



T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN VE YOĞUN BAKIM
ÜNİTESİ ORTAMINDAN İZOLE EDİLEN *ACINETOBACTER*
SUŞLARININ GENOTİPİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**

Esra KIRKGÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Yasemin ZER

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim
Birimi Komisyonu Başkanlığı tarafından TT.11.15 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Gaziantep
2011



T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN VE YOĞUN BAKIM
ÜNİTESİ ORTAMINDAN İZOLE EDİLEN *ACINETOBACTER*
SUŞLARININ GENOTİPİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**

Esra KIRKGÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Yasemin ZER

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim
Birimi Komisyonu Başkanlığı tarafından TT.11.15 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Gaziantep
2011

T.C
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN VE YOĞUN BAKIM ÜNİTESİ
ORTAMINDAN İZOLE EDİLEN *ACINETOBACTER* SUŞLARININ
GENOTİPİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**
Bio. Esra KIRKGÖZ

Tez Savunma Tarihi: 28.12.2011
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Bu tez çalışmasının bir ‘Yüksek Lisans’ derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir ‘Yüksek Lisans’ tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Yasemin ZER
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir ‘Yüksek Lisans’ tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ Jürisi:

Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL

Doç. Dr. Yasemin ZER

Yrd. Doç. Dr. Vuslat BOŞNAK

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

28.12.2011
Bio. Esra Kırkgöz

TEŞEKKÜR

Her türlü desteğini esirgemeyen başta tez danışman hocam Doç. Dr. Yasemin ZER' e, eğitim sürecimde deneyimleri ve bilgi birikimleri ile her türlü yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım, Prof. Dr. İclal BALCI' ya, Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL' e, Doç. Dr. Ayşen BAYRAM'a, Yrd. Doç. Dr. Fahriye EKŞİ' ye, yardımları için asistan arkadaşlarım Dr. Ebru NAZLI UNCU, Dr. Yelda YILMAZ, Dr. Ahu SÖNMEZ, Dr. Yusuf DOĞAN ve özellikle de Dr. Gül ÖZDEMİR'e ve laboratuvarındaki tüm iş arkadaşlarım, Jale ÖZASLAN ve Ayşe BÜYÜKTAŞ' a teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren; hayatımın her döneminde maddi ve manevi desteklerini, sevgilerini esirgemeyen; başarı ya da başarısızlığımda hep yanımda olan; kendileriyle onur duyduğum çok değerli anne ve babama, zor anımda hep yanımda olan kız kardeşlerime teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	v
RESİM ve ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Hastane İnfeksiyonları.....	3
2.2. <i>Acinetobacter</i> Türleri.....	3
2.3. Morfoloji, Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri.....	3
2.4. Patogenez, Virulans Faktörleri ve Yayılım.....	8
2.5. <i>Acinetobacter</i> İnfeksiyonlarında Klinik Tablo.....	9
2.5.1. Solunum sistemi infeksiyonları.....	10
2.5.2. Bakteriyemi.....	10
2.5.3. Menenjit.....	11
2.5.4. Üriner sistem infeksiyonları.....	11
2.5.5. Yumuşak doku infeksiyonları.....	11
2.5.6. Diğer infeksiyonlar.....	12
2.6. Predispozan Faktörler.....	12
2.7. Epidemiyoloji.....	13
2.8. Hastane Çevresinde Kalıcılığı.....	14
2.9. Tedavi.....	15
2. 10. <i>Acinetobacter</i> İnfeksiyonlarında Kombine Antibiyotik Kullanımı.....	16
2. 11. <i>Acinetobacter</i> İnfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotikler.....	17

2.11.1. Beta-laktam antibiyotikler.....	17
2.11.1.1. Beta-laktamaz inhibitörlü beta-laktamlar.....	17
2.11.1.2. Antipsödomonal Penisilinler.....	18
2.11.1.3. Sefalosporinler.....	18
2.11.1.4. Karbapenemler.....	19
2.11.2. Protein Sentezini İnhibe Eden Antibiyotikler.....	20
2.11.2.1. Aminoglikozidler.....	20
2.11.2.2. Tetrasiklinler.....	20
2.11.2.3. Tigesiklin.....	21
2.11.3. Nükleik Asit Sentezini İnhibe Eden Antibiyotikler.....	21
2.11.3.1. Kinolonlar.....	21
2.11.4. Sitoplazma Zarını Etkileyen Antibiyotikler.....	22
2.11.4.1. Kolistin.....	22
2.11.5. Folat Sentezini Etkileyen Antibiyotikler.....	22
2.11.5.1. Sülfonamidler ve trimethoprim.....	22
2.12. <i>Acinetobacter</i> İnfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotiklerin Direnç Mekanizmaları.....	23
2.12.1. Beta-laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları.....	24
2.12.2. Aminoglikozidlere Karşı Gelişen Direnç Mekanizmaları.....	26
2.12.3. Kinolonlara Karşı Gelişen Direnç Mekanizmaları.....	27
2.12.4. Tetrasiklinlere Karşı Gelişen Direnç Mekanizmaları.....	27
2.12.5. Diğer Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları.....	28
2.13. Tiplendirme Yöntemleri.....	28
2.13.1. Fenotipik Yöntemler.....	29
2.13.1.1. Antibiyotiplendirme.....	29
2.13.1.2. Serotiplendirme.....	29
2.13.1.3. Biyotiplendirme.....	30
2.13.1.4. Bakteriosin Tiplendirme.....	30
2.13.1.5. Bakteriyofaj Tiplendirme.....	30
2.13.1.6. Multilokus enzim elektroforezi.....	30
2.13.1.7. Hücresel proteinlerin poliakrilamid jel elektroforezi.....	30
2.13.2. Moleküler Yöntemler.....	31
2.13.2.1. Plasmid profili.....	31
2.13.2.2. Multiloküs Sekans Tipleme (MLST).....	32

2.13.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Temelli Yöntemler...	32
2.13.2.4. Repetitive Extragenic Palindromic Sequences (REP)-PCR	32
2.13.2.5. Pulsed field gel electrophoresis (PFGE).....	34
2.13.2.5.1. PFGE’de epidemiyolojik yorum.....	34
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1. Örneklerin Toplanması.....	36
3.2. Bakterilerin Tanımlanması.....	37
3.2.1. Konvansiyonel yöntemler.....	37
3.2.2. Otomatize identifikasyon yöntemi.....	37
3.3. Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi.....	39
3.4. Kökenlerin Genotiplenmesi İçin Moleküler Yöntem.....	40
3.4.1. DNA ekstraksiyonu için yapılan aşamalar.....	41
3.4.2. Thermalcycler’da diversiLab parmak-izi kiti kullanılarak rep-PCR yapılması aşaması.....	42
3.4.3. Biyoanalizör kullanılarak otomatik mikrofluidic elektroforez Yapımı.....	43
3.4.4. ‘rep-PCR DNA fingerprinting’.....	44
4.BULGULAR.....	46
5.TARTIŞMA.....	65
6. SONUÇLAR.....	77
7. KAYNAKLAR.....	78
ÖZGEÇMİŞ.....	96

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

ABD	Amerika Birlesik Devleti
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
AN	Amikasin
AP-PCR	Arbitrarily Primed Amplification
ARDRA	Amplified Ribozomal DNA Restriction Analyse
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
CAZ	Ceftazidime
CIP	Ciprofloxacin
CLSI	Clinical and Laboratory Standarts Institute
CRO	Ceftriaxone
CS	Colistin
DRE	Double Repetitive Element
EDP	Energy Dependent Phase
EMB	Eozin Metilen Blue
EPIC	European Prevalence of Infection in Intensive Care
ERIC-PCR	Enterobacterial Repetitive İntergenic Consensus PCR
FEP	Cefepime
GN	Gram negatif
GM	Gentamicin
GSBL	Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz
Hİ	Hastane İnfeksiyonu
IPM	Imipenem
İBL	İndüklenebilir Beta Laktamazlar
İS	İnsertional Sequence
KAT-I	Kloramfenikol Asetiltransferaz-I
LEV	Levofloxacin
MBL	Metallo Beta-Laktamazlar
MIK	Minimal İnhibitör Konsantrasyon
MLST	Multilocus Sequence Typing

MEM	Meropenem
MYSTIC	Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection
NNIS	National Nosocomial Infections Surveillance System
OMP	Outer Membran Protein
PABA	Paraaminobenzoik Asit
PBP	Penisilin Bağlayan Protein
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PFGE	Pulsed Fied Gel Electrophoresis
PGRS	Polymorphic Guanine/Cytosine-Rich Repetitive Sequences
PIP	Piperacillin
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA
RE	Restriksiyon Enzimleri
rep-PCR	Repetitive Extragenic Palindromic Sequence Based
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SAM	Ampisilin/Sulbactam
SFP	Cefoperazone/Sulbactam
SXT	Trimethoprim/Sulfamethoxazole
TE	Tetracycline
TGC	Tigecycline
TIC	Ticarcillin
TM	Tobramycin
TZP	Piperacillin/Tazobactam
YBÜ	Yoğun Bakım Ünitesi

RESİM ve ŞEKİL LİSTESİ

Resim 1. <i>A. baumannii</i> 'nin mikroskoptaki görünümü.....	4
Resim 2. <i>A. baumannii</i> 'nin kanlı besiyerindeki görünümü.....	5
Resim 3. Vitek Gram negatif identifikasyon kartı.....	38
Resim 4. DiversiLab Chip görünümü.....	45
Şekil 1. <i>A. baumannii</i> 'nin aynı hastaların farklı numulerindeki ilişkisini gösteren dendogram.....	50
Şekil 2. <i>A. baumannii</i> 'nin aynı hastaların farklı numunelerindeki ilişkisini gösteren benzerlik matrisi.....	51
Şekil 3. <i>A. baumannii</i> 'nin aynı hastaların farklı numunelerindeki ilişkisini gösteren noktalama grafiği.....	52
Şekil 4. <i>A. baumannii</i> 'nin izole edildiği örnek ve çevre kültürleri arasındaki ilişkiyi gösteren dendogram.....	57
Şekil 5. <i>A. baumannii</i> 'nin izole edildiği örnek ve çevre kültürleri arasındaki ilişkiyi gösteren noktalama grafiği.....	58
Şekil 6. <i>A. baumannii</i> 'nin izole edildiği tarih-örnek ilişkisini gösteren dendogram.....	61
Şekil 7. <i>A. baumannii</i> 'nin izole edildiği tarih-örnek ilişkisini gösteren noktalama grafiği.....	62

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. <i>Acinetobacter</i> türlerinin tanımlanması için basitleştirilmiş şema.....	6
Tablo 2. <i>Acinetobacter</i> infeksiyonlarını kolaylaştıran risk faktörleri.....	13
Tablo 3. <i>Acinetobacter</i> salgınlarda çevresel kontaminasyonu gözlenen hastane mobilyası ve ekipmanlar.....	15
Tablo 4. <i>Acinetobacter</i> 'lerde bulunan antibiyotik direnç mekanizmaları.....	24
Tablo 5. Vitek 2 AST90 kartlarında yer alan antibiyotikler ve dilüsyon miktarları.....	40
Tablo 6. <i>A.baumannii</i> suşlarının izole edildikleri hastaların yaş dağılımı.....	46
Tablo 7. <i>A. baumannii</i> izolatlarının soyutlandığı klinik örneklerle göre dağılımı.....	47
Tablo 8. Çevre örneklerinden izole edilen <i>A. baumannii</i> suşlarının dağılımı.....	47
Tablo 9. <i>A. baumannii</i> suşlarının antimikrobiyal duyarlılık sonuçları.....	48
Tablo 10. Aynı hastaların farklı numulerindeki ilişkinin karşılaştırılması.....	53
Tablo 11. Hastalar ve çevre örneklerinin karşılaştırılması.....	59
Tablo 12. Hastaların ve çevre örneklerinin tarih ilişkisinin karşılaştırılması.....	63
Tablo 13. Türkiye'de yapılmış olan çeşitli çalışmalarda <i>Acinetobacter</i> türlerinin izole edildiği örneklerin dağılımı.....	68

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN VE YOĞUN BAKIM ÜNİTESİ ORTAMINDAN İZOLE EDİLEN *ACINETOBACTER* SUŞLARININ GENOTİPİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI

Esra KIRKGÖZ

Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Yasemin ZER

Aralık 2011, 96 sayfa

Hastane infeksiyonların genel özelliği, yaygın olarak çoklu ilaç direnci olan mikroorganizmalarla meydana gelmesi, yüksek mortalite ve morbidite oranı ve artmış tedavi maliyetidir. *A. baumannii*'de hastane infeksiyonlarında sık rastlanan çoklu dirençli bir mikroorganizmadır. Çevre şartlarına oldukça dayanıklı olan *Acinetobacter*'lerin hastalara bulaşında çevrede bulunan suşların bir kaynak oluşturabileceği düşünülür. Bu çalışma Yoğun Bakım Ünitesinde (YBÜ) çeşitli cansız ortamlardan izole edilen *Acinetobacter* suşları ile hastalardan izole edilen suşların karşılaştırılması ve bakterinin bulaşında çevresel alanların kaynak olup olmayacağını araştırılması amacıyla yapıldı. Ocak 2010-Haziran 2011 tarihleri arasında hastanemiz YBÜ'den laboratuvarımıza gönderilen çeşitli örneklerden izole edilen *A. baumannii* suşları ile çalışıldı. Bir hastadan *A. baumannii* izole edilmesi durumunda, YBÜ'nin çeşitli alanlarından sürüntü örnekleri alındı. *A. baumannii* suşlarının tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılmasında Vitek 2 (bioMérieux, Fransa) tanımlama sistemi kullanıldı. Genotiplendirme rep-PCR yöntemiyle DiversiLab (bioMérieux, Fransa) kullanılarak yapıldı. Örnek toplama süresi içerisinde 61 hastadan 92 örnek ve 8 çevreden izole edilen örnek olmak üzere 100 *A. baumannii* suşu bulundu. Hasta örneklerinden en sık trakeal aspiratlarda *A. baumannii* suşu izole edildi (%52). Klinik örneklerden saptanan suşların tamamı çoklu dirençli bulunurken, en etkili antibiyotikler kolistin (% 99) ve tobramisin (%94) idi. Suşların genotipik analizinde, aynı hastaya ait farklı örneklerde farklı genotiplerin olduğu, çevreden izole edilen suşların biri dışında hastalardan izole edilen birçok suşla aynı olduğu saptandı. Hastane infeksiyonlarının önlenmesinde en önemli kavram kontrol önlemlerinin doğru uygulanmasıdır. *A. baumannii* suşları için çevresel yüzeyler bir kaynak olabileceğinden dezenfeksiyon ve dekontaminasyon prosedürleri doğru yapılmalı ve salgın diye tanımlanabilecek yaygın bir infeksiyonla karşılaşıldığında kökenlerin genotipik analizi ile kaynak araştırılması yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, genotiplendirme, rep-PCR, hastane infeksiyonu

ABSTRACT

Master Thesis

COMPARISON AS GENOTYPIC *ACINETOBACTER* STRAINS THAT WERE ISOLATED FROM INTENSIVE CARE UNIT AND INTENSIVE CARE PATIENTS

Esra KIRKGÖZ

University of Gaziantep, Institute of Health Sciences

Department of Microbiology

Supervisor: Doç. Dr. Yasemin ZER

December 2011, 96 pages

The general feature of hospital infections, extensively taking place in microorganism which has multi-drug resistance, high mortality and morbidity rate and increased cost of treatment. *Acinetobacter baumannii* is also a multi-resistant microorganism very common in hospital infections. *Acinetobacters* that are pretty resistant to environmental conditions, when the patients are infected, it is considered that strains in around create a resource for infection. This study has been done for the comparison of *Acinetobacter* strains which were isolated from various non-living environments in Intensive Care Unit and strains that isolated from patients and also when bacterial contamination was experienced, if the resource of infection is a reason of environmental areas or not. *A. baumannii* strains which are isolated from various samples that were sent to our hospital's intensive care unit laboratory in the date between January 2010 and June 2011 were studied. In isolation of *A. baumannii* from a patient, swab samples were taken from various areas of intensive health care unit. In defining of *A. baumannii* strains and in making antibiotic sensitivity tests, Vitek 2 (bioMérieux, France) identification system was used. rep-PCR method DiversiLab was used in genotyping. In the time of gathering sample, from 61 patients 92 samples and from 8 samples isolated from environment totally 100 samples of *A. baumannii* strains were found. *A. baumannii* strains has been isolated commonly or frequently in tracheal aspirate sample among the patient's samples (52%). All of strains that were started from clinical samples were found as multi-resistant and the most effective antibiotics are colistin (99%), tobramycin (94%). In genotypic analysis of strains, it was realized that different samples that belong to the same patient have different genotype and it was found that strains isolated from environment (except for one of them) is the same with most of strain that were isolated from patients. In avoiding from hospital infections, the most important concept is to apply control precautions properly. The disinfection and decontamination procedures should be made properly why environmental surfaces may be a reason for *A. baumannii* strains and when we face with a common infection which is called epidemic, the genotype analysis of origins and resource investigation should be made.

Key words; *A. baumannii*, genotyping, rep-PCR, hospital infection

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Son 20 yıldır gelişmiş ülkelerde, çoğul antibiyotik dirençli Gram negatif basillerin neden olduğu hastane infeksiyonları (HI) önemli bir problem oluşturmaktadır (1). Hastane infeksiyonları, hasta hastaneye başvurduğunda inkübasyon döneminde olmayan, hastaneye yatıştan itibaren 48 saatten uzun bir sürenin sonunda veya bazen taburcu olduktan sonra ortaya çıkan ya da sık poliklinik muayenelerine bağlı olarak gelişen infeksiyonlardır. Bu grup infeksiyonlar mortalite ve morbiditesi yüksek infeksiyon türleridir. Bu açıdan, sebep oldukları morbidite-mortalite ve büyük maliyet gözönüne alındığında, günümüzün en ciddi infeksiyon türü olarak gözükmektedir (2).

Hastane infeksiyonları hastanelerin belirli ünitelerinde daha sık görülmektedir ve hemen çoğu kez de en sık görüldüğü ünite yoğun bakım üniteleridir (YBÜ). YBÜ’de hastaneye yatan hastaların sadece %5-10’u tedavi görmesine karşın, tüm nozokomiyal infeksiyonların yaklaşık %20-25’i bu ünitelerde gelişmektedir (2).

YBÜ’ler, genel durumu kötü olan kritik hastaların izlendiği birimlerdir. YBÜ’de bulunan hasta grubu, hastanedeki en ağır hastalığı olan, invaziv girişimlerin ve monitörizasyon cihazlarının en fazla uygulandığı, diğer hastalara göre hastanede kalış süresi daha uzun olan ve daha fazla antibiyotik kullanılan hastalardır. Bütün bu nedenlere bağlı olarak YBÜ hastaları, hastane infeksiyonlarına yol açabilen konağa ve çevreye ait pek çok faktöre sahiptirler (3). YBÜ’de görülen nozokomiyal infeksiyonların %53.6’sının ölümle sonuçlandığı göz önüne alındığında, bu infeksiyonların önlenmesinin önemi daha da iyi anlaşılmaktadır (4).

Hastane kaynaklı infeksiyonlarda son yirmi yıldır çoğul dirençli Gram negatif basillerin yaygın etken olduğu bildirilmektedir. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin 70’li yıllardan itibaren yaygın kullanımı sonucunda, artan oranda dirençli patojenler ile oluşan hastane infeksiyonları karşımıza çıkmaktadır. Bunlardan en sık nonfermenter bakteriler *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* hastalık etkeni olarak izole edilmektedir (5).

Bu patojenlerden *Acinetobacter* türleri, yatan hastalarda kolonizasyon, bakteriyemi, üriner sistem infeksiyonları, sekonder menenjit ve özellikle YBÜ’lerde ventilatör kaynaklı olmak üzere pnömonilerde önemli bir rol oynar. Etkin antibiyotiklere karşı gelişen direnç bu

patojenlerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde klinisyenler için genellikle büyük sorun oluşturur ve etkin tedavide genelde antibiyotiklerin kombine kullanımına gerek duyulur. *Acinetobacter* türlerinin hastane ortamında uzun süre canlılığını koruması ve insandan insana geçişinin çok kolay olması sorunu bir kat daha artırmaktadır (6).

Acinetobacter türü bakterilerin çevrede uzun süre canlı kalması klinik örneklerden izole edilen suşların yorumunu güçleştirebilmektedir. İzole edilen *Acinetobacter* suşlarının çoğunlukla infeksiyon yerine kolonizasyon kaynaklı olmasından dolayı bildirilen infeksiyonların gerçek sıklığını tahmin etmek zordur (5, 7).

Bu çalışmanın amacı, YBÜ'deki çeşitli ortamlardan izole edilecek *Acinetobacter* suşları ile hastalardan izole edilecek suşların genotipik olarak karşılaştırılması ve bulaşta muhtemel rezervuar olabilecek yerlerin saptanmasıdır. Böylece her iki örnek türünde de genotipik olarak benzer suşların bulunması durumunda, infeksiyon kontrol önlemlerinde çeşitli yönlendirmeler yapılabilecek, hastalara bulaş ve *Acinetobacter* infeksiyonları için önlem alınabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hastane İnfeksiyonları

Günümüzde tıp alanındaki gelişmelerin artmasına, en iyi tekniklerin uygulanmasına rağmen Hİ halen önemli bir sorundur. Hastane infeksiyonları başvuru anında inkübasyon döneminde olmayan, hastaneye yatıştan sonra gelişen veya hastanede gelişmesine rağmen, bazen taburcu olduktan sonra ortaya çıkabilen infeksiyonlar olarak tanımlanmaktadır (8).

Değişik çalışmalarda hastane infeksiyonlarının hastaneye yatırılan hastaların %3.1-14.1'inde geliştiği saptanmıştır (9). Bugün Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) %5'in üzerinde hastane infeksiyonu görülmektedir (10). Ülkemizde değişik hastanelerden bildirilen hastane infeksiyonları insidansı %3–7.8 arasındadır (11). Bu oranlar hastaneden hastaneye farklılık gösterebildiği gibi, aynı hastanenin değişik servisleri arasında da birbirinden farklı olabilir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde infeksiyon hastalıklarının yüksek oranda görülmesi, hastalarda ciddi mortalite, morbiditeye neden olmakta ve getirdikleri ekonomik kayıplar sonucunda tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de tıbbi ve farmakoekonomik bir sorun olmaya devam etmektedir.

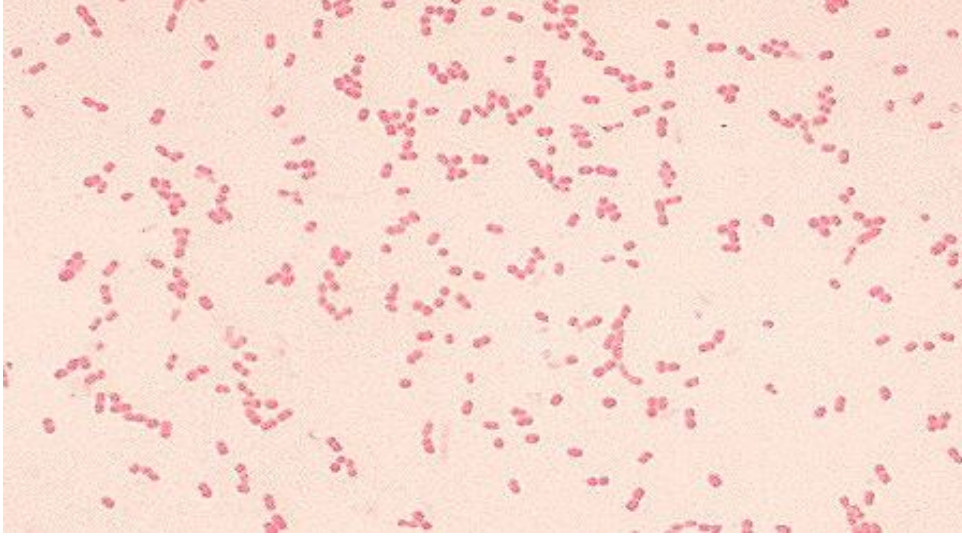
2.2. *Acinetobacter* Türleri

Acinetobacter cinsi bakteriler Hİ'ye yol açan etkenler içinde önemli bir yer tutmaktadır (1). *Acinetobacter* infeksiyonu, YBÜ'lerdeki hastalarda gittikçe artan sıklıkta görülmektedir (12). Bu etkenlerin Hİ'de sık olarak saptanmalarının nedenleri, dış ortam koşullarında kolaylıkla yaşayabilmeleri ve antibiyotiklere karşı çoğul direnç kazanabilmeleridir (13). *Acinetobacter* türleri hastane ortamında uzun süre canlılığını korur ve toprak, su, yiyecek gibi maddelerden izole edilebilir. Sağlıklı kişilerin florasında bulunabildiği gibi hastaneye yatırılarak tedavi edilen hastalarda kolonizasyon da yapabilirler (14).

2.3. Morfoloji, Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri

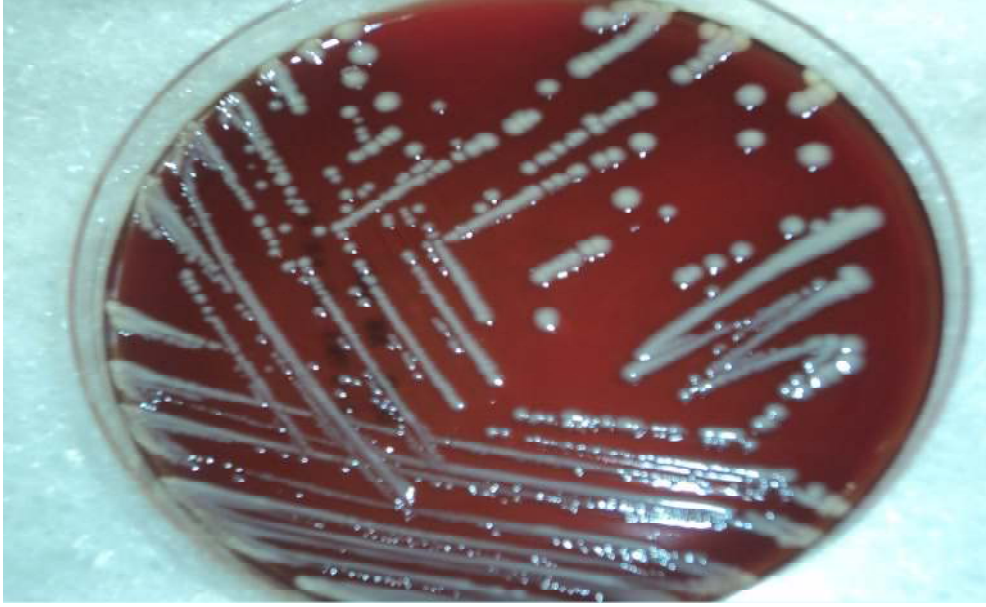
Acinetobacter türleri *Neisseriaceae* ailesine dahilken, yapılan moleküler taksonomik

alışmalarla yeni bir aile olan *Moraxellaceae* ailesine dahil edilmiştir (15). İkişerli veya küme halinde görülürler. Kanlı agarda 24 saat sonra gelişen kolonileri 1.0×1.5 ile 1.5×2.5 μm çapında, yarı saydam, opak ve konveks şekillidir (Resim 1).



Resim 1. *A. baumannii*'nin mikroskoptaki görünümü

Saf kültürden yapılan Gram boyamada, hücre boyutları ve düzeninde değişkenlik sıklıkla gözlenebilmektedir. Normalde düzgün bazen mukoid, yeşilimsi beyaz veya soluk sarı koloniler oluştururlar (Resim 2). Bazı evresel kaynaklı izolatlar kahverengi pigment oluşturmaktadırlar. Tüm türleri kesin aerop, oksidaz negatif, katalaz pozitif ve nonfermentatiflerdir. Oksidaz testi diğer nonfermentatiflerden çabuk ve kesin ayrımını sağlayan testtir. Genomik tür 4 olarak da tanımlanan *Acinetobacter haemolyticus* koyun kanlı agarda hemoliz oluşturabilir. Türler arasında kesin ayrımı sağlayabilecek bir metabolik test yoktur (1, 16).



Resim 2. *A. baumannii*'nin kanlı besiyerindeki görünümü

Laboratuvarlarda sıklıkla kullanılan besiyerlerinde kolaylıkla ürerler. Klinik örneklerden doğrudan izolasyon için diğer mikroorganizmaların üremelerini inhibe eden Herellea agar, Holton's agar, Leeds *Acinetobacter* Medium gibi seçici besiyerlerinin özellikle *Acinetobacter* salgınlarında antibiyotikler ilave edilerek kullanılmasında yarar vardır. Az sayıda bakterinin bulunabileceği çevre ortamlarından alınan kültürlerde amonyum veya nitrat tuzları içeren, pH'ı 5.5-6.0 olan çoğaltıcı sıvı besiyerleri kullanılabilir. Bazı genomik türlerinin 37°C ve üzerindeki sıcaklıklarda, bazılarının ise 30°C'de üreme özelliği göstermeleri göz önünde bulundurulmalıdır (17).

Çevre taramalarından elde edilen örnekler; özellikle de az sayıda mikroorganizma bulunanlar sıvı zenginleştirme besiyerlerine ekilebilmektedir. Ayrıca az sayıda *Acinetobacter* bulunduran ve çeşitli mikroorganizmalarla kontamine örnekler asetat, laktat veya pirüvat gibi tek karbon ve enerji kaynağının yanında, nitrojen kaynağı olarak da amonyum veya nitrat tuzları içeren pH 5.5-6.0 olan sıvı mineral besiyerine inoküle edilebilmektedir. Sıvı besiyerindeki örnek, 24-48 saat kuvvetlice sallanarak inkübasyon sonrası seçici besiyerine inoküle edilmektedir. Bu yöntem dışı, çeşitli klinik ve çevresel örneklerden *Acinetobacter* izolasyonunda kullanılmaktadır (6, 17).

Rutin laboratuvar koşullarında, biyokimyasal reaksiyonlara ve üreme özelliklerine göre *Acinetobacter* tür ayrımı yapılmaktadır. Glukozu oksitleyen ve hemoliz yapmayan, 44°C’de üreyebilen kökenler *A. baumannii*’dir (Tablo 1) (18). Klinik laboratuvarlarda nonfermantatif mikroorganizmaların izolasyonunda genellikle kanlı agar ve eozin metilen blue agar gibi besiyerleri kullanılır. Bromkrezol moru, safra tuzları, laktoz, maltoz şekerleri içeren Herellea agar klinik örneklerden ve vankomisin, sefsulodin, sefradin gibi antibiyotikleri içeren Leeds *Acinetobacter* Medium ise hem klinik örneklerden hem de çevreden *Acinetobacter*’lerin izole edilmesinde kullanılabilen seçici ve ayırt edici besiyeridir (17, 19).

Tablo 1. *Acinetobacter* türlerinin tanımlanması için basitleştirilmiş şema (18)

TEST	<i>A. calcoaceticus</i>	<i>A. baumannii</i>	3	<i>A. haemolyticus</i>	<i>A. junii</i>	6	<i>A. johnsonii</i>	<i>A. lwoffii</i>	9	10	<i>A. radioresistens</i>
Üreyebildiği ısı											
44 ° C	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41 ° C	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
37 ° C	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Glukozdan asit	+	+	+	D	-	D	-	D	+	-	D
Jelatin hidrolizi	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Karbonhidrat kullanımı											
dl-Laktat	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
dl-4-aminobutirat	+	+	+	+	D	-	D	D	+	+	+
Trans-akonitat	+	+	+	D	-	-	-	-	-	-	-
Sitrat	+	+	+	+	D	+	+	-	+	+	-
Glutarat	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
Aspartat	+	+	+	D	D	D	D	-	+	D	-
Azelat	+	+	+	-	-	-	-	+	D	D	+
B-Alanin	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
I-Histidin	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
	A.	A.	3	A.		6		A.	9	10	A.

TEST	calcoaceticus	baumannii		haemolyticus	A. johnsonii		A. johnsonii	lwoffii			radiorens
d-malat	-	+	+	+	+	D	D	D	+	+	-
Malonat	+	+	D	-	-	-	D	-	-	-	+
Histidin	-	-	-	-	-	-	-	-	D	+	-
L-Fenilalanin	+	D	D	-	-	-	-	-	-	-	+
Fenilasetat	+	D	D	-	-	-	-	+	D	D	+

3, 6, 9, 10: İsimlendirilmemiş türler, (+) : %90-100 pozitif, (-) : %0-10 pozitif, (D): Değişken, %11-89 pozitif

Acinetobacter genusu içinde DNA-DNA hibridizasyon bazlı çalışmalarda 25 farklı genomik suş tanımlanmış olup, günümüzde bunların 17'si resmi olarak isimlendirilmiş kabul edilmektedir. *A.baumannii*, *A. calcoaceticus*, ve *A. lwoffii* klinik literatürde en sık rapor edilen suşlardır (20).

Bu cins içinde *A. baumannii* nozokomiyal infeksiyonlardan en sık izole edilen türdür.

Acinetobacter johnsonii ve *A. lwoffii* gibi türler daha az sıklıkla olmakla birlikte, genusun infeksiyon nedeni olabilen diğer türleridir. *Acinetobacter* türleri özellikle *A. baumannii* YBÜ'lerde mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda pnömonilerin % 4-15'inden sorumludur. Bakterinin çevre şartlarına gösterdiği direnç ve antibiyotiklere kolayca direnç geliştirmesi hem infeksiyonları kontrol altına almada hem de tedavide güçlük yaratmaktadır (21).

Alt solunum yolları ya da cerrahi yara infeksiyonlarına sekonder bakteriyemi

A.baumannii'nin oluşturduğu en önemli infeksiyondur. *A. baumannii*'ye bağlı bakteriyemi özellikle YBÜ'lerde görülen nozokomiyal bir infeksiyondur. Fırsatçı bir patojen olan bu mikroorganizma, özellikle invaziv girişimler uygulanan predispoze hastaları infekte eder.

A. baumannii ile kolonizasyon/infeksiyon için başlıca risk faktörleri hastanede uzayan yatış,

YBÜ’de bulunma, enteral beslenme ve daha önceden üçüncü kuşak sefalosporin kullanımıdır (22).

Epidemik suşların tiplendirilmesi yayılmanın kaynak ve şekli hakkında önemli bilgi verir. *Acinetobacter* türlerinin tiplendirilmesinde hiçbir sistem tek başına kabul görmemektedir ve bu konu halen önemli bir araştırma konusudur. Biyotiplendirme, antibiyotik duyarlılık testleri, serotiplendirme, faj tiplendirme, bakteriyosin tiplendirme, protein profili, plazmid profili, multilokus enzim elektroforetik tiplendirme ve pulsed field jel elektroforez analizi, ribotiplendirme ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) bu amaçla kullanılan sistemlerdir (18, 19).

2.4. Patogenez, Virulans Faktörleri ve Yayılım

Acinetobacter cinsi bakteriler genel olarak virulansı düşük patojenlerdir. Konak savunma mekanizmaları normal olan bireylerde infeksiyon oluşturmaları oldukça güçtür. Genellikle hastane kaynaklı fırsatçı infeksiyonlara neden olmaktadır (23). Malignite, yanık, konağın savunma sistemini baskılayan durumlar ve konağın yaşı infeksiyon gelişimini kolaylaştıran bazı faktörlerdir. Ağır cerrahi girişim, uzun süre YBÜ’de kalma, uzun süre mekanik ventilatöre bağlı kalma, uzun süreli antibiyotik kullanımı, damar içi kateterizasyon, enteral beslenme, idrar sondası, endotrakeal tüp ve trakeostomi varlığı başlıca risk faktörleridir. Son 30 yıldır hastane ortamında yeni, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın ve uygunsuz kullanımı, hem *Acinetobacter* türleri ile gelişen Hİ oranını arttırmış hem de bu bakterilerde birçok antibiyotiğe karşı direnç gelişmesine neden olmuştur. Antibiyotik kullanma alışkanlıkları ve çevresel faktörlerin katkısı ile antibiyotik direnci hastaneler, şehirler ve ülkeler arasında farklılık göstermektedir (24).

Acinetobacter türleri, her ne kadar düşük virulanslı bir organizma olarak düşünülse de, toplumdan kazanılmış *Acinetobacter* pnömonisinin fulminan seyirli olabilmesi, bu organizmaların bazen, yüksek patojeniteli olabildiği ve invaziv hastalığına sebep olabildiğini göstermektedir (25).

Acinetobacter cinsi bakteriler düşük virulanslı olarak kabul edilmelerine rağmen virulanstan sorumlu faktörleri arasında;

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

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

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

4- Dokulardaki lipidleri yıkan enzimler üretirler.

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

Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalarda antibiyotik direnci sağlayan PER-1 enziminin virülansı arttırdığı ve klinik olarak daha ölümcül infeksiyonlara neden olduğu gösterilmiştir (23, 26).

2.5. *Acinetobacter* İnfeksiyonlarında Klinik Tablo

Acinetobacter türleri sepsisemi, pnömoni, endokardit, menenjit, cilt, yara ve üriner sistem infeksiyonları gibi çeşitli infeksiyonlardan izole edilebilmektedirler. Diğer Gram negatif bakterilerle oluşan nozokomiyal infeksiyonlarla bölgesel farklılık göstermezler. Uygulanan tanı veya tedavi amaçlı invaziv girişimlere bağlı olarak daha çok YBÜ’de ortaya çıkabilmektedirler. İzole edilen *Acinetobacter* suşlarının çoğunlukla infeksiyon yerine kolonizasyon kaynaklı olmasından dolayı bildirilen infeksiyonların gerçek sıklığını tahmin etmek zordur (5, 18).

YBÜ’de *Acinetobacter* suşları ventilatör ekipmanı ve çalışanların elleri yoluyla yayılmaktadır. Yapılan bir salgın çalışmasında her üç hastane personelinden birinde birden fazla *A. baumannii* suşu ile geçici el kolonizasyonu tespit edilmiştir (27). *Acinetobacter* türlerinin hastane personelinin %15-33’ünde ellerinde kolonize olduğu, bu kökenleri hastalara ve ekipmanlara aktardıkları gösterilmiştir (24).

Bakterinin midede aşırı üremesi hastane kökenli pnömoni veya bakteriyeminin gelişmesine yardımcı olan diğer bir yol olarak görülmektedir (27). *A. baumannii* kontrolü zor ani salgınlara neden olmaktadır. Ünite içinde dolaşan araçlar ve çevre; infeksiyonun tipini,

yayılma yolunu ve salgın oluşumunu belirlemektedir (25).

Acinetobacter ile infekte semptomlu hastalar kolonizasyonun sadece görünen kısmını oluşturmaktadır ve gözlenemeyen yayılım açısından çok önemli olduğu düşünülmektedir. *Acinetobacter* enfeksiyonları görülmeye başladığında kolonize hastaların sayısı büyük olasılıkla yüksektir ve genellikle salgını önlemek için alınan tedbirler için çok geç kalınmıştır. Salgın geliştiğinde çevredeki tüm cansız yüzeyler *Acinetobacter* rezervuarı olabilmektedir. *Acinetobacter* özellikle YBÜ'lerdeki yüzeylerde hatta kuru yüzeylerde bile uzun süre, haftalarca canlı kalabilmektedir (14, 25).

Acinetobacter enfeksiyonları sıklıkla hastane kaynaklı olmasına rağmen toplum kökenli alt solunum yolu enfeksiyonlarından da izole edilmiştir (21).

2.5.1. Solunum sistemi enfeksiyonları

YBÜ'de nozokomiyal pulmoner enfeksiyon salgınları çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmektedir ve bunların başında ventilatör kaynaklı pnömoniler ilk sırayı almaktadır. Yayınlanmış birçok araştırmaya göre nozokomiyal pnömonilerin %3-12'sini *Acinetobacter*'ler özellikle de *A. baumannii* oluşturmaktadır. Alt solunum yollarında *Acinetobacter* kolonizasyonu veya pnömoni oluşmasında ilerlemiş yaş, kronik akciğer hastalıkları, immünsüpresyon, cerrahi girişimler, gastrik ve endotrakeal tüp kullanımı gibi risk faktörleri rol oynamaktadır. Ventilatör kaynaklı *Acinetobacter* nozokomiyal pnömonisi olan hastalarda ölüm oranı %30-75'dir. Bu enfeksiyonların prognozu *P. aeruginosa* dışındaki diğer Gram negatiflerle oluşan pnömonilerden çok daha ağırdır (28,29). YBÜ'den yayılım ventilatör ekipmanları, eldivenler, kolonize sağlık personeli ve kontamine olmuş parenteral nutrisyon solüsyonlarına bağlanmıştır. Nozokomiyal *Acinetobacter* pnömonisinde sıklıkla multilober tutulum, kavitasyon, plevral efüzyon ve bronkoplevral fistül oluşumu gözlenmiştir (21).

2.5.2. Bakteriyemi

Bakteriyemide en sık rastlanan *Acinetobacter* türü *A. baumannii*'dir. Ayrıca *A. baumannii*'ye bağlı bakteriyemilerde diğer türlere göre klinik tablo daha ağır seyreder. Bazen tek başına patojen olarak izole edilirken bazen de polimikrobiyal bakteriyemilerde yer almaktadır.

Polimikrobiyal bakteriyemilerde mortalite oranı artmaktadır (29).

Yetişkinlerde immün yetmezlikli hastalar en büyük grubu oluşturmaktadırlar. Bu hastalarda kaynak genellikle solunum sistemi infeksiyonlarıdır ve hospitalizasyonun ikinci haftasında ortaya çıkar. Maligniteler, travma, yanık diğer sıklıkla görülen predispozan faktörlerdir. Yetişkinlerde bakteriyemi ile sonuçlanan cerrahi yara ve yanık infeksiyonları sıklıkla görülmektedir. Vasküler kateterizasyon uygulamaları *Acinetobacter* infeksiyonları için risk faktörleri olarak kabul edilmekte ve asepsi kurallarına uyularak 48 saatte bir kateterlerin değiştirilmesi bu riski azaltmaktadır. Yenidoğanlar ikinci önemli hasta grubunu oluştururlar ve predispozan faktörler; düşük doğum ağırlığı, önceden uygulanan antibiyotik tedavileri, mekanik ventilasyon ve neonatal konvülsiyonlar olarak sayılabilir (30).

2.5.3. Menenjit

A. baumannii çoğunlukla sekonder menenjite sebep olurken, özellikle kafa travması veya nöroşirürjikal prosedürü izleyen primer menenjitli sporadik vakalar da rapor edilmiştir (5). Ventrikülostomi, beyin-omurilik sıvısı (BOS) fistülleri, beş günden fazla tutulan ventriküler kateterler ve beyin cerrahisi yoğun bakım ünitelerinde aşırı antibiyotik kullanımı sıklıkla karşılaşılan risk faktörleridir (31).

2.5.4. Üriner sistem infeksiyonları

Acinetobacter türleri ile oluşan nozokomiyal üriner sistem infeksiyonları oldukça nadirdir. Genellikle yaşlı, debil, YBÜ’lerde yatan ve sürekli üriner kateteri olan hastalarda görülmektedir. Prostatik genişleme nedeniyle kateter kullanımına bağlı olarak hastaların %80’i erkektir. Ancak şu da bir gerçektir ki, üriner kateter taşıyan hastalardan izole edilen her *Acinetobacter* gerçek infeksiyon etkeni olarak değerlendirilmemelidir (5, 28).

2.5.5. Yumuşak doku infeksiyonları

Acinetobacter baumannii venöz katater kaynaklı selülide neden olabilir. Travmatik yaralar, yanıklar, postoperatif inzisyonlar etkenle kolaylıkla kolonize olabilir. Yumuşak dokuda sıklıkla polimikrobiyal yapının bir komponenti olabilir. Nekrotizan fasitte *Streptococcus*

pyogenes'le birlikte sinerjistik olduğu tanımlanmıştır (21).

2.5.6. Diğer infeksiyonlar

Endoftalmit, protez kalp kapağı endokarditi, periton diyalizi ile ilişkili peritonit, perkütan transhepatik kolanjiografi ve perkütan safra drenajıyla ilişkili kolanjit, pankreas ve karaciğer apseleri, otolog kemik iliği transplantasyonundan sonra gelişen osteomyelit, septik artritis bildirilen diğer nadir olgulardır. Travmatik yaralar, cerrahi insizyon bölgeleri, yanık, venöz kateter uygulaması, bağışıklık sisteminin baskılanması başlıca risk faktörleridir (23, 21).

2.6. Predispozan Faktörler

Acinetobacter türleri ile oluşan nozokomiyal infeksiyonlarda birçok predispozan faktör saptanmıştır. Büyük cerrahi girişimler sonrasında, malignitelilerde, yanıklarda ve immün sistemi baskılanmış özellikle yaşlı hastalarda ve yenidoğanlarda *Acinetobacter* türleri ile oluşmuş nozokomiyal infeksiyonlar karşımıza çıkmaktadır (28, 32). Pnömoni ve alt solunum yolları kolonizasyonunda rol oynayan ilerlemiş yaş, kronik akciğer hastalığı, immün yetmezlik, cerrahi girişim, antibiyotik kullanımı, endotrakeal ve gastrik tüp kullanımı, mekanik ventilasyon ile uzun süreli hospitalizasyon gibi risk faktörleri YBÜ'lerde oluşan nozokomiyal infeksiyonlarda rol oynar. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin uzun süreli kullanımı normal florayı ortadan kaldırmakta ve *Acinetobacter* gibi dirençli mikroorganizmaların seleksiyonuna neden olmaktadır (28, 32) (Tablo 2).

Tablo 2. *Acinetobacter* infeksiyonlarını kolaylaştıran risk faktörleri (33)

KONAĞA AİT FAKTÖRLER	DİĞER RİSK FAKTÖRLERİ
• İlerlemiş yaş • Malignite • Yanık • Kronik akciğer hastalığı • İskemik kalp hastalığı • Diabet • Prematürite • Uzun süre YBU'de kalma • Uzun süre antibiyotik kullanımı • İmmünoşüpresyon	• Cerrahi girişimler • Mekanik ventilasyon • Endotrakeal tüp • Trakeostomi • Damar içi katater • İdrar sondasının varlığı • Enteral beslenme

2.7. Epidemiyoloji

Acinetobacter türleri, canlı kalabilmek için gereksinimlerinin oldukça az olması ve çeşitli karbon kaynaklarını kullanabilmesi nedeniyle doğada toprak, su ve yiyeceklerde saprofit olarak serbest yaşayabilmektedir (21, 34). Özellikle koltuk altı, kasık gibi nemli bölgeler başta olmak üzere derinin normal florasında yer alabilmekte ve sağlıklı bireylerin yaklaşık %25'inin derilerinde *Acinetobacter* türlerini taşıdığı düşünülmektedir (6). Faringeal kolonizasyon %7 oranında görülmektedir. Deri dışında ağız boşluğu ve solunum yollarında taşıyıcılık söz konusu olmaktadır (22). Hastaneye yatırılmamış bireylerde ise bu durum son derece nadir görülmektedir. Hastanede izlenen hastalarda özellikle salgın dönemlerinde taşıyıcılık hızı yüksek olup %7-18 boğaz taşıyıcılığı görülmektedir. Trakeostomi sürüntülerinde bu oran %45'e kadar çıkmaktadır (6, 22).

YBÜ'de mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda bu cihazların kontaminasyonu nedeniyle solunum yollarında kolonizasyon çok yüksektir. Yine bu hastalarda cilt kolonizasyonu da siktir ve bu nedenle sağlık çalışanlarının ellerine bulaşmakta ve hastanede yayılması söz konusu olmaktadır. *Acinetobacter*'in sindirim yolu kolonizasyonu nadir olmakla birlikte ancak solunum yolu kolonizasyonu olan hastalarda orofarengeal kolonizasyonu pek nadir sayılmaz ve dirençli suşlar için önemli bir rezervuardır. Hastane kaynaklı infeksiyonlarda, ayaktan hastalarla yatan hastalar arasındaki farklılıklar yayılmanın çapraz geçiş ve hastane

Çevresinden kaynaklandığını göstermektedir (35). Avrupa ve ABD'deki YBÜ'lerinde Gram negatif infeksiyonların %2-10'undan sorumlu tutulmaktadır (20).

2.8. Hastane  evresinde Kalıcılığı

Hastane  evresinde *Acinetobacter* türlerinin varlığı ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Pozitiflik oranı hastane ve epidemiyolojik çalışmaların şekline göre çok değişiklikler göstermektedir. *Acinetobacter* hastanelerde lavabo musluklarında %27 ve yer sürüntü kültürlerinde %20 oranında saptanmıştır. Kolonize hasta mevcut değilken hava yoluyla kontaminasyon nadirdir, ancak kolonize veya infekte hastaların çevresindeki respiratör gibi cihazların ve havanın kontamine olabildiği bildirilmiştir. Ayrıca kolonize kişilerin yastık, çarşafları ve odalarının perdeleri, telefon ahizeleri, kapı kolları, hasta tabelaları gibi yerlerde kolonizasyon saptanmıştır (Tablo 3) (14). Yatak eşyalarının bu bakterinin  evre kontaminasyonu ve kalıcılığında önemli rol oynadığı görülmektedir. Yine yukarıdaki verilere ilaveten *Acinetobacter*'lerin günlerce kuru ortamda, tozlarda canlılığını koruduğu ve *Staphylococcus aureus*'dan daha uzun süre bu canlılığı sürdürdüğü saptanmıştır (14).

Tablo 3. *Acinetobacter* salgınlarında çevresel kontaminasyonu gözlenen hastane mobilyası ve ekipmanlar (14)

• İnfüzyon pompaları • Higroskopik bandajlar • Vakum ekipmanları • Duş başlıkları ve musluklar • Resultasyon ekipmanları • Masa • Komudin • Ventilator • Yastık ve minder • Paslanmaz çelik sedye • Nemlendirici • Yeterli sterilize edilmemiş arteriyel kateter ve transduser • Distile su • İdrar torbası

Ancak bu organizmaların klinik dışı toprak, su ve yiyecek gibi maddelerden de izole edilebileceği bilinmelidir. Klinik örneklerle çevre kaynaklı örnekler arasında anlamlı bir genomik farklılık vardır. Bu nedenle epidemiyolojik çalışmalarda yargıya varmak için mutlaka genomik tür seviyesinde tanımlama yapılması gerekmektedir (1, 7).

2.9. Tedavi

Tedavide öncelik, infeksiyon tanısının kesinleştirilmesi ve kolonizasyondan ayırt edilmesidir. *Acinetobacter* türlerinin düşük virulansına rağmen, etkin ve zamanında tedavinin yapılmadığı durumlarda morbidite ve mortalitede artış gözlenmektedir.

A. baumannii infeksiyonlarının tedavisi, bu mikroorganizmanın birçok antibiyotiğe dirençli

olmasından dolayı oldukça güçtür. Karbapenemler, sulbaktam ve kolistin en etkili antibiyotikler olarak görünmektedir (36). Genellikle ikili, parenteral ilaç kullanılmaktadır (37). Tedavide ilk tercihi karbapenemler oluşturmaktadır (38).

Karbapenemlerden imipenem ve meropenem en etkin ilaçları oluşturmaktadır. Ancak monoterapi değil, amikasin, kinolon grubu antibiyotikler ya da seftazidim ile kombinasyonları da tercih edilmektedir (6). İmipenem en duyarlı antibiyotik ve suşların %100'e yakını duyarlı iken ancak son yıllarda imipeneme de dirençli nozokomiyal izolatların rapor edilmesinde artış görülmektedir. Direnç genelde *A. baumannii* olarak tanımlanan suşlarda gözlenmektedir. *A. baumannii* olmayanlarda MIC değerleri oldukça düşüktür (0.3 mg/L). Ancak yakın gelecekte bu suşlarda da direnç problemi ile karşılaşacağımız aşikardır. *A. baumannii* dışındaki *A. lwoffii*, *A. johnsonii* ve *A. junii* gibi türlerin hastane ortamından izolasyonu daha nadir olduğu için bu suşlar daha duyarlıdır. Antibiyotik kullanım alışkanlıkları ve çevresel faktörlerin etkisiyle ülkeler arasında direnç farklılıkları gözlenmektedir (28, 38).

Sulbaktam, *Acinetobacter* türleri üzerine bakterisidal etkilidir. Beta laktam antibiyotikle kombine edilmiş sulbaktam (sefoperazon + sulbaktam, ampicilin + sulbaktam) tedavide iyi bir alternatiftir (33). Sulbaktama duyarlı *A. baumannii*'nin kullanıldığı deneysel pnömoni modelinde, sulbaktam, imipenem kadar etkili bulunmuştur. Sulbaktam ile azitromisin, rifampin, kombinasyonları da denenmektedir (36).

Kolistin çoklu dirençli *A. baumannii* infeksiyonlarında kullanılabilecek bir seçenek olarak görülmektedir. Polimiksin B ile kotrimoksazol, azitromisin ve rifampin kombinasyonları da denenmektedir. Endotrakeal veya aerosol şeklindeki antibiyotik uygulamaları tartışılmaktadır (36).

İmipenem ve meropeneme orta düzeyde dirençli *A. baumannii*'nin kullanıldığı in vitro çalışmalarda rifampisin + kolistin kombinasyonu sinerjik etkili bulunmuştur (39).

2. 10. *Acinetobacter* İnfeksiyonlarında Kombine Antibiyotik Kullanımı

Geniş spektrum elde etmek, polimikrobiyal infeksiyonların tedavisinde, dirençli mikroorganizma oluşumunu azaltmak ve monoterapilere oranla daha güçlü bir bakterisidal veya bakteriyostatik etki elde etmek amacı ile antibiyotikler kombine

kullanılabilmektedirler (40). Antibiyotiklerin kombine kullanımlarında in vitro olarak; aditif, sinerjik veya antagonistik etkileşme görülebilmektedir (41).

Acinetobacter spp.'lerin neden olduğu ağır sistemik infeksiyonlarda önerilen antibiyotik kombinasyonları; imipenem ile aminoglikozid veya kinolon; seftazidim ile aminoglikozid veya kinolon; tikarsilin/klavulanik asit ile sulbaktam ve rifampisin; rifampisin ile kolistin şeklindedir. Bu kombinasyonların pek çoğunun etkisi in vitro veya hayvan deneyleriyle kanıtlanmasına rağmen klinik sonuçları tartışmalı görünmektedir (40).

2. 11. *Acinetobacter* İnfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotikler

2.11.1. Beta-laktam antibiyotikler

Beta-laktam antibiyotikler, etkilerini peptidoglikan sentezinde görevli olan karboksipeptidaz ve transpeptidazları inhibe edip, hücre duvar sentezini durdurarak gösterirler. Bu enzimler penisilin bağlayan protein (PBP) olarak adlandırılır. Bir bakteride çok sayıda PBP bulunur. Bu enzimler moleküler ağırlığı en büyükten başlanarak PBP-1, PBP-2 vb. olarak gösterilir. Çeşitli beta-laktam antibiyotiklerin bir bakterinin PBP'lerine bağlanma kabiliyeti farklıdır. Bu nedenle beta-laktam antibiyotiklerin farklı bakterilere etkileri de çok farklı olur. Beta-laktam antibiyotikler hücre duvarı sentezi yapılan, yani çoğalmakta olan bakterilere etkilidir (42).

Beta-laktam grubunda penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler, bir monobaktam olan aztreonam yer almaktadırlar. Bakteri hücre duvarının sentezini bozarak bakterisidal bir etki oluştururlar. En önemli etkileri bakteri duvarında ayrı ayrı duran peptidoglikan komponentlerin birleşmesini sağlayan transpeptidasyon olayının aktivatör enzimi transpeptidazın aktivitesini bloke etmesidir (43).

2.11.1.1. Beta-laktamaz inhibitörlü beta-laktamlar

Bu grupta klavulanik asitle kombine edilmiş amoksisilin ve tikarsilin, sulbaktamla kombine edilmiş ampicilin ve sefoperazon, tazobaktam ile kombine edilmiş piperasilin vardır. Beta-laktamazlar hemen tüm bakteri gruplarında rastlanırlar ve beta-laktam antibiyotikleri hidrolize ederek etkisiz kılarlar. Yapıları gereği bakterilerin peptidoglikan tabakasını

oluşturan PBP'lere benzerler. Üç molekül de (klavulanik asit, sulbaktam, tazobaktam) beta-laktamaz inhibisyonunda irreversibl inhibitör olarak davranır. Pasif kovalent inhibitör olarak da gruplandırılan bu bileşikler beta-laktamazlar ile inaktif yeni molekül oluşturmak üzere birleşir. Bu inhibitörler tüm beta-laktamazları inhibe edemez. Bunların hiçbirisi *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarında bulunan kromozomal beta-laktamazları inhibe edemez, daha çok plazmid kökenli enzimleri inhibe ederler (43).

2.11.1.2. Antipsödomonal Penisilinler

Karboksipenisilin (karbenisilin ve tikarsilin) ve ureidopenisilin (azlosilin, mezlosilin ve piperasilin) yapısındaki bu antibiyotiklerin Gram negatif basiller üzerine etkinliği aminopenisilinlerden daha fazladır (43).

Bakteri hücre duvar sentezinin son basamağını inhibe ederek etki gösterirler. Bunlar içerisinde piperasilin ve tikarsilinin beta-laktam inhibitörlü kombinasyonları *Acinetobacter* kökenlerine karşı etkinlik göstermektedir (44).

2.11.1.3. Sefalosporinler

Bu grupta yer alan antibiyotikler hücre duvar sentezinde rol oynayan PBP'lere bağlanarak sentezi bozarlar ve dozdan bağımsız olarak bakterisidal etki gösterirler. Sefalosporinler dört kuşak altında sınıflandırılırlar. Birinci kuşaktan dördüncü kuşağa gidildikçe Gram negatif etkinlikte artış görülmektedir. Özellikle üçüncü kuşak sefalosporinlerden sefaperazonun sulbaktamla kombinasyonu, seftazidim ve dördüncü kuşak sefalosporinlerden sefepim *Acinetobacter* infeksiyonlarında etkilidirler (44).

Seftazidim, aminotiazolil grubu yarı sentetik bir üçüncü kuşak sefalosporindir. Tüm vücut sıvılarında dağılımı oldukça iyidir. Antipsödomonal etkinliği ön plandadır. Duyarlı *Acinetobacter* infeksiyonlarında kullanılabilir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda yüksek direnç oranları bildirilmiştir (45).

Sefepim dördüncü kuşak yarı sentetik, parenteral kullanıma uygun çift iyonik karakterde aminotiazolil sefalosporindir. Aminotiazolil grubunun varlığı Gram negatif etkinliği ve beta-laktamazlara direnci sağlayan bir özelliktir. Üçüncü karbon atomunda N-metilpirolidin bulunması da Gram negatif hücre duvarından geçebilme ve beta-laktamaz direnci özelliği

sağlar. *Pseudomonas* kökenleri de dahil tüm Gram negatif çomaklara, Gram pozitif koklara ve anaeroplara karşı etkilidir. Gram pozitif koklara karşı etkisi üçüncü kuşak sefalosporinlerden fazla, ikinci kuşak sefalosporinlerden azdır. Tip 1 kromozomal beta-laktamazlardan daha az etkilenmesi nedeni ile Gram negatif enterik basillere üçüncü kuşak sefalosporinlerden daha etkilidir (46).

2.11.1.4. Karbapenemler

İmipenem ve meropenem günümüzde kullanımda olan iki karbapenem derivativesidir. Karbapenemler kimyasal olarak sentetik ya da yarı sentetik beta laktam türevi antibiyotiklerdir. Penisilinlerden farklı olarak, C1 atomuna bir kükürt atomu buna da bir tiazolidin halkası bağlanmıştır. C2 ve C3 atomlarında doymamış bağlar vardır. 6-transhidroksimetil grubunun varlığı birçok beta-laktamaz türüne karşı molekülün direncini sağlar. Karbapenemler, başta PBP2 olmak üzere PBP1A, PBP1B, PBP3, PBP4 ve PBP5'e bağlanarak hücre duvar sentezini engellerler (47).

İmipenem, bir beta laktam halkası içerir, penisilin ve sefalosporinlerden farklı olarak α -halkasındaki sülfür atomunda metilen vardır. Bu yapı bakteri hücresindeki hedef proteinlere bağlanmasını artırır. Bunun sonucunda etki spektrumu genişler ve antibakteriyel gücü artar. Molekül ağırlığı düşüktür, bakteri hücre membranından girişi kolay olur. Beta laktam halkasında bulunan hidroksimetil yan zinciri beta laktamazlara dayanıklılığı sağlar. Penem halkasında bulunan alkil tiyo yan zinciri ise molekülün *P. aeruginosa*'ya etkinliğini sağlamaktadır. Meropenem, Gram negatif mikroorganizmalara karşı imipenemden daha etkilidir (47).

Karbapenemler tüm antibiyotikler içerisinde en geniş spektrumlu gruptur. Gram negatif çomaklar ve koklar, Gram pozitif koklar ve anaeroplara üzerine etkilidirler. Diğer beta laktam antibiyotiklerde post-antibiyotik etki sadece Gram pozitif bakterilerde görülürken, imipenemin hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler için post-antibiyotik etkisi saptanmıştır. Bu farkın nedeni, imipenemin PBP2'ye de bağlanarak bakterilerde sferoblast formasyonu oluşturmamasıdır (47).

2.11.2. Protein Sentezini İnhibe Eden Antibiyotikler

2.11.2.1. Aminoglikozidler

Aminoglikozidler, *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinsi mantarlardan elde edilen doğal yada yarı sentetik bakterisidal etkili antibiyotiklerdir (48). 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 (44).

Aminoglikozidler bakterilerin dış membranlarındaki porin kanallarından periplazmik aralığa difüzyonla girer, ancak bakteri sitoplazmik membranını geçebilmeleri enerji ve oksijene bağımlı aktif transport mekanizması ile olmaktadır. Bu işlem EDP 1 (Energy Dependent Phase) ve EDP 2 olmak üzere iki fazda gerçekleşir. Diğer protein sentezini inhibe eden antibiyotikler bakteriyostatik etki gösterirken aminoglikozidlerin bakterisid etki göstermesinin transport esnasında hücre membranında delikler oluşmasına ve sonuçta hücre duvar geçirgenliğinin bozulmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (49).

Aminoglikozidler genellikle *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* türlerini de içine alan Gram negatif basillerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılır. *Acinetobacter*'lerin klinik izolatlarının arasında aminoglikozid direnci yaygındır (49).

2.11.2.2. Tetrasiklinler

Tetrasiklinler Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere, aerop ve anaerop mikroorganizmalara, spiroketlere, özellikle riketsiya, klamidya ve mikoplazma türlerine etkili geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Tetrasiklinler Gram-negatif bakterilere dış duvardaki porin kanallarından pasif difüzyonla girer (50). Protein sentezi yapmakta olan 70S ribozomun 30S alt ünitinde yeni tRNA molekülünün yerleşeceği bölge ile birleşir. Bunun sonucu tRNA fiziki olarak ribozomdaki yerini alamaz, tRNA'nın getirdiği aminoasit sentezlenen polipeptide bağlanmaz ve protein sentezi duraklar (50).

Tetrasiklinler terapötik konsantrasyonlarda bakteriyostatiktirler. Oral yoldan uygulandıklarında tetrasiklinler esas olarak jejunumun yukarı kısmından %90-95 oranında

absorbe olur. Doksisiklin ve minosiklin en fazla lipofilik özelliğe sahiptirler ve bu nedenle dokulara ve vücut sıvılarına iyi penetre olurlar (50).

2.11.2.3. Tigesiklin

Yapısal olarak tigesiklin, minosiklinin 9-t-bütilglükamido derivativesidir (51). Bakterilerde tetrasiklin direncinden sorumlu ribozomal korunma ve efluks mekanizmaya karşı dirençli olması tigesiklinin en önemli özelliğidir (52).

Tigesiklin de tetrasiklinler gibi bakteri ribozomlarının 30S alt ünitlerine bağlanarak protein sentezini elongasyon basamağında inhibe ederler. Bağlanma noktası tetrasiklinlerden farklı olduğu için Tet(M) proteininden etkilenmez ve tetrasiklinlere göre beş kat daha güçlü olarak bağlanır (53).

Tigesiklin aerobik Gram-pozitif, Gram-negatif ve anaerob patojenlere karşı etkinlik gösterir. Ayrıca tigesiklin karbapenemaz üreten *Acinetobacter* suşlarına karşı etkili bulunmuştur (54, 55).

2.11.3. Nükleik Asit Sentezini İnhibe Eden Antibiyotikler

2.11.3.1. Kinolonlar

DNA sentezini direkt olarak inhibe eden tek antimikrobiyal gruptur. Kinolonlar bakterilerde DNA replikasyonu için gerekli olan DNA-giraz (topoizomera II) ve topoizomera IV enzimleri ile etkileşime girer. Dolayısıyla DNA'nın replikasyonu ve RNA-polimera enziminin DNA'ya bağlanarak mRNA oluşturma engellenir ve nükleik asit sentezi durur. Etkileri konsantrasyona bağımlı bakterisidaldır. Genel olarak Gram-negatif bakteriyel aktivite DNA giraz, Gram-pozitif bakteriyel aktivite ise topoizomera IV inhibisyonu ile ilişkilidir (51).

Kinolonlar sentez edildikleri sıraya göre dört gruba ayrılırlar:

1. Kuşak kinolonlar: Nalidiksik asit
2. Kuşak kinolonlar: Siprofloksasin, ofloksasin, pefloksasin, norfloksasin, enoksasin, fleroksasin.
3. Kuşak kinolonlar: Levofloksasin, grepfloksasin, sparfloksasin, travofloksasin.
4. Kuşak kinolonlar: Moksifloksasin, gatifloksasin, gemifloksasin.

Ofloksasin ve siprofloksasin, enterik bakterilerin yanı sıra *Acinetobacter spp.* türlerine de etkilidir. Dirençli *Acinetobacter* infeksiyonlarında kombine tedavide siprofloksasin sıklıkla kullanılan bir ajandır. *Acinetobacter* türlerine karşı, 1988’li yıllara kadar oldukça etkili olan florokinolonlar günümüzde dirençli kökenler ön plandadır (50).

2.11.4. Sitoplazma Zarını Etkileyen Antibiyotikler

2.11.4.1. Kolistin

Polimiksinler kimyasal olarak beş farklı bileşiği içeren (polimiksin A-E) polipeptid antibiyotiklerdir. Klinik pratikte sadece polimiksin B ve polimiksin E (kolistin) kullanılmıştır (56). Kolistinin hedefi bakteri hücre membranıdır. Katyonik bir peptid olan kolistin ile Gram-negatif bakterilerin dış membranındaki anyonik LPS molekülleri elektrostatik ilişkiye girerler ve hücre membranında düzensizliğe yol açarlar. Kolistin, LPS moleküllerini stabil halde tutan magnezyum ve kalsiyumun yerini değiştirerek dış membranda bozulmaya ve oluşan permeabilite bozukluğu bakterinin ölümüne neden olur. Kolistin konsantrasyona bağımlı olarak etki göstermektedir. Gram-negatif bakterilerde mutasyon ya da adaptasyon yolu ile kolistine karşı direnç gelişebilmektedir (57).

Son yıllarda çoğul ilaca dirençli *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* bakterilerinin neden olduğu infeksiyonlarda ve özellikle de kolistin dışındaki tüm antibiyotiklere dirençli suşların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde kolistin kullanılmaktadır (56).

2.11.5. Folat Sentezini Etkileyen Antibiyotikler

2.11.5.1. Sülfonamidler ve trimethoprim

Sülfonamidler, bakterilerde ve bazı protozoonlarda bulunan ve yaşamsal önemi bulunan folik asit sentezi için gerekli olan paraaminobenzoik asit (PABA) yerine geçerek nükleik asit sentezini inhibe eder ve bakteriyostatik etki gösterirler (42).

A. baumannii izolatları trimethoprim-sülfametoksazole karşı yüksek düzeyde direnç göstermektedirler, ancak bu direncin genetik temeli çok az bilinmektedir. Trimethoprim direncinden, plazmid DNA’sı tarafından taşınan dhfr geninin kodladığı dihidrofolat redüktaz enziminin sorumlu olduğu bildirilmiştir (58).

2.12. *Acinetobacter* İnfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotiklerin Direnç Mekanizmaları

Acinetobacter türlerinde birçok antibiyotiğe karşı hızla direnç gelişmektedir. Çoklu antibiyotik direnci en sık *A. baumannii* /*calcoaceticus* kompleksi ve *A. haemolyticus*'da görülmektedir. Intrensek veya kazanılmış direnç mekanizmaları nedeniyle bu infeksiyonların tedavisi oldukça güçleşmiştir (59). Sıklıkla imipenem tek etkili tedavi seçeneğidir. Yeni ilaçların uygunsuz ve aşırı kullanımı direncin ortaya çıkmasına katkıda bulunmaktadır. *A. baumannii* dışındaki türlerle oluşan infeksiyonların tedavisinde ciddi problem görülmemektedir. Yapılan bir çalışmada *A. baumannii* susları arasında biyotip 9 diğer biyotiplerden daha dirençli bulunmuştur. *A. baumannii* dışındaki türlerde 3, 10 ve *A. johnsonii* en yüksek direnç gösteren türler olarak görülmektedirler. Duyarlı suşların çoğu *A. junii* ve *A. lwoffii* olarak tespit edilmiştir (38).

Nozokomiyal infeksiyonlarda sıklıkla karşılaşılan çoğul dirençli *Acinetobacter*'lerin YBÜ'lerdeki infeksiyonlarının tedavisinde büyük problemler yaşanmaktadır.

Aminoglikozidler, üreidopenisilinler, florokinolonlar, üçüncü kuşak sefalosporinler gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı, *Acinetobacter* türlerini antibiyotiklere dirençli hale getirmiştir (60).

A. baumannii ampicilin, amoksisilin, birinci kuşak sefalosporinlere doğal direnç özelliği gösterir (61). *A. baumannii* diğer türlere göre daha dirençlidir ve YBÜ'deki mortalitenin %19-25'inden sorumludur (62).

Transpozonlar ve plazmidler, *Acinetobacter* türlerinin biyolojisinde önemli rol oynarlar. *Acinetobacter*'lerin %80 oranında çeşitli molekül büyüklüklerinde çok sayıda plazmid taşıdıkları bildirilmiştir. Kromozomda lokalize transpozonlar aracılığıyla çoğul antibiyotik direnç geninin taşındığı bildirilmiştir (23).

Acinetobacter'lerde bulunan antibiyotik direnç mekanizmalarının bazıları Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. *Acinetobacter*'lerde bulunan antibiyotik direnç mekanizmaları (1)

ANTİBİYOTİKLER	DİRENÇ MEKANİZMALARI
Beta laktamlar	Beta laktamaz (plazmid ve/veya kromozom kökenli) Penetrasyonun azalması Hedef molekülde değişiklik
Aminoglikozidler	Enzim ile modifikasyon İçeri alınmanın azalması
Florokinolonlar	Hedef molekülde değişiklik Penetrasyonun azalması, aktif dışarı atım

2.12.1. Beta-laktam Antibiyotiklere Karşı 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 (63).

Özellikle YBÜ'lerdeki hastalardan soyutlanan *A. baumannii* izolatlarında penisilinlere ve sefalosporinlere karşı beta-laktam direnci diğer türlere göre daha sıktır. Seftazidim, piperasilin ve karbapenemler *A. baumannii*'ye karşı en etkili beta-laktam antibiyotiklerdir (58).

Diğer türlere göre *A. baumannii* kökenlerinde beta laktam direnci daha sıktır (64, 65).

Beta laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç üç farklı mekanizma ile gelişebilmektedir:

- 1- Beta laktamaz enzimleriyle antibiyotiğin parçalanması,
- 2- Beta laktam antibiyotiğin hücre içine girişinin engellenmesi,
- 3- Penisilin bağlayan proteinlerde (PBP) değişikliklerin oluşması,

Genellikle bu mekanizmaların bir arada işlemesi sonucu direnç gelişimi gözlenmektedir (65).

1- Beta laktamaz enzimleriyle antibiyotiğin parçalanması: *Acinetobacter* kökenlerinde beta-laktam antibiyotiklere karşı olan direnç büyük ölçüde beta-laktamaz üretimine bağlıdır (66, 67). Beta-laktamazların sentezi kromozom, plazmid veya transpozon kontrolündedir (68).

Gram negatif bakterilerdeki kromozomal beta laktamazların miktarları, sentez yolu ve dirençteki rolleri farklılık göstermektedir (65). Gram negatif bakterilerin çoğu, tür özelliği olarak, değişik sınıflamalara göre AmpC veya Bush-Jacoby-Mederios Grup 1 olarak adlandırılan kromozomal beta-laktamazlar üretir.

Normalde düşük düzeyde üretilen bu beta-laktamazlar, ortamda bir indükleyici bulunması halinde sentezlerinin uyarılması, indükleyici ajan ortadan kalktığında sentezin tekrar bazal seviyeye inmesi nedeniyle, indüklenebilir beta laktamazlar (İBL) olarak da adlandırılır.

İBL'ler, yüksek düzeyde üretildiklerinde, karbapenemler hariç tüm beta-laktamları parçalayabilme özelliğindedirler (69).

Sefalosporinaz aktivitesi gösteren enzimler *Acinetobacter* kökenlerindeki en önemli kromozomal beta-laktamazlardır. *A. baumannii* izolatlarının %98'inde sefalosporinaz aktivitesi olduğu gösterilmiştir (70). Kromozomal sefalosporinazlardan olan AmpC'nin varlığı beta-laktamlara karşı dirençte önemli bir rol oynamaktadır (70). Bu enzimler aktif bölgelerinin özellikleri nedeniyle birinci, ikinci, üçüncü kuşak sefalosporinleri, penisilinleri ve monobaktamları hidrolize edebilirler (69).

AmpC beta-laktamazların karbapenemler üzerine etkileri son derece az olmasına karşın, bu enzimlerin aşırı üretimi dış membran porin değişiklikleri gibi bir diğer mekanizma ile birleştiklerinde karbapenem direncine yol açabilmektedir (71).

Bu enzimler, aktif bölgelerinin yapısal özellikleri nedeniyle klavulanik asit ve sülfonların beta laktam halkalarına bağlanamaz. Bu nedenle de, bu beta-laktamaz inhibitörlerine dirençlidirler (69). ACE-1, ACE-2, ACE-3, ACE-4 enzimler, Ambler sınıf C'de yer alan sefalosporinazlardır. ACE-1 sefuroksime karşı zayıf etkili, klavulonik aside dirençli en geniş spektrumlu enzimdir (23, 65).

İmipeneme dirençli *A. baumannii* kökenlerinde kromozomal OXA-24 enzimi gösterilmiştir. Bu enzim, Ambler sınıf D'de yer almakta ve karbapenemleri hidrolize etmektedir (72). Bununla birlikte metallo-beta-laktamazlar (MBL) ve oksasilinazları içeren karbapenem hidrolize eden beta-laktamazlar (karbapenemazlar) *A. baumannii*'de karbapenem direncinin ortaya çıkmasına önemli bir katkıda bulunmaktadır (73).

A. baumannii suşlarında en sık bildirilen metallo-beta-laktamazlar; IMP-1, IMP-2, IMP-4, IMP-5, IMP-9 ve oksasilinazlar; OXA-58, OXA-24 olarak belirtilmiştir (74).

TEM-1, TEM-2 gibi plazmid aracılı beta-laktamazlar penisilinleri inaktive etmekte ancak sefalosporinleri etkilememektedir (70).

Ambler sınıflamasına göre A sınıfında bulunan PER-1 ve VEB-1 enzimleri Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) aktivitesi göstermekte, penisilin ve sefalosporinlerin her ikisini de etkileyebilmektedir (75). B sınıfında yer alan, MBL aktivitesi gösteren ve plazmid aracılı karbapenemazdan olan IMP ve VIM ise aztreonam dışındaki tüm beta-laktam antibiyotikleri hidroliz edebilme yeteneğindedir (70).

Dünyada *Acinetobacter* türleri arasında GSBL'ye bağlı direnç çok az bildirilmektedir. Ülkemizde ise hastane kökenli izolatların %46'sında PER-1 (GSBL) türü direnç bulunmaktadır (76).

2- Beta laktam antibiyotiğin hücreye girişinin engellenmesi: Beta-laktam antibiyotikler Gram-negatif bakterilerde bulunan dış membran proteini (Outer Membran Protein (OMP)) adı verilen, porin proteinlerinin oluşturduğu porlar aracılığıyla hücre içerisine geçmektedirler (77). Porin proteinlerinin sayısını değiştiren mutasyonlar beta-laktam antibiyotiklere direnç gelişimine neden olabilmektedir (77).

3- Penisilin bağlayan proteinlerde (PBP) değişikliklerin oluşması: Bu tip direnç esas olarak *Stafilokok* ve *Enterokok* gibi Gram pozitif türlerde görülmekle beraber *Acinetobacter* türlerinde de tanımlanmıştır. Burada direnç, PBP sayısında azalma, kromozomal mutasyonlar sonucu PBP'lerin antibiyotiklere afinitelerinin azalması ve beta laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP sentezlenmesi şeklinde gelişebilir (68).

2.12.2. Aminoglikozidlere Karşı Gelişen Direnç Mekanizmaları

Aminoglikozidler 30S ribozomlara geri dönüşümsüz olarak bağlanıp protein sentezini inhibe ederek bakteri ölümüne neden olmaktadır (78). Bu antibiyotiklere direnç üç mekanizma ile gelişmektedir:

- 1- Ribozomal hedeflerde mutasyonlara bağlı değişiklik oluşması (68).
- 2- Aminoglikozidlerin hücre içine girişinin azalması ve/veya dışarı pompalanması (68).
- 3- Aminoglikozidlerin enzimlerle değiştirilmesi (68).

Aminoglikozidlerin enzimlerle değiştirilmesi en sık görülen aminoglikozid direnç mekanizmasıdır (79).

Toplam üç tip aminoglikozid değiştiren enzim saptanmıştır:

- a. Aminoglikozid asetiltransferazlar:** Aminoglikozidlerin amino grubunu asetile ederler.
- b. Aminoglikozid fosfotransferazlar:** Aminoglikozidlerin hidroksil grubunu fosforile ederler.
- c. Aminoglikozid nükleotidiltransferazlar:** Aminoglikozidlerin hidroksil grubunu adenile ederler.

Aminoglikozidleri değiştiren enzimler sıklıkla plazmid kontrolünde sentezlenmekte ve bu enzimlerin sentezinden sorumlu olan genler transpozonlarla taşılabilmektedir. Bir aminoglikozid molekölü birden fazla bölgede değişikliğe uğrayabilir ve bir enzim bir çok aminoglikozid molekölünü değiştirebilir (6).

2.12.3. Kinolonlara Karşı Gelişen Direnç Mekanizmaları

Kinolonların bakteri hücreesindeki başlıca hedefleri DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimleridir. Bakteri DNA'sında süpersarmallar oluşturan DNA giraz sırasıyla *gyrA* ve *gyrB* genlerince kodlanan A ve B alt birimlerinden oluşur. DNA replikasyonunda görev alan topoizomeraz IV ise *parC* ve *parE* genlerince kodlanan iki alt birimden oluşmaktadır (78). Kinolon direnci *Acinetobacter* kökenleri arasında aktarılamayan iki mekanizmayla oluşmaktadır (77).

1- DNA giraz enziminin alt birimlerindeki değişiklikler: *gyrA* ve *parC* genlerindeki kromozomal mutasyonlar bu antibiyotiklerin hedefleri olan DNA giraz ve topoizomeraz IV'te değişikliğe neden olarak florokinolon direncine neden olmaktadır (80). *gyrB* mutasyonları ise *Acinetobacter* kökenlerinde saptanamamıştır (6).

2- Dış membran geçirgenliğinin azalması ve/veya ilacın aktif olarak dışarı atılması: *Acinetobacter* kökenlerinde kinolonları dışarı atan pompa sayısının artması veya ilacın hücre içerisine girişine aracılık eden spesifik dış membran proteinlerinin üretiminin azalmasıyla sonuçlanan mutasyonlara bağlı olarak gelişmektedir (68).

2.12.4. Tetrasiklinlere Karşı Gelişen Direnç Mekanizmaları

A. baumannii'de yaygın olan tetrasiklin direncinin iki farklı mekanizması tanımlanmıştır. *tetA* ve *tetB* spesifik transpozon aracılı eflüks pompalarıdır; *tetB* tetrasiklin ve minosiklinin her ikisinin de eflüksünü belirlerken, *tetA* sadece tetrasiklinin eflüksünü yürütmektedir .

İkinci mekanizma ribozomal koruyucu proteindir; ribozomları tetrasiklinin etkisinden korur. Tetrasiklin, minosiklin ve doksisisiklinden ribozomları koruyan protein tetM olarak kodlanmıştır. *A. baumannii*'de bulunan bu koruyucu protein *S. aureus*'un tetM proteini ile %100 homoloji gösterir (6, 81).

2.12.5. Diğer Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları

A. baumannii izolatları kloramfenikol ve trimetoprim-sülfametaksazole karşı yüksek düzeyde direnç göstermektedirler, ancak bu direncin genetik temeli çok az bilinmektedir. Trimetoprim direncinden, plazmid DNA'sı tarafından taşınan dhfr geninin kodladığı dihidrofolat redüktaz enziminin sorumlu olduğu bildirilmiştir (58).

Acinetobacter kökenlerinde kloramfenikol direncine Kloramfenikol Asetiltransferaz-I (KAT-I) enzimi neden olmaktadır. Bu enzim transpozon ve plazmidlerce kodlanmaktadır (6).

2.13. Tiplendirme Yöntemleri

Tiplendirme yöntemleri başlıca; hastalardaki epidemiyolojik ilişkilerin ortaya konulması, reaktivasyonun reinfeksiyondan ayırt edilmesi ve salgın araştırmalarında epidemik suşların kaynağının ve yayılım yolunun belirlenmesi, hastane ve toplumsal kaynaklı infeksiyonların belirlenmesi, dirençli suşların tanımlanması ve yaygınlığının belirlenmesi ve infeksiyon etkenlerinin yayılımının belirlenmesi gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan birçok fenotipik ve genotipik tiplendirme yöntemi bulunmaktadır (6).

Tiplendirme yöntemleri standartize edilmiş, duyarlı ve özgül olmalı ayrıca tüm tiplendirme sistemlerinin tekrar edilebilirliği, ayırım gücü, uygulama ve değerlendirme kolaylığı belirlenmiş olmalıdır (82). Ayırım gücü epidemiyolojik olarak ilişkisiz izolatları ayırt etme kabiliyeti olarak tanımlanmaktadır (83). Fenotipik yöntemlerle karşılaştırıldığında moleküler yöntemlerin ayırım gücü daha yüksektir ve birçok türe uygulanabilme avantajı sağlamaktadır (82, 83).

2.13.1. Fenotipik Yöntemler

Mikroorganizmalar arasındaki ilişkiyi belirlemede birçok farklı fenotipik metod kullanılabilir. Ancak genellikle fenotipik metodların tekrarlanabilirliği, tiplendirme yeteneği ve ayırım gücü yetersizdir (84).

FENOTİPİK YÖNTEMLER

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

2.13.1.1. Antibiyotiplendirme

İzolatların benzerliklerine göre gruplandırmak ve direnç gelişimini tespit etmek amacıyla kullanılmaktadır. Genellikle minimal inhibitör konsantrasyon (MIK), breakpoint ve disk difüzyon zon değerleri kullanılmaktadır (37). Tiplendirme için antibiyogram sonuçlarının diğer yöntemlerle ve epidemiyolojik verilerle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Bazen benzer olmayan suşlar aynı antibiyogram profilini gösterirken, bazen de infeksiyon atakları sırasında duyarlılık profilleri değişmektedir (5, 6).

2.13.1.2. Serotiplendirme

Bakterilerin yüzeyindeki antijenleri onlara spesifik antikorları kullanarak belirlemeye dayanan tiplendirme yöntemidir. Antiserumun elde edilme güçlüğü ve farklı metodlar arasındaki standardizasyon problemleri nedeniyle değeri düşüktür (82, 83). Bu sistem hastane kaynaklı salgın çalışmaları için umut vericidir fakat yoğun emek gerektirmektedir (85).

2.13.1.3. Biotiplendirme

Bakterilerin farklı besiyerlerindeki üreme kabiliyetlerinin ve biyokimyasal özelliklerinin kullanıldığı tiplendirme yöntemidir. Gen ekspresyonundaki çeşitlilikten ve rastlantısal mutasyonların mikroorganizmanın biyolojik özelliklerini değiştirebilmesinden dolayı ayırım gücü zayıftır (83). Özellikle hastane infeksiyonu salgınlarında az sayıda biyotip bulunması nedeniyle biyotiplemenin ayırt etme yeteneği yetersiz bulunmaktadır (86).

2.13.1.4. Bakteriosin Tiplendirme

DNA-DNA hibridizasyon tekniği ile birlikte çalışıldığında klinik olarak önemli *Acinetobacter* suşlarının tiplendirilmesinde yararlı bir tiplendirme yöntemi olmaktadır (5). Bakteriyofaj tiplendirmeden daha az zahmetlidir ve serotiplendirme antibiyotiplendirme veya biyotiplendirmeye birlikte epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilir (82).

2.13.1.5. Bakteriyofaj Tiplendirme

Zahmetli ve tekrarlanabilirliği düşük bir yöntem olması ve standardizasyonundaki problemler metodun kullanımını sınırlandırmaktadır (83).

2.13.1.6. Multilokus enzim elektroforezi

Çok sayıdaki hücresel enzimin elektroforetik aktivitesiyle ilişkilidir ve tür identifikasyonu için faydalı bir teknik olarak değerlendirilmektedir (6). Bir çalışmada 81 *Acinetobacter* izolatında 27 esteraz ve iki dehidrogenaz enzimi araştırılmış ve her enzim için 2-17 arasında varyant tanımlanmıştır (87).

2.13.1.7. Hücresel proteinlerin poliakrilamid jel elektroforezi

Acinetobacter türleri ile ilgili epidemiyolojik ve taksonomik çalışmalarda hem hücre duvarı proteini hem de tüm hücre proteinleri kullanılmıştır (5). Hücre duvarı proteinlerinin sodyum dodezil sülfat poliakrilamid jel elektroforezindeki analizinde epidemiyolojik olarak ilişkili suşlarda benzer profiller bulunurken, ilişkisiz suşlarda farklılıklar gözlenmiştir. Bu yöntem hastane salgınlarında ve endemik ataklarda başarı ile uygulanabilmektedir (88).

2.13.2. Moleküler Yöntemler

Moleküler tekniklere ilgi her geçen gün artmakta ve infeksiyonların epidemiyolojik araştırmalarına artan bir oranda dahil edilmektedirler (82). Çeşitli moleküler yöntemler geliştirilmiş olmasına karşın bakteriyel türlerin çoğunda kullanılabilecek en uygun metod PFGE olarak görülmektedir (89).

MOLEKÜLER YÖNTEMLER

I. Nükleik asit temelli yöntemler

- Plasmid profilleri
- Restriction fragment length polymorphism (RFLP)
- Pulsed field gel electrophoresis (PFGE)
- Segmented RNA gel electrophoresis
- Ribosomal RNA gel electrophoresis
- Multilocus sequence typing (MLST)

II. PCR temelli yöntemler

- Hedefi bilinen tekrarlayan sekanslar
 - Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Sequences (ERIC)
 - Repetitive Extragenic Palindromic Sequences (REP)
 - Double Repetitive Element (DRE)
 - Insertional Sequence (IS)
 - Polymorphic Guanine/Cytosine-Rich Repetitive Sequences (PGRS)
- Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD),
- Arbitrary Primed PCR (AP-PCR)
- Amplified fragment length polymorphism (AFLP)

2.13.2.1. Plasmid profili

Acinetobacter türlerinin tiplendirilmesinde kolay ve hızlı bir şekilde uygulanmaktadır. *Acinetobacter* türlerinde çeşitli sayı ve büyüklükte plazmid bulunmaktadır. Diğer türlerde plazmid saptanmaz iken *A. calcoaceticus*- *A. baumannii* complex içindeki 13 türde 1-4 adet plazmid bulunmuştur (5). Benzer plazmid profilli suşlar plazmid DNA'larının restriksiyon

enzimlerle parçalanması veya işaretli problarla hibridizasyonu sonrası farklı bulunabilmektedir. Plazmid tiplendirmesi epidemiyolojik çalışmalarda oldukça yararlı olmasının yanı sıra ek moleküler yöntemlerle desteklendiğinde daha da faydalı olabilmektedir (90).

2.13.2.2. Multiloküs Sekans Tipleme (MLST)

Mikroorganizmaların tiplendirmesi için yüksek derecede ayırt edici bir yöntemdir ve klinik olarak önemli bakteriyel patojenlerin epidemiyolojik karakterizasyonu için başarıyla uygulanmaktadır. MLST multilokus enzim elektroforez ile aynı prensiplerden temel almaktadır fakat direkt olarak protein kodlayan yapısal genlerin internal fragmanlarının DNA sekans karşılaştırmasına dayanmaktadır. Hayati fonksiyonları olan proteinleri kodlayan gen bölgeleri seçilmektedir (91).

2.13.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Temelli Yöntemler

Mikroorganizmaların tiplendirilmesi için özgül veya rastgele primerler kullanarak DNA dizisinin PCR ile amplifikasyonu temelindeki yöntemlerin kullanımı artmıştır.

A. baumannii'nin tiplendirilmesinde AP-PCR (Arbitrarily Primed Amplification) yöntemiyle M13 bakteriyofajının kor bölgesine uygun primerler kullanılarak rastgele bölgeler çoğaltılmakta ya da ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive İntergenic Consensus PCR) yöntemleri ile tekrarlayan bölgeler hedef olarak kullanılarak hedef DNA dizisi çoğaltılmaktadır (91). Ayrıca rep-PCR (Repetitive Extragenic Palindromic Sequence Based Metod), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism Analysis), “infrequentrestriction site PCR”, “integraz gen PCR”, ARDRA (Amplified Ribozomal DNA Restriction Analyse), MLST (Multi Lokus Sequence Typing) yöntemleri alternatif yaklaşımlar olarak kullanılmaktadır (91, 92).

2.13.2.4. Repetitive Extragenic Palindromic Sequences (REP)-PCR

Bu yöntem genom içerisinde tekrar eden kodsuz DNA fragmanlarının (amplikon) çoğaltılmasına dayanır. Bu fragmanların düzenlenmesiyle analiz edilen organizmanın çok belirgin farklılıkları ortaya çıkar ve böylelikle bu teknik bakteri veya mantarların suş seviyesinde ayrılmasını sağlar.

1.adımda: Genom boyunca dağılmış bulunan tekrar eden seriler rep-PCR primerleriyle bağlanır.

2. adımda: Fragmanlar boyut ve elektrik yükü olarak ayrılabilir. Eksiksiz bir rep-PCR parmak izi profili; boyutları ve yoğunlukları farklı birçok bandın oluşturulması ile elde edilir. Fragmanlar elektroforez özelliği olan bir mikro akışkan ile birbirinden ayrılır. İşlem geleneksel elektroforez prensiblerine göre hareket eder fakat çok düşük miktarlarda örnek kullanılır. LabChip'i içerisinde DNA parçalarının bir boya ile boyanması sağlanır. Parçalar Chip içerisinde ayrıldıkça zaman içerisinde bir ışık yoğunluğu oluştururlar. Bu ışık yoğunluğu; grafiği; örneğin parmak izi kalıbını ortaya koyar.

Organizmaların gelişim ve yayılımlarının takibi ve aynı zamanda organizmaların genetik benzerliklerini ve değişimlerini ortaya koymak için bakteri, küf ve mayaların genotiplendirmesini yapan bir yöntemdir. Köken tayini ve parmak izi belirlemede kullanılır. rep-PCR yöntemi; mikroorganizmaları genom boyunca dağılmış olan kodsuz dizileri hedef alan primerleri kullanır (93) ve rep-PCR mikroorganizmaların suş farklılıklarını ve türlerin sınıflandırılması için bir yaklaşımdır (94). Yakın tarihte *Aspergillus* üzerinde ticari olarak da bulunabilen bir rep-PCR yöntemi olan DiversiLab (bioMerieux, Fransa) sistemi oluşturulmuştur (95). Ayrıca *Fusarium*, *Aspergillus*, *Zygomycetes*, dimorfik fungi, *Trichophyton*, *Candida* suşları Diversilab sistemi ile hızlı, doğru ve kolay olarak yapılabileceği bildirilmektedir (96).

DiversiLab sistemi teknik uygulaması basit, <24 saatten önce saf kültürlerde sonuç veren geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında daha hızlı bir yöntemdir. Bu yöntem 3 bileşenden oluşur.

1. PCR ajan kitleri

2. Agelant 2100 bioanalyze sistemi; çoğaltılmış parçacıkları bir mikroakışkan içeren Chip içerisinde ışık yoğunluğuna göre ayırır.

3. Web tabanlı DiversiLab yazılımı

Sonuçlar; DiversiLab sistemi tarafından bir dendogram raporu şeklinde oluşturulur yada bir noktalama grafiği şeklinde oluşturulur. Dendogram; izolatlar arasındaki benzerliği gözler önüne serer. Noktalama grafiği ise, hiyerarşik olmayan uzaysal ilişkiyi gösterir. Jel görüntüleri veya elektroforegram ya da her ikisi beraber değerlendirilebilir (97).

2.13.2.5. Pulsed field gel electrophoresis (PFGE)

Yüksek oranda tekrarlanabilirlik özelliğine sahip olduğundan, bu yöntem birçok araştırmacı tarafından moleküler yöntemler içinde altın standart olarak kabul edilmiştir (98).

Bu yöntemde kökenler eritilmiş agaroz ile karıştırılır, bir deterjan enzim ile lizise uğratılır ve restriksiyon enzimleri (RE) ile kesilir. Daha sonra agaroz jelde PFGE uygulanır. Aynı türün farklı alt tiplerindeki genomik farklılıklar, restriksiyon enzimleri ile kesildikleri bölgelerin de farklı olmasına neden olur. İncelenen kökenler, genotipik yönden benzer bulunduğu, epidemik ve endemik kökenlerin kesin olarak ayırt edilebilmesi için en az iki enzim ile restriksiyon analizi yapılması önerilmektedir (98).

PFGE ile bakteriyel DNA analizinin çeşitli kullanım alanları bulunmaktadır. Bilinen genler örneğin probalar kullanılarak bakteri kromozomunu haritalamak mümkün olmaktadır. Bakteriyel genom büyüklüğü direkt olarak saptanabilir ve jeldeki büyük restriksiyon fragmanlarının elektroforezi ile kromozom alt bölgeleri tanımlanabilmektedir. Transpozonların insersiyonu haritalanabilmektedir. Bakteri izolatlarının moleküler epidemiyolojik çalışmalarında çok yararlı bulunmaktadır (99).

Acinetobacter kökenlerinin DNA'sı izole edildikten sonra *ApaI*, *SmaI* ve *NheI* restriksiyon enzimleri ile parçalanması sonucu oluşan DNA parçalarının uzunluk polimorfizmi gösterilmektedir. Bu yöntem, *A. baumannii* için salgınlarda veya bir hastanın izole edilen farklı kökenlerin tiplendirilmesinde yararlı bir metottur. Dezavantajı, pahalı ve uzun süreye ihtiyaç duyulmasıdır. PFGE oldukça ayırt edici ve epidemiyolojik çalışmalar için çok yararlı bir metottur (100).

2.13.2.5.1. PFGE'de epidemiyolojik yorum

Aynı İzolat: PFGE'de sayı ve boyutları aynı bant paterni sergileyen bakterilerin genetik olarak aynı ve epidemiyolojik olarak ilişkili oldukları kabul edilir. Tek bant farklılığı gösteren izolatlarında klonal olarak ilişkili oldukları gösterilmiştir (82, 89).

Yakın İlişkili İzolat: Tek bir nokta mutasyon, insersiyon veya delesyon oluşması nedeniyle aralarında 2-3 bant farkı oluşan izolatlar yakından ilişkili olarak değerlendirilmekte ve epidemiyolojik olarak salgının bir parçası oldukları düşünülmektedir (82, 83).

Muhtemel İlişkili İzolat: İnsersiyon veya delesyon ile restriksiyon bölgelerinin kazanımı veya kaybı gibi iki bağımsız genetik değişiklik meydana geldiğinde aralarında 4-6 bant farkı olan izolatlar oluşur. Çok sayıda hastanın kullanıldığı ve 3-6 aydan uzun bir süreyi kapsayan çalışmalarda sıklıkla gözlenir. Bu tür izolatlar muhtemel ilişkili izolatlar olarak değerlendirilir (82, 83). Ancak genetik olarak yakından ilişkili olmadıklarından epidemiyolojik olarak ilişkili olma olasılıkları daha düşüktür (89).

İlişkisiz İzolat: DNA'sında meydana gelen üç ya da daha fazla genetik değişiklikten dolayı yedi ya da daha fazla bant farkı sergileyen bakteriler epidemiyolojik olarak ilişkisiz izolatlar olarak kabul edilir (89).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın yapılabilmesi için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 11/2010-9 kararı uyarınca etik kurul onayı alınmıştır.

Çalışmamıza Ocak 2010-Haziran 2011 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Dahili Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatmakta olan hastaların mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerinden ve çevre kültürleri yapılarak, *A. baumannii* olarak izole edilen suşlar çalışmaya dahil edildi.

Klinik örneklerdeki *A. baumannii* suşları, YBÜ doktorları tarafından alınarak, laboratuvarımıza rutin değerlendirme amacıyla gönderilen örneklerden izole edildi. Eş zamanlı olarak *A. baumannii*'nin izole edildiği hastaların bulunduğu çevre ortamlarından (hasta yatakları, hasta pikeleri, aspirasyon cihazları, dolap, lavabo, musluk, ventilatör devresi, havalandırmalar, hemşire deskleri, perdeler, kapı kolları gibi) yüzey sürüntüleri tarafımızca alındı.

İzole edilen suşların identifikasyon ve invitro antibiyotik duyarlılık testlerinin ardından rep-PCR ile genotiplendirilmesi yapıldı.

3.1. Örneklerin Toplanması

Laboratuvarımıza YBÜ'den gelen çeşitli klinik örneklerden izole edilen *A. baumannii* suşları çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan suşlar, trakeal aspirasyon örneği, kan kültürü örneği, kateter örneği kültürü, idrar, beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinden izole edildi. Kültürler uygun kaplar ve/veya taşıma besiyerleri ile laboratuara ulaştırıldı. Kan kültürü örnekleri BacT-Alert (bioMerieux, Fransa) otomatize kan kültürü şişelerine alındı.

Herhangi bir örneğinden *Acinetobacter* spp. izole edilen hastalardan eş zamanlı olarak (maksimum 24 saat içerisinde) çevre sürüntü örnekleri alındı. Hastalara ait olan yatakları, aspirasyon cihazları, dolap, lavabo, musluk, ventilatör devresi, havalandırmalar, hemşire deskleri, perdeler, kapı kolları gibi cansız yüzeylerden Stuart (Oxoid, İngiltere) taşıma besiyeri ile sürüntü kültürleri alındı. Sürüntü örnekleri alınırken, pamuklu silgiçler yağ asitlerinin sebep olabileceği inhibitör etkiyi ortadan kaldırmak için steril serum fizyolojik ile ıslatıldı.

3.2. Bakterilerin Tanımlanması

Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örnekler ve cansız yüzeylerden alınan sürüntü örnekleri %5 koyun kanlı agar (bioMerieux, Fransa) ve eozin metilen blue (EMB) (bioMerieux, Fransa) agar besiyerlerine ekildi. Ekim yapılan plaklar 24-48 saat 35°C’de inkübe edildi. Kan kültürü örneklerinin de üreme sinyalinin alınmasından sonra belirtilen besiyerlerine subkültürleri yapıldı. Üreyen bakterilerin tanımlama aşamasına geçildi.

3.2.1. Konvansiyonel yöntemler

Aerob koşullarda üreyen, kanlı besiyerinde 1-2 cm boyutlarında, gri renkli, S tipinde, EMB besiyerinde laktoz negatif görünen, Gram negatif, hareketsiz, 1.0-1.5 ×1.5-2.5 µm çapında, diplokok veya kokobasil morfolojisinde, katalaz pozitif, oksidaz negatif, bakteriler *Acinetobacter* ön tanısı ile, tür ve cins belirlenmesi için otomatize tanımlama yöntemlerine alındı.

3.2.2. Otomatize identifikasyon yöntemi

Konvansiyonel yöntemlerle *Acinetobacter* şüphesi olan bakteriler Vitek 2 (bioMerieux, Fransa) otomatize bakteri identifikasyon sistemi ile tanımlandı. Bakterilerin 24 saatlik taze kültürlerinden 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bunun için, Vitek Densichek (bioMerieux) dansitometri kullanıldı. Hazırlanan bakteri süspansiyonları GN (Gram negatif) kartlarına önerilen şekilde dağıtıldı ve cihaza yerleştirildi.

Vitek 2 cihazı tam otomatik bir bakteri tanımlama ve mikrodilüsyon prensibine göre antibiyotik duyarlılık testleri yapılmasını sağlayan bir sistemdir. Boyu 5.5 cm, eni 9 cm boyutlarında, üzerinde 64 adet kuyucuk ve her kuyuda, liyofilize yapıda, bir metabolit veya farklı konsatrasyonlarda antibiyotik içeren özel plastik kartlar şeklindedir (Resim 3). Bakteri inokülumunun vakum prensibine dayalı bir dağıtıcı ile dağıtılmasının ardından, her bir kuyucuk mikrolitre boyutunda doldurulmuş olur. Bu kartlarda barkodlama sistemi ile seviyelendirilmiş ve cihaza girmeden önce kartları alıp tanımlayan “smart taşıyıcı” bilgisayar çipi kullanılmaktadır. Kartlar dolum yerinden okuyucu inkübatöre taşınır ve testin sonunda otomatik olarak bir kutuya atılmaktadır.



Resim 3. Vitek Gram negatif identifikasyon kartı

Vitek 2 GN İdentifikasyon Paneli

- | | |
|---------------------------------|----------------------------------|
| 1. Ala-Phe-Pro Arylamidase | 12. Fermentation/Glucose |
| 2. Adanitol | 13. Beta-Glucosidase |
| 3. L-Pryrolydonyl-Arylamidase | 14. D-Maltose |
| 4.L-Arabitol | 15. D-Mannitol |
| 5. D-Cellobiose | 16. D-Mannose |
| 6. Beta-Galactosidase | 17. Beta-Xylosidase |
| 7. H ₂ S Production | 18. Beta-Alanine arylamidase pNA |
| 8.Beta-N-Acetyl-Glucosaminidase | 19. L-Prolin arylamidase |
| 9. Glutomyl Arylamidase pNA | 20. Lipase |
| 10. D-Glucose | 21. Palatinose |
| 11. Gamme-Glutamyl-transferose | 22. Tryosine Arylamidase |

23. Urease	35. Phosphatase
24. D-Sorbitol	36. Glycine-Arylamidase
25. Saccharase/Sucrose	37. Ornithine-Decarboxylase
26. D-Tagatose	38. Lysine-Decarboxylase
27. Citrate	39. L-Histidine assimilation
28. Malonate	40. Coumarate
29. 5-Keto-D-Gluconate	41. Beta-Glucuronidase
30. L-Lactate alkalisation	42. O/129 Resistance
31. Alpha-Glucosidase	43. Glu-Gly-Arg-Arylamidase
32. Succinate-Alkalisation	44. L-Malate assimilation
33. Beta-N-Acetyl-Galactosaminidase	45. ELLMAN
34. Alpha-Galactosidase	46. L-Lactate assimilation

A. baumannii olarak tanımlanan suşlar % 4 gliserol içeren Mueller Hinton Agar (Oxoid, İngiltere) besiyerinde -20 °C’de saklandı.

3.3. Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Vitek 2 sistemi MİK (Minimum inhibitör konsantrasyonu) değerini tespit edebilen, kolorimetrik, bilgisayar destekli bir yöntemdir. Vitek 2 cihazında antibiyotik sonuçlarının değerlendirilmesinde Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartları kullanılmakta ve bilgisayar software’i önerilere göre güncellenmektedir. Antibiyogram kartlarına dağıtılacak olan bakteri inokulumu, cihaz kullanım kılavuzları baz alınarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlandı. Tanımlama amacıyla hazırlanan 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonundan, 145 µl alınarak, yeni hazırlanmış, 3 ml steril bir tüpteki serum fizyolojik içerisinde süspanse edildi. Hazırlanan süspansiyon cihaz kullanılarak kartlara dağıtıldı.

Her kart içerdiği liyofilize olarak antimikrobiyallerin farklı konsantrasyonlarını ve kültür besiyeri olarak da Mueller Hinton Broth içerir. Bu AST90 kartları mikrodilüsyon tekniğinin kısaltılmış ve küçültülmüş bir versiyonuyla dilüsyon yaparak MİK değerini tespit eder. Tüm kartlar 35.5 ± 1.0 °C’de cihazın inkübatöründe inkübe edilir. Her kart 15 dakikada bir karusel denen inkübatöre alınır ve reaksiyonların okunması için optik sisteme transfer

edilir. Tüm inkübasyon periyodu boyunca 15 dakikada bir bilgiler toplanır. Tüm okunan değerler kaydedilerek, en geç 18 saat içinde sonuç alınabilmektedir.

Tablo 5. Vitek 2 AST90 kartlarında yer alan antibiyotikler ve dilüsyon miktarları

ANTİBİYOTİK	Konsantrasyon (µg/mL)
Amikasin (AN)	8, 16, 64
Ampisilin/Sulbactam (SAM)	4/2, 16/8, 32/16
Cefepime (FEP)	2, 8, 16, 32
Cefoperazone/Sulbactam (SFP)	8, 16, 32
Ceftazidime (CAZ)	1, 2, 8, 32
Ceftriaxone (CRO)	1, 2, 8, 32
Ciprofloxacin (CIP)	0.5, 2, 4
Colistin (CS)	4, 16, 32
Gentamicin (GM)	4, 16, 32
Imipenem (IPM)	2, 4, 16
Levofloxacin (LEV)	0.25, 0.5, 2, 8
Meropenem (MEM)	0.5, 4, 16
Piperacillin (PIP)	4, 16, 32, 64
Piperacillin/Tazobactam (TZP)	4/4, 16/4, 32/4, 64/4
Tetracycline (TE)	2, 4, 8
Ticarcillin (TIC)	16, 32, 64
Tigecycline (TGC)	0.75, 2, 4
Tobramycin (TM)	8, 16, 64
Trimethoprim/Sulfamethoxazole (SXT)	1/19, 4/76, 16/304

3.4. Kökenlerin Genotiplenmesi İçin Moleküler Yöntem

A. baumannii suşlarının genotipik analizi otomatize bir sistem olan Diversilab (bioMérieux, Fransa) cihazında çalışıldı. DiversiLab, rep-PCR teknolojisi kullanılarak standardize ve tekrarlanabilir DNA parmak izi profilleri ile kısa bir sürede suşların genotiplendirmesini yapan, otomatik bir PCR cihazıdır. Cihaz ve adapte edildiği kit, ticari bir kit olduğundan (patentli ürün) ilgili firma ve kit kullanım kılavuzundan *A. baumannii* genomik analizi için araştırılan gen bölgesine ulaşılamamıştır.

Bu çalışma 4 aşamada yapıldı.

1. *A. baumannii* saf kültüründen manuel DNA ekstraksiyonu yapıldı.
 2. Thermalcycler’da DiversiLab parmak izi kitleri kullanılarak rep-PCR yapıldı.
 3. Biyoanalizör kullanılarak otomatik microfluidic elektroforez yapıldı.
 4. İnternet tabanlı yorumlama yazılım programı ile kolay ve hızlı değerlendirme yapıldı.
- DNA ekstraksiyonu yapmak için -20 °C’de stokladığımız suşlar bir gece etüvde bekletildikten sonra EMB agara ekilerek canlandırıldı.

3.4.1. DNA ekstraksiyonu için yapılan aşamalar

Ekstraksiyon kitinin içeriği

- Kumlu tüp
- 2 ml’lik ependorf tüp
- Kolonlu tüp
- MD1, MD2, MD3, MD4, MD5 Solusyonu

1. 300 µl MicroBead çözeltisi, her biri içerisinde kum tanesi bulunan MicroBead tüpüne dağıtıldı.
2. Besiyerinden numune alındı (2 defa 1 µl öze).
3. MicroBead tüpündeki sıvı içerisinde, alınan *Acinetobacter* kolonileri öze ile iyice karıştırıldı.
4. 50 µL MD1 çözeltisi eklendi.
5. 10 dakika boyunca 2400 rpm’de vortekslendi.
6. 30 saniye 10.000×g’de çevrildi.
7. 100 µL MD2 çözeltisi temiz ependorf tüplere boşaltıldı.
8. Tüm süpernatantı (6. adımdan) 100 µL MD2 çözeltisine (içerisinde kum tanesi olmamasına dikkat edilerek) aktarıldı.
9. Kısa bir süre vortekslendi.
10. 15 dakika +4 °C’de soğutuldu.
11. 1 dakika 10.000×g de çevrildi.
12. 450 µL MD3 çözeltisi temiz ependorf tüplere boşaltıldı.
13. 200 µL süpernatant (11. adımdan) 450 µl MD3 çözeltisine aktarıldı.
14. Kısa bir süre vortekslendi.(40-50 saniye)

15. Kısa bir süre santrifüj edildi. (1 dakika kadar)
16. Süpernatant (15. adımdan, 650 µL) temiz bir spin filtreye transfer edildi.
17. 30 saniye 10.000×g'de çevrildi ve aşağı akan sıvı atıldı.
18. 300 µL MD4 çözeltisi spin filtreye boşaltıldı.(17. adımdan)
19. 30 saniye 10.000×g de çevrildi ve aşağı akan sıvı atıldı.
20. 1 dakika 10.000×g kuru olarak çevrildi.
21. Spin filtre yeni temiz bir tüpe yerleştirildi.
22. 35 µL MD5 çözeltisi spin filtrenin tam ortasına ve filtreye dokunmadan boşaltıldı.
23. 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
24. Filtre çıkarıp atıldı.
25. DNA toplama tüpünde tutuldu ve DNA amplifikasyon işlemi tamamlandı.

3.4.2. Thermalcycler'da diversiLab parmak-izi kiti kullanılarak rep-PCR yapılması aşaması

rep-PCR ve uygun DiversiLab DNA parmak-izi kiti kullanılarak örnekler amplifiye edilir.

PCR Kitinin İçeriği

- Master Mix
- PCR Buffer
- Primer Mix
- Taq Polimeraz

Her çalışmada 12 *Acinetobacter* suşu için *Acinetobacter*-DNA amplifikasyon karışımı hazırlandı.

12 hasta için	Total volüm (µL)
Rep-PCR MM	234
GeneAmp 10X PCR buffer	32.5
Primer Mix	26
AmpliTaq DNA Polymeras	6.5
	299

Testin Uygulanması

1. Amplifikasyon aşaması izolasyon odasından farklı bir odada yapıldı. Amplifikasyon için kullanılacak buffer, master mix, primer mix, taq DNA Polimeraz -20 °C'lik derin dondurucudan çıkarıldı. Taq DNA Polimeraz çalışma anına kadar buz kalıbı üzerinde bekletildi.
2. Örnek sayısı kadar PCR amplifikasyon karışımı ependorf tüpüne hazırlandı ve 1ml'lik ependorf tüplerine 23 µl dağıtıldı.
3. Hasta örneklerinden elde edilmiş DNA izolatlarından 2'şer µl ependorf tüplerine dağıtıldı ve kapakları kapatıldı.
4. Örneklerdeki nükleik asit 'thermal cycler' cihazında aşağıdaki sikluslar uygulanarak çoğaltıldı.

Program rep-PCR45

Cycles 35

<u>Step</u>	<u>Temp(°C)</u>	<u>Time (seconds)</u>
Initial Denaturation	94	120
Denaturation	94	30
Annealing	45	30
Extension	70	90
Final Extension	70	90
Hold	4	—

5. Çalışma tamamlanınca PCR ürünleri cihazdan alındı.
6. DNA LabChip on Agilent Bioanalyzer cihazına yerleştirildi.

3.4.3. Biyoanalizör kullanılarak otomatik mikrofluidic elektroforez yapımı

Kitin içeriği

- Chip reaktifleri
- Marker
- Jel Boyası
- Jel matriksi

Testin uygulanması

1. Jel-boya içeriğinin oda ısısına getirilmesi beklendi.
2. Jel ve boya vortekslendi ve kısaca spin yapıldı.
3. 1.5 ml’lik bir tüpe 200 µl jel ve 10 µl boya konuldu.
4. Homojen olana kadar vortekslendi.
5. Kit içindeki spin filtreye (kolonlu tüp) transfer edildi.
6. 1500×g’de 10 dakika oda ısısında santrifüj edildi.

Chip’e yükleme aşaması

1. Marker ve ladder kısaca vortekslendi.
2. Bu aşamada jel-boya karışımının vortekslenmesi önerilmemektedir.
3. 9 µl jel-boya karışımı chip üzerinde işaretli olan ‘G’ kuyucuğuna pipetlendi.
4. Chip yükleme istasyonunda şırınga 1 ml’de iken 30 saniye çipe basınç uygulandı. İstasyon kapağı açılarak piston dengeye gelene kadar beklendi.
5. Kalan G kuyularına 9 µl jel-boya karışımı pipetlendi.
6. Her bir numune kuyusuna 5 µl marker sonuna kadar pipetlendi.
7. Marker konulan kuyulara 1 µl’de bakteri DNA’sı konup pipetlendi.
8. Chip 1 dakika vortekslendi ve cihaza yüklendi (Resim 4).

3.4.4. ‘rep-PCR DNA fingerprinting’ teknolojisi kullanılarak internet tabanlı yorumlama ve yazılım programı ile değerlendirme yapıldı.

Tüm *Acinetobacter* izolatlarının rep-PCR tabanlı parmak izi kalıpları DiversiLab sistemi ve *Acinetobacter* DNA parmak izi kiti kullanılarak elde edilmiştir. Değerlendirme için benzerlik hesaplarının yapılmasında DiversiLab yazılımı Pearson Korelasyon katsayısı ve UPGMA (Unweighted Pairwise grouping mathematical averaging); matematiksel ortalamayla ağırlıksız çiftlerin gruplandırılması yöntemi rep-PCR profillerini otomatik olarak karşılaştırmak amacıyla kullanıldı. DiversiLab yazılımı içerisinde rep-PCR DNA parmak-izi veritabanı mevcuttur. Analiz sonucunda DiversiLab’ın 2.1.66 versiyonlu yazılımları kullanıldı.

Ek olarak sonuçları içeren, bilgisayar tarafından oluşturulmuş, DNA parmak izinin otomatik okunmasını gösteren dendogram, benzer DNA dizilerinin renklerle ayrılarak gösterilen benzerlik matrisi ve suşların benzerliklerine göre grafik üzerinde noktalama yapan noktalama grafiği bilgilerin yorumlanmasında kullanıldı.

Benzerlik matrisindeki renklerden kırmızı %100-95 oranında, turuncu %95-90 oranında, mavi %90-80 oranında, pembe %80-70 oranında, gri %70-0 oranında benzerlik olduğunu göstermektedir. Aynı suş olarak kırmızı renkte görünen yani % 100-95 oranında, benzerlik gösteren suşlar kabul edildi.



Resim 4. DiversiLab Chip görünümü

4.BULGULAR

Çalışma Ocak 2010-Haziran 2011 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatmakta olan hastaların mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerinden izole edilen *Acinetobacter* suşu ile yapıldı. Aynı dönemde YBÜ'de çevre taraması yapılarak alınan çevre örneklerinden izole edilen *Acinetobacter* kökenleri de dahil olmak üzere 100 *Acinetobacter* suşu ile çalışıldı. Hastanemiz YBÜ'si 19 yataklı bir birimdir.

Belirtilen süre içerisinde YBÜ'den laboratuvarımıza gönderilen klinik örnekler incelendi ve bunların 92'sinden izole edilen *A. baumannii* suşu çalışmaya alındı. Aynı hastanın aynı anatomik lokalizasyonundan izole edilen suşların biri kullanılırken, hastanın farklı vücut bölgelerinden izole edilen *A. baumannii* suşları ayrı ayrı değerlendirildi. Çalışmaya alınan 92 örnek 61 hastaya aitti. İzole edilen bakterilerin etken-kolonizasyon ayrımı yapılmadı.

Hastaların 21'i (% 34) kadın ve 40'ı (% 66) erkek olarak bulundu. Hastaların yaşları 16-86 yaşları arasında olup, yaş ortalaması 58.81 olarak bulundu. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 6'da gösterildi.

Tablo 6. *A. baumannii* suşlarının izole edildikleri hastaların yaş dağılımı

Yaş Aralıkları	16-29 yaş arası	30-49 yaş arası	50 -86 yaş arası
Hasta Sayısı	5	14	42
(%)	(8)	(23)	(69)

Hastaların % 69'unun 50 yaş ve üzerinde olduğu saptandı.

İncelenen 92 *A. baumannii* suşunun, 48'i (%52) trakeal aspirat, 26'sı (%28) kan, 9'u (%10) idrar, 6'sı (%7) katater, 2'si (%2) sonda, 1'i (%1) BOS örneğinden izole edildi. Bakterilerin soyutlandığı klinik örneklerin dağılımı Tablo 7'de gösterildi.

Tablo 7. *A. baumannii* izolatlarının soyutlandığı klinik örneklerle göre dağılımı

Örnek tipi	Örnek sayısı	Yüzde (%)
Trakeal aspirat	48	52
Kan	26	28
İdrar	9	10
Katater	6	7
Sonda ucu	2	2
BOS	1	1
TOPLAM	92	100

Hastalara ve yatmakta olduğu yatağa yakın cansız yüzeylerden ve YBÜ'ye ait olan ortak kullanım alanlarından yaklaşık olarak 400 sürüntü örneği alındı. Alınan örneklerin 8'inde *A. baumannii* suşu izole edildi. Çevreden elde ettiğimiz suşların izole edildiği hastane ekipmanlarına göre dağılımı Tablo .8'de gösterildi.

Tablo 8. Çevre örneklerinden izole edilen *A. baumannii* suşlarının dağılımı

İzole edildiği alan	İzolat sayısı
Yatak	1
Ventilatör cihazının ekranı	1
Hasta odasının kapı önündeki perdesi	1
Çöp kutusu dış kapak	1
Personel forma üzeri	2
Musluk	1
Bilgisayar klavyesi	1
TOPLAM	8

Acinetobacter kökenlerinin duyarlılık paternlerini belirlemek amacıyla Vitek 2 sistemine göre 19 antibiyotik çalışıldı. Saptanan MİK değerlerine göre, duyarlı, orta duyarlı, dirençli ayrımı yapıldı (Tablo 9).

Tablo 9. *A. baumannii* suşlarının antimikrobiyal duyarlılık sonuçları

Antibiyotikler	Duyarlı (S)		Orta duyarlı (I)		Dirençli (R)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Ceftriaxone	-	-	-	-	92	100
Ciprofloxacin	1	1	1	1	90	98
Colistin	91	99	-	-	1	1
Amikacin	37	40	10	11	45	49
İmipenem	2	2	-	-	90	98
SXT ¹	1	1	-	-	91	99
Meropenem	1	1	-	-	91	99
Levofloxacin	1	1	4	4	87	95
SAM ²	-	-	5	5	87	95
Cefepime	1	1	-	-	91	99
SFP ³	9	10	5	5	78	85
Ceftazidime	-	-	1	1	91	99
Piperacillin	-	-	1	1	91	99
TZP ⁴	-	-	1	1	91	99
Tetracycline	18	19	30	33	44	48
Ticarcillin	-	-	-	-	92	100
Tigecycline	72	78	15	16	5	6
Tobramycin	86	94	5	5	1	1
Gentamicin	20	22	20	22	52	56

SXT¹: Trimethoprim/ Sulfamethoxazole, SAM²: Ampicillin/Sulbactam SFP³:Cefoperazone/Sulbactam

TZP⁴: Piperacillin/Tazobactam

Test edilen tüm suşlar için en etkili antimikrobiyal ajan %99 duyarlılık oranı ile kolistin olarak tespit edildi. *A. baumannii* suşunun sadece birinde direnç bulundu. Tobramisin

(%94) ve tigesiklin (%78) diğerk etkili antimikrobiyaller olarak bulundu. Karbapenemlere yüksek oranda (imipemen %98, meropenem %99) direnç görüldü. Karbapenemler dışındaki beta laktam antibiyotiklerin de etkinliklerinin çok düşük olduğu görüldü. Sefepim sadece 1 (%1) izolata duyarlı iken, seftriakson, seftazidim ve piperasiline duyarlı izolat olmadığı belirlendi. Beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonlarından piperasillin/tazobaktama ve ampisilin/sulbaktama duyarlı suş olmadığı saptandı.

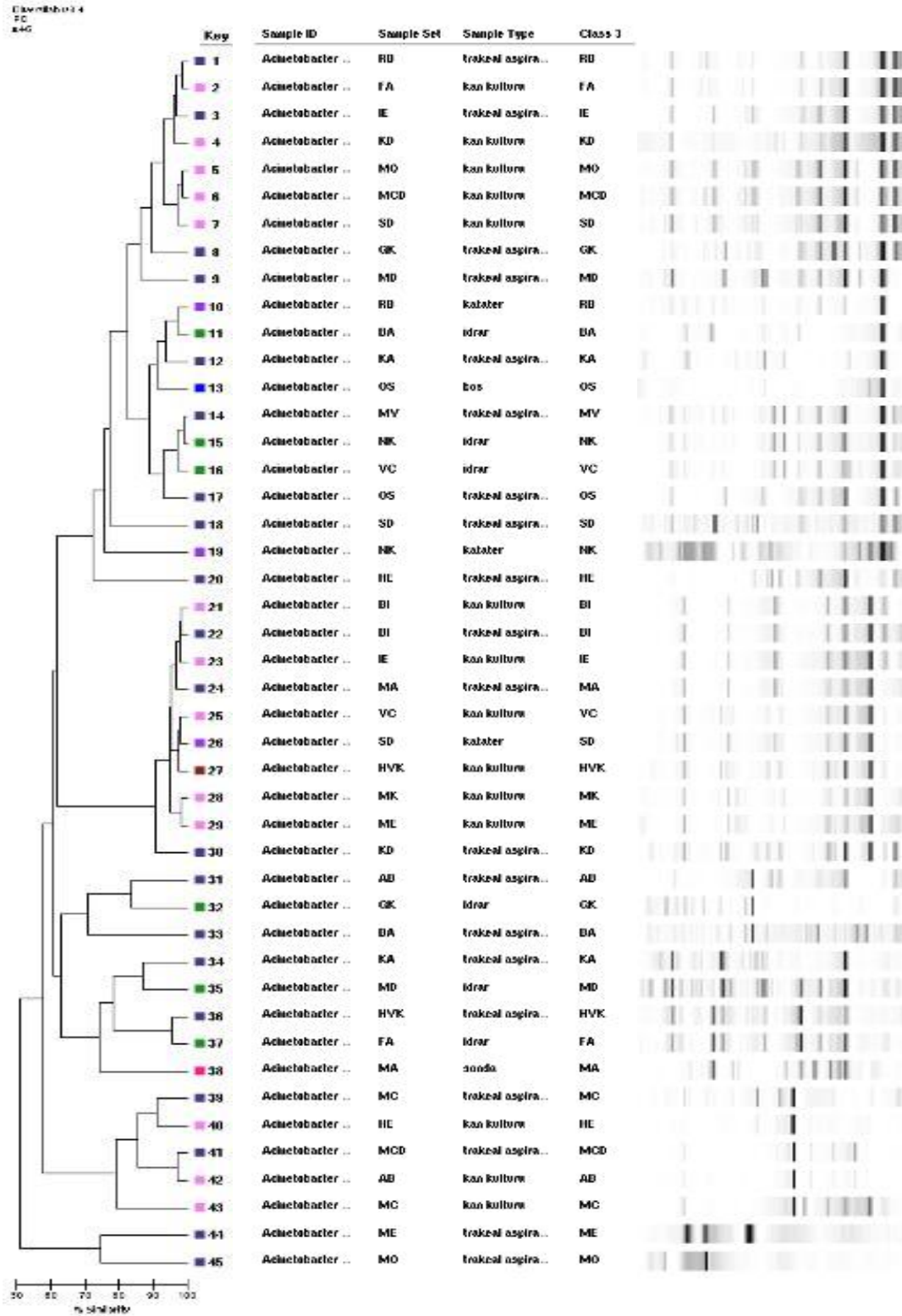
Aminoglikozid antibiyotiklerden amikasinine karşı 37 izolatın (%40), gentamisine 20 izolatın (%22) duyarlı olduğu belirlendi.

Kinolon gurubu antibiyotikler arasında levofloksasin ve siprofloksasine sadece 1'er (%1) izolat duyarlı bulundu. Diğerk iki farklı antibiyotik grubunda yer alan tetrasikline 18 izolat (%19), trimetoprim/sülfometaksozole 1 izolat (%1) duyarlı bulundu.

Genotipik Değerlendirme Sonuçları

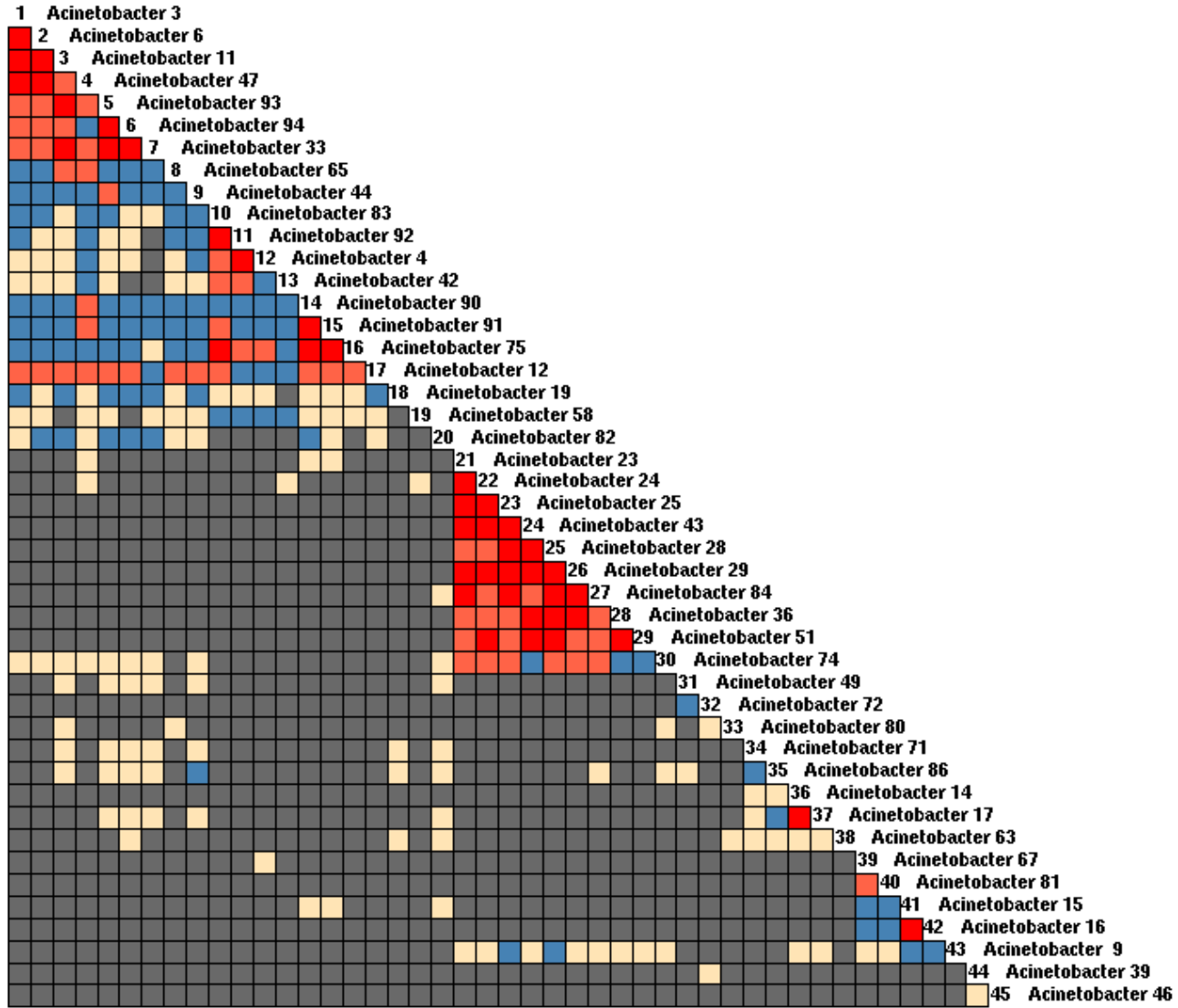
Diverislab veri analizinde bulunan dendogram, benzerlik matriksi ve noktalama grafiğine göre yorumlama yapıldı.

Farklı bölgelerinden *A. baumannii* izole edilen 23 hastaya ait örneklerin DNA parmak izi sonuçları Şekil 1, 2 ve 3'de gösterilmiştir.

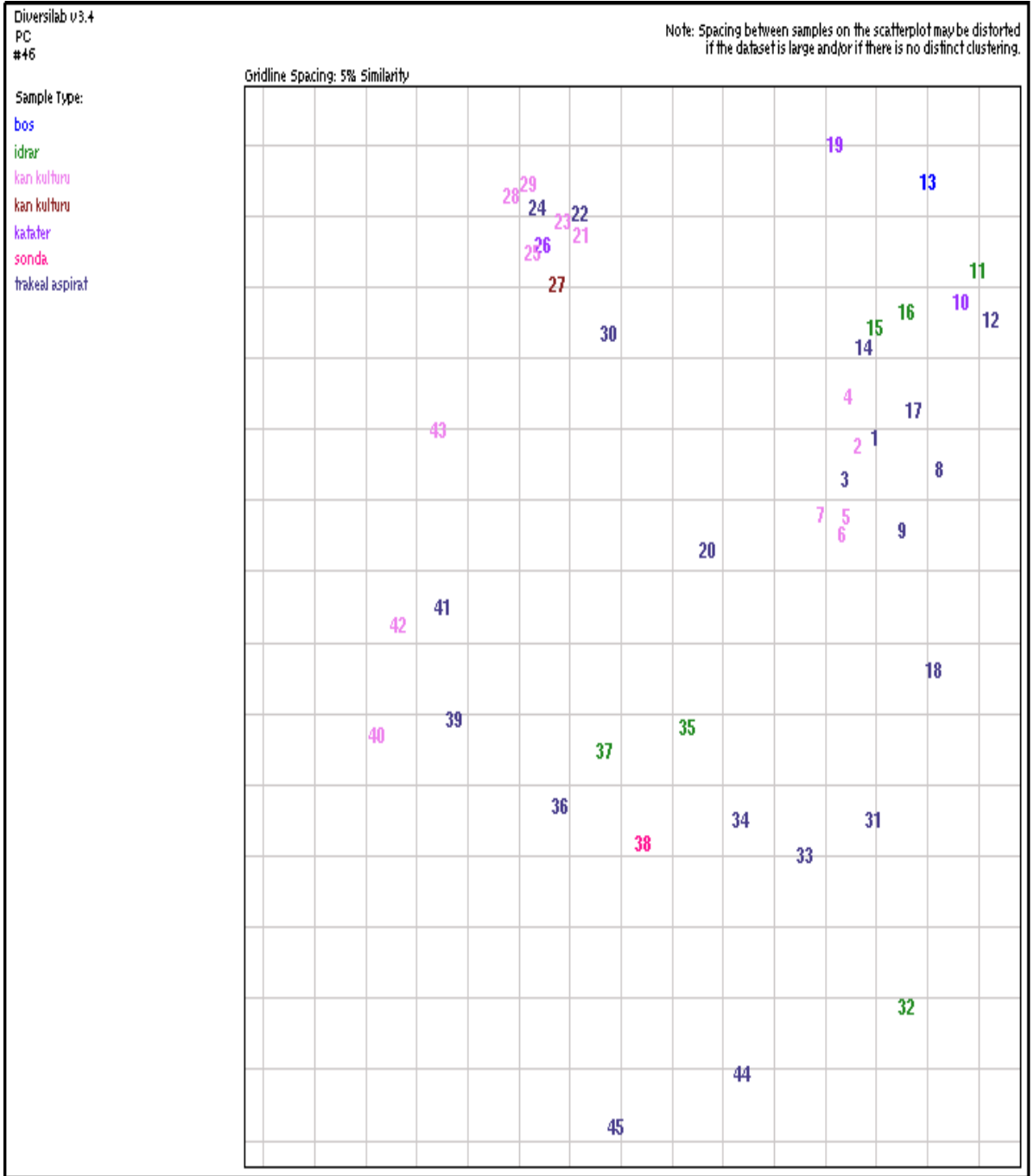


Şekil 1. *A. baumannii*'nin aynı hastaların farklı numulerindeki ilişkisini gösteren dendrogram

Diversilab v3.4
PC
#46



Şekil 2. *A. baumannii*'nin aynı hastaların farklı numunelerindeki ilişkisini gösteren benzerlik matrisi



Bos: mavi renk, idrar: yeşil renk, kan kültürü: açık pembe ve kırmızı renk, katater: lila renk, trakeal aspirat: mor renk ile gösterilmektedir.

Şekil 3. *A. baumannii*'nin aynı hastaların farklı numunelerindeki ilişkisini gösteren noktalama grafiği

Bilgisayar software'inden elde edilen veriler, Tablo 10' da hastalar ve örnekleri karşılaştırılarak gösterilmiştir. Tabloda parantez içerisinde belirtilen ifade, Şekil 1, 2, 3'deki hasta numaralarını içermektedir.

Tablo 10. Aynı hastaların farklı numulerindeki ilişkinin karşılatırılması

	Trakeal aspirat (a)	Kan kültürü (b)	İdrar (c)	Katater (d)	Sonda (e)	BOS (f)	İki suş arası Benzerlik	Diğer Suşlarla Benzerlik
1.hasta	+			+(10.hasta)			Benzerlik saptanmadı	1a-2b, 3a, 4b ile aynı suş 1d-11c, 16c ile aynı suş
2.hasta		+	+(37.hasta)				Benzerlik saptanmadı	2b-1a, 3a,4b ile aynı suş 2c ile 27a aynı suş
3.hasta	+	+(23.hasta)					Benzerlik saptanmadı	3a-5b, 7b ile aynı suş
4.hasta	+(30.hasta)	+					Benzerlik saptanmadı	4b-1a, 2b ile aynı suş 4a ile benzerlik saptanmadı
5.hasta	+(45.hasta)	+					Benzerlik saptanmadı	5b-6b, 7b ile aynı suş 5a ile benzerlik saptanmadı
6.hasta	+(41.hasta)	+					Benzerlik saptanmadı	6b-5b, 7b ile aynı suş 6a ile 31b ile aynı suş

	Trakeal aspirat (a)	Kan kültürü (b)	İdrar (c)	Katater (d)	Sonda (e)	BOS (f)	İki suş arası Benzerlik	Diğer Suşlarla Benzerlik
7.hasta	+	+		+			Benzerlik saptanmadı	7b-3a,5b, 6b ile aynı suş 7a ile benzerlik saptanmadı 7d-21b,21a,3b,24a, 16b,27b,28b, 29b ile aynı suş
8.hasta	+		+				Benzerlik saptanmadı	Benzerlik saptanmadı
9.hasta	+		+				Benzerlik saptanmadı	Benzerlik saptanmadı
11.hasta	+		+				Benzerlik saptanmadı	11c-12a ile aynı suş 11a ile benzerlik saptanmadı
12.hasta	+	+					Benzerlik saptanmadı	12a-11c ile aynı suş 12b ile benzerlik saptanmadı
13.hasta	+					+	Benzerlik saptanmadı	Benzerlik saptanmadı
14.hasta	+	+						14a-15c ve 16c ile aynı suş 14b ile benzerlik saptanmadı
15.hasta			+	+			Benzerlik saptanmadı	15c-14a, 16c ile aynı suş 15d ile benzerlik saptanmadı

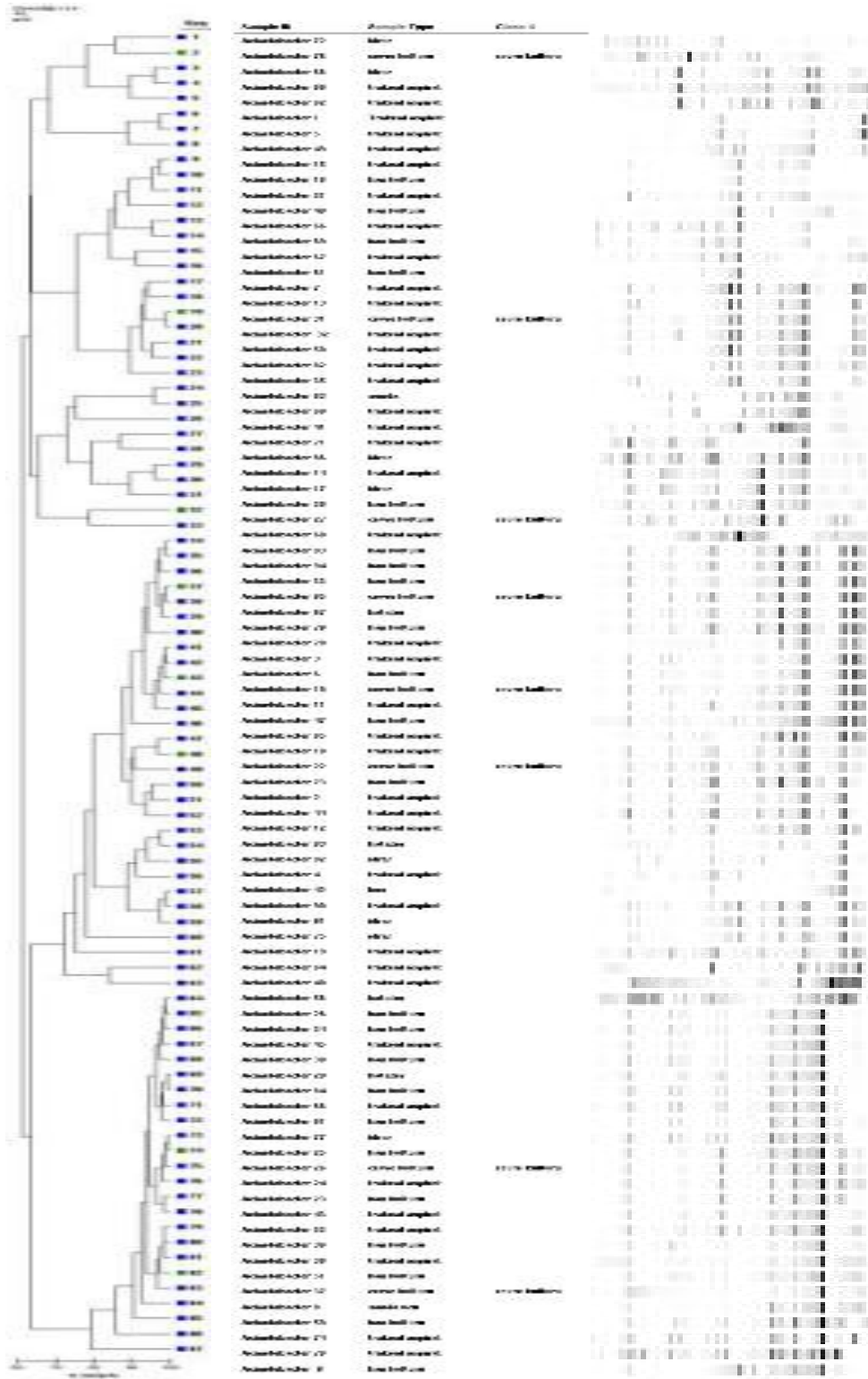
	Trakeal aspirat (a)	Kan kültürü (b)	İdrar (c)	Katater (d)	Sonda (e)	BOS (f)	İki suş arası Benzerlik	Diğer Suşlarla Benzerlik
16.hasta		+	+				Benzerlik saptanmadı	16c-14a,15c ile aynı suş 16b,3b,24a,7d,27b,2 8b, 29b ile aynı suş
20.hasta	+	+					Benzerlik saptanmadı	Benzerlik saptanmadı
21.hasta	+	+					Aynı suş	21b-21a, 3b,24a,7d,27b ile aynı suş 21a-21b,3b,24a,7d ve29 b ile aynı suş
24.hasta	+				+		Benzerlik saptanmadı	24a- 21b, 21 a, 3b, 16b, 7d, 28b, 29b ile aynı suş 24e ile benzerlik saptanmadı
27.hasta	+	+					Benzerlik saptanmadı	27b-21b, 3b,16b, 7d ile aynı suş 27a ile 2c aynı suş
28.hasta	+	+					Benzerlik saptanmadı	28b-24a, 16b,7d, 29b ile aynı suş 28a ile benzerlik saptanmadı
29.hasta	+	+					Benzerlik saptanmadı	29b-21a, 24a,16b, 28b ile aynı suş 29a ile benzerlik saptanmadı

	Trakeal aspirat (a)	Kan kültürü (b)	İdrar (c)	Katater (d)	Sonda (e)	BOS (f)	İki suş arası Benzerlik	Diğer Suşlarla Benzerlik
31.hasta	+	+(42.hasta)					Benzerlik saptanmadı	31 a ile benzerlik saptanmadı 31b ile 6a aynı suş
39.hasta	+	+(43.hasta)					Benzerlik saptanmadı	Benzerlik saptanmadı

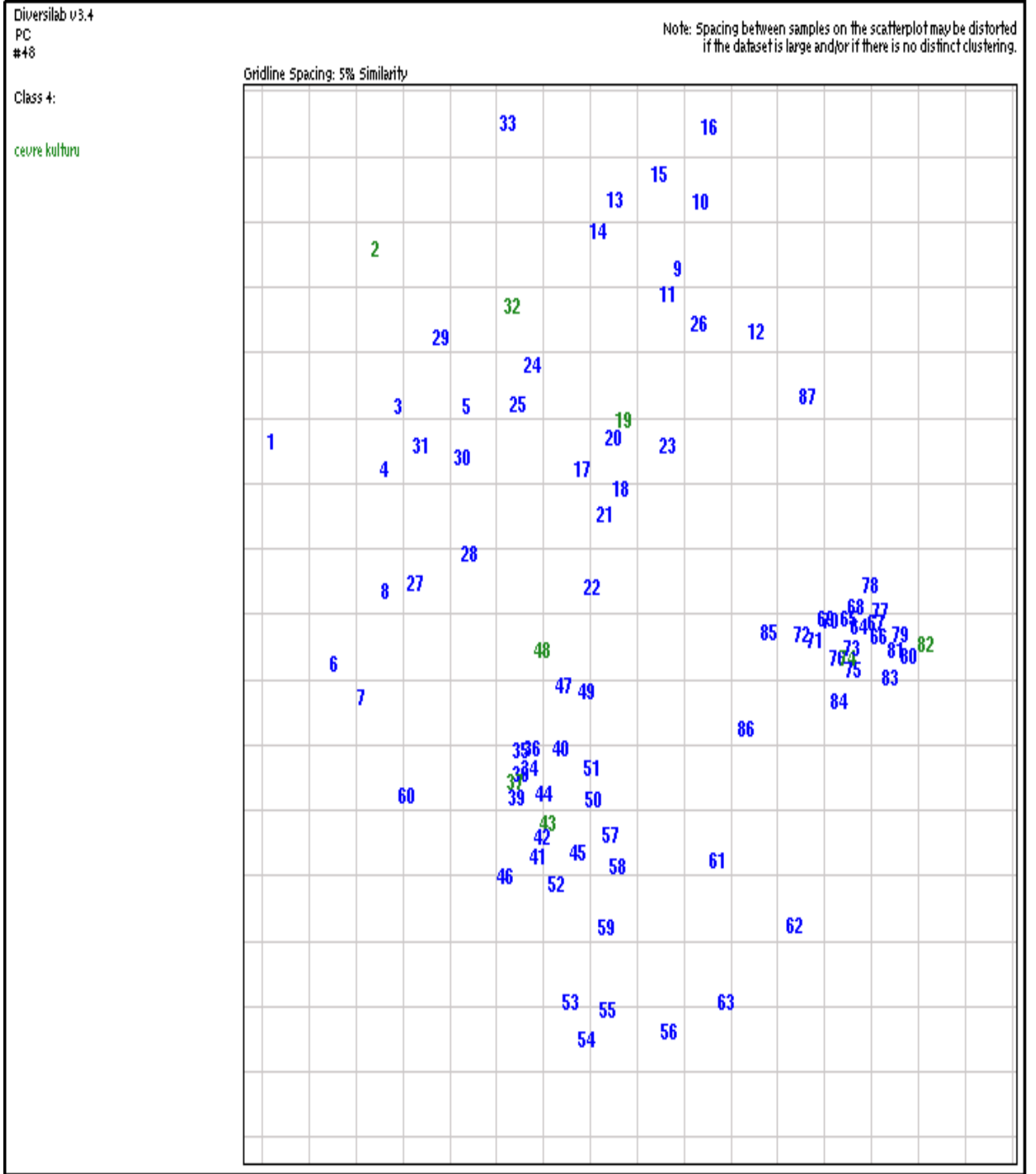
21. hastanın örnekleri kan ve trakeal aspiratdır ve bandlardaki benzerlik oranı ($\geq 95\%$) aynı klon olduğunu göstermektedir.

Diğer hastaların farklı numuneleri arasında pek benzerlik bulunamadı.

Numunelerin kendi aralarında gruplandırma yapacak olursak kan kültürlerinde 2b-4b (1. klon), 5b, 6b, 7b (2. klon), 3b, 16b, 21b, 27b, 28b, 29b (3.klon) şeklinde bulundu. Trakeal aspirat örneğinde 21a ile 24a aynı klon, 1a ile 3a'nın aynı klon diğerlerinin ise birbirinden farklı olduğu bulundu. İdrar örneğinde ise 15c ve 16c aynı nokta üzerinde bulundu. Katater, sonda ve BOS'a ait izolatlarda ise bir benzerlik saptanmadı.



Şekil 4. *A. baumannii*'nin izole edildiği örnek ve çevre kültürleri arasındaki ilişkiyi gösteren dendogram



Hasta örnekleri: mavi renk, çevre örnekleri: yeşil renk ile gösterilmektedir.

Şekil 5. *A. baumannii*'nin izole edildiği örnek ve çevre kültürleri arasındaki ilişkiyi gösteren noktalama grafiği

Çalışmamızda elde ettiğimiz bu noktalama grafiğine baktığımızda yeşil renkli rakamlar çevre izolatlarını, mavi renkli olanlar hastaların çeşitli numunelerindeki izolatları göstermektedir.

Bilgisayar yazılımı, 50 hastanın üzerindeki çalışmalarda, benzerlik matrisini tek bir sayfaya sığdıramadığından, çıktı olarak alınamamış, bilgisayar ekranından değerlendirme yapılmıştır.

Bilgisayar software'inden elde edilen veriler, Tablo 11' de hastalar ve çevre örnekleri karşılaştırılarak gösterilmiştir. Tabloda belirtilen sayılar, Şekil 4 ve 5'daki hasta numaralarını içermektedir.

Tablo 11. Hastalar ve çevre örneklerinin karşılaştırılması

Çevre kültürü	Benzerlik
2 (musluk)	Benzerlik saptanmadı
19 (personel forması)	17,18, 20, 21
32 (personel forması)	24, 25
37 (ventilatör ekranı)	34, 35, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44
43 (perde)	34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 46
48 (çöp kutusu dış kapak)	47, 49
74 (klavye)	64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83
82 (yatak)	64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 74, 75, 76, 77, 79, 80, 81, 83

Çevre izolatlarına baktığımızda farklı odalardaki **37. (ventilatör)** ve **43. (perde)**'ün birbiriyle ilişkili olup hastalara ait 34. (kan), 35. (kan), 36. (kan), 38. (katater), 39. (kan), 40 (trakeal aspirat), 41. (trakeal aspirat), 42. (kan), 44. (trakeal aspirat), 46. (trakeal aspirat) örnekleri olup ve bu örneklerin hepsi farklı hastalara ait olup birbirleriyle ilişkilendirildi.

74. (klavye) ve **82. (yatak)** benzerlik gösterip, bunlarda 64. (kan), 65. (kan), 66. (trakeal aspirat), 67. (kan), 68. (katater), 69. (kan), 70. (trakeal aspirat), 73. (kan), 75. (trakeal aspirat), 76. (kan), 77. (trakeal aspirat), 78. (trakeal aspirat), 79. (kan), 80. (trakeal aspirat),

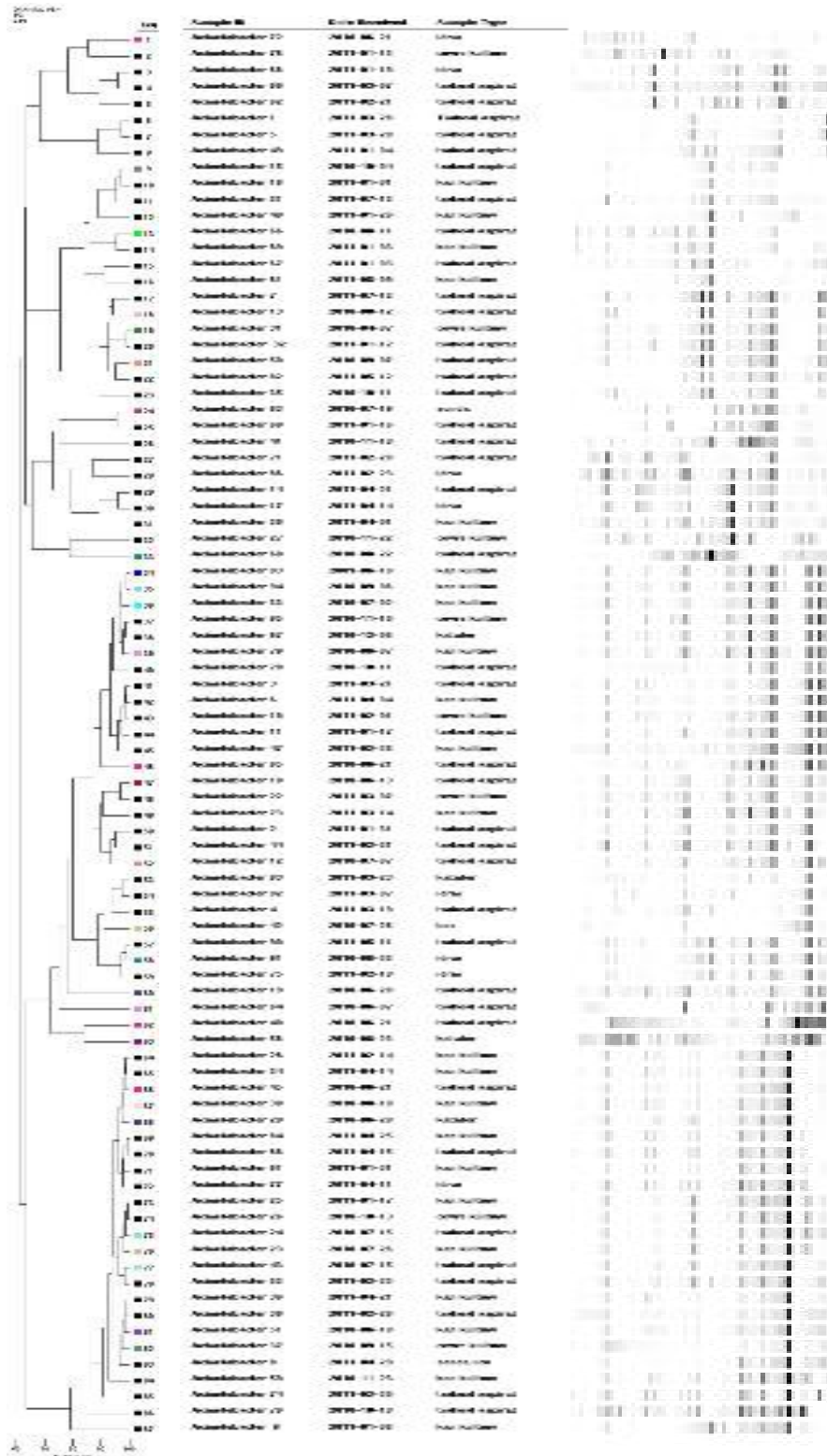
81. (kan), 83. (sonda) hasta örnekleri ile benzerlik saptandı. Bu grubun içerisinde de 75. ve 76. izolatlar aynı hastaya ait olup diğer örnekler farklı hastalara aitti.

19. (personel forması), 17. (trakeal aspirat), 18. (trakeal aspirat), 20. (trakeal aspirat), 21. (trakeal aspirat) hepsi aynı örnek olup benzerlik saptandı.

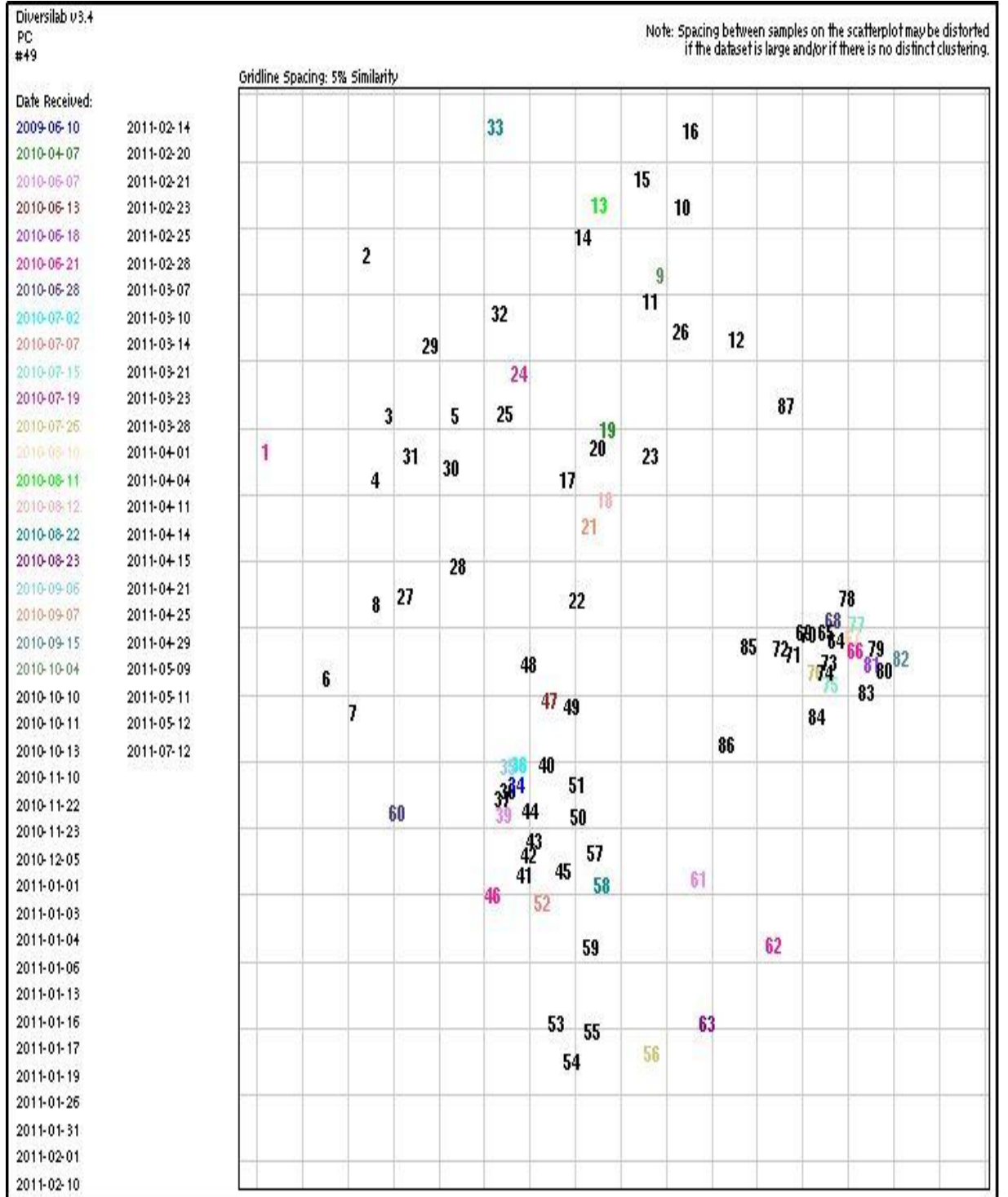
32. (personel forması), 24. (sonda) ile 25. (trakeal aspirat) benzerlik saptandı.

48. (çöp kutusu dış kapak), 47. (trakeal aspirat) ve 49. (kan) benzerlik saptandı.

2. (musluk) hiçbir örnekle benzerlik bulunamadı.



Şekil 6. *A. baumannii*'nin izole edildiği tarih-örnek ilişkisini gösteren dendrogram



Şekil 7. *A. baumannii*'nin izole edildiği tarih-örnek ilişkisini gösteren noktalama grafiği

Bilgisayar software'inden elde edilen veriler, Tablo 12' de hastaların, çevre örneklerinin tarih ilişkisi karşılaştırılarak gösterilmiştir. Tabloda belirtilen sayılar, Şekil 6 ve 7'deki hasta numaralarını içermektedir

Tablo 12. Hastaların ve çevre örneklerinin tarih ilişkisinin karşılaştırılması

	Saptanan suş sayısı	Saptanan çevre kültürü	Benzerlik
Ocak 2010-Nisan 2010	8 (1, 13, 18, 24, 33, 34, 36, 39)	1 (19)	18-19 aynı suş 33-34-36-39 aynı suş
Mayıs 2010- Ağustos 2010	16 (46, 47, 52, 56, 58, 60, 61, 62, 63, 66, 67, 68, 75, 76, 77, 81)	Suş saptanmadı	66-67-68-75-76-77-81 aynı suş
Eylül 2010-Aralık 2010	9 (9, 21, 23, 26, 35, 38, 40, 84, 86)	4 (32, 37, 74, 82)	35-37-38-40 aynı suş 74-82 aynı suş
Ocak 2011-Mart 2011	31 (3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 15, 20, 25, 27, 28, 41, 44, 45, 49, 50, 51, 53, 54, 55, 59, 64, 71, 73, 78, 80, 85, 87)	3 (2, 43, 48)	3-4 aynı suş 6-7 aynı suş 8-27 aynı suş 10-15 aynı suş 50-51 aynı suş 41-43-44-45 aynı suş 64-71-73-78-80 aynı suş
Nisan 2011-Haziran 2011	15 (11, 16, 17, 22, 29, 30, 31, 42, 57, 65, 69, 70, 72, 79, 83)	Suş saptanmadı	17-22 aynı suş, 30-31 aynı suş, 65-69-70-72-79-83 aynı suş

2- Musluk, 19-Personel forması, 32-Personel forması, 37-ventilatör ekranı, 74-Klavye, 82-Yatak, 43-Perde, 48-Çöp kutus dış kapak

2010'nun Ocak-Nisan aylarına ait olan suşlardan 19. (çevre kültürü) ile 18. (trakeal aspirat) ilişkili bulundu. 33. (trakeal aspirat), 34. (kan), 36. (kan), 39. (kan) örnekleri olup aralarında benzerlik bulundu.

2010'nun Mayıs-Ağustos aylarında çevre kültüründen izolasyon saptanmadı. 66. (trakeal aspirat), 67. (kan), 68. (katater), 75. (trakeal aspirat), 76. (kan), 77. (trakeal aspirat), 81. (kan) örnekleri 75 ile 76 aynı hastalar olup aralarında benzerlik bulundu.

2010'nun Eylül-Aralık aylarına ait 35. (kan), 37. (çevre kültürü), 38. (katater), 40. (trakeal aspirat) benzerlik saptandı. 74 ile 82 çevre kültürleri olup benzerlik saptandı.

2011'in Ocak-Mart aylarına baktığımızda 7 (3-4, 6-7, 8-27, 10-15, 50-51, 41-43-44-45, 64-71-73-78-80) farklı klon olduğu düşünülen suşlar tanımlandı. Bu zamanda saptanan çevre kültürleri birbiri ile ilişkili bulunmadı.

2011'in Nisan-Haziran aylarına ait 11-17-22-29-57-70 trakeal aspirat, 30. ve 72. idrar, 16-31-42-65-69-79 kan, 83 sonda örneği olup 30 ile 31, 17 ile 22-65-69-70-72-79-83 arasında benzerlik saptandı. Bu numuneler farklı hastalara aitti.

5. TARTIŞMA

Hastane infeksiyonları hastanede kalış süresini uzatarak, mortalite ve morbidite oranlarını arttıran ve tedavi maliyetlerini yükselterek ekonomik kayıplara yol açan önemli bir sağlık problemidir (101). Amerika’da her yıl 88 000 hastanın ölümüne yol açan 2 milyon hastane kaynaklı infeksiyon oluşmakta ve 4.5 milyar dolarlık ekonomik kayba neden olmaktadır (82). Hasta başına ortalama maliyet artışı 1800 dolar (1000-4500 dolar) kadardır (102). Khan ve ark. (103), tarafından 1995 yılında hastane infeksiyonlarının Türkiye’ye maliyetinin 48 milyon dolar olduğu rapor edilmiştir. Kayıpların en önemli nedenlerinden biri hastane infeksiyonlarının hastanede kalış süresini 4-33.5 gün kadar uzatmalarıdır. Hastanede kalış süresinin uzaması hematolojik, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve radyolojik testler ile cerrahi girişimlerin artmasına neden olmaktadır (102). Hastane infeksiyonlarının oluşum oranı yaklaşık %5-10 arasında değişmekte ve YBÜ’leri, diğer bölümlere göre daha yüksek sıklıkla ortaya çıktıkları yerler olarak tanımlanmaktadır (63).

Özlü (104)’nün yaptığı bir çalışmada, hastane infeksiyonu etkeni olarak saptanan mikroorganizmalar arasında *S. aureus* %17.7 (82/432) ve *P. aeruginosa* %14.5 (67/432) oranıyla ilk iki sırada yer alırken *Acinetobacter* türleri %12.9 (60/432) oranıyla üçüncü sırada yer almıştır. Tüm Gram negatif hastane infeksiyon etkenleri içinde ise *Acinetobacter*’ler %25.8’lik (60/232) oran ile ikinci sırada yer almaktadır. Bizim hastanede DYBÜ’de 2010 yılına ait infeksiyon etkeni olarak saptanan mikroorganizmalar arasında *A. baumannii* %29 (54/186) olarak ilk sırada, *P. aeruginosa* %17.7 (33/186) olarak ikinci sırada yer almıştır. 2011 yılının Ocak-Haziran aylarına ait *A. baumannii* %26 (21/79), *P. aeruginosa* %15 (12/79) olarak saptanmıştır. (Hastanemiz İnfeksiyon Kontrol Komitesi verilerinden alınmıştır).

Hastane infeksiyonu etkeni olarak önemleri her geçen gün artan *Acinetobacter* kökenleri, doğada toprak ve sularda yaygın olarak bulunan fırsatçı patojenlerdir (105). *A. baumannii* hastalardan ve hastane çevresinden en sık izole edilen *Acinetobacter* türü olarak bildirilmektedir. Kuruluğa tolerans ve çoklu ilaç direnci *A. baumannii*’nin hastane salgını oluşturmaya katkıda bulunmaktadır (14). Hasta servislerindeki kuru cansız yüzeylerde olduğu gibi hem hastaların hem de hastane çalışanlarının derisi *A. baumannii* ile kolonize

olmaktadır ve uzun süreli hastane infeksiyonu salgınlarında tanımlanamayan rezervuar olarak hizmet etmektedir (14). Bu özellikleriyle *A. baumannii* hastaneye yatan, özellikle de YBÜ’ de kalan, solunum desteği gerektiren, immün sistemi yetersiz olan, uzun süre antibiyotik tedavisi alan, invaziv alet uygulaması olan, cerrahi müdahale geçiren hastalar ve kanser hastalarında önemli bir hastane infeksiyonu etkeni olarak dikkati çekmektedir (106). *Acinetobacter* kökenlerinin, yoğun bakım, anestezi ve reanimasyon ile diğer cerrahi kliniklerde daha sık hastane infeksiyonu etkeni olarak karşımıza çıkmasının nedeni, bu kliniklerde kritik hastaların olması ve bu hastalara uygulanan mekanik ventilasyon, trakeostomi, entübasyon, damar içi kateterizasyon ve üriner kateter gibi invaziv girişimlerin daha sık olması ile ilişkilendirilmiştir (107).

NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance System) verileri *Acinetobacter* türleri ile gelişen hastane infeksiyonu insidansında önemli artış olduğunu göstermektedir. Buna göre 1975’te Gram negatif hastane infeksiyonlarının %1.4’ünü *Acinetobacter* türleri oluştururken 2003’te bu oran %6.2’ye çıkmıştır (92). Avrupa’da YBÜ’lerde hastane infeksiyonu prevalansını belirlemek üzere 1995 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada (European Prevalence of Infection in Intensive Care, EPIC) ise *Acinetobacter spp.* yedinci sırada yer almaktadır (106).

Ülkemizde yedi üniversite ve bir eğitim hastanesinin YBÜ’lerinde ardışık yıllarda yapılmış çok merkezli iki çalışmada hastalardan izole edilen Gram negatif bakteriler arasında *Acinetobacter* türlerinin 1999’da (%10.7) dördüncü (108), 2000 yılında ise (%21.9) ikinci sırada yer aldığı görülmektedir (109). Hastanemiz İnfeksiyon Kontrol Komitesi’nin sürveyans verilerine göre; *A. baumannii*’nin hastane infeksiyonu oluşturma sıklığı 2010 yılı içinde %29 olup, tüm etkenler arasında birinci sırada yer almaktadır. Erbay ve ark.’nın (110), bir eğitim hastanesinde YBÜ’lerde yaptığı sürveyans çalışmasında ise infeksiyon etkenleri arasında *Acinetobacter spp.* ilk sırada yer alırken; Öncü ve ark.’nın (111), bir üniversite hastanesinde yaptıkları çalışmada tüm hastane infeksiyonları arasında %7 (11/147) oranıyla yedinci sırada yer almaktadır. Hastanemizde saptanan oranların ilk üç çalışma ile uyumlu olduğu görülmektedir. Öncü ve ark.’nın (111), yaptığı çalışmada saptanan oranlara göre daha yüksek olması hastanemizde çoğunlukla çevre hastanelerden sevk edilen, genel durumu kötü ve yoğun bakım gereksinimi olan hastaların izlenmesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Özgür Akın'ın yaptığı çalışmada, izole edilen *Acinetobacter* kökenlerinin (n:200), 110'u (%55) YBÜ'de yatmakta olan hastalardan soyutlanmıştır (107).

Son on yıl süresince çoklu dirençli *A. baumannii* nedeniyle oluşan hastane infeksiyonları bildirilmiştir. Bu infeksiyonlar sıklıkla hastane ekipmanının kontaminasyonu veya hastane çalışanlarının kolonize elleriyle ve çapraz geçiş ile ilişkili bulunmuştur (112). Kontamine tıbbi ekipman; ventilatör tüpü, solunum cihazı ve arteriyel basınç ölçme cihazı hastaya geçiş yolu olarak kabul edilmiştir. Ek olarak yataklardaki pikeler, yastıklar, kasetçalar, televizyon, perdeler, fan gibi değişik çevresel kaynakların *A. baumannii* ile kontamine olup salgın boyunca rezervuar görevi gördüğü bildirilmiştir (14).

Allen ve Gren adlı araştırmacılar ise ilk kez bir geçiş yolu olarak havadan yayılım bildirmişlerdir (113). Çalışmamızda YBÜ'de yapılan çevre taramasında perde, çöp kutusu, personel forma yüzeyleri, yatak, klavye, musluk, ventilatör cihazının dış yüzeylerinden *A. baumannii* suşu izole edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş ortalaması 50'nin üzerinde olarak bulunurken, çoğunluğu (%66) erkekler oluşturmıştır.

Acinetobacter'lerin son 30 yılda pnömoni, idrar yolu infeksiyonu ve cerrahi yara infeksiyonlarında görülme sıklığı artan tek Gram negatif bakteri oldukları ve ventilatörle ilişkili pnömoni ile kateterle ilişkili kan dolaşımı infeksiyonlarının en sık nedeni haline geldikleri gösterilmiştir (113). Ülkemizde YBÜ'lerde ventilatörle ilişkili pnömoni %18.9 oranında gelişmekte ve bunların %29.2'si *Acinetobacter* kökenleriyle meydana gelmektedir (113). Allen ve ark.'nın (113), yaptığı çok merkezli bir çalışmada *Acinetobacter* kökenlerinin Türkiye'de kateterle ilişkili kan dolaşımı infeksiyonlarının da en sık (%23.2) nedeni oldukları tespit edilmiştir. Bakteriyemilerde en sık izole edilen *Acinetobacter* türü *A. baumannii*'dir ve en önemli kaynakları intravenöz ve solunum yolu kateterleridir (114). Cerrahi yara, yanık ve idrar yolu infeksiyonları bakteriyeminin daha az sıklıkla karşılaşılan kaynaklarıdır (78).

Acinetobacter suşlarının izole edildiği örneklerin dağılımı çeşitli çalışmalarda farklılıklar göstermektedir. Çolpan ve ark.'nın (115), Ankara'da yaptıkları çalışmada örneklerin %36.1'i trakeal aspirat, %25'i kan, %22.2'si idrar, %8.3'u dekubitis yara yeri, %8.3'u ise cerrahi yara; Düzce'de Yavuz ve ark.'nın (116) çalışmasında örneklerin %27'si trakeal

aspirat, %21'i idrar, %16'sı balgam, %13'ü yara yeri materyali, %8'i kan; Palabıyıkoglu ve ark.'nın (117) çalışmasında örneklerin %38'i trakeal aspirat, %28'i kan, %20'si yara yeri materyali, %12'si idrar; Erol ve ark.'nın (118), çalışmasında örneklerin %28'i trakeal aspirat, %12'si kan, %47'si yara, %10'u idrar; Baştürk ve ark.'nın (119), çalışmasında örneklerin %50'si trakeal aspirat, %46'sı kan, %0.5'i yara; Gülhan ve ark.'nın (120), çalışmasında ise örneklerin %3'ü trakeal aspirat, %20'si kan, %40'ı yara ve %24'ü idrar olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda *A. baumannii*'nin izole edildiği 92 örneğin 48'i (%52) trakeal aspirat, 26'sı (%28) kan, 9'u (%10) idrar, 6'sı (%6) kateter, 2'si (%2) sonda ucu ve 1'i (%1) BOS örneği olarak bulunmuştur. Bu konudaki literatürü incelediğimizde ülkemizde yapılan çalışmalarda, bu çalışmada olduğu gibi, etkenlerin büyük çoğunluğu solunum sistemine ait örneklerden izole edilmiştir (Tablo 13) (107). *Acinetobacter* türleri sıklıkla YBÜ'deki mekanik ventilatörlü hastalarda solunum sistemi infeksiyonlarına yol açmaktadır. Bu çalışmada *A. baumannii*'nin yüksek oranda trakeal aspirattan izole edilmesinin ventilatör ekipmanlarındaki kolonizasyona bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Tablo 13. Türkiye'de yapılmış olan çeşitli çalışmalarda *Acinetobacter* türlerinin izole edildiği örneklerin dağılımı (107)

Çalışma	Yıl	Toplam	Trakeal aspirat %	Kan %	Yara	İdrar	Diğer
Palabıyıkoglu ve ark. (117)	1999	50	38	28	20	12	2
Erol ve ark. (118)	2002	60	28	12	47	10	5
Yavuz ve ark. (116)	2004	114	27	8	13	21	30.7
Çalışma	Yıl	Toplam	Trakeal aspirat %	Kan %	Yara	İdrar	Diğer

Baştürk ve ark. (119)	2005	22	50	46	0.5	-	-
Gülhan ve ark. (120)	2006	205	3	20	40	24	13.6
Çolpan ve ark. (115)	2007	120	15.8	21.7	45	17.5	-
Bu çalışma	2011	92	52	28	-	6	14

A. baumannii'nin antimikrobiyal duyarlılık oranları farklılıklar göstermektedir. ABD'de yapılan bir çalışmada duyarlılık oranları imipenem için %24, seftazidim için %8, amikasin için %13, siprofloksasin için %7, tobramisin için %15, gentamisin için %32, sulbaktam ampicilin için %28 bulunmuştur (121). Ülkemizde Çaylan ve ark.'nın (122), yaptığı çalışmada *Acinetobacter* türlerinde ilaç duyarlılıklarının her geçen yıl azaldığı görülmektedir. 1995-2002 yılları arasında imipenem duyarlılığının %92'den %62'ye, siprofloksasin duyarlılığının %45'ten %25'e düştüğü tespit edilmiştir. Aksaray ve ark.'nın (109), 2000 yılında yaptıkları çalışmada imipenem %55.5 duyarlılık oranı ile en duyarlı antimikrobiyal olurken; amikasin %34.8 ile ikinci sırada yer almaktadır. Hacettepe Üniversitesi'nde 2000-2004 yılları arasında yapılan MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) antimikrobiyal süveyans programı dahilindeki çalışma sonuçlarına göre meropenem (%53), imipenem (%48) ve tobramisin (%44) duyarlılık oranları ile en duyarlı antibiyotikler olarak görülmektedir (123).

Çalışmamızda, antimikrobiyal duyarlılık oranları kolistin için %99, tobramisin için %94, tigesiklin için %93, amikasin için %40.2, gentamisin için %22 olarak tespit edilmiştir.

Diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında imipenem ve meropenem direnç oranlarımızın daha yüksek olduğu görülmektedir. Bizim hastanemizde 2004 yılında Karslıgil ve ark.'nın (124), yaptığı bir çalışmada *Acinetobacter* suşlarının imipenem direnci %9.6 oranında, 2009 yılında Özgür Akın'ın (107), yaptığı çalışmada %53.5 oranında, bizim çalışmamızda ise %98 oranında bulunarak oldukça yüksek bir artış saptanmıştır. Bunların dışında ülkemizde ve dünya genelinde yapılmış, *A. baumannii*'nin karbapenem direnciyle ilgili bir çok çalışma vardır. Bunlardan imipenem ve meropeneme sırasıyla, Yu ve ark. (125), %100 ve %100, Mezzatesta ve ark. (126), %50 ve %59, Rao ve ark. (127), imipeneme %100

oranında direnç bildirmişlerdir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise Gazi ve ark. (128), imipenem ve meropeneme sırasıyla %62.2 ve %55.9, Ardiç ve ark. (13), %77 ve %74, Toraman ve ark. (129), %74 ve %68 oranında duyarlılık bildirmişlerdir.

2000–2002 yılları arasında Jones ve ark.'nın (130), yaptığı bir çalışmada ise *Acinetobacter*ler için ABD’ de gentamisine karşı direnç %47, Kanada’da %23, İtalya’da %72, Almanya’da %14 ve Fransa’da ise %43.5 olarak bulunmuştur. Bu çalışma, antibiyotik direnci sörveyans çalışmalarının ÷lke bazında da yapılması gerekliliğini en iyi biçimde ortaya koymaktadır. Ülkemizde Erben ve ark. (131), amikasin için %86, tobramisin için %58 ve gentamisin için %96 oranında direnç saptamışlardır. Gazi ve ark. (128), yaptıkları çalışmada 2000 yılında amikasin %20.7, gentamisine %74.1, netilmisine %20.7 oranında buldukları direnci, 2004’te sırasıyla %47.7, %90.1, %62.2 oranlarında ve artmış olarak tespit etmişlerdir. Bilgin ve ark. (132), amikasin ve gentamisine %68 oranında direnç tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda amikasin %49, gentamisin için %56 oranında bulunmuştur.

Ülkemizden ve dünyadan veriler ışığında çoğul dirençli bakterilerde alternatif tedavi seçeneklerinin kısıtlı olduğu gör÷lmektedir. Çoklu ilaç dirençli Gram negatif bakterilerin ortaya çıkışı ve onlarla mücadele için yeni antibiyotiklerin olmayışı, polimiksinlerin yeniden kullanıma girmesine yol açmıştır. Polimiksin B ve polimiksin E (kolistin) klinik uygulamada en çok kullanılan polimiksin türevleridir. Polimiksinler, *Acinetobacter* türleri, *P. aeruginosa*, *Klebsiella* ve *Enterobacter* türleri dahil birçok Gram negatif bakteriye karşı etkilidir. Yıllardır dünyada yaygın olarak kullanılmakla birlikte, ciddi ve sık nefrotoksik-nörotoksik etkileri nedeniyle parenteral kullanımları yaklaşık 20 yıl önce çoğu ÷lkede kistik fibrozlu hastaların tedavisi haricinde terkedilmiştir. *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* ile oluşan pnömoni, bakteriyemi ve üriner sistem infeksiyonları dahil ciddi infeksiyonu olan hastaların tedavisinde polimiksin verilmesine ilişkin yeni çalışmalar, bu antibiyotiklerin kabul edilebilir etkileri olduğu ve daha önce rapor edilenlere göre daha az toksik etki gör÷ldüğü kanısına yol açmaktadır (107).

Çoklu ilaç direncindeki artış nedeniyle *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde güçlük yaşanmaktadır. En sık beta-laktam antibiyotiklere, aminoglikozidlere ve florokinolonlara direnç gör÷lmektedir (112). Günümüzde karbapenemler tedavide tek seçenek olarak

kalmaktadır; ancak son yıllarda dünya üzerinde karbapenemlere daha az duyarlı veya dirençli *A. baumannii* suşları nedeniyle oluşan hastane infeksiyonları artmaktadır. Bu nedenle söz konusu dirençli organizmalara karşı çok az tedavi seçeneği kalmıştır (133). Özellikle çoklu dirençli suşlarla oluşan salgınları kontrol etmek zor olmaktadır (79).

Çoğul dirençli *A. baumannii* infeksiyonunun tedavisinde alternatif ilaç seçeneklerinden biri de minosiklin derivesi ve glisilsiklin grubundan bir antibiyotik olan tigesiklidir. Kolistini doza bağımlı nefrotoksitesisi ve bu ilaçla klinik deneyimlerin az olması tedavide tigesiklinin önemini arttırmaktadır. Tigesiklinin etkinliği 1997 yılından beri yapılan çok sayıda çalışmada araştırılmıştır. Geniş spektrumlu bu antibiyotiğin, çoklu ilaç direnci olan *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* suşları dahil, bir çok bakteriye etkili olduğu gözlenmiştir (134). Hawley ve ark. (135), 95 adet *A. baumannii* suşunun broth mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin, polimiksin ve tigesiklin duyarlılıklarını test etmişler, kolistin ve polimiksin için %99 oranında duyarlılık bulmuşlardır. Tigesiklin için standart bir değer olmadığını, ancak MİK90 değerinin 8µg/L olduğunu bildirmişlerdir.

Mikroorganizmaların üç veya üzerinde farklı antibiyotik gurubuna dirençli olmaları çoklu antibiyotik direnci olarak tanımlanmaktadır (136). Araştırmamız boyunca incelediğimiz *Acinetobacter* kökenlerinin tamamının antibiyotiklere çoğul dirençli olduğu belirlenmiştir. Antibiyotiklere çoğul dirençli bakterilerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde yaşanan güçlükler, hastane kaynaklı infeksiyonların gelişimini %30 gibi yüksek düzeylerde azaltan infeksiyon kontrol programlarının önemini her geçen gün arttırmaktadır (113).

Ülkemizde de 2004 yılında Sağlık Bakanlığınca yataklı tedavi kurumlarında infeksiyon kontrol komitelerinin oluşturulması zorunlu hale getirilmiştir. Bu kapsamda, bazı kritik birimlerde (YBÜ gibi) aktif, bazı birimlerde de pasif sürveyans uygulamaları yaygınlaşmıştır. Sürveyans sonucu saptanan antibiyotik duyarlılık sonuçları göz önüne alınarak etkenlerin benzerlikleri tahmin edilebilmektedir. Bununla birlikte fenotipik testlerin duyarlılığı düşüktür. Biz de çalışmamızda genotipik olarak hastalardan ve bulaş kaynağı olabilecek cansız yüzeylerden izole edilen *Acinetobacter* suşlarını karşılaştırıp, hem vertikal, hem de horizontal bulaş şeklini tanımlamaya çalıştık.

Epidemiyolojik sürveyans çalışmaları başarılı infeksiyon kontrol programlarının vazgeçilmez unsurlarıdır ve bu amaçla kullanılabilecek çok sayıda fenotipik ve genotipik

yöntem bulunmaktadır. (137). Ancak fenotipik yöntemlerle karşılaştırıldığında moleküler yöntemlerin ayırım gücü daha yüksektir ve birçok türe uygulanabilme avantajı sağlamaktadır (83).

Bir salgın durumunda *A. baumannii* izolatları arasında ayırımın uygun bir şekilde tanımlanması salgınının daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır. *Acinetobacter* türlerinin tiplendirmesi için kullanılan geleneksel teknikler sıklıkla fenotipik karakterlerinden temel almaktadır ve antibiyotipleme, biyotipleme, faj tipleme, bakteriyosin tipleme, serotipleme ve hücre duvar proteini tiplendirmesini içermektedir. Bu tekniklerin hiçbiri tüm suşların tiplendirilmesi için yeterli bulunmamaktadır (85). Plazmid profili, ribotipleme, kromozomal DNA'nın PFGE ile analizi ve daha geniş kapsamlı uygulanabilen moleküler biyolojik çoğaltma temelli yöntemler *A. baumannii* izolatlarını karakterize etmek için kullanılan farklı genotipik yöntemlerdir (85).

Tiplendirme çalışmalarında hedef, soyutlanmış ve genotiplendirilmiş olan kökenlerin epidemiyolojik olarak birbirleri ile ilişkili olup olmadıklarını ortaya koyup, ilişkili ise bu ilişkiyi derecelendirmektir (138).

RFLP yönteminde mikroorganizmaların yoğun kültürlerinden elde edilen veya moleküler yöntemlerle çoğaltılan kromozomal DNA, uygun restriksiyon enzimleri ile kesildikten sonra agaroz elektroforeziyle DNA parçalarının ayrıştırılması sağlanmaktadır. Yöntem, tekrarlanabilirliği yüksek, kolay, hızlı ve ucuzdur. Fakat RE kromozomal DNA'da çok sayıda kesim yapması sonucu oluşan fazla sayıdaki bantlarının değerlendirilmesinde sıkıntılar yaşanmaktadır (138).

rep-PCR tipleme yönteminde; çoğu bakterinin genomu boyunca dağılım gösteren tekrarlanan DNA dizilimlerine komplementer olan primerler kullanılarak tekrarlar arasında kalan DNA dizilimlerinin amplifikasyonu yapılmaktadır. Suşlar arasında tekrar elementlerinin sayısı ve lokalizasyon farkı moleküler tipleme için gerekli olan tipe özgü bant profilini oluşturmaktadır. rep-PCR; kültürden olduğu gibi direkt klinik örneklerden yapılan DNA ekstraksiyon ürünleriyle de çalışılabilir. Tekrarlanan elementlerin dizilimlerin ve kullanılacak primerlerin baz diziliminin bilinmesi zorunlu değildir. Sıklıkla tek bir primer seti kullanılarak Gram-negatif ve Gram-pozitif birçok bakteride tiplendirmeyi sağlayacak yeterlikte bant profili oluşturulmaktadır (139).

rep-PCR, RFLP gibi moleküler tiplendirme yoluyla suşlar arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmada en sık kullanılan PCR bazlı tiplendirme yöntemlerindendir. rep-PCR tiplendirme kolay uygulanabilmesi, çok sayıda izolat ile çalışılabilmesi ve ayırt ediciliğinin yüksek olması nedeniyle bakteriyel popülasyonların filogenetik yapıları ve taksonomik farklılıklarını belirlemede de kullanılabilmektedir (139).

Halen, *A. baumannii* için standart tiplendirme yönteminde fikirbirliğine varılamamıştır. Seifert ve Gerner-Smidt (140), adlı araştırmacılar 73 *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks izolatını ribotiplendirme ve PFGE ile karşılaştırmalı olarak analiz etmişler ve PFGE'yi ribotiplendirmeden daha ayırt edici bulmuşlardır. Seifert ve Gerner-Smidt diğer bir çalışmalarında ise ribotiplendirme ve PFGE'nin sonuçlarını birbirinin yerine geçebilir olarak saptamışlardır (140). *A. baumannii*'nin epidemiyolojik tiplendirmesi amacıyla PCR temelli yöntemler de yaygın olarak kullanılmaktadır. Tayvan'da salgın suşlarının incelendiği bir çalışmada *A. calcoaceticus* - *A. baumannii* kompleks tiplendirmesi için rep-PCR'ın ayırt etme yeteneği ERIC-PCR ve M13-PCR'dan daha iyi bulunmuştur (141). Bununla birlikte, M13, REP-1 ve REP-2 primerlerinin kombinasyonu ile multipleks PCR'ın en yüksek ayırım yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir. PCR ile tiplendirmenin bu türler için ayırt etme yeteneği ribotiplendirme ile benzer, fakat PFGE'den bir miktar az bulunmuştur. PFGE salgın suşları arasında PCR yaklaşımlarından daha çok minor mutasyon saptamaktadır. Bununla birlikte PCR basit ve hızlı olması nedeniyle klinik laboratuvarlarda kullanım için daha avantajlı ve uygun bir teknik olarak görülmektedir (141).

Bou ve ark.'nın (112), yaptıkları çalışmada rep-PCR ile PFGE arasında korelasyon saptanmış, rep-PCR, AP-PCR'dan daha yüksek ayırt ettirici olarak belirtilmiştir. rep-PCR; hızlı, kolay, yararlı ve sonuçları PFGE ile karşılaştırılabilir bir yöntem olarak görülmektedir. rep-PCR ve AP-PCR için bakteriler katı besiyerinde üretildikten sonra 10 saatten az bir süre yeterli iken, PFGE için bu sürenin en az 90 saate kadar uzadığı bildirilmektedir (112). Bizim çalışmamızda ise katı besiyerinde üreme olduğu andan itibaren 4 saat içerisinde sonuç alınabilmektedir.

Silbert ve ark.'nın (142), yaptıkları bir çalışmada ERIC-PCR, otomatize ribotiplendirme ve PFGE'yi karşılaştırılmış; ERIC-PCR'ın yorumlanması diğer ikisinden daha karmaşık ve

zor, ERIC-PCR ve ribotipleminin PFGE'den daha kısa zaman alan, otomatize ribotipleminin de diğerlerinden daha pahalı olduğu sonucuna varmışlardır.

Yeni çalışmalarda; rep-PCR'da yapılan modifikasyonlarla üretkenliğin ve ayırm gücünün arttığı rapor edilmiştir (143). Otomatik rep-PCR'a uygulanan kombine modifikasyonlarla rep-PCR'ın üretkenliği artmış, döngü zamanı, maliyet ve şablon gereksiniminin azaldığı bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada; rep-PCR ampikonlarının agaroz jel ile ayrılmasıyla laboratuvarlar arası yetersiz sonuçların ortaya çıktığını ve klinik açıdan hantal olduğunu rapor etmiştir (143). Mikroakışkan platformunun adaptasyonu ile profil çeşitliliğinin azaldığını, üretkenliğin arttığını, sürtünmenin azalması ile 6 saatten 1 saate düştüğü ve çalışan maliyetlerinin azaldığı bildirilmiştir. Agaroz jeldeki DNA profillerinin görsel yorumlanmasının hem zaman alıcı olduğu hemde kişiden kişiye değiştiği rapor edilmiştir. Bilgisayar yazılımı görüntüleri analiz edebilmektedir fakat görüntüler öncelikle yakalanmalı ve sisteme yüklenmelidir ve bu durumda kişiye bağımlılığının devam ettiği bildirilmektedir (143). DiversiLab yazılımı standart bir algoritma kullanır ve otomasyonun örnek analizi rapor da dahil olmak üzere 13 örnek için 4 saattir ki bu durum moleküler çalışmalar için uygun bir süredir. Genotipleri belirleme yöntemleri epidemiyolojik çalışmalarda ve parmak izleri kalıplarının karşılaştırılması en kritik noktadır. DNA konsantrasyonundaki değişimler özel bazı işlemler ve laboratuvar olanakları test sonuçlarını etkilememelidir. Bu çalışmada kullandığımız DiversiLab sistemi insan faktörünü en aza indirgeyen otomatize bir sistemdir (143).

DiversiLab sistemi döngü zamanının ve teknik personel zamanının önemli olduğu klinik laboratuvarlarda çok cazip bir sistemdir. rep-PCR çalışmasının en yoğun emek gerektiren kısmı DNA ekstraksiyonudur ve manuel DNA saflaştırma prosedürlerinin otomatik sistemlerle yapılması üzerinde araştırmalar sürmektedir (143). DiversiLab sisteminde bazı potansiyel sınırlamalar vardır. Şu anda önerilen DNA ekstraksiyon prosedürü teknik olarak basit olsa da emek açısından çok yoğunudur. Sistemde gelişmeye ihtiyaç olan kısım burasıdır. Her ne kadar kitler için pozitif ve negatif kontrol olsa da veri tabanında pozitifler için karşılaştırma yoktur. Örneğin saf kültür olması çok kritik bir noktadır. Örnek Chip içerisindeki mikroakışkan kuyucuklara doldurulurken hava kabarcıkları olması bir sorundur. Bu olduğunda test tekrarlanmalıdır. Bu durumda zaman kaybolmakta ve testin tekrarlanmasını gerektirmektedir. Diversilabın maliyet açısından mantıklı olması için 12

örnek ve 1 pozitif kontrol ya da kontrol yoksa 13 örnek test edilmelidir. Çünkü mikroakışkan Chip içerisinde 13 kuyucuk vardır ve örnek konulmayan kuyucuklar Jel matriksi bozulacağından tekrar çalışmaz (143).

YBÜ’de salgınları zamanında fark edebilmek için süveyans çalışmaları yapılmalı, hastalardan ve çevreden tarama kültürleri alınmalıdır. Ayrıca uygun sürede, antibiyogram sonucuna göre antibiyotik kullanımının yararı olacağı düşünülmektedir. Antibiyotik kullanımı kontrol alt komitesi hastanemizde kurulmalıdır. Böylece gereksiz ilaç kullanımının ve direnç gelişiminin önüne geçilebilir.

Van Dessel ve ark.’nın (144), yaptıkları bir salgın araştırmasında yaygın bir çevresel kaynak bulunmamasına rağmen değişik çevresel bölgelerde salgın suşu tespit edilmiştir. Bu bulgular el yıkama, temas izolasyonu önlemleri ve bir salgın süresince çevre dezenfeksiyonunun önemini desteklemektedir. Bununla birlikte bu çalışmada hastalar arası geçişin önlenmesinde bu önlemlerin yetersiz olduğu vurgulanmıştır. Sadece pozitif hastaların kohort yapılması, odaların günlük klorin ile dezenfeksiyonu ek önlemlerin uygulanmasından sonra ve tüm hastalar için temas izolasyonu uygulandığında salgının kontrol altına alınabildiği bildirilmiştir (144).

Kuru yüzeylerin ve hasta odalarındaki tıbbi ekipmanın uygun dezenfeksiyonu, el dezenfeksiyon protokolüne tam uyum ve antibiyotiklerin dikkatli kullanımı hastane kaynaklı etkenlerin geçişinin önlenmesinde çok önemlidir (14).

Rutin olarak çevre örneklerinin alınması ise önerilmemektedir. Ancak salgınlar sırasında çok önemli bilgiler sağlama ve salgın yapan mikroorganizmanın rezervuarının saptanması amacıyla mutlaka çevresel örnekleme yapılmalıdır. Terminal dezenfeksiyon ve öncesinde uygun temizlik aşaması bazı ünitelerde infeksiyon kontrolünde faydalı olmaktadır. Tüm bu önlemler ve yaklaşımlar ancak etkili el yıkama, izolasyon ve genel öneriler uygulanabilirse faydalı olabilecektir (145).

Çalışmamızda kullanılan rep-PCR ile hasta örnekleri ve muhtemel bulaş kaynağı olabilecek alanlar arasındaki benzerlikler araştırıldı.

Öncelikle aynı hastaların farklı anatomik lokalizasyonundan elde edilen *A. baumannii* suşları karşılaştırıldığında ilginç olarak incelenen 23 hastaya ait 47 örnekten birinde aynı suş olduğu, diğerlerinde benzerlik saptanmadığı görülmüştür. Bu durum

mikroorganizmaların farklı vücut bölgelerine yerleşme yeteneklerinin farklı olmasına ve farklı genotiplerin virulansının farklı olmasına bağlı olabilir.

Bununla birlikte tüm örnekler değerlendirildiğinde ve çevreden alınan örneklerle karşılaştırıldığında genotipik olarak benzer suşların birim içerisinde sirküle olduğu söylenebilir. Örneğin klavyeden (YBÜ ortak kullanım alanı) izole edilen *A. baumannii* suşunun 17 örnekle özdeş olduğu görülmüştür. Bu da infeksiyon kontrol önlemlerinin yeterince uygulanmadığını düşündürmektedir. YBÜ'ler sağlık çalışanlarının hızlı hareket etmek zorunda bulundukları yerler olduğundan hastadan hastaya veya hastadan diğer kullanım alanlarına geçerken, yeterince dikkat edilmediğini, hasta müdahaleleri ile çevrede oluşan aerosollerin *Acinetobacter* gibi dış ortam koşullarına dayanıklı bakterilerin bulaşında önemli olabileceği görülmektedir. YBÜ'lerde uygulanan infeksiyon kontrol prosedürleri multidisipliner bir yaklaşımla değerlendirilmeli, aspirasyon vb. girişimlerle oluşabilecek kontaminasyonlar en aza indirilmeye çalışılmalı ve mutlaka hasta izolasyon uygulamaları yapılmaya çalışılmalıdır. Hasta izolasyonu için birçok hastanenin alt yapısının yetersiz olduğu da bir gerçektir. Basit uygulamaların doğru yapılmasının dahi mikroorganizma yayılımını azaltmada çok katkısı olacağı düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Yoğun Bakım Ünitesinden Ocak 2010-Haziran 2011 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen *A. baumannii* suşları ile yapılan bu çalışmadaki veriler şu şekilde özetlenebilir; Çalışmaya 61 hastaya ait 92 klinik örnek ve çevre kültürlerinden saptanan 8 örnek olmak üzere 100 *A. baumannii* suşu dahil edildi.

1. Hastalar 16-86 yaşları arasında idi.
2. Çalışmaya alınan hastaların 21'i (%34) kadın ve 40'ı (%66) erkek olarak bulundu.
3. Hastaların 23'ünün birden fazla, farklı anatomik lokalizasyonda izole edilen örneği vardı.
4. Bakteriler en fazla (48 suş, %52) trakeal aspirat örneğinden izole edildi.
5. Çevresel yüzeylerden alınan sürüntü örneklerinden 8 *A. baumannii* suşu saptandı.
6. Klinik örneklerden saptanan *A. baumannii* suşlarının tamamının çoklu ilaç direnci olan suşlar olduğu bulundu.
7. İn vitro olarak en etkili antibiyotikler, kolitsin, tobramisin ve tigesiklin olarak bulundu.
8. Aynı hastaya ait farklı örneklerin genotipik analizinde bir suş dışında ilişki bulunmadı.
9. Çevreden izole edilen *A. baumannii* suşlarının biri dışında klinik örneklerden izole edilen suşlarla aynı olduğu bulundu.
10. Klavyeden izole edilen suşun 17 klinik örnekle, hasta yatağından izole edilen suşun 17 klinik örnekle, perdeden izole edilen suşun 12 klinik örnekle, ventilatör ekranından izole edilen suşun 10 klinik örnekle, personel formasından izole edilen suşun 4 klinik örnekle, diğer personel formasından izole edilen suşun 2 klinik örnekle ve çöp kovası dış kapağından izole edilen suşun 2 klinik örnekle aynı olduğu bulundu.

7. KAYNAKLAR

1. Berezin BE, Towner KJ. *Acinetobacter spp* as nosocomial pathogens. Microbiological, clinical and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996; 9:148–65.
2. Trilla A. Epidemiology of nosocomial infections in adult intensive care units. Intensive Care Med 1994; 20:1-4.
3. Çakar N, Tütüncü A. Yoğun bakım birimine yatış sebepleri, invaziv girişimler ve infeksiyon sorunu. Klimik Derg 1996; 9:3-5.
4. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. Intensive Care Med 2002; 28:108-121.
5. Bergogne-Berezin E, Joly-Guillou ML. Hospital infection with *Acinetobacter spp.* an incereasing problem. J Hosp Infect 1991; 18:250-5.
6. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter spp.* As Nosocomial Pathogens: Microbiological, Clinical and Epidemological Features. Clin Microbiol Rev 1996; 9:148-65.
7. Struelens MJ, Carlier E, Maes N, Serruys E, Quint W, van Belkum A. Nosocomial colonisation and infection with multiresistant *Acinetobacter baumannii*: outbreak delineation using DNA macrorestriction analysis and PCR fingerprinting. J Hosp Infect 1993; 25:15-32.
8. Edmond MB and Wenzel RP. Nosocomial Infections in Isolation: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R ed. Principles and Practice of Infectious Diseases 5th ed; Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000: 2991-2995.

9. Akova M, Akalın HE: Nötropenik hastalarda ateş. Hacettepe Tıp Derg 1988; 21:71-75.
10. Edmond MB and Wenzel RP. Organization for infection Control: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R ed. Principles and Practice of Infectious Diseases 5th ed; Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005: 3323-3346.
11. Willke A. Hastane infeksiyonları etkenleri ve antibiyotik duyarlılık durumları. Akalın HE, Hastane İnfeksiyonları Ankara : İnfeksiyon Hast Derneği yayımları 1993; 1: 45-53.
12. Peterson DL. Serious infections in the intensive care unit: *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. Clin Infect Dis 2006; 43:41-2.
13. Ardiç N, Özyurt M, İlga U, Erdemoğlu A, Haznedaroğlu T. Yatan hastalardan izole edilen *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarının karbapenemlere ve bazı antibiyotiklere duyarlılıkları. Ankem derg 2004; 18:145-8.
14. Javad A, Seifert H, Snelling AM, Heritage J, Hawkey PM. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates. J Clin Microbiol 1998; 36:1938-1941.
15. Towner K. The Genus *Acinetobacter*. Prokaryotes. 2006; 6:746-758
16. Gerner-Smidt P, Tjernberg I, Ursing J. Reliability of phenotypic tests for Identification of *Acinetobacter species*. J Clin Microbiol 1991; 29:277-82.
17. Jawad A, Hawkey PM, Heritage J, Snelling AM. Description of Leeds *Acinetobacter* medium, a new selective and differential medium for isolation of clinically important. *Acinetobacter spp.* and comparison with Herellea agar and Holton's agar. J Clin Microbiol 1994; 32:2353-8.
18. Karagöl Ç. Hastane Kökenli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Antibiyotik

Duyarlılıkları ve İmipenem Dirençli İzolatların Genotiplemesi. Uzmanlık Tezi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi. Edirne 2008. s.5.

19. Speller DCE, Humphreys H. Hospital-acquired infection. In: Collier L, Balows A, Sussman M (Eds.). Topley&Wilson's Microbiology and microbial infections. 9th ed.London: Arnold; 1998.187–229

20. Richet H. Fournier PE. Nosocomial Infections Caused by *Acinetobacter baumannii*: A Major Threat Worldwide. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006; 27:759-761.

21. Allen DM, Hartman BJ. *Acinetobacter species*. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone, 1995: 2009-13.

22. Mulin B, Talon D, Viel JF, et al. Risk factor for nosocomial colonization with multiresistant *Acinetobacter baumannii*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995; 14:569-76.

23. Bauvet PJM, Jeanjean S, Vieu JF, Dijkshoorn L. Species biotype, and bacteriophage type determination compared with cell envelope protein profiles for typing *Acinetobacter* strains. J Clin Microbiol 1990; 28:170-6.

24. Taşova Y, Akgün Y, Saltoğlu N, Yılmaz G, Kara O, Dündar İH. Nozokomiyal *Acinetobacter* infeksiyonları. Flora 1999; 4:170–6.

25. Joly-Guillou ML. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. Clin Microbiol Infect 2005; 11:868–873.

26. Goel KV, Kapil A. Monoclonal antibodies against the iron regulated outer membrane proteins of *Acinetobacter baumannii* are bactericidal. BMC Microbiology 2001; 1:16–23.

27. Buxton A.E., Anderson R.L., Werdegard D., Atlas E. Nosocomial respiratory tract infection and colonization with *Acinetobacter calcoaceticus*: epidemiologic characteristics. Am J Med 1978; 65:507-513.
28. Lortholary O, Fagon JY, Buu Hoi A. Nosocomial acquisition of multiresistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors and prognosis. Clin Infect Dis 1995; 20:790-6.
29. Pennington JE. Nosocomial Respiratory Infections. Principles and Practice of Infectious diseases. Forth Edition, New-York, Churchill Livingstone. 1995.
30. Tilley PA, Roberts FJ. Bacteremia with *Acinetobacter species*: risk factors and prognosis in different clinical settings. Clin Infect Dis 1994; 18:896-900.
31. Seifert H, Richter W, Pulverer G. Clinical and bacteriological features of relapsing shunt-associated meningitis due to *Acinetobacter baumannii*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995; 14:130-4.
32. Dijkshoorn L, van Dalen R, van Ooyen A, Bijl D, Tjernberg I, Michel MF, Horrevorts M. Endemic *Acinetobacter* in intensive care unit: epidemiology and clinical impact. J Clin Pathol 1993; 46:533-6.
33. Dinç U. Anesteziyoloji ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi'nde Yatan Hastalardan İzole Edilen *Acinetobacter* Kökenlerinin Moleküler Epidemiyolojisi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi. Trabzon 2008. s.62.
34. Towner. *Acinetobacter*. In: Collier L., Balows A., Tenover FC, Tenover MC. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 9 th ed. 1998; 1229-1239.
35. Wise K, Tosoline FA. Epidemiological surveillance of *Acinetobacter species*. J Hosp

Infect 1990; 16:319-29.

36. Akalın H. Çoğul dirençli gram negatif bakteriler. Doğanay M, Ünal S (Editörler). Hastane infeksiyonları'nda. 1. baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2003.s.269–89.

37. Chastre J. Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU. Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine. 2003; 24:1:69-77.

38. Seifert H., Baginski R., Schulze A., Pulverer G. Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter species*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1993; 37:750- 753.

39. Hogg GM, Barr JG, Webb CH. In vitro activity of the combination of colistin and rifampicin against multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 1998; 41:494-5.

40. Yıldız O. Antibiyotiklerin Kombine Kullanımı. İn. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S, eds. Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2008; 127-137.

41. Lampiris HW, Maddix DS. Clinical use of Antimicrobial agents. In: Kanzug BG, eds. Basic and Clinical Pharmacology. 7 th ed. Simon and Schuster Company 1998; 812-26.

42. Töreci K. Antibakteriyel Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları. İn. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S, eds. Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2008; 15-37.

43. Dökmeci İ. Kemoterapötik ilaçlar. Dökmeci İ (Editör). Farmakoloji ilaç uygulamalarında temel kavramlarında. İstanbul. Nobel Tıp Kitapevleri; 1992. s.705–86.

44. Yıldırım İH. Sefaperazon-Sulbaktam, İmipenem ve Sefepimin Antibiyoterapi Etkinliklerinin Çoğul Dirençli ve Duyarlı *Acinetobacter baumannii* ile Oluşturulan

Deneyisel İkili Apse Modelinde Karşılaştırılması.Uzmanlık Tezi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi. Edirne 2006. s.5.

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

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

47. Chambers HF. Other beta-lactam antibiotics. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds.). Mandell, Douglas and Bennett' s Principles and practice of infectious diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p.264–72.

48. Küçükateş E, Kansız E, Gültekin E. Gram-Negatif Bakterilerde İsepamisin, Amikasin ve Gentamisine Karşı Direnç. İnfeksiyon Derg 2007; 21(1):21-25.

49. Shakil S, Khan R, Zarrilli R, Khan AU. Aminoglycosides versus bacteria a description of the action, resistance mechanism, and nosocomial battleground. J Biomed Sci. 2008; 15:5–14.

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

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

52. Parlak M. Tetrasiklinler. İn. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S, eds. Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2008; 441-460.

53. Pankey GA. Tigecycline. J Antimicrob Chemother 2005; 56(3):470-80.

54. Çalık N, Akova M. Tigesiklin. Ankem Derg 2007; 21:29-33.
55. Fritsche TR, Sader HS, Stilwell MG, Dowzicky MJ, Jones RN. Potency and spectrum of tigecycline tested against an international collection of bacterial pathogens associated with skin and soft tissue infections (2000-2004). Diagn Microbiol Infect Dis 2005; 52(3):195-201.
56. Akalın H. Kolistin. Ankem Derg 2007; 21:26-28.
57. Falagas ME, Kasiakou SK: Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clin Infect Dis 2005; 40(9):1333-1341.
58. Loooveren MV, Goossens H. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. In Europe. Clin Microbiol Infect 2004; 10:684–704.
59. Schreckenberger P.C, Daneshvar M.I., Weyant R.S., Hollis D.G. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. In: Murray P.R., Baron E.J., Tenover F.C, Tenover F.C, Tenover F.C, Tenover F.C, Yolken R.H. (Eds.). Manual of Clinical Microbiology. 7 th ed. Washington ASM Press 2002: 749-775.
60. Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oyedun E, Lal H, Quale J. Endemic carbapenem resistant *Acinetobacter species* in Brooklyn, New York: Citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. Clin Infect Dis 2000; 31:101–6.
61. Diren Ş. İ.Ü. Cerrahpaşa tıp fakültesi sürekli tıp eğitimi etkinlikleri çocuklarda akılcı antibiyotik kullanımı. Sempozyum dizisi 2002; s. 19–24.

62. Tatman-Otkun M, Gürcan Ş, Özer B, Türe M. Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* kökenlerinde 1994' den 2000' e yıllık antibiyotik direnç değişimi. Ankem derg 2003; 17:1–6.
63. Meriç M., Wilke A., Çağlayan Ç., Toker K. intensive care unit-acquired infections: incidence, risk factors and associated mortality in a Turkish University Hospital. Jpn. J. Infect Dis 2005; 58: 297-302.
64. Rice LB, Sahm D, Bonomo RA. Mechanisms of resistance to antibacterial agents. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (Eds.). Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. ASM Press; 2003. p.1074–101.
65. Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microb Rev 1995; 8:557–84.
66. Lim S.M, R. Webb S. A. Nosocomial bacterial infections in Intensive Care Units. I: Organisms and mechanisms of antibiotic resistance, Anaesthesia, 2005, 60. 887–902.
67. Fillaux J, Dubouix A, Conil JM, Laguerre J, Marty N. Retrospective Analysis of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated During a 4-Year Period in a University Hospital. Infect Control Hosp Epidemiol 2006; 27:647-653.
68. Ferrara A.M. Potentially multidrug-resistant non-fermentative Gram-negative pathogens causing nosocomial pneumonia. International Journal of Antimicrobial Agents 2006; 27:183–195.
69. Gür D. Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar. Ulusoy S (Editör). Beta laktamazlar ve klinik önemi. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2005. s.70–88.
70. Clark N.M, Patterson J, Lynch J.P. Antimicrobial resistance among gram-negative organisms in the intensive care unit. Lippincott Williams & Wilkins. 2003; 9:413-423.

71. Bradford AP, Urban C, Mariano N, Projan SJ, Rahal JJ, Bush K. Imipemen resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid mediated Amp C β lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:563–9.
72. Hujer KM, Hamza NS, Hujer AM, Perez F, Helfand MS, Bethel CR et al. Identification of a new variant of the *Acinetobacter baumannii* cephalosporinase, ADC-7 β -lactamase: characterizing a new family of Class C enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:2941–8.
73. Lolans K, Rice TW, Munoz-Price SL, Quinn JP. Multicity outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing the carbapenemase OXA-40. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:2941-2945.
74. Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem-hydrolyzing β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:223-232.
75. Poirel L, Menuteau O, Agoli N, Cattoen C, Nordmann P. Outbreak of Extended-Spectrum β -Lactamase VEB-1-Producing Isolates of *Acinetobacter baumannii* in a French Hospital. *Journal of Clinical Microbiology* 2003, s. 3542-3547.
76. Vahaboglu H, Ozturk R, Aygun G, Coskuncan F, Yaman A, Kaygusuz A et al. Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum β -lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:2265–9.
77. Lanbaran N.S. Nazokomiyal *Acinetobacter baumannii* Kökenlerinde Antibiyotik Direnci ve Antimikrobiyal Sinerjizmin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Edirne (2001).

78. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr.WC. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 5. Baski kitabinda. Philadelphia: Lippincott; 1997. s. 253-320.
79. Wei-feng S, Jian-ping J, Tu-huang M. Relationship between antimicrobial resistance and aminoglycoside-modifying enzyme gene expression in *Acinetobacter baumannii*. Chinese Medical Journal 2005; 118 (2): 141-145.
80. Wisplinghoff H, Decker M, Haefs C, Krut O, Plum G, Seifert H. Mutations in gyrA and parC associated with resistance to fluoroquinolones in epidemiologically defined clinical strains of *Acinetobacter baumannii*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy; 2003: 51, 177-180.
81. Perez F, Hujer AM, Hujer MK, Decker KB, Rather NP, Bonomo AR. Global Challenge of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(10):3471-3484.
82. Andrei A, Zervos M.J. The Application of Molecular Techniques to the Study of Hospital Infection. Arch Pathol Lab Med 2006; 130: 662-668.
83. Singh A, Goering R.V, Simjee S, Foley S.L, Zervos M.J. Application of Molecular Techniques to the Study of Hospital Infection. Clinical Microbiology Reviews 2006, s. 512–530.
84. Prashanth K, Badrinath S. Epidemiological investigation of nosocomial *Acinetobacter* infections using arbitrarily primed PCR & pulse field gel electrophoresis. Indian J Med Res 122, November 2005, s. 408-418.
85. Seifert H., Schulze A., Baginski R., Pulverer G. Plasmid DNA fingerprinting of *Acinetobacter* species other than *Acinetobacter baumannii*. Journal of Clinical Microbiology 1994; 32:82-86

86. Seifert H., Schulze A., Baginski R., Pulverer G. Comparison of four different methods for epidemiologic typing of *Acinetobacter baumannii*. Journal of Clinical Microbiology 1994; 32:1816-1819.
87. Picard B., Goulet P., Bouvet P.J.M., Decoux G., Denis J.B. Characterization of bacterial genomic species by computer-assisted statistical analysis of enzyme electrophoresis data. Electrophoresis 1989; 10:680-685.
88. Dijkshoorn L., Michel M. F., Degener J. E. Cell envelope protein profiles of *Acinetobacter calcoaceticus* strains isolated in hospitals. J Med Microbiol 1987; 23:313-319.
89. Tenover, F.C, Arbeit R. D, Goering R. V, Mickelsen P. A, Murray B. E, Persing D. H, Swaminathan B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995; 33:2233-2239.
90. Kropec A., Hubner J., Daschner F.D. Comparison of three typing methods in hospital outbreaks of *Acinetobacter calcoaceticus* infection. J Hosp Infect 1993; 23:133-141.
91. Bartual S.G., Seifert H., Hippler C., Luzon M.A.D., Wisplinghoff H., Rodriguez-Valera F. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. Journal of Clinical Microbiology 2005; 43:7382-439.
92. Seifert H., Dolzani L., Bressan R., Reijden T., Strijen B., Stefanik D., Heersma H., Dijkshoorn L. Standardization and interlaboratory reproducibility assessment of pulsed-field gel electrophoresis-generated fingerprints of *Acinetobacter baumannii*. Journal of Clinical Microbiology 2005; 43:4328- 4335
93. Koeuth T, Versalovic J, Lupski JR. Differential subsequence conservation of

interspersed repetitive *Streptococcus pneumoniae* BOX elements in diverse bacteria. Genome Res 1995; 5:408-418

94. Versalovic J, Lupski JR. Molecular detection and genotyping of pathogens; more accurate and rapid answers. Trends Microbial 2002; 10:315-321

95. Healy M, Reece K, Walton D, Huong S, Shan K, Kontoyiannis DP. Identification to the species level and differentiation between strains of *Aspergillus* clinical isolates by automated repetitive sequence-based PCR. J Clin Microbial 2004; 42:4016-4024

96. Healy M, Reece K, Walton D, Huong S, Frye S, Rood II, Kontoyiannis DP. Use of the DiversiLab system for species and strain differentiation of *Fusarium* species isolates. J Clin Microbial 2003; 521:1071-1076

97. Hospenthal DR, Beckius LM, Floyal KL, Horvath LL, Murray CK. Presumptive identification of *Candida* sp. Other than *C. albicans*, *C. krusei* and *C. tropicalis* with the chromogenic medium CHROMagar *Candida*. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 2006; 5(1):1-5

98. Derbentli Ş. Hastane infeksiyonlarının epidemiyolojisinde moleküler yöntemlerin yeri. Ağaçfıdan A, Badur S, Türkoğlu S (editörler). İnfeksiyon hastalıklarını laboratuvar tanısında moleküler yöntemlerinde. İstanbul. Türk mikrobiyoloji cemiyeti yayını; 2002. s. 6-13

99. Sambrook J, Russel D. W. Pulsed-field Gel Electrophoresis. Molecular Cloning 2001. 5:55-5.

100. Ayan M. Hastanemizdeki *Acinetobacter baumannii* İnfeksiyonlarının Değerlendirilmesi (Uzmanlık tezi). Malatya. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2002

101. Rosenthal V.D, Guzmán S, Crnich C. Device-Associated Nosocomial Infection Rates In Intensive Care Units Of Argentina. Infect Control Hosp Epidemiol 2004; 25:251-255.

102. Inan D, Saba R, Gunseren F, Ongut G, Turhan O, Yalcin A.N, Mamikoglu L. Daily antibiotic cost of nosocomial infections in a Turkish university hospital. BMC Infectious Diseases 2005, 5:5-3
103. Khan MM, Celik Y. Cost of Nosocomial İnfection in Turkey: An Estimate Based on the University Hospital Data. Health Serv Manage Res. 2001; 14(1):49-54.
104. Özlü N. Hastenemizde İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Moleküler Epidemiyolojik Değerlendirmesi. 2007, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, uzmanlık tezi.
105. Sesli Çetin E, Kaya S, Tetik T, Cicioğlu Aridoğan B. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Örneklere Göre Dağılımı ve Antibiyotik Duyarlılıkları. Ankem Derg 2006; 20(4):202-205.
106. Das I., Lambert P., Hill D., Noy M., Bion J., Elliot T. Carbapenem-resistant *Acinetobacter* and role of curtains in an outbreak in intensive care units. Journal of Hospital Infection 2002; 50:110-114.
107. Özgür Akın FE. Çoğul Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Tigesiklin, Kolistin ve Polimiksin Saptanmasında Disk Difüzyon, E Test ve Broth Mikrodilüsyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması. 2009, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, uzmanlık tezi, 73 s.
108. Günseren F, Mamikoglu L, Öztürk S, et al. Surveillance study of antimicrobial resistance of Gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. J Antimicrob Chemother. 1999; 43:373-378.
109. Aksaray S, Dokuzoğuz B, Güvener E, et al. Surveillance study of antimicrobial resistance among Gram-negative isolates from intensive care units in eight hospitals in

Turkey. J Antimicrob Chemother. 2000; 45:695-699.

110. Erbay A., Bodur H., Akıncı E., Çolpan A. Yogun bakım birimlerinde antibiyotik kullanımının değerlendirilmesi. Klimik Dergisi 2003; 16(2):63-67.

111. Öncü S., Öztürk B., Aydemir M., Sakarya S. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde nozokomiyal infeksiyonlar. Klimik Dergisi 2004; 17(2):120-123.

112. Bou G., Cervero G., Dominguez M.A., Quereda C., Martinez-Beltran J. PCRbased DNA fingerprinting (REP-PCR, AP-PCR) and pulsed-field gel electrophoresis charecterization of a nosocomial outbreak caused by imipenemand meropenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. Clin Microbiol Infect 2000; 6:635-643.

113. Allen K.D., Gren H.T. Hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter anitratus*: an airborne mode of spread? Journal of Hospital Infection.1987; 9:110-119.

114. Cisneros J. M, Rodriguez-Bano J. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2002; 8:687-693.

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

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

117. Palabıykoğlu İ, Tulunay M, Unal N, Oral M, Bengisun SJ, Ozgunay Ş. Bir reanimasyon ünitesinde hastane infeksiyonu etkenleri ve antibiyotik kullanımı. Flora. 2000; 5(2):110-115.

118. Erol S, Yazgı H, Aktaş O, Ozkurt Z. Nozokomiyal *Acinetobacter* İzolatlarında Antibiyotik Direnci. Hastane İnfeksiyonları Derg 2002; 6:19-23.
119. Baştürk S: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Çeşitli Kinolon Grubu Antibiyotiklerin Duyarlılıklarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi. İstanbul 2005. s.29.
120. Gülhan B, Özekinci T, Atmaca S, Bilek H. 2004-2006 Yıllarında İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Antibiyotik Direnci. Ankem Dergisi. 2007; 21(1):32-36.
121. Bernards A.T., Harinck H.I., Dijkshoorn L., van der Reijden T.J.K., van den Broek P.J. Persistent *Acinetobacter baumannii* ? Look inside your medical equipment. Infection Control and Hospital Epidemiology 2004; 25:1002- 1004.
122. Çaylan R. Çok ilaca dirençli hastane kökenli Gram negatif nonfermentatif bakteriler: Ülkemizdeki durum, tedavi ve kontrol politikaları. Klimik Derg 2003; 16 (Özel sayı): 18-20.
123. Zarakolu P., Haşçelik G., Unal S. Antimicrobial susceptibility pattern of nosocomial gram negative pathogens: results from MYSTIC study in Hacettepe University Adult Hospital (2000-2004) Mikrobiyoloji Bült 2006; 40:147-154.
124. Karslıgil T, Balcı I, Zer Y. Antibacterial Sensitivity of *Acinetobacter* Strains Isolated from Nosocomial Infections. J Intern Med Research 2004; 32:436-441.
125. Yu Y, Yang Q, Xu XW, Kong HS, Xu GY, Zhong BY. Typing and characterization of carbapenem resistant *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex in a Chinese hospital. J Med Microbiol 2004; 53:653-656.

126. Mezzatesta ML, Trovato G, Gona F. In vitro activity of tigecycline and comparators against carbapenem-susceptible and resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Italy. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2008; 7:4-7.
127. Rao RS, Karthika RU, Singh SP, Shashikala P, Kanungo R, Jayachandran S, et al. Correlation between Biofilm Production and Multiple Drug Resistance In Imipenem Resistant Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Ind J Med Microbiol* 2008; 26(4): 333-7.
128. Gazi H, Sürücüoğlu S, Kurutepe S, İnmez E, Dinç G, Özbakkaloğlu B. Yoğun Bakım Ünitesi ve Diğer Ünitelerde Yatan Hastalardan İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarında İn-Vitro Antibiyotik Direnci *Ankem Derg* 2005; 19(3):115-118.
129. Aşçı-Toraman Z, Yakupoğulları Y, Kizirgil A. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* Suşlarında Metallo Beta-Laktamaz Araştırılması. *İnfeksiyon Derg* 2005; 19(1):101-105.
130. Jones ME, Draghi DC, Thornsberry C, Karlowsky JA, Sahm D, Wenzel P. Emerging resistance among bacterial pathogens in the intensive care unit – a European and North American Surveillance study (2000 – 2002). *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2004; 3(14):2-11.
131. Erben N, Kiremitçi A, Özgüneş İ. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter* Türlerinde Genişletilmiş Spektrumlu Beta-laktamaz ve İndüklenebilir Beta-laktamaz Sıklığının ve Antimikrobiyal Duyarlılığın Değerlendirmesi. *Osmangazi Tıp Derg* 2006; 28(3):135-146.
132. Bilgin Y. *Escherichiae coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Staphylococcus aureus* Suşlarında Çeşitli Aminoglikozidlerin Duyarlılıklarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi. İstanbul 2006. s.41.

133. Turton J.F., Kaufmann M.E., Glover J., Coeho J.M., Warner M., Pike R., Pitt T.L. Detection and typing of integrons in epidemic strains of *Acinetobacter baumannii* found in the United Kingdom. *Journal of Clinical Microbiology* 2005; 43:3074-3082.
134. Ulusoy S. Tigesiklin. *Ankem Derg* 2006; 20:117-119.
135. Hawley J, Murray CK, Griffith ME, McElmeel ML, Fulcher LC, Hospenthal DR, et al. Susceptibility of *Acinetobacter* Strains Isolated from Deployed U.S. Military Personnel. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(1):376–378.
136. Alp E, Ese D, Yildiz O, Andreas Voss A, Melchers W, Doganay M. Genotypic analysis of *Acinetobacter* bloodstream infection isolates in a Turkish university hospital. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 2006; 38:335-340.
137. Agodil A, Zarrilli R, BarchittaM, Anzaldi1 A, Di Popolo A, Mattaliano A, Ghiraldi E, Travali S. Alert surveillance of intensive care unit-acquired *Acinetobacter* infections in a Sicilian hospital, *Clin Microbiol Infect* 2006; 12:241-247.
138. Saraçlı MA. Hastane infeksiyonlarının tanısında moleküler epidemiyoloji. http://www.gata.edu.tr/kitap/1_BÖLÜM/9_MOLEKÜLER_EPİDEMİYOLOJİ_son_D.pdf.
139. Rademaker JLW, Savelkoul P. PCR amplification-based microbial typing. In: Persing DH, Tenover FC, Versalovic J, Tang YW, Unger ER, Relman DA, White TJ (eds). *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice*. Washington DC: ASM Press, 2004: 197-221.
140. Seifert H., Gerner-Smidt P. Comparison of ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis for molecular typing of *Acinetobacter* isolates. *J Clin Microbiol* 1995; 33:1402-1407.
141. Liu P.Y.F., Wu W.L. Use of different PCR-based DNA fingerprinting techniques and

pulsed-field gel electrophoresis to investigate the epidemiology of *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. Diagn Microbiol Infect Dis 1997; 28:19-28.

142. Silbert S., Pfaller M.A., Hollis R.J., Barth A.L., Sader H.S. Evaluation of three molecular typing techniques for nonfermentative Gram-negative bacilli. Infect Control Hosp Epidemiol 2004; 25:847-851

143. Gültekin A. Sistemik Kandidoz Şüpheli Hasta Örneklerinden *Candida* türlerinin izolasyonu, Tanımlanması ve Genotiplendirilmesi. 2009, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi.

144. Van Dessel H., Kamp-Hopmans T.E.M., Fluit A.C., Brisse S., de Smet A.M.G.A., Dijkshoorn L., Troelstra A., Verhoef J., Macsini E.M. Outbreak of a susceptible strain of *Acinetobacter* species 13(sensu Tjienberg and Ursing) in an adult neurosurgical intensive care unit. Journal of Hospital Infection 2002; 51:89-95

145. Aygün G. Yoğun bakım birimi infeksiyonlarında çevre şartlarının önemi. Klimik Dergisi 2003; 16(3):106-107.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Gaziantep'in Şehitkamil ilçesinde doğdu. 2003-2007 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde okudu. 2009 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans programına başladı.

T.C.
GAZİANTP ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK DEĞERLENDİRME KOMİSYONU

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU					
	ARAŞTIRMA ADI	Yoğun bakım hastalarında ve yoğun bakım ünitesi ortamından izole edilen Acinetobacter suşlarının genotipik olarak karşılaştırılması.				
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVAN/ADI-SOYADI	Prof.Dr.İclal BALCI G.Antep Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji A.D				
	YARDIMCI ARAŞTIRICI UNVANI/ADI-SOYADI	Bio.E. a KIRGÖZ G.Antep Üniv. Tıp Fak.Tıbbi Mikrobiyoloji A.D Y.Doç.Dr. Yasemin ZER G.Antep Üniv. Tıp Fak.Tıbbi Mikrobiyoloji A.D				
	KOORDİNATÖR MERKEZ					
	DESTEKLEYİCİ					
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER						
	Belge Adı	Değişiklik No/Tarihi	Dili			
	PROTOKOL	-	-			
	ARAŞTIRICI BROŞÜRÜ	-	-			
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLURU	-	-			
	OLGU RAPOR FORMU	-	-			
ÇALIŞMA ESASI		İYİ KLİNİK UYGULAMALARI KLAVUZU				
KARAR BİLGİLERİ		Karar No: 11/2010-5 Tarih:02.11.2010 Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yapılması planlanan ve yukarıda adı geçen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgelerin araştırmanın gereği, amaç, yatkınlık ve yamamı dikkate alınarak 02.11.2010 tarihli Etik Kurul toplantısında incelenmesi sonucunda, adı geçen araştırmanın yapılmasının uygunluğuna oy birliği ile karar verilmiştir.				
ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı/Adı-Soyadı/ Etik Kurul Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Doç.Dr.Belgin ALAŞEHİRLİ Başkan	Farmakoloji	G.Ü.Tıp Fak. Farmakoloji A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr.Vedat DAVUTOĞLU	Kardiyoloji	G.Ü.Tıp Fak. Kardiyoloji A.D	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr.Serdar ÜŞÜMEZ Raportör/Üye	Diş Hekimi	G.Ü. Diş Hek. Fak.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç.Dr.Ercan SİVASLI Üye	Pediyatri	G.Ü.Tıp Fak. Pediyatri A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd.Doç.Dr.Beyhan CENGİZ Üye	Fizyoloji	G.Ü.Tıp Fak. Fizyoloji A.D.	E	☒ E ☐ H	☒ E ☐ H	
Yrd.Doç.Dr.Ş.Nur AKSOY Üye	Biyokimya	G.Ü.Tıp Fak. Biyokimya A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Ecz.Ahmet BOŞNAK Üye	Eczacı	G.Ü. Tıp Fak. Farmakoloji A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

* Araştırma ile ilişki
** Toplantıda Bulunma