

Bir Üniversite Hastanesinde İzole Edilen Çok İlaça Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Antimikrobiyal Duyarlılığı ve Moleküler Karakterizasyonu

Antimicrobial Susceptibility and Molecular Characterization of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolated in an University Hospital

Şahin DİREKEL¹, Ayşegül ÇOPUR ÇİÇEK², Alper KARAGÖZ³, Nebahat AYDOĞAN EJDER², Efdal OKTAY⁴, Nuran DELİALİOĞLU⁴, Osman Birol ÖZGÜMÜŞ², Rıza DURMAZ^{3,6}

¹ Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Giresun.

¹ Giresun University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Giresun, Turkey.

² Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Rize

² Recep Tayyip Erdoğan University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Rize, Turkey.

³ Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Bölümü, Moleküler Mikrobiyoloji Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı, Ankara.

³ Public Health Agency of Turkey, Department of Microbiology Reference Laboratories, Molecular Microbiology Research and Application Laboratory, Ankara, Turkey.

⁴ Mersin University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Mersin, Turkey.

⁴ Mersin University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Mersin, Turkey.

⁵ Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Rize.

⁵ Recep Tayyip Erdoğan University Faculty of Arts and Sciences, Biology Department, Rize, Turkey.

⁶ Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

⁶ Yıldırım Beyazıt University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 25.03.2016 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 21.10.2016

ÖZ

Aerobik, hareketsiz, gram-negatif bir bakteri olan *Acinetobacter baumannii*, birçok antibiyotiğe direnç gösteren önemli bir nozokomiyal patojendir. Karbapenemler, bu patojenin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için en yaygın kullanılan antibiyotiklerdendir. Ancak son yıllarda *A.baumannii*'de karbapenem direncinin giderek artan oranlarda saptanması, tedavide ciddi problemlere yol açmaktadır. Bu çalışmanın amacı, klinik *A.baumannii* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profillerinin saptanması, *bla*_{OXA} direnç genlerinin varlığının araştırılması ve izolatlar arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesidir. Çalışmaya, Mayıs 2012-Ocak 2013 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran hastaların çe-

İletişim (Correspondence): Yrd. Doç. Dr. Şahin Direkel, Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Nizamiye Yerleşkesi, Orhan Yılmaz Caddesi Mumcular Sokak No: 1/1, Giresun, Türkiye
Tel (Phone): +90 454 310 1600, E-posta (E-mail): sdirekel@yahoo.com

şitli klinik örneklerinden (37 solunum yolu örneği, 11 yara, 10 kan, 8 kateter, 6 doku, 5 idrar, 2 apse) izole edilen 79 *A.baumannii* suşu dahil edilmiştir. İzolatlar konvansiyonel yöntemler ve Vitek®2 Compact otomatize sistemi ile tanımlanmıştır. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle araştırılmış ve CLSI kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Suşlarda *bla*_{OXA-51'}, *bla*_{OXA-23'}, *bla*_{OXA-24'}, *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{OXA-58} genlerinin varlığı *in-house* polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile araştırılmış; suşlar arasındaki klonal ilişki, *Apal* restriksiyon enziminin kullanıldığı değişken alanlı (pulse-field) jel elektroforezi (PFGE) ile belirlenmiştir. Çalışmamızda, tüm izolatların kolistine duyarlı olduğu görülmüş; piperasilin/tazobaktam, siprofloksasin, imipenem, meropenem, sefaperazon/sülbaktam, trimetoprim/sülfametoksazol, seftazidim, levofloksasin, gentamisin, tetrasiklin, ampisilin/sülbaktam, amikasin, netilmisin ve tigesikline direnç oranları sırasıyla; %97.5, %96.2, %94.9, %94.9, %93.6, %91.1, %88.6, %86, %83.6, %77.2, %69.6, %55.7, %27.8 ve %3.8 olarak saptanmıştır. Tüm suşlar, OXA'ya özgül PCR ve OXA16S rDNA dizi analizi ile *A.baumannii* olarak tanımlanmıştır. İzolatların tümünde (%100) *bla*_{OXA-51'}, 71'inde (%89.9) ise *bla*_{OXA-23} gen varlığı saptanmış; hiç bir izolatta *bla*_{OXA-24'}, *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{OXA-58} genleri tespit edilmemiştir. PFGE sonuçlarına göre 10 pulstotip tanımlanmış; bunlardan sekizinde 3-30 arasında değişen, birbirinden ayırt edilemeyen benzer PFGE profilleri gösteren 77 (%97.5) izolattın [A (n= 30), B (n= 20), C (n= 9), D (n= 5), E (n= 4), F (n= 3), G (n= 3), H (n= 3)] bulunduğu belirlenmiştir. Klon A ve B'nin, diğer klonlarla karşılaştırıldığında hasta örneklerinde baskın olduğu ve antibiyotiklere direncin yüksek seviyelerde olduğu görülmüştür. Geriye kalan iki pulstotip [I (n= 1), J (n= 1)] ana küme ile yakın ilişkili olarak bulunmuştur. Ortak bir salgın izolatu saptanmamış; ancak büyük kısmının klonal olarak ilişkili olduğu ve hastanemizde çapraz kontaminasyon sorununun yaşandığı belirlenmiştir. Sonuç olarak çalışmamızda, klinik *A.baumannii* suşlarında karbapenem direncinden sorumlu başlıca genlerin *bla*_{OXA-51} ve *bla*_{OXA-23} olduğu izlenmiş; A ve B klonlarının yüksek prevalansa sahip olmasının yatan hastalar açısından tehlike oluşturabileceği düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: *Acinetobacter baumannii*; değişken alanlı jel elektroforezi; OXA tipi karbapenemazlar; moleküler epidemiyoloji.

ABSTRACT

Acinetobacter baumannii, an aerobic, non-motile, gram-negative bacterium is an important nosocomial pathogen which shows resistance to the most antibiotics. Carbapenems are the most commonly used antibiotics for the treatment of infections caused by this pathogen. However the emergence of resistance against carbapenems in an increasing rate generates serious problems for antimicrobial therapy. The aims of this study were to detect the antibiotic susceptibility, and the presence of *bla*_{OXA} resistance genes of clinical *A.baumannii* isolates and to determine the clonal relationship between these isolates. A total of 79 *A.baumannii* strains isolated from various clinical specimens (37 respiratory tract samples, 11 wound, 10 blood, 8 catheters, 6 tissue, 5 urine, 2 abscess) of the patients admitted to Mersin University Medical School Hospital between May 2012-January 2013, were included in the study. The isolates were identified by conventional methods and Vitek®2 Compact automated system. Antibiotic susceptibilities of the isolates were determined by Kirby-Bauer disk diffusion method and evaluated according to CLSI criteria. The presence of *bla*_{OXA-51'}, *bla*_{OXA-23'}, *bla*_{OXA-24'}, *bla*_{OXA-48} and *bla*_{OXA-58} genes were detected by an in-house polymerase chain reaction (PCR), and the clonal relationship between the isolates were identified by pulse-field gel electrophoresis (PFGE) using the *Apal* restriction enzyme. In our study, all of the isolates were susceptible to colistin, while the resistance rates against piperacillin-tazobactam, ciprofloxacin, imipenem, meropenem, cefoperazone/sulbactam, trimethoprim-sulfamethoxazole, ceftazidime, levofloxacin, gentamicin, tetracycline, ampicillin-sulbactam, amikacin, netilmicin and tigecycline were 97.5%, 96.2%, 94.9%, 94.9%, 93.6%, 91.1%, 88.6%, 86%, 83.6%, 77.2%, 69.6%, 55.7%, 27.8% and 3.8%, respectively. All the isolates were identified as *A.baumannii* with the OXA-specific PCR and OXA16S rDNA sequence analysis. All of the isolates (100%) harboured *bla*_{OXA-51} and 71 (89.9%) harboured *bla*_{OXA-23} gene, however they were all negative for *bla*_{OXA-24'}, *bla*_{OXA-48} and *bla*_{OXA-58} genes. According to PFGE results 10 pulsotypes were identified, of these eight pulsotypes formed 77 (97.5%) similar strains with indistinguishable PFGE profiles ranging between 3-30 [A (n= 30), B (n= 20), C (n= 9), D (n= 5), E (n= 4), F (n= 3), G (n= 3), H (n= 3)]. When compared with the other clones, clones A and B were dominant

among the samples and they have exhibited high level of antibiotic resistance. The rest two pulsotypes [I (n= 1), J (n= 1)] were in close relation with the main cluster. No common outbreak isolate was detected, but the relationship between the majority of the strains pointed out that there was a cross contamination problem in our hospital. In conclusion *bla*_{OXA-51} and *bla*_{OXA-23} were detected as predominant genes responsible from carbapenem resistance in our clinical *A.baumannii* strains, and it was considered that the high prevalence of clones A and B may constitute a threat in terms of hospitalized patients.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*; pulsed-field gel electrophoresis; OXA-type carbapenemases; molecular epidemiology.

GİRİŞ

Acinetobacter baumannii aerobik, hareketsiz, gram-negatif, non-fermentatif, pleomorfik bir kokobasildir. Hastane ortamında günlerce canlı kalabilen bu bakteri, bir hastadan diğerine kolayca yayılabilir¹⁻⁴. *A.baumannii*, özellikle yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'nde ve immün sistemi bozulmuş hastalarda; ventilatör ile ilişkili pnömoni, üriner sistem enfeksiyonu, yumuşak doku ve yara yeri enfeksiyonu, peritonit, endokardit, sepsis ve menenjit gibi oldukça ciddi hastane enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Solunum sistemi ekipmanları gibi nemli, insan cildi gibi kuru yüzeylerde uzun süre canlılığını koruyabilme, hastane ortamında kolayca yayılabilme ve antimikrobiyal ilaçlara karşı direnç geliştirebilme yeteneği nedeniyle, bu bakterinin oluşturduğu enfeksiyonlar büyük bir sorun oluşturmaktadır. *A.baumannii*'ye bağlı mortalite oranları, özellikle ventilatör ile ilişkili pnömoni (%23-73) ve kan dolaşımı enfeksiyonu (%52) olan kritik hastalarda oldukça yüksektir^{2,4-7}. Önemli bir nozokomial enfeksiyon etkeni olan *A.baumannii*, hastanede yatan pnömonili hastalardan izole edilen üçüncü en yaygın patojen bakteridir⁸. Travma, mekanik ventilasyon, immün süpresyon, cerrahi işlemler, intravenöz kateterizasyon, trakeostomi, enteral beslenme ve üçüncü kuşak sefalosporin, florokinolon veya karbapenem gibi antibiyotiklerin kullanımı *A.baumannii* enfeksiyonları için majör risk faktörleridir³.

Acinetobacter türleri arasında karbapenem direncinin son dekatta artış göstermesi dünya genelinde büyük bir problem oluşturmaktadır⁹. *A.baumannii*'de antimikrobiyal direnç mekanizmalarını tanımlamak bu mikroorganizmanın neden olduğu enfeksiyonun sonuçlarının anlaşılmasına katkı sağlayacaktır⁴. *A.baumannii*'de direnç mekanizması enzimin üretimi veya aktivasyonu, integron yapımı, dış membran geçirgenliği, biyofilm oluşumu, ilaç atım pompaları gibi faktörlere bağlı olarak karmaşıklık göstermektedir⁴. *A.baumannii*'de karbapenem direncinin en önemli nedeni; sınıf A (TEM, SHV ve GES), sınıf B (IMP, VIM ve SIM), sınıf C (AmpC) ve sınıf D'yi (OXA-23, OXA-24, OXA-51 ve OXA-58) içeren karbapenem hidrolize eden beta-laktamaz ile ilişkili enzimatik hidrolizdir⁴. Antimikrobiyal kemoterapinin, özellikle karbapenemlerin aşırı kullanımı; *A.baumannii*'de tanımlanmış olan karbapenemi hidrolize eden sınıf D beta-laktamazların (KHDL) görülmesine katkıda bulunmuştur. İlk kez 1995'de tanımlanan KHDL olan OXA-51'e ek olarak, *A.baumannii* suşlarında OXA-23, OXA-40, OXA-58 ve OXA-143 beta-laktamaz gruplarını içeren kazanılmış KHDL'lerin alt grupları tanımlanmıştır¹⁰. *bla*_{OXA-58} geni tüm dünyada tanımlanmasına karşın, Fransa, İngiltere, Arjantin, İspanya, Romanya, Avusturya,

Yunanistan, İskoçya, Kuveyt ve Türkiye’de daha sık bildirilmiştir⁹. 2012 CHINET sürveyans raporuna göre, *A.baumannii* suşlarında imipenem ve meropenem karşı sırasıyla, %62.8 ve %59.4 olan direnç oranlarının %89.6 oranlarına çıktığı belirtilmektedir⁴. Karbapenem dirençli *A.baumannii* prevalansının Ortadoğu ülkelerinde yüksek olduğu ifade edilmektedir¹¹. *A.baumannii*’de OXA karbapenamaz geninin ekspresyonunda *ISAb1* gen bölgesinin önemli rolü olduğu bildirilmiştir. Ülkemizin de içerisinde yer aldığı grupta, kromozom ve plazmid üzerinde kodlanan karbapenamaz direncinde, bu gen bölgesine, *ISAb2* ve *ISAb3* gen bölgelerinin de eşlik ettiği vurgulanmıştır⁹.

Dünya genelinde *A.baumannii* enfeksiyonlarının hastanelerde artış göstermesine bağlı olarak, enfeksiyon kontrol çalışmaları ve epidemiyolojik çalışmalarda uygun moleküler yöntemlerin geliştirilmesi zorunluluk haline gelmiştir¹². Kullanılan yöntemler arasında; ribotiplendirme, AFLP (amplified fragment length polymorphism), RAPD (random amplified polymorphic DNA) analizi, rep-PCR (repetitive extragenic palindromic sequence-based polymerase chain reaction) ve multilokus PCR gibi birçok yöntem bulunmasına karşın, bakteriyel izolatların tiplendirilmesi için değişken alanlı (pulsed-field) jel elektroforezi (PFGE) halen altın standart olarak kabul edilmektedir¹². Bu çalışmada, *A.baumannii* suşlarının antimikrobiyal ilaçlara duyarlılık paternlerinin belirlenmesi ve *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-51} ve *bla*_{OXA-58} gen varlığının PCR ile saptanması amaçlanmıştır. Ayrıca, tüm izolatlar için PFGE tiplendirme yöntemi ile genetik profillerinin belirlenerek, izolatların genotipleri ile antimikrobiyal duyarlılıkları arasındaki genetik ilişkinin ve en yaygın klonun belirlenmesi hedeflenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bakteri izolatlarının tanımlanması

Çalışmaya, Mayıs 2012 ile Ocak 2013 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı’nda çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve enfeksiyon etkeni olan *A.baumannii* izolatları alındı. Klinik örnekler %5 kanlı agar ve EMB (Eosin Methylene Blue) agara ekilerek 37°C’de 18-24 saat inkübe edildi. Kültürde üreyen bakterilerin tür düzeyinde tanımlanması, geleneksel yöntemler (Gram boyama, oksidaz testi, sitrat testi, şeker kullanım testi, indol testi, üreaz testi) ve Vitek 2 (Bio-Mérieux, Fransa) otomatize sistemiyle üretici firmaların önerileri doğrultusunda yapıldı. İzolatlar %10 gliserol içeren beyin kalp infüzyon buyyon (BKIB) içerisinde saklandı. Çalışmaya, aynı hastadan izole edilen izolatlardan yalnızca biri alındı.

Farklı servislere laboratuvarımıza gönderilen toplam 79 klinik izolatın servislere ve örnek türüne göre dağılımı Tablo 1’de gösterildi.

Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Klinik izolatların in vitro antibiyotik duyarlılık testleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)¹³ önerileri doğrultusunda; gentamisin (10 µg), amikasin (30 µg), levofloksasin (5 µg), netilmisin (30 µg), seftazidim (30 µg), imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), siprofloksasin (5 µg), tetrasiklin (30 µg),

Tablo 1. *A.baumannii* izolatlarının servislere ve örnek türüne göre dağılımı

Servisler	Örnek türü											Toplam
	TA	Yara	Kan	Kateter	Balgam	Doku	Kateter idrarı	İdrar	Apse	Plevra	TBL	
Genel Cerrahi	7	1	-	-	2	-	-	-	2	-	1	13
Reanimasyon Anesteziyoloji	7	1	2	-	-	-	2	-	-	-	-	12
Dahiliye YB	4	-	2	2	1	-	1	-	-	-	-	10
Üroloji	-	3	-	-	-	2	-	-	-	-	-	5
Onkoloji	-	1	1	-	2	-	-	1	-	-	-	5
Göğüs Hastalıkları	2	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	4
Göğüs Cerrahi	2	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	4
Pediyatrik YB	1	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	4
Ortopedi	2	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	4
Pediyatrik Cerrahi	-	-	-	3	-	1	-	-	-	-	-	4
GE	-	1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	3
KBB	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2
Kardiyovasküler Cerrahi	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2
Hematoloji	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Nefroloji	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Beyin Cerrahi	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Kardiyoloji	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Enfeksiyon Hastalıkları	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
Psikiyatri	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Toplam	28	11	10	8	7	6	3	2	2	1	1	79

GE: Gastroenteroloji; KBB: Kulak Burun Boğaz, TA: Trakeal aspirat; TBL: Transbronşiyal lavaj; YB: Yoğun bakım.

trimetoprim/sülfametoksazol (30 µg), piperasilin (100 µg), ampisilin/sülbaktam (20/10 µg), piperasilin/tazobaktam (100/10 µg) ve sefoperazon/sülbaktam (75/30 µg) antibiyotikleri (Oxoid, Thermo Scientific, İngiltere) için test edildi. Kolistin ve tigesiklin duyarlılıkları ise Etest (BioMerieux, Fransa) yöntemiyle incelendi. Standart kalite kontrol suşu olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 kullanıldı. Tigesiklin E test minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri "Food and Drug Administration (FDA)"¹⁴ önerileri doğrultusunda; MİK değeri ≥ 8 µg/ml ise dirençli, 4-6 µg/ml ise orta duyarlı, ≤ 2 µg/ml ise duyarlı olarak değerlendirildi. Kolistin için Etest MİK değeri CLSI 2012 yorumlama kriterlerine göre; ≥ 4 µg/ml ise dirençli, ≤ 2 µg/ml ise duyarlı olarak kabul edildi¹³.

Multipleks PCR ile ilaç direnç genlerinin (*bla*_{OXA} genleri) saptanması

Gliserollü BKIB içerisinde -80°C de saklanmış olan *A.baumannii* izolatları moleküler çalışmalar için kanlı agar ve EMB agara pasajlanıp 37°C'de 18-24 saat inkübe edilerek tekrar üretildi. Üreyen tek bir koloniden alınarak Luria Broth besiyerinde 37°C'de bir gece

inkübasyona bırakıldı; daha sonra bakteri süspansiyonu 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi; süpernatant atıldıktan sonra peletin üzerine 300 µl steril distile su eklendi; 10 dakika kaynatıldı, sonra tekrar 13.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant yeni bir tüpe aktarıldı ve ekstrakte edilmiş DNA olarak kullanıldı. PCR taramaları karbapenamaz kodlayan genler için yapıldı. Multipleks PCR, *bla*_{OXA-51'}, *bla*_{OXA-23'}, *bla*_{OXA-24'}, *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{OXA-58} genlerinin tespiti amacıyla uygulandı. OXA genlerinin amplifikasyonu için kullanılan primer çiftleri Tablo II'de gösterildi. Toplam 50 µL'lik multipleks PCR karışımı; Taq DNA polimeraz 1.5 U (Promega), her bir dNTP'den 200 µM, 25mM MgCl₂'den 3 µL, PCR reaksiyon tamponu 10 µL (Promega), her bir primerden 20 pmol ve 5 µL genomik DNA içeriyordu. PCR amplifikasyon koşulları; başlangıç denatürasyonu 94°C'de 3 dakika bir döngü, 94°C'de 25 sn, 52°C'de 40 sn ve 72°C'de 50 sn olmak üzere 30 döngü ve 72°C'de 5 dakika son uzama şeklinde gerçekleştirildi. Amplifikasyon ürünleri 0.5 mg/L etidyum bromür içeren %1'lik agaroz jelde 100 Voltta bir saat yürütüldükten sonra agaroz jel UV ışığı altında değerlendirildi.

PFGE ile moleküler tiplendirme

A.baumannii izolatları arasındaki klonal ilişki; daha önce Durmaz ve arkadaşlarının¹⁵ küçük modifikasyonlar yaparak tanımladıkları protokole göre, agaroz gömülmüş bakteriyel DNA *Apal* restriksiyon endonüklez enzimiyle kesilerek PFGE yöntemiyle analiz edildi. Jelin normalizasyonu için *A.baumannii* ATCC 19606 standart suşu kullanıldı. PFGE sonrası bant profillerinin dendogram analizleri, Bionumerics Gel Compare II (Applied Maths, Inc., 6.01 version, Belçika) programı kullanılarak yapıldı. Benzerliklerin hesaplanmasında Dice benzerlik katsayısı ile %1 tolerans değerleri kullanılarak dendogram oluşturuldu ve kümelenme analizi yapıldı. Klonal ilişki, Tenover ve arkadaşlarının¹⁶ önerdikleri kriterlere göre değerlendirildi. Analizde %90-100 uyum gösteren izolatlar aynı; %80-90 arası uyum gösterenler yakın ilişkili; %70-80 arası uyum gösterenler muhtemel ilişkili ve %70'in altında uyum gösterenler ise ilişkisiz olarak kabul edildi.

Tablo II. OXA genlerinin amplifikasyonu için kullanılan primer çiftleri

Primer	5' → 3'	Amplikon büyüklüğü (bp)	Kaynak
OXA-23	F: GATCGGATTGGAGAACCAGA R: ATTTCTGACCGCATTTCCAT	501	
OXA-24	F: GGTTAGTTGGCCCCCTTAA R: AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	246	
OXA-48	F:TTGGTGGCATCGATTATCGG R:GAGCACTTCTTTTGTGATGGC	733	Ertürk ve ark., 2014 ¹
OXA-51	F: TAATGCTTTGATCGGCCTTG R: TGGATTGCACTTCATCTTGG	353	
OXA-58	F: AAGTATTGGGGCTTGTGCTG R: CCCCTCTGCGCTCTACATAC	599	

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler Stata (versiyon 11.0) kullanılarak yapıldı. Sürekli değişken, varyansın tek yönlü analizi ile karşılaştırıldı. Değişkenlerin analizi ki-kare testi ile yapıldı ve tüm analizler için $p < 0.005$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda değerlendirilen toplam 79 *A.baumannii* izolatının antibiyotik duyarlılık sonuçları incelendiğinde, tüm izolatların kolistine duyarlı olduğu izlenmiş; piperasilin/tazobaktam, siprofloksasin, imipenem, meropenem, sefaperazon/sülbaktam ve trimetoprim/sülfametoksazole %91.1 ile %97.5 arasında; seftazidim, levofloksasin ve gentamisine %83.6 ile %88.6 arasında; tetrasiklin, ampisilin/sülbaktam ve amikasine %55.7 ile %77.2 arasında direnç oranları saptanırken, netilmisine %27.8, tigesikline ise %3.8 oranında direnç bulunmuştur (Tablo III). Bu sonuçlar, imipenem ve meropenemin yer aldığı karbapenemlere karşı %94.9 gibi yüksek düzeyde direnç olduğunu göstermektedir.

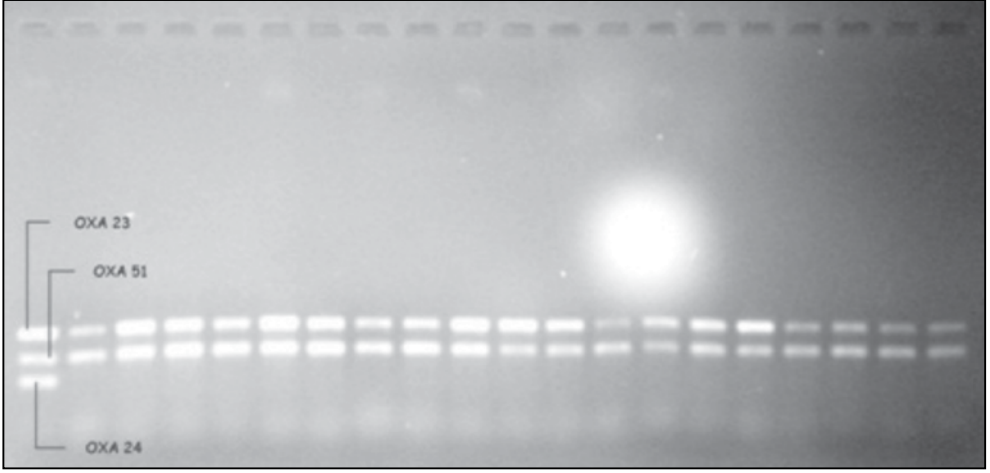
Tüm izolatlar, 16S rRNA gen varlığının doğrulanmasıyla *A.baumannii* olarak tanımlanmıştır. Tüm izolatlarda *bla*_{OXA-51} gen bölgesi pozitif tespit edilirken, *bla*_{OXA-23} izolatların 71'inde (%89.9) pozitif bulunmuştur. *bla*_{OXA-58}, *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{OXA-24} gen bölgeleri hiçbir izolatta tespit edilmemiştir (Tablo III, Şekil 1).

Moleküler tiplendirme sonuçlarına göre, *Apal* restriksiyon enzimi kullanılarak yapılan PFGE'de 79 izolat değerlendirildiğinde 10 pulsotip tespit edilmiştir. Bunlardan 8 pulsotipte 3-30 arasında değişen, birbirinden ayırt edilemeyen benzer PFGE profilleri gösteren 77 (%97.5) izolat [A (n= 30), B (n= 20), C (n= 9), D (n= 5), E (n= 4), F (n= 3), G (n= 3), H (n= 3)] bulunmaktadır. Klon A ve B'nin, diğer klonlarla karşılaştırıldığında hasta örneklerinde baskın olduğu ve antibiyotiklere direncin yüksek seviyelerde olduğu görülmüştür. Geriye kalan 2 pulsotip ana küme ile yakın ilişkili olarak bulunmuştur (Şekil 2). Buna göre,

Tablo III. *A.baumannii* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıkları ve OXA genlerinin tarama sonuçları

	SAM	TZP	CAZ	TE	AK	GEN	LEV	NET	CIP	TGC	CST	SXT	IPM	MEM	CES
Duyarlı n (%)	19 (24)	2 (2.5)	6 (7.6)	11 (13.9)	29 (36.7)	11 (13.9)	7 (8.9)	54 (68.4)	3 (3.8)	76 (96.2)	79 (100)	5 (6.4)	3 (3.8)	3 (3.8)	4 (5.1)
Orta Duyarlı n (%)	5 (6.4)	0	3 (3.8)	7 (8.9)	6 (7.6)	2 (2.5)	4 (5.1)	3 (3.8)	0	0	0	2 (2.5)	1 (1.3)	1 (1.3)	1 (1.3)
Dirençli n (%)	55 (69.6)	77 (97.5)	70 (88.6)	61 (77.2)	44 (55.7)	66 (83.6)	68 (86)	22 (27.8)	76 (96.2)	3 (3.8)	0	72 (91.1)	75 (94.9)	75 (94.9)	74 (93.6)
<i>bla</i> _{OXA-51} -benzeri	Tüm izolatlar pozitif (n= 79)														
<i>bla</i> _{OXA-23} -benzeri	71 izolat pozitif (%89.9)														
<i>bla</i> _{OXA-24} -benzeri	Tüm izolatlar negatif (n= 79)														
<i>bla</i> _{OXA-48} -benzeri	Tüm izolatlar negatif (n= 79)														
<i>bla</i> _{OXA-58} -benzeri	Tüm izolatlar negatif (n= 79)														

SAM: Ampisilin/sülbaktam; TZP: Piperasilin/tazobaktam; CAZ: Seftazidim; TE: Tetrasiklin; AK: Amikasin; GEN: Gentamisin; LEV: Levofloksasin; NET: Netilmisin; CIP: Siprofloksasin; TGC: Tigesiklin; CST: Kolistin; SXT: Trimetoprim/sülfametoksazol, IPM: İmipenem, MEM: Meropenem, CES: Sefoperazon-sulbaktam.



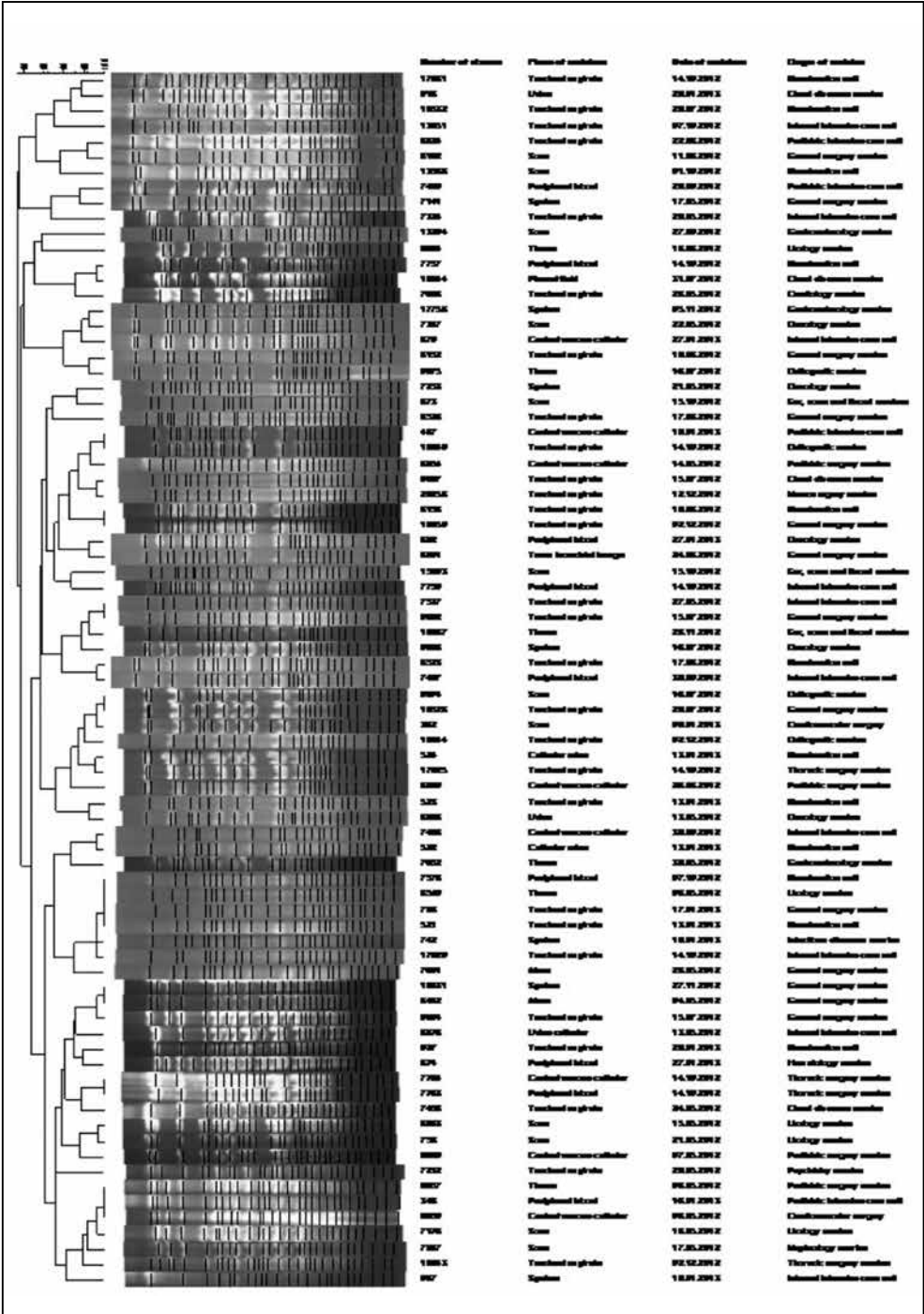
Şekil 1. Klinik örneklerden izole edilen *A.baumannii* suşlarının *bla*_{OXA} gen profilleri

çalışılan 79 *A.baumannii* izolatının büyük bir kısmının klonal olarak ilişkili olduğu ve hastanemizde çapraz kontaminasyon sorununun yaşandığı belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Hastane enfeksiyonları, hastanede yatış süresini uzatan, tedavi masraflarında büyük artışlara neden olan, morbidite ve mortalitesi yüksek enfeksiyonlardır. YBÜ’de yatan hastalara sıklıkla girişimsel uygulamalar yapılması, altta yatan hastalıklar, enfeksiyon kontrolündeki yetersizlikler ve uygun olmayan ampirik tedaviler sebebiyle enfeksiyon etkeni bakteriler sıklıkla antibiyotiklere dirençli olmaktadır. YBÜ’de yatan hastaların immün sistemlerinin baskılanmış olması ve genellikle geniş spektrumlu antibiyotiklerin fazla kullanımı direnç sorununu daha da artırmaktadır. Geçtiğimiz yıllarda giderek artan oranlarda çoklu ilaç direnci (ÇİD) bildirilmiş ve başta *A.baumannii* olmak üzere, diğer *Acinetobacter* türleri “yeniden önem kazanan enfeksiyon etkenleri” arasında ilk sıraları almıştır^{5,17}. *A.baumannii* izole edilen klinik örneklerin dağılımı incelendiğinde, ilk sıralarda solunum yolu örneklerinin yer aldığı görülmektedir^{6,18}. Çalışmamızda da, yaklaşık %47 (37/79) oranıyla solunum yolu örnekleri ilk sırayı almıştır (Tablo I).

Ülkemizde farklı bölgelerdeki çeşitli hastanelerde yapılan çalışmalarda, *A.baumannii* suşları için farklı duyarlılık sonuçları verilirken, gittikçe artan düzeyde antibiyotik direnç oranları bildirilmiştir¹⁸⁻²¹. Bir sürveyans çalışmasında da, özellikle ülkemizdeki direnç oranlarının diğer Avrupa ülkelerine göre oldukça yüksek olduğu vurgulanmıştır⁵. *A.baumannii* izolatları antibiyotiklere karşı farklı direnç oranları göstermekle birlikte, sıklıkla beta-laktam antibiyotikler, aminoglikozid ve florokinolonlara direnç görülebilmektedir¹⁹. Çalışmamızda en fazla piperasilin/tazobaktam direnci (%97.5) saptanmıştır. Ayrıca sefaperazon/sülbaktam, karbapenemler, trimetoprim-sülfametoksazol (SXT) ve siprofloksasin antibiyotiklerine karşı %90’ın üzerinde bir direnç görülmüştür. *A.baumannii* klinik izolatlarının direnç durumunu değerlendiren çeşitli çalışmalarda, tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı bizim çalışmamızda da olduğu gibi farklı oranlarda direnç bildirilmiş



Şekil 2. *Acinetobacter baumannii* izolatlarının PFGE dendrogram görüntüsü.

tir^{18,20}. Çalışmamızda kinolon grubu antibiyotiklerden levofloksasine %86, siprofloksasine %96.2 oranında direnç saptanmıştır. Aminoglikozid direnci de netilmisin, amikasin ve gentamisin için sırasıyla, %27.8, %55.7 ve %83.6 olarak izlenmiş; Çiçek ve arkadaşları¹⁸ ise bu oranları sırasıyla %11, %63 ve %48 olarak rapor etmişlerdir.

Acinetobacter türlerinde görülen ÇİD, bu etkenlere bağlı enfeksiyonların tedavisinde karbapenemlerin yoğun olarak kullanımına yol açmıştır²¹. Buna bağlı olarak da karbapenem direnci, son yıllarda dünyada ve ülkemizdeki hastanelerden izole edilen *A.baumannii* izolatları arasında artan oranlarda bildirilmiştir²². Ülkemizde imipenem direncinin %60.8-92, meropenem direncinin %64-96 arasında olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır²³. Kayseri’de Alp ve arkadaşlarının²⁴ 2000-2009 yıllarını kapsayan on yıllık sürveyans çalışmasında, *A.baumannii* izolatlarında karbapenem direncinin %44’ten dramatik olarak artarak %92’lere yükseldiği ifade edilmiştir. Bizim çalışmamızda, test edilen karbapenemlere karşı %94.9 oranında direnç tespit edilmiş olup, benzer oranlar farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda da belirtilmektedir^{18,25}.

Çalışmamızın verileri, *A.baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde en çok kullanılan antibiyotiklere karşı düşük oranlarda duyarlılık olduğunu göstermektedir. Buna karşın izolatlarımızın hiçbirinde kolistine karşı direnç görülmemesi, tigesikline karşı da sadece üç izolatta (%3.8) direnç tespit edilmesi umut vericidir (Tablo III). Türkiye’de ve yurt dışındaki çeşitli çalışmalarda tigesiklin duyarlılığının %61-100, kolistin duyarlılığının ise %91-100 arasında olduğu bildirilmiştir²³. Çalışmamızda olduğu gibi bazı çalışmalarda kolistin direncine rastlanmazken^{18,25}, %96.2 duyarlılık saptadığımız tigesiklin de dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonlarında kullanılabilir bir antibiyotik olarak değerlendirilmiştir.

A.baumannii izolatlarında kazanılmış karbapenem direnci, temel olarak metallo-beta-laktamazlar (MBL) ve karbapenemi hidrolize eden sınıf D beta-laktamazlar (KHDL) olmak üzere iki tip beta-laktamazın üretimi sonucu olmaktadır. Zayıf karbapenamaz aktivitesi gösteren *bla*_{OXA-51} enzim kümesi, *A.baumannii* izolatlarının hemen hepsinde doğal olarak bulunmasına karşın diğer *Acinetobacter* türlerinde bulunmamaktadır. Sadece *A.baumannii* izolatlarında bulunan *bla*_{OXA-51} geninin, bu türlerin tanımlanması için bir belirteç olarak kullanılabilirliği bildirilmektedir¹². *bla*_{OXA-51} geni, sıklıkla diğer kazanılmış *bla*_{OXA} tipi genlerle birlikte bulunmakta ve belirli şartlarda karbapenem direncinde sinerjik etki yaratabilmektedir²¹. *Acinetobacter* türlerinde kazanılmış karbapenemi hidrolize eden oksasilinazlar arasında *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{OXA-58} tipi enzimler dünyanın farklı bölgelerinde değişen oranlarda saptanmaktadır. Çin’de yapılan çalışmalarda Zhao ve arkadaşları⁴ %91.7 *bla*_{OXA-51}, %83.3 *bla*_{OXA-23}, %0.8 *bla*_{OXA-58}; Hou ve arkadaşları²⁶ %48.4 *bla*_{OXA-51}, %46.3 *bla*_{OXA-23}, %5.3 *bla*_{OXA-58}; Ma ve arkadaşları²⁷ %100 *bla*_{OXA-51}, %46 *bla*_{OXA-58}, %2.2 *bla*_{OXA-23}, %0 *bla*_{OXA-24}; Suudi Arabistan’da Al-Sultan ve arkadaşları²⁸ %58 *bla*_{OXA-23}, %13 *bla*_{OXA-40}, %0 *bla*_{OXA-58}; İran’da Mohajeri ve arkadaşları²⁹ %77.9 *bla*_{OXA-23}, %19.2 *bla*_{OXA-24} pozitifliği bildirmişlerdir. Ülkemizde ise %0-23 arasında *bla*_{OXA-58}, %31-78 arasında *bla*_{OXA-23} ve düşük oranlarda *bla*_{OXA-24} geninin varlığı rapor edilmiştir²¹. Ülkemizde yapılan farklı çalışmalarda^{1,19,18,21} olduğu gibi, bizim çalışmamızda da tüm izolatlarda *bla*_{OXA-51} geni tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra, Keskin ve arkadaşları¹⁹ çalışmalarında %91.5 *bla*_{OXA-23}, %7 *bla*_{OXA-58} ve %2 *bla*_{OXA-24}; Keyik ve arkadaşları²¹

%46.7 *bla*_{OXA-23} ve %53.3 *bla*_{OXA-58}; Ertürk ve arkadaşları¹ %94.5 *bla*_{OXA-23}; Çiçek ve arkadaşları¹⁸ ise %78 *bla*_{OXA-23} gen varlığı bildirmişlerdir. Çalışmamızda *bla*_{OXA-23} gen pozitiflik oranı %89.9 olarak belirlenmiştir. Tüm bu sonuçlar, *bla*_{OXA-51} ve *bla*_{OXA-23} gen bölgelerinin, *A.baumannii* izolatlarının imipenem direncinde baskın mekanizmayı oluşturduğunu vurgulamaktadır. Bununla birlikte, *A.baumannii* suşlarında *bla*_{OXA} genlerinin bölgeler arasında farklılık göstermesinin yanında, aynı bölgede yıllar içerisinde de gen değişikliklerinin gözlemlendiği bildirilmektedir²¹.

Sunulan çalışmada ayrıca, Mersin Üniversitesi Hastanesi'nde enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *A.baumannii* suşlarının moleküler epidemiyolojisi de değerlendirilmiş ve *A.baumannii* izolatları arasındaki klonal ilişki, bölgemizde ilk kez PFGE yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmamızda PFGE genotip analizi, 79 suş arasında on klonun var olduğunu göstermiştir [A (n= 30), B (n= 20), C (n= 9), D (n= 5), E (n= 4), F (n= 3), G (n= 3), H (n= 3), I (n= 1), J (n= 1)]. Ayrıca klon A ve B hasta örneklerinde baskın klon olarak bulunmuştur. Mersin'de Gülbudak ve arkadaşlarının²⁰ yaptığı çalışmada, hastane enfeksiyonu etkeni olan *A.baumannii* izolatları arasındaki klonal ilişki Rep-PCR ile araştırılmış; iki ana klon [A (7 alt tip), B (3 alt tip)] olmak üzere toplam sekiz (A-H) farklı klon tespit edilmiş ve A klonu baskın tip olarak belirlenmiştir. Çin'de yapılan bir çalışmada da, ÇİD olan 50 *A.baumannii* izolatı PFGE ile araştırılmış; 14 farklı PFGE paterni tespit edilmiş ve suşlar, A (n= 24), B (n= 6), C (n= 9) şeklinde toplanmışlardır⁴.

Yapılan birçok çalışmada, farklı OXA-tip karbapenemaz içeren *A.baumannii* kaynaklı enfeksiyonlara ait klonal ilişkili salgınlar bildirilmektedir^{1,3,4,29-33}. Hastane ekipmanları ve çalışanlar aracılığıyla servisler arasında bu klonların yayılımı mümkündür. Karagöz ve arkadaşları³³ farklı ünitelerden alınan kan kültürü örneklerinden 47 ve çevre örneklerinden yedi olmak üzere toplam 54 *A.baumannii* izolatının PFGE analizinde, izolatların tek bir klona ait olduğunu ve meydana gelen salgının, bir blokta yer alan YBÜ'den kaynaklandığını göstermişlerdir. Bu araştırmacılar, çevresel kaynaklı çapraz bulaşı moleküler yöntemlerle doğrulamışlar ve ÇİD *A.baumannii* yayılımının önlenmesi ve nozokomiyal enfeksiyonların kontrolünde, enfeksiyon kontrol stratejilerinin eksiksiz olarak uygulanması gerektiğini bir kez daha vurgulamışlardır³³. Ertürk ve arkadaşları¹ da, çalıştıkları 109 *A.baumannii* izolatının PFGE ile dokuz pulsotipe ayrıldığını; 107 (%98) izolat içeren yedi pulsotipte 2-53 arasında değişen, birbirinden ayırt edilemeyen benzer PFGE profilleri saptadıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, diğer iki pulsotipin de ana kümeyle yakın ilişkili suşlar olduğunu belirtmiş; toplam 97 izolat içeren ilk grubun %92.7 oranında benzerlik gösterdiğini, ikinci grubun da %100 aynı olan 12 izolat içerdiğini rapor etmişlerdir¹. Mohajeri ve arkadaşlarının²⁹ 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 da, 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 sürmüşlerdir²⁹. Bizim çalışmamızda, hastanemizin farklı bölümlerinden izole edilen *A.baumannii* suşlarında A (n= 30) ve B (n= 20) klonlarının yüksek prevalansa sahip olması, hastanemizde yatan hastalar arasında bu klonların yayılımını önlemeye yönelik tedbirlerin yeterince alınmadığını göstermektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda, *A.baumannii* izolatlarının tümü *bla*_{OXA-51} gen bölgesi pozitif, 71'i (%89.9) *bla*_{OXA-23} pozitif bulunurken, hiçbirinde *bla*_{OXA-58}, *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{OXA-24} bulunamamıştır. Tüm izolatlar 3-30 arasında değişen sekiz pulsotipe ayrılmıştır. PFGE genotip analizi 79 suş arasında sekiz klonun var olduğunu göstermiştir. Geriye kalan iki pulsotip, ana küme ile yakın ilişkili suş olarak değerlendirilmiştir. Benzerlik katsayısı göz önüne alındığında %85 ve üstünde olan iki majör grup bulunmuştur. Bu bulgular, hastanemizde acil olarak etkin kontrol ve önleme tedbirlerine ihtiyaç olduğunu düşündürmektedir. Karbapeneme dirençli *A.baumannii* klonlarının varlığının erken tespiti, bu klonların hastanede yayılımının engellenmesi için yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Ertürk A, Çiçek AÇ, Gümüş A, et al. Molecular characterisation and control of *Acinetobacter baumannii* isolates resistant to multi-drugs emerging in inter-intensive care units. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2014; 13: 36.
2. Martínez P, Mattar S. Imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* carrying the ISAb1-bla OXA-23,51 and ISAb1-bla ADC-7 genes in Monteria, Colombia. *Braz J Microbiol* 2012; 43(4): 1274-80.
3. 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.
4. Zhao SY, Jiang DY, Xu PC, et al. An investigation of drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in a comprehensive hospital of East China. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2015; 14:7.
5. Souli M, Galani I, Giamarellou H. Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. *Euro Surveill* 2008; 13(47). pii: 19045.
6. Xu T, Xia W, Rong G, Pan S, Huang P, Gu B. A 4-year surveillance of antimicrobial resistance patterns of *Acinetobacter baumannii* in a university-affiliated hospital in China. *J Thorac Dis* 2013; 5(4): 506-12.
7. Gonçalves CR, Vaz TM, Araujo E, Boni Rd, Leite D, Irino K. Biotyping, serotyping and ribotyping as epidemiological tools in the evaluation of *Acinetobacter baumannii* dissemination in hospital units, Sorocaba, São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2000; 42(5): 277-82.
8. Lin YC, Sheng WH, Chen YC, Chang SC, Hsia KC, Li SY. Differences in carbapenem resistance genes among *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter* genospecies 3 and *Acinetobacter* genospecies 13TU in Taiwan. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35(5): 439-43.
9. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21(3): 538-82.
10. 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.
11. Lopes BS, Al-Agamy MH, Ismail MA, et al. The transferability of blaOXA-23 gene in multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Saudi Arabia and Egypt. *Int J Med Microbiol* 2015; 305(6): 581-8.
12. Hamouda A, Evans BA, Towner KJ, Amyes SG. Characterization of epidemiologically unrelated *Acinetobacter baumannii* isolates from four continents by use of multilocus sequence typing, pulsed-field gel electrophoresis, and sequence-based typing of bla (OXA-51-like) genes. *J Clin Microbiol* 2010; 48(7): 2476-83.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Third Informational Supplement M100-S22, 2012. CLSI, Wayne, PA.
14. Zarkotou O, Pournaras S, Altouvas G, et al. Comparative evaluation of tigecycline susceptibility testing methods for expanded-spectrum cephalosporin- and carbapenem-resistant gram-negative pathogens. *Clin Microbiol* 2012; 50(11): 3747-50.

15. Durmaz R, Otlu B, Koksall F, et al. The optimization of a rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for the typing of *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. Jpn J Infect Dis 2009; 62(5): 372-7.
16. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995; 33(9): 2233-9.
17. Çiftçi İH, Aşık G. *Acinetobacter baumannii*'nin antibiyotik direnç mekanizmaları. ANKEM Derg 2011; 25(3):196-207.
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. Keskin H, Tekeli A, Dolapci İ, Öcal D. Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında beta-laktamaz kaynaklı dirençin moleküler karakterizasyonu. Mikrobiyol Bul 2014; 48(3):365-76.
20. Gülbudak H, Aslan G, Tezcan S ve ark. Hastane enfeksiyonu etkeni olan *Acinetobacter baumannii* izolatları arasındaki klonal ilişkinin Rep-PCR ile araştırılması. Mikrobiyol Bul 2014; 48(2):316-24.
21. Keyik S, Arslan U, Türk Dağı H, Seyhan T, Fındık D. Investigation of OXA type beta-lactamases and PFGE patterns in *Acinetobacter baumannii* strains resistant to carbapenems. Mikrobiyol Bul 2014; 48(4):556-65.
22. Chuang YC, Sheng WH, Lauderdale TL, et al. Molecular epidemiology, antimicrobial susceptibility and carbapenemase resistance determinants among *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Taiwan. J Microbiol Immunol Infect 2014; 47(4):324-32.
23. Direkel Ş, Uzunoğlu E, Keleş S, Yapar K. Antibiotic resistance rates of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from various clinical samples in Giresun Prof. Dr. Atilla İlhan Özdemir State Hospital. Gazi Medical Journal 2015; 26(3):92-6.
24. Alp E, Kiran B, Altun D, et al. Changing pattern of antibiotic susceptibility in intensive care units: ten years experience of a university hospital. Anaerobe 2011; 17(6): 422-5.
25. Dedeic-Ljubovic A, Granov D, Hukic M. Emergence of extensive drug-resistant (XDR) *Acinetobacter baumannii* in the Clinical Center University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina. Med Glas (Zenica) 2015; 12(2): 169-76.
26. Hou C, Yang F. Drug-resistant gene of blaOXA-23, blaOXA-24, blaOXA-51 and blaOXA-58 in *Acinetobacter baumannii*. Int J Clin Exp Med 2015; 8(8): 13859-63.
27. Ma Z, Zhou LQ, Wang H, Luo LP. Investigations on the genomic diversity of OXA from isolated *Acinetobacter baumannii*. Genet Mol Res 2015; 14(4): 14711-6.
28. Al-Sultan AA, Evans BA, Aboulmagd E, et al. Dissemination of multiple carbapenem-resistant clones of *Acinetobacter baumannii* in the Eastern District of Saudi Arabia. Front Microbiol 2015; 6: 634.
29. 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. Iran J Microbiol 2013; 5(3): 195-202.
30. Metan G, Sariguzel F, Sumerkan B, Reijden Tv, Dijkshoorn L. Clonal diversity and high prevalence of OXA-58 among *Acinetobacter baumannii* isolates from blood cultures in a tertiary care centre in Turkey. Infect Genet Evol 2013; 14: 92-7.
31. Ece G, Erac B, Yurday Cetin H, Ece C, Baysak A. Antimicrobial susceptibility and clonal relation between *Acinetobacter baumannii* strains at a Tertiary Care Center in Turkey. Jundishapur J Microbiol 2015; 8(2): e15612.
32. Cetin ES, Durmaz R, Tetik T, Otlu B, Kaya S, Calişkan A. Epidemiologic characterization of nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections in a Turkish university hospital by pulsed-field gel electrophoresis. Am J Infect Control 2009; 37(1): 56-64.
33. Karagöz A, Baran I, Aksu N, Acar S, Durmaz R. Characterization and determination of antibiotic resistance profiles of a single clone *Acinetobacter baumannii* strains isolated from blood cultures. Mikrobiyol Bul 2014; 48(4): 566-76.