



# Yoğun Bakım Ünitesinde Takip Edilen Hastalardan İzole Edilen Karbapenem Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin Araştırılması

## Investigation of Antibiotic Resistance Genes in Carbapenem Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Patients Followed Up in the Intensive Care Unit

Öznur GÜNEŞ<sup>1</sup>(iD), Gülşen İSKENDER<sup>2</sup>(iD), Sabahat ÇEKEN<sup>2</sup>(iD), Özlem ÜNALDI<sup>3</sup>(iD), Ece DİRİM<sup>4</sup>(iD), Rıza DURMAZ<sup>5</sup>(iD), Mustafa ERTEK<sup>2</sup>(iD)

<sup>1</sup> Midyat Devlet Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Mardin, Türkiye

<sup>2</sup> Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup> Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Moleküler Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

<sup>4</sup> Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

<sup>5</sup> Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

\* Bu çalışma 7. Türkiye EKMUD Uluslararası Kongresi 2018`de sözlü olarak sunulmuştur.

**Makale atfı:** Güneş Ö, İskender G, Çeken S, Ünalı Ö, Dirim E, Durmaz R ve ark. Yoğun bakım ünitesinde takip edilen hastalardan izole edilen karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibiyotik direnç genlerinin araştırılması. FLORA 2021;26(2):311-22.

### ÖZ

**Giriş:** *Acinetobacter* türleri dünyada özellikle yoğun bakım ünitelerinde salgınlara yol açan fırsatçı patojenlerdir. Hastanelerde geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın ve uygunsuz kullanımı bu bakterilerde birçok antibiyotiğe karşı direnç gelişimine neden olmuştur. Direnç mekanizmaları arasında; beta-laktamaz üretimi, hücre duvarı kanallarındaki değişiklikler (porinler) ve efflux pompa aktivitesinde artış ön plana çıkmaktadır. Karbapenem direncinde OXA tipi beta-laktamazların ve metallo-beta-laktamazların sentezi önemli bir yer almaktadır. Çalışmamızın amacı karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında dirençten sorumlu olabilecek genleri tespit edip, öncesinde kullanılan antibiyotikler ile arasındaki ilişkiyi irdelemek ve akılcı antibiyotik kullanımına yol göstermektir.

**Materyal ve Metod:** Yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) takip edilen hastalardan uygun koşullarda alınan örneklerde üreyen 47 karbapenem dirençli *A. baumannii* suşu değerlendirilmeye alındı. Bu suşlarda multiplex polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile OXA-50-51-55-24-23-58, VIM, IMP, KPC ve NDM enzimlerini kodlayan gen varlığı araştırıldı.

**Bulgular:** Karbapenem dirençli *A. baumannii* izole edilen 47 hastanın yaş ortalaması 67.3 yaş (24-97 yaş) ve 25'i (%53.2) kadın idi. Kırk yedi izolatin 22'si "extensively drug-resistant" (XDR), 23'ü "multidrug-resistant" (MDR) ve 2'si "pandrug-resistant" (PDR) suşlar idi. Hastaların yoğun bakıma kabulünden kültürde *A. baumannii* izole edilmesine kadar geçen süre ortalama 15.6 ± 9.7 gün olarak tespit edildi. Tüm suşlarda bla<sub>OXA-23</sub> ve bla<sub>OXA-51</sub> genleri saptanırken diğer direnç genleri saptanmadı. Karbapenem dirençli *A.*

Geliş Tarihi/Received: 27/10/2020 - Kabul Ediliş Tarihi/Accepted: 17/02/2021

©Telif Haklı 2021 Flora. Makale metnine www.floradergisi.org web adresinden ulaşılabilir.

Çevrimiçi Yayın Tarihi: 11.06.2021

baumannii izolasyonu öncesi hastaların istatistiksel olarak anlamlı bir kısmında karbapenem grubu antibiyotik kullanımı saptandı; [31 (%66) vs 16 (%34)] ( $p= 0.04$ ).

**Sonuç:**  $bla_{OXA-51}$ , A. baumannii suşlarının doğal yapısında bulunan bir gen olduğundan hastanemizde karbapenem direncinden sorumlu olan genin  $bla_{OXA-23}$  olduğu tespit edildi. A. baumannii gibi patojenlere karşı gerekli önlemlerin zamanında alınması için tedavi merkezlerinde antibiyotik duyarlılık paternlerinin izlenmesi ve yeni direnç mekanizmalarının ortaya saptanabilmesi için moleküler epidemiyolojik çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı kanaatindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Acinetobacter baumannii; Karbapenem direnci; Direnç genleri; Yoğun bakım ünitesi

## ABSTRACT

### Investigation of Antibiotic Resistance Genes in Carbapenem Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Patients Followed Up in the Intensive Care Unit

Öznur GÜNEŞ<sup>1</sup>, Gülşen İSKENDER<sup>2</sup>, Sabahat ÇEKEN<sup>2</sup>, Özlem ÜNALDI<sup>3</sup>, Ece DİRİM<sup>4</sup>,  
Rıza DURMAZ<sup>5</sup>, Mustafa ERTEK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Clinic of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Midyat State Hospital, Mardin, Turkey

<sup>2</sup> Clinic of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Oncology Training and Research Hospital, Ankara, Turkey

<sup>3</sup> General Directorate of Public Health, National Molecular Microbiology Reference Laboratory, Ankara, Turkey

<sup>4</sup> Laboratory of Medical Microbiology, Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Oncology Training and Research Hospital, Ankara, Turkey

<sup>5</sup> Department of Medical Microbiology, Yıldırım Beyazıt University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey

**Introduction:** *Acinetobacter* species are opportunistic pathogens that cause epidemics in intensive care units. The widespread and improper use of broad-spectrum antibiotics in hospitals has led to the development of resistance to many antibiotics in these bacteria. The most important resistance mechanisms are beta-lactamase production, changes in cell wall channels, and efflux pump activity. The synthesis of OXA type beta-lactamases and metallo-beta-lactamases plays an important role in carbapenem resistance. The aim of our study was to identify the genes responsible for resistance in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains and to determine its relationship with previously used antibiotics to guide rational antibiotic use.

**Materials and Methods:** Forty-seven carbapenem-resistant A. baumannii strains grown in samples taken under appropriate conditions from patients followed in the intensive care unit were evaluated. Genes encoding OXA-50-51-55-24-23-58, VIM, IMP, KPC and NDM enzymes were investigated using the multiplex polymerase chain reaction (PCR).

**Results:** Mean age of the patients was 67.3 years (24-97 years), and 25 (53.2%) were females. Of the 47 isolates, 22 were extensively drug-resistant (XDR), 23 were multidrug-resistant (MDR) and 2 were pandrug-resistant (PDR) strains. The time from admission to intensive care unit until A. baumannii isolation in culture was  $15.6 \pm 9.7$  days.  $bla_{OXA-23}$  and  $bla_{OXA-51}$  genes were detected in all strains, other genes were not detected. Before the isolation of carbapenem-resistant A. baumannii, carbapenem group antibiotics has been used in a statistically significant proportion of the patients [31 (66%) vs 16 (34%)] ( $p= 0.04$ ).

**Conclusion:** Since  $bla_{OXA-51}$  is a gene found intrinsically in A. baumannii strains,  $bla_{OXA-23}$  is the gene responsible for carbapenem resistance in these strains in our hospital. We believe that it would be beneficial to carry out molecular epidemiological studies in order to monitor antibiotic susceptibility patterns and reveal new resistance mechanisms in treatment centers in order to take necessary precautions against pathogens such as A. baumannii in a timely manner.

**Key Words:** *Acinetobacter baumannii*; Carbapenem resistance; Resistance genes; Intensive care unit

## GİRİŞ

*Acinetobacter* türleri tüm dünyada salgınlara yol açan fırsatçı patojenlerdir. Bu bakteriler diğer bakterilerle karşılaştırıldığında, farklı sıcaklık ve pH ortamlarında canlı kalabilmeleri ve ku-

ruluğa dayanıklı olmaları nedeniyle, yüzeylerde günlerce yaşamlarını sürdürürler<sup>[1-3]</sup>. Yoğun bakım ünitelerinde mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda, bu mikroorganizma ile kolonizasyonun yüksek oranda arttığı ve salgınlara yol açtığı gös-

terilmiştir<sup>[4]</sup>. Yapılan bir çalışmada yoğun bakım ünitelerinde hasta dışıklarında çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter* türleri izole edilmiş ve trakeostomili hastaların %45'inde kolonizasyon saptanmıştır<sup>[5]</sup>. İnfeksiyon gelişimini kolaylaştıran faktörler arasında yanık, malignite gibi konağın savunma sistemini baskılayan durumlar ve hastanın yaşı sayılabilir. Major cerrahi girişim, YBÜ'de yatışın ve mekanik ventilatöre bağlı kalma süresinin uzaması, uzun süreli antibiyotik kullanımı, damar içi kateterizasyon, idrar sondası, endotrakeal tüp ve trakeostomi varlığı, başlıca risk faktörlerdir. Son yıllarda *Acinetobacter* türleri ile gelişen hastane infeksiyonu oranlarının artması ve bu bakterilerde birçok antibiyotiğe karşı direnç gelişmesinin en önemli nedeni, hastanelerde geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın ve uygunsuz kullanımı olarak gösterilmektedir<sup>[6]</sup>. *Acinetobacter* infeksiyonlarında en sık görülen klinik tablo ventilatörle ilişkili pnömoni ve kan dolaşımı infeksiyonlarıdır<sup>[7]</sup>. Yapılan prospektif gözlemsel bir çalışmada, dokuz farklı Avrupa ülkesindeki 27 YBÜ'de *Acinetobacter baumannii*, nozokomiyal pnömoniyeye neden olan en yaygın patojenler arasında yer almış, Türkiye ve Yunanistan'da ise en yaygın izolat olarak saptanmıştır<sup>[8]</sup>. *Acinetobacter* kökenli pnömonisi olan olgularda, mortalite oranlarında %35-70 arasında bir artışa neden olduğu gözlenirken, birçok hasta eşzamanlı yaşamı tehdit eden koşullara sahip olduğu için, atfedilebilir mortaliteyi bulmak zor olmuştur<sup>[9-13]</sup>. Çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter* kaynaklı infeksiyonlarda, duyarlı suşlarla gelişen infeksiyonlara kıyasla hastaneye yatış sürelerinin daha uzun olduğu, YBÜ'ye yatış ve mortalite oranlarının daha yüksek olduğu saptanmıştır<sup>[14]</sup>.

*A. baumannii*, piyasada bulunan tüm antibiyotiklere dirençli suşların ortaya çıkmasına yol açabilen çeşitli direnç mekanizmalarını geliştirme yeteneğine sahiptir<sup>[15]</sup>. Bu mikroorganizma, ağırlıklı olarak sağlık bakımıyla ilişkili önemli bir antimikrobiyal direnç potansiyeline sahip olan ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, Enterobacterler) organizmalarından biridir<sup>[16]</sup>.

*Acinetobacter* türleri, çoklu ilaca dirençli veya genişletilmiş ilaca dirençli suşların gelişimine yol açan çok sayıda antibiyotik direnç geni biriktirme

yeteneğine sahiptir. Hastane kaynaklı *Acinetobacter* suşlarında sıklıkla ifade edilen direnç mekanizmaları arasında beta-laktamaz üretimi, dış membran porinlerindeki değişiklikler ve eflüks pompa aktivasyonu bulunmaktadır<sup>[17,18]</sup>.

Bu çalışmada karbapenem dirençli *A. baumannii* suşlarında dirençten sorumlu olabilecek genlerin tespit edilmesi, öncesinde kullanılan antibiyotikler ile direnç gelişimi arasındaki ilişkinin irdelenmesi ve akılcı antibiyotik kullanımına yol göstermek amaçlanmıştır.

### MATERYAL ve METOD

Üçüncü basamak eğitim ve araştırma hastanesi YBÜ'de Şubat 2015-Ağustos 2016 tarihleri arasında yatan hastalardan mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik numunelerden (kan, bronkoalveolar lavaj, trakeal aspirat, kateter, idrar, yara, drenaj mayi) üreyen 47 adet karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatı çalışmaya alındı. Aynı hastada sadece bir *A. baumannii* izolatı değerlendirildi.

### Örnek Seçimi ve Bakteri İdentifikasyonu

Klinik örneklerden kanlı besiyerine ekimler yapıldı ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı, üreme sonunda non-hemolitik, oksidaz negatif, katalaz pozitif kolonilerden yayma preparatı hazırlandı, gram-negatif kokobasil şeklinde görünen kolonilerden saf kültür elde edildi. Elde edilen saf kültürlerde bakteri tanımlaması ve antibiyotik duyarlılıklarının tespiti için Vitek-2 otomatize sistemi (bioMérieux, France) kullanıldı, otomatize ile MIC  $\geq 16$  mg/L saptanan suşlar için E test yapıldı. Vitek-2 otomatize sistemi için özel olarak kullanılan deney tüpüne (12x75 mm) 3 mL steril tamponlanmış tuzlu su (%0.45-0.50 NaCl, pH 4.5-7.0) koyularak, saf koloniler öze ile alınıp tüpe aktarıldı ve McFarland 0.5 bulanıklığına ayarlanmış bakteri süspansiyonları hazırlandı. İncelenen her örnek için 2 tüp kullanıldı. Birinci tüp saf bakteri kolonilerinden hazırlanan süspansiyon eklenip, ikinci tüp ise boş yerleştirildi. Kasetin içerisinde bulunan birinci tüpün arka kısmına gram-negatif identifikasyon kartı (Vitek-2 GN, BioMérieux SA-France) ve boş tüpün arka kısmına gram-negatif antibiyotik duyarlılık kartı (Vitek-2-AST-P534 BioMérieux- SA-France) kullanım talimatına uygun yerleştirildi. Otuz yedi derecede 18-24 saat inkübasyon sonrası suşların cins ve tür düzeyinde ta-

nımlamaları yapıldı, izolatlar antibiyotik duyarlılığı yönünden değerlendirildi;

MDR (Multidrug-resistant): İzolat, üç veya daha fazla antibiyotik sınıfındaki en az birer ajana dirençlidir.

XDR (Extensivelydrug-resistant): İzolat, iki veya daha az antibiyotik sınıfı dışında tüm antibiyotik sınıflarından en az bir ajana dirençlidir.

PDR (Pandrug-resistan): İzolat tüm ajanlara dirençlidir.

Saf kültür şeklinde üretilmiş olan A. baumannii suşları daha sonra PZR çalışmalarında kullanılmak üzere %10 gliserol, %10 kan içeren brain heart infüzyon besiyerinde -20°C'de saklandı.

### DNA İzolasyonu

Çalışmaya başlamadan önce izolatlardan koyun kanlı agar ve Eosin metilen mavisi (EMB) agar-da tek koloni ekimi yapılarak bir gece etüvde 37°C'de inkübe edildi. Saf olarak elde edilen 47 suş için aşağıdaki basamaklar izlenerek kaynatma yöntemiyle DNA ekstraksiyonu yapıldı. Plaklarda üreyen ve saflaştırma yapılan 47 örnekte bakteriler eküvyon cubuğu ile toplandı ve kapaklı cam deney tüpüne kondu. 1 mL SF içerisinde bakteri yoğunluğu 1-2 McFarland olacak şekilde süspan-siyon hazırlandı. Mikrosantrifüj tüplerine SF'de bekletilen bakteri örneklerinden 100 µL eklendi. 15,000 rpm'de (revolutions per minute) 15 dakika santrifüj edilerek bakteriler çöktürüldü. Süpernatant aspire edildi ve pellet 100 µL TE tamponu (10 µM Tris-HCl, 1 µM EDTA) içinde resüspanse edildi. Isı bloğunda 100°C'de 5 dakika kaynatılan tüpler -20°C'lik derin dondurucuya kondu ve analizi için çözdürülerek kullanıldı.

### Jel Elektroforez

0.5XTBE (Thermo scientific, Lithuania) tampon çözeltisi ve %2'lik agaroz jel hazırlandı (2 g agaroz, 100 mL %0.5'lik TBE). Balon joje içerisinde tamponla iyice karıştırılan agaroz mikrodalga fırında sıklıkla çalkalanarak çözülünceye kadar kaynatıldı. Ilıtılan jele 2 µL Ethidium bromide (EtBr) eklendi, iyice karıştırıldıktan sonra jel kabına döküldü, katılan jel elektroforez tankına alındı.

### Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Jel elektroforezi ile amplifikasyon sonrası bantların kontrolü yapıldı. Bunun için örnekler %2'lik agaroz jelde yürütüldü.

- Amplifiye ürünün 5 µL'sine 2 µL jel yükleme boyası karıştırıldı ve agaroz jele yüklendi.
- 120 voltta, 30 dakika elektroforez işlemi yapıldı.
- Moleküler ağırlık standardı yardımıyla bantların büyüklüğü kontrol edildi.

*Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-41 NDM-1, *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2, *P. aeruginosa* IMP-13, *A. baumannii* OXA-23-51-58, *K. pneumoniae* OXA-48 ve *K. pneumoniae* KPC-2 suşları pozitif kontrol olarak, distile su negatif kontrol olarak kullanıldı.

Jel elektroforez sonrası kullanılan kontrollere ve moleküler ağırlık standardına göre değerlendirme yapıldı.

Analizde kullanılan primer diziler, PZR karışımı ve amplifikasyon koşulları Tablo 1, 2 ve 3'te verilmiştir.

### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS 22.0 paket programı kullanıldı. Sürekli değişkenlerin tanımlayıcı istatistik değerleri için ortalama ve standart sapma değeri, kategorik verilerin (cinsiyet, karbapenem kullanımı vb.) karşılaştırılmasında ki kare testi uygulandı. Kesikli değişkenler için ise medyan değerleri kullanıldı. İki grup arasında (karbapenem kullanan-kullanmayan vb.) kültür üreme süresi gibi sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Student's t testi kullanıldı. İki'den fazla grup (komorbidite vb.) ile çoklu değişkenlerin (*Acinetobacter* izole etme süresi vb.) karşılaştırılmasında one-way anova testi kullanıldı. Analizlerde hipotez çift yönlü olup, p< 0.05 olma durumunda fark anlamlı kabul edildi.

### BULGULAR

Çalışmada 47 karbapenem dirençli A. baumannii izolatu değerlendirildi. Bu izolatlar, hastalardan uygun koşullarda alınan 14 (%29.8) kateter, 9 (%19.1) kan, 8 (%17) mini bronkoalveolar lavaj (mini BAL), 12 (%25.5) derin trakeal aspirat (DTA), 3 (%6.4) yara ve 1 (%2.1) apse drenaj mayi örneklerinden üretilmişti.

Kültürlerinden A. baumannii üretilen hastalar 24-97 yaş aralığında olup yaş ortalaması 67.3 yaş idi. Hastaların 22 (%46.8)'si erkek ve 25

**Tablo 1. Analizde kullanılan primer dizileri**

Hedef gen	Primer 5'-3' oligonükleotit dizisi	Amplikon büyüklüğü (bp)
OXA-24	GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA	246
	AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	
KPC	ATGTCACTGTATCGCCGTC	744
	TTTTAGAGCCTTACTGCCC	
OXA-23	CTTGCTATGTGGTTGCTTCTC	650
	ATCCATTGCCCAACCAGTC	
OXA-58	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG	599
	CCCCTCTGCGCTCTACATAC	
NDM	GTAGTGCTCAGTGTCGGCAT	476
	GGGCAGTCGCTTCCAACGGT	
VIM	GTGTTTGGTTCGCATATCGC	380
	CGCAGCACCAGGATAGAAG	
IMP	GAATAGAGTGGCTTAATTCTC	188
	CCAAACCACTACGTTATC	
OXA-51	TAATGCTTTGATCGGCCTTG	353
	TGGATTGCACTTCATCTTGG.	
OXA-55	CATCTACCTTTAAAATTCCC	975
	AGCTGTTCCCTGCTTGAGCAC	
OXA-50	AATCCGGCGCTCATCCATC	869
	GGTCGGCGACTGAGGCGG	

**Tablo 2. Analizde kullanılan PZR karışımı**

Reaktifler	1X Reak (µL)
Deiyonize Su	11.6
10XTampon	2
MgCl (25 mM)	1.2
dNTP (10 mM)	1.6
Primer X* İleri (10 pmol)	0.6
Primer X* Geri (10 pmol)	0.6
Taq DNA polimeraz (5U)	0.4
Kalıp DNA	2
Toplam	20

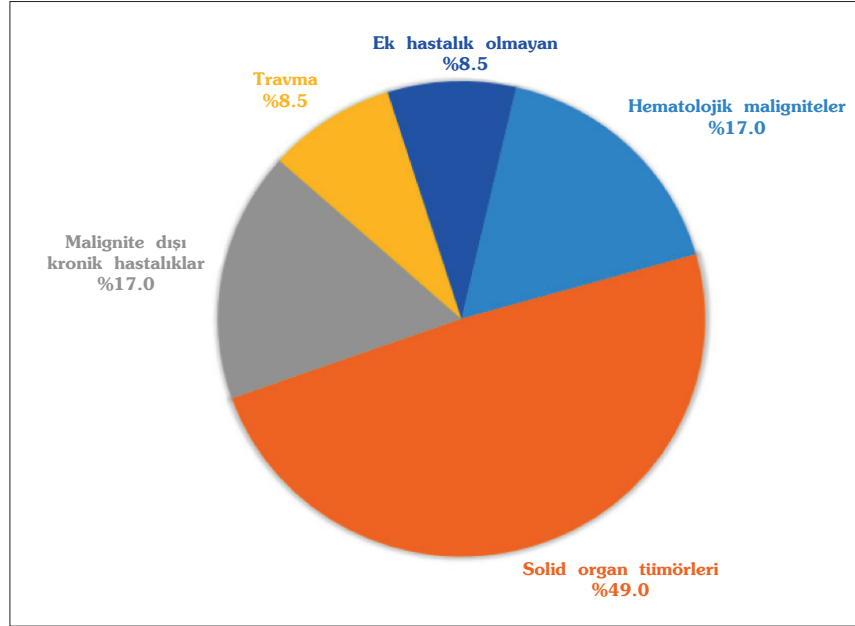
\*X gen bölgesine özgü primerler (NDM-1, OXA-23,24,50,51, 55,58, IMP, VIM, KPC).

(%53.2)'i kadın idi. Hastaların komorbidite durumları incelendiğinde 8'inde (%17) hematolojik malignite, 23'ünde (%49) solid organ tümörü, 4'ünde (%8.5) travma, 8'inde (%17) malignite dışı diğer kronik hastalıklar tespit edilirken, 4 (%8.5) hastada ek hastalık saptanmadı (Grafik 1). Komorbidite du-

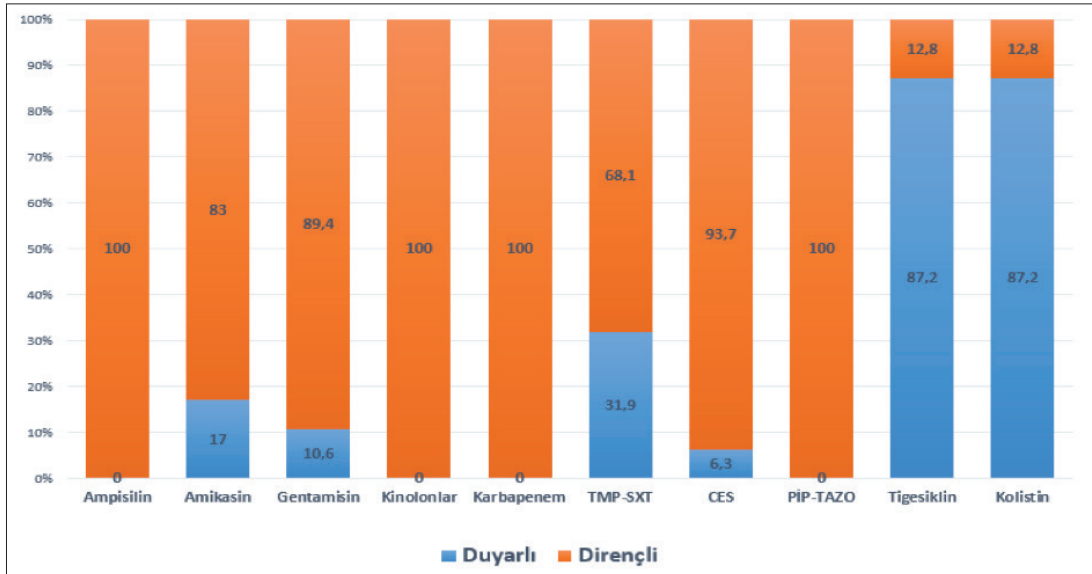
**Tablo 3. Amplifikasyon koşulları**

94°C	3 dakika	
94°C	30 saniye	35 döngü
55°C	30 saniye	
72°C	1 dakika	
72°C	10 dakika	

rumları ile yoğun bakıma kabulünden *A. baumannii* üremesine kadar geçen süre arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p= 0.09). *A. baumannii* izolatlarının duyarlı olduğu antibiyotikler sırasıyla kolistin (%87.2), tigesiklin (%87.2), trimetoprim-sulfametaksazol (%31.9), amikasin (%17), gentamisin (%10.6), sefoperazon-sulbaktam (%6.3) iken, ampisilin-sulbaktam, karbapenemler, kinolonlar, piperasilin-tazobaktam, sefepim ve seftazidime bütün suslar dirençli bulundu (Grafik 2). Kırk yedi izolatın 22'si XDR, 23'ü MDR ve 2'si PDR iken 4 izolat sadece kolistin duyarlı bulundu (Grafik 2). Karbapenem dirençli *A. baumannii* üremesi öncesi



Grafik 1. Hastaların komorbidite durumlarının dağılımı.



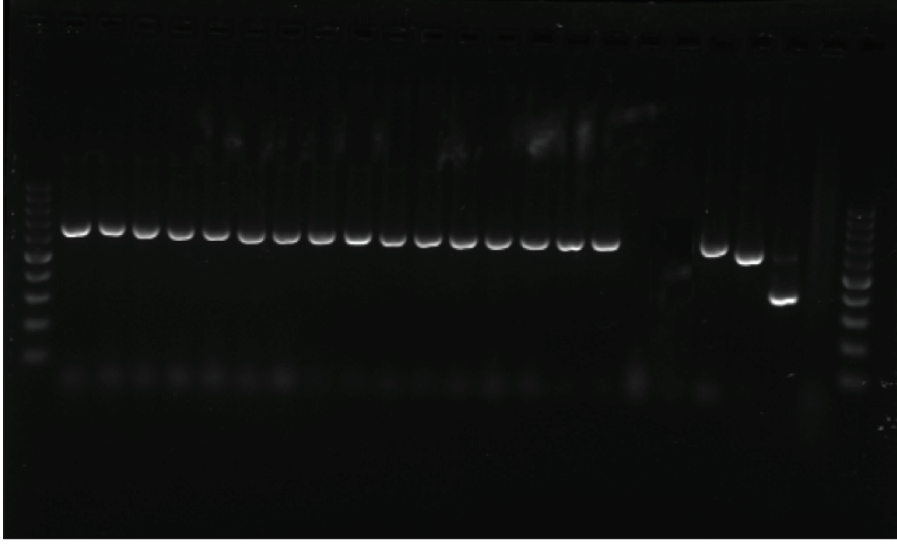
Grafik 2. Acinetobacter izolatlarının antibiyotik duyarlılık oranları.

hastaların istatistiksel olarak anlamlı bir kısmında karbapenem grubu antibiyotik kullanımını vardı; [31 (%66) vs 16 (%34)] ( $p= 0.04$ ).

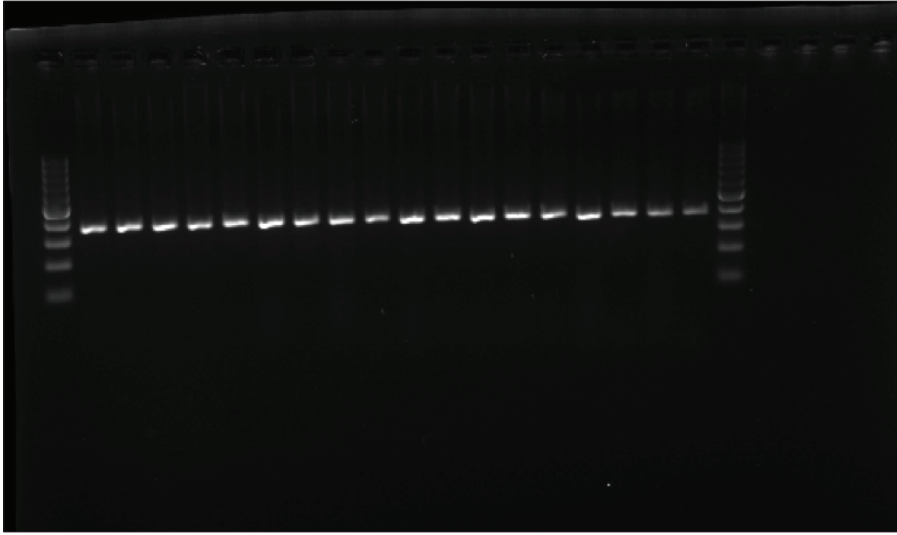
Hastaların yoğun bakıma kabulünden, kültürde *A. baumannii* izole edilmesine kadar geçen süre ortalama  $15.6 \pm 9.7$  gün olarak tespit edildi. Karbapenem kullanan hastalarda karbapenem dirençli *A. baumannii* üremesi  $16.1 \pm 9.2$  gün, karbapenem kullanmayanlarda ise  $14.7 \pm 10.9$

gün sonra tespit edildi ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p= 0.60$ ). Karbapenem kullanan hastalarda yaş ortalaması  $65.8 \pm 15.8$ , karbapenem kullanmayan hastalarda ise  $70.2 \pm 12.5$  idi, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p= 0.30$ ).

İzolatlarda  $bla_{OXA-23}$ , -24, -50, -51, -55, -58, VIM, IMP, KPC ve NDM olmak üzere 10 enzimin üretiminden sorumlu genler multiplex PZR yönte-



Şekil 1. *bla*<sub>OXA-23</sub> (650bp) geninin PCR jel görüntüsü.  
Sondaki 3 pozitif kontrol sırasıyla *bla*<sub>OXA-23</sub> (650bp), *bla*<sub>OXA-58</sub> (599bp) ve VIM (380bp).



Şekil 2. *bla*<sub>OXA-51</sub> (353bp) geninin PCR jel görüntüsü.

miyle çalışıldı. Çalışılan örneklerin tümü (47/47), *bla*<sub>OXA-23</sub> ve *bla*<sub>OXA-51</sub> pozitif olarak bulundu. İzolatlar, taranan diğer tüm genlerin varlığı bakımından negatif olarak saptandı (Şekil 1,2).

Araştırılan izolatların tümünde *bla*<sub>OXA-23</sub> ve *bla*<sub>OXA-51</sub> pozitif ve diğer direnç genleri negatif bulunduğuna için daha önce karbapenem kullanımı ve komorbiditelerin varlığı ile direnç genlerinin varlığı arasında istatistiksel farklılık değerlendirilmesi yapılamamıştır.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada; *A. baumannii* izolatlarında karbapenem direncinden *bla*<sub>OXA-51</sub> ve *bla*<sub>OXA-23</sub> genlerinin sorumlu olduğu tespit edildi. Bu suşların izole edildiği hastaların anlamlı çoğunluğunda öncesinde karbapenem grubu antibiyotik kullanım hikayesi mevcuttu.

İlk olarak 1911 yılında tanımlanmış olan *Acinetobacter* ailesi son 50 yılda nozokomi-

yal patojenler arasında izolasyon sıklığı giderek artan bir etken haline gelmiştir. Günümüzde *Acinetobacter* izolatları büyük oranda aminopenisilinler, üreidopenisilinler, geniş spektrumlu sefalosporinler, kinolonlar, aminoglikozidler, kloramfenikol ve tetrasiklinler gibi sık kullanılan antibiyotiklere karşı dirençli bulunmaktadır. 1980'lerden beri, dirençli suşlar genel olarak hastane kökenli infeksiyonların ortak nedeni haline gelmiştir<sup>[7]</sup>.

Zilberberg ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; solunum yolu ve kan dolaşımı infeksiyonlarında izole edilen *Acinetobacter* suşlarında direnç trendi üç zaman diliminde (2003-2005, 2006-2008, 2009-2012) karşılaştırılmış; en yüksek direnç oranı doripenem (90.3%) ve trimetoprim-sulfametoksazole (55.3%) karşı saptanırken en düşük direnç oranı kolistine karşı görülmüştür (%5.3). Karbapenem direnci 2003-2005 yıllarında %21.0 iken 2009-2012'de %47.9'a yükselmiş, kolistin direnci 2006-2008 yıllarında %2.8'den 2009-2012 yıllarında %6.9'a ulaşmıştır (2 kattan fazla). Çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter* prevalansı 2003-2005'te %21.4'ten 2006-2008 yıllarında %33.7'ye yükselmiş ve 2009-2012 yıllarında %35.2'de stabil kalmıştır<sup>[19]</sup>. Freeman ve arkadaşları tarafından iki eğitim hastanesinde yapılan bir çalışmada karbapenem dirençli *A. baumannii* prevalansı 2010 yılından 2012 yılına kadar %47'den %77'ye yükselmiştir<sup>[20]</sup>. Kuzey Vietnam'da bir referans hastanesinde Van ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, *A. baumannii* izolatlarında %90'ın üzerinde karbapenem direnci tespit edilmiştir<sup>[21]</sup>. Türkiye'de Ocak 2006-Haziran 2011 tarihleri arasında çeşitli örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde antimikrobiyal direnç oranları değerlendirilmiş; bu altı yılda seftazidim direncinin %70.2'den %82.7'ye, sefepim %26.4'ten %79.7'ye, imipenem direncinin %27.2'den %77.2'ye, meropenem direncinin %4.5'ten %77'ye, siprofloksasin direncinin ise %40.4'ten %78.9'a yükseldiği saptanmıştır. Üçüncü kuşak sefalosporinler ve imipenem'in yoğun kullanımının, karbapenem direnç problemine katkıda bulunduğu düşünülmüştür. Bu çalışmada 2011 yılı ilk altı aylık döneminde tigesiklin ve kolistin karşı sırayla %5.9 ve %0.2 oranlarında direnç saptanmıştır<sup>[22]</sup>. Polimiksinler *Acinetobacter*

infeksiyonlarının tedavisinde iyi seçenekler olmalarına rağmen bu ajanlara karşı da direnç gelişimi söz konusu olabilmektedir. Bir gözlemsel çalışmada kolistin direnci Avrupa'da klinik izolatların %2.7'sinde, Kuzey ve Latin Amerika'da %1.7'inde tespit edilmiştir<sup>[23]</sup>.

Dirençli *Acinetobacter* suşları için florokinolon veya beta-laktam (özellikle de karbapenem) kullanım öyküsü, metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) ile kolonizasyon, YBÜ'ye yatış öyküsü, hemodiyaliz, santral venöz kateter varlığı, malignite, geçirilmiş cerrahi, mekanik ventilasyon ve bakım hastası olmak bağımsız risk faktörleri olarak tanımlanmaktadır<sup>[24]</sup>. *Acinetobacter* türlerinde son zamanlarda ortaya çıkan çoklu ilaç direnci bu etkenlere bağlı infeksiyonların tedavisinde karbapenemlerin sıkça kullanımına neden olmuş ve bu ilaca karşı da direnç artmıştır<sup>[25]</sup>. Tayvan'da yapılan bir çalışmada YBÜ'de takip edilen, başlangıçta imipenem duyarlı MDR *A. baumannii* ile infekte veya kolonize olan hastalarda sonradan gelişen imipenem direncinde tüm risk faktörleri arasında sadece karbapenem kullanımı çok değişkenli analizde bağımsız risk faktörü olarak saptanmıştır<sup>[26]</sup>. Brezilya'da yapılan bir çalışmada YBÜ'de, MDR ve karbapenem dirençli *A. baumannii* kolonizasyon ve infeksiyonunda; mekanik ventilasyon, santral kateter kullanımı, daha önce karbapenem ve üçüncü kuşak sefalosporin kullanımı, karaciğer transplantasyonu, önceki infeksiyon ve hastalığın klinik şiddeti risk faktörü olarak bulunmuştur<sup>[27]</sup>. Bizim çalışmamızda izolatların tamamı karbapenem dirençli olduğu için risk analizi yapılamamış olsa da yukarıda sayılan risk faktörlerinden birçoğunun kendi hasta grubumuzda da karbapenem direncine katkıda bulunduğunu düşünmekteyiz. Özellikle, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde hastaların %66'sında dirençli *A. baumannii* izolasyonu öncesinde karbapenem kullanımı mevcut idi ( $p=0.04$ ).

Doğal beta-laktamaz olan OXA-51 benzeri beta-laktamaz kümesi, sınıf D oksasilinazlardan biri olup *A. baumannii* türleri tarafından üretilebilmektedir. *Acinetobacter* izolatlarında karbapenem hidrolize eden kazanılmış oksasilinazlar ilk olarak Edinburg Üniversitesinde izole edilen suşta gösterilmiş ve OXA-23 olarak isimlendirilmiştir<sup>[28]</sup>. Daha sonra farklı coğrafik bölgelerde en az 18 değişik OXA-51 varyantı gösterilmiştir. Bu enzimlerin tümü zayıf



karbapenemaz aktivitesine sahiptir. *A. baumannii* OXA-51 benzeri enzim analizleri, tüm izolatlarda *bla*<sub>OXA-51</sub> benzeri gen bulunmasına rağmen sadece ISAbal ile komşu olan *bla*<sub>OXA-51</sub> benzeri genleri taşıyan susların karbapenem dirençli olduğu göstermiştir. Bu nedenle ISAbal, *bla*<sub>OXA-51</sub> için düzenleyici gibi görünmektedir<sup>[29]</sup>. OXA-51 enzim kümesi üyeleri *A. baumannii*'nin hemen hemen tüm izolatlarında doğal yapı olmasına rağmen diğer *Acinetobacter* türlerinde bulunmamaktadır<sup>[30]</sup>. Bu enzimlerin sıklıkla diğer edinilmiş OXA-tipi enzimlerle kombine olarak bulunduğu belirtilmiş ve karbapenem direncinde sinerjik rolü olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda karbapenem dirençli *A. baumannii* suslarının tamamında OXA-51 kodlayan genin varlığı gösterilmiştir. *A. baumannii* klinik izolatlarında çok ilaca direncin genetik temelini araştırıldığı bir çalışmada 49 MDR izolatı arasında karbapenemaz genlerinden *bla*<sub>OXA-23</sub>, *bla*<sub>OXA-40</sub>, *bla*<sub>OXA-51</sub> ve *bla*<sub>OXA-58</sub> araştırılmış; *bla*<sub>OXA-23</sub> imipenem MIC>32 µg/mL olan izolatların tamamında tespit edilmiş olup bu geni içermeyen izolatlarda imipenem MIC<32 µg/mL olduğu görülmüştür. İzolatların %97.9'unda *bla*<sub>OXA-51</sub> varlığı gösterilirken, *bla*<sub>OXA-40</sub> ve *bla*<sub>OXA-58</sub> hiçbir izolatla saptanmamıştır<sup>[31]</sup>. Çin'de 2012 yılında yapılan bir çalışmada YBÜ hastalarından izole edilen 33 *A. baumannii* izolatı incelenmiş; bunların %54.5'i karbapenem dirençli bulunmuştur. Kolistin, %3 direnç oranı ile *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde en etkili antibiyotik kabul edilmiştir. Karbapenem dirençli susların %94.4'ünde *bla*<sub>OXA-23</sub> geni saptanırken, bu gen karbapenem duyarlı suslardan yalnızca birinde tespit edilmiştir. Bu bir süsta gen haritalama ile ISAbal geninin gösterilemeyip, diğer *bla*<sub>OXA-23</sub> pozitif susların çoğunda (%88.2, 15/17) tespit edilmiş olması karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarındaki ISAbal geninin önemini göstermiştir. Çalışılan tüm izolatlarda *bla*<sub>OXA-51</sub> pozitif bulunurken; hiçbirinde *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>SIM-1</sub>, *bla*<sub>OXA-24</sub> ve *bla*<sub>OXA-58</sub> benzeri genler saptanmamıştır<sup>[32]</sup>. Bu iki çalışmada da bizim çalışmamızda olduğu gibi karbapenem direncinden OXA-51 ve OXA-23 enzimini kodlayan genler sorumlu tutulmuştur.

Ülkemizden SENTRY Antimicrobial Surveillançe Programı bünyesinde iki merkezin (Ankara ve İstanbul) katıldığı çalışmada 2000-2006 yılları ara-

sında toplam 321 *A. baumannii* izolatı değerlendirilmiştir. Bu izolatların çoğu kan dolaşımı (%66.4) ve solunum yolu infeksiyonlarından (%24.3) elde edilmiştir. Çalışılan izolatlara karşı polimiksinler (%99.3) ve tigesiklin (%99.0) en etkili ajanlar olarak bulunmuştur. İmipenem ve meropenem duyarlılığı yaklaşık %52 olup tobramisin duyarlılığı %43.9 olarak saptanmıştır. Yedi yıllık çalışma süresince imipenem duyarlılık oranı %80.4'ten %40'a; meropenem duyarlılık oranı ise %71'den %40'a gerilemiştir. 2006 yılında toplanan imipenem, meropenem ve seftazidime dirençli suslar karbapenemaz varlığı açısından taranmış, hiçbir izolatla, EDTA varlığında imipenem MIC değerlerinde düşüş olmaması metallo-beta-laktamaz taşımadıklarını düşündürmüştür. Karbapenemaz aktivitesi gösteren oksasilinazları kodlayan genlerden *bla*<sub>OXA-23</sub>, -24, -58 varlığı araştırıldığında izolatların %59.1'inin *bla*<sub>OXA-23</sub>, %40.9'u *bla*<sub>OXA-58</sub> taşıdığı saptanmış olup biri hariç *bla*<sub>OXA-58</sub> taşıyan izolatların tamamının Ankara'dan, yine biri hariç *bla*<sub>OXA-23</sub> taşıyan izolatların tamamının da İstanbul'dan gönderildiği tespit edilmiştir. Buna göre OXA tipi karbapenemazların dağılımında bölgesel farklılıkların olabileceği düşünülmüştür<sup>[33]</sup>. Sarı ve arkadaşları çalışmasında çok ilaca dirençli kolistine duyarlı *A. baumannii* suslarının tamamında OXA-51 ve OXA-23 kodlayan genler pozitif bulunmuş, hiçbirinde OXA-40 ve OXA-58-benzeri enzimleri kodlayan gen saptanmamıştır<sup>[34]</sup>. Bizim çalışmamızda da klinik izolatların çoğu kan dolaşımı ve solunum yolu örneklerinden elde edilmiş olup, en etkili bulunan antibiyotikler kolistin ve tigesiklin olmuştur. Merkezimizde OXA-23 karbapenem direncinden sorumlu tutulan enzim olarak bulunmuştur.

Ülkemizin de aralarında bulunduğu Akdeniz ülkelerinde, 1999-2009 yılları arasında karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında OXA-58 kodlayan gen baskın olarak gösterilmiştir. Ancak 2009 yılından itibaren OXA-23 artarak OXA-58'in yerini almaya başladığı ifade edilmektedir. İleri sürülen hipoteze göre; OXA-23 pozitif suslar karbapenemleri daha yüksek konsantrasyonlarda inhibe ettikleri için secici avantaja sahip olduklarından OXA-58 pozitif susların yerini almışlardır<sup>[35,36]</sup>. Bizim çalışmamızda da *A. baumannii* izolatlarının tamamında OXA-23 pozitif bulunurken, OXA-58 hiçbir süsta tespit edilememiştir.

Ambler sınıf B'de yer alan IMP, VIM, SIM, NDM metallo-beta-laktamazlar (MBL), aztreonam dışında karbapenemler de dahil tüm beta-laktamları hidrolize edici kapasiteye sahiptir. A. baumannii izolatlarında tanımlanan MBL'ler OXA tipi karbapenemazlardan daha az görülmesine rağmen karbapenemleri hidrolize edici etkileri 100-1000 kat daha fazladır<sup>[37]</sup>.

Telli ve arkadaşlarının 2017'de *Acinetobacter* spp. klinik izolatlarında karbapenem direncinin moleküler epidemiyolojisini araştırdıkları çalışmada 122 suş incelenmiş olup; karbapenem dirençli suşlar genotiplendirildiğinde biri hariç A. baumannii olarak tanımlanmıştır. Direnç genlerinin analizinde 5 suşta OXA-58, 18 suşta OXA-23, 4 suşta hem OXA-23 hem OXA-58 birlikte bulunurken, OXA-24'e hiçbir suşta rastlanmamıştır. A. baumannii'de doğal olarak bulunan OXA-51 kodlayan gen tüm izolatlarda pozitif bulunmuştur. Metallo-beta-laktamazlardan VIM, IMP, SPM, GIM, SIM genleri hiçbir suşta bulunmayıp, NDM-1 direnç geni A. baumannii dışı bir suşta bulunmuştur<sup>[38]</sup>. Kore'den yapılan bir çalışmada toplam 1234 imipenem dirençli *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp. suşu MBL yönünden araştırılmış; MBL genleri *Acinetobacter* spp. suşlarının %24.77'sinde (135/545) tespit edilmiştir. Genlerin dağılımına bakıldığında ise %61,48'inde (83/135) VIM-2, %34,81'inde (47/135) IMP-1 ve %5,18'inde (7/135) SIM-1 saptanmıştır. SIM-1 tipi MBL'ler ilk defa bu çalışmada yayınlanmıştır<sup>[39]</sup>. MBL varlığını saptamak için PZR analizi güvenilir bir yöntem olmasına rağmen, kullanılan primerler tüm MBL genlerini kapsamadığından, MBL genleri her zaman saptanamayabilir<sup>[40]</sup>. Bizim çalışmamızda değerlendirilen karbapenem dirençli *Acinetobacter* izolatlarında multiplex PZR yöntemi ile VIM, IMP ve NDM enzimlerini kodlayan genlere rastlanmadı.

Bu çalışmada karbapenem duyarlı yeterli sayıda suş olmaması nedeniyle antibiyotik kullanımı açısından dirençli ve duyarlı suşlar arasında karşılaştırma yapılamaması bir kısıtlılık olarak değerlendirildi.

## SONUÇ

Tedavi seçeneklerinin kısıtlılığı, yüksek mortalite ve morbidite oranları, ek tedavi maliyeti gibi birçok nedenle dirençli suşlarla infeksiyon, ülkemizde ve dünyada önemli bir halk sağlığı

sorunu haline gelmiştir. Karbapenem dirençli A. baumannii kökenlerinin hastanede yaygınlaşmasını önlemek için infeksiyon kontrol önlemlerine uyulması ve sağlık çalışanlarına bu konuda eğitim verilmesi gerekmektedir. A. baumannii gibi çoğul ilaç dirençli patojenlere karşı gerekli önlemlerin zamanında alınması için tedavi merkezlerinde antibiyotik duyarlılık paternlerinin izlenmesi ve yeni direnç mekanizmalarının zamanında belirlenmesi için moleküler epidemiyolojik çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı kanaatindeyiz.

## ETİK KURUL ONAYI

Çalışma retrospektif ve sadece laboratuvara dayalı olduğu için etik kurulu onayına sunulmamıştır. Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesinden 18.06.2016 tarihli EPK onayı alınmıştır.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## YAZAR KATKISI

Anafikir/Planlama: ÖG, Gİ, SC, ME

Analiz/Yorum: Tüm yazarlar

Veri sağlama: ÖG, Gİ, SC, ED

Yazım: ÖG, Gİ, ME

Gözden Geçirme ve Düzeltme: Gİ, ME

Onaylama: Tüm yazarlar

## KAYNAKLAR

1. Taşova Y, Akgün Y, Saltoğlu N, Yılmaz G, Kara O, Dündar İ. Nozokomiyal *Acinetobacter* infeksiyonları. *Flora* 1999;4(3):170-6.
2. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al. The Nonfermentative Gram-Negative Bacilli. In: Winn WC, Koneman EW, editors. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 6 ed: Lippincott williams & wilkins.
3. Schreckenberger P, Daneshvar M, Weyant R, Hollis D. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. In: Murray P, Baron E, Pfaller M, Landry M, Jorgensen J, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 9 ed: Washington, ASM Press; 2007. p.770-802.
4. Bergogne-Berezin E, Joly-Guillou ML. Hospital infection with *Acinetobacter* spp.: an increasing problem. *J Hosp Infect* 1991;18 Suppl A:250-5.
5. Gospodarek E, Krasnicki K, Ziolkowski G, Kasprzak H, Beuth W. Cerebrospinal meningitis with the presence of *Acinetobacter* spp. *Med Sci Monit* 2000;6(1):50-4.

6. Temel A, Eraç B. Küresel bir tehdit: *Acinetobacter baumannii* infeksiyonları, antimikrobiyal dirençte güncel durum ve alternatif tedavi yaklaşımları. *Turk Hij Den Biyol Derg* 2020;77(3):367-78.
7. Weaver RE, Actis LA. Identification of *Acinetobacter* species. *J Clin Microbiol* 1994;32(7):1833.
8. Richards AM, Abu Kwaik Y, Lamont RJ. Code blue: *Acinetobacter baumannii*, a nosocomial pathogen with a role in the oral cavity. *Mol Oral Microb* 2015;30(1):2-15.
9. Greene C, Vadlamudi G, Newton D, Foxman B, Xi C. The influence of biofilm formation and multidrug resistance on environmental survival of clinical and environmental isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Am J Inf Cont* 2016;44(5):e65-71.
10. Kaplan N, Rosenberg E, Jann B, Jann K. Structural studies of the capsular polysaccharide of *Acinetobacter calcoaceticus* BD4. *Eur J Biochem* 1985;152(2):453-8.
11. Goel VK, Kapil A. Monoclonal antibodies against the iron regulated outer membrane Proteins of *Acinetobacter baumannii* are bactericidal. *BMC Microbiol* 2001;1:16.
12. Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G. The distribution of *Acinetobacter* species in clinical culture materials. *Zentralblatt für Bakteriologie : Int J Med Microb* 1993;279(4):544-52.
13. Gradon JD, Chapnick EK, Lutwick LI. Infective endocarditis of a native valve due to *Acinetobacter*: case report and review. *Clin Infect Dis* 1992;14(5):1145-8.
14. Speller D, Humphreys H. Hospital-acquired infection. In: Collier L, Balows A, Sussman MT, editors. *Topley & Wilson's Microbiology and microbial infections*. 9 ed: London. Arnold.; 1998. p. 187-229.
15. Ozvatan T, Akalin H, Sirtas M, Ocakoglu G, Yilmaz E, Heper Y, et al. Nosocomial *Acinetobacter pneumonia*: Treatment and prognostic factors in 356 cases. *Respirology (Carlton, Vic)* 2016;21(2):363-9.
16. Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *J Infect Dis* 2008;197(8):1079-81.
17. Hsueh PR, Teng LJ, Chen CY, Chen WH, Yu CJ, Ho SW, et al. Pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2002;8(8):827-32.
18. Paterson DL. The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin Infect Dis* 2006;43 Suppl 2:S43-8.
19. Zilberberg MD, Kollef MH, Shorr AF. Secular trends in *Acinetobacter baumannii* resistance in respiratory and blood stream specimens in the United States, 2003 to 2012: A survey study. *J Hosp Med* 2016;11(1):21-6.
20. Freeman R, Moore LS, Charlett A, Donaldson H, Holmes AH. Exploring the epidemiology of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria in west London and the utility of routinely collected hospital microbiology data. *J Antimicrob Chemother* 2015;70(4):1212-8.
21. Van TD, Dinh QD, Vu PD, Nguyen TV, Pham CV, Dao TT, et al. Antibiotic susceptibility and molecular epidemiology of *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex strains isolated from a referral hospital in northern Vietnam. *J Glob Antimicrob Res* 2014;2(4):318-21.
22. Eroğlu C, Ünal N, Karadağ 1 A, Yılmaz H, Acuner İÇ, Günaydın M. Çeşitli klinik örneklerden 2006-2011 yılları arasında izole edilen *Acinetobacter* türleri ve antibiyotik duyarlılıkları. *TurkHij Den BiyolDerg* 2016;73(1):25-32.
23. Halstead DC, Abid J, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex and *Enterobacteriaceae* collected as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial. *J Infect* 2007;55(1):49-57.
24. Vitkauskiene A, Dambrauskiene A, Cerniauskiene K, Rimdeika R, Sakalauskas R. Risk factors and outcomes in patients with carbapenem-resistant *Acinetobacter* infection. *Scandinavian J Infect Dis* 2013;45(3):213-8.
25. Goic-Barisic I, Tonkic M. The review of carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Acta Med Croatica* 2009;63(4):285-96.
26. Ye JJ, Huang CT, Shie SS, Huang PY, Su LH, Chiu CH, et al. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors for appearance of imipenem resistant strains on patients formerly with susceptible strains. *PloS ONE* 2010;5(4):e9947.
27. Romanelli RM, Jesus LA, Clemente WT, Lima SS, Rezende EM, Coutinho RL, et al. Outbreak of resistant *Acinetobacter baumannii*-measures and proposal for prevention and control. *Braz J Infect Dis* 2009;13(5):341-7.
28. Paton R, Miles RS, Hood J, Amyes SG, Miles RS, Amyes SG. ARI 1: beta-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents* 1993;2(2):81-7.
29. Çiftci İH, Aşık G. *Acinetobacter baumannii*'nin antibiyotik direnç mekanizmaları. *Ankem Derg* 2011;25(3):196-207.
30. Mussi MA, Limansky AS, Viale AM. Acquisition of resistance to carbapenems in multidrug-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of beta-barrel outer membrane proteins. *Antimicrob Chemother* 2005;49(4):1432-40.
31. Adams-Haduch JM, Paterson DL, Sidjabat HE, Pasculle AW, Potoski BA, Muto CA, et al. Genetic basis of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates at a tertiary medical center in Pennsylvania. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2008;52(11):3837-43.
32. Zhong Q, Xu W, Wu Y, Xu H. Clonal spread of carbapenem non-susceptible *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit in a teaching hospital in China. *Ann Lab Med* 2012;32(6):413-9.
33. Gur D, Korten V, Unal S, Deshpande LM, Castanheira M. Increasing carbapenem resistance due to the clonal dissemination of oxacillinase (OXA-23 and OXA-58)-producing *Acinetobacter baumannii*: report from the Turkish SENTRY Program sites. *J Med Microbiol* 2008;57(Pt 12):1529-32.

- Sari B, Baran I, Alaçam S, Mumcuoğlu İ, Kurşun Ş, Aksu N. nozokomiyal çok ilaca dirençli acinetobacter baumannii izolatlarında oksasilineaz genlerinin multipleks PZR ile araştırılması ve klonal ilişkilerinin Rep- PZR ile değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2015;49(2):249-58.
34. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev 2008;21(3):538-82.
35. Liakopoulos A, Miriagou V, Katsifas EA, Karagouni AD, Dakos GL, Tzouveleki LS, et al. Identification of OXA-23-producing Acinetobacter baumannii in Greece, 2010 to 2011. Euro Surveill 2012;17(11).
36. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: mechanisms and epidemiology. Clinical microbiology and infection: the official publication of the Eur Soc Clin Microb Infect Dis 2006;12(9):826-36.
37. Telli M, Eyigör M, Korkmazgil B, Aydın N, Atalay M. Acinetobacter spp. Klinik İzolatlarında Karbapenem Direncinin Moleküler Epidemiyolojisi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2017.
38. Lee K, Yum JH, Yong D, Lee HM, Kim HD, Docquier JD, et al. Novel acquired metallo-beta-lactamase gene, bla(SIM-1), in a class 1 integron from Acinetobacter baumannii clinical isolates from Korea. Antimicrob Agent 2005;49(11):4485-91.
39. Aktas Z, Kayacan CB. Investigation of metallo-beta-lactamase producing strains of Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii by E-test, disk synergy and PCR. Scandinavian J Infect Dis 2008;40(4):320-5.

#### Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Dr. Gülşen İSKENDER

Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji

Eğitim ve Araştırma Hastanesi,

İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği,

Ankara-Türkiye

E-posta: golshan1669@hotmail.com