

Yaygın-Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Pulsed Field Jel Elektroforezi Yöntemi ile Genotiplendirilmesi

Genotyping of Extreme-resistant *Acinetobacter baumannii* Strains by Pulsed Field Gel Electrophoresis

Büşra Pekince*, Duygu Fındık*, Nurullah Çiftçi*, Fatma Kalem**, Hatice Türk Dağı*, Şerife Yüksekaya***, Tuba Seyhan*, Uğur Arslan*

* Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

** Konya Numune Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Konya, Türkiye

*** Konya Meram Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Konya, Türkiye

Atıf/Cite as: Pekince B, Fındık D, Çiftçi N, et al. Yaygın-dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarının pulsed field jel elektroforezi yöntemi ile genotiplendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2025;55(2):139-147.

ÖZ

Amaç: *Acinetobacter baumannii* özellikle yoğun bakım ünitelerinde ve immün sistemi baskılanmış hastalarda ciddi hastane enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Bu çalışmanın amacı çeşitli klinik örneklerinden izole edilen kolistin ve tigesiklin hariç tüm antibiyotiklere dirençli olarak tespit edilen “Ekstrem-resistan/Yaygın-dirençli (XDR) *A. baumannii* suşlarında antibiyotik direnç genlerinden blaOXA-23-like, blaOXA-24-like, blaOXA-48-like, blaOXA-51-like, blaOXA-58-like, blaOXA-143-like, blaVIM-like, blaIMP-like, blaNDM-1-like, blaSPM-1-like, blaKPC-like, blaGES-like ve blaISAba-like’in belirlenmesi ve izolatlar arasındaki klonal ilişkisinin ortaya çıkarılmasıdır.

Yöntem: Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı’nda 2014-2017 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *A. baumannii* izolatları çalışmaya alındı. Bakteri identifikasyonu konvansiyonel yöntemler ve VITEK 2 Compact (BioMerieux, France) sistemi ile yapıldı. *A. baumannii* izolatlarının kolistin ve tigesiklin hariç bu bakteri için önerilen tüm antibiyotiklere karşı dirençli olması esas kriterdi. Antimikrobiyal duyarlılık testleri European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önerileri doğrultusunda VITEK 2 AST (Antibiotic Susceptibility Test) gram negatif bakteri kartları kullanılarak gerçekleştirildi. Yaygın ilaç dirençli *A. baumannii* suşlarında blaOXA-23-like, blaOXA-24-like, blaOXA-48-like, blaOXA-51-like, blaOXA-58-like, blaOXA-143-like, blaVIM-like, blaIMP-like, blaNDM-1-like, blaSPM-1-like, blaKPC-like, blaGES-like ve blaISAba-like ilaç direnç genleri polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile araştırıldı ve izolatlar arasındaki klonal ilişki Pulsed-Field Jel Elektroforez (PFGE) yöntem ile belirlendi.

Bulgular: Çeşitli klinik örneklerden soyutlanan 70 *A. baumannii* izolatı çalışmaya alındı. İzolatların 29 tanesi sadece kolistine, iki tanesi sadece tigesikline ve 39 tanesi hem kolistine hem tigesikline duyarlı bulunurken, diğer tüm antibiyotiklere ise dirençliydi. Yaygın ilaç dirençli 70 *A. baumannii* izolatının tamamında blaOXA-51-like geni ve %97,1’inde blaOXA-23-like geni tespit edildi. Diğer OXA tiplerinden blaOXA-24-like, blaOXA-48-like, blaOXA-58-like ve blaOXA-143-like genleri belirlenmedi. Karbapenemaz aktivitesinde destekleyici gen olarak görülen blaISAba-like geni ise sadece üç örnekte (%4,2) pozitif olarak bulundu. blaVIM-like, blaIMP-like, blaNDM-1-like, blaSPM-1-like, blaKPC-like ve blaGES-like genleri ise hiçbir izolatta saptanmadı. *A. baumannii* izolatlarının Apal ile kesilen genomik DNA’sına yapılan PFGE yöntem ile 27 grup belirlendi. Dendrogramda izolatların özellikle üç grupta (7, 10 ve 21) yoğunlaştığı görüldü. Bu grupların bazı kliniklerde (Reanimasyon Yoğun Bakım Servisi ve Dahiliye Yoğun Bakım Servisi) baskın olması hastanede muhtemel küçük salgınlar oluşturduğunu düşündürdü.

Sonuç: Bu çalışmada, blaOXA-51-like ve blaOXA-23-like gen bölgelerinin, *A. baumannii* izolatlarında yaygın ilaç direncinde önemli rol oynadığı görüldü. İzolatlarımızda OXA-51-like ve OXA-23-like’un yüksek oranda tespit edilip diğer OXA tiplerinin ve metallo-β-laktamaz genlerinin tespit edilmemesi izolatlardaki yaygın ilaç direncinden bu iki tipin sinerjistik etki göstermesinin veya enzimatik mekanizmalarla beraber dış membran proteinleri ve atım pompa sistemlerinin sorumlu olabileceğini düşündürdü. Yaptığımız klonal çalışmada ise yaygın ilaç dirençli *A. baumannii* izolatların bazı kliniklerde baskın izolatlar olduğu ve aynı izolatların başka kliniklerde yayılmasının servisler arası transfer edilen hastalar ve çapraz bulaşlar sonucu olduğu kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Pulsed Field Jel Elektroforez, Yaygın dirençli *Acinetobacter baumannii*

ABSTRACT

Objective: *Acinetobacter baumannii* may lead to serious hospital infections, especially in intensive care units and in patients with compromised immune systems. The aim of this study was to determine the antibiotic resistance genes of “Extreme-resistant/Common-resistant (XDR)” *A. baumannii* strains which were resistant to all antibiotics except colistin and tigecycline, such as blaOXA-23-like, blaOXA-24-like, blaOXA-48-like, blaOXA-

Alındığı tarih / Received:
23.08.2023 / 23.August.2023

Kabul tarihi / Accepted:
09.03.2025 / 09.March.2025

Yayın tarihi / Publication date:
20.06.2025 / 20.June.2025

ORCID Kayıtları

B. Pekince 0009-0007-6253-0604
D. Fındık 0000-0002-0342-0364
N. Çiftçi 0000-0002-8934-0575
F. Kalem 0000-0002-0191-0917
H. Türk Dağı 0000-0002-0291-4987
Ş. Yüksekaya 0000-0003-2377-2225
T. Seyhan 0009-0000-6102-6878
U. Arslan 0000-0001-6974-9173

✉ ciftcinurullah72@gmail.com

51-like, blaOXA-58-like, blaOXA-143-like, blaVIM-like, blaIMP-like, blaNDM-1-like, blaSPM-1-like, blaKPC-like, blaGES-like and blaISAba-like and to discover the relationship between clonal isolates from various clinical samples.

Methods: *A. baumannii* isolates from various clinical samples were included into the study between 2014-2017 from Selçuk University Medical Faculty Hospital, Medical Microbiology Laboratory. Bacterial identification was performed by both conventional methods and VITEK 2 Compact (BioMerieux, France) system. *A. baumannii* isolates were recommended resistant to all antibiotics for this bacterium, except the colistin and tigecycline. Antimicrobial susceptibility tests were performed by using VITEK 2 AST (Antibiotic Susceptibility Test) gram negative bacterial cards according to the recommendations of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Common drug-resistant *A. baumannii* strains such as blaOXA-23-like, blaOXA-24-like, blaOXA-48-like, blaOXA-51-like, blaOXA-58-like, blaOXA-143-like, blaVIM-like, blaIMP-like, blaNDM-1-like, blaSPM-1-like, blaKPC-like, blaGES-like and blaISAba-like drug resistance genes were investigated by polymerase chain reaction and clonal relationship between the isolates were determined by Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) method. **Results:** Totally 70 *A. baumannii* isolates from various clinical samples were included in the study. Twenty-nine of all isolates were only susceptible to colistin, two isolates to tigecycline and 39 isolates to both colistin and to tigecycline, while all other antibiotics were resistant. All common drug resistant *A. baumannii* strains carried the blaOXA-51-like gene and in 97.1% of all strains blaOXA-23 like gene were detected. Other OXA types such as blaOXA-24 like, blaOXA-48 like, blaOXA-58 like and blaOXA-143 like genes were not identified. blaISAba-like, which is seen as a supporting gene in carbapenemase activity, was found to be positive in only three samples (4.2%). blaVIM-like, blaIMP-like, blaNDM-1-like, blaSPM-1-like, blaKPC-like and blaGES-like genes were not detected in any isolates. Twenty-seven groups were determined by PFGE method for the genomic DNA that was restricted with *Apal* of *A. baumannii* isolates. The dendrogram showed that the isolates were concentrated especially in three groups (7, 10 and 21). The predominance of these groups in some clinics (Reanimation Intensive Care Service and Internal Medicine Intensive Care Service) suggested that they were likely to create small outbreaks in the hospital.

Conclusion: In this study, it is shown that blaOXA-51-like and blaOXA-23-like gene regions have an important role in extrem drug resistance in *A. baumannii* isolates. High levels of blaOXA-51-like and blaOXA-23-like genes were detected in our isolates and other OXA types and metallo- β -lactamase genes were not detected. In this case, we think that the extreme drug resistance of the isolates may be due to the synergistic effects of these two types, or that external membrane proteins and efflux pump systems may be responsible from enzymatic mechanisms. In our clonal study, it was concluded that the isolates that were extremely drug resistant to *A. baumannii* were predominant in some clinics, and the same isolates were spread to the other clinics by the inter-service patients and cross-contamination.

Keywords: Extrem-resistant *Acinetobacter baumannii*, Protein Chain Reaction, Pulsed Field Gel Electrophoresis

GİRİŞ

Acinetobacter cinsindeki bakteriler, kapsüllü, non-fermentatif, oksidaz-negatif, gram-negatif kokobasillerdir. *Acinetobacter baumannii*, diğer *Acinetobacter* türlerine kıyasla çoklu ilaç direncinden ve yüksek mortaliteden sorumlu klinik olarak önemli türlerdir⁽¹⁾. Toplum kökenli enfeksiyonlar bildirilmiş olsa da *A. baumannii*, çoğunlukla hastane enfeksiyonlarına neden olmaktadır⁽²⁾. *A. baumannii*, özellikle yoğun bakım ünitelerinde ve immün sistemi baskılanmış hastalarda ciddi hastane enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter* türleri ile enfeksiyon için risk faktörleri arasında uzun süreli hastanede yatış, mekanik ventilasyon alınması, antimikrobiyal ajanlara maruz kalma, cerrahi işlemler ve invaziv işlemler gösterilmektedir⁽³⁾.

Yeni tanımlamalara göre çoklu ilaç direnci (Multi drug resistant-MDR), *A. baumannii* izolatının en az üç antimikrobiyal gruba (tüm penisilinler ve sefalosporinler, flurokinolonlar ve aminoglikozitlere) dirençli olmasını ifade eder. Yaygın ilaç direnci (Extreme drug resistant-XDR) ise yukarıda tarif edilen antimikrobiallerin üç sınıfına dirençli olan ve aynı zamanda karbapenemlere karşı dirençli olan izolatları kapsar. Yaygın ilaç dirençli izolatların tigesiklin ve kolistin dirençli olması ise pandrug resistant (PDR) *A. baumannii* olarak tanımlanmaktadır⁽⁴⁾. Diğer gram-negatif patojenlerle karşılaştırıldığında,

A. baumannii'nin plazmidler, transposonlar ve integronlar yoluyla yeni direnç mekanizmaları edinme kabiliyeti oldukça dikkate değerdir. *A. baumannii*, enzimatik hidroliz, hedef alan değişiklikleri, porin kaybı ve dışarı atım pompaları dahil olmak üzere çok sayıda direnç mekanizması kullanmaktadır. Diğer birçok gram-negatif türün aksine, bu ilaç direnç mekanizmaları çoklu ve yaygın ilaç dirençli *A. baumannii* izolatlarında sıklıkla birlikte kullanılır⁽⁵⁾.

Bu çalışmanın amacı çeşitli klinik örneklerinden izole edilen kolistin ve tigesiklin hariç tüm antibiyotiklere dirençli olarak tespit edilen "Extrem-resistan/Yaygın-dirençli (XDR) *A. baumannii* suşlarında antibiyotik direnç genlerinden blaOXA-23-like, blaOXA-24-like, blaOXA-48-like, blaOXA-51-like, blaOXA-58-like, blaOXA-143-like, blaVIM-like, blaIMP-like, blaNDM-1-like, blaSPM-1-like, blaKPC-like, blaGES-like ve blaISAba-like'in belirlenmesi ve izolatlar arasındaki klonal ilişkisinin ortaya çıkarılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, Selçuk Üniversitesi, Yerel Etik Kurulu tarafından (06.06.2023 tarih ve 2023/317 sayı) onaylanmıştır.

Örneklerin toplanması, tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları 2014-2017 yılları arasında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji

Laboratuvarı'na gönderilen klinik örneklerden izole edilen *A. baumannii* izolatları çalışmaya alındı. Aynı hastadan birden fazla *A. baumannii* izole edilmiş olsa bile çalışmaya yalnızca bir örneği dâhil edildi. Klinik örneklerden izole bakteriler konvansiyonel yöntemlerle ve tam otomatize VITEK2 (bioMérieux, Fransa) GN kartı ile *A. baumannii* olarak tanımlanmıştır.

Acinetobacter baumannii izolatlarının antibiyotiklere karşı duyarlılıkları European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önerileri doğrultusunda VİTEK 2 AST (Antibiotic Susceptibility Test) gram negatif bakteri kartları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

DNA izolasyonu ve PCR genlerinin Araştırılması

DNA izolasyonu için bakteriler Mueller Hinton Agara ekilerek 37°C'de 24 saat bekletildi. DNA izolasyonu için ticari bir kit olan GeneJet Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, AB) kullanıldı. İzolasyon üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışıldı.

Direnç genlerinin varlığını göstermek için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi kullanıldı. PCR çalışması için gerekli bütün primerler Sentegen (Sentegen Biyoteknoloji, Çankaya, Ankara) tarafından sentezlenmiştir. *blaOXA-23-like*, *blaOXA-24-like*, *blaOXA-48-like*, *blaOXA-51-like*, *blaOXA-58-like*, *blaOXA-143-like*, *blaVIM-like*, *blaIMP-like*, *blaNDM-1-like*, *blaSPM-1-like*, *blaKPC-like*, *blaGES-like* ve *blaISAbA-like* genleri için PCR içeriği her örnek toplam 50 µl olacak şekilde miks hazırlandı. Miks primerlerimize uygun DNA bölgelerini amplifiye etmek için Sensoquest (Labcyler, Almanya) PCR cihazına yerleştirildi.

Pulsed-Field Jel Elektroforez Yöntemi

Mueller Hilton agar besiyerine tek koloni ekimi yapılan bakteriler, bir gecelik inkübasyona bırakıldı. Steril cam tüpler, örnek sayısınca, içerisinde 4 ml hücre süspansiyon tamponu (HST) olacak şekilde hazırlandı. Saf kültür halinde üreyen koloniler öze

ile toplanarak, 4 ml HST içerisinde süspanse edildi. Bakteri yoğunluğu, spektrofotometre yardımıyla 590 nm'de 1 absorbans (yaklaşık 4 Mcfarland bulanıklık) olacak şekilde ayarlandı.

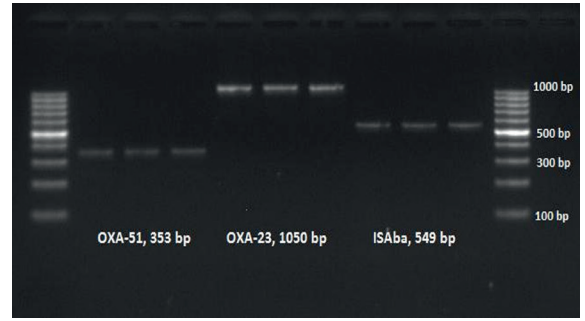
DNA paternleri %1'lik SeaKem Gold agaroz jelde (Gibco BRL Paisley, Birleşik Krallık) CHEF-DRII cihazında 6V/cm akım (Bio-Rad Laboratories, Nazareth, Belçika), 14°C sıcaklık ve 0.5X TBE içerisinde, başlangıç ve bitiş zamanları 5 ve 45 saniye olacak şekilde 120° vuruş açısıyla 17 saat yürütülerek gösterildi. Gel Logic imaging system (Kodak Compamy, NY, ABD) kullanılarak DNA bant görüntülerinin fotoğrafı çekildi. GelComper II yazılım sistemi kullanılarak bant profilleri analiz edildi. UPGMA (Unweighted pair group method with mathematical averaging) metodu ve Dice benzerlik (Dice similarity coefficient) katsayısı kullanılarak PFGE profillerinin dendogramı oluşturuldu ve kümelenme analizi yapıldı. Değerlendirmede tolerans %1 olarak alındı. Bu istatistiksel analizde %95-100 benzer ilişkili ve ayırt edilemez, %90-95 muhtemel ilişkili, %90 ve altı değerler ilişkisiz kabul edildi.

BULGULAR

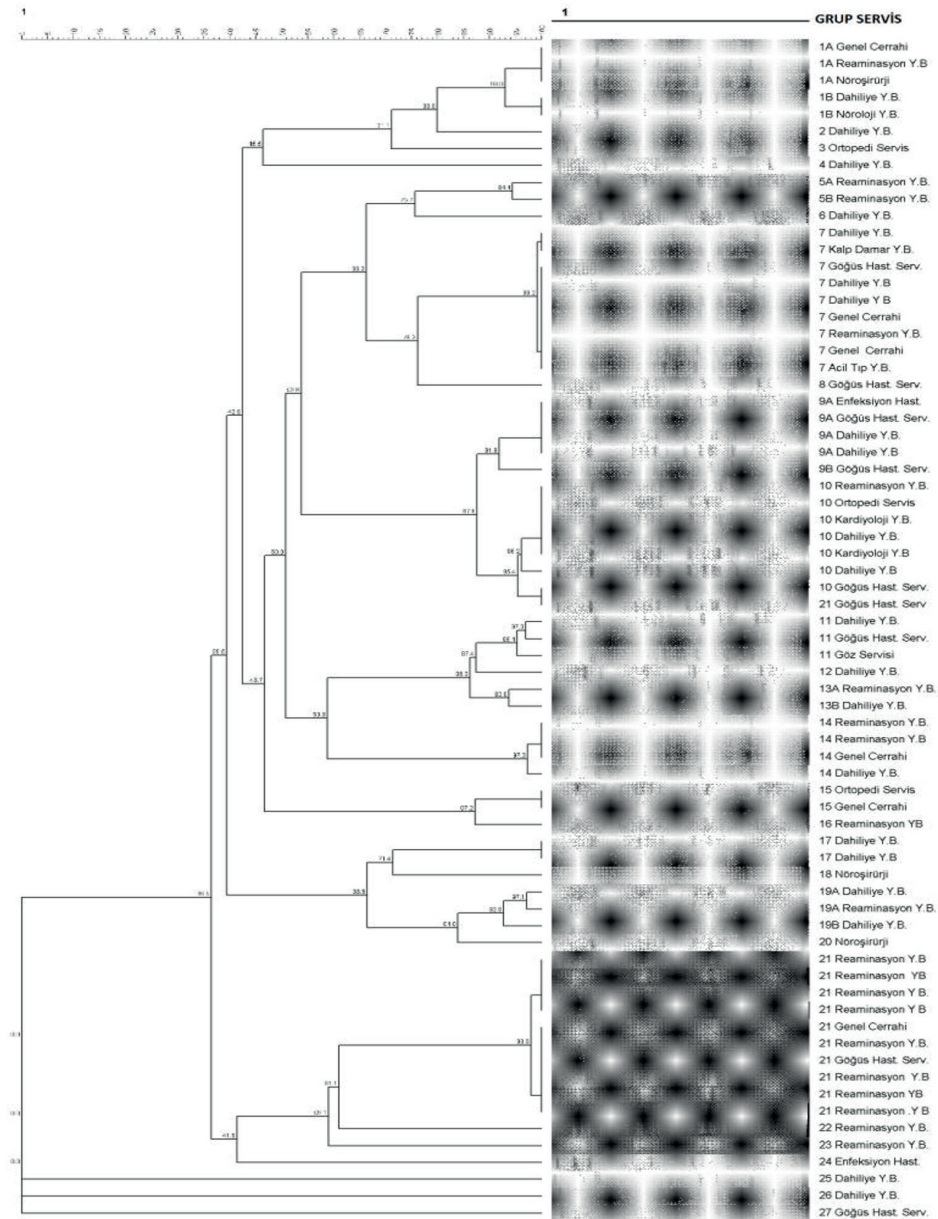
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na kliniklerden gönderilen örneklerden soyutlanan 70 adet *A. baumannii* izolatları çalışmaya alındı. Alınan *A. baumannii* izolatlarının yaygın ilaç dirençli yani kolistin ve tigesiklin hariç diğer tüm antibiyotiklere karşı dirençli olması esas kriterdi. Çalışmaya alınan 70 adet *A. baumannii* izolatının hepsi amikasin, aztreonam, sefepim, siprofloksasin, gentamisin, imipenem, levofloksasin, meropenem, netilmisin, piperasilin, piperasilin/tazobaktam, tetrasiklin, tobramisin ve trimetoprim/sulfametoksazole dirençliyken; 29 tanesi sadece kolistine, iki tanesi sadece tigesikline ve 39 tanesi hem kolistine hem tigesikline duyarlı bulundu. Çalışmaya alınan 70 yaygın ilaç dirençli *A. baumannii* suşunun 19'u kan, 17'si BAL, dokuzu balgam, sekizi aspirat sıvısı, yedisi idrar, altısı yara, ikisi BOS ve ikisi doku örneğinden izole edildi. *blaOXA-51-like* geni 70 suşun tümünde (%100) saptandı. *blaOXA-23-like* geni 68 (%97.1) örnekte tespit edilirken iki örnekte tespit edilmedi. *blaISAbA-like* genine ise sadece üç örnekte

(%4.2) pozitif olarak bulundu (Şekil 1). *blaOXA-24*-like, *blaOXA-48*-like, *blaOXA-58*-like, *blaOXA-143*-like, *blaVIM*-like, *blaIMP*-like, *blaNDM-1*-like, *blaSPM-1*-like, *blaKPC*-like ve *blaGES*-like genlerine ise hiçbir örnekte saptanmadı.

Yaygın ilaç dirençli *A. baumannii* izolatlarının klonal ilişkisine PFGE yöntemi ile bakıldı. Jel elektroforezde oluşan bantların dendrogram analizi yapıldı. Şekil 2'de bantlar arasındaki benzerliklere ait dendrogram görüntüsü yer almaktadır. Çalışmada tek bir



Şekil 1. *blaOXA-51*-like, *blaOXA-23*-like ve *blaISAba*-like genlerine ait bantlarının Gel Logic 200 Imaging System görüntüsü



Şekil 2. Yaygın ilaç dirençli *A. baumannii* izolatlarının PFGE profillerinin, dendrogramı

hastaneye ait suşlar kullanıldığı için değerlendirme toleransı %1 alınmış olup istatistiksel analizde %95-100 benzer ilişkili ve ayırt edilemez, %90-95 muhtemel ilişkili, %90 ve altı değerler ilişkisiz kabul edildi. Buna göre izolatların dendogram analizleri incelendiğinde hastanemizden izole ettiğimiz klonlarının geniş dağılım gösterdiği 27 grup belirlendi. İzolatların bazılarının özellikle bir kaç grupta yoğunlaştığı görülürken sporadik gruplarında yer aldığı gözlemlendi. Dendogramda izolat yoğunluğu incelendiğinde 7. grupta dokuz izolat, 10. grupta sekiz izolat ve 21. grupta 10 izolat yer almaktaydı. Bu grupların özellikle bazı servislerde (Dahiliye Yoğun Bakım Servisi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Servisi) baskın klon olması, hastanede muhtemel küçük salgınlar oluşturduğunu düşündürdü.

TARTIŞMA

Acinetobacter baumannii, özellikle yoğun bakım ünitelerinde mekanik ventilasyon gerektiren hastalarda ve yara veya yanık gibi yaralanmalara maruz kalan hastalarda sorunlu bir nozokomiyal patojendir. Hastanelerde çoklu ve yaygın ilaç dirençli *A. baumannii* klonlarının kontrol altına alınması, yeni kontrol önlemlerinin geliştirilmesi, hastalar arası çapraz kontaminasyonların durdurulması, gerçek bir salgının zamanında ve doğru tanımlanması ve kaynağının belirlenebilmesi için, klonal düzeyde ayırım yapabilen moleküler epidemiyolojik analiz yöntemlerinin kullanılması önem taşımaktadır⁽⁶⁾.

Son yıllarda *A. baumannii* izolatlarında karbapenemlere karşı dünya çapında artan direnç ve beraberinde yaygın ilaç direnci dikkate alınması gereken önemli bir sorundur. Karbapenemlere karşı dirençte en çok bilinen mekanizma karbapenemaz üretimidir⁽⁷⁾. Günümüzde OXA tipi karbapenemazların dördü *A. baumannii*'de tanımlanmıştır ve sekiz alt gruba ayrılmıştır: *blaOXA-23-like*, *blaOXA-23*, *blaOXA-27* ve *blaOXA-49*; *blaOXA-24-like* *blaOXA-24*, *blaOXA-25*, *blaOXA-26*, *blaOXA-40* ve *blaOXA-72*; *blaOXA-58-like* ve *blaOXA-51-like*. Son grup, *A. baumannii*'de tipik olarak bulunan bir kromozom enzimi ailesidir. *A. baumannii*'nin doğal olarak meydana gelen *OXA-51-like* enzimleri için genlerin kromozom üzerinde lokalize olduğunu ve bunların

ekspresyonunun *blaISAb1* tarafından düzenlendiği kanıtlanmıştır⁽⁸⁾. *blaISAb1*'in promotör bölgesinin başlangıcında, yapısal genin hemen yukarısına doğru yerleştirilmesi, esas olarak karbapenemleri etkileyen enzimin karbapenemaz aktivitesi ile sonuçlanır⁽⁹⁾. Bu genler görünüşte her yerde olduğundan ve *A. baumannii*'ye özgü olduğundan, bu türün tanımlanmasının sadece *OXA-51* enziminin saptanmasına dayanabileceği önerilmiştir⁽¹⁰⁾. Ülkemizde yapılan bir çalışmada PCR yöntemiyle izolatlarda *blaOXA-24-like* ve *blaOXA-58-like* genleri saptanmazken, izolatların tümünde *blaOXA-23-like* geni ve *blaOXA-51-like* geni saptanmıştır. DNA dizi analizi sonucunda AB076, AB114, AB118 ve AB138 kodlu izolatların *blaOXA-23-like* ve *blaOXA-51-like* genlerini taşıdığı doğrulanmıştır⁽¹¹⁾. Nitekim çalışmamızda izolatların hepsinde (%100) *blaOXA-51-like* geni belirlenmiştir.

Dünyanın çeşitli bölgelerinde yapılan çalışmalar OXA-tipi karbapenemaz genlerinden OXA-23'ün aşırı ekspresyonunu, *A. baumannii* izolatlarında en yaygın karbapenem direnci mekanizması olarak göstermektedir. Bu çalışmalarda, *Acinetobacter* türlerinde kazanılmış karbapenemi hidrolize eden oksasilinazlar arasında *blaOXA-23-like*, *blaOXA-24-like* ve *blaOXA-58-like* tipi genler ve bunlara bağlı enzimler değişen oranlarda saptanmaktadır^(7,12-15). Çalışmamızda *blaOXA-23-like* geni %97.1 oranında saptanırken, *blaOXA-24-like* ve *blaOXA-58-like* geni belirlenememiştir. Ghaith ve ark.⁽¹²⁾ 2017'de yaptıkları benzer çalışmada *blaOXA-23-like* genini %96 oranında belirlerken, *blaOXA-24-like* ve *blaOXA-58-like* genini tespit edememişlerdir. Shoja ve ark.⁽¹³⁾ 2016 yılındaki çalışmalarında ise *A. baumannii* suşlarında *blaOXA-24-like* geni % 6 bulurken, *blaOXA-58-like* genine sahip izolat belirleyememişlerdir.

OXA-23 üretebilen suşlar, dünya çapında nozokomiyal salgınların kaynağı olarak bildirilmiştir⁽⁷⁾. Edinilmiş *blaOXA-23-like* geni transpozonda, Tn2006 (*ISAb1* bağlantılı) ve Tn2007'de (*ISAb4* bağlantılı) bulunur. Mendes ve ark.⁽¹⁶⁾, 2006-2007 yılları arasında, 10 ülkeyi kapsayan çok merkezli çalışmada suşların %70'inde D sınıfı karbapenemaz genlerinin varlığını bildirmişlerdir. *blaOXA-23-like*, saptanan D sınıfı karbapenemaz kodlayan genlerin %95'ini oluşturan en yaygın gen olduğunu göstermişlerdir. Amerika

Birleşik Devletleri-Ohio'da, 2009 yılında, imipenem dirençli izolatların %13'ü, *blaOXA-23-like* geni içeriyordu. *blaOXA-24-like* ve *blaOXA-58-like* genleri de dahil olmak üzere diğer D sınıfı karbapenemazlar tanımlanamamıştır⁽⁷⁾. Bulgaristan'da karbapenem dirençli izolatların %72.7'sinde *blaOXA-23-like* ve %27.27'sinde *blaOXA-58-like* genleri pozitif bulunmuştur⁽¹⁷⁾. Yapılan çalışmalarda görüldüğü gibi D sınıfı karbapenemaz genlerinden *blaOXA-23-like* geni yüksek olarak tespit edilmektedir. Yaygın ilaç dirençli *A. baumannii* suşlarını aldığımız çalışmamızda izolatların %97.1'inde *blaOXA-23-like* geni pozitif bulunmuştur. Diğer yandan düşük oran bildiren çalışmalarda vardır. Örneğin Tayvan'da 2006 yılında yapılan bir çalışmada imipenem ve meropenem dirençli 131 *A. baumannii* izolatının sadece birinde *blaOXA-23-like* geni belirlemişlerdir⁽¹⁸⁾.

Yapılan çalışmalara göre *blaOXA-23-like* ve *blaOXA-40-like* genleri, *blaOXA-58-like* ve diğer tüm *blaOXA* genlerine nazaran imipenemde daha yüksek minimum inhibitör konsantrasyonu değerlerine neden olmaktadır⁽¹⁹⁾. *blaISAba-like* geni, Birleşik Krallık'taki bir çalışmada *A. baumannii*'nin tüm yaygın klonlarında bulundu. Çalışılan tüm izolatların *blaOXA-51-like* karbapenemaz geni vardı; Bazıları ayrıca *blaOXA-23-like* ve/veya *blaOXA-58-like* genine sahipti. Bu sonuçlar, *blaISAba-like* geninin OXA-51 ve muhtemelen OXA-23 için destek sağladığını göstermektedir⁽²⁰⁾. Fakat bizim çalışmamızdaki izolatlar yüksek oranda *blaOXA-51-like* (%100) ve *blaOXA-23-like* (%97.1) geni taşımalarına rağmen izolatlarımızın sadece üçünde *blaISAba-like* geni tespit edilmiştir.

Karbapenem-hidrolize edici D sınıfı β -laktamazlar esas olarak *Acinetobacter* türlerinde tanımlanmasına rağmen, bu gruptan *blaOXA-48-like* sadece Enterobakterilerde gösterilmiştir⁽²¹⁾. Nitekim Türkiye'de ilk *blaOXA-48-like* geni Enterobakterilerden *Klebsiella pneumoniae* izolatından tespit edilmiştir⁽²²⁾. Diğer bölgesel karbapenem-hidrolize oksasilinazda OXA-143'dür. *blaOXA-143-like* geni ilk defa 2009 yılında bir karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatında elde edilmiştir⁽²³⁾. Bugüne kadar, *blaOXA-143-like* alt sınıfı ağırlıklı olarak Brezilya'dan karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında gösterilmiştir^(24,25).

Zander ve ark.⁽²⁶⁾ yaptığı çalışmada, Honduras ve Amerika Birleşik Devletleri'ndeki *blaOXA-143-like* gen değişkenlerinin ilk tespitini yapmışlardır ve bu karbapenemazın Batı Yarımküre'de yayıldığını ifade etmişlerdir. Çalışmamızda her iki karbapenem-hidrolize oksasilinaz *blaOXA-48-like* ve *blaOXA-143-like* geni izole ettiğimiz yaygın ilaç dirençli *A. baumannii* izolatlarında tespit edilememiştir.

Acinetobacter baumannii enfeksiyonları için epidemiyolojik çalışmalarda klonal salgınlara bilinmesi önemlidir. Pulsed-field jel elektroforezi (PFGE), multilokus dizisi tiplemesi (MLST), tekrarlayan dizi tabanlı PCR (rep-PCR), çoklu lokus VNTR analizi (MLVA), 3-lokus sekansı tiplemesi (3-LST) dahil olmak üzere *A. baumannii* suşlarının epidemiyolojisini ve klonal ilişkisini karakterize etmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Her tekniğin kendine özgü avantajları ve dezavantajları vardır⁽²⁷⁾. PFGE tekniği, özellikle *A. baumannii* olmak üzere bakteri türlerini tanımlamak için kullanılan altın standart yöntem olarak bilinir⁽²⁸⁾. İzole ettiğimiz yaygın ilaç dirençli *A. baumannii* suşlarının genotipik ilişkisi için bizimde tercih ettiğimiz PFGE yöntemi ile hastanemiz klonlarının geniş dağılım göstermiş olduğu görülmüş olup 27 grup belirlenmiştir. İzolatların bazılarının özellikle birkaç grupta yoğunlaştığı görüldükçe sporadik gruplarında yer aldığı gözlenmiştir. Dendogramda izolat yoğunluğu incelendiğinde özellikle üç grubun baskınlığı tespit edilmiştir. Bu gruplardan 7. grupta dokuz izolat, 10. grupta sekiz izolat ve 21. grupta 10 izolat yer almıştır. Bunun yanında daha küçük gruplarda belirlenmiştir. Mohajeri ve ark.⁽²⁹⁾ çalışmasında, 104 *A. baumannii* izolatının PFGE genotip analizinde sekiz klonun (A-H) bulunduğu ve hastanede baskın olan klon A'nın (n= 35) diğer klonlarla karşılaştırıldığında, yüksek antibiyotik direnci gösteren, özellikle enfeksiyon koşullarında yatan hastalardan izole edilen suşlar olduğu belirlenmiştir. Bu araştırmacılar, hastanedeki salgından klon A'nın sorumlu olduğunu ve ayrıca hastanenin farklı bölgelerinde saptadıkları prevalansı yüksek diğer klonların [B (n= 29), C (n=19)] yayılmasını önlemek için dikkatli olunması gerektiğini ileri sürmüşlerdir⁽²⁹⁾. Benzer olay hastanemiz içinde geçerli olup, yaygın ilaç dirençli *A. baumannii* izolatlarının hastanemizin özellikle bazı servislerinde (Reanimasyon Yoğun Bakım Servisi ve Dahiliye Yoğun

Bakım Servisi) yoğunlaşması hastanede muhtemel salgınlar oluşturduğunu düşündürmüştür.

Genellikle hastane enfeksiyonlarında tek bir klon sorumlu iken bizim çalışmamızda birden fazla klon tespit edilmiştir. Bu durum, *A. baumannii* gibi patojenlerin, özellikle antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucunda genetik çeşitliliği artırmasından kaynaklanmaktadır. Kolonizasyon ve hastaneye özgü faktörler (örneğin, farklı servislerde farklı hasta popülasyonları ve tedavi protokolleri) klonal çeşitliliği oluşmasına neden olabilir. Çalışmamızda, dendrogram analizi, bazı klonların yoğunlaştığını ve diğerlerinin ise sporadik olarak görüldüğünü göstermektedir. Bu, tek bir klonun her zaman hastanede baskın olmayıp, farklı dönemlerde ya da hastalar arasında dağılan birçok klonun birlikte varlık gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Yaptığımız epidemiyolojik çalışmada ise yaygın ilaç dirençli *A. baumannii* izolatlarımızın bazı kliniklerde örneğin Reanimasyon Yoğun Bakım ve Dahiliye Yoğun Bakım Servislerinde hâkim izolatların olduğunu ve aynı izolatların başka kliniklerde görülmesinin servisler arası transfer edilen hastalar ve çapraz bulaşlar sonucu yayıldığı sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak, *A. baumannii* klonlarının varlığının erken tespiti, bu klonların hastanede yayılımının engellenmesi için yararlı olacaktır ayrıca çalışmamızda yaygın ilaç dirençli *A. baumannii* izolatlarının hastane ortamındaki dağılımının klonal ilişki göstermesi, enfeksiyon kontrol programlarının önemini bir kez daha vurgulamıştır. Hastanemiz enfeksiyon kontrol komitesinin etkin el yıkama, eldiven kullanımı, hastane temizliği gibi enfeksiyon kontrol önlemlerine yönelik eğitimler verdiği ve denetimlerde bulunduğu halde başta yoğun bakım ünitelerinde görev yapanlar olmak üzere, tüm hastane personeline gerekli enfeksiyon kontrol eğitiminin tekrar verilmesi; hastalar arası, personel-hasta arası, ekipman-hasta-personel arası ve üniteler arası bakteri geçişinin azaltılmasına katkı sağlayacaktır.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma, Selçuk Üniversitesi, Yerel Etik Kurulu tarafından (06.06.2023 tarih ve 2023/317 sayı) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 16202037 proje numarası ile desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: This research was conducted with the approval of Selçuk University, Local Ethics Committee (06.06.2023; 2023/317).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Funding: This research was founded by Selçuk University, Scientific Research Projects Coordination Unit (no: 16202037).

KAYNAKLAR

1. Doi Y, Murray GL, Peleg AY. *Acinetobacter baumannii*: evolution of antimicrobial resistance-treatment options. *Semin Respir Crit Care Med*. 2015;36(1):85-98. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1398388>
2. Davis JS, McMillan M, Swaminathan A, et al. A 16-year prospective study of community-onset bacteremic *Acinetobacter* pneumonia: low mortality with appropriate initial empirical antibiotic protocols. *Chest*. 2014;146(4):1038-45. <https://doi.org/10.1378/chest.13-3065>
3. Playford EG, Craig JC, Iredell JR. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in intensive care unit patients: Risk factors for acquisition, infection and their consequences. *J Hosp Infect*. 2007;65(3):204-11. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2006.11.010>
4. Manchanda V, Sanchaita S, Singh NP. Multidrug resistance *Acinetobacter*. *J Glob Infect Dis*. 2010;2(3):291-304. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.68538>
5. Potron A, Poirel L, Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. *Int J Antimicrob Agents*. 2015;45(6):568-85. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.03.001>
6. Karagoz A, Baran I, Aksu N, Acar S, Durmaz R. Kan kültürlerinden izole edilen tek klonlu *Acinetobacter baumannii* suşlarının karakterizasyonu ve antibiyotik direnç profillerinin incelenmesi. *Mikrobiyol Bul*. 2014;48(4):566-76.

7. Srinivasan VB, Rajamohan G, Pancholi P, Stevenson K, Tadesse D, Patchanee P. Genetic relatedness and molecular characterization of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in Central Ohio, USA. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2009;8:21. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-8-21>
8. Heritier C, Poirel L, Lambert T, Nordmann P. Contribution of acquired carbapenem-hydrolyzing oxacillinases to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(8):3198-202. <https://doi.org/10.1128/aac.49.8.3198-3202.2005>
9. Strateva T, Sirakov I, Savov E, Mitov I. First detection of an OXA-58 carbapenemase-producing *Acinetobacter nosocomialis* clinical isolate in the Balkan States. *J Glob Antimicrob Resist*. 2018;13:123-4. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.04.006>
10. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the *blaOXA-51*-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol*. 2006;44(8):2974-6. <https://doi.org/10.1128/jcm.01021-06>
11. Uluçam Atay G, Bayramoğlu G, Tosun İ, Ünsal Ü. Karbapeneme dirençli *Acinetobacter baumannii* klinik izolatlarının moleküler epidemiyoloji açısından araştırılmasında üç farklı yöntemin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul*. 2024;58(2):97-112. <https://doi.org/10.5578/mb.202498131>
12. Ghaith DM, Zafer MM, Al-Agamy MH, Alyamani EJ, Booq RY, Almoazzamy O. The emergence of a novel sequence type of MDR *Acinetobacter baumannii* from the intensive care unit of an Egyptian tertiary care hospital. *Clin Microbial Antimicrob*. 2017;16(1):34. <https://doi.org/10.1186/s12941-017-0208-y>
13. Shoja S, Moosavian M, Rostami S, Abbasi F, Tabatabaiefar MA, Peymani A. Characterization of oxacillinase and metallo- β -lactamase genes and molecular typing of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Ahvaz, South-West of Iran. *Jundishapur J Microbiol*. 2016;9(5):e32388. <https://doi.org/10.5812/jjm.32388>
14. Zarrilli R, Bagattini M, Migliaccio A, Esposito EP, Triassi M. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Italy. *Ann Ig*. 2021;33(5):401-9. <https://doi.org/10.7416/ai.2020.2395>
15. Altınok Ö, Boral B, Ergin A, Köseoğlu Eser Ö. Çok ilaca dirençli invaziv *Acinetobacter baumannii* izolatlarında biyofilm ve biyofilm ilişkili virülans genlerinin varlığı. *Mikrobiyol Bul*. 2020;54(1):40-9. <https://doi.org/10.5578/mb.20204>
16. Mendes RE, Bell JM, Turnidge JD, Castanheira M, Jones RN. Emergence and widespread dissemination of OXA-23, -24/40 and -58 carbapenemases among *Acinetobacter spp.* in Asia-Pacific nations: report from the SENTRY Surveillance Program. *J Antimicrob Chemother*. 2009;63(1):55-9. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn434>
17. Stoeva T, Higgins PG, Savov E, Markovska R, Mitov I, Seifert H. Nosocomial spread of OXA-23 and OXA-58 beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a Bulgarian hospital. *J Antimicrob Chemother*. 2009;63(3):618-20. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn537>
18. Lin YC, Hsia KC, Chen YC, Sheng WH, Chang SC, Liao MH. Genetic basis of multidrug resistance in *Acinetobacter* clinical isolates in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(5):2078-84. <https://doi.org/10.1128/aac.01398-09>
19. Demiral T. *Acinetobacter* infeksiyonları: Mikrobiyolojik tanı ve direnç. *Flora*. 2010;15(4):137-46.
20. Segal H, Garny S, Elisha BG. Is *IS(ABA-1)* customized for *Acinetobacter*? *FEMS Microbiol Lett*. 2005;243(2):425-9. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.01.005>
21. Poirel L, Bonnin RA, Nordmann P. Genetic basis of antibiotic resistance in pathogenic *Acinetobacter* species. *IUBMB Life*. 2011;63(12):1061-7. <https://doi.org/10.1002/iub.532>
22. Gulmez D, Woodford N, Palepou MFI, et al. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *Int J Antimicrob Agent*. 2008;31(6):523-6. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.01.017>
23. Higgins PG, Damdhayn C, Hackel M, Seifert H. Global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(2):233-8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp428>
24. Higgins PG, Poirel L, Lehmann M, Nordmann P, Seifert H. OXA-143, a novel carbapenem-hydrolyzing class D-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(12):5035-8. <https://doi.org/10.1128/aac.00856-09>
25. Mostachio AK, Levin AS, Rizek C, Rossi F, Zerbini J, Costa SF. High prevalence of OXA-143 and alteration of outer membrane proteins in carbapenem-resistant *Acinetobacter spp.* isolates in Brazil. *Int J Antimicrob Agents*. 2012;39(5):396-401. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.01.021>

26. Zander E, Bonnin RA, Seifert H, Higgins PG. Characterization of blaOXA-143 variants in *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter pittii*. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(5):2704-8. <https://doi.org/10.1128/aac.02618-13>
27. Piran A, Shahcheraghi F, Solgi H, Rohani M, Badmasti F. A Reliable combination method yo identification and typing of epidemic clones among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. Infect Genet Evol. 2017;54:501-7. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.08.018>
28. Mohajeri P, Farahani A, Feizabadi MM, Ketabi H, Abiri R, Najafi F. Antimicrobial susceptibility profiling and genomic diversity of *Acinetobacter baumannii* isolates: A study in western Iran. J Microbiol 2013;5(3):195-202.
29. Mohajeri P, Farahani A, Mehrabzadeh RS. Molecular characterization of multidrug resistant strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units in West of Iran. J Clin Diagn Res. 2017;11(2):20-2. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/21156.9397>