

Karbapenem Dirençli *Acinetobacter baumannii* Klinik İzolatlarında Sınıf D Beta Laktamaz Varlığının Araştırılması[§]

Demet GÜR VURAL*, Belma DURUPINAR**

*Gebze Fatih Devlet Hastanesi, Kocaeli

**Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun

ÖZ

Amaç: *Acinetobacter baumannii* aerobik, gram negatif, glikozu fermente etmeyen çoğunlukla yoğun bakım ünitelerinde meydana gelen enfeksiyon salgınlarında sıklıkla yer alan fırsatçı bir patojendir. Son yıllarda *A. baumannii*'ye artan ilginin başlıca nedenlerinden biri salgınlar ve çoğul ilaca dirençli suşların (MDR) ortaya çıkmasına yol açan direnç belirleyicilerini kazanma ve biriktirme yeteneğine olan eğilimidir. Bu organizmanın hastane çevresinde uzun süre yaşayabileceği özelliği, genetik fleksibilitesi ve yüksek uyum yeteneği, karbapenemleri de içeren bir çok antimikrobiyal sınıfa dirençli MDR *A. baumannii* suşlarının özellikle son bir kaç yılda hızlı ve global yayılımının nedeni olmuştur. Karbapenemler *A. baumannii* tedavisinde kullanılan beta laktam grubu önemli ajanlardır. *Acinetobacter* türlerinde karbapenem direnci dünya çapında giderek artan oranlarda rapor edilmekte ve gelişmekte olan antimikrobiyal direncin habercisi olmaktadır. Günümüzde karbapenem dirençli *A. baumannii*, antibiyotik tedavisi için seçeneklerin sınırlı olması nedeniyle önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. *Acinetobacter* türlerinin karbapenem direnç mekanizmaları arasında en yaygın olanı OXA-tipi enzimlerdir. *A. baumannii*, OXA-23 ve türevleri, OXA-24 ve türevleri, OXA-51 ve türevleri ve OXA-58 olarak özetlenebilecek 4 farklı karbapenemleri hidrolize edebilen enzim ailesini içerebilmektedir. Bu çalışmada, hastanemizden çeşitli servislerinde izole edilen karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında OXA tipi Sınıf D Beta Laktamazların araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamına çeşitli klinik örneklerden soyulanan 100 karbapenem dirençli *A. baumannii* klinik izolatu dâhil edildi. VITEK2 sistemi (bioMérieux, ABD) ile izolatlar tür düzeyinde tanımlandı ve antimikrobiyal duyarlılık testleri yapıldı. İmipenem ve meropenem Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) değerleri CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) önerileri doğrultusunda sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptandı. İzolatlarda OXA karbapenemazlardan olan bla_{OXA-23}, bla_{OXA-24}, bla_{OXA-51}, bla_{OXA-58} gen bölgelerinin varlığı PZR ile araştırıldı.

Bulgular: Antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarına göre tüm izolatlar piperasilin, sefepim ve seftazidime dirençli bulunmuştur. Çalışmadaki *A. baumannii* klinik izolatlarının tamamı kolistine duyarlı görülmektedir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile bütün izolatlar imipenem ve meropeneme dirençli bulunmuştur. İzolatların tamamında *A. baumannii*'ye özgü olan bla_{OXA-51} pozitif bulundu. İzolatların %93'ünde bla_{OXA-23} pozitif bulundu. İzolatlarda bla_{OXA-24} ve bla_{OXA-58} gen bölgelerine saptanmadı.

Sonuç: OXA tipi karbapenemazların yaygınlığı ile beta-laktam antibiyotiklere karşı direncin yüksek seviyede olması dikkat çekicidir. Çalışmamız sonucunda karbapenem direncinin; OXA-51 tip doğal oksasilinazın aşırı üretimi sonucu ve OXA-23 enzim geninden kaynaklanabileceği; bunun yanında diğer direnç mekanizmalarının ileri çalışmalarda incelenmesini gerektirdiği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, karbapenem, oksasilinazlar

ABSTRACT

Investigation of the Presence of Class D Beta-lactamases in Clinical Isolates of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*

Objective: *Acinetobacter baumannii* is an aerobic, gram negative and glucose non-fermenting opportunistic pathogen that is frequently associated with outbreaks mostly in intensive care units. One of the main reasons for the growing interest in *A. baumannii* in recent years is its tendency to produce outbreaks and its ability to acquire and to accumulate resistance determinants that lead to the emergence of multidrug resistant (MDR) strains. The survival of this organism in hospital environment for long periods, its genetic flexibility and high adaptability has resulted in rapid and global spread of MDR *A. baumannii* strains resistant to many antimicrobial classes, including carbapenems, especially in the last few years. Carbapenems are important agents of the beta-lactam group that are used in the treatment of *Acinetobacter baumannii* infections. Carbapenem resistance in *Acinetobacter* species has been increasingly reported throughout the world and has become the indicator of emerging antimicrobial resistance. Carbapenem resistant *A. baumannii* is considered as an important health problem today because of limited number of treatment options. The most common mechanisms of carbapenem resistance in *Acinetobacter* species involves OXA-type enzymes. *A. baumannii* can produce four different families of enzymes including OXA-23, OXA-24, OXA-51 and OXA-58 and derivatives of all these 4 enzymes that can hydrolyze carbapenems. In this study, we aimed to investigate OXA-type Class D beta-lactamases on carbapenem-resistant *A. baumannii* strains isolated from various clinics of our hospital.

Material and Methods: One hundred clinical isolates of carbapenem-resistant *A. baumannii* isolated from various clinical specimens were included in the study. Isolates were identified and their antibiotic susceptibility tests were performed by VITEK 2 system (bioMérieux, USA). Minimal Inhibitory Concentration (MIC) values for imipenem and meropenem were determined by broth microdilution method according to the recommendations of CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). The presence of OXA carbapenemases namely bla_{OXA-23}, bla_{OXA-24}, bla_{OXA-51}, bla_{OXA-58} gene regions in isolates was investigated by PCR.

Results: All isolates were found to be resistant to piperacillin, cefepime and ceftazidime according to the antimicrobial susceptibility test results. All *A. baumannii* clinical isolates in the study appeared to be susceptible to colistin. All isolates were found to be resistant to imipenem and meropenem with broth microdilution method. *A. baumannii* specific bla_{OXA-51} was found to be positive in all isolates. While bla_{OXA-23} was found to be positive in 93% of the isolates, bla_{OXA-24} and bla_{OXA-58} gene regions weren't detected in isolates.

Conclusion: The high level of resistance to beta lactam antibiotics and the high prevalence of OXA type carbapenemases are remarkable. As a result of the study, it was concluded that carbapenem resistance may occur as a result of the overproduction of OXA-51 type natural oxacillinases and the presence of OXA-23 gene. Additionally, further studies are needed to investigate other resistance mechanisms.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, carbapenem, oxacillinases

Alındığı tarih: 04.10.2016

Kabul tarihi: 02.01.2017

Yazışma adresi: Demet Gür Vural, Gebze Fatih Devlet Hastanesi, Kocaeli

e-posta: demet-gur@yandex.com

[§] Bu çalışma II. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi'nde (9-13 Kasım 2013, Antalya) poster bildiri olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Acinetobacter baumannii hastane kaynaklı ve bazen toplumdan kazanılmış enfeksiyonların etkeni olarak son on yılda önem kazanmış Gram negatif bir kokobasildir⁽¹⁾. 1960'lı yıllarda patojenitesinin oldukça düşük olması nedeniyle klinik örneklerden izole edildiğinde göz ardı edilmiş olsa da günümüzde *A. baumannii* özellikle yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'nde en önemli patojenlerden biri olmuştur⁽¹⁾.

Nozokomiyal *A. baumannii* enfeksiyonları, kritik hastalarda ventilatör ilişkili pnömoni, bakteriyemi, yara enfeksiyonları ve nozokomiyal menenjit; toplumdan kazanılmış enfeksiyonları ise, olağan dışı durumlarda başlıca pnömoni ve yara enfeksiyonlarından oluşur⁽¹⁾. *A. baumannii* enfeksiyonları için predispozan faktörler; antibiyotik tedavisi, major cerrahi, yanıklar, immünsupresyon, invaziv araç varlığı ve özellikle mekanik ventilasyondur⁽¹⁾.

Son yıllarda *A. baumannii*'ye artan ilginin başlıca nedenlerinden biri salgınlar ve çoğul ilaca dirençli suşların (MDR) ortaya çıkmasına yol açan direnç belirleyicilerini kazanma ve biriktirme yeteneğine olan eğilimidir⁽¹⁾. Bu organizmanın hastane çevresinde uzun süre yaşayabilme özelliği, genetik fleksibilitesi ve yüksek uyum yeteneği, karbapenemleri de içeren birçok antimikrobial sınıfına dirençli MDR *A. baumannii* suşlarının özellikle son birkaç yılda hızlı ve global yayılımının nedeni olmuştur⁽¹⁾. YBÜ'nde *A. baumannii* klinik izolatlarının %30'dan fazlası sıklıkla fluorokinolonlar ve karbapenemleri içeren en az üç antibiyotik sınıfına dirençlidir⁽¹⁾.

Acinetobacter türlerinde karbapenem direnci dünya çapında giderek artan oranlarda rapor edilmekte ve gelişmekte olan antimikrobiyal direncinin habercisi olmaktadır⁽²⁾. Surveyans çalışmaları karbapenem dirençli izolatların oranının son on yılda Avrupa, Kuzey Amerika ve Latin Amerika'da kademeli olarak arttığını göstermektedir⁽³⁾. Karbapenem dirençli *A. baumannii* salgınları Türkiye'nin de içinde bulunduğu birçok Avrupa, Ortadoğu, Kuzey Amerika ve Latin Amerika, Uzakdoğu ve Kuzey

Afrika ülkelerinde farklı coğrafik bölgelerden dökümanite edilmiştir⁽³⁾. Günümüzde artık karbapenem dirençli *A. baumannii*, antibiyotik tedavisi için seçeneklerin sınırlı olması nedeniyle önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir.

Karbapenemler çoklu ilaca dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarında tercih edilen antibiyotiklerdir. Kazanılmış karbapenem direnci sıklıkla IMP-, VIM- ve SIM-tipi metallo-beta-laktamazlar ya da OXA-tipi karbapenamazlar ile ilişkilidir. OXA-23, OXA-24, OXA-58 tip sınıf D karbapenamazlar ve doğal oksasilinaz (OXA-51)'in aşırı üretimi *A. baumannii*'de kazanılmış karbapenem direncinden sorumludur⁽²⁾. Bu çalışmada, hastanemiz servislerinden izole edilen karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında OXA tipi Sınıf D beta laktamazların araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bakteriyel izolatlar ve antimikrobiyal duyarlılık testleri: Ocak 2011-Haziran 2011 tarihleri arasında Bakteriyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen yinelemesi olmayan karbapenem dirençli 100 *A. baumannii* izolatı çalışmaya dâhil edildi. İzolatların tür düzeyinde tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları VITEK2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistem kullanılarak belirlendi. Karbapenem duyarlılıkları disk difüzyon testleri ile de doğrulandı. Duyarlılık testleri sonuçları CLSI M100-S21 standartlarına göre duyarlı (S), ara duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak kategorize edildi⁽⁴⁾. CLSI M100-S21'in önerileri doğrultusunda imipenem ve meropenem MİK değerleri belirlendi⁽⁴⁾. Testte katyon ayarlı Mueller-Hinton-Buyyon (KAMHB) ve U tabanlı 96 kuyucuklu plaklar kullanıldı. Kontrol suş olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanıldı. Çalışmada kullanılan imipenem (Merck&Co Inc, ABD) ve meropenem (AstraZenica, ABD) üretici firmadan temin edildi. Antibiyotik konsantrasyonları imipenem ve meropenem için son konsantrasyon 256 µg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Bakteriler çalışma zamanına kadar -80°C'de %10'luk gliserinli buyyon besiyeri içerisinde saklandı. Sonuçlar CLSI M100-S22 klavuzuna göre değerlendirildi⁽⁴⁾.

DNA ekstraksiyonu: Klinik ve pozitif kontrol suşlarında DNA ekstraksiyonu "Invitrogen PureLink Genomic DNA Kit"i kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı.

PZR amplifikasyonu: PZR'de *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerinin çoğaltılması için gerekli primer çiftleri Tablo 1'de sunulmuştur.

PZR'de *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerinin saptanması Woodford ve ark.'nın⁽⁵⁾ çalışması esas alınarak konvulsiyonel PZR ile çalışıldı. Her reaksiyona pozitif kontrol olarak *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerini içeren *A. baumannii* suşu eklendi. *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerinin amplifikasyonu için Tablo 2'de belirtilen döngü kullanıldı⁽⁵⁾. Pozitif kontrol suşları Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir. Ayrıca her reaksiyona kalıp DNA yerine steril distile suyun kullanıldığı, bir negatif kontrol de eklendi.

PZR ürünü DNA'ların (amplikonların) tespiti için DNA jel elektroforezi kullanıldı. Jel UV ışığı altında Gel Doc XR (Bio-Rad, ABD) cihazı ile görüntülendi ve Quantity One (Bio-Rad, ABD) yazılımı kullanılarak görüntüler kaydedildi. Beklenen yerde DNA bandı saptanan örnekler PZR pozitif olarak kaydedildi. Bu araştırma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Yönetim Birimi tarafından PYO.TIP.1904.11.013 proje numarası ile desteklenmiştir

BULGULAR

Çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primer çiftleri⁽⁵⁾.

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

Tablo 2. *bla*_{OXA} allellerinin PZR yöntemindeki sıcaklık döngüleri.

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

A. baumannii izolatu kullanıldı. Bu izolatların 38 (%38)'i trakeal aspirat örneklerinden, 17 (%17)'si balgam, 14 (%14)'ü kan, 14 (%14)'ü idrar, 4 (%4)'ü yara, 3 (%3)'ü eksuda, 3 (%3)'ü akıntı ve 7 (%7)'si de çeşitli klinik örneklerden (apse, ameliyat materyali, beyin-omurilik sıvısı gibi) izole edildi.

İzole edilen suşların çoğunluğu yoğun bakım ünitesinden gelen örneklerdendi. Suşların kliniklere göre dağılımı Tablo 3'te sunulmuştur.

Çalışmaya alınan karbapenem dirençli *A. baumannii* klinik izolatlarının VITEK2 sistemi (BioMérieux, ABD) ile yapılan antimikrobiyal duyarlılık sonuçları Tablo 4'te verilmiştir. Tüm izolatlar piperasilin, sefepim ve seftazidime dirençli bulunmuştur. Çalışmadaki *A. baumannii* klinik izolatlarının tamamı kolistine duyarlı bulunmuştur.

Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile elde edilen imipenem ve meropenem MİK değerlerine göre suşların dağılımı Tablo 5'te verilmiştir. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile orta duyarlı bulunan izolatlar dirençli kabul edilmiştir⁽⁶⁾. Meropenem MİK değerleri imipenem MİK değerlerine göre yüksek bulunmuştur.

Tablo 3. Gönderilen materyallerin servislere göre dağılımı.

Klinik	Sayı	%
Yoğun bakım ünitesi	28	28.0
Göğüs hastalıkları	13	13.0
Dâhiliye	12	12.0
Beyin cerrahi	8	8.0
Genel cerrahi	5	5.0
Üroloji	5	5.0
Hematoloji	4	4.0
Nöroloji	4	4.0
Onkoloji	4	4.0
Enfeksiyon	3	3.0
Çocuk yoğun bakım	3	3.0
Plastik cerrahi	2	2.0
Yenidoğan yoğun bakım	2	2.0
Çocuk sağlığı	1	1.0
Diğer	6	6.0
Toplam	100	100.0

Tablo 4. *Acinetobacter baumannii* izolatlarının VITEK2 sistemi ile saptanan antimikrobiyal duyarlılık sonuçları.

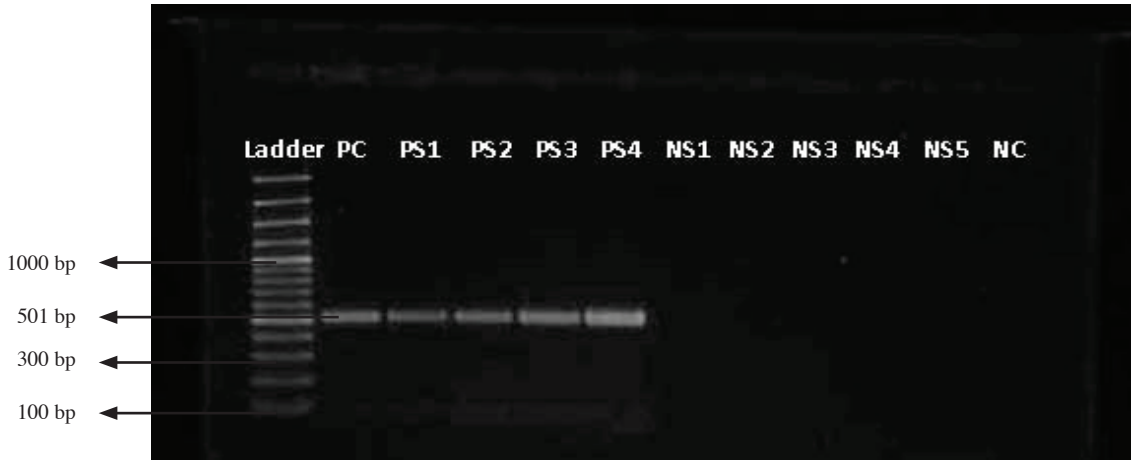
Antibiyotik	Duyarlı %	Orta derecede duyarlı %	Dirençli %
Amikasin	27	11	62
Sefepim	-	-	100
Seftazidim	-	-	100
Siprofloksasin	1	-	99
Kolistin	100	-	-
Gentamisin	38	-	62
Levofloksasin	2	8	90
İmipenem	-	-	100
Meropenem	-	-	100
Piperasilin	-	-	100
Piperasilin-Tazobaktam	1	-	99
Tetrasiklin	16	12	72
Trimetoprim-Sulfametoksazol	27	-	73

Tablo 5. İmipenem ve meropenem MİK değerlerine göre suşların dağılımı.

MİK değerleri (µg/ml)	8	16	32	64	128	256
İmipenem MİK değerine göre suşların sayıları	4	44	37	13	1	1
Meropenem MİK değerine göre suşların sayıları	2	14	42	34	7	1

Tablo 6. OXA tipi karbapenemazların pozitiflik oranları.

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

**Şekil 1.** *bla*_{OXA-23} gen bölgesinin PZR sonrası jel görüntüsü.

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

Karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatının PZR'lerinde tüm reaksiyonlarda pozitif kontrol olarak kullanılan *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerine ait bantlarda görüntü saptandı. Her reaksiyon sonrası jelin son kuyucuklarına eklenen negatif kontrollerin hiçbirinde bant gözlenmedi. Yüz karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatının PZR'de *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58} gen bölgelerinin tespit edildiği jel görüntüleri Şekil 1-4'te sunulmuştur.

PZR ile izolatların hepsinde *bla*_{OXA-51} gen bölgesi saptandı. İzolatların 93'ünde *bla*_{OXA-23} gen bölgesi saptanırken, *bla*_{OXA-24} ve *bla*_{OXA-58} gen bölgesi hiçbir izolatta saptanmadı. OXA tipi karbapenemazların pozitiflik oranları Tablo 6'da sunulmuştur.

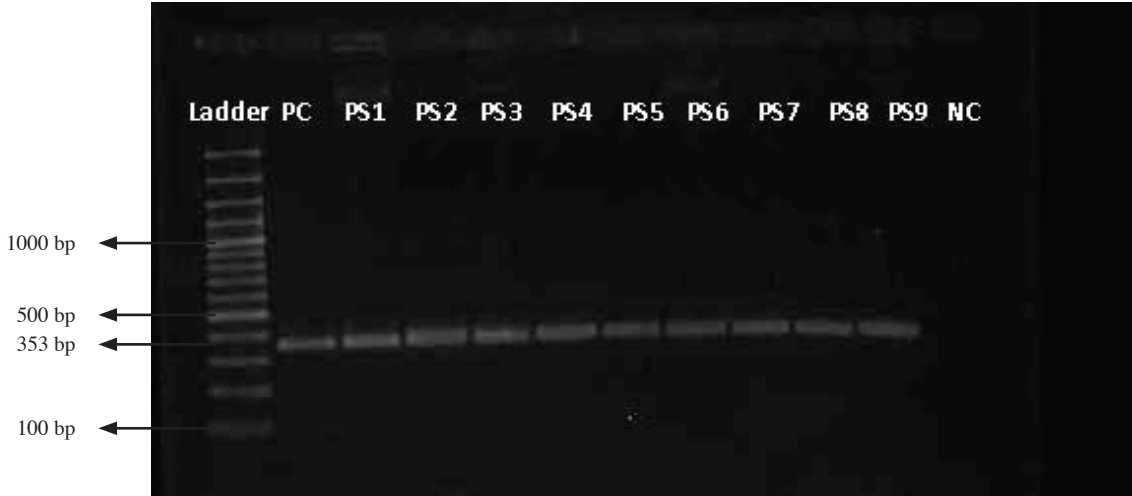
TARTIŞMA

Acinetobacter baumannii enfeksiyonları, dünya



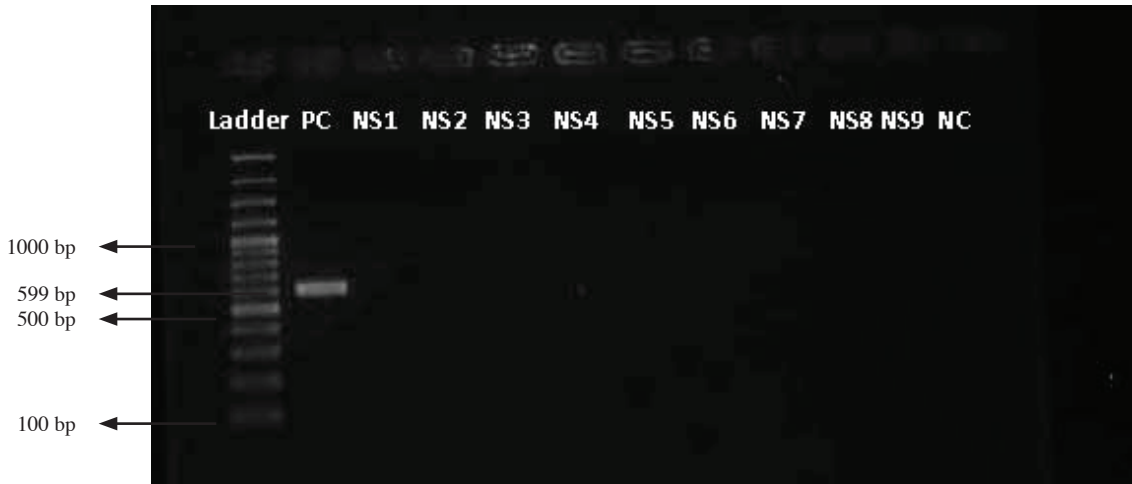
Şekil 2. *bla*_{OXA-24} gen bölgesinin PZR sonrası jel görüntüsü.

Ladder: Promega 100 bp DNA Ladder Plus; PS: Pozitif Suş; NS1-9: Negatif Suş; PC: *bla*_{OXA-24} pozitif *A. baumannii*; NC: Negatif Kontrol



Şekil 3. *bla*_{OXA-51} gen bölgesinin PZR sonrası jel görüntüsü

Ladder: Promega 100 bp DNA Ladder Plus; PS 1-9: Pozitif Suş; NS: Negatif Suş; PC: *bla*_{OXA-51} pozitif *A. baumannii*; NC: Negatif Kontrol



Şekil 4. *bla*_{OXA-58} gen bölgesinin PZR sonrası jel görüntüsü.

Ladder: Promega 100 bp DNA Ladder Plus; PS: Pozitif Suş; NS 1-9: Negatif Suş; PC: *bla*_{OXA-58} pozitif *A. baumannii*; NC: Negatif Kontrol

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

Acinetobacter suşlarının izole edildiği örneklerin dağılımı çeşitli çalışmalarda farklılıklar göstermektedir. Gözütok ve ark.'nın⁽⁷⁾ Kayseri'de yaptıkları çalışmada, *A. baumannii* izolatları en sık kan, (%39), ikinci sıklıkta trakeal aspirat (%30), üçüncü sıklıkta idrar (%27) örneklerinde tespit edilmiştir. Keskin ve ark.⁽⁸⁾ yapmış oldukları çalışmada, *A. baumannii* izolatlarını %35.3 ile en sık trakeal aspirat, %27.3 ile ikinci sıklıkta kan, %18.4 ile üçüncü sıklıkta apse örneklerinden elde etmişlerdir. Çalışmamızda, *A. baumannii*'nin yüksek oranda trakeal aspirattan izole edilmesinin ventilatör ekipmanlarındaki kolonizasyona bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda *A. baumannii* izolatlarının servislere göre dağılımı incelendiğinde en fazla yoğun bakım ünitesinden izole edildiği, ikinci sırada göğüs hastalıkları kliniği, üçüncü sırada ise dâhiliye kliniğinin yer aldığı görülmektedir. Çalışma grubumuz bu yönüyle değerlendirildiğinde, diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur^(9,10).

Karbapenemler *A. baumannii*'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen ilaçlardır. Ancak son yıllarda karbapenem dirençli izolatların sayısında artış gözlenmektedir. Ülkemizde yapılan birçok çalışmada, karbapenem direncinin yıllar içinde arttığı dikkat çekmektedir. Çiftçi ve ark.'nın⁽⁹⁾ 2008-2011 yıllarını kapsayan çok merkezli olarak yaptıkları çalışmada, karbapenem direnç oranlarında önemli artış gözlenmiş ve karbapenem direncinin %70'in üzerine çıktığı saptanmıştır. Gözütok ve ark.'nın⁽⁷⁾ 2013 yılında yaptığı çalışmada, imipenem ve meropenem %91 oranında direnç saptarken, Keskin ve ark.⁽⁸⁾ 2014'te sırası ile %91.5

ve %92 oranında direnç saptamışlardır.

Acinetobacter baumannii'de karbapenemlere direnç gelişimine neden olan birçok mekanizma vardır. Karbapenem direncinde etkili olan mekanizmalar kromozomal ya da plazmid aktarımlı karbapenemazlar, dış membran proteinlerinde kayıp, *CarO* geninin yokluğu, penisilin bağlayıcı proteinlerin modifikasyonu, effluks sistemleri olarak sıralanabilir⁽³⁾. Karbapenem dirençli *A. baumannii*'de dirençten sorumlu en önemli mekanizma karbapenem hidrolize eden beta laktamazlardır⁽³⁾. *A. baumannii*'de karbapenemaz aktivitesi olan en yaygın beta laktamaz grubu, çoğunlukla bu türler için spesifik olan karbapenem hidroliz eden sınıf D β -laktamazlardır. Bu grupta *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24/40} ve *bla*_{OXA-58} ile temsil edilen, kromozomal ya da plazmid aktarımlı üç ana kazanılmış karbapenem hidrolize eden sınıf D oksasilinaz gen kümesi tanımlanmıştır. Ayrıca OXA-51 tip doğal oksasilinazın aşırı üretimi de kazanılmış karbapenem direncine neden olmaktadır⁽¹¹⁾. *A. baumannii*'de doğal oksasilinazlar olan *bla*_{OXA-51} benzeri beta-laktamazları kodlayan genler bugüne kadar çalışılan tüm *A. baumannii* izolatlarında kromozomal yerleşimlidir. Çalışmamızda *A. baumannii*'ye özgü *bla*_{OXA-51} geni tüm izolatlarda saptanmıştır, bu da izolatların moleküler doğrulaması niteliğindedir.

OXA türlerinin yayılması yıllara göre farklılıklar göstermiştir. *bla*_{OXA-23} genleri son yıllarda diğer OXA genlerinden daha fazla bildirilmiştir. D'Arezzo ve ark.⁽¹²⁾ İtalya'da 2005-2009 arasında *A. baumannii* izolatları arasında karbapenem direnciyle ilişkili izolatların %71'inde *bla*_{OXA-23} ve %22.8'de *bla*_{OXA-58} varlığını tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacı 2004-2005'teki çalışmasında, izolatların %80.7'sinde *bla*_{OXA-58} gen bölgesi tespit etmiştir⁽¹³⁾. Ergin ve ark.⁽¹⁴⁾ çalışmalarında, *A. baumannii* izolatları arasında *bla*_{OXA-23} (%31) ve *bla*_{OXA-58} (%24) oksasilinazların yayılması yıllara göre değişiklik göstermiştir. 2004-2009 yılları arasında *bla*_{OXA-58} taşıyan oksasilinazlarda artma gözlenirken, 2008-2010 arasında *bla*_{OXA-23} oksasilinazlar yaygın olmuştur⁽¹⁴⁾. Aksoy ve ark.'nın⁽¹⁰⁾ çalışmasında, imipenem dirençli suşlarda *bla*_{OXA-23} ve *bla*_{OXA-51} tüm suşlarda sap-

tanmıştır. Epidemiyolojik çalışmalar tamamlanmamış olmakla birlikte bu prevalans değişikliğinin türe ait klon değişiminden kaynaklandığı düşünülmektedir⁽⁹⁾. Verilerimiz dünya çapında *bla*_{OXA-23} kökenlerinin ortaya çıkışı ile uyumludur.

Sonuç olarak çalışmamızda, PZR ile oksasilinaz enzimlerinden OXA-23, OXA-24, OXA-51 ve OXA-58 araştırılmış ve tüm izolatlarda OXA-51 pozitif, OXA-24 ve OXA-58 enzimleri ise negatif olarak bulunmuştur. Bu bulgular doğrultusunda karbapenemaz direncinin; OXA-51 tip doğal oksasilinazın aşırı üretimi ile ilişkili olarak ve OXA-23 enzim geninden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. **Kempf M, Rolain MJ.** Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europa: clinical impact and therapeutic options. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 39:105-14. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.10.004>
2. **Wang H, Guo P, Sun H, et al.** Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:4022-8. <https://doi.org/10.1128/AAC.01259-06>
3. **Zarrilli R, Giannouli M, Tomasone F, Triassi M, Tsakris A.** Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. *J Infect Dev Ctries* 2009; 3:335-41. <https://doi.org/10.3855/jidc.240>
4. **CLSI.** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Document M100-S21, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011.
5. **Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, et al.** Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27:351-3. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2006.01.004>
6. **Fillaux J, Dubois A, Conil JM, Laguerra J, Marty N.** Retrospective analysis of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolates during a 4-year period in a university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27:647-53. <https://doi.org/10.1086/507082>
7. **Gözütok F, Sarıgüzel FM, Çelik İ, Berk E, Aydın B, Güzel D.** Hastane infeksiyonu etkeni *Acinetobacter baumannii* suşlarının antimikrobiyal direnç oranlarının araştırılması. *ANKEM Derg* 2013; 27:7-12. <https://doi.org/10.5578/mb.7796>
8. **Keskin H, Tekeli A, Dolapçı İ, Öcal D.** Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında beta-laktamaz kaynaklı direncin moleküler karakterizasyonu. *Mikrobiyol Bul* 2014; 48:365-76. <https://doi.org/10.5578/mb.7796>
9. **Çiftçi İH, Aşık G, Karakeçe E, ve ark.** *Acinetobacter baumannii* izolatlarında blaOXA genlerinin dağılımı: Çok merkezli bir çalışma. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47:592-602.
10. **Aksoy MD, Çavuşlu Ş, Tuğrul HM.** Investigation of metallo beta lactamases and oxacillinases in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated from inpatients. *Balkan Med J* 2015; 32:79-83. <https://doi.org/10.5152/balkanmedj.2015.15302>
11. **Poirel L, Nordmann P.** Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12:826-36. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01456.x>
12. **D'Arezzo S, Principe L, Capone A, Petrosillo N, Petrucca A, Visca P.** Changing carbapenemase gene pattern in an epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* lineage causing multiple outbreaks in central Italy. *J Antimicrob Chemother* 2011; 6:54-5. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq407>
13. **D'Arezzo S, Capone A, Petrosillo N, et al.** Epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* related to European clonal types I and II in Rome (Italy). *Clin Microbiol Infect* 2009; 15:347-57. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02668.x>
14. **Ergin A, Hasçelik G, Eser EK.** Molecular characterization of oxacillinases and genotyping of invasive *Acinetobacter baumannii* isolates using repetitive extragenic palindromic sequence-based polymerase chain reaction in Ankara between 2004 and 2010. *Scand J Infect Dis* 2012; 45:26-31. <https://doi.org/10.3109/00365548.2012.708782>