

Yoğun bakım ünitelerinde kan dolaşımı enfeksiyonu etkeni karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarının moleküler yöntemlerle karakterizasyonu

Molecular characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates causing bloodstream infections in intensive care unit

Ayşegül GÖZALAN¹, Özlem ÜNALDI², Fisun KIRCA³, Nilay ÇÖPLÜ⁴, Tuba MÜDERRİS⁵,
Ziya Cibali AÇIKGÖZ⁶, Rıza DURMAZ⁶

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada; yoğun bakım ünitelerinde takip edilen hastaların kan örneklerinden izole edilen karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatları arasındaki klonal ilişki ve karbapenem direnç genlerinin moleküler yöntemler ile araştırılması amaçlandı.

Yöntem: Kan kültürü şişelerinden bakteri izolasyonu için Bactec 9240 sistemi (Becton Dickinson, ABD) kullanıldı. Çalışmaya; konvansiyonel testler, API 20NE (bioMérieux, Fransa) ve Phoenix TM 100 sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile tanımlanan ve *bla*_{OXA-51} gen varlığı gösterilerek doğrulanan 112 *A. baumannii* suşu dahil edildi. Antimikrobiyal duyarlılık testleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ve Phoenix TM 100 sistemi ile gerçekleştirildi. Karbapenem direnç genleri; *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM} ve *bla*_{NDM-1} Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi ile araştırıldı. *Acinetobacter baumannii* suşları arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesi için Pulse Field Jel Elektrofrezisi (PFGE) yöntemi kullanıldı.

Bulgular: Suşların antibiyotik direnç yüzdeleri gentamisin, amikasin, tobramisin, netilmisin, seftazidim, trimetoprim/sulfametoksazol, piperasilin,

ABSTRACT

Objective: In this study, the aim was to investigate the clonal relationship between carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolates and carbapenem resistance genes isolated from blood samples of patients followed in intensive care units by molecular methods.

Methods: Bactec 9240 system (Becton Dickinson, USA) was used for the isolation of bacteria from blood culture flasks. Identification of 112 strains included in the study were performed by conventional tests, API 20NE (bioMérieux, France) and Phoenix TM 100 system (Becton Dickinson, USA) and confirmed by the presence of *bla*_{OXA-51} gene. Antimicrobial susceptibility tests were performed by Kirby-Bauer disk diffusion method and Phoenix TM 100 system. Carbapenem resistance genes; *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM} and *bla*_{NDM-1} were investigated by Multiplex Polymerase Chain Reaction (PCR) method. Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) was used to determine the clonal relationship between *Acinetobacter baumannii* strains.

Results: The antibiotic resistance percentages of strains for gentamicin, amikacin, tobramycin, netilmicin, ceftazidime, trimethoprim/sulfamethoxazole,

¹Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Antalya

²Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı, Ankara

³Ankara Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

⁴Kastamonu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Kastamonu

⁵Katip Çelebi Üniversitesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, İzmir

⁶Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Ayşegül GÖZALAN

Alanya Alaaddin Keykubat Üni., Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD Antalya - Türkiye

Tel : +90 530 787 08 72 E-posta / E-mail : agozalan@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 09.05.2019

Kabul Tarihi / Accepted : 09.11.2019

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2019.53323

Gözalan A, Ünalı Ö, Kırcı F, Çöplü N, Müderris T, Açıkgöz ZC, Durmaz R. Yoğun bakım ünitelerinde kan dolaşımı enfeksiyonu etkeni karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarının moleküler yöntemlerle karakterizasyonu. Turk Hij Den Biyol Derg, 2020; 77(1): 15-24

siprofloksasin, ampicilin/sulbaktam, piperasilin/tazobaktam ve sefoperazon/sulbaktam için sırasıyla %88; %81; %78; %36; %98,5; %96; %89; %100; %100; %93; %91 olarak bulundu. İmipenem ve meropenem MİK değerleri tüm grupta ≥ 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'nin üzerinde saptandı. Çalışmaya alınan izolatların tümünde *bla*_{OXA-51} ve *bla*_{OXA-23} gen varlığı tespit edildi. PFGE yöntemi ile 62 farklı pulsotip saptandı. Pulsotiplerden 19 tanesi birbiriyle ayırt edilemez profil gösteren (eşittir üzeri) ≥ 2 suş içermektedir. Toplam 108 (%96,4) suşun (benzerlik oranı pulsotipler için %85 ve üzeri kabul edildiği durumda) klonal yönden ilişkili 11 grup içerisinde toplandıkları gözlemlendi.

Sonuç: Bu çalışmada, karbapenem dirençli *A. baumannii* suşlarının netilmisin dışında çalışılan tüm antibiyotiklere çok yüksek yüzdelerle dirence sahip olduğu ve hastane içinde çapraz bulaş yoluyla yayıldığı gösterildi. Bu suşlar hastane enfeksiyonları açısından risk oluşturmaktadır, bunula birlikte klonal yönden ilişkili suşlar spesifik bir ünite ve zaman periyodu ile sınırlı değildir.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, antibiyotik direnci, yoğun bakım üniteleri, polimeraz zincir reaksiyonu, pulsed-field jel elektroforezi

piperacillin, ciprofloxacin, ampicillin/sulbactam, piperacillin/tazobactam and cefoperazone/sulbactam, were 88%; 81%; 78%; 36%; 98.5%; 96%; 89%; 100%; 100%; 93%; 91% respectively. MIC values of imipenem and meropenem were determined above ≥ 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ in the whole group. *bla*_{OXA-51} and *bla*_{OXA-23} genes were detected in all isolates included in the study. By PFGE method, 62 different pulsotypes were detected. Among the pulsotypes, 19 of them contained ≥ 2 strains. It was observed that 108 (96.4%) strains were clustered in 11 clonally related groups when the similarity between pulsotypes for grouping was limited to 85% or more.

Conclusion: In this study, it was observed that carbapenem-resistant *A. baumannii* strains were resistant for all tested antibiotics at high levels except netilmicin and spread in the hospital via cross contamination. These strains posed a risk for hospital infections, however, clonal-related strains were not limited to a specific unit and time period.

Key Words: *Acinetobacter baumannii*, antibiotic resistance, Intensive care units, Polymerase Chain Reaction, pulsed-field gel electrophoresis

GİRİŞ

Acinetobacter spp. türleri özellikle yoğun bakım üniteleri için önemli bir problem olmaya devam etmektedir. Hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olan en önemli klinik türlerden biri *Acinetobacter baumannii*'dir. Bakterinin yüksek antibiyotik direnci ve cansız, kuru yüzeylerde yaşayabilme yeteneği hastane ortamındaki yaşam süresini uzatarak salgınların görülmesine neden olur. *Acinetobacter nosocomialis* ve *Acinetobacter pittii* türlerinin de gittikçe artan oranlarda hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olduğu, buna karşın çevresel

bir tür olan *Acinetobacter calcoaceticus*'un çok daha az klinik öneme sahip olduğu rapor edilmektedir (1-4). *Acinetobacter* türlerinin tanımlanmasında biyokimyasal testler güvenilir değildir. Bu nedenle genotipik olarak farklı ancak fenotipik olarak - ayırt edilemez düzeyde- benzer bu türler *A. calcoaceticus*- *A. baumannii* complex (*Acb complex*) olarak adlandırılmıştır (5). Son yıllarda bu komplekse *Acinetobacter seifertii* ve *Acinetobacter djikshoorniae* dahil edilmiştir (6,7).

A. baumannii özellikle ventilatör ilişkili pnömoni

başta olmak üzere bakteriyemi, menenjit, üriner sistem, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olabilir (3). *A. baumannii* enfeksiyonuna bağlı mortalite hızı %30 ile %75 arasında değişiklik gösterir (8).

A. baumannii'nin kolistin, polimiksin B ve tigesiklin dahil hemen tüm antibiyotiklere direnç geliştirdiği rapor edilmektedir (1). Son yıllarda; ciddi enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen karbapenem grubu antibiyotiklere karşı direnç oranlarındaki artışa dikkat çekilmektedir. *A. baumannii* izolatları için karbapenem direncinden sorumlu en önemli mekanizmalar; OXA tipi karbapenemazlar [Carbapenem-hydrolysing class D beta-lactamases (CHDLs)] ve metallo-β-laktamazlardır [metallo-β-lactamases (MBLs)] (2,9). Karbapenem dirençli *A. baumannii* suşlarının klonal yayılımının (sıklıkla Avrupa klonu II) CHDL taşıyıcılığı ile paralel olduğu rapor edilmektedir (10). Bu nedenle, özellikle karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatları arasındaki klonal ilişki ve yayılımının moleküler yöntemler ile tanımlanması ve elde edilen bilginin hastane enfeksiyon kontrol programlarında kullanılması önemlidir.

Bu çalışmada; yoğun bakımda takip edilen hastane kaynaklı bakteriyemi/sepsis olgularının kan örneklerinden izole edilen karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatları arasındaki klonal ilişkinin PFGE ile gösterilmesi ve karbapenem direnç genlerinin moleküler yöntemler ile araştırılması amaçlandı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Ocak 2012-Haziran 2014 tarihleri arasında yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören hastaların kan örneklerinden izole edilen karbapenem dirençli 112 *A. baumannii* izolatları dahil edilmiştir. Bu araştırma Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Etik komitesi tarafından onaylanmıştır (26379996/78).

Bakteri izolasyon ve tanımlanması:

Kan kültürü şişelerinden bakteri izolasyonu için Bactec 9240 sistemi (Becton Dickinson, ABD)

kullanıldı. İzolatlar; konvansiyonel testler (Gram boyama, oksidaz testi, üç şekerli besiyerinde üreme ve hareket özelliği), API 20NE (bioMérieux, Fransa) ve Phoenix TM 100 sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile tanımlandı. *A. baumannii* olarak tanımlanan suşların *bla_{OXA-51}* geni PCR ile araştırılarak doğrulandı (4,11). Birden çok üremesi olan hastaların ilk *A. baumannii* izolatu çalışmaya dahil edildi.

Antimikrobiyal duyarlılık testleri:

Antimikrobiyal duyarlılık testleri (ADT) CLSI (Klinik ve Laboratuvar Standartları Kurumu) standartlarına uygun olarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ve Phoenix TM 100 sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile gerçekleştirildi ve yorumlandı (12). Gentamisin (10 µg), amikasin (30 µg), netilmisin (30 µg), seftazidim (30 µg), imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), siprofloksasin (5 µg), trimetoprim/sülfametoksazol (1.25/23.75 µg), piperasilin (100 µg), ampisilin/sülbaktam (10/1 µg), piperasilin/tazobaktam (100/10 µg) ve sefoperazon/sulbaktam (75/30 µg) antibiyotikleri (Oxoid, ThermoScientific, İngiltere) için test edildi. Kalite kontrol suşu olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 kullanıldı.

İmipenem, ve meropenem duyarlılığı Phoenix TM 100 sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile üretici firmanın talimatlarına uygun olarak değerlendirildi. CLSI yorumlama kriterlerine göre, MİK değerleri imipenem ve meropenem için ≥ 8 µg/mL, olan suşlar dirençli kabul edildi (12).

Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR):

OXA-23, OXA-48, OXA-58, IMP, VIM ve NDM-1 karbapenemazları kodlayan genler Tablo 1'de baz dizileri verilen primerler kullanılarak multipleks PZR yöntemi ile araştırıldı (13-16). Tüm izolat ve standart suşlardan DNA eldesi CDC (Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi)'nin (17) kaynama protokolüne göre yapıldı. Amplifikasyon için 2,5 µL/10X TaqDNA polimeraz reaksiyon tamponu, 1,25 mM MgCl₂, her birinden 200 mM dNTP (Fermentas, USA), 10 pmol 7 çift primer, 2,5 U Taq DNA polimeraz (Fermentas, USA) ve 2 µL

Tablo 1. *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM} ve *bla*_{NDM-1} gen primer dizimleri

Hedef gen	Primer 5´-3´ oligonükleotit dizisi	Amplikon büyüklüğü (bp)
OXA-48	TTGGTGGCATCGATTATCGG	744
	GAGCACTTCTTTTGTGATGGC	
OXA-23	CTTGCTATGTGGTTGCTTCTC	650
	ATCCATTGCCCAACCAGTC	
OXA-58	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG	599
	CCCCTCTGCGCTCTACATAC	
NDM-1	GTAGTGCTCAGTGTGGCAT	476
	GGGCAGTCGCTTCCAACGGT	
VIM	GTGTTTGGTCGCATATCGC	380
	CGCAGCACCAGGATAGAAG	
IMP	GAATAGAGTGGCTTAATTCTC	188
	CCAAACCACTACGTTATC	

genomik DNA içeren 20 µL karışım hazırlandı. PZR koşulları; 95°C’de 5 dakika başlangıç denatürasyonu, 35 siklus denatürasyon (1 dakika/95°C), bağlanma (30 saniye/60°C), uzama (1,5 dakika/72°C); ve 72°C’de 10 dakika final uzama şeklinde çalışılmıştır. PZR ürünleri %1,5’lik agaroz jelde yürütüldükten sonra etidyum bromidle boyanarak UV ışık altında görüntüleme gerçekleştirildi.

Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE):

PFGE yöntemi daha önce tanımlandığı şekilde uygulandı (18). Bakteri hücre süspansiyonu %1’lik SeaKem® Gold Agarose (Lonza Rockland, Inc., Rockland, ME 04841 USA) ve %1 SDS ile karıştırılarak pluglar hazırlandı. Pluglar lizis tamponu [(50 mM Tris, 50mM EDTA [pH 8.0], 1% sarcosine ve 25 µL proteinaz K (20 mg/mL stok solüsyon)] içinde, 55°C’lik su banyosunda 2 saat boyunca çalkalandı ve hücrelerin lizise uğraması sağlandı. Ardından

55°C’lik su banyosunda 5 kere (15 dakika/yıkama) yıkama (2 kere steril ultra pür su ve 3 kere TE (Tris EOTA) tamponu; her bir yıkama basamağı için 10 mL) yapıldı. Yıkamanın ardından kromozomal DNA 30 U *Apal* (Fermantas Corporation, USA) enzimi ile kesildi. Oluşan DNA parçaları %1’lik agaroz jelde, 0,5X TBE (Tris-Borat EOTA) tamponunda CHEF-DR III sistemi (Bio-Rad Laboratories, Nazareth, Belgium) kullanılarak başlangıç vuruş süresi 5 sn, bitiş vuruş süresi 20 sn, vuruş açısı 120°, akım 6 V/cm², sıcaklık 14°C, süre 19 saat olarak elektroforez yapıldı. Jeller %0,1’lik etidyum bromidle boyanıp Gellologic 2200 görüntüleme sistemi (Kodak Company, NY, USA) kullanılarak DNA bantlarının fotoğrafı çekildi. BioNumerics version 7.5 yazılımı (Applied Maths, Sint Maarten Latem, Belgium) kullanılarak bant profilleri analiz edildi. UPGMA (Aritmetik Ortalama ile ağırlıksız çift grup metodu) metodu ve Dice benzerlik katsayısı kullanılarak PFGE profillerinin dendrogramı oluşturuldu

ve kümelenme analizi yapıldı. Benzerlik katsayısının hesaplanmasında tolerans %1,5 ve optimizasyon %1 olarak alındı. İzolatlar arasındaki ilişki Tenover ve ark. (19) tarafından geliştirilmiş kriterler kullanılarak değerlendirildi.

BULGULAR

Araştırmaya alınan *A. baumannii* suşlarının %43,1'i reanimasyon yoğun bakım-2 (RYB-2), %34,5'i reanimasyon yoğun bakım-1 (RYB-1) ve %22,4'ü diğer yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören hastalardan izole edildi.

Antibiyotik direnç yüzdeleri; gentamisin, amikasin, tobramisin, netilmisin, seftazidim, trimetoprim/sulfametoksazol, piperasilin, siprofloksasin, ampisilin/sulbaktam, piperasilin/tazobaktam ve sulperazon/sulbaktam için sırasıyla %88; %81; %78; %36; %98,5; %96; %89; %100; %100; %93; %91 olarak bulundu. Minimum inhibitör konsantrasyon değerleri imipenem ve meropenem için tüm suşlarda ≥ 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'nin üzerinde tespit edildi. Çalışmaya alınan izolatların tümünde *bla*_{OXA51-like} ve *bla*_{OXA23-like} genleri saptandı. Çalışılan diğer antibiyotik direnç genleri tespit edilemedi.

PFGE yöntemi ile moleküler tiplendirmeye alınan 112 *A. baumannii* suşunda 62 farklı (PFGE tipi) pulsotip saptandı. Pulsotiplerden 19 tanesi birbirleriyle ayırt edilemez profili gösteren ≥ 2 suş içermektedir. Kümelerin genişliği 2-9 suş arasında değişmektedir. Kümeleşme oranı %61,6 olarak hesaplandı. Pulsotipler arasındaki benzerlik oranı ≥ 85 alındığında yalnızca dört suşun klonal olarak ilintisiz oldukları, 108 (%96,4) suşun ise birbirleriyle klonal yönden ilişkili 11 PFGE grup içerisinde toplandıkları kaydedildi. Klonal yönden ilişkili olan suşların yalnızca spesifik bir ünite ve zaman periyodu ile sınırlı olmadığı görüldü. En büyük grup olan PFGE grup beş içerisinde yer alan 45 suşun üç ayrı ünite içerisinde bir yılı aşkın bir süreden beri varlığını devam ettirdiği kaydedilmiştir.

TARTIŞMA

A. baumannii düşük virülansa sahip bir mikroorganizma olmakla birlikte hastanede yatan ve ciddi hastalığı olan kişilerde hayatı tehdit eden enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojenlerdir. Yoğun bakım enfeksiyonlarının yaklaşık %20'sine *A. baumannii*'nin neden olduğu rapor edilmektedir (20). Ülkemizde yapılan bir çalışmada; *A. baumannii*'nin hastane kaynaklı gram negatif bakterilerin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonları içerisinde en yüksek mortalite hızına (%58) sahip olduğu rapor edilmektedir (21).

Acinetobacter cinsi içerisindeki türlerin antibiyotik duyarlılık ve yaptığı hastalıkların klinik görünüşleri büyük farklılıklar gösterdiği için izole edilen suşların moleküler yöntemler ile tanımlanması önemlidir. *A. baumannii*'ye spesifik intrinsik *bla*_{OXA-51} like genlerinin PZR ile gösterilmesi, bu türün tanımlanmasında basit ve güvenilir bir yöntemdir (4,11). Bazı çalışmalar ise; *bla*_{OXA-51-like} geni ISAb15 veya ISAb19 ile kesintiye uğrayabildiği için bu genin multipleks PZR'le saptanması *A. baumannii*'nin tanısında güvenilir olmayacağını ileri sürmektedir (22). Ayrıca horizontal gen transferi ile non-*A. baumannii* türlerinin de bu geni kazanabileceği rapor edilmektedir (23). Bununla birlikte; Wang ve arkadaşları (4), 2197 *bla*_{OXA-51-like} gen pozitif *A. baumannii* suşundan yalnızca birinde ISAb19 göstermiş olup, 385 non-*A. baumannii* suşunun hiç birinde *bla*_{OXA-51-like} pozitifliği saptamamıştır. Dolayısıyla araştırmacılar *bla*_{OXA-51-like} geninin *A. baumannii* tanısında belirleyici olmadığını söylemek için yeterli sayıda veri olmadığını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda; Phoenix ile *A. baumannii* olarak tanımlanan tüm suşlarda *bla*_{OXA-51-like} ile birlikte *bla*_{OXA-23-like} gen varlığı gösterildi.

A. baumannii izolatlarında *bla*_{OXA-23-like} geni, ilk olarak 1985 yılında İngiltere'de gösterilmiştir (24). Bu gen ve varyantlarının (*bla*_{OXA-23-like} gen grubu) tüm dünyada en sık saptanan karbapenemaz geni olduğu (1,9,25) ve sıklıkla Avrupa klonu I veya II izolatları

tarafından eksprese edildiği rapor edilmektedir (26).

Türkiye’de 2006-2010 yılları arasında, *A. baumannii* endemik ve epidemik suşlarında karbapenemaz üretiminden *bla*_{OXA-58-like} daha sık olmak üzere, *bla*_{OXA-23-like} genlerinin sorumlu olduğu görülmektedir (27-30). Bununla birlikte; Ergin ve arkadaşları (31) 2004-2009 yılları arasında *A. baumannii* izolatlarında hakim olan *bla*_{OXA-58-like} gen oranlarının 2010 yılında azalmaya başladığını, 2008-2010 yılları arasında *bla*_{OXA-23-like} oranında artış olduğunu saptamıştır. Bu konuda yapılan diğer çalışmalar da *bla*_{OXA-23-like} gen pozitifliği oranlarındaki artış desteklemektedir (32-34).

Akdeniz ülkelerini kapsayan çok merkezli bir araştırmada ülkemize ait Acb complex izolatlarının *bla*_{OXA-23} like geni saptanma oranlarındaki artışa doripenem direncindeki artışın eşlik ettiği bildirilmektedir (35). Benzer şekilde Gur ve arkadaşları (30); *bla*_{OXA-23} karbapenemaz üreten suşların *bla*_{OXA-58} üretenlerden daha dirençli olduğunu rapor etmektedir.

Son yıllarda özellikle yoğun bakım ünitelerinde gözlenen çoklu ilaca dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarının yayılımı tüm dünyada endişe ile izlenmektedir. EARS-Net (Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı) 2016 sürveyans raporuna göre; Avrupa bölgesindeki ülkelerin %55.4’den fazlası *A. baumannii* izolatları için florokinolon, aminoglikozid ve karbapenem grubu antibiyotiklerden en az birine direnç bildirmektedir (36). SMART surveyans çalışması kapsamında yapılan bir araştırmada; çoklu ilaca dirençli *A. baumannii* insidansının Afrika, Asya ile Latin Amerika’da %75 ve Orta Doğu ile Avrupa’nın bazı bölgelerinde %90 oranlarına ulaştığı rapor edilmektedir (37).

A. baumannii enfeksiyonlarının tedavisinde etkin ve güvenli antibiyotikler olarak kabul edilen karbapenemlerin yaygın kullanımı son yıllarda bu gruba karşı gittikçe artan bir dirence neden olmuştur (1). Aydın ve arkadaşları (21); ülkemizin farklı

bölgelerini kapsayan çok merkezli çalışmalarında *A. baumannii* kan izolatlarında antibiyotik direnç hızlarını değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada; karbapenem, flurokinolon, üçüncü kuşak sefalosporinler, aminoglikozid ve kolistin direnç oranları sırası ile; %91,8, %89, %93,8, %70,9, %2,1 olarak belirlendi. Bu araştırmada; karbapenem dirençli *A. baumannii* suşları ile çalışıldığı için antibiyotik direnç oranlarımız yüksek bulundu. Karbapeneme dirençli *A. baumannii* izolatları, minosiklin/tigesiklin ve polimiksinler (kolistin, polimiksin B) dışında genellikle diğer tüm antibiyotiklere karşı dirençlidir (1,9).

Dirençli *A. baumannii* izolatlarının hastane ortamındaki çapraz bulaş sıklığının ortaya konulması, uygulanmakta olan kontrol önlemlerinin etkinliğinin değerlendirilmesi ve daha etkin olabilecek yöntemlerin geliştirilmesi açısından önemlidir. Çalışmamızda PFGE sonuçları karbapenem dirençli *A. baumannii* suşlarının çapraz bulaş geliştirdiğini (%96.4) ve klinikler arası yayılmanın bir yılı aşkın süreden beri devam ettiğini göstermektedir. Çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde dirençli *A. baumannii* klonlarının hastane içinde yalnızca bir klinikle sınırlı kalmayıp, aynı zamanda farklı klinikler ve coğrafik bölgeler arasında da yayılım gösterdiği ortaya koyan başka bir çalışma da vardır (32).

Sonuç olarak; özellikle yoğun bakım ünitelerinde yüksek morbidite ve mortalite hızına sahip bir enfeksiyon etkeni olan *A. baumannii* izolatları arasındaki klonal ilişki, çalışma popülasyonunda uygulanmakta olan kontrol önlemlerinin gözden geçirilmesinin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Moleküler tiplendirme verilerine dayalı etkin bir kontrol ve sürveyans programının uygulanması, antibiyotik direnci nedeniyle hastaların tedavi seçeneklerini sınırlayan ve enfeksiyon kontrol önlemlerini tehdit eden bu önemli halk sağlığı sorununun çözümüne önemli oranda katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Doi Y, Murray GL, Peleg AY. Acinetobacter baumannii: evolution of Antimicrobial resistance-treatment options. *Semin Respir Crit Care Med*, 2015; 36(1): 85-98.
2. Lee HY, Chen CL, Wu SR, Huang C .W, Chiu CH. Risk factors and outcome analysis of acinetobacter baumannii complex bacteremia in critical patients. *Crit Care Med*, 2014; 42(5): 1081-8.
3. Chusri S, Chongsuvivatwong V, Rivera JI, Silpapojakul K, Singkhamanan K, McNeil E et al. Clinical outcomes of hospital-acquired infection with Acinetobacter nosocomialis and Acinetobacter pittii. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014; 58(7): 4172-9.
4. Wang J, Ruan Z, Feng Y, Fu Y, Jiang Y, Wang H et al. Species distribution of clinical Acinetobacter isolates revealed by different identification techniques. *PLoS One*, 2014; 13;9(8),e104882.
5. Gerner-Smidt P, Tjernberg I, Ursing. Reliability of phenotypic tests for identification of Acinetobacter species. *J Clin Microbiol*, 1991; 29(2): 277-82.
6. Nemeč A, Krizova L, Maixnerova M, Sedo O, Brisse S, Higgins PG. Acinetobacter seifertii sp. nov., a member of the Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2015; 65(Pt 3): 934-42.
7. Cosgaya, C, Mari-Almirall M, Van Assche A, Fernández-Orth D, Mosqueda N, Telli M et al. Acinetobacter dijkshoorniae sp. nov., a member of the Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex mainly recovered from clinical samples in different countries. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2016; 66(10): 4105-11.
8. Wenzler E, Goff DA, Humphries R, Goldstein EJC. Anticipating the Unpredictable: A review of Antimicrobial Stewardship and Acinetobacter Infections. *Infect Dis Ther*, 2017; 6(2): 149-72.
9. Lin MF, Lan CY. Antimicrobial resistance in Acinetobacter baumannii: from bench to bedside. *World J Clin Cases*, 2014; 2(12): 787-814.
10. Higgins PG, Dammhayn C, Hackel M, Seifert H. Global spread of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii. *J Antimicrob Chemother*, 2010; 65(2): 233-8.
11. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of Acinetobacter baumannii by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol*, 2006; 44(8): 2974-6.
12. Anonymous. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty Fifth Informational Supplement, M100-S25. ISBN: 1-56238-989-0, Wayne, CLSI, 2015.
13. Gómez-Gil MR, Paño-Pardo JR, Romero-Gómez MP, Gasior M, Lorenzo M, Quiles I, Mingorance J. Detection of KPC-2-producing Citrobacter freundii isolates in Spain. *J Antimicrob Chemother*, 2010; 65(12): 2695-7.
14. Garza-Ramos U, Morfin-Otero R, Sader HS, Jones RN, Hernández E, Rodríguez-Noriega et al. Metallo-beta-lactamase gene bla(IMP-15) in a class 1 integron, In95, from Pseudomonas aeruginosa clinical isolates from a hospital in Mexico. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008; 52(8): 2943-6.
15. Poirel L, Bonnin RA, Nordmann P. Genetic features of the widespread plasmid coding for the carbapenemase OXA-48. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012; 56(1): 559-62.
16. Lim J, Cho HH, Kim S, Kim J, Kwon KC, Park JW, Koo SH. The Genetic characteristics of Multidrug-resistant Acinetobacter baumannii Coproducing 16S rRNA Methylase armA and Carbapenemase OXA-23. *J Bacteriol Virol*, 2013; (43)1: 27-36.
17. Anonymous. Center for disease control and Prevention. Multiplex Real-Time PCR Detection of Klebsiella pneumonia Carbapenemase (KPC) and New Delhi metallo-β-lactamase (NDM-1) genes, CDC . <http://www.cdc.gov/HAI/settings/lab/kpc-ndm1-lab-protocol>. (Erişim Tarihi: 2011).

18. Seifert H, Dolzani L, Bressan R, van der Reijden T, van Strijen B, Stefanik D et al. Standardization and interlaboratory reproducibility assessment of pulsed-field gel electrophoresis-generated fingerprints of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*, 2005; 43(9): 4328-35.
19. Tenover FC, Arbeit RD., Goering RV1. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. *Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America. Infect Control Hosp Epidemiol*, 1997; 18(6): 426-39.
20. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*, 2009; 2: 302(21): 2323-9.
21. Aydın M, Ergönül Ö, Azap A, Bilgin H, Aydın G, Çavuş SA, et al. Rapid emergence of colistin resistance and its impact on fatality among healthcare-associated infections. *J Hosp Infect*, 2018; 98(3): 260-3.
22. Zander E, Higgins PG, Fernández-González A, Seifert H. Detection of intrinsic blaOXA-51-like by multiplex PCR on its own is not reliable for the identification of *Acinetobacter baumannii*. *Int J Med Microbiol*, 2013; 303(2): 88-9.
23. Lee YT, Kuo SC, Chiang MC, Yang SP, Chen CP, Chen TL, et al. Emergence of carbapenem-resistant non-baumannii species of *Acinetobacter* harboring a blaOXA-51-like gene that is intrinsic to *A. baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012; 56(2): 1124-7.
24. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007; 51(10): 3471-84.
25. Sarı AN, Biçmen M, Gülay Z. The first report on the outbreak of OXA-24/40-like carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in Turkey. *Jpn J Infect Dis*, 2013; 66(5): 439-42.
26. Mugnier PD, Poirel L, Naas T, Nordmann P. Worldwide dissemination of the blaOXA-23 carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis*, 2010; 16(1): 35-40.
27. Ozen N, Ergani A, Naas T, Ogunc D, Gultekin M, Colak D, et al. Outbreak of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* producing the carbapenemase OXA-58in Turkey. *The Open Antimicrob Agents J*, 2009; 1: 1-8.
28. Vahaboglu H, Budak F, Kasap M, Gacar G, Torol S, Karadenizli A, et al. High prevalence of OXA-51-type class D beta-lactamases among ceftazidime-resistant clinical isolates of *Acinetobacter* spp.: co-existence with OXA-58 in multiple centres. *J Antimicrob Chemother*, 2006; 58(3): 537-42.
29. Kulah C, Mooij MJ, Comert F, Aktas E, Celebi G, Ozlu N, et al. Characterisation of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak strains producing OXA-58 in Turkey. *Int J Antimicrob Agents*, 2010; 36(2): 114-8.
30. Gur D, Korten V, Unal S, Deshpande LM, Castanheira M. Increasing carbapenem resistance due to the clonal dissemination of oxacillinase (OXA-23 and OXA-58)-producing *Acinetobacter baumannii*: report from the Turkish SENTRY Program sites. *J Med Microbiol*, 2008; 57(Pt 12): 1529-32.
31. Ergin A, Hascelik G, Eser OK Molecular characterization of oxacillinases and genotyping of invasive *Acinetobacter baumannii* isolates using repetitive extragenic palindromic sequence-based polymerase chain reaction in Ankara between 2004 and 2010. *Scand J Infect Dis*, 2013; 45(1): 26-31.
32. Ahmed SS, Alp E, Ulu-Kilic A, Dinc G, Aktas Z, Ada B, et al. Spread of carbapenem-resistant international clones of *Acinetobacter baumannii* in Turkey and Azerbaijan: a collaborative study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2016; 35(9): 1463-8.
33. Ciftci IH, Aşık G, Karakeçe E, Oksüz L, Yağcı S, Sesli Çetin E, et al. Distribution of blaOXA genes in *Acinetobacter baumannii* strains: a multicenter study]. *Mikrobiyol Bul*, 2013; 47(4): 592-602.

34. Keskin H, Tekeli A, Dolapci İ, Öcal D. Molecular characterization of beta-lactamase-associated resistance in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from clinical samples. *Mikrobiyol Bul*, 2014; 48(3): 365-76.
35. Castanheira M, Costello SE, Woosley LN, Deshpande LM., Davies TA, Jones RN. Evaluation of clonality and carbapenem resistance mechanisms among *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* complex and *Enterobacteriaceae* isolates collected in European and Mediterranean countries and detection of two novel β -lactamases, GES-22 and VIM-35. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014; 58(12): 7358-66.
36. Anonymous. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe, Antimicrobial Resistance Surveillance Network) 2016, Stockholm: ECDC; 2017. <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AMR-surveillance-Europe-2016.pdf> (Erişim tarihi: 2017). doi 10.2900/296939.
37. Lob SH, Hoban DJ, Sahm DF, Badal E. Regional differences and trends in antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents*, 2016; 47(4): 317-23.