balows, A., Susman, M., (Eds.), 9 th ed., 1229-1239, Oxford University Press, New York, 1998.
39. Berlau, J., Aucken, H.M., Houang, E. and Pitt, T.L.: Isolation of *Acinetobacter* spp. including *A. baumannii* from vegetables: implications for hospital acquired infections. *Journal of Hospital Infection*. 42(3): 201–204, 1999.
40. Karşlıgil, T. ve Balcı, İ.: Nozokomiyal *Acinetobacter* izolatlarında antibiyotik direnci. *İnfeksiyon Dergisi*. 14(4): 511-514, 2000.
41. Mulin, B., Talon, D., Viel, J.F., Vincent, C., Leprat, R., Thouverez, M. and Michel-Briand, Y.: Risk factors for nosocomial colonization with multiresistant *Acinetobacter*

- baumannii. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 14(7): 569-576,1995.
42. Palmen, R., Vosman, B., Buijsman, P., Breek C.K. and Hellingwerf, K.J.: Physiological characterization of natural transformation in *Acinetobacter calcoaceticus*. *Journal of general microbiology*. 139(2): 295–305, 1993.
43. Gulati S., Kapil A., Das B., Dwivedi S.N., Mahapatra A.K. Nosocomial infections due to *Acinetobacter baumannii* in a neurosurgery ICU. *Neurol India*. 49: 134-137, 2000.
44. Bayuga, S., Zeana, C., Sahni, J., Della-Latta, P., El-Sadr, W. and Larson, E.: Prevalence and antimicrobial patterns of *A. baumannii* on hands and nares of hospital personnel and patients: the iceberg phenomenon again. *Heart Lung. The Journal of Acute and Critical Care*, 31(5): 382–390, 2002.
45. Anstey, N.M., Currie, B.J., Hassell, M., Palmer, D., Dwyer, B., Seifert, H. Community-acquired bacteremic *Acinetobacter pneumonia* in tropical Australia is caused by diverse strains of *Acinetobacter baumannii*, with carriage in the throat in at-risk groups. *Journal of clinical microbiology*. 40(2):685-686, 2002.
46. Turner, P.J.: Extended spectrum β -lactamases. *Clinical Infectious Diseases*. 41(4): 273- 275, 2005.
47. Dizbay, M., Çağlar, Ö., Arman, D.: Ventilator ilişkili pnömoni etkeni çok ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında sefoperazon-sulbaktam ile netilmisin kombinasyonunun in vitro sinerjistik etkisi. *Ankem Dergisi*. 22 (1): 28-31, 2008.
48. Kaplan, N., Rosenberg, E., Jann, B. and Jann, K.: Structural studies of the capsular polysaccharide of *Acinetobacter calcoaceticus* BD 4. *European Journal of Biochemistry*. 152(2): 453-458, 1985.
49. Lee, J. C., Koerten, H., Van den Broek, P., Beekhuizen, H., Wolterbeek, R., Van den Barselaar, M., and Dijkshoorn, L. Adherence of *Acinetobacter baumannii* strains to human bronchial epithelial cells. *Research in microbiology*, 157(4): 360-366, 2006.
50. Gaddy, J.A. and Actis L.A.: Regulation of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Future microbiology* 4(3): 273-278, 2009.
51. Lee, H. W., Koh, Y. M., Kim, J., Lee, J. C., Lee, Y. C., Seol, S. Y. and Cho, D. T.: Capacity of multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces. *Clinical Microbiology and Infection*, 14(1): 49-54, 2008.

52. Dorsey, C.W., Beglin, M.S. and Actis L.A.: Detection and analysis of iron uptake components expressed by *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Journal of clinical microbiology*, 41(9): 4188-93, 2003.
53. Gordon, N.C. and Wareham, D.W.: Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms of virulence and resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents* 35(3): 219-226. 2010
54. Coelho, J., Woodford, N., Turton, J. and Livermore, D.M.: Multiresistant *acinetobacter* in the UK: how big a threat?. *Journal of hospital infection*, 58(3), 167-169, 2004.
55. Gomez, J., Simarro, E., Banos, V., Requena, L., Ruiz, J., Garcia, F. and Valdes, M.: Six-year prospective study of risk and prognostic factors in patients with nosocomial sepsis caused by *Acinetobacter baumannii*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18(5): 358-361, 1999.
56. Katsaragakis, S., Markogiannakis, H., Toutouzas, K. G., Drimousis, P., Larentzakis, A., Theodoraki, E. M. and Theodorou, D.: *Acinetobacter baumannii* infections in a surgical intensive care unit: predictors of multi-drug resistance. *World journal of surgery*, 32(6), 1194-1202, 2008.
57. Jung, J. Y., Park, M.S., Kim, S.E., Park, B.H., Son, J.Y., Kim, E.Y. and Kim, Y.S.: Risk factors for multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia in patients with colonization in the intensive care unit. *BMC infectious diseases*, 10(1): 228, 2010.
58. Garnacho-Montero, J., Ortiz-Leyba, C., Fernández-Hinojosa, E., Aldabó-Pallás, T., Cayuela, A., Marquez-Vácaro, J.A. and Jimenez-Jimenez, F.J.: *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: epidemiological and clinical findings. *Intensive care medicine*, 31(5): 649-655, 2005
59. McDonald, L.C., Banerjee, S.N. and Jarvis, W.R.: Seasonal variation of *Acinetobacter* infections: 1987–1996. *Clinical infectious diseases*, 29(5): 1133-1137, 1999.
60. Wróblewska, M.: Novel therapies of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. infections: the state of the art. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 54(2): 113-120, 2006.
61. Joly-Guillou, M.L.: Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clinical microbiology and infection*, 11(11): 868-873, 2005.

62. Jang, T.N., Lee, S.H., Huang, C.H., Lee, C.L. and Chen, W.Y.: Risk factors and impact of nosocomial *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections in the adult intensive care unit: a case-control study. *Journal of Hospital Infection*, 73(2), 143-150, 2009.
63. Falagas, M.E. and Kopterides, P.: Risk factors for the isolation of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: a systematic review of the literature. *Journal of Hospital Infection*. 64(1):7-15, 2006.
64. Rodríguez-Bano, J., Cisneros, J.M., Fernandez-Cuenca, F., Ribera, A., Vila, J., Pascual, A. and Pachon, J.: Clinical features and epidemiology of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection in Spanish hospitals. *Infection control and hospital epidemiology*, 25(10), 819-824, 2004.
65. Campbell Jr, G.D., Niederman, M.S., Broughton, W.A., Craven, D.E., Fein, A.M., Fink, M.P. and Wunderink, R.G.: Hospital-acquired pneumonia in adults: Diagnosis, assessment of severity, initial antimicrobial therapy, and preventative strategies: A consensus statement. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 153(5): 1711-1725, 1996.
66. Rello, J., Ausina, V., Castella, J., Net, A. and Prats, G.: Nosocomial respiratory tract infections in multiple trauma patients. Influence of level of consciousness with implications for therapy. *CHEST Journal*, 102(2): 525-529, 1992.
67. Ferrara, A.M.: Potentially multidrug-resistant non-fermentative Gram-negative pathogens causing nosocomial pneumonia. *International journal of antimicrobial agents*, 27(3): 183-195, 2006.
68. Prashanth, K. and Badrinath, S.: Nosocomial infections due to *Acinetobacter* species: Clinical findings, risk and prognostic factors. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 24(1): 39-44, 2006.
69. Taşova, Y., Akgün, Y., Saltoğlu, N., Yılmaz, G., Kara, O., Dündar, İ.H.: Nosokomiyal *Acinetobacter* infeksiyonları. *Flora*. 4(3):170-176, 1999.
70. Crnich, C.J., Safdar, N. and Maki, D.G.: The role of the intensive care unit environment in the pathogenesis and prevention of ventilator-associated pneumonia. *Respiratory Care*, 50(6): 813-838, 2005.
71. Robenshtok, E., Paul, M., Leibovici, L., Fraser, A., Pitlik, S., Ostfeld, I. and Weinberger, M. (2006). The significance of *Acinetobacter baumannii* bacteraemia

compared with *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia: risk factors and outcomes. *Journal of Hospital Infection*, 64(3): 282-287, 2006.

72. Bouza, E., San Juan, R., Munoz, P., Voss, A. and Kluytmans, J.: A European perspective on nosocomial urinary tract infections I. Report on the microbiology workload, etiology and antimicrobial susceptibility (ESGNI- 003 study). *Clinical microbiology and infection*, 7(10): 523-531, 2001.

73. Griffith, M.E., Lazarus, D.R., Mann, P.B., Boger, J.A., Hospenthal, D.R. and Murray, C. K.: *Acinetobacter* skin carriage among US army soldiers deployed in Iraq. *Infection control and hospital epidemiology*, 28(6): 720-722, 2007

74. Öncül, O., Keskin, Ö., Acar, H.V., Küçükardalı, Y., Evrenkaya, R., Atasoyu, E.M., and Gökben, M.: Hospital-acquired infections following the 1999 Marmara earthquake. *Journal of Hospital Infection*, 51(1), 47-51, 2002.

75. Petersen, K., Cannegieter, S.C., van der Reijden, T.J., Van Strijen, B., You, D.M., Babel, B.S. and Dijkshoorn, L.: Diversity and clinical impact of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection at a military medical center. *Journal of clinical microbiology*, 49(1), 159-166, 2011.

76. Olut, A. I. and Erkek, E.: Early prosthetic valve endocarditis due to *Acinetobacter baumannii*: a case report and brief review of the literature. *Scandinavian journal of infectious diseases*, 37(11-12): 919-921, 2005.

77. Valdez, J. M., Asperilla, M. O. and Smego Jr, R.A.: *Acinetobacter* peritonitis in patients receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Southern medical journal*, 84(5): 607-610, 1991.

78. Schabereiter-Gurtner, C., Maca, S., Rölleke, S., Nigl, K., Lukas, J., Hirschl, A. and Barisani-Asenbauer, T.: 16S rDNA-based identification of bacteria from conjunctival swabs by PCR and DGGE fingerprinting. *Investigative ophthalmology & visual science*, 42(6): 1164-1171, 2001.

79. Kempf, M. and Rolain, J.M.: Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *International journal of antimicrobial agents*, 39(2), 105-114, 2012.

80. Zavascki, A.P., Carvalhaes, C.G., Picao, R.C. and Gales, A.C.: Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy. *Expert review of anti-infective therapy*, 8(1): 71-93, 2010.

81. Alsan, M., Klompas, M.: *Acinetobacter baumannii*: An emerging and important pathogen, *J. Com. Journal*, 17(8): 363-369, 2010
82. Levin, A.S.: Treatment of *Acinetobacter* spp infections. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 4(8):1289-1296, 2003
83. Neonakis, I. K., Spandidos, D.A. and Petinaki, E.: Confronting multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a review. *International journal of antimicrobial agents*, 37(2), 102-109, 2011
84. Çakır, N.: Karbapenemler. İn. *Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler*, Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S, (Eds), 2. baskı, 307-321, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2008.
85. Manchanda, V., Sanchaita, S. and Singh, N.P.: Multidrug resistant *acinetobacter*. *Journal of global infectious diseases*, 2(3): 291-304, 2010
86. Lesho, E., Wortmann, G., Moran, K. and Craft, D.: Fatal *Acinetobacter baumannii* infection with discordant carbapenem susceptibility. *Clinical infectious diseases*, 41(5): 758-759, 2005.
87. Fishbain, J. and Peleg, A. Y.: Treatment of *Acinetobacter* infections. *Clinical infectious diseases*, 51(1): 79-84, 2010.
88. Çekin, Y., Ertekin, D., Baysan B.Ö., Turhan, Ö., Dağlar, D., Öngüt, G. ve Yalçın A.N.: Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* suşlarının imipenem, meropenem ve doripenem duyarlılıkları. *Gaziantep Tıp Dergisi*. 19(3): 185-187, 2013.
89. Zavascki, A. P., Goldani, L.Z., Li, J. and Nation, R.L.: Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(6): 1206-1215, 2007.
90. Özgür Akın, FE., Bayram, A. ve Balcı, İ.: Çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında kolistin, polimiksin B ve tigesiklin direncinin saptanmasında disk difüzyon, E-test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemlerinin karşılaştırılması, *Mikrobiyoloji Bülteni*, 44(2):203-210, 2010.
91. Sesli Çetin, E., Tetik T, Kaya S. ve Cicioğlu Arıdoğan, B.: Polimiksin B'nin imipeneme dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına karşı in-vitro aktivitesi. *Ankem Dergisi*, 25(2): 94-98, 2011.

92. Falagas, M.E. and Kasiakou, S. K.: Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clinical infectious diseases*, 40(9): 1333-1341, 2005.
93. Akalın, H.: Kolistin, *Ankem Dergisi*, 21(Ek 2):26-28, 2007
94. Fernandez-Viladrich, P., Corbella, X., Corral, L., Tubau, F. and Mateu, A.: Successful treatment of ventriculitis due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* with intraventricular colistin sulfomethate sodium. *Clinical infectious diseases*, 28(4):916-917, 1999.
95. Öztürk, O., Öztürk, C., Delialioğlu, N. ve Emekdaş, G.: Çoklu antibiyotik dirençli gram negatif bakterilerde kolistin duyarlılığının belirlenmesi.: *Mersin Univ. Sağlık Bilim Derg.* 3(3): 15-20, 2010.
96. Köseoğlu Eser, Ö., Ergin, A., Hasçelik, G.: Erişkin hastalardan izole edilen *Acinetobacter* türlerinde antimikrobiyal direnç ve metallo-beta-laktamaz varlığı, *Mikrobiyoloji Bülteni*, 43(3):383-390, 2009.
97. Tigen, E. T., Koltka, E. N., Dogru, A., Orhon, Z. N., Gura, M. and Vahaboglu, H.: Impact of the initiation time of colistin treatment for *Acinetobacter* infections. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 19(4):703-708, 2013.
98. Koomanachai, P., Tiengrim, S., Kiratisin, P. and Thamlikitkul, V.: Efficacy and safety of colistin (colistimethate sodium) for therapy of infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand. *International Journal of Infectious Diseases*, 11(5): 402-406, 2007
99. Falagas, M.E., Rizos, M., Bliziotis, I.A., Rellos, K., Kasiakou, S.K. and Michalopoulos, A.: Toxicity after prolonged (more than four weeks) administration of intravenous colistin. *BMC infectious diseases*, 5(1):1-8, 2005.
100. Ulusoy, S.: Tigesiklin. *Ankem Dergisi*, 20(Ek 2):117-119, 2006.
101. Karageorgopoulos, D.E., Kelesidis, T., Kelesidis, I. and Falagas, M.E.: Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant (including carbapenem-resistant) *Acinetobacter* infections: a review of the scientific evidence. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 62(1): 45-55, 2008.
102. Shakil, S., Khan, R., Zarrilli, R. and Khan, A.U.: Aminoglycosides versus bacteria a description of the action, resistance mechanism, and nosocomial battleground. *Journal of biomedical science*, 15(1): 5-14, 2008.

103. Murray, C.K. and Hospenthal, D.R.: Treatment of multidrug resistant *Acinetobacter*. *Current opinion in infectious diseases*, 18(6): 502-506, 2005.
104. Timurkaynak, F., Can, F., Azap, Ö. K., Demirbilek, M., Arslan, H. ve Karaman, S. Ö.: In vitro activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units. *International journal of antimicrobial agents*, 27(3), 224-228, 2006.
105. Ni, W., Cui, J., Liang, B., Cai, Y., Bai, N., Cai, X. and Wang, R. In vitro effects of tigecycline in combination with colistin (polymyxin E) and sulbactam against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *The Journal of antibiotics*, 66: 705-708. 2013
106. Perez, F., Hujer, A. M., Hujer, K. M., Decker, B. K., Rather, P. N. and Bonomo, R.A.: Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(10): 3471-3484, 2007.
107. Kalin, G., Alp, E., Akin, A., Coskun, R., Doganay, M. Comparison of colistin and colistin/sulbactam for the treatment of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *Infection*, 1-6, 2013
108. Motaouakkil, S., Charra, B., Hachimi, A., Nejmi, H., Benslama, A., Elmdaghri, N., Belabbes, H. and Benbachir, M.: Colistin and rifampicin in the treatment of nosocomial infections from multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Infection*, 53(4):274-278, 2006.
109. Morgan, D. J., Weisenberg, S. A., Augenbraun, M. H., Calfee, D. P., Currie, B. P., E Yoko Furuya, M. D. and Sepkowitz, K.A.: Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in New York City—10 Years Into the Epidemic. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 30(2): 196-197, 2009.
110. Georgopapadakou, N.: Mechanisms of antibiotic resistance. In: *Principles and Practice of Pediatrics Infectious Diseases*, Long SS, Pickering LK, Prober CG, (eds), 2nd ed, Churchill Livingstone, Philadelphia 1432-42, 2003.
111. Giamarellou, H., Antoniadou, A. and Kanellakopoulou, K.: *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health?. *International journal of antimicrobial agents*, 32(2): 106-119, 2008.

112. Ruiz, M., Marti, S., Fernandez-Cuenca, F., Pascual, A. and Vila, J.: Prevalence of ISAbal in epidemiologically unrelated *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *FEMS microbiology letters*, 274(1): 63-66, 2007.
113. Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM and Pitt TL. The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett.* 258: 72–77, 2006.
114. Gu B, Tong M, Zhao W, Liu G, Ning M, Pan S. Prevalence and characterization of class I integrons among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolates from patients in Nanjing, China. *J Clin Microbiol*; 45: 241–243, 2007.
115. Fournier, P. E., Vallenet, D., Barbe, V., Audic, S., Ogata, H., Poirel, L. and Claverie, J. M.: Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS genetics*, 2(1): 62-72, e7, 2006.
116. Livermore, D. M.: beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical microbiology reviews*, 8(4): 557-584, 1995.
117. Adams, M.D., Nickel, G.C., Bajaksouzian, S., Lavender, H., Murthy, A.R., Jacobs, M.R. and Bonomo, R.A.: Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the PmrAB two-component system. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(9): 3628-3634, 2009.
118. Ribera, A., Roca, I., Ruiz, J., Gibert, I. and Vila, J.: Partial characterization of a transposon containing the tet (A) determinant in a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(3): 477-480, 2003.
119. Pankey, G.A.: Tigecycline. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 56 (3): 470-480, 2005.
120. Vila, J. and Pachon, J.: Therapeutic options for *Acinetobacter baumannii* infections: an update. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 13(16): 2319-2336, 2012.
121. Shi, W.F., Jiang, J.P., Mi, Z.H.: Relationship between antimicrobial resistance and aminoglycoside-modifying enzyme gene expressions in *Acinetobacter baumannii*. *Chinese medical journal*. 118(2):141-145, 2005.
122. Andrei A, Zervos M.J. The application of molecular techniques to the study of hospital infection. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 130: 662-668, 2006

123. Singh, A., Goering, R. V., Simjee, S., Foley, S. L. and Zervos, M. J.: Application of molecular techniques to the study of hospital infection. *Clinical microbiology reviews*, 19(3): 512-530, 2006.
124. Bouvet P.J. and Grimont P.A. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Ann Inst Pasteur Microbiol* 138(5): 569-578, 1987.
125. Köksal, F.: Moleküler biyolojik tiplendirme yöntemlerinin hastane enfeksiyonlarında kullanımı, *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 3(4): 189-195, 1999.
126. Durmaz, R.: Hastane enfeksiyonu salgınında moleküler biyolojik yöntemler, *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 9(4): 196-202, 2005.
127. Öztürk, R.: Hastane enfeksiyonları kontrolünde moleküler mikrobiyoloji metotlarının önemi, IV. Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji Kursu Kitapçığı, Durmaz R.(editör), 64-75, Malatya, 3-7 Eylül 2007.
128. Tenover, F. C., Arbeit, R., Archer, G., Biddle, J., Byrne, S., Goering, R. and Hollis, R.: Comparison of traditional and molecular methods of typing isolates of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(2): 407-415, 1994.
129. Biendo, M., Laurans, G., Lefebvre, J. F., Daoudi, F. and Eb, F.: Epidemiological study of an *Acinetobacter baumannii* outbreak by using a combination of antibiotyping and ribotyping. *Journal of clinical microbiology*, 37(7), 2170-2175, 1999.
130. Weernink, A., Severin, W. P., Tjernberg, I. and Dijkshoorn, L.: Pillows, an unexpected source of *Acinetobacter*, *Journal of Hospital Infection*, 29(3): 189-199, 1995.
131. Selander, R.K., Caugant, D.A., Ochman, H., Musser, J.M., Gilmour, M.N. and Whittam, T.S.: Methods of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. *Applied and environmental microbiology*, 51(5): 873-884, 1986.
132. Thurm, V. and Ritter, E.: Genetic diversity and clonal relationships of *Acinetobacter baumannii* strains isolated in a neonatal ward: epidemiological investigations by allozyme, whole-cell protein and antibiotic resistance analysis. *Epidemiology and infection*, 111(03): 491-498, 1993.
133. Güven Gökmen, T., Kızılyıldırım, S.: Hastane enfeksiyonlarının tanı ve tedavisinde moleküler biyolojik yöntemler: Pulsed Field Gel Elektforezi (PFGE), *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 15(1):1-10, 2011.
134. Tenover, F. C., Arbeit, R. D., Goering, R. V., Mickelsen, P. A., Murray, B. E., Persing, D. H. and Swaminathan, B.: Interpreting chromosomal DNA restriction patterns

produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *Journal of clinical microbiology*, 33(9): 2233-2239, 1995.

135. Seifert, H., Dolzani, L., Bressan, R., van der Reijden, T., van Strijen, B., Stefanik, D. and Dijkshoorn, L.: Standardization and interlaboratory reproducibility assessment of pulsed-field gel electrophoresis-generated fingerprints of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of clinical microbiology*, 43(9): 4328-4335, 2005.

136. Maslow J.N., Slutsky A.M., and Arbeit R.D. Application of Pulsed-Field Gel Electrophoresis to Molecular Epidemiology. In: *Diagnostic Molecular Microbiology Principles and Applications* 7.1, 563-572, 1993.

137. Birren, B. and Eric, L.: *Pulsed field gel electrophoresis: a practical guide*. Access Online via Elsevier, Academic Press Inc. San Diego, California, 1993.

138. Zaidi, N., Konstantinou, K. and Zervos, M.: The role of molecular biology and nucleic acid technology in the study of human infection and epidemiology. *Archives of pathology and laboratory medicine*, 127(9): 1098-1105, 2003.

139. Durmaz, R.: Moleküler epidemiyolojik tiplendirme yöntemlerinin hastane enfeksiyonlarında kullanımı, *Hastane Enfeksiyonları 2013*, Doğanay, M., Ünal, S., Çetinkaya Şardan, Y.,(Eds), 2: 303-327, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2013.

140. Basim, E., Basim, H. Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) Technique and its use in Molecular Biology. *Turk J Biol* 25: 405-418, 2001.

141. Rademaker, J.L. and Savelkoul, P.: PCR amplification-based microbial typing. In: *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice*. Persing, D.H., Tenover, F.C., Versalovic, J., Tang, Y.W., Unger, E.R., Relman, D.A., White, T.J. (Eds). ASM Press, Washington DC, 197-221, 2004.

142. Bartual, S.G., Seifert, H., Hippler, C., Luzon, M. A., Wisplinghoff, H. and Rodríguez-Valera, F.: Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(9): 4382-4390, 2005.

143. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *American Journal of Infection Control*. 36: 309-332, 2008

144. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition. CLSI document M02-A11 (ISBN 1-56238-781-2 [Print];

- ISBN 1-56238-782-0 [Electronic]). 32(1): 44-45, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, USA, 2012.
145. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23 (ISBN 1-56238-865-7 [Print]; ISBN 1-56238-866-5 [Electronic]). 33(1):66-67, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, USA, 2013.
146. Navon-Venezia, S., Leavitt, A., Carmeli, Y.: High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 59(4):772-774, 2007.
147. Xu, T., Xia, W., Rong, G., Pan, S., Huang, P., and Gu, B. A 4-year surveillance of antimicrobial resistance patterns of *Acinetobacter baumannii* in a university-affiliated hospital in China. *Journal of thoracic disease*, 5(4): 506-512, 2013.
148. Routsis, C., Pratikaki, M., Platsouka, E., Sotiropoulou, C., Nanas, S., Markaki, V., and Roussos, C. Carbapenem-resistant versus carbapenem-susceptible *Acinetobacter baumannii* bacteremia in a Greek intensive care unit: risk factors, clinical features and outcomes. *Infection*, 38(3): 173-180. 2010
149. Eren,O.Ö., Kalyoncu,U., Andiç,N., Şardan,Y.Ç. Yoğun bakım ünitesinde hasta maliyetini etkileyen faktörler. *Selçuk Tıp Dergisi*, 25(4):195-202, 2009.
150. İnan, D., Saba, R., Gunseren, F., Ongut, G., Turhan, O., Yalcin, A. N., and Mamikoglu, L. Daily antibiotic cost of nosocomial infections in a Turkish university hospital. *BMC infectious diseases*, 5(1): 5, 2005
151. Yalcin, A. N. Socioeconomic burden of nosocomial infections. *Indian journal of medical sciences*, 57(10):450-456, 2003.
152. Elmas, Dal Ş. Yoğun bakımda yatan hastalarda nozokomiyal çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonlarındaki risk faktörlerinin belirlenmesi ve izolatların genotiplendirilmesi. Uzmanlık Tezi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D, Malatya, 2013.
153. Tezcan, M., E. İç hastalıkları yoğun bakım ünitesinde *Acinetobacter* kolonizasyonu/infeksiyonu için risk faktörlerinin belirlenmesi, Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.D, Ankara, 2008.

154. Falagas ME, Bliziotis IA, Siempos II: Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Critical Care*. 10(2): 1-8, 2006
155. Blot, S., Vandewoude, K., and Colardyn, F. Nosocomial bacteremia involving *Acinetobacter baumannii* in critically ill patients: a matched cohort study. *Intensive care medicine*, 29(3): 471-475, 2003.
156. Abbo, A., Carmeli, Y., Navon-Venezia, S., Siegman-Igra, Y., and Schwaber, M. J. Impact of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* on clinical outcomes. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(11): 793-800, 2007.
157. Wróblewska, M. Novel therapies of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. infections: the state of the art. *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis*, 54(2): 113-120, 2006.
158. Brahmi, N., Beji, O., Abidi, N., Kouraichi, N., Blel, Y., El Ghord, H., and Amamou, M. Epidemiology and risk factors for colonization and infection by *Acinetobacter baumannii* in an ICU in Tunisia, where this pathogen is endemic. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 13(6): 400-404, 2007.
159. Kim, Y. J., Kim, S. I., Kim, Y. R., Hong, K. W., Wie, S. H., Park, Y. J., and Kang, M. W. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: diversity of resistant mechanisms and risk factors for infection. *Epidemiology and infection*, 140(1): 137-145, 2012.
160. Gazi, H., Sürücüoğlu, S., Kurutepe, S., İnmez, E., Dinç, G., ve Özbakkaloğlu, B. Yoğun bakım ünitesi ve diğer ünitelerde yatan hastalardan izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında in-vitro antibiyotik direnci. *Ankem Derg*, 19(3): 115-118, 2005.
161. Yavuz, M.T., Şahin, İ., Behçet, M., Öztürk, E., ve Kaya, D. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Dergisi*, 20(2):107-110, 2006.
162. Dede, B., Kadanalı, A., Karagöz, G., Çomoğlu, Ş., Bektaşoğlu, M. F., and Yücel, F. M. Investigation of antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from various clinical samples in intensive care unit. *Bakırköy Tıp Dergisi*, 9(1): 20-23, 2013.
163. Sarıca N. Hastane kaynaklı *Acinetobacter* suşlarında karbapenem direncinin moleküler analizi ve suşlar arası klonal ilişkinin gösterilmesi. Uzmanlık tezi. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 2010

164. Güdücüoğlu H, Berktaş M, Bozkurt H, Kurtoğlu MG, Gülmez S: *Acinetobacter baumannii* suşlarında 1997- 2000 yıllarında gözlenen antibiyotik direnci, *Ankem Dergisi*, 16 (1): 36- 39, 2002.
165. Koomanachai, P., Tiengrim, S., Kiratisin, P., and Thamlikitkul, V. Efficacy and safety of colistin (colistimethate sodium) for therapy of infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand. *International Journal of Infectious Diseases*, 11(5): 402-406, 2007.
166. Garcia-Penuela, E., Aznar, E., Alarcon, T., and Lopez-Brea, M. [Susceptibility pattern of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Madrid vs. Hong Kong]. *Revista espanola de quimioterapia: publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia*, 19(1): 45-50, 2006.
167. Mansur A, Kuzucu C, Ersoy Y, ve Yetkin F. İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezinde 2008 yılında yatan hastalardan izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Dergisi*, 23(4): 177-181, 2009.
168. zdemir M, Erayman İ, Gündem NS, Baykan M, ve Baysal B. Hastane infeksiyonu etkeni *Acinetobacter baumannii* suşlarının ceitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. *Ankem Dergisi*; 23(3), 127-132, 2009.
169. Hawkey, P., and Finch, R. Tigecycline: in-vitro performance as a predictor of clinical efficacy. *Clinical microbiology and infection*, 13(4): 354-362, 2007.
170. Zer Y., zgr Akın F.E., ve Namıduru M. *Acinetobacter baumannii* suşlarında tigesiklin etkinliğinin araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)* 21(4): 193-196, 2007.
171. Kuşcu F., ztrk D.B., Tütüncü E.E, Uslu M., Gürbüz Y., Glen G., ve şencan İ. Coğul antibiyotik dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında tigesiklin duyarlılık oranlarının E-test yöntemiyle araştırılması. *Klimik Dergisi*, 22(2): 48-51, 2009.
172. Mansur, A., Kuzucu, C., Ersoy, Y., ve Yetkin, F. Coğul direnç veya ekstrem ilaç direnci olan 30 *Acinetobacter* suşunda in vitro tigesiklin duyarlılığının disk difüzyon, e-test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemleri ile değerlendirilmesi. *Journal of Inonu University Medical Faculty*, 18(4): 257-262, 2011.
173. Koeleman, J. G., Bijl, M. W. V. D., Stoof, J., Vandenbroucke-Grauls, C. M., and Savelkoul, P. H. Antibiotic resistance is a major risk factor for epidemic behavior of

- Acinetobacter baumannii*. Infection control and hospital epidemiology, 22(5), 284-288. 2001
174. Durmaz R. Direnç gelişimini önlemede moleküler mikrobiyolojinin katkısı. *Ankem Dergisi*, 23(Ek 2):111-115, 2009.
175. Wang, J. T., Lin, S. F., Chiu, H. L., Wang, L. C., Tai, H. M., Jiang, C. F., and Chu, S. H. Molecular epidemiology and control of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in a teaching hospital. *Journal of the Formosan Medical Association= Taiwan yi zhi*, 103(1): 32-36, 2004.
176. Subramanian, D., Sandoe, J. A. T., Keer, V., and Wilcox, M. H. Rapid spread of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* among high-risk hospital inpatients and the role of molecular typing in outbreak confirmation. *Journal of Hospital Infection*, 54(2): 99-103, 2003.
177. Seifert, H., Schulze, A., Baginski, R., and Pulverer, G. Comparison of four different methods for epidemiologic typing of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of clinical microbiology*, 32(7): 1816-1819, 1994.
178. Seifert H., and Gerner-Smidt P. Comparison of ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis for molecular typing of *Acinetobacter* isolates. *Journal of clinical microbiology*, 33(5): 1402-1407, 1995.
179. Ayan, M., Durmaz, R., Aktas, E., and Durmaz, B. Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital-acquired *Acinetobacter baumannii* infection in a teaching hospital. *Journal of Hospital Infection*, 54(1): 39-45, 2003.
180. Wang H, Guo P, Sun H, Wang, H, Yang O, Chen, M, Xu, Y and Zhu Y. Molecular Epidemiology of Clinical Isolates of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese Hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 51(11), 4022-4028, 2007.
181. Çalışkan A. *Acinetobacter*'lerde direnç ve klonal ilişkinin araştırılması. Uzmanlık tezi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D. 2008.
182. Cetin, E.S., Durmaz, R., Tetik, T., Otlu, B., Kaya, S., and Çalışkan, A. Epidemiologic characterization of nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections in a Turkish university hospital by pulsed-field gel electrophoresis. *American journal of infection control*, 37(1): 56-64. 2009.
183. Wendt, C., Dietze, B., Dietz, E., and Rüden, H. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(6): 1394-1397, 1997.

184. Catalano, M., Quelle, L. S., JERIC, P. E., Di Martino, A., and Maimone, S. M. Survival of *Acinetobacter baumannii* on bed rails during an outbreak and during sporadic cases. *Journal of Hospital Infection*, 42(1): 27-35, 1999.
185. Kollef, M. H. Optimizing antibiotic therapy in the intensive care unit setting. *Critical Care*, 5(4): 189-195, 2001.
186. Gruson, D., Hilbert, G., Vargas, F., Valentino, R., Bebear, C., Allery, A., and Cardinaud, J. P. Rotation and restricted use of antibiotics in a medical intensive care unit: impact on the incidence of ventilator-associated pneumonia caused by antibiotic-resistant gram-negative bacteria. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 162(3), 837-843, 2000.
187. Weinstein, R. A., and Fridkin, S. K. Routine cycling of antimicrobial agents as an infection-control measure. *Clinical infectious diseases*, 36(11): 1438-1444, 2003.
188. Rosenthal, V., Guzmán, S., and Crnich, C. Device-associated nosocomial infection rates in intensive care units of Argentina. *Infection control and hospital epidemiology*, 25(3): 251-255, 2004.
189. Agodi, A., Zarrilli, R., Barchitta, M., Anzaldi, A., Di Popolo, A., Mattaliano, A., and Travali, S. Alert surveillance of intensive care unit-acquired *Acinetobacter* infections in a Sicilian hospital. *Clinical microbiology and infection*, 12(3): 241-247, 2006.
190. Harbarth, S., Sax, H., and Gastmeier, P. The preventable proportion of nosocomial infections: an overview of published reports. *Journal of Hospital infection*, 54(4): 258-266, 2003.

8.ÖZGEÇMİŞ

Dr. Mehmet Reşat CEYLAN

1980 yılında Şanlıurfa ili, Bozova ilçesi, Dutluca köyünde doğdum. İlkokulu doğduğum köyde bitirdim. Şanlıurfa Atatürk barajı Ortaokulu'nda başladığım orta öğrenimi, Şanlıurfa Ahmet Erseven İlköğretimokulu'nda tamamladım. Lise öğrenimini Şanlıurfa Davut Zeki Akpınar Lisesi'nde tamamladım.1999 yılında Şanlıurfa Harran Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. 2005 yılında mezun olduktan sonra 2009 yılına kadar Şanlıurfa Bozova ilçesine bağlı Yaylak Sağlık Ocağı'nda pratisyen hekim olarak çalıştım. 2009 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D. da ihtisasa başladım. Halen aynı yerde ihtisasa devam etmekteyim. Evli ve iki çocuk babasıyım.