

Karbapenemlere Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarında OXA Tipi Beta-Laktamazların Araştırılması ve PFGE ile Genotiplendirilmesi

Investigation of OXA Type Beta-Lactamases and PFGE Patterns in *Acinetobacter baumannii* Strains Resistant to Carbapenems

Şerafettin KEYİK, Uğur ARSLAN, Hatice TÜRK DAĞI, Tuba SEYHAN, Duygu FINDIK

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya.
Selcuk University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Konya, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 29.04.2014 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 10.09.2014

ÖZET

Acinetobacter baumannii hastane enfeksiyonlarına yol açan, çoklu ilaç direncine sahip fırsatçı ve önemli bir patojendir. Son 10 yıldır, D sınıfı beta-laktamazların yayılması nedeniyle *A.baumannii*'de karbapenemlere dirençte önemli ve tehdit eden bir artış tüm dünyadan bildirilmektedir. *A.baumannii*'de karbapenem direncine neden olan en yaygın beta-laktamaz tipleri OXA-23, OXA-24, OXA-40, OXA-58 ve OXA-143 serin beta-laktamazlardır. Bu çalışmanın amacı, karbapenemlere dirençli *A.baumannii* suşlarında OXA tipi beta-laktamazların varlığının ve klonal ilişkilerinin araştırılmasıdır. Çalışmaya, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi (2007-2008) ve Selçuklu (2009-2012) Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında çeşitli klinik örneklerden (68 kan, 18 bronkoalveoler lavaj, 13 drenaj, 3 idrar, 2 beyin omurilik sıvısı, 1 kateter kültürü) izole edilen karbapenemlere dirençli 105 *A.baumannii* izolati alınmıştır. Bakterilerin tanımlanması konvansiyonel yöntemler, Phoenix 100 BD (BD Diagnostic, ABD) ve Vitek II (bioMerieux, Fransa) otomatize sistemleriyle yapılmıştır. Karbapenem duyarlılık testi CLSI önerilerine göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle saptanmıştır. $bla_{OXA\ 23\text{-like}}$, $bla_{OXA\ 24\text{-like}}$, $bla_{OXA\ 51\text{-like}}$ ve $bla_{OXA\ 58\text{-like}}$ genleri multipleks polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılmıştır. $bla_{OXA\ 23\text{-like}}$ ve $bla_{OXA\ 58\text{-like}}$ geni taşıyan *A.baumannii* izolatlarının klonal ilişkisi *Apal* enzimi kullanılarak değişken alanlı jel elektroforez (PFGE) yöntemiyle belirlenmiştir. Karbapenemlere dirençli *A.baumannii* izolatlarının hepsinde $bla_{OXA\ 51\text{-like}}$ geni tespit edilmiş; $bla_{OXA\ 23\text{-like}}$ ve $bla_{OXA\ 58\text{-like}}$ genleri izolatların sırasıyla %46.6 ve %53.3'ünde saptanırken, $bla_{OXA\ 24\text{-like}}$ hiçbir suşta saptanmamıştır. $bla_{OXA\ 23\text{-like}}$ geni hem Meram Tıp Fakültesi Hastanesinde hem de Selçuklu Tıp Fakültesi Hastanesinde izole edilen suşlarda, $bla_{OXA\ 58\text{-like}}$ geni sadece Meram Tıp Fakültesi Hastanesinde izole edilen suşlarda tespit edilmiştir. PFGE yöntemi ile $bla_{OXA\ 23\text{-like}}$ üreten *A.baumannii* suşlarında 32 farklı grup ve $bla_{OXA\ 58\text{-like}}$ üreten *A.baumannii* suşlarında 23 farklı grup belirlenmiştir. İki hastane arasında ortak bir salgın izolati saptanmamış; ancak bazı klonların Meram Tıp Fakültesi Hastanesinde küçük salgınlar oluşturduğu görülmüştür. Bu çalışmada, *A.baumannii* izolatlarında görülen karbapenem direncinde, $bla_{OXA\ 51\text{-like}}$ ile birlikte $bla_{OXA\ 23\text{-like}}$ ve $bla_{OXA\ 58\text{-like}}$ genlerinin önemli rol oynadığı

İletişim (Correspondence): Doç. Dr. Uğur Arslan, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Selçuklu 42131, Konya, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 332 241 2181, **E-posta (E-mail):** drarslanugur@gmail.com

belirlenmiştir. Karbapenemlere dirençli $bla_{OXA\ 23\text{-like}}$ ve $bla_{OXA\ 58\text{-like}}$ üreten *A.baumannii* hastane suşlarının epidemik bir potansiyele sahip olduğu ve izolatların epidemiyolojik ilişkisini tanımlamak için moleküler yöntemlerin kullanılması gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: *Acinetobacter baumannii*; karbapenem direnci; OXA tipi beta-laktamaz; moleküler epidemiyoloji; PFGE.

ABSTRACT

Acinetobacter baumannii is an important opportunistic and multidrug-resistant pathogen leading to nosocomial infections. Over the last 10 years, a significant and threatening increase in resistance to carbapenems, mainly due to the dissemination of class D beta-lactamases, has been reported in *A.baumannii* worldwide. The most common types of beta-lactamases causing carbapenem resistance in *A.baumannii* are the OXA-23, OXA-24, OXA-40, OXA-58 and OXA-143 type serine beta-lactamases. The aim of this study was to investigate the presence of OXA type beta-lactamases in carbapenem-resistant *A.baumannii* strains and the clonal relationship between the strains. A total of 105 non-duplicate carbapenem-resistant *A.baumannii* strains isolated from various clinical samples (68 blood, 18 bronchoalveolar lavage, 13 drainage, 3 urine, 2 cerebrospinal fluid and 1 catheter samples) in the Microbiology Laboratories of Selcuk University, Meram (2009-2012) and Selcuklu (2007-2008) Medical School Hospitals, were included in the study. The isolates were identified by conventional methods and Phoenix 100 BD (BD Diagnostic, USA) and Vitek II (bioMerieux, France) automated systems. Carbapenem susceptibility test was performed by Kirby-Bauer disk diffusion method according to the CLSI standards. $bla_{OXA\ 23\text{-like}}$, $bla_{OXA\ 24\text{-like}}$, $bla_{OXA\ 58\text{-like}}$ and $bla_{OXA\ 51\text{-like}}$ genes were amplified by multiplex PCR assay and clonal relatedness was investigated by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) using *Apal* enzyme. The $bla_{OXA\ 51\text{-like}}$ gene was determined in all carbapenem-resistant *A.baumannii* isolates, while the $bla_{OXA\ 23\text{-like}}$ and $bla_{OXA\ 58\text{-like}}$ genes were detected in 46.6% and 53.3% of isolates, respectively. However $bla_{OXA\ 24\text{-like}}$ gene was not demonstrated in any isolates. $bla_{OXA\ 23\text{-like}}$ gene was determined in both Meram and Selcuklu Medical School hospitals, but $bla_{OXA\ 58\text{-like}}$ gene was detected only in Meram Medical School hospital. PFGE analysis of the isolates revealed 32 different groups in $bla_{OXA\ 23\text{-like}}$ producing *A.baumannii* strains and 23 different groups determined in $bla_{OXA\ 58\text{-like}}$ producing strains. No common epidemic isolates were detected in the two hospitals, however it was noted that some clones produced small outbreaks in Meram MS hospital. In this study it was shown that $bla_{OXA\ 23\text{-like}}$ and $bla_{OXA\ 58\text{-like}}$ genes together with $bla_{OXA\ 51\text{-like}}$ gene had significant roles in the carbapenem-resistance of *A.baumannii* strains. Carbapenem-resistant *A.baumannii* strains producing $bla_{OXA\ 23\text{-like}}$ and $bla_{OXA\ 58\text{-like}}$ enzymes showed the epidemic potential of this nosocomial pathogen and the requirement of molecular typing methods to identify the epidemiologic relationship of the isolates.

Key words: *Acinetobacter baumannii*; carbapenem resistance; OXA type beta-lactamases; molecular epidemiology; PFGE.

GİRİŞ

Acinetobacter baumannii doğada yaygın olarak bulunan, insanda deri florasında yer alan fırsatçı bir patojendir. Çeşitli çevresel ortamlarda yaşayan ve yüzeylerde uzun süre canlı kalan *A.baumannii*, hastane ortamında kolayca kolonize olmakta ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde hastane enfeksiyonlarına yol açmaktadır. *A.baumannii*, özellikle ventilatörle ilişkili pnömoni başta olmak üzere solunum yolu enfeksiyonları, bakteriyemi, menenjit, üriner sistem, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilmektedir^{1,2}. Son yıllarda *A.baumannii* izolatlarının çoğu aminopenisilinler, üreidopenisilinler, geniş spektrumlu sefalosporinler, çoğu

aminoglikozidler, kinolonlar, kloramfenikol ve tetrasiklinler gibi sık kullanılan antibakteriyel ajanlara direnç kazanmıştır. Bu durum tedavide karbapenemlerin sık kullanılmasına neden olmuştur. Ancak, günümüzde tüm dünyadan yüksek oranda karbapenem direnci bildirilmekte, bazı izolatlar da hemen hemen tüm antibiyotiklere dirençli bulunmaktadır^{3,4}.

A.baumannii izolatlarında beta-laktam antibiyotiklere karşı direncin temel mekanizması, ya kromozom ya da plazmid tarafından kodlanan beta-laktamaz üretimidir. Karbapenem direnci; porin proteinlerindeki ve penisilin bağlayan proteinlerdeki değişiklikler, sınıf B veya sınıf D beta-laktamazları sentezleyen genlerin kazanılmasıyla ilişkilidir. *A.baumannii*'de karbapenem direncine neden olan en yaygın beta-laktamaz tipi kazanılmış oksasilineazlardan OXA-23, OXA-24, OXA-40, OXA-58 ve OXA-143 enzimleri serin beta-laktamazlardır. Ayrıca OXA-51 tipi doğal oksasilineazın aşırı üretimi ve diğer OXA enzimleriyle birlikteliği de yüksek düzey karbapenem direncine neden olmaktadır. OXA enzimlerini tespit eden güvenilirliği onaylanmış ve standardize edilmiş fenotipik bir test günümüze kadar geliştirilememiştir. Bu enzimler ancak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi moleküler yöntemler kullanılarak saptanabilmektedir^{5,6}. Bu çalışmanın amacı, karbapenemlere dirençli *A.baumannii* suşlarında OXA tipi beta-laktamazların (*bla*_{OXA 23-like}, *bla*_{OXA 24-like} ve *bla*_{OXA 58-like}) varlığının ve klonal ilişkilerinin araştırılmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM

İzolatların Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılık Testi

Çalışmaya, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi (2007-2008) ve Selçuklu Tıp Fakültesi Hastanesi (2009-2012) Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenemlere dirençli *A.baumannii* suşları alındı. Bakteri tanımlanması konvansiyonel yöntemler (Gram boyama, indol testi, oksidaz testi, üreaz testi, hareket özelliği, sitrat testi ve laktoz özelliği), Vitek II (bioMérieux, Fransa) ve Phoenix 100 BD (BD Diagnostic, ABD) otomatize sistemleriyle yapıldı. Çalışmaya aynı hastadan izole edilen suşlardan sadece biri alındı.

Bakterilerin meropenem ve imipenem (Oxoid, İngiltere) duyarlılığı Kirby-Bauer disk difüzyon tekniğiyle "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" önerileri dikkate alınarak test edildi. Kalite kontrolü olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 standart suşu kullanıldı.

Moleküler Yöntemler

A.baumannii izolatlarından DNA izolasyonu QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, İngiltere) ile üretici firmanın önerilerine göre yapıldı. *bla*_{OXA 23-like}, *bla*_{OXA 24-like}, *bla*_{OXA 51-like} ve *bla*_{OXA 58-like} genleri uygun primerler (Tablo I) kullanılarak multipleks PCR yöntemiyle araştırıldı. Amplifikasyon ürünleri %2 agaroz jelde 100V'da 1 saat yürütüldükten sonra etidyum bromür ile boyanarak UV ışık altında GelDoc sistemi yardımıyla görüntüledi.

Değişken alanlı jel elektroforezi (Pulsed-field gel electrophoresis; PFGE) için izolasyon ve deproteinizasyon işlemleri Durmaz ve arkadaşları⁸ tarafından hazırlanan protokolle yapıldı. DNA 10 U/μL *Apal* (Fermentas, Litvanya) enzimiyle kesildi, %1'lik agaroz içinde CHEF-DRII sisteminde (Bio-Rad Laboratories, Belçika) 14°C'de ve 6 V/cm²'de 20 saat yürütüldü. DNA bant

Tablo 1. Multipleks PCR'de Kullanılan Primer Dizileri ve Beklenen Bant Büyüklükleri

Hedef gen	Primer yönü	Primer dizisi (5'-3')	Bant büyüklüğü (bp)
<i>bla</i> _{OXA 23-like}	F	F-GATCGGATTGGAGAACCAGA	501
	R	R-ATTCTGACCGCATTCCAT	
<i>bla</i> _{OXA 24-like}	F	F-GGTTAGTTGGCCCCCTAAA	246
	R	R-AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	
<i>bla</i> _{OXA 51-like}	F	F-TAATGCTTTGATCGGCCTTG	353
	R	R-TGGATTGCACTTCATCTTGG	
<i>bla</i> _{OXA 58-like}	F	F-AAGTATTGGGCTTGTGCTG	599
	R	R-CCCCTCTGCGCTCTACATAC	

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu; F: Forward; R: Reverse; bp: Baz çift

profilleri GelCompar II yazılım sistemi kullanılarak analiz edildi. UPGMA (Unweighted pair group method with mathematical averaging) metodu ve Dice benzerlik (Dice similarity coefficient) katsayısı kullanılarak PFGE profillerinin dendrogram analizi yapıldı. Değerlendirmede tolerans %1 olarak alındı. Bu istatistiksel analizde %95-100 benzerlik ilişkili-ayrıt edilemez, %90-95 muhtemel ilişkili ve < %90 ilişkisiz kabul edildi.

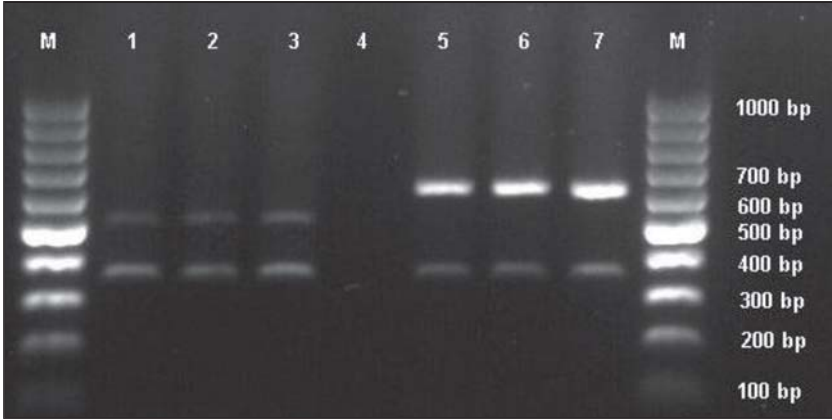
BULGULAR

İmipenem ve meropenem dirençli 105 *A.baumannii* izolatının 68 (%64.8)'i kan, 18 (%17.1)'i bronkoalveoler lavaj (BAL), 13 (%12.4)'ü drenaj, üçü idrar, ikisi beyin omurilik sıvısı ve biri kateter kültüründen izole edilmiştir. Örneklerin 49 (%46.7)'u reanimasyon yoğun bakım ünitesi (YBÜ), 19 (%18.1)'u göğüs hastalıkları YBÜ, 13 (%12.4)'ü dahiliye YBÜ, 11 (%10.5)'i genel cerrahi YBÜ, 8 (%7.6)'i enfeksiyon hastalıkları, 3'ü üroloji YBÜ, 2'si beyin ve sinir cerrahisi YBÜ'den gönderilmiştir.

Çalışmaya alınan suşların tamamının karbapenemlerle birlikte seftazidim, sefepim, gentamisin, siprofloksasin ve levofloksasine dirençli olduğu tespit edilmiştir. Sadece 2007-2008 yılları arasında Meram Tıp Fakültesi Hastanesi (TFH)'nden izole edilen suşlarda amikasine %23 oranında, 2009-2012 yıllarında Selçuklu TFH'den izole edilen suşlarda %25 oranında duyarlılık saptanmıştır.

Çalışmaya alınan izolatların tümünde *bla*_{OXA 51-like} 49 (%46.7)'unda *bla*_{OXA 23-like} 56 (%53.3)'sında *bla*_{OXA 58-like} geni saptanırken, izolatların hiç birinde *bla*_{OXA 24-like} geni tespit edilmemiştir. *bla*_{OXA 23-like} geni TFH'de hem Meram TFH'de hem de Selçuklu TFH'de izole edilen suşlarda; *bla*_{OXA 58-like} geni ise sadece Meram TFH'de izole edilen suşlarda saptanmıştır. *bla*_{OXA 51-like}, *bla*_{OXA 23-like} ve *bla*_{OXA 58-like} geni saptanan suşlara ait görüntü Şekil 1'de sunulmuştur.

PFGE yöntemi ile *bla*_{OXA 23-like} ve *bla*_{OXA 58-like} geni taşıyan *A.baumannii* izolatlarının klonal ilişkisi değerlendirilmiş; *bla*_{OXA 23-like} geni taşıyan *A.baumannii* izolatlarının geniş klonal dağılım gösterdiği 32 farklı klon belirlenmiştir (Şekil 2). Meram TFH kaynaklı *bla*_{OXA 23-like} geni taşıyan izolatlar ile Selçuklu TFH kaynaklı *bla*_{OXA 23-like} taşıyan izolatlar arasındaki benzerlik oranı <



Şekil 1. $bla_{OXA\ 23-like}$, $bla_{OXA\ 51-like}$ ve $bla_{OXA\ 58-like}$ genlerinin Gel Logic 200 Imaging System görüntüsü [M: Moleküler belirteç (GeneRuler 100 bp DNA ladder); Hat 1-3: $bla_{OXA\ 23-like}$ (501 bp) ve $bla_{OXA\ 51-like}$ (353 bp), Hat 4: Negatif kontrol, Hat: 5-7: $bla_{OXA\ 58-like}$ (599 bp) ve $bla_{OXA\ 51-like}$ (353 bp)].

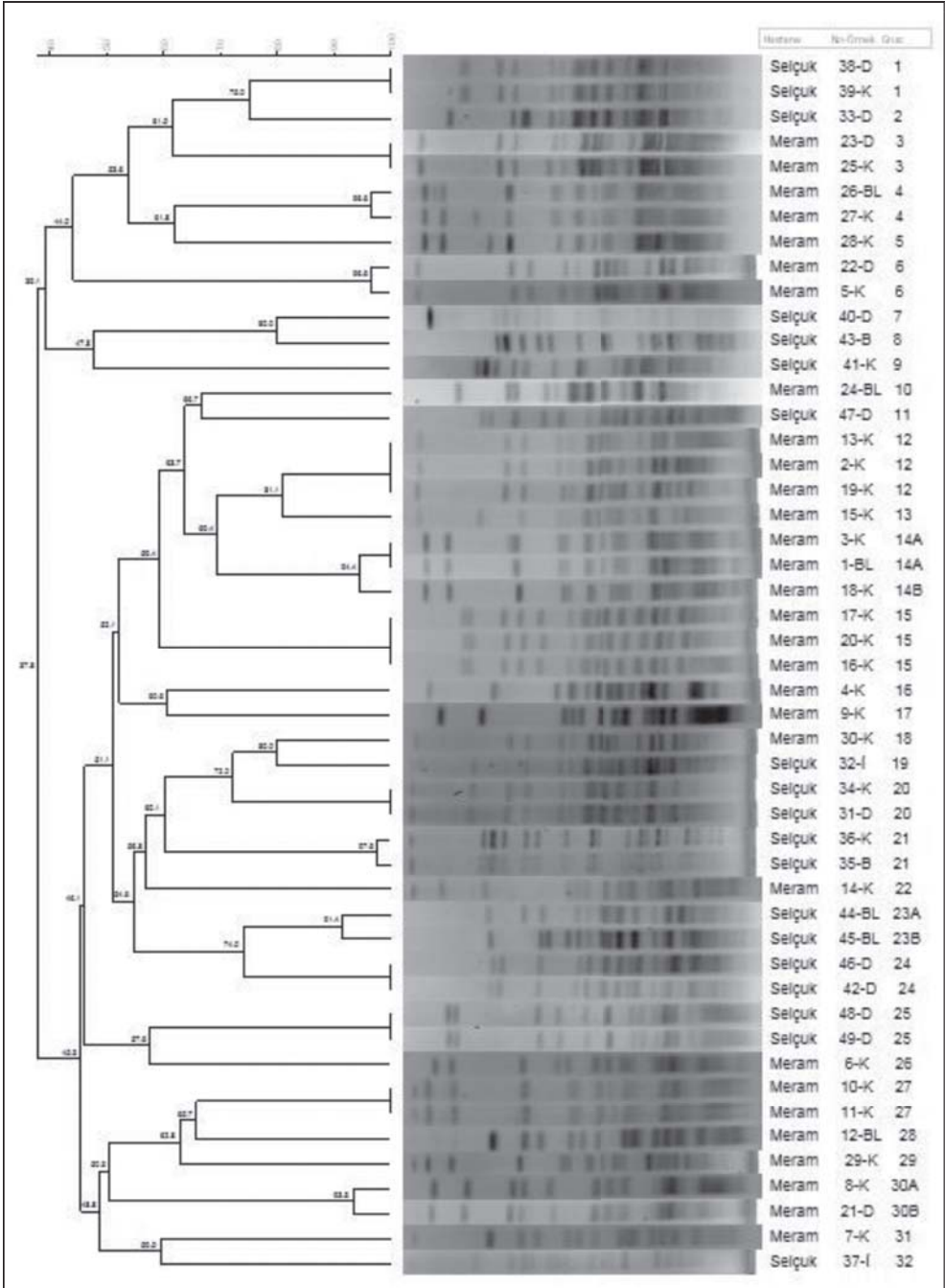
%90'ın altında olup, ilişkisiz kabul edilmiştir. Ortak bir salgın izolatu saptanmamıştır. $bla_{OXA\ 58-like}$ geni taşıyan *A.baumannii* izolatlarının klonal ilişkisine bakıldığında 23 klon belirlenmiştir (Şekil 3). Bazı klonların özellikle 3, 7, 14 ve 17'nin Meram TFH'de küçük salgınlar oluşturduğu görülmüştür.

TARTIŞMA

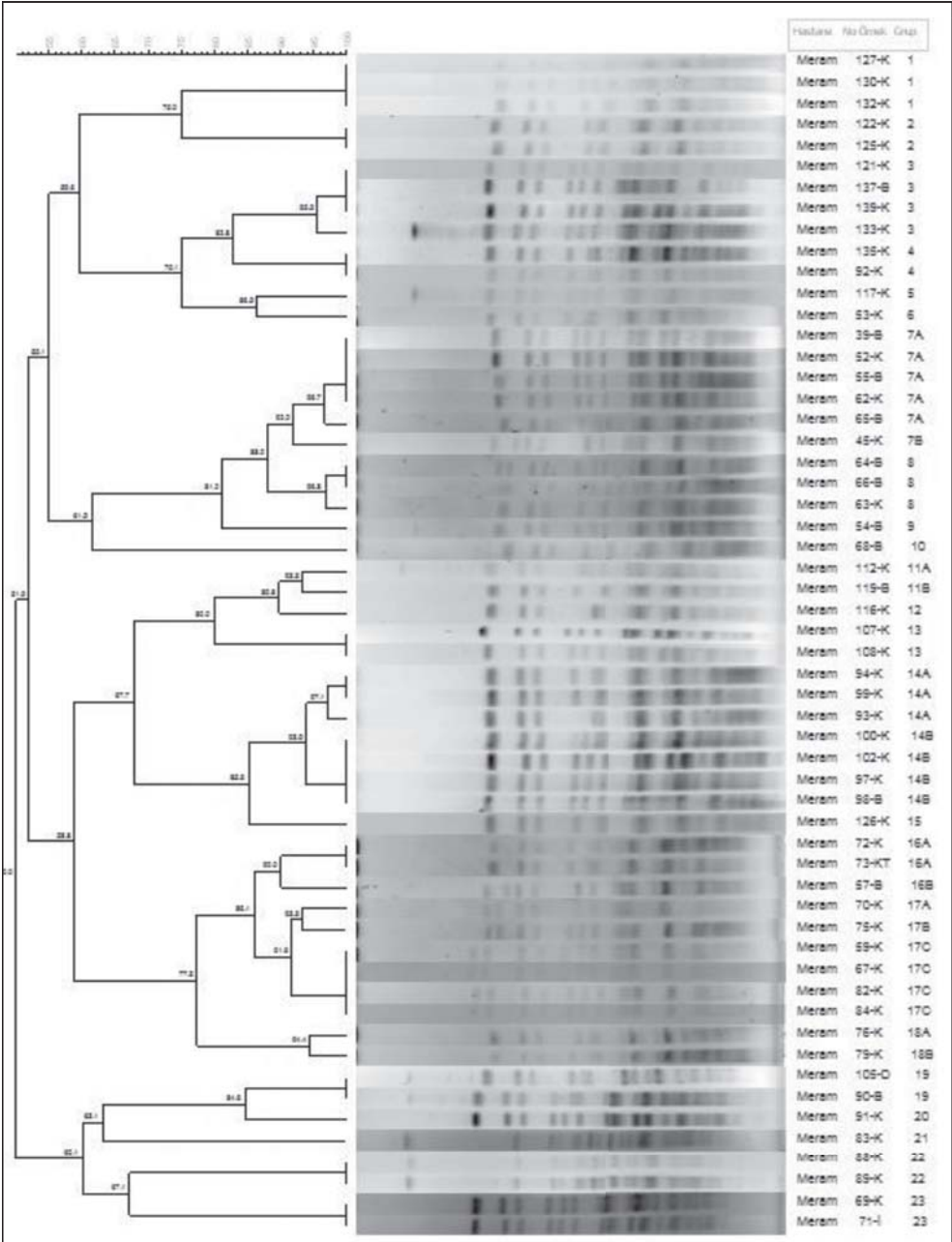
Son yıllarda *Acinetobacter* türlerinde ortaya çıkan çoklu ilaç direnci (ÇİD) *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde karbapenemlerin yoğun kullanımına neden olmuştur. Ancak günümüzde, *Acinetobacter* klinik izolatlarında yüksek oranda karbapenem direnci tüm dünyadan bildirilmekte, bazı izolatlarda tüm geleneksel antibiyotiklere dirençli bulunmaktadır⁴.

A.baumannii türleri tarafından üretilen ve doğal beta-laktamaz olan OXA-51 benzeri beta-laktamaz kümesi sınıf D oksasilinazlardan biridir. Çeşitli coğrafi bölgelerde şu ana kadar en az 18 değişik OXA-51 varyantı gösterilmiştir. Ancak bu enzimlerin tümü zayıf karbapenemaz aktivitesi gösterir⁹. Kaynağı ne olursa olsun OXA-51 enzim kümesi üyeleri *A.baumannii*'nin hemen hemen tüm izolatlarında doğal yapı olmasına rağmen diğer *Acinetobacter* türlerinde bulunmaz¹⁰. Bu enzimlerin sıklıkla diğer kümelerle ait kazanılmış OXA-tipi enzimlerle kombine olarak bulunduğu belirtilmiş ve belirli şartlar altında karbapenem direncinde en azından sinerjik rolü olabileceği ifade edilmiştir¹¹.

Acinetobacter'de kazanılmış karbapenem hidrolize eden oksasilinazlar ilk olarak 1985 yılında Edinburg Üniversitesinde izole edilen suşta gösterilmiş ve enzimin genetik ve biyokimyasal incelenmesi sonucu OXA-23 olarak adlandırılmıştır¹². Daha sonra OXA-23'e benzer şekilde karbapenemleri orta düzeyde hidrolize eden yeni bir sınıf D beta-laktamaz olan OXA-24 tanımlanmıştır¹³. Oksasilinazlar içinde önemli bir potansiyele sahip diğer bir küme ise, ilk olarak Fransa'da saptanan OXA-58'dir¹⁴. OXA-58'in *A.baumannii*'de eksprese olduğunda karbapenemlere duyarlılığı azaltıp, aşırı ekspresyon durumunda da yüksek karbapenem direncine yol açtığı bildirilmiştir⁹. OXA-23, OXA-24 ve OXA-58 tipi enzimler, tüm dünyada farklı coğrafi



Şekil 2. *bla*_{OXA23-like} geni taşıyan karbapeneme dirençli *A. baumannii* izolatlarının PFGE profillerinin dendogramı (K: kan; I: idrar; B: BOS; D: drenaj; BL: bronkoalveoler lavaj).



Şekil 3. $bla_{OXA 58-like}$ geni taşıyan karbapeneme dirençli *A. baumannii* izolatlarının PFGE profillerinin, dendrogramı (K: kan; I: idrar; B: beyin omurilik sıvısı; D: drenaj; KT: kateter).

bölgelerde değişik oranlarda saptanmıştır^{7,15,16}. Ülkemizde yapılan çalışmalarda %0-23 arasında *bla*_{OXA 58-like} geni ve %31-78 arasında *bla*_{OXA 23-like} geni saptanırken, *bla*_{OXA 24-like} geni tespit edilmemiştir¹⁷⁻²⁰. Ülkemizden iki merkezin katıldığı SENTRY antimikrobiyal süveyans çalışmasında karbapeneme dirençli 44 *A.baumannii* izolatının 26 (%59.1)'sında *bla*_{OXA 23-like} geni, 18 (%40.9)'ünde *bla*_{OXA 58-like} geni tespit edilmiştir²¹. Bizim çalışmamızda, karbapeneme dirençli 105 *A.baumannii* izolatının tümünde *bla*_{OXA 51-like} saptanırken, %46.7'sinde *bla*_{OXA 23-like} %53.3'ünde *bla*_{OXA 58-like} geni belirlenmiştir. *bla*_{OXA 24-like} geni hiçbir suşta tespit edilmemiştir. *bla*_{OXA 23-like} geni hem Meram TFH hem de Selçuklu TFH'de izole edilen suşlarda, *bla*_{OXA 58-like} geni ise sadece Meram TFH'de izole edilen suşlarda saptanmıştır. Çalışmaya alınan suşların tamamının karbapenemlerle birlikte seftazidim, sefepim, gentamisin, siprofloksasin ve levofloksasine dirençli, sadece %23-25'inin amikasinine duyarlı olduğu belirlenmiştir. Çalışmaya alınan suşlar ÇİD'e sahip olduğu için izole edilen hastane ve OXA-23, OXA-58 pozitifliği ile ilişkili bir farklılık görülmemiştir.

Karbapenemlere dirençli *A.baumannii* izolatlarında OXA genlerinin sıklığında bölgesel farklılıkların yanı sıra yıllar içinde gen değişimi de gözlenmektedir. Yunanistan'da yapılan bir çalışmada, 2010 yılında hastanede hakim olan *bla*_{OXA 58-like} geni taşıyan karbapeneme dirençli *A.baumannii* izolatlarının, 2011 yılında yerini *bla*_{OXA 23-like} geni taşıyan izolatlara bıraktığı belirtilmiştir²². Ülkemizde yapılan çalışmalarda da, *A.baumannii* izolatlarında *bla*_{OXA 23-like} oranının yıllar içinde arttığı, *bla*_{OXA 58-like} geninde ise azalma olduğu rapor edilmiştir^{19,20}.

On ülkeyi kapsayan SENTRY süveyans çalışmasında, özellikle OXA genleri taşıyan karbapeneme dirençli *A.baumannii* izolatlarının PFGE çalışması sonucunda, bu ülkeler için epidemik bir potansiyele sahip olduğu vurgulanmıştır²³. *bla*_{OXA 23-like} ve *bla*_{OXA 58-like} geni taşıyan karbapeneme dirençli *A.baumannii* izolatları nozokomiyal salgınlara neden olmuştur^{24,25}. Ülkemizde Özen ve arkadaşları²⁶ tarafından, *bla*_{OXA 58-like} geni taşıyan ÇİD *A.baumannii*'ye bağlı bir salgının PFGE ile tek bir klondan kaynaklandığı saptanmıştır. İtalya'da yapılan çok merkezli bir çalışmada, OXA geni taşıyan *A.baumannii* izolatlarının MLST (Multilocus sequence typing) ve PFGE yöntemiyle yapılan klonalite çalışmasında, Avrupa klonu (European clone) I ve II ile benzerlik gösterdiği bildirilmiştir²⁷. Amerika'da yapılan benzer bir çalışmada, OXA geni taşıyan karbapeneme dirençli *A.baumannii* izolatlarının, Avrupa klonu II ile benzerlik gösterdiği ve bu klonun global epidemik bir klon olduğu vurgulanmıştır²⁸. Mugnier ve arkadaşları²⁹ aynı yöntemleri uyguladıkları 15 ülkeyi kapsayan çalışmalarında, dördü yeni olmak üzere sekiz sekans tipi belirlemişler ve bu sekans tiplerinin Avrupa klonu I ve II üzerine yoğunlaştığını tespit etmişlerdir. Ülkemizde Külah ve arkadaşları³⁰, merkezlerinde değişik dönemlerde meydana gelen karbapeneme dirençli *A.baumannii* suşlarına bağlı enfeksiyonların, *bla*_{OXA 58-like} üreten suşlar tarafından oluşturulduğunu ve bunların Avrupa klonu I, II ve III'ten farklı klonlardan kaynaklandığını göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda *bla*_{OXA 23-like} ve *bla*_{OXA 58-like} geni taşıyan *A.baumannii* izolatlarının yapılan PFGE analizinde *bla*_{OXA 23-like} geni taşıyan suşların tek klondan kaynaklanmadığı, geniş klonal dağılım gösterdiği (32 klon) tespit edilmiştir. Meram TFH kaynaklı *bla*_{OXA 23-like} geni taşıyan suşlar ile Selçuklu TFH kaynaklı *bla*_{OXA 23-like} geni taşıyan suşlar arasındaki benzerlik oranı < %90'ın altında olup ilişkisiz kabul edilmiştir. *bla*_{OXA 58-like} taşıyan suşlar incelendiğinde 23 farklı klon belirlenmiştir. Bazı klonların özellikle 3, 7, 14 ve 17'nin Meram TFH'de küçük salgınlar oluşturduğu görülmüştür.

Sonuç olarak bu çalışmada; *A.baumannii* izolatlarında görülen karbapenem direncinde *bla*_{OXA 23-like} ve *bla*_{OXA 58-like} genlerinin önemli bir rol oynadığı görülmüştür. Karbapenemlere dirençli *bla*_{OXA 23-like} ve *bla*_{OXA 58-like} üreten *A.baumannii* hastane suşlarının epidemik bir potansiyele sahip olduğu ve izolatların epidemiyolojik ilişkisini tanımlamak için moleküler yöntemlerin gerekliliği ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

1. Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R. Multiresistant *Acinetobacter baumannii* infections: epidemiology and management. *Curr Opin Infect Dis* 2010; 23(4): 332-9.
2. Eser OK, Ergin A, Haşçelik G. Erişkin hastalardan izole edilen *Acinetobacter* türlerinde antimikrobiyal direnç ve metallo-beta-laktamaz varlığı. *Mikrobiyol Bul* 2009; 43(3): 383-90.
3. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21(3): 538-82.
4. Goic-Barisic I, Tonkic M. The review of carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Acta Med Croatica* 2009; 63(4): 285-96.
5. 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(1): e85854.
6. Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35(3): 219-26.
7. Amudhan SM, Sekar U, Arunagiri K, Sekar B. OXA beta-lactamase-mediated carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Indian J Med Microbiol* 2011; 29(3): 269-74.
8. Durmaz R, Otlu B, Çaliskan A, Gürsoy N. *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella* türlerinin moleküler tiplendirmesinde kullanılabilir kısa süreli "Pulsed-Field gel" elektroforez (PFGE) protokolü. *ANKEM Derg* 2007; 21(2): 113-7.
9. Çiftçi İH, Aşık G. *Acinetobacter baumannii*'nin antibiyotik direnç mekanizmaları. *ANKEM Derg* 2011; 25(3): 196-207.
10. Mussi MA, Limansky AS, Viale AM. Acquisition of resistance to carbapenems in multidrug-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of beta-barrel outer membrane proteins. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(4): 1432-40.
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(4): 351-3.
12. Paton R, Miles RS, Hood J, Amyes SG. ARI-1: beta-lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents* 1993; 2(2): 81-7.
13. Bou G, Oliver A, Martínez-Beltrán J. OXA-24, a novel class D beta-lactamase with carbapenemase activity in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(6): 1556-61.
14. Poirel L, Marqué S, Héritier C, Segonds C, Chabanon G, Nordmann P. OXA-58, a novel class D {beta}-lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(1): 202-8.
15. Coelho J, Woodford N, Afzal-Shah M, Livermore D. Occurrence of OXA-58-like carbapenemases in *Acinetobacter* spp. collected over 10 years in three continents. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(2): 756-8.
16. Feizabadi MM, Fathollahzadeh B, Taherikalani M, et al. Antimicrobial susceptibility patterns and distribution of *bla*_{OXA} genes among *Acinetobacter* spp. isolated from patients at Tehran hospitals. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61(4): 274-8.

17. Vahaboglu H, Budak F, Kasap M, et al. High prevalence of OXA-51-type class D beta-lactamases among ceftazidime-resistant clinical isolates of *Acinetobacter* spp.: co-existence with OXA-58 in multiple centres. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58(3): 537-42.
18. Cicek AC, Saral A, Iraz M, et al. OXA- and GES-type β -lactamases predominate in extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from a Turkish University Hospital. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20(5): 410-5.
19. Çiftçi İH, Aşık G, Karakeçe E ve ark. *Acinetobacter baumannii* izolatlarında *blaOXA* genlerinin dağılımı: çok merkezli bir çalışma. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47(4): 592-602.
20. Ergin A, Hasçelik G, Eser ÖK. Molecular characterization of oxacillinases and genotyping of invasive *Acinetobacter baumannii* isolates using repetitive extragenic palindromic sequence-based polymerase chain reaction in Ankara between 2004 and 2010. *Scand J Infect Dis* 2013; 45(1): 26-31.
21. 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(12): 1529-32.
22. Liakopoulos A, Miriagou V, Katsifas EA, et al. Identification of OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* in Greece, 2010 to 2011. *Euro Surveill* 2012; 17(11). pii: 20117.
23. 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.
24. 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(5): 481-9.
25. Yang HY, Lee JH, Suh TJ, Lee MK. Outbreaks of imipenem resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 β -lactamase in a tertiary care hospital in Korea. *Yonsei Med J* 2009; 50(6): 764-70.
26. Özen N, Ergani A, Naas T, et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the carbapenemase OXA-58 in Turkey. *The Open Antimicrobial Agents Journal* 2009; 1(1): 1-8.
27. 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(2): 160-6.
28. Adams-Haduch JM, Paterson DL, Sidjabat HE, et al. Genetic basis of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates at a tertiary medical center in Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(11): 3837-43.
29. Mugnier PD, Poirel L, Naas T, Nordmann P. Worldwide dissemination of the *blaOXA-23* carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis* 2010; 16(1): 35-40.
30. Kulah C, Mooij MJ, Comert F, et al. Characterisation of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak strains producing OXA-58 in Turkey. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36(2): 114-8.