



# Kan Kültürlerinden İzole Edilen Karbapenemaz Üreten *Acinetobacter baumannii* complex İzolatlarının Moleküler Mekanizmalarının Araştırılması

Investigation of Molecular Mechanisms of Carbapenemase Producing *Acinetobacter baumannii* complex Isolates Isolated from Blood Cultures

Gülşen Uluçam Atay<sup>1</sup>, Gülçin Bayramoğlu<sup>2</sup>, Rıza Durmaz<sup>3</sup>, İlkur Tosun<sup>2</sup>, Neşe Kaklıkkaya<sup>2</sup>, Faruk Aydın<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Rize Türkiye

<sup>2</sup>Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye

<sup>3</sup>Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

## Özet

**Amaç:** Kan kültürlerinden izole edilen karbapenemlere azalmış duyarlılık gösteren *A. baumannii* complex (ABC) izolatlarında metallo-beta-laktamaz (MBL) ile oksasilinaz (OXA) enzimlerinin varlığının belirlenmesi, izolatların birbirleriyle ve European clone (EU) I, II, III ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya, 2008-2009 tarihleri arasında hastaneye başvuran 74 hastanın kan örneklerinden izole edilen imipenem veya meropenem en az birine azalmış duyarlılık gösteren ABC izolatu alınmıştır. İzolatların tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıkları BD Phoenix Otomatize Sistemi (Becton-Dickinson, ABD) ile yapılmıştır. OXA ve MBL genleri polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile araştırılmıştır. İzolatların klonal ilişkisi "pulsed-field" jel elektroforezi (PFGE) yöntemiyle saptanmıştır.

**Bulgular:** İzolatların hiçbirinde MBL geni ve *bla*<sub>OXA-24</sub>-like geni saptanmazken; izolatların tümünde *bla*<sub>OXA-51</sub>-like geni, 32 izolatta *bla*<sub>OXA-58</sub>-like geni ve 26 izolatta *bla*<sub>OXA-23</sub>-like geni saptanmıştır. PFGE yöntemiyle *bla*<sub>OXA-23</sub>-like ve/veya *bla*<sub>OXA-58</sub>-like geni taşıyan 55 kan izolatu; altı kümede toplandığı görülmüştür. EU klonlarının ait oldukları kümeler içindeki izolatlarla arasındaki benzerliği %90 üzerinde saptanmıştır.

**Sonuç:** Çalışmamız hastanemizde oksasilinaz üreten ABC izolatlarının; ülkemizde çok nadir olarak bildirilen EU klon III ile ilişkili bulunması, EU klon I ve II ile de muhtemel ilişkili izolatların saptanması bu klonların hastanemizde ve ülkemizde yayılım potansiyelini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Acinetobacter baumannii*; karbapenemaz; pulsed-field jel elektroforezi.

## Abstract

**Introduction:** It was aimed to determine the presence of metallo-beta-lactamases (MBL) and oxacillinases (OXA) enzymes in *Acinetobacter baumannii* complex (ABC) isolates, which show decreased sensitivity to carbapenems isolated from blood cultures and to investigate the relationships of isolates among each other and with European clones (EU) I, II, III.

**Methods:** The study included ABC isolate which has reduced sensitivity to at least one of either imipenem or meropenem which was isolated from blood samples obtained from 74 patients who were admitted to the hospital between 2008 and 2009. Identification of isolates and their antimicrobial susceptibilities were performed using BD Phoenix Automated System (Becton-Dickinson, USA). OXA and MBL genes were investigated by polymerase chain reaction (PCR). The clonal relationship of the isolates was determined by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) method.

**Results:** MBL genes and *bla*<sub>OXA-24</sub>-like gene were not determined in any of the isolates. *bla*<sub>OXA-51</sub>-like was detected in all isolates, *bla*<sub>OXA-58</sub>-like gene in 32 isolates and *bla*<sub>OXA-23</sub>-like gene in 26 isolates. Using PFGE method, it was detected that fifty-five blood isolates carrying the *bla*<sub>OXA-23</sub>-like and/or *bla*<sub>OXA-58</sub>-like gene were clustered under six clusters. The similarity of EU clones with clinical ABC isolates in the clusters was found to be over 90%.

**Conclusion:** ABC isolates producing oxacillinase in our hospital; The presence of association with EU clone III, which is reported very rarely in our country, and the detection of possible related isolates with EU clones I and II show the potential for the spread of these clones in our hospital and in our country.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*; carbapenemases; pulsed-field gel electrophoresis.

## Giriş

*Acinetobacter baumannii*, hastane kaynaklı pnömoni, bakteriyemi, menenjit, idrar yolu, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından sıklıkla izole edilen non fermentatif fırsatçı bir patojendir. Antibiyotiklerin

büyük kısmına karşı doğal ve kazanılmış direnç gösterdiğinden, neden olduğu enfeksiyonların tedavisi genellikle zordur. Hastane ortamında cansız yüzeylerde uzun süre hayatta kalması nedeniyle sıklıkla salgınlara neden olmaktadır (1, 2).

\*Sorumlu Yazar: Gülşen Uluçam Atay Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Rize E-mail: [gulsen.ulucamatay@erdogan.edu.tr](mailto:gulsen.ulucamatay@erdogan.edu.tr) Orcid: Gülşen Uluçam Atay [0000-0002-8524-9096](https://orcid.org/0000-0002-8524-9096), Gülçin Bayramoğlu [0000-0002-6103-3127](https://orcid.org/0000-0002-6103-3127), Rıza Durmaz [0000-0001-6561-778X](https://orcid.org/0000-0001-6561-778X), İlkur Tosun [0000-0002-6772-1043](https://orcid.org/0000-0002-6772-1043), Neşe Kaklıkkaya [0000-0001-9522-707X](https://orcid.org/0000-0001-9522-707X), Faruk Aydın [0000-0002-0139-908X](https://orcid.org/0000-0002-0139-908X)

Çoğul dirençli klonlarla uluslararası salgınlar genellikle EU klon I-II-III'e ait suşlardan kaynaklanmaktadır. Salgınlara sebep olan üç uluslararası *A. baumannii* klonu; Belçika, Danimarka, Çek Cumhuriyeti, Fransa, İspanya, Hollanda ve Birleşik Krallık'taki hastaneleri de içeren Kuzey Avrupa'nın yanı sıra İtalya, İspanya, Yunanistan ve Türkiye gibi güney Avrupa ülkelerinde ve Doğu Avrupa'daki hastanelerden de bildirilmiştir (2). Karbapenemler, çoğul dirençli *A. baumannii* izolatlarının neden olduğu ciddi enfeksiyonlarda genellikle son çare antimikrobiyal ajanlardır. *A. baumannii*'de karbapenem direnci sıklıkla karbapenemleri hidrolize eden D sınıfı oksasilineazlar (OXA) ve daha az sıklıkta B sınıfı metalo-beta-laktamazlar (MBL) gibi karbapenemazlar ile ilişkilendirilmekte, karbapenemlerin kullanımına paralel olarak artan oranlarda bildirilmektedir (1-4). Karbapenemaz üreten bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda tedavi seçenekleri sınırlı olup, mortalite oranları yüksektir (3, 5). Oksasilineazlar, doğal kromozomal olan OXA-51 ve kazanılmış olanlar ise OXA-23, OXA-24/40, OXA-58, OXA-143 ve OXA-235 beta-laktamazlar olmak üzere altı alt sınıf altında gruplandırılmaktadırlar. Metallo-beta-laktamazlar içinde ise IMP, VIM, SIM, SPM, GIM ve NDM gibi karbapenemazlar yer almaktadırlar (3-5). Karbapenemazlar hemen hemen tüm beta-laktamları hidrolize ederler, plazmidlerle kodlanırlar ve bakteriyel türler arasında kolaylıkla aktarılabirler (5). Enterobacteriaceae'de türden türe plazmidler yoluyla yayılan sınıf D karbapenemazların aksine karbapenemaz pozitif *Acinetobacter* spp.'nin yayılımı belirli bakteriyel klonların yayılmasına bağlı görünmektedir (4). Karbapenemaz üreten *A. baumannii*'nin küresel yayılımı tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de sağlık hizmetlerinde büyük bir endişe kaynağıdır. Karbapenemaz türleri, ülkeler ve bölgeler arasında farklılıklar göstermektedir. Karbapenemazların ve karbapenemaz üreten *A. baumannii* izolatlarının epidemiyolojisinin belirlenmesi, yayılımın önlenmesi açısından çok önemlidir (5). Bu çalışmada, kan kültürlerinden izole edilen karbapenemlere azalmış duyarlılık gösteren *A. baumannii* complex izolatlarında MBL ile OXA enzimlerinin varlığının moleküler yöntemlerle belirlenmesi ve izolatların birbirleriyle ve Avrupa klonlarıyla ilişkilerinin "pulsed-field" jel

elektroforezi (PFGE) yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

**İzolatların Tanımlanması ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri:** Çalışmamız, Ocak 2008-Aralık 2009 tarihleri arasında kabul edilen retrospektif olarak değerlendirilen, 74 hastanın kan örneklerinden izole edilen imipenem veya meropenem en az birine orta duyarlı/dirençli *A. baumannii* complex (ABC) suşları dahil edildi. Her hastanın ilk izolatu çalışmaya alındı, mükerrer üremeler göz ardı edildi. İzolatların tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıkları BD Phoenix Otomatize Mikrobiyoloji Sistemi (Becton-Dickinson, Sparks, MD, ABD) ile yapıldı. Antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları CLSI kriterlerine göre yorumlandı (6).

**Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile MBL ve OXA Karbapenemaz Genlerinin Tespiti:** OXA karbapenemaz genleri (*bla*<sub>OXA-23-like</sub>, *bla*<sub>OXA-24-like</sub>, *bla*<sub>OXA-51-like</sub> ve *bla*<sub>OXA-58-like</sub>) ve MBL genleri (*bla*<sub>IMP-1</sub>, *bla*<sub>IMP-2</sub>, *bla*<sub>VIM-1</sub>, *bla*<sub>VIM-2</sub>, *bla*<sub>SIM-1</sub>, *bla*<sub>SPM-1</sub> ve *bla*<sub>GIM-1</sub>) tablo-1'de verilen spesifik primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle araştırıldı (7, 8). Özgümüş ve ark.'nın (9) çalışmasında MBL tespit edilen *bla*<sub>IMP</sub> geni için 587585 ve *bla*<sub>VIM</sub> geni için 670448 numaralı *P. aeruginosa* izolatları pozitif kontrol olarak; *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve deiyonize su negatif kontrol olarak PZR reaksiyonu için kullanıldı. PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütüldükten sonra Gel Doc 4000 sisteminde (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA, USA) görüntüledi. *bla*<sub>OXA-51-like</sub>, *bla*<sub>OXA-23-like</sub> ve *bla*<sub>OXA-58-like</sub> genlerini taşıyan bir izolatın Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, ABD) cihazında dizi analizi gerçekleştirildi (10). Dizileme sonuçları ChromasPro programı (sürüm 1.7.5) ile analiz edildi ve her birinin benzerliğini kontrol etmek için ClustalW2 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>) DNA Veri Bankasına tanıtıldı. Dizi analizi sonucu; *bla*<sub>OXA-51-like</sub>, *bla*<sub>OXA-23-like</sub> ve *bla*<sub>OXA-58-like</sub> genlerini taşıdığı doğrulanan izolat PZR için pozitif kontrol olarak kullanıldı.

**PFGE ile Moleküler Tiplendirme:** Oksasilineaz genlerinde *bla*<sub>OXA-23-like</sub> ve/veya *bla*<sub>OXA-58-like</sub> genlerini taşıyan 55 ABC izolatının klonal ilişkisi, PFGE ile 10U *ApaI* enzimi (Promega, ABD)

**Tablo 1:** Karbapenemaz genlerinin primer dizileri ve beklenen bant büyüklükleri

Primer	Sekans (5'-3')	Ürün Büyüklüğü (bp)	Referans
IMP gen F1	GAATAG(A/G)(A/G)TGGCTTAA(C/T)TCTC	188	7
IMP gen R1	CCAAAC(C/T)ACTA(G/C)GTTATC		
VIM gen F2	GTTTGGTTCGCATATCGCAAC	382	7
VIM gen R2	AATGCGCAGCACCAGGATAG		
IMP-1 F	TGAGCAAGTTATCTGTATTC	740	7
IMP-1 R	TTAGTTGCTTGGTTTTGATG		
IMP-2 F	GGCAGTCGCCCTAAAACAAA	737	7
IMP-2 R	TAGTTACTTGGCTGTGATGG		
VIM-1 F	TTATGGAGCAGCAACGATGT	920	7
VIM-1 R	CAAAAGTCCCGCTCCAACGA		
VIM-2 F	AAAGTTATGCCGCACTCACC	865	7
VIM-2 R	TGCAACTTCATGTTATGCCG		
SIM-1-F	TACAAGGGATTTCGGCATCG	570	7
SIM-1-R	TAATGGCCTGTTCATGATG		
SPM-1-F	CTAAATCGAGAGCCCTGCTTG	798	7
SPM-1-R	CCTTTTCCGCGACCTTGATC		
GIM-1-F	TCAATTAGCTCTTGGGCTGAC	72	7
GIM-1-R	CGGAACGACCATTTGAATGG		
OXA 23-like F	GATCGGATTGGAGAACCAGA	501	8
OXA 23-like R	ATTTCTGACCGCATTTCCAT		
OXA 24-like F	GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA	246	8
OXA 24-like R	AGTTGAGCGAAAAGGGGATT		
OXA 51-like F	TAATGCTTTGATCGGCCCTG	353	8
OXA 51-like R	TGGATTGCACCTCATCTTGG		
OXA 58-like F	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG	599	8
OXA 58-like R	CCCCTCTGCGCTCTACATAC		

**F:** Forward; **R:** Reverse; **bp:** Baz çifti

**Tablo 2:** ABC izolatlarının gönderildikleri birimlerin göre dağılımı

Birim	2008	2009	Toplam	%
Acil Poliklinik	0	1	1	1.35
Anestezi Yoğun Bakım Ünitesi	0	7	7	9.46
Beyin Cerrahisi Polikliniği	0	1	1	1.35
Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi	18	4	22	29.73
Dahiliye-Onkoloji Servisi	0	1	1	1.35
Dahiliye-Yoğun Bakım Ünitesi	0	9	9	12.16
Dahiliye Servisi	2	3	5	6.76
Genel Cerrahi Servisi	1	0	1	1.35
Göğüs Hastalıkları Servisi	1	2	3	4.05
Göğüs Hastalıkları Yoğun Bakım Ünitesi	0	6	6	8.11
Kalp Damar Cerrahi Servisi	0	4	4	5.41
Nöroloji Yoğun Bakım Ünitesi	3	2	5	6.76
Nöroşirurji Yoğun Bakım Ünitesi	5	2	7	9.46
Pediyatri, Hematoloji-Onkoloji Servisi	0	1	1	1.35
Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi	1	0	1	1.35
Toplam	31	43	74	100

kullanılarak yapıldı. Kesilen DNA kalıpları %1'lik agaroz jel içerisinde CHEF-DR III sistemi (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA, ABD) kullanılarak 14°C'de ve 6 V/cm<sup>2</sup>'de 19 saat yürütüldü (11). Bant profilleri GelCompar III (version 3.0; Applied Maths, Sint-Martens-Latem,

Belgium) yazılım sistemi kullanılarak analiz edildi. UPGMA (Unweighted pair group method with mathematical averaging) metodu ve Dice benzerlik katsayısı kullanılarak PFGE profillerinin dendrogram analizi yapıldı. Değerlendirmede tolerans %1 olarak alındı. Klonal ilişki değerlendirilmesinde, Tenover ve arkadaşları (12)

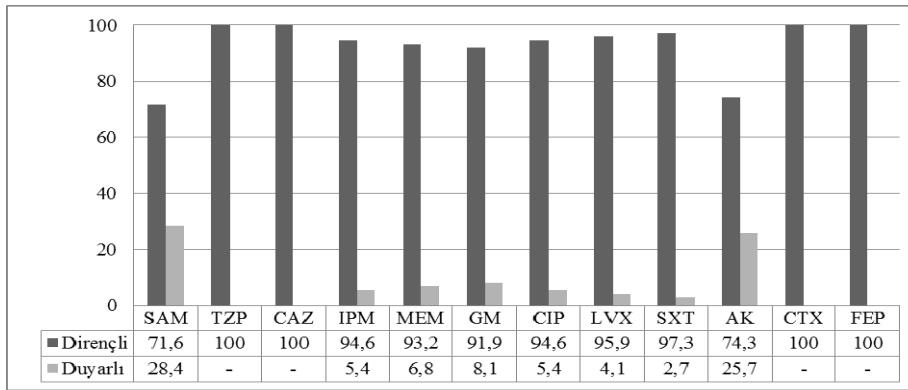
tarafından belirlenen ilkeler uygulandı. Bant profilleri analizinde benzerlik ilişkisi; %95-100 ayırt edilemez ilişkili, %90-95 muhtemel ilişkili ve <%90 ilişkisiz kabul edildi. Pan-Avrupa *A. baumannii* klonal kompleksleri (RUH 875, RUH 134, LUH 5875) her jelde standart kontrol olarak kullanıldı (13-15).

**Etik Onam:** Çalışmamızda Helsinki bildirgesine uyularak, çalışmamıza katılan tüm olgulardan yazılı onam alınmıştır. Etik Kurul izni Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 24.10.2011 tarihli ve 2011-121 referans numaralı kararı ile alınmıştır.

## Bulgular

**Bakteriyel İzolatlar ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri:** Çalışmaya alınan kan kültürlerinden izole edilen ABC izolatlarının gönderildiği birimlere göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir. İzolatların tümü piperasilin-tazobaktama, seftazidime ve sefepime orta duyarlı/dirençli bulunurken yalnızca %28.4'ü ampisilin-sulbaktama, %25.7'si amikasin, %8.1'i gentamisin, %5.4'ü siprofloksasine, %4.1'i levofloksasine, %2.7'si trimetoprim-sulfametoksazole duyarlı bulunmuştur. (Tablo 3)

**Tablo 3:** *Acinetobacter baumannii* complex izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık sonuçları



\*Orta duyarlılar dirençli olarak verilmiştir. **SAM:** Ampisilin/sulbaktam, **TZP:** Piperasilin/tazobaktam, **CAZ:** Seftazidim, **IPM:** İmipenem, **MEM:** Meropenem, **GM:** Gentamisin, **CIP:** Siprofloksasin, **LVX:** Levofloksasin, **SXT:** Trimetoprim/Sülfametoksazol, **AK:** Amikasin, **CTX:** Sefotaksim, **FEP:** Sefepim

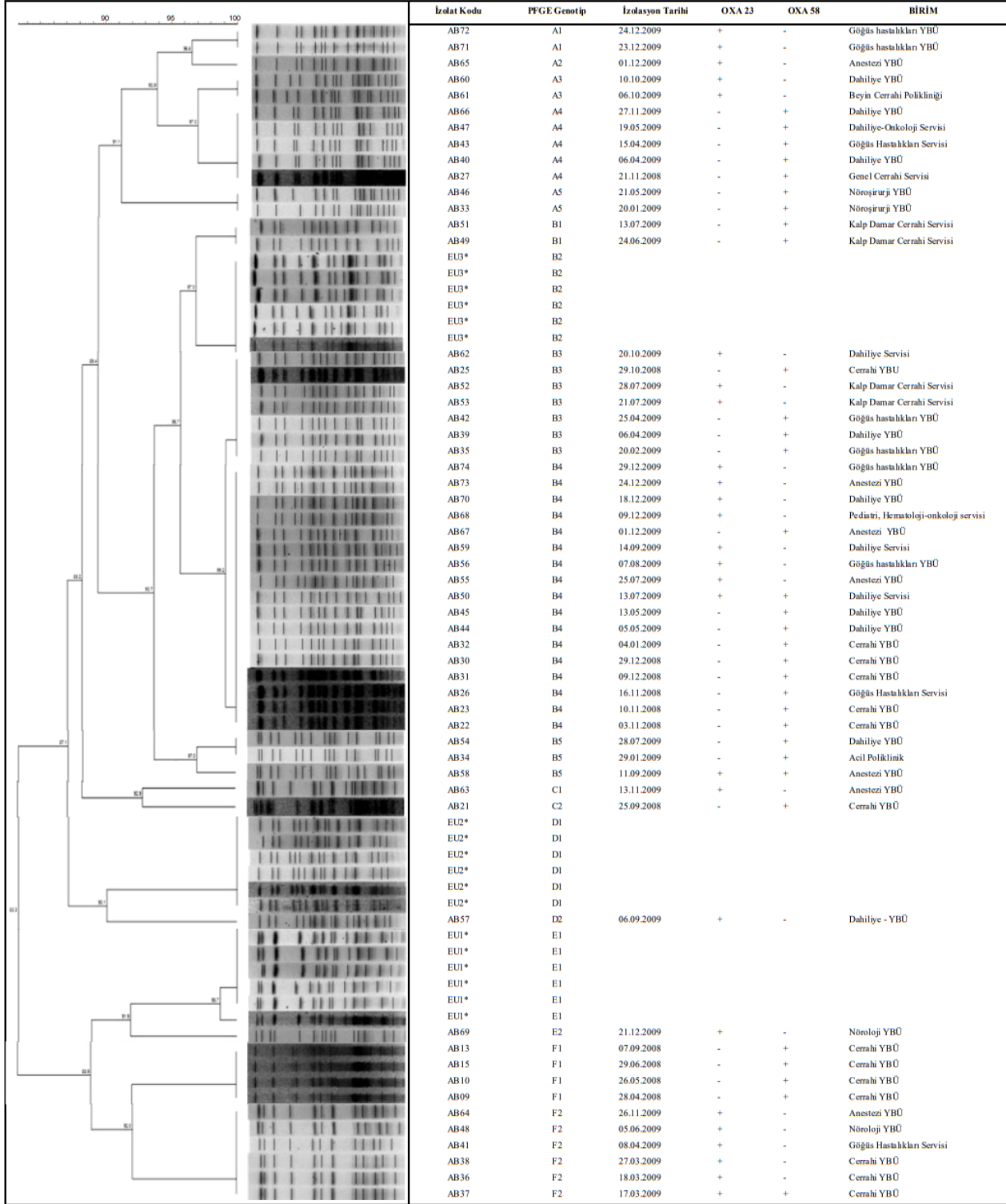
**MBL ve OXA Karbapenemaz Genlerinin PZR ile Tespiti:** İzolatların hiçbirinde *bla<sub>IMP-1</sub>*, *bla<sub>IMP-2</sub>*, *bla<sub>VIM-1</sub>*, *bla<sub>VIM-2</sub>*, *bla<sub>SIM-1</sub>*, *bla<sub>SPM-1</sub>*, *bla<sub>GIM-1</sub>* ve *bla<sub>OXA-24-like</sub>* genleri saptanmazken; izolatların tümünde *bla<sub>OXA-51-like</sub>* geni, 32 (%43.2) izolatta *bla<sub>OXA-58-like</sub>* geni ve 26 (% 35.1) izolatta *bla<sub>OXA-23-like</sub>* geni saptanmıştır. Üç izolatta *bla<sub>OXA-51-like</sub>*, *bla<sub>OXA-23-like</sub>*, ve *bla<sub>OXA-58-like</sub>* genleri birlikte tespit edilmiştir. Bu üç izolattan seçilen bir izolattın; ChromasPro programı ile nükleotid dizileri BLAST'dan elde edilen nükleotid dizisi ile karşılaştırılmış, bu genleri birlikte taşıdığı doğrulanmıştır.

**Moleküler Tipleme PFGE:** PFGE analizi sonucunda, 55 izolattın ve EU klonları I, II, III; A (n=12), B (n=30), C (n=2), D (n=2), E (n=2) ve F (n=10) olmak üzere altı farklı PFGE genotipi altında kümelendiği görülmüştür (Resim 1). Genotip B en büyük kümeyi oluşturmuştur ve 55 hastane izolattının 29'u (%52.7) bu genotipte gruplandırılmıştır. Genotip A; A1 (n=2), A2 (n=1), A3 (n=2), A4 (n=5) ve A5 (n=2) olmak üzere beş alt tipten oluşmuştur. Alt tiplerdeki bant profilleri birbirleri ile %100 uyumlu bulunmuştur.

Genotip A kümesinin alt tipleri ile klonal yönden benzerliği %91.1 olarak tespit edilmiştir. Genotip B; B1 (n=2), B2 (n=1), B3 (n=7), B4 (n=17), B5 (n=3) olmak üzere beş alt tipten oluşmuştur. Genotip B' nin küme içerisindeki alt tipleri ile benzerliği %93.7 bulunmuştur. En büyük alt tip B4 olarak tanımlanmış ve B3 alt tipi ile benzerliği %99.2 olarak saptanmıştır. EU klon III B2 alt tipi içinde gruplandırılmış, B1 alt tipinde bulunan Kalp Damar Cerrahisi Servisindeki iki hastanın *bla<sub>OXA-58-like</sub>* geni taşıyan izolatları ile benzerliği %97 olarak belirlenmiştir. Genotip C; C1 (n=1) ve C2 (n=1) olmak üzere iki alt tipten oluşmuştur ve alt tipler arasındaki benzerlik %92.9 olarak tespit edilmiştir. Genotip D; D1 (n=1) ve D2 (n=1) olmak üzere iki alt tip içermektedir ve EU klon II D1 alt tipi içinde gruplandırılmıştır. D2 alt tipinde bulunan Dahiliye YBÜ'de yatan bir hastanın *bla<sub>OXA-23-like</sub>* geni taşıyan izolattının EU klon II ile benzerliği %90.1 olarak bulunmuştur. Genotip E; E1 (n=1) ve E2 (n=1) olmak üzere iki alt tip içermektedir ve EU klon I, E1 alt tipi içinde gruplandırılmıştır. E2 alt tipinde bulunan Nöroloji

YBÜ'de yatan bir hastanın *bla*<sub>OXA-23-like</sub> geni taşıyan izolatının EU klon I ile benzerliği %91.9 olarak saptanmıştır. Genotip F; F1 (n=4) ve F2 (n=6) olmak üzere iki alt tip içermektedir ve F1 alt tipinde bulunan tüm izolatların *bla*<sub>OXA-58-like</sub> geni

taşıdığı, Cerrahi YBÜ'den izole edildiği ve birbiriyle %100 ilişkili olduğu bulunmuştur. Yine aynı PFGE paternine sahip aynı servilerden izole edilen başka izolatlarda bulunmuş ve potansiyel salgın izolatları olarak değerlendirilmiştir (Resim 1).



\*EU1: European clone I, EU2: European clone II, EU3: European clone III; YBÜ: Yoğun bakım ünitesi.

Resim 1. *bla*<sub>OXA 23-like</sub> ve *bla*<sub>OXA 58-like</sub> geni taşıyan *A. baumannii* complex izolatlarının PFGE profillerinin dendrogramı

## Tartışma

Karbapenemazlar artık dünya çapında önemli bir sorun haline gelmiştir. Bu beta-laktamazlar, beta-laktam antibiyotiklere ilaveten aminoglikozidler, florokinolonlar, kotrimoksazol gibi diğer sınıf antibiyotiklere dirençle de ilişkili olduğundan enfeksiyonlarda tedavi olasılığını azalmaktadırlar (5). Çalışmamızda da karbapenemlere azalmış duyarlılık gösteren izolatların yalnızca %28.4'ünün ampisilin-sulbaktama, %25.7'sinin amikasinine, %8.1'inin gentamisine, %5.4'ünün siprofloksasine, %4.1'inin levofloksasine, %2.7'sinin trimetoprim-sulfametoksazole duyarlı olduğu saptanmıştır. Sarı ve arkadaşları (16) karbapenemlere dirençli 62 klinik *A. baumannii* izolatının %11.3'ünü amikasinine, %11.3'ünü gentamisine, %17.7'sini trimetoprim-sulfametoksazole duyarlı bulmuşlardır. Külah ve arkadaşları (17) karbapenemlere dirençli 145 klinik *A. baumannii* izolatının %53.8'ini sefepime, %0.7'sini ampisilin-sulbaktama, %29.7'sini siprofloksasine, %41.4'ünü levofloksasine, %49'ünü amikasinine, %69'ünü gentamisine, %14.5'ini trimetoprim-sulfametoksazole duyarlı olarak bildirmişlerdir. *A. baumannii* hastanelerde sıklıkla salgınlara neden olduğu için, salgına neden olan izolatların direnç paternleri direnç oranlarını etkilemekte ve hastaneler arasında farklılıklar görülebilmektedir. Son yıllarda; Fransa, İngiltere, İspanya, Portekiz, Hollanda, Çek Cumhuriyeti, Polonya, Bulgaristan, Yunanistan, İtalya ve Türkiye gibi birçok ülkede karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarının sebep olduğu hastane salgınları bildirilmiştir. *A. baumannii* izolatlarında karbapenemlere direnç oranları Türkiye'de %50-80, Yunanistan'da %85, İtalya'da %60, İspanya'da %45 ve İngiltere'de %55 iken Fransa'da %10-20, Almanya'da %8 ve İsveç'te %4 oranlarında daha az sıklıkla görülmektedir. *A. baumannii*'de karbapenem direnci, çoğunlukla OXA tipi karbapenemazlar ile ilişkilidir. Avrupa'da, karbapenem dirençli *A. baumannii* salgın izolatlarının sıklıkla OXA-23'ün ardından OXA-58 tipi enzimleri taşıdığı bilinmektedir. OXA-24 tipi ise salgınlar yerine daha çok sporadik vakalar olarak bildirilmiştir (3). OXA-51 kromozomal olduğundan genellikle *A. baumannii*'lerin tümünde bulunmaktadır. MBL'lerin ise karbapenemlere karşı hidrolitik aktiviteleri OXA tipi karbapenemazlara göre 100-1000 kat daha güçlü olmasına rağmen *A. baumannii*'de daha az sıklıkta ve daha çok sporadik olarak rastlanmaktadır (2, 5).

Çalışmamızda da IMP-1, IMP-2, VIM-1, VIM-2, SIM-1, SPM-1, GIM-1 gibi MBL enzimleri ve OXA-24 tipi oksasilinaz saptanmazken; izolatların %100'ünde OXA-51, %43.2'sinde OXA-58, %

35.1'inde OXA-23, üç izolatta da OXA-58 ve OXA-23 birlikte saptanmıştır. Ülkemizde yapılan karbapenemlere dirençli izolatlarda oksasilinazların araştırıldığı çalışmalarda OXA-23 oranı %0-100, OXA-58 oranı %0-72 arasında değişmektedir (15, 17-24). OXA-24 tipi oksasilinazlar ülkemizde nadir olarak bildirilmektedir (17, 19, 24). MBL enzimlerinin araştırıldığı çalışmalarda sonuçlarımıza benzer şekilde bu direnç geni üreten izolatlar rastlanmamıştır (17-19). Oksasilinazların dağılımında bölgelere ve yıllara göre farklılıklar görülmektedir. Akdeniz ülkelerinde; 2009'dan önce *bla*<sub>OXA-58-like</sub> geni karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatları arasında daha baskın iken 2009 yılından bu yana *bla*<sub>OXA-23-like</sub> geninin; Cezayir, Hırvatistan, Mısır, Fransa, Yunanistan, İtalya, İsrail, İspanya, Tunus ve Türkiye gibi birçok Akdeniz ülkesinde *bla*<sub>OXA-58-like</sub> üreten izolatların yerini alma eğiliminde olduğu bildirilmektedir. Bu değişimin sebebi karbapenem direncinin yatay gen transferi ile kazanılması ve/veya OXA-23'ün daha yüksek karbapenemaz aktivitesi göstermesinin sağladığı seçici avantaj ile açıklanabilir (5). Çiftçi ve arkadaşları (21) da 2008-2011 yıllarını kapsayan çok merkezli çalışmalarında; yıllar içindeki *bla*<sub>OXA-23-like</sub> pozitif izolatların sayısındaki artışa dikkat çekmişlerdir. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda bu sonucu destekler niteliktedir ve 2009 yılından sonra OXA-58 üreten suşların OXA-23 üreten suşlara baskın hale geldiği görülmektedir (15-24). Çalışmamız 2008-2009 tarihli izolatları içermektedir ve izolatlar içinde OXA-58 (%43.2) üretimi OXA-23 (%35.1)'den daha fazla bulunmuştur. Çok merkezli bir çalışmada Trabzon'da 2014-2015 tarihinde izole edilen suşlarda OXA-23 (%70)'ün OXA-58 (%10)'e baskın hale geldiği saptanmıştır (20). Avrupa'da, *A. baumannii*'deki karbapenem direncinin, epidemik Avrupa klonlarının yayılımı sonucu olduğu ve bu yayılımın farklı ülkeler arasında değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. İspanya, Güney Afrika, Polonya ve İtalya'da klon I; Çek Cumhuriyeti, İspanya, Portekiz, Güney Afrika, Fransa, Yunanistan ve Türkiye'de klon II ve Fransa, İtalya, İspanya ve Hollanda'da Klon III rapor edilmiştir (26). Çalışmamızda, EU klon I ile kümelenmiş Nöroloji YBÜ'den izole edilen *bla*<sub>OXA-23-like</sub> geni taşıyan bir klinik izolatın %91.9 muhtemel ilişkili olduğu bulunmuştur. EU klon II referans suşu ile Dahiliye YBÜ'den izole edilmiş *bla*<sub>OXA-23-like</sub> geni taşıyan bir izolatın %90.1 muhtemel ilişkili olduğu saptanmıştır. Kalp Damar Cerrahisi Servisindeki *bla*<sub>OXA-58-like</sub> geni taşıyan iki izolat, EU klon III referans suşu ile %97 ayırt edilemez ilişkili bulunmuştur. Türkiye'de Avrupa klonları ile ilişkinin araştırıldığı sınırlı sayıda

çalışma bulunmaktadır (17, 20, 22, 25). Külah ve arkadaşlarının (17) çalışmasında Avrupa klonları ile ilişki saptanmazken, Ahmed ve arkadaşları (20) ile Metan ve arkadaşlarının (22) çalışmalarında EU klon I ve II ile ilişki saptanmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde EU klon I ve II'ye ilaveten III'e benzer suşlar tek bir çalışmada bildirilmiştir (25). Çalışmamız 2008-2009 tarihli izolatları içermektedir ve PFGE sonuçları yorumlanırken benzerlik katsayısı %90 alınmıştır. Diğer çalışma ise 2011-2012 tarihli izolatları içermektedir ve benzerlik katsayısı %80 alınmıştır. Çalışmamızın sonucuna göre, EU klon III ile muhtemelen daha yakın ilişkili izolatlar ülkemizde ilk kez 2009 tarihinde saptanmıştır. Çalışmamızda, PFGE ile altı küme tespit edilmiştir. PFGE ile değerlendirilen hastane izolatların yarısından fazlasının (%52.7) ve EU klon III'ün B kümesinde olduğu saptanmıştır. Aynı PFGE paternine sahip izolatların özellikle aynı servislerden ve yakın tarih aralığında saptanması potansiyel salgın izolatları olarak değerlendirilmiştir ve hastanemizde küçük çaplı salgınlar olduğunu düşündürmektedir.

**Çalışma Sınırlamaları:** Çalışmamızda; Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında tanımlanan, 74 *A. baumannii* suşu ve verileri ile sınırlıdır, bu kapsamda dahil edilen suş sayısı ve dahil edilen merkez sayısı artırılarak çok merkezli ve geniş kapsamlı çalışmalar yapılabilir. MBL ve OXA direnç genlerinden çalışmaya dahil edilemeyen karbapenemaz direnç genleri de araştırılabilir.

## Sonuç

Çalışmamız hastanemizde ABC izolatlarında karbapenemazlardan kaynaklanan dirençte en sık *bla<sub>OXA-58-like</sub>* ile daha az sıklıkta *bla<sub>OXA-23-like</sub>* genlerinin önemli rol oynadığına ve bu izolatlarla çapraz bulaşmayı önlemede daha etkili enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması gerektiğine dikkat çekmektedir. Oksasilinaz üreten ABC izolatlarının yarısından fazlasının ülkemizde çok nadir olarak bildirilen EU klon III ile muhtemel ilişkili ve iki izolatın da ayırt edilemez ilişkili bulunması, EU klon I ve II ile de muhtemel ilişkili izolatların saptanması bu klonların hastanemizde ve ülkemizde yayılım potansiyelini göstermektedir.

**Etik Onam:** Etik Kurul izni Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 24.10.2011 tarihli ve 2011-121 referans numaralı karar ile alınmıştır.

**Çıkar Çatışması Beyanı:** Yazarların bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

**Finansal Destek:** Bu çalışma için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

**Yazar Katkıları:** Konsept (GUA, GB, İT, NK, FA), Tasarım (GUA, GB, İT, NK, FA), Veri Toplama ve/veya İşleme (GUA, GB), Analiz ve/veya Yorumlama (GUA, GB, RD)

**Teşekkür:** *Acinetobacter baumannii* Avrupa klonu RUH 875, RUH 134 ve LUH 5875 suşları için Prof. Dr. Alexandr Nemeç'e (Laboratory of Bacterial Genetics, Centre for Epidemiology and Microbiology, National Institute of Public Health, Prague, Czech Republic) teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

1. Higgins PG, Dammhayn C, Hackel M, Seifert H. Global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 2010; 65(2): 233-238.
2. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev 2008; 21(3): 538-582.
3. Kempf M, Rolain JM. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. Int J Antimicrob Agents 2012; 39(2): 105-114.
4. Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective. Int J Antimicrob Agents 2010; 36 Suppl 3: S8-14.
5. Djahmi N, Dunyach-Remy C, Pantel A, Dekhil M, Sotto A, Lavigne JP. Epidemiology of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean Countries. Biomed Res Int 2014; 2014: 305784.
6. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S19 Wayne, Pennsylvania, 19087 USA, 2009.
7. Ellington MJ, Kistler J, Livermore DM, Woodford N. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo-beta-lactamases. J Antimicrob Chemother 2007; 59 (2): 321-322.
8. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. Int J Antimicrob Agents 2006; 27(4): 351-353.
9. Ozgumus OB, Caylan R, Tosun I, Sandalli C, Aydın K, Koksall I. Molecular epidemiology of clinical Pseudomonas

- aeruginosa isolates carrying IMP1 metallo-beta-lactamase gene in a university hospital in Turkey. *Microb Drug Resist* 2007;13:191-198.
10. Pournaras S, Markogiannakis A, Ikonomidis A, Kondyli L, Bethimouti K, Maniatis AN, et al. Outbreak of multiple clones of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing OXA-58 carbapenemase in an intensive care unit. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57(3): 557-561.
  11. Durmaz R, Otlu B, Koksall F, Hosoglu S, Ozturk R, Ersoy Y, 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): 372-377.
  12. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33(9): 2233-2239.
  13. Diancourt L, Passet V, Nemeč A, Dijkshoorn L, Brisse S. The Population Structure of *Acinetobacter baumannii*: Expanding Multiresistant Clones from an Ancestral Susceptible Genetic Pool. *PLoS One* 2010; 5(4): e10034.
  14. Nemeč A, Krizova L, Maixnerova M, van der Reijden TJ, Deschaght P, Passet V, et al. Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 13TU)\*. *Res Microbiol* 2011; 162(4): 393-404.
  15. Nemeč A, Dolzani L, Brisse S, van den Broek P, Dijkshoorn L. Diversity of aminoglycoside-resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European *Acinetobacter baumannii* clones. *J Med Microbiol* 2004; 53(Pt 12): 1233-1240.
  16. Sarı B, Baran I, Alaçam S, Mumcuoğlu İ, Kurşun Ş, Aksu N. Investigation of oxacillinase genes in nosocomial multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates by multiplex PCR and evaluation of their clonal relationship with Rep-PCR. *Mikrobiyol Bul* 2015; 49(2): 249-258.
  17. Kulah C, Mooij MJ, Comert F, Aktas E, Celebi G, Ozlu N, et al. Characterisation of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak strains producing OXA-58 in Turkey. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36(2): 114-118.
  18. Keskin H, Tekeli A, Dolapci İ, Öcal D. Molecular characterization of beta-lactamase-associated resistance in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from clinical samples. *Mikrobiyol Bul* 2014; 48(3): 365-376.
  19. Aksoy MD, Çavuşlu Ş, Tuğrul HM. Investigation of metallo beta lactamases and oxacilinases in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated from inpatients. *Balkan Med J* 2015; 32(1): 79-83.
  20. Ahmed SS, Alp E, Ulu-Kilic A, Dinc G, Aktas Z, Ada B, et al. Spread of carbapenem-resistant international clones of *Acinetobacter baumannii* in Turkey and Azerbaijan: a collaborative study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016; 35(9): 1463-1468.
  21. Ciftci IH, Aşık G, Karakeçe E, Oksüz L, Yağcı S, Sesli Çetin E, et al. Distribution of bla<sub>OXA</sub> genes in *Acinetobacter baumannii* strains: a multicenter study. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47(4): 592-602.
  22. 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: 92-97.
  23. 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): 556-565.
  24. Direkel Ş, Çopur Çiçek A, Karagöz A, Aydoğan Ejder N, Oktay E, Delialioğlu N, et al. Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in an university hospital. *Mikrobiyol Bul* 2016; 50(4): 522-534.
  25. Ahmed SS, Dinc G, Rossella B, Alp E, Ulu-Kilic A, Melchers W, et al. Molecular characterization of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* and investigation of genetic diversity between local and international clones. *Applied Microbiology* 2016; 10(3): 1675-1682.



26. Dessel van H, Dijkshoorn L, Reijden van der T, Bakker N, Paauw A, Broek van den P, et al. Identification of a new geographically widespread multiresistant *Acinetobacter baumannii* clone from European hospitals. Res Microbiol 2004; 155(2): 105-112.
27. Fu Y, Zhou J, Zhou H, Yang Q, Wei Z, Yu Y & Li L. Wide dissemination of OXA-23-producing carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* clonal complex 22 in multiple cities of China. J Antimicrob Chemoth 2010; 65: 644-650.