

Ankara'daki çeşitli hastanelerden elde edilen *Acinetobacter baumannii* izolatları arasındaki klonal ilişkinin gösterilmesi ve antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi

Evaluation of clonal relationship between *Acinetobacter baumannii* isolates and determination of resistance to antibiotics which were obtained from different hospitals in Ankara

Hünkar ŞAHİN¹, Ufuk ÖNDE², Ali Kudret ADILOĞLU², Ayşe Esra KARAKOÇ², Cemal BULUT³, Ziya Cibali AÇIKGÖZ⁴, Gül Bahar ERDEM⁵, Gülşen HASÇELİK⁶, Ayşegül ÖZTÜRK-ÇOŞKUN⁷

ÖZET

Amaç: *Acinetobacter baumannii*, özellikle yoğun bakım ünitelerinde mortalite ve morbiditeyi arttıran hastane kaynaklı enfeksiyonların en önemli nedenlerinden biridir. Bu bakteri, pnömni, bakteriyemi, idrar yolu enfeksiyonu, yara enfeksiyonu ve menenjit gibi çeşitli enfeksiyonlardan izole edilebilir. Bu çalışmanın amacı Ankara'daki çeşitli hastanelerden Kasım 2009 ile Aralık 2011 tarihleri arasında elde edilen 99 *A. baumannii* izolatları arasındaki klonal ilişkiyi göstermek ve antibiyotik dirençlerini belirlemektir.

Yöntem: *Acinetobacter baumannii* izolatlarının tanımlanması ve antibiyotik paternleri VITEK 2 (bioMérieux, France) sistemi ile yapıldı. Çalışmada antimikrobiyal ajan olarak amikasin, siprofloksasin, tetrasiklin, netilmisin, sulbaktam/ampisilin, trimetoprim/sulfametoksazol, seftazidim, gentamisin, levofloksasin, meropenem, imipenem, piperasilin, piperasilin/tazobaktam, sefoperazon/sulbaktam, sefepim, tigesiklin ve kolistin kullanıldı. *Acinetobacter* izolatlarının klonal ilişkisi Rep-PCR

ABSTRACT

Objective: *Acinetobacter baumannii* is one of the most important cause of hospital acquired infections which raises the rates of mortality and morbidity especially in intensive care units. *Acinetobacter baumannii* may be isolated from various infections such as pneumonia, bacteremia, urinary track infections, wound infections and meningitis. The aim of this study is to determine the clonal relationship and determination of antibiotic resistances between 99 *Acinetobacter baumannii* isolates which were obtained from different hospitals in Ankara between November 2009 and December 2011.

Method: Identification of *A. baumannii* isolates and antibiotic susceptibilities were performed by Vitek 2 (bioMérieux, France) system. In this study, amikacin, ciprofloxacin, tetracyclin, netilmicin, sulbactam/ampicillin, trimethoprim/sulfamethoxazole, ceftazidime, gentamicin, levofloxacin, meropenem, imipenem, piperacillin, piperacillin/tazobactam, cefoperazone/sulbactam, cefepime, tigecycline, and colistin were used as antimicrobial agents. The clonal relationship of *Acinetobacter* isolates was analysed by

¹Rize Halk Sağlığı Laboratuvarı Tıbbi Mikrobiyoloji, Rize

²Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji, Ankara

³Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara

⁴Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji, Ankara

⁵Dişkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji, Ankara

⁶Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji, Ankara

⁷Bartın Halk Sağlığı Laboratuvarı Tıbbi Mikrobiyoloji, Bartın



İletişim / Corresponding Author : Hünkar ŞAHİN

Rize Halk Sağlığı Laboratuvarı, Piriçeşlebi Mah. 53100 Rize / Türkiye

Tel : +90 464 213 03 63

E-posta / E-mail : dr.hunkarsahin@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 09.04.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 05.04.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.22043

Şahin H, Önde U, Adiloğlu AK, Karakoç AE, Bulut C, Açıkgöz ZC, Erdem GB, Hasçelik G, Öztürk-Çoşkun A. Ankara'daki çeşitli hastanelerden elde edilen *Acinetobacter baumannii* izolatları arasındaki klonal ilişkinin gösterilmesi ve antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(3): 199-210

yöntemi ile araştırıldı.

Bulgular: Çalışmaya dâhil edilen 99 *A. baumannii* izolatının %99'u imipenem ve meropenem dirençli bulundu. Kolistine dirençli suş saptanmadı (%0). Piperasilin ve piperasilin/tazobaktama tüm suşların dirençli olduğu gözlemlendi (%100). Siprofloksasine %99, ampisilin/sulbaktama %98, seftazidime %97, sefepime %96, levofloksasine %85, tetrasikline %80, trimetoprim/sulfametoksazole %71, amikasine %59, gentamisin ve netilmisine %56 direnç görüldü. Tigesiklin için dirençliler %5, orta duyarlılar %27 ve duyarlılar ise %68 olarak saptandı. *Acinetobacter baumannii* izolatlarının dört patern oluşturduğu görüldü. İlk 3 paternin bir grup oluşturduğu ve dördüncü paternden farklı olduğu görüldü. Birinci patern (P1)'de 14 suş, ikinci patern (P2)'de 37 suş, üçüncü patern (P3)'de 36 suş bulunmaktaydı. Dördüncü patern (P4)'de ise 12 suş vardı. İlk üç paternin oluşturduğu grup ile dördüncü paternin farklı oldukları ve aralarında üçten fazla bant farklılığının olduğu görüldü. İlk üç paternin ise aralarındaki bir bant farklılığı ile benzer oldukları görüldü. Ayrıca, her dört paternin kendi içinde bant farkı göstermeksizin aynı oldukları saptandı. Her dört paternde de farklı hastanelerden suşların bulunduğu saptandı. Böylece her dört hastaneye muhtemelen hasta transferleriyle aynı *Acinetobacter baumannii* suşlarının yayılmış olduğu gösterildi.

Sonuç: Bu hastanelerde, çalışmanın devamı olarak *A. baumannii*'nin direnç mekanizmaları ve direnç genleriyle ilgili araştırma yapılabilir. Ayrıca, hastalara ilişkin risk faktörleri belirlenerek karbapenem ve diğer antibiyotiklerin dirençlerinden sorumlu izolatlarla ilişkin epidemiyolojik veriler daha kapsamlı bir şekilde ortaya konulabilir.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, klonal ilişki, rep-PCR, antibiyotik direnci

Rep-PCR method.

Results: Ninety nine percent of *A. baumannii* isolates was resistant to imipenem and meropenem. There was no resistant strain to colistin (0%). All of the strains were resistant to piperacillin and piperacillin/tazobactam (100%). Ciprofloxacin was 99%, sulbactam/ampicillin 98%, ceftazidime was 97%, cefepime was 96%, levofloxacin was 85%, tetracycline was 80%, trimethoprim/sulfamethoxazole was 71% resistant. Resistance to amikacin was 59% and resistance to gentamicin and netilmicin were both 56%. Five percent of strains were resistant, 27% were intermediate susceptible and 68% were susceptible to tigecycline. There were four patterns. P1, P2 and P3 gathered to one group (G1) and they were similar. P4 was different from them. P1 had 14, P2 had 37, P3 had 36 and P4 had 12 strains. There were more than three bands difference between G1 and P4 which showed that they were different strains. Band difference between G1 (P1, P2, P3) was only one and this showed us that they were similar. In the other hand, there were not any band difference in P1, P2, P3 and P4. All of the patterns were consisted of strains from different hospitals. We determined that the same strains spread to four different hospitals probably by patient transfers.

Conclusion: A study can be organized to determine resistance genes and resistance mechanisms of *A. baumannii* in these hospitals as continuation of this study. Moreover, a comprehensive epidemiologic data can be revealed by determining the risk factors of patients relevant to those responsible isolates for carbapenem and other antibiotics resistance.

Key Words: *Acinetobacter baumannii*, clonal relationship, rep-PCR, antibiotic resistance

GİRİŞ

Acinetobacter türleri yoğun bakım üniteleri (YBÜ) başta olmak üzere hastane enfeksiyonlarından sorumlu önemli fırsatçı patojenlerdir. Pnömoni, deri ve yara enfeksiyonları, peritonit, endokardit, menenjit ve idrar yolu enfeksiyonları yapabilirler. *Acinetobacter* enfeksiyonları için önemli risk faktörleri arasında travma, mekanik ventilasyon ve cerrahi işlemler bulunmaktadır (1-3).

Acinetobacter baumannii hastane kaynaklı enfeksiyonlardan en sık sorumlu olan türdür (3-5). Çoklu ilaca dirençli *A.baumannii* enfeksiyonlarının sayısı son yıllarda artış göstermiştir. Bu durum *A. baumannii*'yi nozokomiyal gram-negatif patojenler içerisinde tedavisi en zor olanlardan biri haline getirmektedir (6, 7).

A. baumannii bulaşlarının çoğundan hasta yatakları, kapı kolları, klimalar ve mekanik ventilasyon ekipmanları gibi çevresel kaynaklar sorumludur. *A. baumannii*'nin kuru cansız yüzeylerde uzun süre canlı kalabilmesi salgınların oluşmasına katkı sağlamaktadır (3-5). Çeşitli salgınlarda yatan hastaların cilt, boğaz, solunum sistemi ve sindirim sisteminde yüksek düzeyde *Acinetobacter* kolonizasyonu gösterilmiştir (2,8,9). Solunum yollarında *Acinetobacter* kökenlerinin kolonize olduğu hastalara mekanik ventilasyon uygulamak için kullanılan ekipmanların kontamine olması salgınların en önemli nedenidir (2, 10).

Hastalarda genellikle cilt kolonizasyonu da bulunmakta ve bu hastalara sağlık hizmeti veren personelin elleri salgının yayılımı ve devamında önemli rol oynamaktadır. Sindirim sisteminde kolonizasyon da nadiren salgın kaynağı olmaktadır (11-13).

Moleküler tiplendirme metodları epidemik kökenlerin yayılım kaynağını saptamada önemli araçlardır. Çeşitli moleküler tiplendirme metodları olmasına rağmen bunlar arasında "Repetitive Sequence Based Polymerase Chain Reaction (Rep-PCR)"; kullanım kolaylığı, yüksek veri seçeneği ve "pulse field gel elektroforesis (PFGE)" ile kıyaslanabilir ayırım gücü ile ön plana çıkmaktadır (14).

Son yıllarda *Acinetobacter* türleri arasında aminoglikozidlere direnç artma eğilimindedir. Yine nozokomiyal salgınlarda karbapenem dirençli *Acinetobacter* türlerini de içeren çoklu ilaca dirençli suşlarda bir artış görülmektedir. Pek çok suş açısından geniş antibiyotik direnç oranları (geniş spektrumlu β -laktamlar, aminoglikozidler ve florokinolonlar) nedeniyle tedavinin güçleşmiş olması, *Acinetobacter* enfeksiyonlarında kontrolün önemini daha da artırmıştır (15, 16).

Bu çalışmada Ankara'daki çeşitli hastanelerden izole edilen *A. baumannii* suşlarının antibiyotiklere direnç oranlarının saptanması ve suşlar arasında klonal ilişki olup olmadığının Rep-PCR yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza; Kasım 2009 - Aralık 2011 tarihleri arasında Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi (AEAH), Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi (AAEAH), Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi (DYEAH), Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi (HÜTFH) servis ve yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 99 *A. baumannii* suşu dahil edildi. Hastalardan aynı tür örnek sadece bir kez kabul edildi. Konvansiyonel yöntemlerle *Acinetobacter* ön tanısı olan bakteriler VITEK 2 Compact 60 (BioMerieux, Fransa) otomatize bakteri identifikasyon sistemi ile tanımlandı ve antibiyotik duyarlılık testlerinin ardından Rep-PCR ile genotiplendirilmesi yapıldı. Genotipik analiz için otomatize bir sistem olan Diversilab (BioMerieux, Fransa) cihazı kullanıldı.

Bu çalışma firma önerileri doğrultusunda dört aşamada yapıldı:

- *Acinetobacter baumannii* saf kültüründen manuel DNA ekstraksiyonu
- Thermal cyler'da Diversilab parmak izi kitleri kullanılarak Rep-PCR
- Biyoanalizör kullanılarak otomatik

microfluidic elektroforez

- İnternet tabanlı yorumlama ve yazılım programı ile değerlendirme

Değerlendirme için benzerlik hesaplarının yapılmasında DiversiLab yazılımı Pearson Korelasyon katsayısı ve UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) Rep-PCR profillerini otomatik olarak karşılaştırmak amacıyla kullanıldı.

Benzerlik matrisindeki renklerden kırmızı %100-95, turuncu %95-90, mavi %90-80, pembe %80-70, gri %70-0 benzerlik olduğunu göstermekteydi. Kırmızı renkte görünen suşlar aynı kabul edildi. Bant farkı göstermeyen suşlar aynı paterne dahil edildi.

BULGULAR

Kasım 2009 - Aralık 2011 tarihleri arasında A. *baumannii* olarak izole edilen toplam 99 suş incelendiğinde, en çok gönderilen klinik örneğin derin trakeal aspirat olduğu (DTA) (n=51, %52), bunu kan (n=20, %20), kan kateter (n=15, %15), yara (n=8, %8), sonda idrarı (n=4, %4) ve balgam örneklerinin (n=1, %1) izlediği görüldü. Bu suşların 62 tanesi AEAH'den, 9 tanesi AAEEAH'den, 10 tanesi DYEAH'den ve 18 tanesi HÜTFH'den elde edilen izolatlardan oluşmaktaydı.

Örneklerin, gönderildikleri kliniklere göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 99 A. *baumannii* izolatının

Tablo1. Klinik örneklerin gönderildikleri kliniklere göre dağılımı

Klinikler	Sayı (%)
ARYBÜ	67,7
Cerrahi Servisler	13,1
Dahili Servisler	9,1
NYBÜ	5,1
DYBÜ	4,0
KYBÜ	1,0
TOPLAM	100,0

ARYBÜ: Anesteziyoloji ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi,
 NYBÜ: Nöroloji Yoğun Bakım Ünitesi,
 DYBÜ: Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesi,
 KYBÜ: Koroner Yoğun Bakım Ünitesi

sadece biri VITEK 2 Compact sistem ile imipeneme ve meropeneme duyarlı bulundu, diğer suşlar bu karbapenemlere dirençliydi (%99). Kolistine (CT) dirençli suş saptanmadı (%0). Piperasilin (PİP) ve piperasilin/tazobaktama (TZP) tüm suşların dirençli olduğu gözlemlendi (%100). Ampisilin/sulbaktama (SAM) sadece iki suşun duyarlı, diğerlerinin dirençli olduğu (%98) belirlendi. Seftazidime (CAZ) direncin %97, sefepime (FEP) direncin ise %96 olduğu görüldü. Siprofloksasine (CİP) %99, levofloksasine (LEV) %85, tetrasikline (TE) %80 direnç saptandı. Amikasine (AK) %59, gentamisin (GN) ve netilmisine (NET) %56 direnç bulubdu. Tigesiklin (TGC) için dirençlilerin yüzdesi %5, orta duyarlıların yüzdesi %27 ve duyarlıların yüzdesi ise %68 olarak belirlendi. Trimetoprim/sulfametoksazol (SXT) için %71 direnç vardı (Şekil 1).

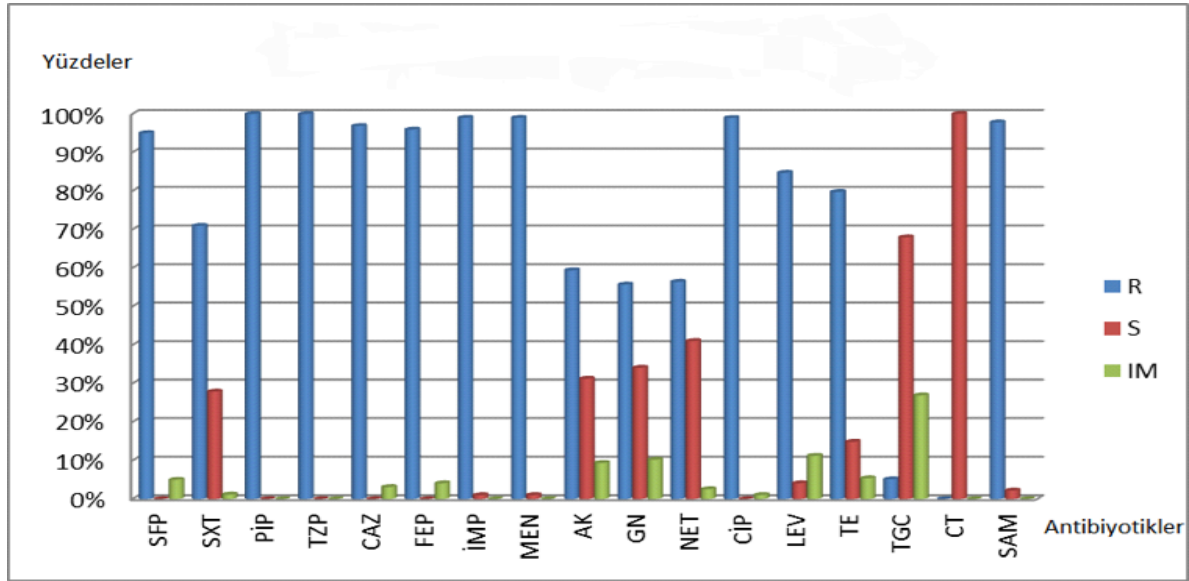
Rep-PCR bulguları:

Toplam 99 suşun dört paterne ayrıldığı, ilk üç paternin bir grup oluşturduğu ve dördüncü paternden farklı olduğu görüldü. Birinci patern (P1)'de 14 suş, ikinci patern (P2)'de 37 suş, üçüncü patern (P3)'de 36 suş bulunmaktaydı. Dördüncü patern (P4)'de ise 12 suş vardı.

P1'deki 14 suşun yedi tanesi YDEAH'ne, bir tanesi AAEEAH'ne, altı tanesi ise AEAH'ne ait suşlardan oluşmaktaydı. Sadece bir suşun (AAEEAH) 2010 yılına, diğerlerinin 2011 yılına ait olduğu görüldü. P1 paternindeki suşlar arasında bant farkı görülmedi (Şekil 2).

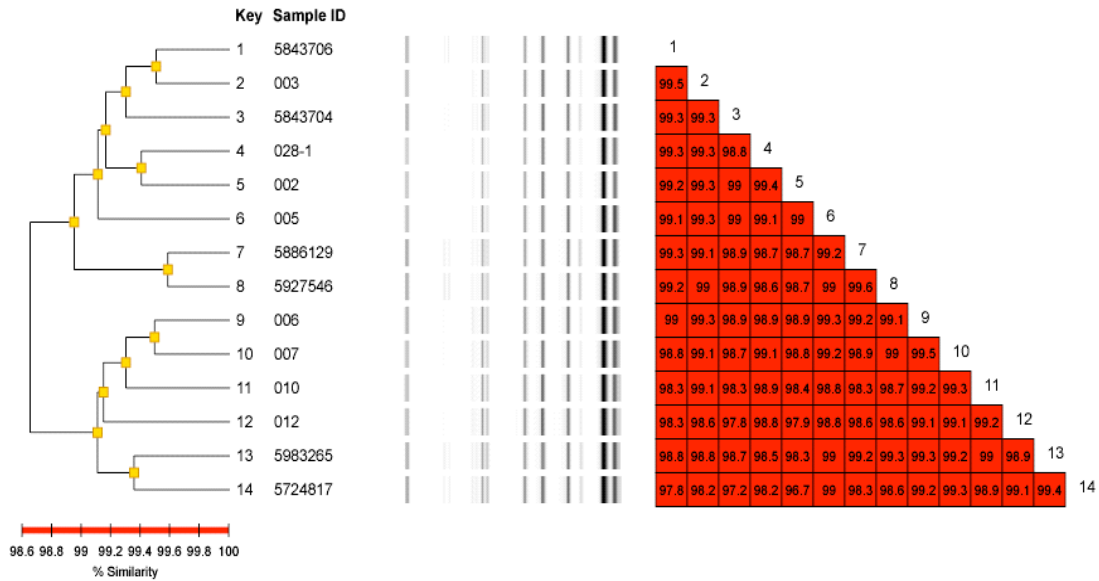
En çok suş bulunduran P2'deki 37 suşun bir tanesi HÜTFH' ne ait olup, diğer suşların AEAH' ne ait olduğu görüldü. Bu paternde 2009, 2010 ve 2011 yıllarına ait suşlar vardı. P2 paterni incelendiğinde bant farkının olmadığı görüldü (Şekil 3).

İkinci çok suş bulduğu (36) P3' te, 17 suş HÜTFH' ne, dokuz suş AEAH' ne, yedi suş AAEEAH' ne ve üç suş YDEAH' ne ait idi. Bu paternde de P2 gibi 2009, 2010, 2011 yıllarına ait suşlar vardı. Bu paternde de bant farkı yoktu (Şekil 4).

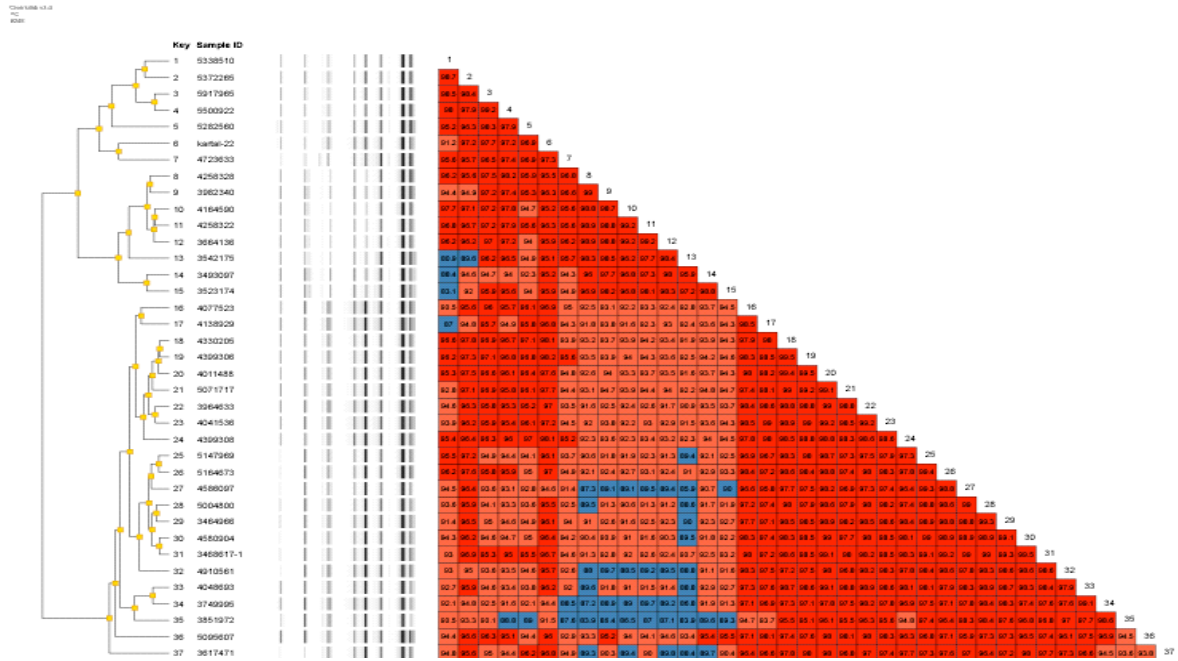


Şekil 1. *A. baumannii* izolatlarının VITEK 2 Compact sistem ile tespit edilen antibiyotik duyarlılık yüzdeleri, Ankara, Kasım 2009 - Aralık 2011

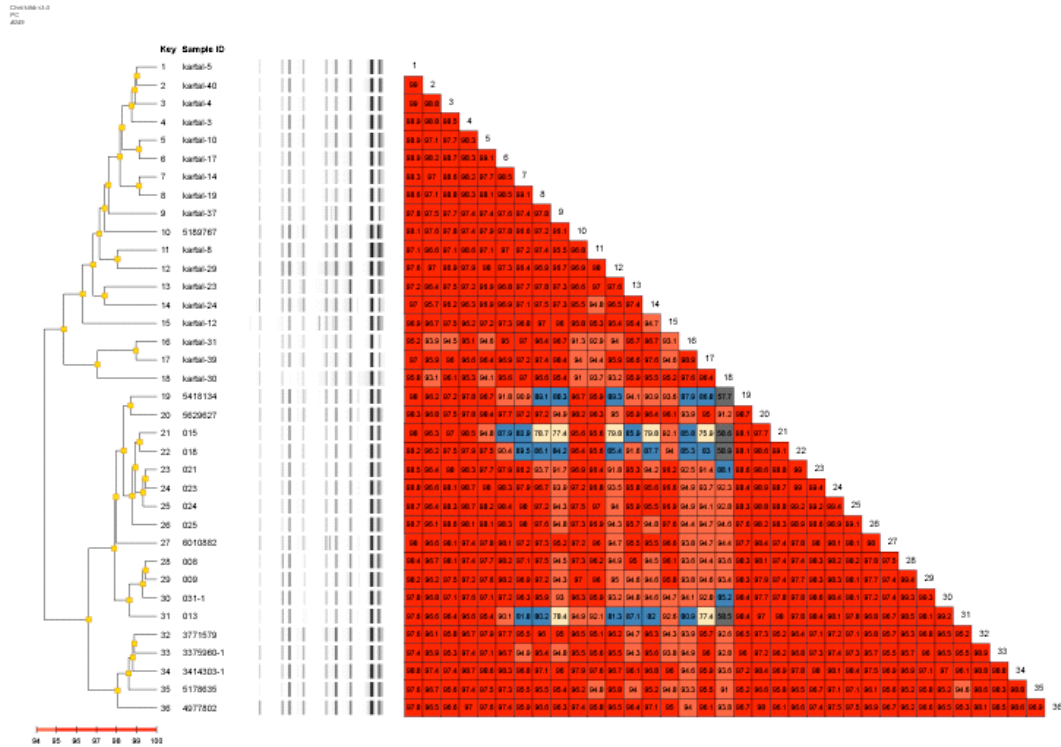
Diversilab v3.4
PC
#247



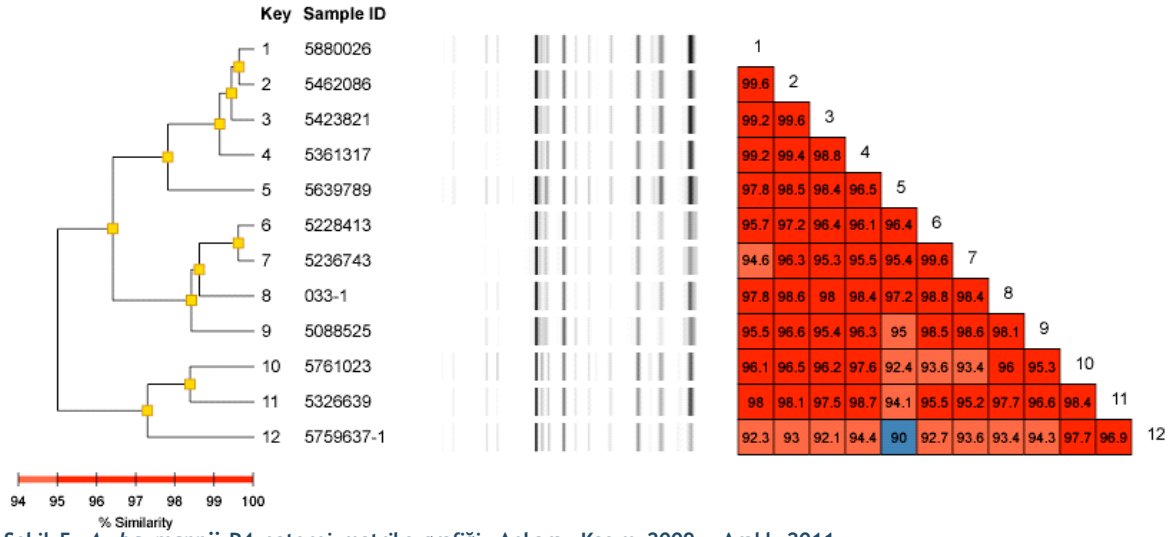
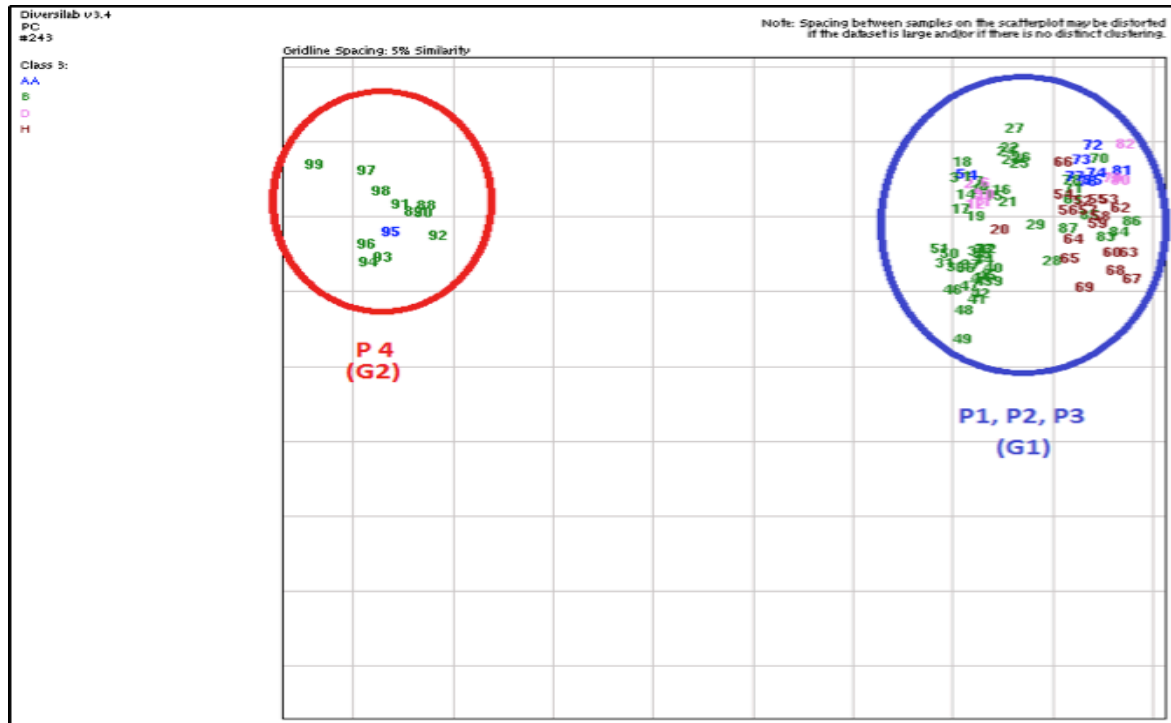
Şekil 2. *A. baumannii* P1 paterni matris grafiği, Ankara, Kasım 2005 - Aralık 2011



Şekil 3. *A. baumannii* P2 paterni matrisi grafiği, Ankara, Kasım 2009 - Aralık 2011



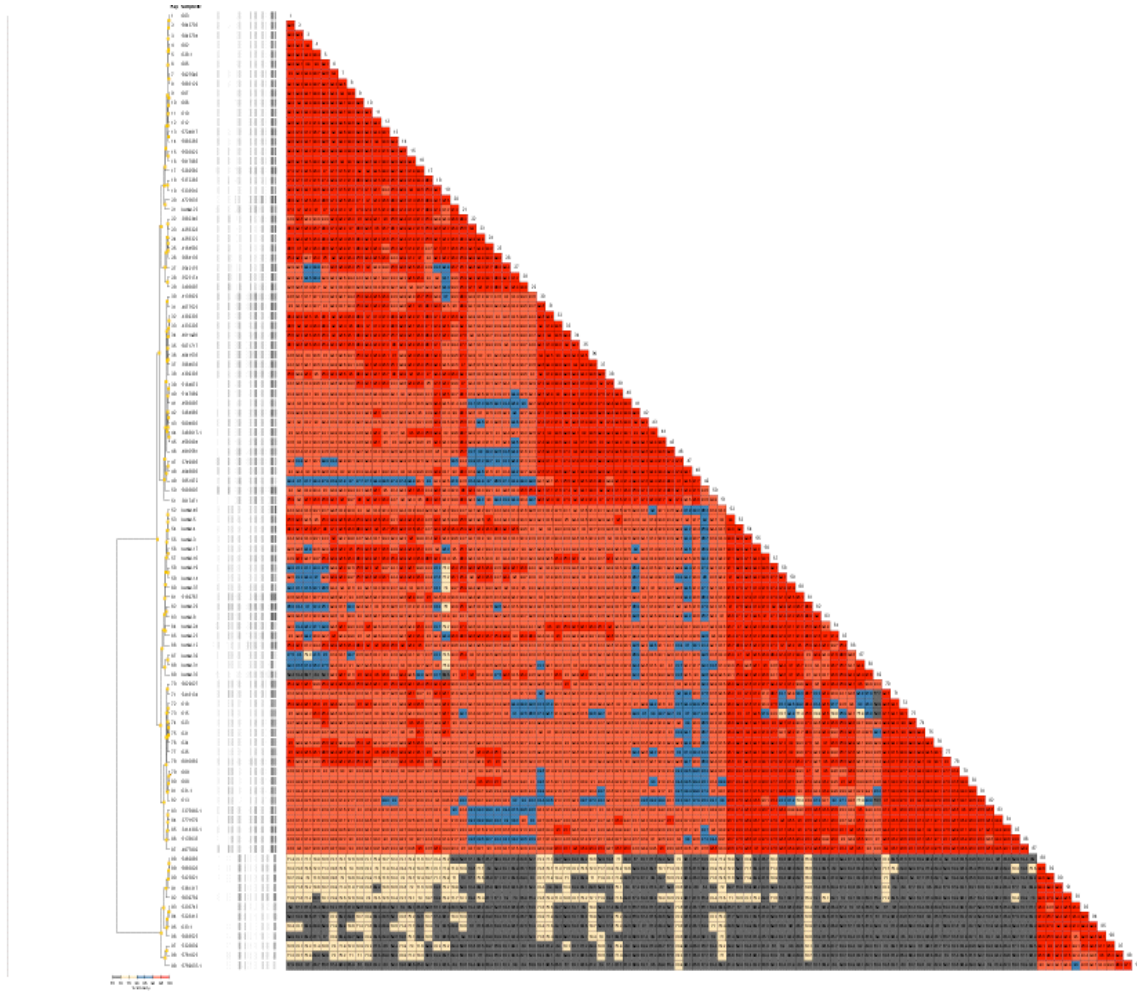
Şekil 4. *A. baumannii* P3 paterni matrisi grafiği, Ankara, Kasım 2009 - Aralık 2011

Şekil 5. *A. baumannii* P4 paterni matris grafiği, Ankara, Kasım 2009 - Aralık 2011

Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, B: Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, D: Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, H: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi

Şekil 6. Ankara'daki çeşitli hastanelerden elde edilen *A. baumannii* izolatlarına ait scatterplot grafiği, Kasım 2005 - Aralık 2011

Tüm suşları birlikte gösteren matris grafiği Şekil 7'de verilmiştir.



Şekil 7. Tüm suşlara ait matris grafiği

İlk üç paternden farklı olan P4 paternindeki toplam 12 suşun hepsi 2011 yılının suşları olup, bir suş AAEAH'ye diğerleri AEAH'ye ait idi. Bu patern de kendi içinde bant farklılığı göstermiyordu (Şekil 5).

Farklı renkli numaraların farklı hastanelere ait olduğunu gösteren tüm suşlara ait scatterplot grafiği incelendiğinde ilk üç paternin dördüncü paternden farklı gruplandırıldığı izlenmektedir (Şekil 6, 7).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yoğun bakım üniteleri hastane enfeksiyonlarının ve doğal olarak *Acinetobacter* enfeksiyonlarının en sık görüldüğü yerlerdir (2). Erben ve ark. yaptıkları çalışmada *Acinetobacter* türlerinin en sık görüldüğü servis %38 ile Anesteziyoloji ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi olarak bildirmişlerdir (17).

A. *baumannii*, yatan hastaların çevresindeki çeşitli yüzeylerde uzun süre canlı kalır ve bu yüzeylerden hastalara doğrudan sağlık çalışanlarının elleri veya diğer temas yolları ile bulaşır (18). *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlara kontamine nemlendirici ve ventilatör aksamının sıklıkla neden olduğu bildirilmektedir (19). Yoğun bakım üniteleri, bu ekipmanların yaygın olarak kullanıldığı merkezlerdir. Anestezi ve Yoğun Bakım Ünitesinde *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların daha sık görülmesi, kritik hastaların bu üniteye takip edilmesi ve bu hastalara mekanik ventilasyon, trakeostomi, entübasyon, santral kateterizasyon ve üriner kateter gibi invaziv girişimlerin daha sık uygulanması ile açıklanabilir.

Çalışmamızda, A. *baumannii* suşlarının en sık izole edildiği servis, %68 oranı ile anesteziyoloji ve yoğun bakım üniteleri olmuştur.

Villers ve ark., *Acinetobacter* izolatlarının sıklıkla solunum sistemi, üriner sistem, yara yeri, santral sinir sistemi ve kan dolaşım yolu enfeksiyonlarına neden olduklarını bildirmişlerdir (20). Balcı ve ark. *Acinetobacter* izolatlarını en sık solunum sistemi ve yara materyalinden izole etmişlerdir (21). Çalışmamızdaki örnekler 51 (%52) derin trakeal aspiratı, 20 (%20) kan, 15 (%15) kan kateter, 8 (%8) sonda idrarı, 4 (%4) yara ve bir (%1) balgam olmak üzere daha çok splunum sisteminden izole edilmiştir.

Acinetobacter baumannii'nin antimikrobiyal duyarlılık oranları farklılıklar gösterebilmektedir. Çoğunlukla beta-laktam antibiyotiklere, aminoglikozidlere ve florokinolonlara direnç saptanmaktadır (15, 16, 22).

Yakın tarihli çalışmalarda direnç oranlarında artış olduğu gözlenmektedir. Sonuçları çalışmamıza benzeyen, Gözütok ve ark., Mart 2011 ve Kasım 2012 tarihleri arasında hastane enfeksiyonu etkeni olan 161 A. *baumannii* izolatını değerlendirdikleri çalışmalarında, kolistin direnci saptanmamış olup izolatların %91'i meropenem ve imipenem, %92'si siprofloksasin ve sefoperazon/sulbaktam'a, %94'ü levofloksasine, %97'si

piperasilin/tazobaktama dirençli saptanmıştır (23).

A. *baumannii* enfeksiyonlarında hem karbapenem direncinin hem de çoklu antibiyotik direncinin giderek artması ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde salgınlara yol açabilmesi, bu bakterinin sürekli gündemde olan bir patojen olmasına neden olmaktadır.

İmipenem, dirençli suşlarda en etkili antibiyotiklerden biri olmasına karşın yaygın kullanımı sonucu karbapenem direnci ürkütücü boyutlara ulaşmıştır. Avrupa antimikrobiyal direnç surveians sistemi verileri 2000-2003 yılları arasında Türkiye'den izole edilen 779 A. *baumannii* suşunda imipenem direncini %48 olarak bildirmektedir (24). Antimikrobiyal surveians programı "Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC)" 1997-2000 çalışmasında dünyanın pek çok ülkesinde A. *baumannii* suşlarının imipenem direnci %0-7 arasında değişirken, aynı çalışmada Türkiye'de izole edilen suşlarda imipenem direnci %38 olarak saptanmıştır. 2000-2003 yılları arasındaki MYSTIC çalışmasında ülkemizdeki meropenem ve imipenem direnç yüzdeleri sırasıyla %42 ve %48 olarak saptanmıştır (25, 26). Türkiye'de gram-negatif hastane kaynaklı kökenlerin beta laktam antibiyotiklere direncinin araştırıldığı çok merkezli HİTİT çalışmasında, A. *baumannii* suşlarının imipenem direnç değerleri 2005'de %52,2 ve 2007'de %55 bulunmuştur (27, 28).

Çalışmamızda, A. *baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılık profilleri incelendiğinde, hem imipenem hem meropenem için direnç oranları %99 olarak belirlenmiştir. Suşlarımızın büyük bir çoğunluğunun (%99) karbapenem direncine sahip olması, çalışmaya alınan suşların büyük çoğunluğunun YBÜ'de ve servislerde tedavi gören hastalardan izole edilmiş olmasına bağlanabilir. Çünkü bu hastalar mekanik solunum cihazı desteği, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, girişimsel uygulamalar, geçirilmiş cerrahi ve eşlik eden ciddi hastalıklar gibi çoklu ilaca dirençli A. *baumannii* ile kolonizasyon ve enfeksiyon gelişimi için risk faktörleri taşımaktadır (29). Ayrıca antibiyotiklere duyarlılık ülkeler, merkezler, hatta hastanelerin bölümleri

arasında farklılık göstermektedir. Bu farklılıklar, farklı epidemiyolojik koşullar, antibiyotik kullanım ve kontrol politikalarının yansımaları olarak düşünülebilir.

Acinetobacter baumannii enfeksiyonlarının epidemiyolojisini araştırmak amacıyla yaygın olarak uygulanan moleküler yöntemlerden biri Rep-PCR'dır. Mikroorganizmalar arasında klonal ilişkilerin belirlenmesinde PFGE yöntemi altın standart olarak kabul edilmekle birlikte; Rep-PCR, ayırım gücü yüksek, uygulaması ve yorumlaması PFGE'ye göre kolay bir genotipleme yöntemidir. Ayrıca Rep-PCR'nin PFGE ile iyi korelasyon gösterdiği bildirilmektedir (15, 30).

Bou ve ark., tarafından hastane salgınlarına neden olan imipenem ve meropenem dirençli *A. baumannii* türlerinin tanımlanmasıyla ilgili bir araştırmada; PCR temelli DNA tiplendirme yöntemleri (REP-PCR, Arbitrary primed PCR) referans teknik olan PFGE ile karşılaştırılmıştır. İmipenem ve meropenem dirençli ve duyarlı *A. baumannii* türlerine ait bant profilleri karşılaştırıldığında Rep-PCR'ın Arbitrary primed PCR'dan daha fazla ayırt edici olduğu ve PFGE tekniği gibi yüksek performans gösterdiği bulunmuştur (15).

Bizim çalışmamızda dört farklı hastaneden 99 *A. baumannii* suşu çalışmaya alınıp, Rep-PCR yöntemiyle klonal ilişki araştırıldı. Suşların dört patern oluşturduğu gözlemlendi. Her dört paternde de farklı hastanelerden suşların bulunduğu saptandı. Böylece her dört hastaneye muhtemelen hasta transferleriyle aynı *A. baumannii* suşlarının yayılmış olabileceği gösterildi.

İlk üç paternin bir grup oluşturarak aynı oldukları saptandı. Dördüncü paternin ise bunlardan farklı olmakla beraber kendi içinde bant farklılığının olmadığı izlendi. Toplam 99 suşun sadece dört patern oluşturmasının sebebinin; özellikle baskın klonu oluşturan gruptaki hastaların hastaneler arası transferlerinden ve sağlık çalışanlarının kontaminasyonlarından

kaynaklanabileceği düşünüldü. Bu suşlar söz konusu hastanelerin yoğun bakım ünitelerinde salgınlara neden olmakta ve yıllarca buralarda aynı klona ait suşlar varlığını sürdürebilmektedir.

Özellikle bir grup oluşturan ilk üç paterne ait suşlar incelendiğinde, P3'teki 84 numaralı suşun bizim çalışma grubumuzdaki ilk vaka olabileceği düşünüldü. Bu suşun, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesinde yatmakta olan bir hastanın 20.11.2009 tarihinde laboratuvarımıza ulaşan, derin trakeal aspirat örneği olduğu görüldü. Dördüncü paternde ise 22.2.2011 tarihinde yine AEAH ARYB'den elde edilen 96 numaralı suşun diğerlerinden farklı olan P4 paterni için bizim çalışma grubumuzdaki ilk vaka olabileceği düşünüldü. Karşılaştırmalı olarak objektif bir değerlendirme yapılamamasına rağmen, çalışmanın yeterince hızlı ama maliyetinin diğer yöntemlere göre yüksek olduğu görüldü.

Sonuç olarak; günümüzde *A. baumannii* salgınlarının kaynağının hızlı ve doğru tespiti, enfeksiyonun tedavisi ve salgının kontrolü açısından çok önemlidir. Ancak moleküler temelli çalışmaların daha fazla yapılmasına ihtiyaç vardır. Bu sayede daha ucuz, kolay ve hızlı moleküler temelli yöntemler rutin kullanımda kendine daha fazla yer bulabilecektir.

Bu çalışmanın amacı suşlar arasındaki klonal ilişkiyi ve antibiyotik direnç profillerini belirlemektir. Yine bununla bağlantılı olarak *A. baumannii*'nin direnç mekanizmaları ve direnç genleriyle ilgili çalışmaların yapılması yararlı olacaktır. Ayrıca; altın standart kabul edilen PFGE ile Rep-PCR'ın ve diğer moleküler yöntemlerin maliyet, hız, ayırım gücü gibi özellikler açısından kıyaslamalı çalışmalarla sonuçların değerlendirilmesinin, hem klinik birimlere hem de mikrobiyoloji laboratuvarlarına yeni perspektifler sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Woods G. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology; 6'th ed. Lippincott Philadelphia. 2006:316-355.
2. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev, 1996;9:148-65.
3. Villegas MV, Hartstein AI. *Acinetobacter* outbreaks, 1977-2000. Infection Control and Hospital Epidemiology 2003;24(4):284-95.
4. Beck-Sague CM, Jarvis WR, Brook JH, et al. Epidemic bacteremia due to *Acinetobacter baumannii* in five intensive care unit. Am J Epidemiol 1990;132:723-33.
5. Lortholary O, Fagon J-Y, Hoi AB, et al. Nosocomial acquisition of multiresistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors and prognosis. Clin Infect Dis, 1995;20:790-96.
6. Jain R, Danziger LH. Multidrug-resistant *Acinetobacter* infections: an emerging challenge to clinicians. Ann Pharmacother, 2004;38:1449-59.
7. Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant gram-negative bacteria. Int J Antimicrob Agents 2005;25:11-25.
8. Webster CA, Crove M, Humphreys H, Towner KJ. Surveillance of and adult intensive care unit for long-term persistence of a multi-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol, 1998;17:171-76.
9. Corbella X, Pujol M, Ayast J, Sendra M, Ardanury C, Dominguez MA, et al. Relevance of digestive tract colonization in the epidemiology of nosocomial infections due to multi resistant *Acinetobacter baumannii*. Clin Microbiol Infect Dis, 1996;23:329-34.
10. D'Agata EMC, Thayer V, Schaffner W. An outbreak of *Acinetobacter baumannii*: The importance of cross-transmission. Infection Control and Hospital Epidemiology 2000; 21: 588-591.
11. Bayat A, Shaaban H, Dodgson A, Dunna KW. Implications for burns unit design following outbreak of multi-resistant *Acinetobacter* infection in ICU and Burns Unit. Burns 2003; 29:303-06.
12. Husni R N, Goldstein L S, Arroliga A C, Hall G S, Fatica C, Stoller J K, Gordon S M. Risk factors for an outbreak of multi-drug-resistant acinetobacter nosocomial pneumonia among intubated patients, Chest 1999;115:1378-82
13. Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection. N Engl J Med. 2008 Mar 20;358(12):1271-81.
14. Saeed S, Fakhri MG, Riederer K, et al. Interinstitutional and intrainstitutional transmission of a strain of *Acinetobacter baumannii* detected by molecular analysis: Comparison of pulsed-field gel electrophoresis and repetitive sequence-based polymerase chain reaction. Infect Control Hosp Epidemiol, 2006;27:981-3.
15. Bou G, Cervero G, Dominguez MA, Quereda C, Martinez-Beltran J. PCR based DNA fingerprinting (REP-PCR, AP-PCR) and pulsed-field gel electrophoresis characterization of a nosocomial outbreak caused by imipenem and meropenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. Clinical Microbiology and Infection 2000; 6:635-43.
16. Hsueh PR, LJ, Chen CY, et al. Pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial infections in a university hospital, Taiwan. Emerg Infect Dis 2002;8:827-32.
17. Erben N, Kiremitçi A, Özgüneş İ. Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz ve indüklenebilir beta-laktamaz sıklığının ve antimikrobiyal duyarlılığın değerlendirilmesi, Osmangazi Tıp Derg, 2006;28(3):135-46.
18. Cisneros JM, Rodríguez-Barío J. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment, Clinical Microbiology and Infection, 2002; 8(11):687-93.
19. Smith PW, Massanari RM. Room humidifiers as the source of *Acinetobacter* infections. Journal of the American Medical Association, 1997; 237(8):795-97.
20. Villers D, Espaze E, Coste-Byrel M. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections: microbiological and clinical epidemiology. Annals of Internal Medicine, 1998;129(3):182-89.

21. Balcı M, Bitirgen M, Kandemir B, Turk Arıbaş E, Erayman İ. Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılığı. *Ankem Dergisi* 2010; 24: 28-33.
22. Weinbren MJ, Johnson AP, Kaufmann ME, Livermore DM. *Acinetobacter* spp. isolates with reduced susceptibilities to carbapenems in a UK burns unit. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 1998, 41(5):574-6.
23. Gözütok F, Çelik İ, Berk E, Aydın B, Güzel D. Hastane infeksiyonu etkeni *Acinetobacter baumannii* suşlarının antimikrobiyal direnç oranlarının araştırılması. *Ankem Derg.* 2013;27(1):7-12.
24. Souli M, Galani I, Giamarellou H. Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. *Euro surveillance*, 2008;13(47):1-11.
25. Turner P, Greenhalgh J. The activity of meropenem and comparators against *Acinetobacter* strains isolated from European hospitals, 1997- 2000. *Clin Microbiol Infect*, 2003;9(6):563-67.
26. Turner PJ. Meropenem activity against European isolates: report on the MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) 2006 results. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2008;60(2):185-92.
27. Gür D, Hascelik G, Aydın N, et al. Antimicrobial resistance in Gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 surveillance study of 2007. *J Chemother*, 2009;21(4):383-89.
28. Gür D, Gülay Z, Akan ÖA, et al. Türkiye’de hastane izolatu Gram-negatif bakterilerde yeni beta-laktam antibiyotiklere direnç ve GSBL tipleri: Çok merkezli HITIT sürveyansının sonuçları. *Mikrobiyol Bul*, 2008;42(4):537-44.
29. Maragakis L, Perl T. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clin Infect Dis*, 2008;46(8):1254-63.
30. Reboli AC, Houston ED, Monteforte JS, et al. Discrimination of epidemic and sporadic isolates of *Acinetobacter baumannii* by repetitive element PCR-mediated DNA fingerprinting. *J Clin Microbiol* 1994; 32(11): 2635-40.