

# Nozokomiyal Çok İlaça Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Oksasilinaz Genlerinin Multipleks PCR ile Araştırılması ve Klonal İlişkilerinin Rep-PCR ile Değerlendirilmesi

## Investigation of Oxacillinase Genes in Nosocomial Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates by Multiplex PCR and Evaluation of Their Clonal Relationship with Rep-PCR

Berrin SARI<sup>1</sup>, Irmak BARAN<sup>2</sup>, Sema ALAÇAM<sup>3</sup>, İpek MUMCUOĞLU<sup>2</sup>, Şenol KURŞUN<sup>2</sup>, Neriman AKSU<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Bolu İzzet Baysal Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Bolu.

<sup>1</sup> Bolu İzzet Baysal State Hospital, Medical Microbiology Unit, Bolu, Turkey.

<sup>2</sup> Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara.

<sup>2</sup> Ankara Numune Training and Research Hospital, Medical Microbiology Clinic, Ankara, Turkey.

<sup>3</sup> Balıkesir Halk Sağlığı Laboratuvarı, Balıkesir.

<sup>3</sup> Balıkesir Public Health Laboratory, Balıkesir, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 20.10.2014 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 05.01.2015

### ÖZ

Hastanede yatan hastalarda morbidite ve mortalitesi yüksek enfeksiyonlara yol açan *Acinetobacter baumannii*, önemli bir nozokomiyal patojendir. Birçok antibiyotik sınıfına, özellikle de karbapenemlere direnç geliştirmesi nedeniyle *A.baumannii* ciddi bir klinik problem haline gelmiştir. Bu çalışmanın amacı, çok ilaca dirençli (ÇİD) *A.baumannii* suşlarında karbapenem direncinden sorumlu oksasilinaz genlerinin araştırılması ve bu suşlar arasındaki klonal ilişkinin değerlendirilmesidir. Çalışmaya, Şubat-Mart 2012 tarihleri arasında hastanemizin yoğun bakım üniteleri (n= 42) ve diğer servislerinde (n= 20) yatan hastalara ait çeşitli klinik örneklerden (24 trakeal aspirat, 14 yara, 10 kan, 7 idrar, 2 apse, 2 balgam, 2 kateter ucu, 1 plevral sıvı) izole edilen toplam 62 ÇİD *A.baumannii* suşu dahil edilmiştir. İzolatlarının tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının tespiti Vitek-2 otomatize sistemi (bioMérieux, Fransa) ile yapılmış; bakteri tanımlamasının doğrulanması için Maldi Biotyper (Bruker Daltonics, Almanya) sistemi kullanılmıştır. İmipenem, meropenem, kolistin ve tigesiklin duyarlılığı ek olarak E-test (bioMérieux, Fransa) ile değerlendirilmiştir. Karbapenemaz üretiminden sorumlu OXA tipi genlerin (*bla*<sub>OXA-23-like</sub>, *bla*<sub>OXA-40-like</sub>, *bla*<sub>OXA-51-like</sub>

**İletişim (Correspondence):** Uzm. Dr. Irmak Baran, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Talatpaşa Bulvarı, Altındağ 06100, Ankara,  
Tel (Phone): +90 312 580 4474, E-posta (E-mail): irmakmor@yahoo.com

*bla*<sub>OXA-58-like</sub>) varlığı multipleks PCR yöntemiyle (Hyplex® CarbOxa ID test system, Amplex Diagnostics, Almanya) araştırılmış; izolatlar arasındaki klonal ilişki rep-PCR (DiversiLab, bioMérieux, Fransa) yöntemiyle incelenmiştir. Çalışmamızda tüm suşların ampicilin-sulbaktam, piperasilin, piperasilin-tazobaktam, seftazidim, sefepim, imipenem, meropenem, siprofloksasin, levofloksasin ve tetrasikline dirençli olduğu saptanmış; amikasin, gentamisin, trimetoprim-sülfametoksazol, netilmisin ve tigesikline direnç oranları ise sırasıyla; %88.7, %88.7, %82.3, %43.5 ve %27.4 olarak belirlenmiştir. Çalışılan tüm izolatların kolistine duyarlı olduğu bulunmuştur. Çalışmaya alınan tüm suşlar *bla*<sub>OXA-23-like</sub> ve *bla*<sub>OXA-51-like</sub> genleri için pozitif bulunurken, hiçbirinde *bla*<sub>OXA-40-like</sub> ve *bla*<sub>OXA-58-like</sub> genleri saptanamamıştır. Aynı zaman diliminde, ÇİD *A.baumannii* suşlarının izole edildiği hastaların bulunduğu servislerden alınan çevresel örneklerin kültüründe *A.baumannii* üremesi olmamıştır. İzolatlar arasındaki klonal ilişki incelendiğinde; %95'in üzerinde benzerlik gösteren 48 suşun (%77.4) bir büyük kümeyi (Küme A) oluşturduğu izlenmiş, geri kalan 14 izolatın içinde de %95'in üzerinde benzerliğe sahip herbiri ikişer izolat içeren 3 küçük küme daha oluşmuştur (Küme B, C, D). Küme A'da bulunan izolatların çoğu (%58.3) cerrahi yoğun bakım (CYB) ünitesinde yatan hastalardan elde edilmiş; bu kümeye ait ilk izolatın da yine aynı üniteye yatan bir hastadan izole edildiği dikkati çekmiştir. Bu durum, salgının muhtemelen CYB servisinden kaynaklandığını ve Küme A'da bulunan izolatların hasta/tıbbi cihaz/eşya transferi ile diğer servislere yayıldığını düşündürmüştür. Sonuç olarak çalışmamızda, nozokomiyal ÇİD *A.baumannii* izolatlarının antibiyotiklere yüksek oranda dirençli olduğu ve tümünün *bla*<sub>OXA-23</sub> direnç genini taşıdığı gösterilmiştir. Bu izolatların rep-PCR ile analizleri, aynı atadan kaynaklanan, kısa süre önce birbirinden ayrılmış, çok yakın ilişkili suşlar olduklarını ortaya koymuştur. Bu durum, hastanemizde yatan hastalar için tedavi seçeneklerinin çok sınırlı olduğunu ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin artırılması gerektiğini vurgulamaktadır.

**Anahtar sözcükler:** *Acinetobacter baumannii*; karbapenem; antimikrobiyal direnç; rep-PCR.

## ABSTRACT

*Acinetobacter baumannii* is a major nosocomial pathogen which can cause infections with high morbidity and mortality in hospitalized patients. In recent years *A.baumannii* has become a serious clinical problem because of the development of resistance to many antibiotics, and especially to carbapenems. The aims of this study were to investigate the oxacillinase genes responsible for carbapenem resistance in multidrug resistant (MDR) *A.baumannii* strains and to evaluate the clonal relationship between these strains. A total of 62 MDR *A.baumannii* strains isolated from various clinical specimens (24 tracheal aspirate, 14 wound, 10 blood, 7 urine, 2 abscess, 2 sputum, 2 catheter tip, 1 pleural fluid) of hospitalized patients in intensive care units (n= 42) and other inpatient clinics (n= 20) between February-March 2012, were included in the study. Identification and antibiotic susceptibility of *A.baumannii* isolates were performed by Vitek-2 automated system (bioMérieux, France), and the identified bacteria were confirmed by Maldi Biotyper (Bruker Daltonics, Germany) system. Imipenem, meropenem, colistin and tigecycline were additionally tested by E-test strips (bioMérieux, France). The presence of carbapenemase-producing OXA genes (*bla*<sub>OXA-23-like</sub>, *bla*<sub>OXA-40-like</sub>, *bla*<sub>OXA-51-like</sub> and *bla*<sub>OXA-58-like</sub>) were detected by multiplex PCR (hyplex® CarbOxaID test system, Amplex Diagnostics, Germany) and the clonal relationship between isolates were investigated by rep-PCR method (DiversiLab, bioMérieux, France). In our study, all isolates were found resistant to ampicillin-sulbactam, piperacillin, piperacillin-tazobactam, ceftazidime, cefepime, imipenem, meropenem, ciprofloxacin, levofloxacin and tetracycline, while the resistance rates for amikacin, gentamicin, trimethoprim-sulfamethoxazole, netilmicin and tigecycline were 88.7%, 88.7%, 82.3%, 43.5% and 27.4%, respectively. All *A.baumannii* isolates were susceptible to colistin. All of the strains were positive for *bla*<sub>OXA-23-like</sub> and *bla*<sub>OXA-51-like</sub> genes, while *bla*<sub>OXA-40-like</sub> and *bla*<sub>OXA-58-like</sub> genes were not detected in any of them. Simultaneous cultures from environmental samples collected from inpatient clinics in which MDR *A.baumannii* strains isolated were negative in terms of *A.baumannii* growth. In evaluation of clonal relationship between isolates, 48 strains (77.4%) showed greater than 95% similarity and formed a big cluster, named Cluster A. The remaining 14 isolates formed 3 small clusters (each had 2 isolates), named Cluster B, C and D, showing greater than 95% similarity.

Majority of isolates (58.3%) in Cluster A were from patients in the surgical intensive care unit, and the first isolate from this cluster was also from a patient in the same unit. In our opinion, isolates from Cluster A may have spread to other clinics from surgical intensive care unit through transferred patients or medical and non-medical devices and equipment. Nosocomial MDR *A.baumannii* isolates in our hospital are highly resistant to antibiotics and all harboured *bla*<sub>OXA-23-like</sub> genes. The rep-PCR analysis of these isolates indicated that a large portion of *A.baumannii* strains were clonally closely related, and they probably from the same source and common ancestor, and separated shortly from each other. This data emphasizes that the choices of treatment are quite limited for inpatients, and the need for improvement of the infection control measures in our hospital.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*; carbapenem; antimicrobial resistance; rep-PCR.

## GİRİŞ

*Acinetobacter* türleri, hastane kaynaklı birçok enfeksiyonda etken olarak karşımıza çıkmakta ve özellikle yoğun bakım hastalarında ventilatör ile ilişkili pnömoni etiyolojisinde önemli rol oynamaktadırlar<sup>1</sup>. *A.baumannii*'nin hastane ortamından eradikasyonu, birçok antibiyotik sınıfına kolaylıkla direnç geliştirebildiği ve çevrede uzun süre sağ kalabildiği için oldukça zordur<sup>2</sup>. Özellikle karbapenemlere dirençli suşların ortaya çıkması ve yayılımı son yıllarda ciddi sorunlara neden olmaktadır<sup>3</sup>. *A.baumannii*'de karbapenem direncine sebep olan ana mekanizmalardan birisi, karbapenemi hidrolize eden Ambler sınıf D oksasilinazların (OXA enzimleri) varlığıdır. OXA-tipi karbapenemazları kodlayan genler arasında başlıcaları; kromozomal olarak kodlanan intrinsek *bla*<sub>OXA-51-like</sub> ve kazanılmış *bla*<sub>OXA-23-like</sub>, *bla*<sub>OXA-40-like</sub>, *bla*<sub>OXA-58-like</sub>, *bla*<sub>OXA-143-like</sub>, *bla*<sub>OXA-235-like</sub> genlerdir<sup>4</sup>. Çok ilaca dirençli (ÇİD) *A.baumannii* enfeksiyonlarının tedavisi, seçeneklerin sınırlı olması nedeniyle zordur<sup>5</sup>. Bu nedenle en önemli uygulama, yayılımın kontrol altına alınmasıdır. Enfeksiyona neden olan suşlar arasındaki klonal ilişkinin hızlı bir şekilde belirlenmesi, hastane salgınlarının önlenmesi için gerekli enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınmasını sağlayabilir<sup>6</sup>. İzolatların tiplendirilmesi ve genetik benzerliklerinin incelemesinde, tekrarlayan dizi temelli polimeraz zincir reaksiyonu (Repetitive sequence-based PCR; rep-PCR) yöntemine dayanan, ticari yarı otomatize bir sistem (DiversiLab®, bioMérieux, Fransa) geliştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, bu yöntemin *A. baumannii* izolatlarını tiplendirmede yüksek ayırt edici yeteneğe sahip olduğu ve tiplendirmede PFGE (Pulsed-field gel electrophoresis) ve MLST (Multilocus sequence typing) ile yüksek uyum gösterdiği bildirilmiştir<sup>7,8</sup>. Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen ÇİD *A.baumannii* suşlarındaki oksasilinaz genlerinin ve rep-PCR yöntemi ile klonal ilişkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Bakteri Suşları

Çalışmaya, Şubat-Mart 2012 tarihleri arasında, hastanemizin yoğun bakım ünitelerinde yatan 42 ve diğer servislerinde yatan 20 hastanın, mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 62 ÇİD *A.baumannii* suşu dahil edildi. Tüm izolatlar, hastanemizin enfeksiyon kontrol komitesi tarafından hastane enfeksiyonu etkeni olarak tanımlanmıştı. Her bir hastadan sadece bir kere, ilk defa izole edilen suş çalışmaya

alındı. Aynı zaman diliminde aynı servislerden çevre kültürleri de alındı.

### Bakteri Suşlarının Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının tespiti Vitek-2 otomatize sistemi (bioMérieux, Fransa) ile yapıldı. Suşların doğrulanması için Maldi Biotyper (Bruker Daltonics, Almanya) sistemi kullanıldı. İmipenem, meropenem, tigesiklin ve kolistin MİK değerleri ek olarak E-test (bioMérieux, Fransa) ile değerlendirildi. Kontrol olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 referans suşları kullanıldı. Üç veya daha fazla antibiyotik sınıfına dirençli suşlar ÇİD *A.baumannii* olarak tanımlandı.

### OXA Tipi Karbapenemazların Saptanması

Üreticinin tavsiyeleri doğrultusunda Hyplex® CarbOxa ID Test (Amplex Diagnostics GmbH, Almanya) sistemi kullanılarak multipleks PCR ile OXA tipi karbapenemaz üretiminden sorumlu *bla*<sub>OXA-23-like</sub>, *bla*<sub>OXA-40-like</sub>, *bla*<sub>OXA-51-like</sub> ve *bla*<sub>OXA-58-like</sub> genlerin varlığı araştırıldı.

### A. *baumannii* Suşlarının Genotiplendirilmesi

Suşların tiplendirilmesinde, DiversiLab rep-PCR (bioMérieux, Fransa) sistemi üreticinin önerileri doğrultusunda uygulandı. Verilerin analizi internet tabanlı DiversiLab yazılımı Ver.3.4 ile yapıldı. Uzaklık matrislerinin belirlenmesinde Pearson korelasyon katsayısı; dendrogramların oluşturulmasında ise UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic averages) yöntemi kullanıldı.

Sonuçların değerlendirilmesinde, > %95 benzerlik gösteren izolatlar “küme” (cluster) olarak tanımlandı. Bir küme içerisinde < %97 benzerlik gösteren 1-2 bant farkı bulunan izolatlar “benzer” olarak kabul edildi ve bunlar “klon grupları”nı oluşturdu. Aynı klon grubunda bulunan suşların yakın ilişkili oldukları düşünüldü. Klon grupları içinde bulunan > %97 benzerlik gösteren ve aralarında hiç bant farkı bulunmayan suşlar “ayırt edilemez” olarak tanımlandı ve aynı “patern” olarak isimlendirildi. Benzerlikleri < %95 olan, üç ve daha fazla bant farkı olan suşlar “farklı” olarak tanımlandı.

### BULGULAR

Çalışmada değerlendirilen ÇİD *A.baumannii* izolatlarının 24’ü (%38.7) trakeal aspirat, 14’ü (%22.5) yara, 10’u (%16.1) kan, 7’si (%11.2) idrar ve 7’si (%11.2) diğer (2 apse, 2 balgam, 2 kateter ucu, 1 plevral sıvı) klinik örneklerden izole edilmiştir. Çevresel örneklerden yapılan kültürlerde *A.baumannii* üremesi olmamıştır.

Tüm izolatlar ampisilin-sulbaktam (SAM), piperasilin (PIP), piperasilin-tazobaktam (TZ), seftazidim (CAZ), sefepim (FEP), imipenem (IPM), meropenem (MEM), siprofloksasin (CIP), levofloksasin (LVX) ve tetrasiklin (TET)’e dirençli bulunmuştur. İzolatlarda amikasin (AMK), gentamisin (GEN), trimetoprim-sülfametoksazol (SXT), netilmisin (NET) ve tigesiklin (TGC) direnç oranları ise sırasıyla; %88.7, %88.7, %82.3, %43.5 ve %27.4 olarak belirlenmiştir. Tüm izolatlar kolistine (CST)’e duyarlı bulunmuştur.

Çalışmaya alınan tüm suşlar *bla*<sub>OXA-23-like</sub> ve *bla*<sub>OXA-51-like</sub> genleri için pozitif bulunurken,

hiçbirinde *bla*<sub>OXA-40-like</sub> ve *bla*<sub>OXA-58-like</sub> genleri saptanamamıştır.

DiversiLab sistemiyle incelendiğinde; 62 suşun 48'i (%77.4) %95'in üzerinde benzerlik göstermiş ve en büyük kümeyi oluşturmuştur. Küme A olarak isimlendirilen bu kümede 6 adet klon grubu (G1, G2, G3, G4, G13 ve G14) mevcuttur. Bunlardan G1 klonu, 4 paterne (P4, P5, P6, P7) ayrılmış toplam 16 izolatla en büyük grubu oluşturmuştur (Tablo I). Diğer klonların patern ve izolat sayıları Tablo I'de görülmektedir. Küme A'da bulunan izolatların çoğu (n= 28; %58.3) cerrahi yoğun bakım ünitesindeki hastalardır.

Diğer 14 izolatın içinde de, %95'in üzerinde benzerliğe sahip her biri ikişer izolat içeren 3 küçük küme daha oluşmuş; bunlar Küme B, C ve D olarak adlandırılmıştır. Küme B'de G7 klon grubu, Küme C'de G15 klon grubu, Küme D'de ise G16 klon grubu bulunmakta olup bunların içerdiği paternler Tablo I'de görülmektedir. Geri kalan 8 izolat (G5, G6, G8-G12 ve G17) diğer izolatlarla benzer bulunmamıştır.

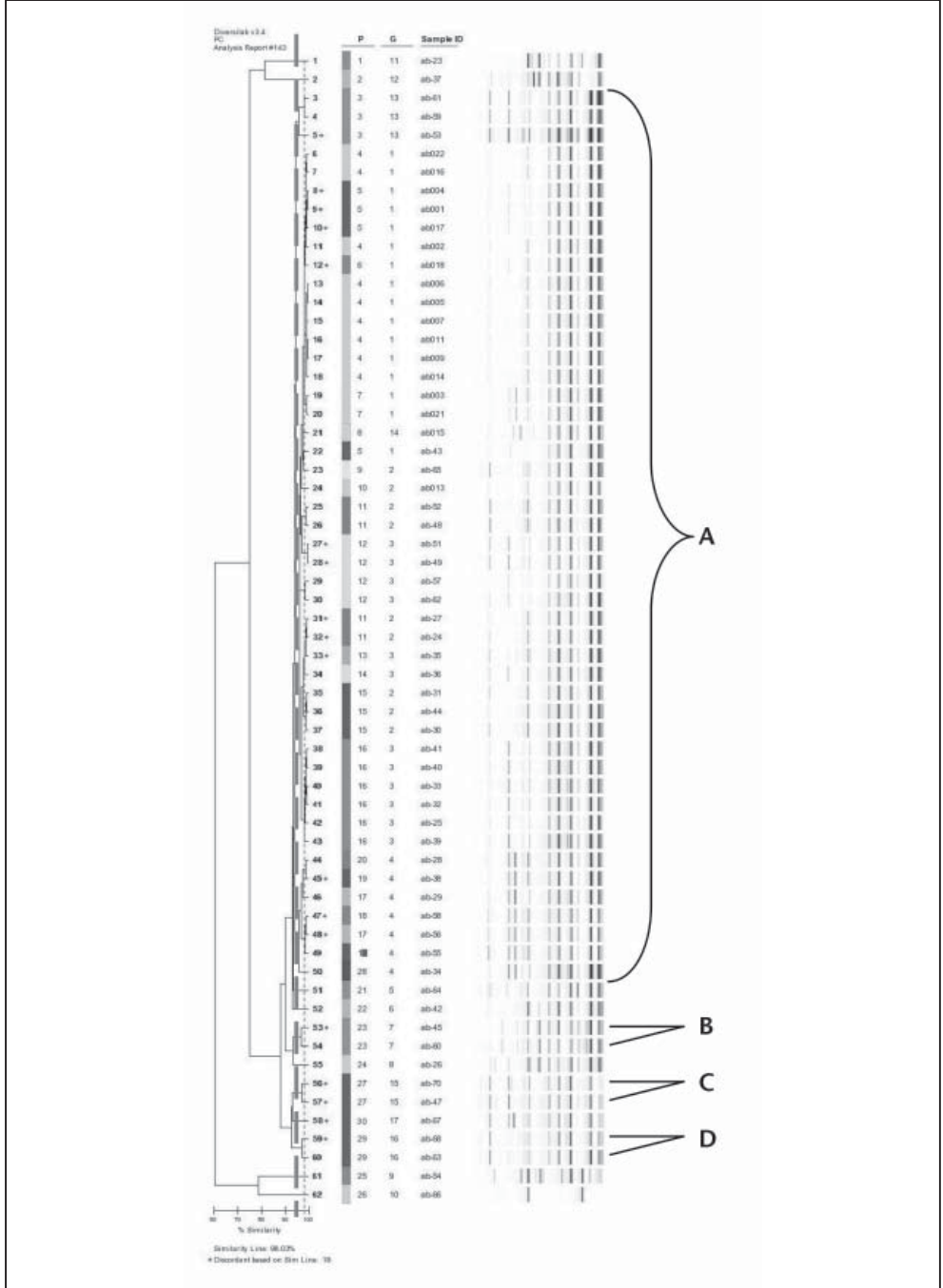
Tüm suşları gösteren dendrogram Şekil 1'de; klon gruplarının antibiyotik duyarlılığı, suşların izolasyon tarihleri, izole edildikleri klinik örnek ve servisler Tablo I'de sunulmuştur.

## TARTIŞMA

*Acinetobacter baumannii* suşlarında özellikle karbapenem direncinin ortaya çıkması tedavi seçeneklerini sınırladığı için klinik olarak önem taşımaktadır. Bu direncin gelişiminde, hastanelerde artmış oranda karbapenemlerin kullanılması suçlanmaktadır<sup>9</sup>. Çalışmamızdaki tüm *A.baumannii* izolatlarının %88.7'si AMK, %88.7'si GEN, %82.3'ü SXT, %43.5'i NET ve %27.4'ü TGC'e dirençli bulunurken, tüm izolatların CST'e duyarlı olduğu izlenmiştir. Bu veri, ÇİD *A.baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kolistin önemli bir seçenek olabileceğini göstermektedir. Daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda da kolistin etkin bir seçenek olduğu bildirilmiştir<sup>10,11</sup>.

*A.baumannii* suşlarında karbapenem direncinden sorumlu tutulan temel mekanizma OXA enzimleridir<sup>12</sup>. Karbapenemi hidrolize eden ilk oksasilinaz olarak, 1985 yılında İngiltere'de tanımlanan OXA-23 enzimi, daha sonra hızla yayılmış ve OXA-23-benzeri enzimleri üreten izolatlar Avrupa, Asya ve Güney Amerika'da birçok merkezden bildirilmiştir<sup>11-15</sup>. Bizim çalışmamızda da, incelenen tüm suşlarda *bla*<sub>OXA-23</sub> geninin varlığı saptanmış; bu durum hastanemizde OXA-23-benzeri enzimlerin karbapenem direncinden sorumlu önemli mekanizmalardan biri olduğunu düşündürmüştür.

Türkiye, Yunanistan ve İtalya'nın aralarında bulunduğu Akdeniz ülkelerinde, 1999-2009 yılları arasında karbapeneme dirençli *A.baumannii* izolatlarında *bla*<sub>OXA-58</sub> geninin baskın olarak saptandığı; ancak 2009 yılından itibaren bu ülkelerde *bla*<sub>OXA-23</sub>'ün giderek artarak *bla*<sub>OXA-58</sub>'in yerini almaya başladığı ifade edilmektedir<sup>16</sup>. İleri sürülen hipoteze göre; *bla*<sub>OXA-23</sub> pozitif suşlar karbapenemleri daha yüksek konsantrasyonlarda inhibe ettikleri için seçici avantaja sahip olduklarından *bla*<sub>OXA-58</sub> pozitif suşların yerini almışlardır<sup>16,17</sup>. Bir diğer gen olan *bla*<sub>OXA-51</sub>'in ise, *A.baumannii* suşlarında intrinsek olarak bulunan bir direnç geni olduğu ve fazla miktarda üretildiğinde karbapenem direncine katkıda bulunduğu bildirilmiştir<sup>18</sup>. Yapılan çalışmalarda, *ISAb1* genetik elemanının *bla*<sub>OXA-51</sub> geninin önüne gelerek ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir<sup>2,15,17,18</sup>. Bizim



Şekil 1. ÇİD *A.baumannii* suşlarını (n= 62) gösteren rep-PCR bant paternlerinin oluşturduğu dendrogram (Kırmızı kesik çizgi %95 benzerlik sınırını göstermektedir. %95 üzerinde benzerlik gösteren suşlar kümeler olarak gösterilmiştir).

**Tablo 1. A.baumannii İzolatlarının (n= 62) Antibiyotik Duyarlılık Paternleri\*, Klonal Analizle İlişkisi, Klon Grupları ve Paternlerde Bulunan A. baumannii İzolatlarının İzolasyon Tarihleri, İzole Edildikleri Klinik Örnekler ve Servisler**

Küme	Klon grubu	Patern	İzolat No	AMK	GEN	NET	TGC	CST	SXT	İzolasyon tarihi	Klinik örnek	Servis		
A	G1	P4	ab-22	R	R	R	R	S	R	3.2.12	Kan	CYB		
			ab-16	R	R	R	R	S	R	7.2.12	TA	CYB		
			ab-2	R	R	R	R	S	S	9.2.12	TA	GCE		
			ab-6	R	R	R	R	S	R	4.2.12	Yara	CYB		
			ab-5	R	R	R	R	S	R	8.2.12	Kan	CYB		
			ab-7	R	R	R	R	S	R	11.2.12	TA	GAS		
			ab-11	R	R	R	R	S	S	5.2.12	Yara	URO		
		P5	ab-9	R	R	R	R	S	S	8.2.12	İdrar	ADS		
			ab-14	R	R	R	R	S	S	13.2.12	Kan	CYB		
			ab-4	R	R	S	S	S	R	3.2.12	İdrar	URO		
			ab-1	R	R	R	S	S	R	1.2.12	Kan	CYB		
			ab-17	R	R	S	S	S	R	4.2.12	Yara	GCE		
		P6	ab-43	R	R	R	S	S	R	5.2.12	TA	CYB		
			ab-18	R	R	S	S	S	R	8.3.12	Yara	ORT		
			P7	ab-3	R	S	R	S	S	S	21.2.12	TA	CYB	
ab-21	R	S		S	S	S	S	4.3.12	İdrar	KYB				
A	G2	P9	ab-65	R	R	R	R	S	R	19.2.12	Yara	AYB		
			P10	ab-13	R	R	R	R	S	S	17.2.12	TA	CYB	
			P11	ab-52	R	R	R	S	S	R	16.3.12	Kateter	CYB	
		ab-48		R	R	R	S	S	S	9.3.12	Yara	AYB		
		P15	ab-27	R	R	R	S	S	S	26.3.12	Abse	ADYB		
			ab-24	R	R	R	S	S	R	28.3.12	TA	KYB		
			ab-31	R	R	R	R	S	R	10.2.12	Kan	CYB		
			ab-44	R	R	R	R	S	R	12.2.12	İdrar	AYB		
			ab-30	R	R	R	R	S	R	18.2.12	Yara	CYB		
		A	G3	P12	ab-51	R	R	S	S	S	R	26.2.12	TA	CYB
ab-49	R				R	S	S	S	R	18.2.12	Balgam	CYB		
ab-57	R				R	S	S	S	R	8.3.12	Kateter	BCE		
P13	ab-62			R	R	R	S	S	R	17.3.12	TA	ADYB		
	ab-35			R	R	R	R	S	R	9.3.12	PS	CYB		
P14	ab-36			R	R	R	S	S	R	25.2.12	TA	CYB		
	P16			ab-41	R	R	R	S	S	R	5.3.12	Yara	CYB	
ab-40				R	R	R	S	S	R	4.3.12	TA	CYB		
ab-33				R	R	S	S	S	R	11.3.12	İdrar	CYB		
ab-32	R			R	S	S	S	R	25.2.12	TA	CYB			
ab-25	R	R	S	S	S	R	21.2.12	Abse	ACS					
ab-39	R	R	S	S	S	R	1.3.12	TA	CYB					
A	G4	P20	ab-28	S	R	S	S	S	R	19.2.12	İdrar	KYÜ		
			P19	ab-38	S	R	R	S	S	R	14.3.12	TA	CYB	
				ab-55	S	R	S	S	S	R	16.3.12	Yara	CYB	
		P17	ab-29	S	R	S	S	S	R	9.3.12	Yara	CYB		
			ab-56	S	S	S	S	S	R	12.3.12	Kan	CYB		
		P18	ab-58	S	S	S	R	S	S	21.3.12	TA	CYB		
			P28	ab-34	R	R	S	S	S	R	23.3.12	TA	CYB	
		G5		P21	ab-64	R	R	S	S	S	R	16.3.12	Yara	URO
		G6		P22	ab-42	R	R	S	R	S	R	30.3.12	Balgam	AYB
		B	G7	P23	ab-45	R	R	S	S	S	R	22.3.12	TA	GAS
ab-60	R				R	S	S	S	R	25.3.12	Yara	GAS		

**Tablo I.** *A.baumannii* İzolatlarının (n= 62) Antibiyotik Duyarlılık Paternleri\*, Klonal Analizle İlişkisi, Klon Grupları ve Paternlerde Bulunan *A. baumannii* İzolatlarının İzolasyon Tarihleri, İzole Edildikleri Klinik Örnekler ve Servisler (devamı)

Küme	Klon grubu	Patern	İzolot No	AMK	GEN	NET	TGC	CST	SXT	İzolasyon tarihi	Klinik örnek	Servis
	G8	P24	ab-26	R	S	S	S	S	R	14.3.12	TA	YAN
	G9	P25	ab-54	R	S	S	S	S	S	20.3.12	TA	CYB
	G10	P26	ab-66	S	R	S	S	S	R	7.3.12	Kan	KAR
	G11	P1	ab-23	R	R	S	S	S	R	18.2.12	TA	ADYB
	G12	P2	ab-37	R	S	S	S	S	R	6.3.12	İdrar	CYB
A	G13	P3	ab-61	R	R	S	S	S	R	11.3.12	Kan	CYB
			ab-59	R	R	S	S	S	R	14.3.12	TA	ADS
			ab-53	R	R	S	S	S	R	16.3.12	TA	NEF
A	G14	P8	ab-15	R	R	S	S	S	R	17.3.12	Yara	ORT
C	G15	P27	ab-70	R	R	S	S	S	R	8.3.12	Yara	CYB
			ab-47	R	R	S	S	S	R	4.3.12	Kan	CYB
D	G16	P29	ab-68	R	R	S	S	S	R	19.3.12	TA	CYB
			ab-63	R	R	S	S	S	R	22.3.12	Kan	BCE
	G17	P30	ab-67	R	R	S	S	S	R	10.3.12	TA	NOR

\* Tüm izolatlar SAM, PIP, TZ, CAZ, FEP, IPM, MEM, CIP, LVX ve TET'e dirençli bulunduğu için tabloda gösterilmemiştir (ACS: Acil Cerrahi Servisi; ADS: Acil Dahiliye Servisi; ADYB: Acil Dahiliye Yoğun Bakım; AYB: Anestezi Yoğun Bakım; BCE: Beyin Cerrahisi; CYB: Cerrahi Yoğun Bakım; GAS: Gastroenteroloji; GCE: Genel Cerrahi; URO: Uroloji; KAR: Kardiyoloji; KYB: Koroner Yoğun Bakım; KYÜ: Kronik Yara Ünitesi; NEF: Nefroloji; NÖR: Nöroloji; ORT: Ortopedi; PS: Plevra sıvısı; TA: Trakeal aspirat; YAN: Yanık)

çalışmamızda, *A.baumannii* izolatlarının hiçbirisinde OXA-58-benzeri enzimleri kodlayan genler saptanmamış; buna karşın tüm suşlarda OXA-51-benzeri enzimleri kodlayan genlerin varlığı tespit edilmiştir.

Tedavi seçenekleri sınırlı olduğu için, ÇİD *A.baumannii* suşlarının hızlı ve güvenilir bir şekilde epidemiyolojik olarak tanımlanması önemlidir. Bu amaçla bizim çalışmamızda rep-PCR yöntemi kullanılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda bu yöntemin *A.baumannii* için yüksek oranda ayırt edici olduğu ve PFGE, MLST, f-AFLP ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğu belirtilmiştir<sup>7,8</sup>. Çalışmamızda izole edilen 62 ÇİD *A.baumannii* suşundan %77.4'ünün, %95'in üzerinde benzerlik göstererek kümelenedikleri görülmüş (Küme A); geri kalan izolatların ise bu ana klondan farklı olduğu saptanmıştır (Şekil 1, Tablo I). Daha önce yapılan çalışmalarda da, *A.baumannii*'ye bağlı salgınlarda genellikle bir baskın klonun epidemiyolojik olarak egemen olduğu bildirilmektedir<sup>6,7,10,11</sup>. Küme A'yı oluşturan izolatların %58.3'ünün cerrahi yoğun bakım (CYB) servisinde yatan hastalardan izole edildiği ve %37.5'inin ventilatör ile ilişkili pnömonisi olan hastalara ait trakeal aspirat (TA) izolatları olduğu dikkati çekmiştir. Küme A'da ilk tespit edilen izolat, CYB servisinde yatan bir hastaya ait kan kültürü izolatı; son tespit edilen izolat ise koroner yoğun bakım ünitesindeki bir hastaya ait TA izolatıdır. Her ne kadar çevresel kültürlerinden *A.baumannii* izole edilememiş olsa da, salgının muhtemelen CYB servisindeki ortak bir atadan kaynaklandığı ve Küme A'da bulunan izolatların diğer servislere buradan yayıldığı düşünülmüştür.

Ülkemizde *A.baumannii* için rep-PCR ile yapılan önceki çalışmalarda, çalışmamıza benzer sonuçlar bulunmuştur. Ergin ve arkadaşları<sup>19</sup> 2004-2010 yılları arasında kan kültürle-



rinden izole ettikleri *A.baumannii* izolatlarını rep-PCR ile değerlendirdikleri bir çalışmada, 100 izolatın 62'sinin 13 paterne ayrıldığını ve büyük çoğunluğunun patern 1'de bulunduğunu saptamışlardır. Bu araştırmacılar, 2004-2009 yılları arasında izole edilen suşların *bla*<sub>OXA-58-like</sub> genlerini daha sık içerdiğini, ancak 2010 yılında azalarak yerini *bla*<sub>OXA-23-like</sub> genlerine bıraktığını gözlemlemişler; bu izolatların %98'nin kolistine duyarlı olduğunu bildirmişlerdir<sup>19</sup>. Gülbudak ve arkadaşları<sup>20</sup> da, 75 *A.baumannii* izolatının rep-PCR ile se-kiz ayrı klonu ayrıldığını ve izolatların %72'sinin A ana klonunda kümelendiğini saptamışlardır.

Sonuç olarak çalışmamızda, nozokomiyal ÇİD *A.baumannii* izolatlarının antibiyotiklere yüksek oranda dirençli olduğu ve tümünün *bla*<sub>OXA-23</sub> direnç genini taşıdığı gösterilmiştir. Bu izolatların rep-PCR ile analizleri, aynı atadan kaynaklanan, kısa süre önce birbirinden ayrılmış, çok yakın ilişkili suşlar olduklarını ortaya koymuştur. Bu durum, hastanemizde yatan hastalar için tedavi seçeneklerinin çok sınırlı olduğunu ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin artırılması gerektiğini vurgulamaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Gales AC, Pfaller MA, Sader HS, Hollis RJ, Jones RN. Genotypic characterization of carbapenem-nonsusceptible *Acinetobacter* spp. isolated in Latin America. *Microb Drug Resist* 2004; 10(4): 286-91.
2. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(10): 3471-84.
3. 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.
4. Higgins PG, Dammhayn C, Hackel M, Seifert H. Global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(2): 233-8.
5. Rodriguez CH, De Ambrosio A, Bajuk M, et al. In vitro antimicrobials activity against endemic *Acinetobacter baumannii* multiresistant clones. *J Infect Dev Ctries* 2010; 4(3): 164-7.
6. Cicek AC, Karagoz A, Koksal E, et al. A single clone *Acinetobacter baumannii* outbreak in a state hospital in Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2013; 66(3):245-8.
7. Fontana C, Favaro M, Minelli S, et al. *Acinetobacter baumannii* in intensive care unit: a novel system to study clonal relationship among the isolates. *BMC Infect Dis* 2008; 8: 79.
8. Deplano A, Denis O, Rodriguez-Villalobos H, De Ryck R, Struelens MJ, Hallin M. Controlled performance evaluation of the DiversiLab repetitive-sequence-based genotyping system for typing multidrug-resistant health care-associated bacterial pathogens. *J Clin Microbiol* 2011; 49(10): 3616-20.
9. Yin XL, Hou TW, Xu SB, et al. Detection of drug resistance-associated genes of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microb Drug Resist* 2008; 14(2): 145-50.
10. 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.
11. Andriamanantena TS, Ratsima E, Rakotonirina HC, et al. Dissemination of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in various hospitals of Antananarivo Madagascar. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2010; 9: 17.
12. Park S, Kim HS, Lee KM, et al. Molecular and epidemiological characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in non-tertiary Korean hospitals. *Yonsei Med J* 2013; 54(1): 177-82.
13. Paton R, Miles RS, Hood J, Amyes SG, Miles RS, Amyes SG. ARI 1: beta-lactamase-mediated imipenem resis-

- tance in *Acinetobacter baumannii*. Int J Antimicrob Agents 1993; 2(2): 81-7.
14. Corrêa LL, Botelho LA, Barbosa LC, et al. Detection of bla(OXA-23) in *Acinetobacter* spp. isolated from patients of a university hospital. Braz J Infect Dis 2012; 16(6): 521-6.
  15. Nowak P, Paluchowska P, Budak A. Distribution of blaOXA genes among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* nosocomial strains in Poland. New Microbiol 2012; 35(3): 317-25.
  16. 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.
  17. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev 2008; 21(3): 538-82.
  18. 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.
  19. Ergin A, Hascelik G, Eser OK. 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.
  20. Gulbudak H, Aslan G, Tezcan S, et al. Investigation of the clonal relationship between nosocomial *Acinetobacter baumannii* isolates by rep-PCR. Mikrobiyol Bul 2014; 48(2): 316-24.