Türk Mikrobiyol Cem Derg 47(4):190-196, 2017
doi:10.5222/TMCD.2017.190

Araştırma

Acinetobacter spp. Klinik İzolatlarında Karbapenem Direncinin Moleküler Epidemiyolojisi

Murat TELLİ*, Mete EYİGÖR, Berna KORKMAZGİL*, Neriman AYDIN*, Mustafa Altay ATALAY*****

**Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın*

***Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya*

****Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri*

ÖZ

Amaç: *Acinetobacter baumannii çoklu antimikrobiyal direnç gösterebilen ve hastaneden kazanılmış enfeksiyonlarda önemi olanbir patojendir. Çoklu ilaca dirençli A. baumannii suşlarının tedavisinde karbapenemler seçenektir. Çalışmamızda, karbapenem dirençli A. baumannii suşlarında direnç mekanizmalarının ve moleküler epidemiyolojisinin araştırılması amaçlanmıştır.*

Gereç ve Yöntem: *Çalışmamızdaki 122 Acinetobacter spp. kökeninin tanımlanmasında tam otomatik tanımlama kitleri kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları CLSI Klavuzuna göre test edilmiş ve yorumlanmıştır. Bu suşlarda, OXA-23 grup, OXA-24 grup OXA-51 grup, OXA-58 grup oksasilinaz genleri ve IMP, VIM, GIM, SPM, SIM, NDM-1 metallo-betalaktamaz genleri PZR ile araştırılmıştır. Klonal dağılımı PFGE ile araştırılmıştır.*

Bulgular: *Karbapenem dirençli 42 suş bulunmuştur. ARDRA deneyi ile 41 tanesi A. baumannii, bir tanesi Acinetobacter sp. olarak tanımlanmıştır. Bu suşların tamamı sefaperazon/sulbaktam, piperasilin/tazobaktam, seftazidime dirençli, %95'i siprofloksasine, %86'sı amikasine, %21'i tigesikline, %12'si polimiksine dirençli, kolistine dirençli suş bulunmamıştır. Suşların 30'u bir klona ait (A) bulunmuştur. Karbapenem dirençli suşlardan 18'i (%78) OXA-23 grup, 5'i (%12) OXA-58 grup direnç geni pozitif bulunurken OXA-24 grup direnç genine sahip suş bulunmamıştır. Yirmi üç (%54) suşta yalnızca OXA-51 grup pozitif bulunmuştur. Dört suşta, OXA-23 ve OXA-58 direnç geni beraber bulunmuştur. Karbapenemaz enzimlerinden IMP, VIM, GIM, SPM, SIM genleri bulunmaz iken, A. baumannii dışı bir suşta NDM-1 direnç geni bulunmuştur.*

Sonuç: *Acinetobacter spp. suşları bir suş dışında A. baumannii bulunmuştur. Karbapenem direnç oranı %34 bulunmuştur. Karbapenem direncinden en çok oksasilinaz tipi enzimler sorumlu (en sık OXA-51 grup) bulunmuştur. Otuz suşun bir klona ait olması, direnç yayılımında belli bir hastane klonunun sorumlu olduğu gösterilmiştir. Yalnızca A. baumannii dışı bir suşta NDM-1 direnç geni bulunmuştur, diğer metallo-beta laktamaz direnç enzimleri bulunmamıştır.*

Anahtar kelimeler: *Acinetobacter baumannii, karbapenem direnç, epidemiyoloji*

ABSTRACT

Molecular Epidemiology of Carbapenem Resistance in Clinical Isolates of Acinetobacter spp

Objective: *Acinetobacter baumannii can develop multi-drug resistance and is an important pathogen in hospital-acquired infections. Carbapenems are the choice of treatment for A. baumannii strains resistant to multidrug therapy. The aim of this study is to detect carbapenem resistance mechanisms detected in A. baumannii strains, and to investigate molecular epidemiology of this resistance.*

Material and Methods: *We investigated 122 Acinetobacter spp. strains and identified with fully automated identification system. Antimicrobial susceptibilities were tested and interpreted according to the CLSI guidelines. In these strains, metallo-beta-lactamase genes (IMP, VIM, GIM, SPM, SIM, NDM-1) and oxacillinase genes (OXA-23, OXA-24, OXA-51, OXA-58) were investigated with PCR. Clonal distribution was investigated with PFGE.*

Results: *We obtained forty-two carbapenem resistant isolates. Using ARDRA assay 41 of these strains were identified as A. baumannii and one as Acinetobacter spp. All carbapenem resistant isolates were also resistant to cefoperazone/sulbactam, piperacillin/tazobactam and ceftazidime. Other resistance rates were 95% to ciprofloxacin, 86% to amikacin, 21% to tigecycline and 12% to polymyxin. None of the isolates were resistant to colistin. Thirty isolates were found to belong to a unique clone (A). Of the carbapenem resistant isolates 18 (78%) were OXA-23 group and 5 (12%) were OXA-58 group resistance gene positive. OXA-24 group of resistance genes was not observed in any of the isolates. Of the carbapenem resistant isolates 23 (54%) harboured only OXA-51 genes. Both OXA-23 and OXA-58 genes were observed in four isolates. Other karbapenemase genes IMP; VIM, GIM, SPM, SIM, were not detected in any of the isolates while NDM-1 was positive in only one that was non-A. baumannii.*

Conclusion: *In conclusion, carbapenem resistance rate was 34% and all Acinebacter spp. strains were A. baumannii except one. Oxacillinase group of enzymes were found to be more responsible (most frequent OXA-51) from carbapenem resistance. Thirty strains belonged to a unique clone and this hospital clone was considered to be responsible for the spread of resistance. NDM-1 resistance gene and other metallo-beta-lactamase genes were not found in these strains.*

Keywords: *Acinetobacter baumannii, carbapenem, resistance, epidemiology*

Alındığı tarih: 17.05.2017
Kabul tarihi: 22.08.2017
Yazışma adresi: Murat Telli, Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı 09010 Aydın
Tel: (0256) 444 12 56 / 2726
e-posta: mutelli@hotmail.com

GİRİŞ

Acinetobacter türleri nonfermantatif bakterilerin etken olduğu enfeksiyonlarda ikinci sıklıkta izole edilmektedir. İnsanda en sık izole edilen tür *Acinetobacter baumannii*'dir. Bu mikroorganizma; antimikrobiyallere çoğul direnç kazanma ve çevresel yüzeylerde yüksek oranda canlılığını sürdürebilme yeteneği ile hastane ortamında kolayca kolonize olmakta ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde olmak üzere hastane enfeksiyonlarına yol açmaktadır[1,2].

Çoklu ilaca dirençli suşların tedavisi, geniş spektrumlu beta-laktamlara, aminoglikozidlere, fluorokinolonlara dirençli oldukları için zordur. Bu durum tedavide karbapenemlerin sık kullanılmasına neden olmuştur. Günümüzde karbapenem direnci tüm dünyada giderek artan oranlarda bildirilmekte ve önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır[3,4]. *Acinetobacter* türlerinde karbapenemlere direnç; beta-laktamaz üretimi, dış membran porin (omp) kaybı, efflux pompası ve penisilin bağlayan proteinlerde değişiklik gibi çeşitli mekanizmalar ile olmaktadır[5]. *A. baumannii*'de karbapenemlere dirençtensorumlu en yaygın beta-laktamaz tipi kazanılmış oksasilinazlardan, *OXA-23, OXA-24, OXA-40, OXA-58* ve *OXA-143* enzimleri olan serin beta-laktamazlardır. Ayrıca *OXA-51* tipi doğal oksasilinazın aşırı üretimi ve diğer *OXA* enzimleriyle birlikteliği de yüksek düzey karbapenem direncine neden olmaktadır[6,7]. Bu çalışmada, karbapenemlere dirençli *Acinetobacter* spp. suşlarının belirlenerek, dirence en sık neden olan mekanizma/ enzimin ve klonal ilişkilerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

İzolatların Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri: Ocak 2007 ile Eylül 2010 tarihleri arasında hastanemiz Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* spp. olarak tanımlanmış 122 suş çalışmaya dâhil edilmiş ve karbapenem dirençli suşlar araştırılmıştır. Bakteri tanımlanması Phoenix 100 BD (BD Diagnostic, ABD) otomatize sistemi ve/veya Amplified ribosomal DNA restriction analizi (ARDRA) ile yapıldı. Çalışmaya aynı hastadan izole edilen suşlardan yalnızca biri tahlil edilmiştir.

Tüm bakterilerin, imipenem (IMP), meropenem (MEM), sefaperazon/sulbaktam (SCP), piperasilin/tazobaktam (TZP), seftazidim (CAZ), siprofloksasin (CIP), amikasin (AM), gentamisin (GN), duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine göre test edildi ve yorumlandı[12]. Karbapenem dirençli kökenlerde imipenem, meropenem, tigesiklin, sefoperazon/sulbaktam, piperasilin/tazobaktam, amikasin, polimiksin B, kolistin, seftazidim ve siprofloksasin minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) E-test yöntemi (Biomeriux, Fransa) ile üretici firma önerileri doğrultusunda uygulandı ve CLSI kılavuzuna göre yorumlandı[12]. CLSI kılavuzunda sınır değerleri olmaması nedeniyle SCP duyarlılık sınır değerleri <=16, 32, >=64 mg/L[13] olarak ve TG sınır değerleri ise ilaç üreticisi firmanın prospektüs bildirimlerine göre <=2, 4, >=8 mg/L (Wyeth AŞ, İstanbul) olarak alındı. Kontrol suşu olarak *A. baumannii* ATCC 19606 suşu kullanıldı.

Moleküler Yöntemler

Amplified ribosomal DNA restriction analizi (ARDRA): Karbapenem dirençli suşların genotipik tür ayrımı için ARDRA deneyi yapıldı. DNA eldesi için, bir gecelik koyun kanlı besiyerinde inkübe edilmiş suşlardan bir öze dolusu bakteri 500 μL steril distile su içinde süspanse edildikten sonra 95°C'de 15 dakika tutulduktan sonra 14000 rpm de 3 dakika santrifüj edildi. Üsteki sıvı bu test ve daha sonraki testlerde polimeraz zincir reaksiyonlarında (PCR) hedef DNA

araştırılması için kullanıldı. Daha sonra 16S rRNA ait gen spesifik dizileri kullanılarak (Forward-TGGCTCAGATTGAACGCTG GCGGC, Reverse- TACCTTGTTACG ACTTCA CCCCA) PCR yapıldı. Çoğaltılan gen bölgesi Alu I (AGCT), Cfo I (GCGC), Mbo I (GATC), Msp I (CCGG), Rsa I (GTAC) DNA kesim enzimleri ile kesildi ve oluşan bantlar görüntülendi. Bant paternleri gözle değerlendirilerek genomik tür ayrımı yapıldı[8].

Karbapenem Direnç Mekanizmalarının Moleküler Yöntemler ile Araştırılması: Karbapenem direncine neden olan oksasilinaz genlerinden *OXA-23* grup, *OXA-24* grup, *OXA-51* grup, OXA-58 grup ve metallo-betalaktamaz genleri *IPM, VIM, GIM, SPM, SIM, NDM-1* ile *ISAba1* integronlarının varlığı bu enzimleri kodlayan gen bölgelerine ait spesifik primer dizileri kullanılarak *PCR* ile araştırıldı[9-11] (Tablo 1).

Tablo 1. Kullanılan primer dizileri [9-11].

Primer Adı	Gen Dizisi (5'-3')	Baz Büyüklüğü (bp)
OXA23-F	GAT CGG ATT GGA GAA CCA GA	501
OXA23-R	ATT TCT GAC CGC ATT TCC AT	
OXA24-F	GGT TAG TTG GCC CCC TTA AA	246
OXA24-R	AGT TGA GCG AAA AGG GGA TT	
OXA51-F	TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG	353
OXA51-R	TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG	
OXA58-F	AAG TAT TGG GGC TTG TGC TG	599
OXA58-R	CCC CTC TGC GCT CTA CAT AC	
IMP F	GGA ATA GAG TGG CTT AAY TCT C	188
IMP-R	CCA AAC YAC TAS GTT ATC T	
VIM- F	GAT GGT GTT TGG TCG CAT A	390
VIM-R	CGA ATG CGC AGC ACC AG	
GIM-1-F	TCG ACA CAC CTT GGT CTG AA	477
GIM-1-R	AAC TTC CAA CTT TGC CAT GC	
SPM-1- F	AAA ATC TGG GTA CGC AAA CG	271
SPM-1- R	ACA TTA TCC GCT GGA ACA GG	
SIM-1- F	TAC AAG GGA TTC GGC ATC G	570
SIM-1- R	TAA TGG CCT GTT CCC ATG TG	
NDM-1 F	CCA ATA TTA TGC ACC CGG TCG	794
NDM-1 R	ATG CGG GCC GTA TGA GTG ATT G	
ISAba1 F	CAC GAA TGC AGA AGT TG	-
ISAba1 R	CGA CGA ATA CTA TGA CAC	

Konjugasyon Deneyi

Direnç genlerinin plazmid aracılı transferinin araştırılması amacıyla konjugasyon deneyi yapıldı. Alıcı suş olarak *Escherichia coli* J53 (sodyum azid dirençli, 200 mg/L) suşu kullanıldı. Her iki alıcı ve verici suş logaritmik üreme fazı için 3 saat beyin-kalp infüzyonu buyyonda inkübe edildi. Alıcıdan 2.2 ml ile vericiden 0.2 ml karıştırılıp 1 saat inkübe edildi ve ardından selektif besiyerinde transkonjugatlar (200 mg/L sodyum azide, 4 mg/L imipenem) seçildi. Bu transkonjugatlardan plazmid DNA izolasyonu ticari kit kullanılarak üretici firmanın (GeneJET plasmid miniprep kit; Fermentas, İsveç) önerileri doğrultusunda yapıldı ve direnç genleri araştırıldı[14].

Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE)

Karbapenem dirençli suşlardaki klonal ilişkinin ortaya çıkarılması için PFGE deneyi yapıldı. Bir gece koyun kanlı agarda inkübe edilmiş saf *A. baumannii* suşlarından, 1 ml hücre süspansiyon solüsyonunda (HSS; 100M Tris-HCL, 100mM EDTA, ph 8.0) 4 McFarland bulanıklıkta bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bakteri süspansiyonu 13.000 rpm olacak şekilde 2 dakika süre ile santrifüjlendi. Üstteki sıvı atıldı ve pellet 1 ml HSS ile çözüldü. Bu solüsyonun 100 μl ile 5 μl proteinaz K (20 mg/ml stok) karıştırıldı. %1 sodyum dodesilsülfat içeren %2'lik "low melting" agarın 100 μl'si ile bu bakteri süspansiyonu karıştırıldı. Daha sonra bu karışım "plug-mold" kalıplarına dağıtıldı. Oluşan bakteri jel plakları 1 ml hücre lizis solüsyonu (HLS; %50 mM Tris, %50 mM EDTA, pH 8, %1 sarkozil) ve 3 μl proteinaz K (20 mg/mL stok) içeren sıvının içine kondu ve 2 saat 54°C'de inkübe edildi. Daha sonra 2 defa distile su ile 4 defa Tris-EDTA tampon sıvısı ile 50 °C'de yıkama işlemi yapıldı. Lizis sonunda açığa çıkan DNA, ApaI (30 ünite) enzimi ile kesildi. Kesilen DNA parçaları %1'lik agaroz jel içinde CHEF DRIII

(Bio-Rad Laboratories, Belçika) sisteminde 14 °C'de ve 6V/cm²'de 20 saat koşullarında yürütüldü. Oluşan bantlar 15 μl/ 200 ml "safeview" DNA boyayıcı içinde 40 dakika tutularak UV ışıkta görüntülendi. Bantlar arasındaki ilişki "Tenover kriterleri"ne göre gözle değerlendirildi[15,16].

Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (TPF: 10030).

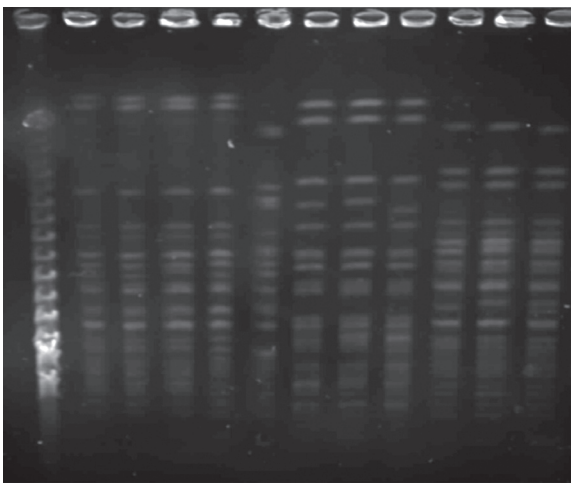
BULGULAR

Çalışmaya alınan 122 *A. baumannii* veya *A. baumannii/calcoaceticus* complex suşu otomatize sistemle tanımlanmıştır. Çalışmamızdaki suşların elde edildiği örneklerin dağılımı şöyleydi: 52'si (%42) solunum yolu, 32'si (%26) kan, 23'ü (%19) yara yeri, 8'i (%7) idrar ve yedisi (%6) diğer örneklerdir (göz, periton, plevra, kateter). Bu örneklerin 38'i (%31) dâhili bilimlere ait servislerinden, 33'ü (%27) cerrahi bilimlere ait servislerinden, 31'i (%26) pediatri servisinden ve 20'si (%16) yoğun bakım ünitelerinden gönderilmişti.

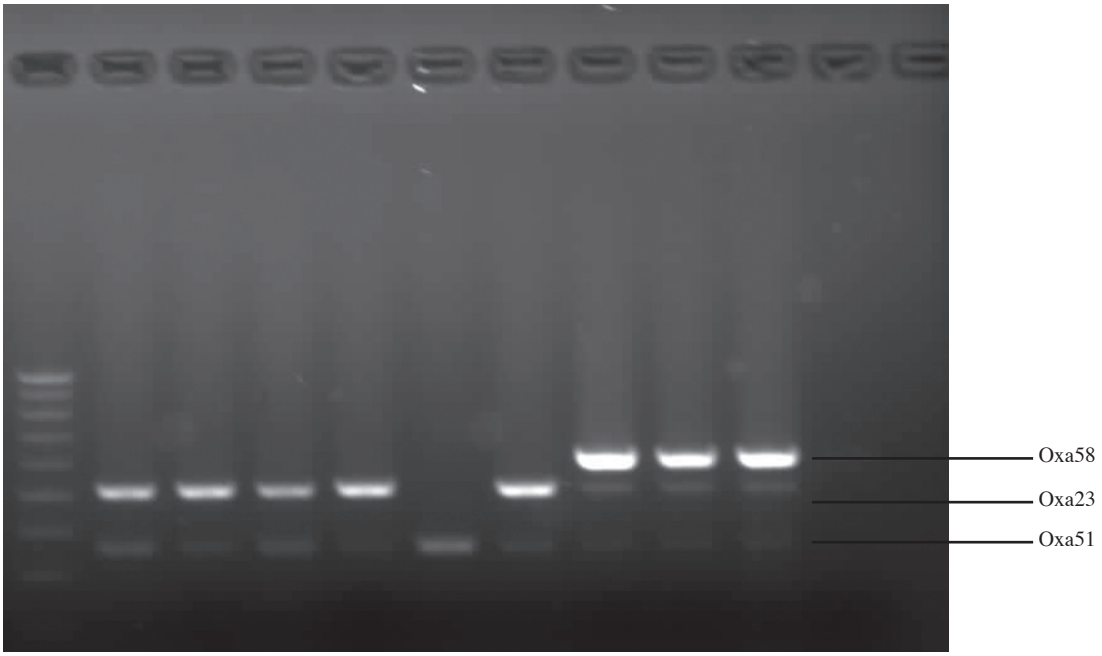
Çalışmaya dâhil edilen 122 suş disk difüzyonla, 42'si (%34) IMP ve MEM'e, 67'si (%55) SCP, 95'i (%78) CAZ, 94'ü (%77) GN, 91'i (%75) CIP, 91'i (75) TZP ve 61'i (%50) AM dirençli bulunmuştur. Karbapenemlere dirençli 42 suşun tamamı SCP, TZP ve CAZ'e dirençli, %95'i CIP, %86'sı AM, %21'i TG, %12'si PO dirençli iken, kolistine dirençli suş bulunmamıştır. Karbapenem dirençli suşların $MİK_{50/90}$ değerleri; imipenem >=64/>=64, meropenem >=64/>=64, piperasilin/tazobaktam >=512/>=512, polimiksin B 1/4, sefoperazon/sulbaktam 128/>=512, kolistin 0.5/2, tigesiklin 1/8, seftazidim >=512/>=512, siprofloksasin >=64/>=64 ve amikasin 128/>=512 olarak bulunmuştur.

Karbapenem dirençli suşların ARDRA yöntemiyle genotiplendirilmesi sonucu 41'i *A. baumannii*, bir suş *A. baumannii*-dışı tür olarak tanımlanmıştır. Karbapenem dirençli suşlarda birbirinden farklı 8 PFGE klonu (a1 subklonunda 30 suş, bunun a2 subklonunda 3 suş, b ve c klonlarında 3'er suş, d klonunda 2 suş, e, f, g, h klonlarında birer suş) bulunmuştur (Şekil 1). Karbapenem dirençli suşların 18'inde (%42) *OXA–23* grup, 5'inde (%12) *OXA-58* grup direnç geni pozitif bulunurken, *OXA-24* grup direnç genine sahip suş bulunmamıştır. Tüm *A. baumannii* suşlarında doğal olarak bulunan *OXA–51* grup direnç geni bulunmuştur. *OXA–51* direnç geni olan ve test ettiğimiz diğer direnç geni olmayan 23 suş bulunmuştur. Dört suşta *OXA–23, OXA-58* direnç geni birlikteliği saptanmıştır. Diğer karbapenemaz enzimlerinden *IMP, VIM, GIM, SPM, SIM* hiçbir suşta bulunmaz iken, *A. baumannii* dışı bir suşta *NDM–1* direnç geni bulunmuştur. *OXA–58* direnç genine sahip suşlar a2(3), f(1), g(1) klonlarına ait iken, *OXA–23* direnç genine sahip olanlar a1(9), b(2), c(3), d(2), e(1), h(1) klonlarına aittir. *NDM–1* direnç genine sahip suş g klonuna ait bulunmuştur. *OXA–23, OXA–53, OXA–51* grup pozitif suşlarda *ISAba1* geni ilişkisi araştırılmış ve hepsinde negatif bulunmuştur.

OXA–23 ve *OXA–51* ve *OXA–53* direnç geni pozitif suşlarda direnç geninin transfer edilebi-



Şekil 1. Seçili izolatlardan PFGE görüntüsü M; marker, A klonu; 77, 97, 127, 150, B klonu; 73, 128, 134, C klonu; 135, 143, 146, D klonu; 158



Şekil 2. Multipleks PCR reaksiyonu ile OXA pozitif seçili izolatların jel görüntüsü.

lirliliği konjugasyon deneyi ile araştırılmış ancak gösterilememiştir. Elde edilen plazmid DNA'da bu genler çoğaltılamamıştır.

TARTIŞMA

Acinetobacter türlerinde görülen çoklu ilaç direnci, *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde, karbapenemlerin yoğun olarak kullanımına neden olmakla birlikte, karbapenem direnci de giderek yaygınlaşmaktadır[7]. Günümüzde, bilinen tüm antibiyotik gruplarına dirençli *A. baumannii* suşları bildirilmektedir[3]. Çalışmamızda, *A. baumannii* izolatlarında karbapenem direnci %34 oranında bulunmuştur. Anabilim Dalı'mızın içinde bulunduğu ulusal bir çalışmada, 2007 yılında *A. baumannii* suşlarında karbapenem direnci görülmez iken, çalışmamızda, karbapenem direnci %34 olarak bulunmuştur[17].

Çalışmamızda, 18 suşta *OXA-23* geni, beş suşta *OXA-58* geni ve dört suşta hem *OXA-23* hem de *OXA-58* geni bulunmuştur. *OXA-24* genine rastlanmamıştır. *Acinetobacter baumannii* suşlarında karbapenem direncinden sorumlu tutulan temel mekanizma *OXA* enzimleridir[18]. *OXA-23* enziminin daha çok İngiltere, Fransa, Brezilya ve Yunanistan'da, *OXA-24* enziminin İspanya'da, *OXA-58* enziminin ise Fransa, İspanya, İtalya, Yunanistan ve Avusturya'da daha sık görüldüğü bildirilmektedir[5]. Türkiye, Yunanistan ve İtalya'nın da aralarında bulunduğu Akdeniz ülkelerini içeren bir çalışmada, 1999-2009 yılları arasında karbapeneme dirençli *A. baumannii* izolatlarında en yaygın genin *OXA-58* olduğu 2009 yılından itibaren ise *OXA-23* geninin giderek artarak *OXA-58* geninin yerini almaya başladığı bildirilmiştir[19]. Sarı ve ark.[20], 62 karbepeneme dirençli *A. baumannii* izolatını incelediklerı çalışmalarında, tümünde *OXA-23* genini saptarken, hiçbirinde *OXA-58*-benzeri enzimleri kodlayan genler saptamamışlardır. *A. baumannii* suşlarında intrinsek olarak bulunan *OXA-51* direnç geninin fazla miktarda üretildiğinde karbapenem direncine katkıda bulunduğu ve *ISAba1* genetik elemanının *OXA-51* geninin önüne gelerek ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir[20,21]. Çalışmamızda, tüm suşlarda *OXA-51* benzeri enzimleri kodlayan genlerin varlığı belirlenmiş,

OXA-23 ve *OXA-58* direnç genine sahip suşlarda ISAba1 insertion sekans bölgesi ile ilişki bulunamamıştır. Direnç genlerinin hiçbiri konjugasyon deneyinde transfer edilememiştir bu da genlerin kromozomda yerleşik olduğunu düşündürmüştür.

Acinetobacter baumannii suşlarında metallo-beta-laktamaz (MBL) türü enzimler *OXA* tipi karbapenemazlardan daha az görülmesine rağmen, MBL'lerin karbapenemaz aktivitesi daha yüksektir[3,22]. IMP direnç geninin daha çok İtalya, Japonya, Güney Kore, Portekiz'de, *VIM* ve *SIM* direnç genlerinin ise daha çok Güney Kore'de görüldüğü bildirilmektedir[5,23]. Çalışmamızda, *IMP, VIM, GIM, SPM* ve *SIM* direnç genlerine rastlanmamış, bir *A. baumanni*-dışı. suşda *NDM-1* direnç geni bulunmuştur.

Çoklu ilaca dirençli *A. baumannii* suşlarının epidemiyolojik olarak tanımlanması önemlidir. *A. baumannii*'ye bağlı salgınlarda genellikle bir baskın klonun epidemiyolojik olarak egemen olduğu bildirilmektedir[18,24]. Hastanelerde kolonize genotiplerin ciddi mortalite ve morbidite artışına neden olabileceği belirtilmektedir[25]. Karbapenem dirençli *A. baumannii* suşlarının özellikle ventilatör ilişkili pnömoni tedavisinde mortalite artışına neden olduğu bildirilmektedir[26]. Çalışmamızda, karbapenem dirençli suşlar sekiz farklı genotipte bulunmuştur. Otuz suşu içeren A genotipini, ağırlıklı olarak pediatri servisinden gönderilen hasta örneklerinden izole edilen suşlar oluşturmaktadır. Bu suşların 2009 Ocak ayı ile 2010 Kasım aylarında kümelenmesi bir epideminin yaşanmış olduğunu düşündürmüştür. Genotip A, en çok solunum yolu örneklerinden (%18), daha sonra invazif örneklerden (%12) izole edilmiştir. Bu genotipin kolonize hastalardan izole edilebildiği gibi ciddi enfeksiyonlara da neden olabileceği görülmüştür. bla_{OXA-23} direnç geni 6 farklı genotipte (A, B, C, D, E, H) bulunmuştur. bla_{OXA-58} direnç geni ise 3 farklı genotipte (A, F, H) bulunmuştur. Her ikisine sahip suşlar iki farklı genotipte (A, H) bulunmuştur. Sadece bla_{OXA-58} geni sahip suşlar 3 farklı genotipte bulunmuş, ancak bunların %91'i (21 suş) genotip A'ya ait iken diğer B ve G genotiplerinde birer suş bulunmuştur. G genotipi *NDM-1* direnç genini içeren tek suşa ait bir genotip olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak, çalışmamızda, *A. baumannii* izolatlarında karbapenem direnci %34 oranında bulunmuştur. Bu dirençten *OXA* tipi direnç enzimleri bunlardan da en çok *OXA-51* grup sorumlu bulunmuştur. *NDM-1* direnç genine sahip *A. baumannii* dışı bir suşta tek bir klona ait olarak bulunmuştur. Klonal dağılım olarak da 8 farklı genotip bulunmuş ve bunların içinde 30 suş tek bir klonda toplanmıştır. Bu bize hastanemizde bir nozokomiyal suşun bulunduğu ve özellikle pediatri servisinde belirli bir zaman aralığında epideminin olduğunu göstermiştir. Ayrıca dirençten sorumlu genlerin direnç oluşturmasında, *ISAba1* dışında bir *insertion* dizisinin sorumlu olabileceği ve daha ileri çalışmaların yapılması gerekliliği ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

1. **Chagas TP, Carvalho KR, de Oliveira Santos IC, Carvalho-Assef AP, Asesnsi MD.** Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Brazil (2008-2011): countrywide spread of OXA-23-producing clones (CC15 and CC79). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014; 79:468-72. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.03.006
2. **Schreckenberger PC, Daneshvar MI, Weyant RS, Hollis DG.** *Acinetobacter, Achromobacter, Chryseobacterium, Moraxella*, and other nonfermentative gram-negative rods. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Phaller MA, Yolken RH eds. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Washington DC: ASM Press, 2003:749-79.
3. **Peleg AY, Seifert H, Paterson DL.** Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21:538-82. https://doi.org/10.1128/CMR.00058-07
4. **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
5. **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

6. **Pasanen T, Koskela S, Mero S, et al.** Rapid molecular characterization of *Acinetobacter baumannii* clones with rep-PCR and evaluation of carbapenemase genes by new multiplex PCR in Hospital District of Helsinki and Uusimaa. *PLoS One* 2014; 9:e85854.
7. **Keyik S, Arslan U, Türk Dağı H, Seyhan T, Fındık D.** Karbapenemlere dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında OXA tipi beta-laktamazların araştırılması ve PFGE ile genotiplendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2014; 48:556-65. https://doi.org/10.5578/mb.8274
8. **Vaneechoutte M, Dijkshoorn L, Tjernberg I, et al.** Identification of *Acinetobacter* genomic species by amplified ribosomal DNA restriction analysis. *J Clin Microbiol* 1995; 33:11-5.
9. **Park YS, Lee H, Lee KS, et al.** Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors for acquisition and prevalent OXA-type carbapenemases-a multicentre study. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36:430-5. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.06.049
10. **Ellington MJ, Kistler J, Livermore DM, et al.** Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo-β-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:321-2. https://doi.org/10.1093/jac/dkl481
11. **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
12. **CLSI.** Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 20th ed. CLSI supplement M100S. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010.
13. **Bradford PA, Sanders CC.** Use of a predictor panel for development of a new disk for diffusion tests with cefoperazone-sulbactam. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36:394-400. https://doi.org/10.1128/AAC.36.2.394
14. **Potron A, Poirel L, Nordmann P.** Plasmid-mediated transfer of the blaNDM-1 gene in Gram-negative rods. *FEMS Microbiol Lett* 2011; 324:111-6. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02392.x
15. **Seifert H, Schulze A, Baginski R, Pulverer G.** Comparison of four different methods for epidemiologic typing of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol* 1994; 32:1816-9.
16. **Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al.** Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33:2233-9.
17. **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; 57:1529-32. https://doi.org/10.1099/jmm.0.2008/002469-0
18. **Park S, Kim HS, Lee KM, et al.** Molecular and epidemiological characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in non-tertiary Korean hospitals. *Yonsei Med J* 2013; 54:177-82. https://doi.org/10.3349/ymj.2013.54.1.177
19. **Liakopoulos A, Miriagou V, Katsifas EA, et al.** Identification of OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* in Greece, 2010 to 2011. *Euro Surveill* 2012; 17:20117.
20. **Sarı B, Baran I, Alaçam S, Mumcuoğlu İ, Kurşun Ş, Aksu N.** Nozokomiyal çok ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında oksasilinaz genlerinin multipleks PCR ile araştırılması ve klonal ilişkilerinin rep-PCR ile değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2015; 49:249-58. https://doi.org/10.5578/mb.8884
21. **Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL.** Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol* 2006; 44:2974-6. https://doi.org/10.1128/JCM.01021-06
22. **Türk Dağı H, Kuş H, Keyik Ş, Arslan U, Tucer İ, Fındık D.** Karbapenemlere dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında metallo-beta-laktamaz varlığının araştırılması. *Ankem Derg* 2012; 26:187-92.
23. **Mezzatesta ML, D'Andrea MM, Migliavacca R, et al.** Epidemiological characterization and distribution of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Italy. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18:160-6. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03527.x
24. **Cicek AC, Karagoz A, Koksal E, et al.** A single clone *Acinetobacter baumannii* outbreak in a state hospital in Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2013; 66:245-8. https://doi.org/10.7883/yoken.66.245
25. **Zarrilli R, Casillo R, Di Popolo A, et al.** Molecular epidemiology of a clonal outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Italy. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13:481-9. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01675.x
26. **Garnacho J, Sole-Violan J, Sa-Borges M, Diaz E, Rello J.** Clinical impact of pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii* in intubated patients: a matched cohort study. *Crit Care Med* 2003; 31:2478-82. https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000089936.09573.F3