

**T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**HASTANEMİZDEKİ *ACINETOBACTER BAUMANNII*
İNFEKSİYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**



**TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Rıza Durmaz**

**Dr. Melek Ayan
UZMANLIK TEZİ**

**MALATYA
2002**

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Bu çalışma, jürimiz tarafından Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan:

Üye:

Üye:

Üye:

Üye:

Onay:

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilimsel ve aynı zamanda samimi bir ortamda çalışmamı sağlayarak, beni her konuda yüreklendirerek eğitimimin en iyi şekilde tamamlanması için gayret gösteren, tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerini alçakgönüllülikle aktaran ve üzerimde olan emeklerini hiçbir zaman unutmayacağım değerli hocalarım; Anabilim Dalı Başkanımız ve tez danışmanı hocam Prof. Dr. Rıza Durmaz, Prof. Dr. Bengül Durmaz, Doç. Dr. H. İbrahim Özerol ve diğer değerli hocalarıma,

Çalışmam süresince her konuda yardımlarını esirgemeyen tüm çalışma arkadaşlarıma,
Yaşamım ve eğitimim boyunca manevi desteklerini her zaman hissettiğim sevgili aileme sonsuz teşekkür sunmayı bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
Taksonomi.....	3
Morfolojik, Kültürel ve Metabolik Özellikleri.....	4
Virulans Faktörleri.....	5
Nozokomiyal İnfeksiyonlar.....	6
<i>Solunum sistemi infeksiyonları</i>	6
<i>Bakteriyemi</i>	7
<i>Menenjit</i>	7
<i>Üriner sistem infeksiyonları</i>	7
<i>Diğer infeksiyonlar</i>	7
Epidemiyolojisi.....	8
Hastane Çevresinde Kalıcılığı.....	9
Tiplendirme Yöntemleri.....	9
<i>Fenotipleme Yöntemleri</i>	9
<i>Biyotipleme</i>	9
<i>Antibiyotipleme</i>	10
<i>Serotipleme</i>	10
<i>Faj Tipleme</i>	10
<i>Bakteriosin Tipleme</i>	10
<i>Protein Profilleri</i>	11
<i>Genotipleme Yöntemleri</i>	11
<i>Plazmid Profili</i>	11
<i>“Pulsed Field Gel” Elektroforez (PFGE)</i>	11
<i>Ribotipleme</i>	12
<i>PZR Temelli Metotlar</i>	12
<i>Acinetobacter</i> 'lerde Antibiyotik Direnci.....	13
<i>Beta Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları</i>	14
<i>Aminoglikozitlere Direnç Mekanizmaları</i>	15
<i>Kinolonlara Direnç Mekanizmaları</i>	16
<i>Diğer Antibiotiklere Direnç Mekanizmaları</i>	17
<i>Acinetobacter İnfeksiyonlarının Tedavisi</i>	17
MATERYAL VE METOT.....	18
I- Hastalar ve <i>Acinetobacter baumannii</i> İzolatları.....	18
II- Epidemiyolojik İlişki ve Risk Faktörlerine ait Bilgilerin Toplanması.....	18
III- Çevre ve Hastane Personelinden İzolasyon Çalışmaları.....	20
IV- Suşların İdentifikasyonu.....	21
V- Suşların Antibiyotik Duyarlılık Profili.....	23
VI- Altıtleme.....	24
A- Fenotipleme.....	24
B- Moleküler Tipleme.....	24
BULGULAR.....	28
TARTIŞMA.....	48
SONUÇLAR.....	58
ÖZET.....	59
SUMMARY.....	61
KAYNAKLAR.....	63

GİRİŞ VE AMAÇ

Son 20 yıldır gelişmiş ülkelerde, çoğul antibiyotiğe dirençli gram negatif basillerin neden olduğu hastane enfeksiyonları önemli bir problem olmuştur. Hastane enfeksiyonlarında 1970'li yıllarda *Enterobacteriaceae* ailesinin dirençli üyeleri etken olarak görülmekte iken, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı sonrasında *Acinetobacter* türlerinin de içinde bulunduğu zorunlu aerop Gram negatif basillerin önemi artmıştır (1).

Moraxellaceae ailesi içerisinde bulunan *Acinetobacter*'ler hareketsiz, fermantasyon yapmayan, kısa, daha çok kokkoid formda, oksidaz negatif, Gram negatif çomakçıklardır (2).

Acinetobacter türleri hastane ortamında uzun süre canlılığını korur ve toprak, su, yiyecek gibi maddelerden izole edilmektedir. Sağlıklı kişilerin florasında bulunabildiği gibi hospitalize hastalarda kolonizasyon da yapabilirler (3-5).

Acinetobacter'ler hastane enfeksiyonu etkeni olarak *Pseudomonas* türlerinden sonra ikinci en sık nonfermenter bakteri türüdür (6). Bunun yanında *P. aeruginosa* gibi bu bakteri de yüksek mortaliteye sahiptir (7,8). *Acinetobacter* türleri özellikle yoğun bakım ünitelerinde ventilatör kaynaklı pnömoni olmak üzere, septisemi, endokardit, sekonder menejit, cilt, yara ve üriner sistem enfeksiyonları gibi nozokomiyal enfeksiyonlara neden olmaktadır (9, 10). Bu bakterinin neden olduğu çok sayıda salgın tanımlanırken bunların büyük bir kısmı antibiyotiklere dirençli suşlarla oluşmaktadır. Ayrıca, az sayıda toplumda kazanılmış enfeksiyonlara da neden olabilmektedir (11). Nozokomiyal *Acinetobacter* enfeksiyonları genellikle yoğun bakım hastalarında oluşmaktadır. Dirençli suşlarla kolonizasyon ve enfeksiyon için risk faktörleri ise uzun süre hospitalizasyon, invaziv girişimler, mekanik ventilasyon, immün yetmezlik, malignite, travma, yanık, düşük doğum ağırlığı, antibiyotik tedavisi ve sürekli üriner kataterizasyon olarak tanımlanmıştır (1, 12, 13).

Antibiyotiklere karşı gelişen direnç nedeniyle *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisi klinisyenler için genellikle büyük sorundur ve etkin tedavide kombine antibiyotik kullanımına

gerek duyulur. *Acinetobacter*'ler çoğunlukla genetik olarak bir çok antibiyotiğe dirençlidir (14). Bu türün en önemli özelliği genellikle sulbaktama duyarlı olmalarıdır (15). Dünyada *Acinetobacter* türleri arasında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) türü direnç çok az bildirilmesinin yanında ülkemizde nerede ise hastane kökenli izolatların %40'ında Klass A GSBL (PER-1) türü direnç bulunmuştur (16).

Acinetobacter türlerinin sınıflandırılması konusunda çalışmalar sınırlıdır. Sınıflandırmada yeni tiplene ve moleküler yöntemler geliştirilmektedir. Ayrıca salgın suşlarının epidemiyolojik çalışmaları da yapılmaktadır. 1986'dan bu yana *Acinetobacter* 'lerin taksonomisinde büyük değişiklikler olmuştur. Günümüzde en az 19 DNA hibridizasyon grubu tanımlanmıştır. Yedi genomik tür isimlendirilmiştir. Bunlardan genomik tür 2, *A. baumannii* olarak isimlendirilmiştir (1, 17, 18). Tiplendirme yöntemleri, epidemik suşlarda kaynağın ve yayılımın tanımlanması için önemli olup biotiplene, antibiyotiplene, serotiplene, faj tiplene, protein profilleri multilokus enzim elektroforetik (MEE) tiplene, plazmid profili, "pulsed field gel" elektroforez (PFGE), ribotiplene, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) temelli metodlarla yapılmaktadır (19-22). Ancak hiçbir yöntem tek başına *Acinetobacter* 'leri tiplendirmek için yeterli olmayıp bu konuda araştırmalar devam etmektedir.

Bu çalışmada; hastanemizin çeşitli servislerinden salgın ve salgın dışı dönemlerde izole edilen *A. baumannii* suşları arasında klonal ilişkinin olup olmadığının çeşitli alttiplene yöntemleriyle gösterilmesi ve epidemiyolojik bilgiler ışığında kullanılan yöntemlerin güvenilirlik oranlarının değerlendirilmesi hedeflendi. Ayrıca hastanemizden izole edilen *A. baumannii* izolatları arasında antibiyotiklere direnç oranının saptanması, hastaların demografik, epidemiyolojik ve klinik verileri değerlendirilerek infeksiyon oluşumu ve yayılmasında etkili olabilecek faktörlerin belirlenmesi amaçlandı.

GENEL BİLGİLER

Taksonomi

Acinetobacter'lerin taksonomisinde tarihsel bir değişim bulunmaktadır. İlk olarak *Acinetobacter*'ler hareketsiz, Gram negatif, oksidaz pozitif veya negatif heterojen bir grubu içermekte olup, diğer bakterilerden pigmentasyonun olmayışı ile ayrılmakta idi. Daha sonraki çalışmalarda transformasyon testleri kullanılarak bunların oksidaz negatif olduğu bildirilmektedir (1).

İçerisinde *Acinetobacter*'lerin de bulunduğu Gram negatif, nonfermantatif bakteriler bugüne kadar çok farklı isimler almıştır. Bunlardan en iyi bilinenler; *Bacterium anitratum*, *Herellea vaginicola*, *Mima polymorpha*, *Acromobacter*, *Alcaligenes*, *Micrococcus calcoaceticus*, *B5W* ve *Moraxella lwoffii*'dir (23).

Son zamanlarda *Acinetobacter*'ler; *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Psychrobacter* ve benzer mikroorganizmaları içeren *Moraxellaceae* ailesi içerisinde sınıflandırılan kısa daha çok kokkoid formda Gram negatif çomakçıklardır (2).

Bakterilerin tanımlanması ve benzerliklerinin ortaya konulmasında fenotipik veya genotipik yöntemler kullanılabilir. DNA hibridizasyon çalışmalarına göre, *Acinetobacter* genusu heterojen özellik gösterir. Bergogne-Berezin E ve Towner KJ'nin yaptıkları derlemede *Acinetobacter*'ler “*Approved List of Bacteriel Names*”e göre sadece *A. calcoaceticus* ve *A. lwoffii* olmak üzere iki tür belirtilirken, *Bergey*'in *Sistematik Bakteriyoloji* kitabına göre sadece bir tür tanımlandı. Günümüzde ise DNA benzerlikleri temel alınarak yapılan çalışmalarda, bazı laboratuvarlarda küçük farklar bulunmasına rağmen, en az 19 genomik tür tanımlanmakta olup bu listenin de değişebileceği düşünülmektedir. Yedi genomik türe özel isimler verilirken diğer genomik türler isimlendirilmemiştir (Tablo 1). Bunlardan genomik tür 1 (*A. calcoaceticus*), genomik tür 2 (*A. baumannii*), genomik tür 3 ve genomik tür 13TU birbirine oldukça yakın bulunduğundan bazı araştırmacılar bunları *A.*

calcoaceticus - *A. baumannii* kompleksi olarak tanımlamaktadır. Ayrıca *A. radioresistens* ile genomik tür 12, benzerlik göstermektedir (1, 2, 18, 24).

Tablo 1. *Acinetobacter* Türleri ve Suş Tipleri (1)⁺.

Tür İsmi*	Çeşitli Araştırmacılara Göre Genomik Tür Numaraları**			Suş Tipi
	Bauvet ve ark.	Tjernberg ve ark.	Nishimura ve ark.	
<i>A. calcoaceticus</i>	1	1	11N	ATCC 23055
<i>A. baumannii</i>	2	2	1N	CIP70.34
UN	3	3	NT	ATCC 19004
UN	UG	13TU	NT	ATCC 17903
<i>A. haemolyticus</i>	4	4	4N	ATCC 17906
<i>A. junii</i>	5	5	NT	ATCC 17908
UN	6	6	4N	ATCC 17979
<i>A. johnsoni</i>	7	7	3N	ATCC 17909
<i>A. lwoffii</i>	8	8TU	2N	ATCC 15309
UN	9	8TU	NT	ATCC 9957
UN	10	10	UG	ATCC 17924
UN	11	11	UG	ATCC 11171
<i>A. radioresistens</i> (12)***		12	5N	IAM 13186
UN	13	14TU	NT	ATCC 17905
UN	14	NT	NT	Bauvet 382
UN	15	NT	NT	Bauvet 240
UN	16	UG	NT	ATCC 17988
UN	17	NT	NT	Bauvet 942
UN	NT	15TU	NT	Tjernberg 151a

⁺: Bergogne-Berezin E ve Towner KJ'in Bouvet ve ark (Int J Syst Bacteriol, 1986; 36:228–240), Tjernberg ve ark(Acta Pathol Microbiol Immunol Scand, 1989; 97:596–605), Nishimura ve ark.'dan (Int J Syst Bacteriol 1988; 38:209–211 ve J Gen Appl Microbiol 1987; 33:371–376) yaptıkları derlemeden alınmıştır.

*UN: İsimlendirilmemiş, **NT: Test edilmemiş, UG: Gruplandırılmamış, ***: yayınlanmamış sonuçlar

Morfolojik, Kültürel ve Metabolik Özellikleri

Acinetobacter, üremenin logaritmik fazında kısa, şişman, bazen dekolorizasyon problemi yaşanan Gram negatif, 1.0 – 1.5 µm genişliğinde, 1.5 – 2.5 µm uzunluğunda basil, üremenin duraklama (stasyonel) fazında ise küme veya diplokok, kok şeklinde görülmektedir. Bazı çevre suşları kahverengi pigment üretmelerine rağmen genellikle *Acinetobacter* 'ler düzgün bazen mukoid, renksiz koloniler oluşturur. Zorunlu aerop, oksidaz negatif, katalaz pozitif, nonfermantatif bakterilerdir. Diğer nonfermantatif bakterilerden ayırmada kullanılacak ilk test oksidaz testidir. Birçok türü nitratı nitrite indirgeyemez. Bazı klinik

izolatlar özellikle de genomik tür 4 (*A. haemolyticus*) koyun kanlı agarda hemoliz yapmaktadır. Genomik tür 2 (*A. baumannii*), genomik tür 3 ve genomik tür 13TU'nun sıklıkla izole edildiği klinik izolatlar 37°C veya daha yüksek ısıda ürerken diğer genomik türler sadece düşük ısılarda üreyebilir. Genel üretim ısısı 30°C olarak önerilmektedir. Örneğin cinsine ve şüphe edilen bakterinin tipine göre üreme ısısı da değiştirilebilir (1, 18, 24).

Nadiren bazı *Acinetobacter* suşları üreme faktörlerine ihtiyaç duyarken çoğu suş basit karbon ve enerji kaynağı içeren mineralli besiyerlerinde üreyebilmektedir. Karbon kaynağı olarak çeşitli organik bileşikler kullanılırken bazı suşlar, glukozu kullanmaktadır. Fakat, bunları diğer bakterilerden ayırmada tek bir metabolik test yoktur. *Acinetobacter*'ler, nutrient agar ve triptik soy agar gibi laboratuvarlarda yaygın kullanılan besiyerlerinde üreyebildikleri gibi özel besiyerlerinde de üreyebilirler. Klinik örneklerde doğrudan izolasyon için diğer bakterilerin üremelerini inhibe eden safra tuzları, sekerler, bromkrezol moru içeren selektif besiyeri, ticari Herellea agar (Difco), Holton agar, Leeds *Acinetobacter* Medium gibi seçici besiyerlerinin özellikle hastane enfeksiyonu salgınlarında antibiyotikler eklenerek kullanılmasında yarar vardır. *Acinetobacter*'lerin bulunduğu çevrelerin taranması için zenginleştirici sıvı besiyerleri de bulunmaktadır. Ayrıca, az sayıda *Acinetobacter* bulunduğu ve çeşitli bakterilerle kontamine örneklerde asetat, laktat veya piruvat gibi tek karbon ve enerji kaynağının yanında, nitrojen kaynağı olarak da amonyum veya nitrat tuzları içeren ve pH 5.5-6.0 olan sıvı mineral besiyeri kullanılabilir. Bir-iki günlük inkübasyon sonrasında selektif besiyerine pasaj yapılarak *Acinetobacter* şüpheli bakteriler identifiye edilir. Bu metot dışkı, çeşitli klinik ve çevre örnekleri için kullanılabilir (1, 25).

Virulans Faktörleri

Acinetobacter'ler patojenitesi düşük bakterilerdir. Polisakkarit yapısındaki kapsülü L-rhammoz, D-glukoz, D-glukuronik asit, D-mannoz'dan oluşmaktadır. Polisakkarit kapsülün bakterinin yüzeyini daha hidrofilik yapması, fimsiaların epitel yüzeyine adezyon yeteneği,

doku lipitlerini parçalayan enzimlerin üretilmesi, hücre duvarındaki lipit A ve lipopolisakkaritlerin toksik etkileri virulansı artırmaktadır. *Acinetobacter* septisemisi sırasında oluşan semptomlardan muhtemelen endotoksinler sorumludur. Karışık enfeksiyonlarda virulansın artmasından sorumlu önemli bir faktör de slime oluşturmalarıdır. Yaklaşık %14'ü slime oluşturmaktadır. Slime nötrofillere karşı sitotoksikite ve peritoneal eksudaya nötrofil migrasyonunun inhibisyonunda rol oynar. Ancak slime miktarı ile virulansın derecesi arasında bir korelasyon bulunamamıştır (1, 18, 26). Üremesi için gerekli demiri insan vücudundan sağlaması diğer bir virulans özelliğidir. Aerobaktin gibi sideroforlar ve dış membran reseptör proteinleri ürettiği gösterilmiştir (27- 29).

Nozokomiyal İnfeksiyonlar

Acinetobacter türleri septisemi, pnömoni, endokardit, menenjit, cilt, yara ve üriner sistem infeksiyonları gibi çeşitli infeksiyonlardan izole edilmektedir. Diğer Gram negatif bakterilerle oluşan nozokomiyal infeksiyonlarla bölgesel farklılıklar göstermezler. Uygulanan tanı veya tedavi amaçlı invaziv girişimlere bağlı olarak daha çok yoğun bakım ünitelerinde ortaya çıkabilmektedir. İzole edilen *Acinetobacter* suşlarının çoğunlukla infeksiyon yerine kolonizasyon kaynaklı olmasından dolayı oluşan infeksiyonların gerçek sıklığını tahmin etmek zordur (1, 9, 10, 12, 13, 18).

Solunum sistemi infeksiyonları: Çeşitli araştırmacılar tarafından yoğun bakım ünitelerinde nozokomiyal pulmoner infeksiyon salgınları rapor edilmiştir. Bunların başında ventilatör kaynaklı pnömoniler ilk sıradadır. Yayınlanmış birçok araştırmaya göre *Acinetobacter* kaynaklı nozokomiyal pnömonilerin çoğunda etken *A. baumannii*'dir (1, 18). Alt solunum yollarında *Acinetobacter* kolonizasyonu veya pnömoni oluşmasında risk faktörleri; ilerlemiş yaş, kronik akciğer hastalıkları, immünsüpresyon, cerrahi girişimler, gastrik ve endotrakeal tüp kullanımı gibi faktörlerdir (10, 12, 30, 31). Ventilatör kaynaklı *Acinetobacter* nosokomiyal pnömonisi olan hastalarda ölüm oranı %30-75'dir. Bu infeksiyonların prognozu

çok ağırdır (31). Ayrıca toplumda kazanılmış pnömoni etkeni olarak da tanımlanmışlardır (11).

Bakteriyemi: En sık rastlanan tür *A. baumannii*'dir. Bu hastalarda kaynak genellikle solunum sistemi infeksiyonlarıdır (1, 32). Maligniteler, intrakranial hemoraji, travma, immun yetmezlik, yanık, cerrahi yara sıklıkla görülen predispozan faktörlerdir (1, 33, 34, 35, 36). Vasküler kataterizasyon uygulamaları *Acinetobacter* infeksiyonları için risk faktörleri olarak kabul edilmekte ve asepsi kurallarına uyularak kataterlerin değiştirilmesi bu riski azaltmaktadır (32). Yenidoğanlar ikinci önemli hasta grubunu oluştururlar ve predispozan faktörler; düşük doğum ağırlığı, önceden uygulanan antibiyotik tedavileri, mekanik ventilasyon, yanık ve neonatal konvülsiyonlar olarak sayılabilir (1, 37). *Acinetobacter* bakteriyemilerde prognoz kötüdür (32).

Menenjit: Genellikle sekonder menenjitdir. Vakaların büyük kısmı nozokomiyal *A. baumannii* infeksiyonlarıdır. Risk faktörleri olarak ventrikülostomi, beyin-omurilik sıvısı fistülleri, ventriküler kataterler ve beyin cerrahisi yoğun bakım ünitelerinde aşırı antibiyotik kullanımı tanımlanmıştır (9, 12, 38, 39). Bunun yanında nadir de olsa toplumsal kökenli olgularda bulunmaktadır (40).

Üriner sistem infeksiyonları: *Acinetobacter* türleri ile oluşan nozokomiyal üriner sistem infeksiyonları oldukça nadir görülmektedir. Genellikle yaşlı, debil, yoğun bakım ünitelerinde yatan ve sürekli üriner katateri olan hastalarda görülmektedir (1, 9, 41- 43).

Diğer infeksiyonlar: Nadir de olsa infektif endokardit olgularına neden olmaktadır. İlk kez *Acinetobacter*'in neden olduğu endokardit fallot tetralojisine sahip infantta tanımlanmıştır. Ayrıca doğal kapakta da *Acinetobacter* türleri infektif endokardit etkeni olarak izole edilmiştir. Dental girişimler ve açık kalp ameliyatları buna yol açabilmektedir (1, 44, 45).

Ambulatuvar peritoneal diyaliz uygulanan hastalarda peritonitlere neden olabilmektedir. Bu infeksiyonların nozokomiyal oldukları hakkında kesin bir şey söylemek

zor olmakla birlikte teknik yetersizlikler ve diabetes mellitusun bu konuda önemli risk faktörleri olduklarını unutmamak gerekir. Malign hastalıklara bağlı obstrüktif sarılığı ve koledok taşı olan yaşlı hastalarda *Acinetobacter* kolanjiti ve perkütanöz transhepatik kolanjiogram ve perkütanöz bilier direnajaın septik komplikasyonları rapor edilmiştir (46-50).

Ayrıca, kazalardan sonra osteomyelit ve ekstremitte infeksiyonları bildirilmiştir (51-53).

Travma, keratoplasti ve kontakt lens uygulamalarında *Acinetobacter* ile oluşan oftalmik infeksiyonlar söz konusudur (54- 57).

Epidemiyolojisi

Acinetobacter'ler vücudun koltuk altı, kasıklar, parmak araları gibi nemli bölgelerinin florasında yer alırlar. Sağlıklı kişilerin %25'i normal floralarında bu bakteriyi taşırlar. Yapılan bir çalışmada sağlıklı kişilerin altı farklı vücut bölgesinden en sık *A. lwoffii* olmak üzere yedi farklı genotip izole edilmiştir. Bazen sağlıklı kişilerin oral kavitesinde ve solunum yollarında bulunurlar. Ancak, yine de sağlıklı kişilerde taşıyıcılık hastanede yatanlara göre oldukça azdır (58, 59).

Hospitalize hastalarda ve çeşitli salgınlarda cilt, boğaz, solunum sistemi ve sindirim sisteminde yüksek düzeyde kolonizasyon gösteren olgular yayınlamıştır. En sık *A. baumannii* izole edilmiştir. Yoğun bakım ünitelerinde mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda bu cihazların kontaminasyonu nedeniyle solunum yollarında kolonizasyon çok yüksektir. Yine bu hastalarda cilt kontaminasyonu da siktir. Buradan sağlık personelinin ellerine bulaşmakta ve hastanede yayılması söz konusu olmaktadır. Ayrıca yoğun bakıma yatan hastalarda *Acinetobacter*'lerin orofaringeal ve sindirim yolu kolonizasyonu salgınlara için önemli bir rezervuardır (1, 58, 60- 62).

Nozokomiyal *Acinetobacter* infeksiyonları her bölgeyi tutabilir. Ancak özellikle solunum sistemi, cilt ve yaralarda yaygındır. Cilt ve solunum yollarından izole edilenlerin

büyük kısmı infeksiyon değil kolonizasyon olarak değerlendirilir. Bu izolasyon oranı son yıllarda gittikçe artmaktadır ve gelecekte hastane infeksiyonu salgınlarında önemli yer tutacağı belirtilmektedir (1, 8, 63).

Hastane Çevresinde Kalıcılığı

Acinetobacter türleri hastane çevresinde kalıcı olan diğer Gram negatif basillerle benzer özellik gösterirler. Bu organizmalar kolonize veya infekte kişilerin çevresine kolayca yayılabilmekte ve buralarda canlılıklarını günlerce sürdürmektedirler. Ancak bunların klinik dışı toprak, su ve yiyecek gibi maddelerden de izole edilebileceği bilinmelidir. Klinik örneklerle çevre kaynaklı örnekler arasında anlamlı bir genomik farklılık vardır. Bu nedenle epidemiyolojik bir çalışmada yargıya varmak için mutlaka genomik tür seviyesinde tanımlama yapılmalıdır (9, 12, 13, 64).

Tiplendirme Yöntemleri

Tiplendirme aynı tür içinde bulunan izolatlar arasındaki epidemiyolojik ilişkiyi ortaya koymak amacıyla yapılmaktadır. Tipendirme yöntemleri, epidemik suşlar için kaynağın ve yayılımın tanımlanmasında önemlidir. Bu amaçla birçok fenotipleme ve genotipleme yöntemleri bulunmaktadır.

Fenotipleme Yöntemleri

Biyotipleme

Yaygın olarak Bouvet ve Grimont'un *Acinetobacter* biyotiplemesi için önerdiği altı karbon kaynağı levulinate, citraconate, L-fenilalanin, fenilasetat, 4 hidroksi benzoat, L-tartaratın kullanımı sonucu oluşturulan basit şemaya göre yapılmaktadır (65). Bunun yanında ülkemizde de yaygın olarak kullanılan ticari kitlerden karbon asimilasyon testlerine dayanan API 20 NE (BioMerieux) sisteminin veri tabanı sadece *A. baumannii*, *A. haemolyticus* ve *A. lwoffii*, *A. junii*, *A. calcoaceticus* ve *A. johnsonii*'yi içermekte; ancak *A. radioresistens* ve diğer genotipik tipleri kapsamamaktadır. Genomik tipler arasındaki farklılıkların birbirine çok

yakın olması nedeniyle bu sistem hassasiyet açısından yetersizdir. Sensivitesinde ve tekrarlanabilirliğinde problemler yaşanmaktadır. Bu problemi aşmak için moleküler yöntemler geliştirilmektedir (1, 66, 67).

Antibiyotipleme

Antibiyogram duyarlılık testleri, bakterilerin direnç profillerini tanımlamanın yanında, suşların altıplendirilmesinde de kullanılabilir. Genellikle MIC_s, breakpoint, disk difüzyon yöntemleri ile yapılabilir. Altıplendirilme için antibiyogram sonuçlarının diğer tiplendirme yöntemleri ve epidemiyolojik verilerle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Bazen benzer olmayan suşlar aynı antibiyogram profilini gösterirken, bazen de infeksiyon atakları sırasında duyarlılık profilleri değişebilmektedir (1, 9, 68).

Serotipleme

Acinetobacter suşlarının serotiplendirilmesi ile çeşitli çalışmalarda salgınlar tanımlanmıştır. Ancak bu metot, DNA-DNA hibridizasyon yöntemleri ile birlikte çalışılmalıdır (1, 69, 70).

Faj Tipleme

Bu yöntem sadece Paris Pasteur Enstitüsünde yapılmaktadır. Fajlar coğrafik bölgelere göre belirli özellik göstermemektedir. Faj tiplemenin tekrarlanabilirliğinde problemler yaşanmaktadır. Diğer tiplendirme yöntemleri ile paralel çalışıldığında zaman alıcı olmasına rağmen kullanışlıdır (1, 20).

Bakteriosin Tiplemesi

Bu yöntemle de *Acinetobacter* izolatlarının tiplendirilmesi yapılmıştır. Önemli klinik izolatların tiplendirilmesinde, DNA-DNA hibridizasyonu ile paralel çalışıldığında yararlı bir tiplendirme metodudur (1, 71).

Protein Profilleri

Hücre duvarı ve tüm hücre proteinleri *Acinetobacter*'lerin epidemiyolojik ve taksonomik sınıflandırılması çalışmalarında kullanılmıştır. Hücre duvarı proteinlerinin sodyum dodezil sülfat poliakrilamid jel elektroforezindeki analizinde epidemiyolojik ilişkisiz suşlarda farklılıklar gözlenirken, salgın suşlarında benzer profiller bulunmuştur. Bu metod hastane salgınlarında ve endemik ataklar süresince spesifik türlerde başarı ile kullanılabilir. Hücre proteinlerinin örnek hazırlama aşaması hücre duvarı proteinlerinin hazırlamasından kolay olduğu için daha avantajlıdır (21, 72).

Genotipleme Yöntemleri

Plazmid Profili

Acinetobacter'lerin tiplendirilmesinde plazmid tiplendirilmesi kolay ve hızlı bir metottur. *Acinetobacter* 'lerde bulunan plazmidler sayı ve büyüklük bakımından çok çeşitlidir. Benzer plazmid profilli suşlar plazmid DNA'larının restriksiyon enzimlerle parçalanması veya işaretli proba hibridizasyonu sonrası farklı bulunabilir ve çok sayıda salgının tanımlanmasında bu yöntem yararlı olmuştur. Plazmid tiplendirilmesi epidemiyolojik çalışmalarda oldukça yararlı olmasının yanında ek moleküler yöntemlerle birlikte kullanıldığında daha faydalı olabilmektedir (1, 73).

“Pulsed Field Gel” Elektroforez (PFGE)

PFGE yönteminde; *Acinetobacter* suşlarının DNA'sı izole edildikten sonra *ApaI*, *SmaI*, *ApaI* ve *SmaI*, *NheI* ve *SmaI* restriksiyon enzimleri ile parçalanması sonucu oluşan DNA parçalarının uzunluk polimorfizmi gösterilmektedir. Bu yöntem genomik tür 2 (*A. baumannii*) için salgınlarda veya bir hastanın izole edilen farklı izolatlarının tiplendirilmesinde yararlı bir metottur. Dezavantajı pahalı ve uzun süreye ihtiyaç duyulmasıdır. PFGE oldukça ayırt edici ve epidemiyolojik çalışmalar için çok yararlı bir metottur (1, 22, 74).

Ribotipleme

Safılaştırılan DNA, genellikle kullanılan *EcoRI*, *ClaI* ve *SaII* restriksiyon enzimle kesilip elektroforeze tabi tutulduktan sonra blotlanır. Daha sonra rRNA'dan oluşturulan işaretli cDNA ile hibridize edilir. Bu yöntemin tekrarlanabilirliği oldukça iyidir. Salgınlardaki ribotip paternleri benzer ve diğer yöntemlerin sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir. Bu yöntem güç olmasına rağmen diğer tiplendirme yöntemleriyle birlikte kullanıldığında epidemiyolojik olarak değerli bilgiler sağlar (1, 9, 22, 68).

PZR Temelli Metodlar

PZR bazlı çok sayıda yöntemden random amplifiye polimorfik DNA (RAPD), birçok bakteride olduğu gibi *Acinetobacter*'lerin tiplendirilmesinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Farklı merkezlerden izole edilen mikroorganizmaların tiplendirilmesinde bazı sorunlar olmakla birlikte teknik hızlıdır ve epidemik suşların salgın sırasında günlük takibinin yapılmasında oldukça yararlı bir testir (75-77). Bu yöntemde randomize seçilen bir veya daha fazla primer kullanılır. *A. baumannii*'nin tiplendirilmesinde; *M13* bakteriofajının kor bölgesi, *DAF*, *ERIC1* (Enterobacterial repetitive intergenic consensus 1) ve *ERIC2* (Enterobacterial repetitive intergenic consensus 2) tekrarlayan bölgeleri primer olarak kullanılmaktadır. Kullanılan primerler genellikle 9-10 bazlık kısa primerler olup G-C'ce zengindir. Düşük sıcaklık derecesinde (40-50°C) gerçekleştirilen bağlanma aşamasında, seçilen primerler, kromozom üzerinde hem kendilerine özgü bölgelere, hem de özgül olmayan bölgelere bağlanmaktadır. Primerler DNA üzerinde farklı bağlanma bölgelerine bağlanarak çeşitli uzunluk ve sayıda bantlar oluşturmaktadır. Amplifikasyon ürününün agaroz jel elektroforezini takiben, oluşan bant profilleri karşılaştırılarak suşlar arasındaki benzerlikler değerlendirilir. Aynı tür içindeki farklı suşlarda primerlerin bağlanma yerlerinin sayısı ve birbirine olan uzaklıkları değişik olacağından, agaroz elektroforezinde amplifiye edilen parçaların sayı ve büyüklükleri de farklılık gösterecektir. Suşlar arasındaki primerlerin

bağlanma bölgesindeki mutasyonlar bant polimorfizminin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bant profilleri aynı olan izolatlar epidemiyolojik olarak ilişkili şeklinde yorumlanır. Bant profilleri benzer olan izolatlar yeni primerlerle tekrar test edilmeli veya diğer tiplendirme yöntemleriyle test edilmelidir. Uygulama kolaylığı ve kısa sürede sonuç alınması nedeniyle geniş kullanım alanı bulan bu yöntemin en önemli dezavantajı henüz tam bir standardizasyonunun sağlanamamasıdır. Bu sorunları gidermek için kullanılan hedef DNA ekstraksiyon protokolü, DNA konsantrasyonu, primerlerin baz dizilimi ve konsantrasyonu, MgCl₂ konsantrasyonu, tampon ve *Taq* DNA polimeraz enziminin çalışma süresince sabit tutulması gerekmektedir (78).

***Acinetobacter*'lerde Antibiyotik Direnci**

Nozokomiyal infeksiyonlarda sıklıkla karşılaşılan çoğul dirençli *Acinetobacter*'lerin yoğun bakım ünitelerindeki infeksiyonlarının tedavisinde büyük problemler yaşanmaktadır. Direnç genelde *A. baumannii* olarak tanımlanan suşlarda gözlenmektedir (14).

Antibiyotiklere Direncin Biyokimyasal ve Genetik Mekanizmaları

Acinetobacter'ler belki de doğada antibiyotik üreten mikroorganizmalarla uzun süre aynı ortamda bulunmaları sonucunda çok çabuk direnç geliştirme özelliğine sahiptirler. *Acinetobacter*'lerde türler arasında antibiyotik direnç genlerinin transferinde konjugasyon mekanizması önemli rol oynar (1, 79).

Plazmidler ve transpozonlar çoğu prokaryot organizmalar ve *Acinetobacter* türlerinin biyolojisinde önemli rol oynarlar. *Acinetobacter*'lerin %80 oranında çeşitli molekül büyüklüklerinde çok sayıda plazmid taşıdıkları bildirilmektedir. Sadece birkaç çalışmada direnç genlerinin plazmid aracılığı ile transferi gösterilmektedir. Ayrıca kromozomda lokalize transpozonlar aracılığıyla çoğul antibiyotik direnç geninin taşındığı rapor edilmiştir (1).

Beta Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

β laktamazlar klasik olarak β laktam antibiyotikleri hidrolize ederek parçalar ve etkisiz kılarlar. Bu enzimler başlangıçta dar spektrumlu penisilinleri ve sefalosporinleri parçalama yeteneğinde iken, bu klasik enzimlere dirençli geniş spektrumlu β laktam antibiyotiklerin özellikle de geniş spektrumlu sefalosporinlerin yaygın kullanılmasına bağlı olarak gelişen nokta mutasyonlarla beta laktamazların etki spektrumu genişlemiştir. Halen günümüzde 60'dan fazla beta laktamaz tanımlanmıştır ve bunların yarısından fazlası genişlemiş spektrumlu β laktamazlardır (GSBL). GSBL türü enzimler çoğu kez plazmidler üzerinde yer alırlar ve özellikle hastane ortamında türler arasında yayılırlar.

Acinetobacter'lerde beta laktamlara direnç, penisilin bağlayan proteinlerdeki değişme, dış membran permabilitesinde azalma ve kromozomal veya plazmid kaynaklı β laktamaz ile gelişebilmektedir (1, 14).

Acinetobacter'lerde beta laktamlara dirençde plazmid kaynaklı TEM-1 ve CARB-5 enzimleri başta olmak üzere çeşitli plazmid veya kromozomal kaynaklı beta laktamazlar önemli rol oynamaktadır. TEM-1, TEM-2, CARB-5 ve SHV-like enzimleri penisilinaz aktivitesinde olup genellikle plazmid kaynaklı enzimlerdir. Ayrıca plazmid kaynaklı beta laktam direnci bir süre sonra GSBL'lelere bağlı direncin gelişiminde rol oynayabilmektedir (1, 80).

ACE-1, ACE-2, ACE-3, ACE-4 enzimleri ise sefalosporinaz aktivitesine sahiptir. Fakat bunların bir kısmında az da olsa penisilinlere karşı aktivite varken aztreonam, seftazidim ve sefotaksiimi hidrolize edici aktivite bulunmamaktadır. Bu dört enzimin en güçlü aktivitesi sefaloridine ve ACE-4 hariç sefradine karşıdır. ACE-1, en geniş etki spektrumlu sefalosporinazdır ve bazen sefuroksimi de etkileyebilmektedir (1).

ARA-1 ise plazmid kaynaklı bir karbapenemaz olup ileride ciddi sorunlar oluşturabilecek bir enzimdir. Bu enzim imipenem ve azlosilini parçalarken sefuroksim,

seftazidim ve sefotaksi mi parçalayamaz. ARA-1 geninin *A. baumannii*'den *A. junii*'ye direkt konjugativ transferi gösterilmiş ve aynı plazmid, alıcı ve verici suşlarda gözlenmiştir (1, 81).

Dünyada *Acinetobacter* türleri arasında GSBL türü direnç oldukça azdır. Ancak ülkemizde Klass A GSBL (PER-1) enzimi hastane kökenli *A. baumannii* izolatların %40'ında bulunmuştur (16). Bunun önemi ise bu tür izolatların sulbaktam kombinasyonlarına da direnç geliştirerek tedavilerinin imkansız hale gelmesidir (17).

Tablo 2. *Acinetobacter*'lerde bulunan β laktamazlar (1).

Enzim veya suş	Kaynak	Substrat	Molekül Ağırlığı
TEM-1	Plasmid	Penisilin	29
TEM-2	Plasmid	Penisilin	29
CARB-5	Plasmid	Penisilin	29
ARI-1	Plasmid	Sefolosporin	23
NCTC 7844	Kromozom	Sefolosporin	30
ML 4961	Kromozom	Sefolosporin	38
ACE-1	Kromozom	Sefolosporin	500
ACE-2	Kromozom	Sefolosporin	60.5
ACE-3	Kromozom	Sefolosporin	32.5
ACE-4	Kromozom	Sefolosporin	>1000
SHV-like	Bilinmiyor	Penisilin	Bilinmiyor

Aminoglikozitlere Direnç Mekanizmaları

Acinetobacter enfeksiyonlarının tedavisinde aminoglikozitlerin sıklıkla kullanılması sonucunda bu antibiyotiklere direnç gelişimi artmaktadır. *Acinetobacter* suşlarında aminoglikozit modifiye edici enzimlerinden asetiltransferaz, nukleotidiltransferaz ve fosfotransferaz enzimleri ile aminoglikozitlere direnç gelişmektedir. Aminoglikozit direnç genleri plazmid ve transpozon kaynaklıdır (1, 18, 81, 82).

Ancak bu enzimlerin sıklıkları ülkelere göre değişmektedir. Örneğin AAC(3)-Ia Belçika'da yaygın iken Amerika ve Arjantin'de nadirdir. Bazı suşlar ise birden fazla tipte aminoglikozit direnç geni içerebilmektedirler. Ayrıca sadece *A. haemolyticus*'un içerdiği AAC(6')-Ig geni amikasin direncinden sorumludur ve bu türün identifikasyonunda kullanılabilir (1, 14, 83).

Tablo 3: *Acinetobacter* türlerindeki aminoglikozit modifiye edici enzimler (1).

Enzim	Tipleri
Asetiltransferaz (AAC)	AAC(6') AAC(2')I AAC(3)I AAC(3)II AAC(3)V ^a AAC(3)IV
Nukleotidiltransferaz (ANT)	ANT(3'')I AAD(3'')(9) ^a ANT(2'')I AAD(2'') ^a
Fosfotransferaz (APH)	APH(3')I APH(3')II APH(3')III APH(3')IV APH(3'')I

Kinolonlara Direnç Mekanizmaları

Acinetobacter'lerin hastane enfeksiyonlarında önemli rol oynamaları florokinolanların enfeksiyon tedavilerinde sıklıkla kullanılmaları sonucudur. Mekanizme tam bilinmemesine rağmen *Acinetobacter*'lerde 4-kinolanlara kolaylıkla direnç gelişmektedir (1).

Diğer organizmalardaki 4-kinolanlara dirençten özellikle *gyrA* mutasyonları ile oluşan DNA giraz subunitindeki yapısal değişiklikler sorumlu tutulmaktadır. Bu gen bölgesinde Gly-81, Ser-83, Ala-84 ve Gln-106'nın yerine değişik aminoasitler geçmesi ile direnç gelişmektedir. Nadir görülen yüksek düzey dirençten ise subunit B'deki değişikliklerin sonucu oluşan *gyrB* mutasyonları sorumludur (1, 81).

Başka bir direnç mekanizma ise *Acinetobacter* hücre duvarlarının antibiyotiklere karşı az geçirgen olmasıdır. 4-kinolanlara karşı dirençte dış membrandaki değişiklikler sonucu içeriye alınmanın azalması sorumlu tutulmaktadır. *E. coli* ve *P. aeruginosa*'daki bu direnç seleksiyonu β laktamlara çapraz dirence neden olabilir (1).

Diğer Antibiotiklere Direnç Mekanizmaları

Yüksek düzey trimetoprim direnci (MIC>1000 mg/L) konjugatif plazmitte bulunan transpozonlardaki çoklu direnç genleri ile ilişkilidir. Benzer olarak kloramfenikol asetiltransferaz I (CAT1) geni kromozom ve plazmid DNA'sı ile ilişkilidir (1, 84).

Tablo 4. *Acinetobacter*'lerde bulunan antibiyotik direnç mekanizmaları (1).

ANTİBİYOTİK	MEKANİZMA
β LAKTAMLAR	Penetrasyonun azalması Hedef molekülde değişiklik β laktamaz (plazmid ve kromozomal), GSBL (PER-1)
İMİPENEM	İmipenemaz
FLOROKİNOLONLAR	Hedef molekülde değişiklik Penetrasyonun azalması Aktif dışarı atma
AMİNOGLİKOZİTLER	Enzim ile modifikasyon İçeri alınmanın azalması

Acinetobacter İnfeksiyonlarının Tedavisi

Acinetobacter'ler genellikle çoğul ilaç direncine sahip mikroorganizmalar olup tedavisinde çeşitli kombinasyonlar önerilmektedir (1, 14). Bunlar aşağıda belirtilmektedir.

1. β laktam + aminoglikozit
2. Sefoperazon/sulbaktam + aminoglikozit
3. Piperasilin/tazobaktam + aminoglikozit
4. Ampisilin/sulbaktam + aminoglikozit
5. β laktam + kinolonlar
6. Kinolon + aminoglikozit

β laktam antibiyotik olarak seftazidim, sefepim, tikarsilin/ klavulanik asit, imipenem kullanılmalıdır. İmipenem dirençli suşlarda ampisilin/sulbaktam veya piperasilin/tazobaktam iyi bir alternatiftir.

MATERYAL VE METOT

I- Hastalar ve *Acinetobacter baumannii* İzolatları:

Bu çalışma, 20 yataklı koroner yoğun bakım (KYB) ve göğüs kalp damar cerrahisi yoğun bakım (GKDCYB), 10 yataklı dahili yoğun bakım (DYB) ve 10 yataklı cerrahi yoğun bakımı (CYB) olan toplam 593 yataklı Turgut Özal Tıp Merkezi Hastanesinde yapıldı.

Hastanemizde 01.01.2000-01.09.2001 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden toplam 52 *A. baumannii* izole edildi. Ancak bunlar içerisinde epidemiyolojik bilgisine ulaşılabilen ve yatan hastalardan salgın ve salgın dışı dönemlerde üretilen 38 *A. baumannii* suşu tiplendirmeye alındı. Suşların 20'si ortopedi, 10'u pediatri servislerine ve 8'i yetişkin yoğun bakım birimlerine aitti. Onsekiz aylık bu dönemde hastanemizde üç salgın görüldü. Bu çalışmada salgın; bir enfeksiyöz hastalığının belli bir bölgede, belli bir zamanda, o bölge ve zaman için normal olandan daha yüksek bir insidansta rastlanması olarak tanımlandı (85). Ortopedi servisinde görülen iki salgının ilki Haziran 2000, ikincisi Ekim-Kasım 2000 dönemlerinde idi. Bu salgınlar sırasıyla altı ve yedi hastayı etkiledi. Pediatri servisinde Ocak 2001'de görülen salgında dokuz hasta etkilendi.

II- Epidemiyolojik İlişki ve Risk Faktörlerine Ait Bilgilerin Toplanması:

Çalışmaya alınan her hasta için ekte sunulan 'Bakteriyolojide Epidemiyolojik Çalışma Formu' dolduruldu. Ayrıca bazı hastalar için ilave bilgiler bu forma not edildi.

Bakteriyolojide Epidemiyolojik Bilgi Toplama Formu

Dosya No:

Telefon

Ad- Soyadı:

Cinsiyet-Yaş

Hastaneye Yatış Tarihi:

İkametgah:

Servis/ Kaldığı Oda:

Hastaneye evden mi yoksa başka sağlık kuruluşundan mı geldi?

Hizmet veren personel ve ortak kullanılan malzemeler:

Klinik Tanı:

Hastaneye yatışta enfeksiyon var mı?

Yoksa, enfeksiyon ne zaman gelişti?

Kültür alındı mı, ne zaman alındı?

İnfeksiyon öncesi antibiyotik kullanımı var mı?

İnfeksiyon sonrası antibiyotik kullanımı?

Cerrahi girişim veya anestezi veya invaziv girişimler uygulandıysa

Ne zaman?

Nerede?

Ne tip?

Altta yatan hastalığı var mı?

Yatağa bağımlı mı?

Beslenme tipi:

Sondalı mı?

Kültür sonucu:

Antibiyogramı:

III- Çevre ve Hastane Personelinden İzolasyon Çalışmaları:

Salgın olduğu düşünülen dönemlerde ortopedi ve pediatri servislerinden toplam üç kez çevre ve personel tarama kültürleri yapıldı. İlk salgın sonrası 10.07.2000'de ortopedi servisinde ortak kullanılan pansuman arabası, tedavi tepsi, furosin kutusu, ilaç dolabı, musluk ağızları, laringoskop, O₂ jakı, desk, telefonlar, hasta yatak, çarşaf, yastık kültürleri ve o sırada serviste bulunan beş doktor, iki hemşireden el kültürleri alındı. Bu serviste yeni vakaların ortaya çıkması üzerine 05.10.2000'de yukarıda belirtilen çevre kültürleri ve 15 doktor, dokuz hemşire ve iki personelin el ve burun kültürleri yapıldı. Pediatri servisinde salgının görüldüğü 11.01.2001 tarihinde ise kuvöz, temizlik malzemeleri, kupa, biberonlar, mama pişirme malzemeleri, lavabo, musluk, solunum cihazı, telefon, kapı kolları, stok solusyonlar, acil kutusundaki laringoskop ve ambu, tartı cihazı, derece solusyonu, buhar aletlerinden çevre tarama kültürleri ve beş doktor, beş hemşire ve iki personelden el ve burun kültürleri alındı.

Çevre ve personel tarama kültürleri şu şekilde yapıldı:

1. Aspiratör ve nebulizatör hortumları ve aspiratör kavanozlarının içi beş ml kadar steril serum fizyolojik (SF) ile yıkandı. Bu sıvı ekimde kullanıldı.
2. Küvöz ve dezenfektan sıvılardan bir ml örnek alındı.
3. Küvöz zemininden ve diğer kuru zeminlerden örnek, glukozlu buyyon içine daldırılmış eküvyonun 5 cm²'lik alana sürülüp tekrar buyyona daldırılmasıyla yapıldı.
4. El kültürleri, eldivenli (yeni doğan hemşiresi, doktoru ve temizlik personeli) veya eldivensiz eller kanlı plaklara bastırılarak alındı.
5. İnfeksiyon kaynağını tarama için laboratuvara gelen tüm sıvı örneklerden birer mililitre alınıp beş ml glukozlu buyyona inoküle edilip 3-4 saat 37°C'de inkübe edildi.
6. İzolasyon için tüm örnekler, koyun kanlı agar ve eosin metilen blue (EMB) besiyerine ekildi. Bir gece 37°C inkübe edildi.

IV- Suşların İdentifikasyonu:

Aerobik, Gram-negatif, hareketsiz, diplokok veya kısa çubuk şeklinde, katalaz reaksiyonu pozitif, oksidaz reaksiyonu negatif, glukoz ve laktoz fermantasyonu olmayan bakteriler *Acinetobacter* şüphesiyle ileri identifikasyon testlerine alındı. Ayrıca 35°C ve 42°C'de üremeleri değerlendirildi. Sceptor sistemi kullanılarak *Acinetobacter* izolatlarının tür düzeyinde tanımlanması yapıldı.

Suşların identifikasyonunda Gram negatif sceptor panel, üretici firma tarafından önerilen kurallara uyularak çalışıldı ve sonuçlar kit kriterlerine göre değerlendirildi. Bu sistemde yöntemin kontrolü için standart suşlardan *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) çalışıldı.

Sceptor Çalışma Prosedürü

1. 24 saatlik taze kültürden 4-5 adet aynı tip koloni 5 ml. triptik-soy sıvı besiyerine inoküle edildi.
2. 2-6 saat 37°C bekletilip 0.5 McFarland'a ayarlandı.
3. Bunun 10 µl'si Gram-negatif broth'a konuldu.
4. Gram-negatif broth'dan 100 µl kuyucuklara dağıtıldı.
5. İndol, üre, lizin, arginin, ornitin ve H₂S kuyucuklarına mineral yağ damlatılıp 37°C'de inkübasyona bırakıldı.
6. Okuma yapılmadan önce indol kuyucuğuna kovaks ayırıcı damlatıldı.
7. Bilgisayar programında okundu.

Her bir suş için sceptorde bulunan sitrat (CIT), polimiksin B (PXB), dextroz (DEX), malonat (MLO), eskulin (ES), PNPG (PNG), lizin (LY), arginin (ARG), ornitin (ORN), üre (URE), hidrojen sülfür (H₂S), indol (IND), adonitol (ADO), inozitol (INO), sorbitol (SOR), ramnoz (RHA), melebioz (MLB), mannitol (MAN), arabinoz (ARB), ksiloz (XYL) ve sukroz (SUC) aktivitelerine bakıldı. Bu testlerin prensibi kısaca şöyledir.

Karbonhidrat fermantasyonu/ N-asetil-d-glukozamin fermantasyonu: Karbonhidrat fermantasyonu veya oksidasyonu sonucu oluşan asit, fenol red indikatörünün turuncudan sarıya dönmesine neden olur.

PNPG (PNG) testi: Bakterilerde beta galaktosidaz enzim varlığında renk sarıya dönüşür.

Ornitin (ORN), arginin (ARG) ve lizin (LY) testleri: Bu aminoasitlerin anaerop ortamda katabolizması sonucu oluşan aminler ortam pH'sını artırır. Fenol kırmızısının rengi sarıdan turuncu-kırmızıya dönüşür.

Üreaz testi (URE): Bakteri üreaz enzimi üretiyorsa üre hidrolizi sonucu oluşan amonyak alkali pH oluşturur. Ortamdaki indikatörün rengi mora dönüşür.

Sitrat (CIT) ve malonat (MLO) testi: Bakteri bu substratları kullanıyorsa alkali metabolitler oluşur ve pH indikatörü maviye dönüşür.

Eskülin (ESC) test: Eskülin'i hidrolize eden enzim ile oluşan eskületin ortamdaki demirle kahverengi kompleks oluşturur.

İndol (IND) testi: Triptofanaz enzimi ile triptofandan indol oluşur ve para-dimetil aminobenzaaldehit varlığında pembe-kırmızı renk oluşur.

Hidrojen sülfür (H₂S): Sodyum tiosulfat, sülfid ve hidrojen sülfite indirgendiğinde, hidrojen sülfitle ferrik amonyum sitrat birleşir ve ferrous sülfür denilen siyah presipitat oluşturur.

V- Suşların Antibiyotik Duyarlılık Profili:

a- Disk difüzyon yöntemi: Hastanemizde izole edilen *A. baumannii* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları Kirby Bauer disk difüzyon yöntemine göre yapıldı.

Kullanılan antibiyotik diskleri şunlardır. Amoksisilin-klavulonik asit (20 µg/ 10 µg-AMC), aztreonam (30 µg-ATM), seftriakson (30 µg-CRO), seftazidim (30 µg-CAZ), imipenem (10 µg-IMP), sefotaksim sodyum (30 µg-CTX), sefoksitin (30 µg-FOX), sefuroksim (30 µg-CXM), penisilin G (10 Ünit-P), piperasilin/tazobaktam (75 µg/ 10 µg -TZP), sefepim (30 µg-FEP), ampisilin/sulbaktam (10 µg/ 10 µg-SAM), sefiksim (5 µg-CFM), amoksisilin (25 µg-AML), tobramisin (10 µg-TOB), tikarsilin/ klavulonik asit (75 µg/10 µg-TIM), kolistin sülfat (10 µg-CT), ampisilin (10 µg-AMP), sülfametoksazol/ trimetoprim (kotrimaksazol) (23.75 µg/ 1.25 µg-SXT), siprofloksasin (5 µg-CIP), piperasilin (100 µg-PRL), meropenem (10 µg-MEM), amikasin (10 µg-AK) ve gentamisin (10 µg-GN)'dir.

b- Sceptor Sistemi: İzolatların tamamının antibiyotiklere duyarlılıkları sceptor sistemiyle de test edilerek break point noktaları saptandı. Sceptorde kullanılan antibiyotikler ise ampisilin, piperasilin, amikasin, gentamisin, siprofloksasin, tetrasiklin, sefotaksim sodyum, seftriakson, sülfometoksazol/ trimetoprim (kotrimaksazol), ampisilin/sulbaktam, ampisilin-klavulonik asit, aztreonam, sefoperozon, sefotetan, tikarsilin, imipenem, tobramisin, sefozolin, seftazidim ve sefuroksim'dir.

Her iki yöntemle yapılan antibiyogramların duyarlılık profilleri birbiriyle karşılaştırıldı. Sceptor antibiyogram sonuçlarının Kirby Bauer yöntemi sonuçlarına göre uyumu değerlendirildi.

VI- Alttipleme

A- Fenotipleme:

Antibiyotipleme: Tiplendirmede disk difüzyon esas alındı. Antibiyogram sonuçları duyarlı (S), dirençli (R) ve orta derecede duyarlı (I) olarak kaydedildi. Suşların tamamında aynı sonucu veren antibiyotikler tiplendirme dışında tutuldu. Suşlar arasındaki farklılık gösteren antibiyotiklerin sonucuna göre tiplendirme yapıldı (68).

B- Moleküler Tiplendirme:

AP-PZR: Grundmann ve ark.' (86) larının *A. baumannii* suşlarının tiplendirilmesi için önerdikleri M13 primeri kullanılarak AP-PZR ile genotipleme yapıldı.

ı- Gerekli çözeltiler

TE tamponu; 10 mM Tris, 1mM EDTA (pH 8.0)

PK solüsyon; 1 mg/ml proteinaz K, 0.2 M EDTA, 0.1 M Tris HCl (pH 8.0), %1 laroxyyl sarcosine (veya SDS).

ıı- Yöntem

a- İzolatların Hazırlanması

1. Plaktaki besiyerinde saf kültür halinde üretilmiş bakterinin, tek kolonisi 2 ml sıvı besiyerine (nütrient broth, triptik soy broth) ekilir.
2. İki saat veya bulanıklık oluşuncaya kadar inkübe edilir.
3. Plak besiyerine pasaj yapılarak bir gece bekletilir.
4. Saf kültür olarak plak besiyerinde üreyen koloniler (plağın yaklaşık dörtte biri) 2 ml steril TE tamponu veya distile su içine toplanır ve DNA izolasyonunda kullanılır. Plaktaki tek koloniden 3 ml sıvı besiyerine ekim yapılarak bir gece inkübe edilir.
5. Sıvı besiyerindeki kültür stok için kullanılır. İçerisinde 0.4 ml steril gliserol bulunan iki adet 1.5 ml'lik Ependorf tüplere, 1 ml kültür eklenerek, vorteks yapılır, -70°C'de saklanır.

b- DNA'nın izolasyonu ve saflaştırılması (87)

1. DNA izolasyonu için yukarıda belirtildiği gibi TE tamponu içerisinde toplanan bakteriler, 3,000x g'de 10 dakika santrifüj edilir. Dikkatlice üst sıvı içinde dezenfektan bulunan kaba dökülür.
2. Pellet üzerine 3 ml TE tamponu ekleyip karıştırılır. Tekrar santrifüj edilerek üst sıvı dökülür.
3. Pellet, 0.2 ml TE tamponu içerisinde süspanse edilir ve üzerine 0.2 ml Proteinaz K (PK) solüsyonu eklenip dikkatlice karıştırılır.
4. Karışım, 50°C'de 2 saat ile bir gece arasında inkübasyona bırakılır.
5. Bu aşamada solüsyon vizköz olmaktadır. Pipetlemenin rahat yapılması için seyreltilmesi gerekir. Solüsyona 3 ml TE ekleyip iyice karıştırıldıktan sonra 0.4 ml'si 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılır. Üzerine 0.4 ml fenol konulur. Karışım vortekslenildikten sonra 11.000x g'de 5 dakika santrifüj edilir.
6. Üst faz yeni bir tüpe aktarılır. Üzerine 0.4 ml kloroform eklenip vortekslenir ve 11.000 x g'de 5 dakika santrifüj edilir.
7. Üst faz yeni bir tüpe aktarılır. Üzerine, toplanan sıvı hacminin 1/10'u kadar 3 M sodyum asetat ve iki katı kadar absolü alkol eklenip karıştırılır. Bu karışım -20°C'de 30-60 dakika soğutulur. 14.000x g'de 10 dakika santrifüj edilerek DNA çöktürülür. Üst kısım atılır.
8. DNA pelleti üzerine yaklaşık 1000 µl soğuk %70'lik ethanol eklenerek 14.000x g'de 10 dakika santrifüj edilir ve üst kısımdaki alkol atılır.
9. DNA pelleti oda ısısında kurutulup, 50 µl steril TE tamponunda homojenize edilir.
10. UV spektrofotometre (GeneQuant, Pharmacia Biotech) kullanılarak DNA konsantrasyonu ölçüldü. DNA konsantrasyonu 50 ng/µl olacak şekilde ayarlanır.

c- AP- PZR

i- 2X Amplifikasyon karışımının hazırlanması

10X Amplifikasyon tamponu	200 µl
dNTP miks (2 mMol)	200 µl
MgCl ₂ (25 mM)	320 µl
Steril DNaz ve RNaz içermeyen su	280 µl
Toplam hacim	1000 µl

ii- 50 µl olan amplifikasyon karışımının hazırlanması

2X amplifikasyon miksi	25 µl
Primer M13 (100 pmol/µl)	1 µl
Taq DNA polimeraz (5 U/µl)	0.5 µl
Steril DNaz ve RNaz içermeyen su	21.5 µl
Ekstraksiyon ürünü (50 ng/µl)	2 µl
Toplam hacim	50 µl

Primer: M13: 5' -GAGGGTGGCGGTTCT- 3' (86).

iii- Amplifikasyon programı

Denaturasyon için 94°C'de 5 dakika	} 2 siklus
Primer bağlanması için 40°C'de 5 dakika	
Primer uzaması için 72°C'de 5 dakika	
Denaturasyon için 94°C'de 1 dakika	} 40 siklus
Primer bağlanması için 40°C'de 1 dakika	
Primer uzaması için 72°C'de 2 dakika	

d- Sonuçların gözlenmesi

Amplifikasyon ürünü brom fenol mavisi içinde 3/4 oranında seyreltildi. Bu karışımın 6 l'si, içinde etidyum bromür bulunan %2'lik agaroz jele yüklendi. İki saat 120 Volt'luk akımda elektroforez uygulandı. UV transillimnatrde bant profilleri değerlendirildi.

e- Bantların yorumlanması:

M13 primeri kullanarak yapılan AP-PZR'da farklı genotiplere ayırma '*Dice similarity coefficient*' (benzerlik katsayısı) %70'in altı esas alınarak yapıldı (88). Benzerlik katsayısı %70'nin altında olanlar farklı genotip, benzerlik katsayısı %70-95 arası olanlar alttip, %95-100 olanlar aynı genotip olarak değerlendirildi.

$$Dice \text{ 'similarity coefficient' (benzerlik katsayısı)} = \frac{\text{Her iki suşdaki ortak bant sayısı} \times 200}{\text{Her iki suşdaki toplam bant sayısı}}$$

BULGULAR

I- Hasta ve *A. baumannii* İzolatları:

Çeşitli kliniklerde 01.01.2000-01.09.2001 tarihleri arasında yatan 30.000 hastadan gönderilen örneklerden 52 *A. baumannii* izole edilmiştir. İzolasyon yapılan örneklerin 27'si yara, 13'ü kan, 6'sı trekeal aspirat, 3'ü plevra, 2'si idrar, 1'i trekeostomi çevresi idi (Tablo 5). Örneklerin servislere göre dağılımı; 14 pediyatri, 20 ortopedi, 8 CYB, 10 DYB'dır (Tablo 6).

Tablo 5. 52 *A. baumannii* 'nin örneklere göre dağılımı

	Yara	Kan	Trekeal aspirat	Trekeostomi çevresi	Plevra	İdrar	Toplam
Sayı	27	13	6	1	3	2	52
%	51,9	25	11,5	1,9	5,8	3,9	100

Tablo 6. *A. baumannii* izolatlarının kliniklere göre aylık dağılımı.

	PED	ORT	CYB	DYB	Toplam
01.2000	-	1	-	-	1
02.2000	-	-	-	-	-
03.2000	-	-	-	-	-
04.2000	-	-	-	-	-
05.2000	-	-	1	1	2
06.2000	-	6	-	1	7
07.2000	-	1	-	-	1
08.2000	-	1	1	-	2
09.2000	1	1	-	-	2
10.2000	2	4	1	1	8
11.2000	1	3	-	1	5
12.2000	-	-	2	-	2
01.2001	8	1	-	-	9
02.2001	1	-	-	3	4
03.2001	-	-	-	-	-
04.2001	-	-	-	1	1
05.2001	-	-	1	-	1
06.2001	1	1	-	1	3
07.2001	-	1	1	-	2
08.2001	-	-	1	1	2
Toplam	14	20	8	10	52
%	26,9	38,5	15,4	19,2	100

Tiplendirme çalışmalarına epidemiyolojik, demografik ve klinik bilgilerine ulaşabildiğimiz 20 ortopedi, 9 pediatri, 4 DYB, 3 CYB servisinden olmak üzere 36 hasta ve bunlardan elde edilen toplam 38 *A. baumannii* suşu alındı. Bu suşların servislere ve izole edildiği numunelere göre dağılımı Tablo 7’de görülmektedir.

Tablo 7. Tiplendirmeye alınan 38 *A. baumannii* ’nin servislere ve örneklere göre dağılımı

Servis	Yara	Kan	Trekeal aspirat	Trekeostomi çevresi	Plevra	Toplam
Ortopedi	20	-	-	-	-	20
Pediatri	-	8	1*	1*	-	10
DYB	3	1	1	-	-	5
CYB	1	-	-	-	2	3
Toplam	24	9	2	1	2	38

*: Kolonizasyon olarak değerlendirildi.

II- Epidemiyolojik İlişki ve Risk Faktörlerine Ait Bilgilerin Toplanması:

Ortopedi servisinde 18 aylık periyotta 20 hastadan toplam 20 *A. baumannii* suşu izole edildi. Bunlardan altı tanesi (H2, 3, 4, 5, 6, 7), Haziran 2000, yedi tanesi (H11, 12, 13, 14, 15, 16, 17) ise Ekim-Kasım 2000 aylarında olmak üzere salgın dönemlerine aitti. Diğer yedi suş salgın dışında farklı tarihlerde üretilmiştir. Hastaların 16’sı erkek, dördü kadın olup, yaşları 12-70 yıldır (ortalama:34.1 yıl). On hasta (H2, 3, 5, 7, 8, 12, 14, 16, 18, 20) trafik kazası sonucunda kırık, iki hasta (H9, 19) yüksekten düşme sonucunda kırık, iki hasta (H11, 17) doğumsal kalça çıkığı, bir hasta (H1) lenfomada oluşan bacak absesi, bir hasta (H4) yanık skarı, bir hasta travmatik el amputasyonu (H6), bir hasta fibula yokluğu (H10), bir hasta (H12) ateşli silah yaralanması ve bir hasta genel vücut travması (H15) nedeniyle ortopedi servisine kabul edilmiştir. İzole edilen *A. baumannii* ’ler Centers for Disease Control and Prevention (CDC) kriterlerine göre hastane enfeksiyon etkeni olarak tanımlandı. Suşların hepsi yara kültürlerinden izole edildi. Tüm hastaların izolasyon öncesi çeşitli antibiyotik kullanımı ve çoğunda da genel anestezi altında internal veya eksternal enstrümanı mevcuttu.

Hastaların klinik, demografik, epidemiyolojik verileri ve risk faktörleriyle ilgili ayrıntılı bilgiler Tablo 8’de gösterilmiştir.

Pediyatri servisinde salgın 10.01.2001-29.01.2001 tarihleri arasında olup sekiz hastayı (H21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28) etkiledi ve bunlardan toplam dokuz suş (P1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) izole edildi. Yedi hastanın (P1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) kan kültürü pozitifken, bir hastanın (H28) hem kan kültürü hem de trakeal aspiratında *A. baumannii* izole edildi. Bu hastaların beşi erkek üçü kızdı. Salgından etkilenen sekiz bebek aynı yenidoğan yoğun bakımında (ortalama: 11.4 gün) yattı. Gestasyonel yaşları 27-42 hafta (ortalama 36 hafta) ve doğum ağırlıkları 1230-4000 gramdı (ortalama 2380.6 g). Bu bebeklerin beşi normal vajinal doğum, üçü sezeryanla doğmuştu. *A. baumannii* izole edildiğinde bebekler 9-101 günlüktü (ortalama 42.7 günlük). Bebeklerin beşi (H21, 22, 23, 24, 28) prematürite ve respiratuvar distres sendromu nedeniyle hastanemize gelmişlerdi. H25, 26, 27 hastalar ise hipoksik iskemik ensefalopati (HİE) tanısıyla yatırıldı. Diğer bir hasta ise (H29) beş yaşında kız çocuğu olup enfekte epidermozis bullosa tanısıyla pediyatri yoğun bakımına yatırılıp salgından 6.5 ay sonra trekeostomi çevresinden *A. baumannii* izole edildi (P10). Salgından etkilenen H27 dışında tüm bebekler mekanik ventilasyon (ortalama: 11.4 gün) yanında iki veya daha fazla invaziv girişime sahipti. Ayrıca tüm bebeklerde izolasyon öncesi çeşitli antibiyotik kullanımı vardı. İzole edilen on *A. baumannii* suşunun sekizi (P1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8) enfeksiyon etkeni, ikisi (P9, 10) kolonizasyon olarak değerlendirildi. Hastaların klinik, demografik, epidemiyolojik verileri ve risk faktörleriyle ilgili ayrıntılı bilgiler Tablo 9’da gösterilmiştir.

Yetişkin yoğun bakımlardan yedi hastadan toplam 8 *A. baumannii* suşu izole edildi. Hastaların, beşi DYB, üçü CYB birimine aitti. Bir hastanın (H32) iki ay ara ile yara kültüründe *A. baumannii* üredi (D3, 5). Toplam sekiz suşun dördü yara, ikisi plevra, biri kan ve biri trekeal aspirattan izole edildi. Hastaların dördü erkek, üçü kadın olup, yaşları 21-80’di (ortalama:46). Hastalar sırasıyla mesane kanseri, iskemik serebrovasküler oklüzyon, pott

absesi, Myastenia gravis, akciğer kanseri, kolon kanseri, pnömotoraks nedeniyle yoğun bakımlara yatırılmıştır. Hastaların hepsinde izolasyon öncesi antibiyotik kullanımı ve invaziv girişim mevcuttu. Bir hasta (H33) tüberküloz tedavisi görmekteydi. Hastaların klinik, demografik, epidemiyolojik verileri ve risk faktörleriyle ilgili ayrıntılı bilgiler Tablo 10’da gösterilmiştir.



Tablo 8. Ortopedi servisinden incelemeye alınan hastaların klinik, demografik ve epidemiyolojik bulguları

Suş	Hasta	Yatış tarihi	İzolasyon tarihi	Yaş	Cinsiyet	Örnek	Yatış tanısı	İzolasyon öncesi ant. kullanımı	İnvaziv girişim
O1	H1	24.01.2000	31.01.2000	42	Erkek	Yara	Lenfoma, Sol bacakta apse	Gentamisin+ Sefazolin+ Ornidazol	Myotomi ve abse drenajı.
O2	H2	20.05.2000	07.06.2000	47	Erkek	Yara	Trafik kazası Femur kırığı	Gentamisin+ Sefazolin+ omidazol	Femura açık reduksiyon ve internal fiksator uygulaması, popliteal arter anastomozu.
O3	H3	16.06.2000	25.06.2000	29	Erkek	Yara	Trafik kazası	Gentamisin+ Sefazolin+ Biteral	Fasiyotomi.
O4	H4	28.04.2000	27.06.2000	16	Erkek	Yara	Yanık skarı	Gentamisin+ Sefazolin+ Biteral	Ayak deformitesi debridmanı protez, çivi uygulaması.
O5	H5	10.05.2000	28.06.2000	53	Kadın	Yara	Trafik kazası	Gentamisin+ Sefazolin+ Biteral	Eksternal fiksator ve internal çivi uygulaması.
O6	H6	01.06.2000	29.06.2000	26	Erkek	Yara	Travmatik el amputasyonu	Gentamisin+ Sefriksion+ Biteral	Üst extremitte amputasyonu.
O7	H6	11.06.2000	30.06.2000	19	Erkek	Yara	Trafik kazası Femur kırığı	Gentamisin+ Sefazolin	Eksternal fiksator ve internal çivi uygulaması.
O8	H8	30.06.2000	20.07.2000	45	Erkek	Yara	Trafik kazası Tibia açık kırık ve pseudoartroz	Gentamisin+ Sefazolin+ Biteral	Eksternal fiksator uygulaması.
O9	H9	14.09.2000	20.08.2000	31	Erkek	Yara	Yükekten düşme Femur kırığı	Amikasin+ Sefazolin+ Siprofloksasin	Açık reduksiyon ve eksternal fiksator uygulaması.
O10	H10		17.09.2000	30	Erkek	Yara	Fibula yokluğu	Gentamisin+ Sefazolin+ Biteral	Eksternal fiksator uygulaması ile uzatma.

Tablo 8'in devamı

Suş	Hasta	Yatış Tarihi	İzolasyon tarihi	Yaş	Cinsiyet	Örnek	Yatış tanısı	İzolasyon öncesi ant. kullanımı	İnvaziv girişim
011	H11	12.09.2000	12.10.2000	13	Erkek	Yara	Doğumsal kalça çıkıklığı	Sefazolin+ sulperazon	Açık redüksiyon ve pelvipedal alçı uygulaması.
012	H12	20.09.2000	19.10.2000	67	Erkek	Yara	Trafik kazası sonucu pnömotoraks, ampiyem, femur kırığı	Amikasin+ biteral + seftizoksim	Torotomi+ Göğüs tüpü+ Subklavian katater
013	H13	-	23.10.2000	26	Kadın	Yara	Ateşli silah yaralanması sonucu humerus kırığı	Gentamisin+ sefazolin+ ornidazol	Eksternal fiksator uygulaması
014	H14	-	30.10.2000	39	Erkek	Yara	Trafik kazası sonucu çeşitli kırıklar	Gentamisin+ sefazolin+ ornidazol	Açık redüksiyon uygulaması
015	H15	26.10.2000	06.11.2000	13	Erkek	Yara	Genel vücut travması	Gentamisin+ sefazolin+ ornidazol	Osteosentez, eksternal fiksator uygulaması
016	H16	-	19.11.2000	70	Kadın	Yara	Trafik kazası iliak arter embolisi	Gentamisin+ cefemezin	Kalça dezartikülasyonu
017	H17	-	24.11.2000	18	Kadın	Yara	Doğumsal kalça çıkıklığı	Amikasin+ biteral + seftizoksim	Açık redüksiyon ve protez uygulaması.
018	H18	-	31.03.2001	51	Erkek	Yara	Trafik kazası Femur başı kırığı	Gentamisin+ sefazolin+ ornidazol	Açık redüksiyon ve internal fiksasyon uygulaması.
019	H19	-	22.06.2001	12	Erkek	Yara	Ağaçtan düşme Femur başı kırığı	Gentamisin+ Seftriakson+ Biteral	Açık redüksiyon internal fiksasyon uygulaması.
020	H20	23.06.2000	20.07.2001	35	Erkek	Yara	Trafik kazası Pelvis kırığı Tibia amputasyonu	GIN+ Sefazolin+ Ornidazol	Açık redüksiyon internal fiksasyon uygulaması.

Tablo 9. Pediatri servisinden incelemeye alınan hastaların klinik, demografik ve epidemiyolojik bulguları

Suş	Hasta	Cinsiyet	Gestasyonel yaş/ doğum şekli	İzolasyon öncesi yoğun bakımda yatış süresi	İzolasyon öncesi ven- tilasyonda kalış	İnvaziv girişimler	İzolasyon tarih	Örnek	Tanı	İzolasyon Öncesi Ant. Kullanımı
P1	H21	Kadın	36 hf/ NVD 1800 gr 22.11.2000/ 51 günlük	25	23	Nasal sürekli pozitif basıçlı oksijen tedavisi, mekanik ventilasyon, TPN, exchange tranfüzyon	10.01.2001	Kan	Prematurite RDS Rh uyumsuzluğu	Ampisilin+ amikasin meropenem
P2	H22	Kadın	35 hf/ sezaryan 1680 gr 12.10.2000/101 günlük	11	11	Mekanik ventilasyon, nazogastrik sonda, damar yolu açık, intravenöz beslenme	10.01.2001	Kan	Prematurite RDS	Ampisilin+ netilmisin+ sefotaksim
P3	H23	Erkek	34 hf/ NVD 1435 gr 18.12.2000/24 günlük	8	7	Nazal sürekli pozitif basıçlı oksijen tedavisi, TPN, mekanik ventilasyon, taze donmuş plazma ve eritrosit süspanسیونu.	10.01.2001	Kan	Prematurite RDS	Ampisilin+ Netilmisin+ sefotaksim
P4	H24	Erkek	37 hf/ Sezaryan (ikiz) 2000 gr 05.11.2000/67 günlük	7	7	Mekanik ventilasyon, nazogastrik sonda, damar yolu açık, intravenöz beslenme	10.01.2001	Kan	Prematurite RDS	Ampisilin+ Netilmisin+ sefotaksim
P5	H25	Kadın	42 hf/ Sezaryan 3400 gr 25.12.2000/17 günlük	15	13	Mekanik ventilasyon, nazogastrik sonda, damar yolu açık, intravenöz beslenme	11.01.2001	Kan	Postmatürite, mekonyun aspirasyonu, HfE TORCH, HfE	Ampisilin+ amikasin
P6	H26	Kadın	38 hf/ NVD 3500 gr 17.11.2000/56 günlük	25	10	Mekanik ventilasyon, nazogastrik sonda, damar yolu açık, intravenöz beslenme	11.01.2001	Kan	Hiperbilirubinemi , HfE	sefotaksim + amikasin meronem
P7	H27	Kadın	39 hf/ NVD 4000 gr 26.11.2000/47 günlük	15	10	Damar yolu açık, intravenöz beslenme, exchange tranfüzyon	11.01.2001	Kan	Hiperbilirubinemi , HfE	Ampisilin+ netilmisin
P8	H28	Erkek	27 hf/ NVD 1230 gr 17.01.2001/ 9 günlük	9	9	Mekanik ventilasyon, nazogastrik sonda, damar yolu açık, intravenöz beslenme	25.01.2001	Kan	Prematurite, RDS	Ampisilin+ netilmisin
P9	H28	Erkek	27 hf/ NVD 1230 gr 17.01.2001/13 günlük	13	13	Mekanik ventilasyon, nazogastrik sonda, damar yolu açık, intravenöz beslenme	29.01.2001	Trekeal Aspirat	Prematurite, RDS	Ampisilin+ netilmisin
P10	H29	Erkek	38 hf/ NVD ? 1996/5 yaş	16	-	Trekeostomi, damar yolu açık	14.06.2001	Trekeostomi Çevresi	Epidermosiz bülloza, enfekte büller	Vankomisin+ siprofloksasin

RDS: Resiratuvar distress sendromu, CPAP: TPN: Total perenteral nutrisyon, NVD:Normal vajinal doğum, HfE: Hipoksik iskemik ensefelopati

Tablo 10. Yetişkin yoğun bakım hastalarının klinik, demografik ve epidemiyolojik bulguları

SUŞ	Hasta	Cinsiyet	Servis	Yatış tarihi	İzolasyon tarihi	Yaş	Örnek	Yatış tanısı	İzolasyon öncesi ant.	İnvasiv girişim
D1	H30	Kadın	CYB	31.07.2000	12.08.2000	56	Yara	Mesane kanseri	Amikasin + sefotaksim	Genel anesteziye ameliyat, sonda
D2	H31	Kadın	DYB	01.02.2001	06.02.2001	43	Kan	İskemik SVO, aspirasyon pnömönisi	Amikasin + meropenem	Üriner katater, damar yolu açık, nasogastrik sonda, mekanik ventilasyon,
D3	H32	Erkek	DYB	18.01.2001	07.02.2001	55	Yara	Pott absesi, Cerrahiye enf.	Rifampisin + İzoniazid + Etambutol	Vertebraya platin takılması, yatağa bağımlı
D4	H33	Kadın	DYB	10.02.2001	21.02.2001	21	Trakeal Aspirat	Myastenia gravis	Seftriakson	Mekanik ventilasyon, intravenöz beslenme, sonda
D5	H32	Erkek	DYB	19.03.2001	02.04.2001	55	Yara	Pott absesi, cerrahi yara enf.	Rifampisin + İzoniazid + Etambutol	Vertebraya platin takılması, yatağa bağımlı
D6	H34	Erkek	CYB	08.06.2001	29.07.2001	80	Plevra	Akciğer kanseri	Levofloksazin + seftriakson + amikasin	Genel anesteziye kitle eksizyonu göğüs tüpü
D7	H35	Erkek	DYB	12.07.2001	01.08.2001	42	Yara	Kolon kanseri	Nidazol + amikasin + meropenem	Genel anesteziye kolon rezeksiyonu Kemoterapi
D8	H36	Erkek	CYB	20.07.2001	10.08.2001	25	Plevra	Pnömotoraks	İmipenem + amikasin	Genel anesteziye göğüs tüpü

SVO: serebro vasküler oklüzyon.

III- Çevre ve Hastane Personelinden İzolasyon Çalışmaları:

Salgın döneminde hastaların çevresinden (pansuman arabası, tedavi tepsi, furosin kutusu, ilaç dolabı, lavabo ve musluk ağzı, O₂ jakı, telefonlar, yatak, çarşaf ve yastık, kuvöz, temizlik malzemeleri, kupalar, biberon ve mama pişirme malzemeleri, solunum cihazı, kapı kolları, stok solusyonları, acil kutusundaki laringoskop ve ambu, tartı cihazı, derece solusyonu, buhar aletleri) ve sağlık personelinin el ve burunlarından yapılan izolasyon çalışmalarının sonuçları Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11. Çevreden *A. baumannii* izolasyon çalışmaları

Servis	Tarih	İncelenen örnek	Sayı	Sonuç
Ortopedi	10.07.2000	Çevre	30	Negatif
		Personel	7	Negatif
Ortopedi	05.10.2000	Çevre	35	Negatif
		Personel	26	Negatif
Pediatri	11.01.2001	Çevre	32	Negatif
		Personel	24	Negatif
Toplam		Çevre	97	Negatif
		Personel	57	Negatif

IV- Suşların İdentifikasyonu:

A. baumannii izolatların sceptor biokimyasal testlerinde şu sonuçlar elde edildi. Sitrat, polimiksin B, malonat, eskülin, PNPG, lizin, arginin, ornitin, üre, hidrojen sülfid, indol, adonitol, inozitol, sorbitol, ramnoz, mannitol, ksiloz, sukroz aktiviteleri suşların hepsinde negatif; dekstroz hepsinde ve arabinoz ise suşların %87.5 pozitif bulundu. Ayrıca suşların tümü 35°C ve 42°C’de üreme gösterdi.

V- Suşların Antibiyotik Duyarlılık Profili:

a- Disk difüzyon yöntemi:

İncelenen 38 *A. baumannii* izolatının tamamı AMC, ATM, CRO, CAZ, CTX, FOX, CXM, P, TZP, FEB, CFM, AML, CT, AMP, PRL ve GN'e dirençli, İPM ve MEM'e duyarlı bulundu. SAM'a %55.2, TOB'e %5.3, SXT'ye %65.8, CİP'e %7.9 ve AK'e %73.6 oranında direnç saptandı.

b- Sceptör Sistemi:

Test edilen 38 *A. baumannii* izolatının disk difüzyon ve sceptor antibiyotik direnç profilleri karşılaştırıldı. Antibiyotik duyarlılıkları sonuçları her iki yöntemle; AMC, ATM, CRO, CAZ, İPM, CTX, FOX, CXM, P, TZP, FEB, CFM, AML, TOB, CT, AMP, SXT, PRL, MEM, GN'e %100, SAM ve CİP'e %92.1, AK'e %97.4 oranında uyum bulundu.

VI- Altıplendirme

A- Fenotipleme:

1-Antibiyotipleme: Disk difüzyonla yapılan antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre AMC, ATM, CRO, CAZ, CTX, FOX, CXM, P, TZP, FEP, CFM, AML, TIM, CT, AMP, PRL, GN, IMP ve MEM'le elde edilen bulgular incelenen suşların tamamında aynı idi. Bu nedenle tipleme, suşlar arasında farklılık gösteren SAM, TOB, SXT, CIP ve AK antibiyotikleri dikkate alınarak yapıldı.

Pediyatri suşlarında 2 farklı antibiyotip (antibiyotip A ve B) bulunmuştur. On pediyatri suşundan dokuzu (P1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10) TOB'e duyarlı olduğundan antibiyotip A, bir suş ise (P9) TOB'e dirençli olması nedeniyle antibiyotip B olarak adlandırıldı. P8 ve P9 aynı hastanın (H28) sırasıyla kan ve trakeal aspiratından izole edilen antibiyotip A, antibiyotip B'ye ait suşlardı (Tablo 12).

Tablo 12. Pedyatri suşlarının antibiyotiplenmesi

Suş	Hasta	SAM	TOB	SXT	CIP	AK	Antibiyotip
P1	H21	S	S	S	S	R	A
P2	H22	S	S	S	S	R	A
P3	H23	S	S	S	S	R	A
P4	H24	S	S	S	S	R	A
P5	H25	S	S	S	S	R	A
P6	H26	S	S	S	S	R	A
P7	H27	S	S	S	S	R	A
P8	H28	S	S	S	S	R	A
P10	H29	S	S	S	S	R	A
P9	H28	S	R	S	S	R	B

SAM (ampisilin/sulbaktam), TOB (tobramisin), SXT (sülfametoksazol/trimetoprim (kotrimoksazol)), CIP (siprofloksazin) ve AK (amikasin).

Yirmi ortopedi suşunda 7 farklı antibiyotip (antibiyotip D, G, H, I, K, L, M) ve bir alttip (alttip Ha) bulundu (Tablo 13).

Tablo 13. Ortopedi suşlarının antibiyotiplenmesi.

Suş	Hasta	SAM	TOB	SXT	CIP	AK	Antibiyotip
O2	H2	R	S	R	S	R	D
O7	H7	R	S	R	S	R	D
O9	H9	R	S	R	S	R	D
O8	H8	R	S	R	S	R	D
O11	H11	R	S	R	S	R	D
O12	H12	R	S	R	S	R	D
O13	H13	R	S	R	S	R	D
O17	H17	R	S	R	S	R	D
O19	H19	R	S	R	S	R	D
O20	H20	R	S	R	S	R	D
O1	H1	S	S	S	S	S	G
O3	H3	S	S	R	S	S	H
O5	H5	S	S	R	S	I	H
O16	H16	S	S	R	I	S	Ha
O4	H4	R	S	R	S	S	I
O6	H6	R	S	R	S	S	I
O10	H10	R	S	S	S	S	K
O14	H14	R	S	R	S	S	L
O15	H15	R	S	R	S	S	L
O18	H18	R	R	S	S	S	M

SAM (ampisilin/sulbaktam), TOB (tobramisin), SXT (sülfametoksazol/trimetoprim (kotrimoksazol)), CIP (siprofloksazin) ve AK (amikasin).

Yetişkin yoğun bakım servislerinden izole edilen sekiz suş dört farklı antibiyotipe (antibiyotip C, D, E, F) ayrıldı. Ortak profil gösteren D3 ve D5 iki ay ara ile aynı hastadan (H32) izole edilen suşlardı (Tablo 14).

Tablo 14. Yetişkin yoğun bakım suşlarının antibiyotiplemesi

Suş	Hasta	SAM	TOB	SXT	CIP	AK	Antibiyotip
D1	H30	R	S	R	R	R	C
D2	H31	R	S	R	S	R	D
D4	H33	R	S	R	S	R	D
D7	H35	R	S	R	S	R	D
D8	H36	R	S	R	S	R	D
D3	H32	S	S	R	R	R	E
D5	H32	S	S	R	R	R	E
D6	H34	S	S	R	S	R	F

SAM (ampisilin/sulbaktam), TOB (tobramisin), SXT (sülfametoksazol/trimetoprim (kotrimoksazol)), CIP (siprofloksasin) ve AK (amikasin).

İncelenen 38 suş arasında 13 farklı antibiyotip saptandı. Ortopedi suşlarında yedi, pediatriye iki, yetişkin yoğun bakım servislerden dört antibiyotip bulundu. Suşların yarısından çoğu iki antibiyotip içinde yer almaktaydı (Tablo 15).

Tablo 15. 38 *A. baumannii* izolatının saptanan antibiyotiplere göre dağılımı

Antibiyotikler					Antibiyotip	sayı	%
SAM	TOB	SXT	CIP	AK			
S	S	S	S	R	A	9	23.7
S	R	S	S	R	B	1	2.6
R	S	R	R	R	C	1	2.6
R	S	R	S	R	D	14	36.8
S	S	R	R	R	E	2	5.3
S	S	R	S	R	F	1	2.6
S	S	S	S	S	G	1	2.6
S	S	R	S	S	H	2	5.3
S	S	R	I	S	Ha	1	2.6
R	S	R	S	S	I	2	5.3
R	S	S	S	S	K	1	2.6
R	S	R	S	S	L	2	5.3
R	R	S	S	S	M	1	2.6

B- Epidemiyolojik Grublama

Çalışmaya alınan suşlar epidemiyolojik verilerine göre gruplandırıldı. Epidemiyolojik gruplandırma; suşların izole edildiği servis temel alınarak yapıldı. Ayrıca suşlar, izolasyon dönemi (bir aylık periyot içinde veya salgın döneminde izole edilmesi), invaziv girişimde bulunulması (genel anestezi altında ameliyat, abse direnaji, internal veya eksternal enstrüman takılması, göğüs tüpü takılması, exchange, total parenteral beslenme, nazogastrik sonda, intravenöz beslenme, kan ve taze donmuş plazma, idrar sonda uygulaması), mekanik ventilasyon ve daha önce tedavi gördüğü servislere bakılarak alt gruplara ayrıldı. Tablolarda servis ve tarih sütunlarındaki her bir simge farklılığı, invaziv girişim ve mekanik ventilasyon sütunları pozitif ve negatifliği göstermektedir. Buna göre pediatri suşlarında bir epidemiyolojik grup ve bir altgrup; ortopedi suşlarında bir epidemiyolojik grup ve sekiz altgrup; yetişkin yoğun bakımlarında ise iki epidemiyolojik grup ve altı altgrup bulundu (Tablo16, 17, 18).

Tablo16. Pediatri suşlarında epidemiyolojik grublama

Suş	Servis	Tarih	İnzaziv girişim	Mekanik ventilasyon	Epidemiyolojik grup
P1	*	θ	+	+	II
P2	*	θ	+	+	II
P3	*	θ	+	+	II
P4	*	θ	+	+	II
P5	*	θ	+	+	II
P6	*	θ	+	+	II
P7	*	θ	+	+	II
P8	*	θ	+	+	II
P9	*	θ	+	+	II
P10	*	χ	+	α	IIa

Tablo17. Ortopedi suşlarında epidemiyolojik gruplama

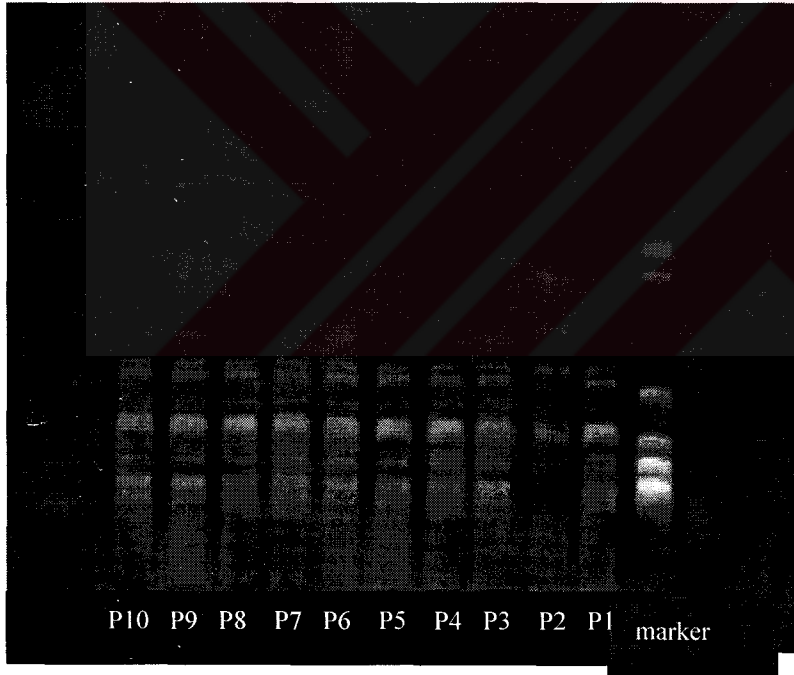
Suş	Servis	İzolasyon tarihi	İnzaziv girişim	Epidemiyolojik grup
O1	Σ	∇	+	I
O2	Σ	α	+	Ia
O3	Σ	α	+	Ia
O4	Σ	α	+	Ia
O4	Σ	α	+	Ia
O5	Σ	α	+	Ia
O6	Σ	α	+	Ia
O7	Σ	α	+	Ia
O8	Σ	β	+	Ib
O9	Σ	χ	+	Ic
O10	Σ	-	+	Id
O11	Σ	&	+	Ie
O12	Σ	&	+	Ie
O13	Σ	&	+	Ie
O14	Σ	&	+	Ie
O15	Σ	&	+	Ie
O16	Σ	&	+	Ie
O17	Σ	&	+	Ie
O18	Σ	/	+	If
O19	Σ	^	+	Ig
O20	Σ	X	+	Ih

Tablo18. Yetişkin yoğun bakımlarında epidemiyolojik gruplama

Suş	Servis	Tarih	İnzaziv girişim	Mekanik ventilasyon	Epidemiyolojik grup
D1	&	-	+	+	III
D2	×	#	+	+	IV
D3	×	#	+	+	IVa
D4	×	#	+	-	IVb
D5	×	/	+	+	IVc
D6	&	^	+	+	IIIa
D7	×	^	+	-	IVd
D8	&	^	+	-	IIIb

C- Moleküler Tipleme

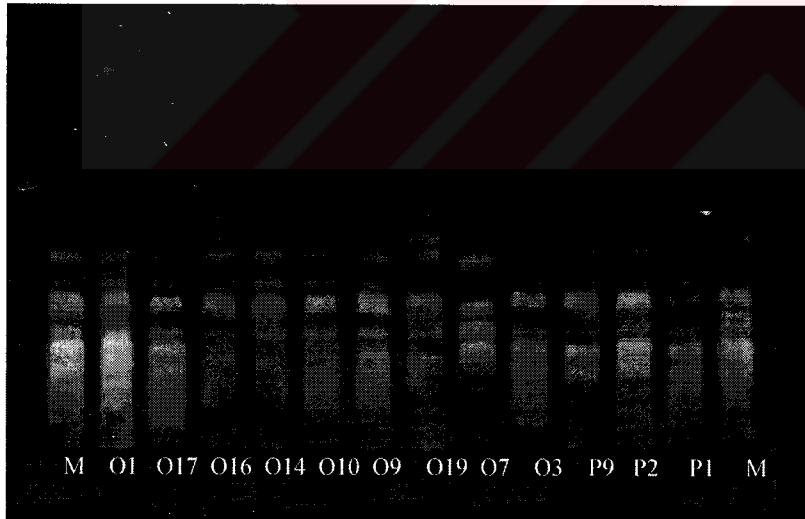
Amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezini takiben jeldeki herbir suşa ait bant profili diğerleriyle kıyaslandı. Kıyaslama önce jelde yapıldı. Sonra bu jellerin resimleri çekildi. Şekil 1, 2, 3'de görüleceği gibi bant profilleri bir kez de resim üzerinde karşılaştırıldı. Herbir jelde saptanan farklı profillerden birer örnek yeni bir jelde yürütüldü (Şekil 5, 6). Böylece her servisin izolatları kendi içinde kıyaslandı. Marker olarak Φ X174 DNA/ *Bsu*RI (*Hae*III) kullanıldı.



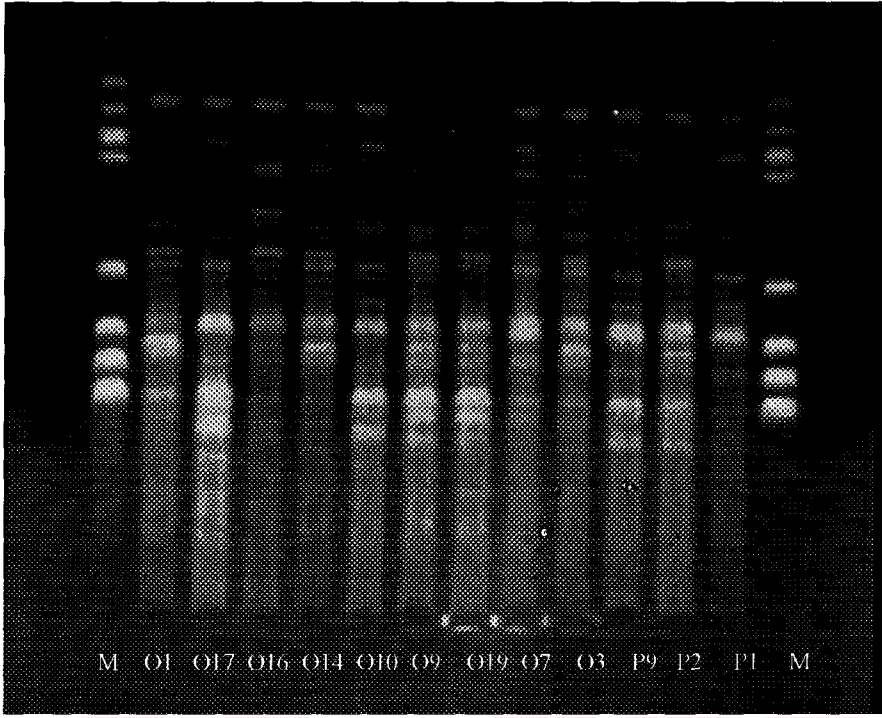
Şekil 1:Pediyatri suşlarının AP-PZR sonuçları



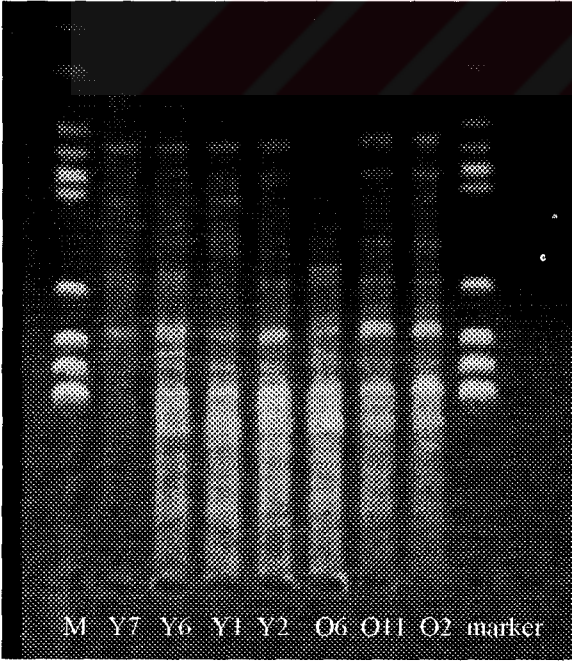
Şekil 2: Ortopedi servis suşlarının AP-PZR sonuçları



Şekil 3: Ortopedi servis ve yetişkin yoğun bakım suşlarının AP-PZR sonuçları



Ş ekil 4: Farklı genotipler-I



Ş ekil 5: Farklı genotipler-II

Pediyatri servisinden izole edilen on izolatta iki farklı genotip saptandı. İzolatlardan bir tanesi (P2)'nin benzerlik katsayısı %64.2 ve salgın suşlarından beş bant farklılık göstermekteydi. Dokuz no'lu salgın suşunun benzerlik katsayısı %81.4 olup, salgın suşlarından iki bant farklılık göstermekteydi (Tablo 19). Yirmi ortopedi suşunda üç genotip sekiz alttip saptandı (Tablo 20). Yetişkin yoğun bakım servislerine ait sekiz izolatta bir genotip ve iki alttip saptandı. D6, D7, D8 arasında benzerlik katsayısı %96.6 ve bir bant farkı olduğu için aynı genotipik gruba dahil edildi (Tablo 21).

Tablo19. Pediyatri suşlarının genotiplemesi

İzolatlar	Genotip	Benzerlik katsayısı (%)	Bant farkı [†]
P1, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P10	A	100	0
P9	A1	81.4	2
P2	B	64.2	5

[†]: Salgın suşuna göre bant farkı

Tablo20. Ortopedi suşlarının genotiplemesi

İzolatlar	Genotip	Benzerlik katsayısı (%)	Bant farkı [†]
O3, O4, O5	C	100	0
O14	C*	96.5	1
O7, O8	C1	92.8	4
O19	C2	85,7	2
O9	C3	74.4	4
O1	C4	84,6	4
O2	C5	72,2	3
O10	D		
O17, O18, O20	D1	85,7	2
O16	E		
O11, O12, O13, O15	E1	72,2	4
O6	E2	78,2	3

*: O3, O4, O5 ile O14 arasında benzerlik katsayısı %96.5 ve bir bant farkı olduğu için aynı genotip olarak değerlendirildi.

[†]: Salgın suşuna göre bant farkı

Tablo 21. Yetişkin yoğun bakım servislerden izole edilen suşlarının genotiplemesi

İzolatlara	Genotip	Benzerlik katsayısı (%)	Bant farkı
D2, D3, D4, D5	F	100	0
D1	F1	70	5
D6, D8	F2	78.6	3
D7	F2*	72.6	2

*: D6, D8 ile D7 arasında benzerlik katsayısı %96.6 ve bir bant farkı olduğu için aynı kabul edildi.

†: Salgın suşuna göre bant farkı

İncelenen suşların antibiyotip ve genotipleri epidemiyolojik gruplarla karşılaştırıldı. Pediatri suşlarının izole edildiği hastaların tamamı epidemiyolojik olarak ilişkili bulunurken, antibiyotip ve moleküler tiplendirme yöntemlerinde ikişer farklı tip saptandı (Tablo 22). Ortopedi servis suşlarının ortak izolasyon yerine göre hepsi az veya çok epidemiyolojik ilişkili kabul edildi. AP-PZR ile bu izolatlar üç farklı moleküler tipe, antibiyotiplemede ise yedi farklı tipe ayrılmıştır (Tablo 23). Yetişkin yoğun bakım birimlerindeki hastalar iki epidemiyolojik gruba ayrıldı. Moleküler tiplendirme yöntemi, suşların tamamının epidemiyolojik yönden ilişkili olduğunu göstermiştir. Antibiyotiplemede ise dört farklı tip belirlenmiştir (Tablo 24).

Tablo 22. Pediatri suşlarındaki tiplerin, epidemiyolojik gruplar içerisinde dağılımı.

Suş	Epidemiyolojik grup	Antibiyotip	Moleküler Tip
P1	II	A	A
P2	II	A	B
P3	II	A	A
P4	II	A	A
P5	II	A	A
P6	II	A	A
P7	II	A	A
P8	II	A	A
P9	II	B	A1
P10	IIa	A	A

Tablo 23. Ortopedi suşlarındaki tiplerin, epidemiyolojik gruplar içerisinde dağılımı.

Suş	Epidemiyolojik grup	Antibiyotip	Moleküler tip
O1	I	G	C4
O2	Ia	D	C5
O3	Ia	H	C
O4	Ia	I	C
O5	Ia	H	C
O6	Ia	I	E2
O7	Ia	D	C1
O8	Ib	D	C1
O9	Ic	D	C3
O10	Id	K	D
O11	Ie	D	E1
O12	Ie	D	E1
O13	Ie	D	E1
O14	Ie	I	C*
O15	Ie	L	E1
O16	Ie	Ha	E
O17	Ie	D	D1
O18	If	M	D1
O19	Ig	D	C2
O20	Ih	D	D1

Tablo 24. Yetişkin yoğun bakım suşlarındaki tiplerin epidemiyolojik gruplar içerisinde dağılımı.

Suş	Epidemiyolojik grup	Antibiyotip	Genotip
D1	III	C	F1
D2	IV	D	F
D3	IVa	E	F
D4	IVb	D	F
D5	IVc	E	F
D6	IIIa	F	F2
D7	IVd	D	F2
D8	IIIb	D	F2

TARTIŞMA

Doğada yaygın olarak bulunan *Acinetobacter* 'ler özellikle hastane çevresindeki nemli ortamlarda uzun süre canlı kalabilmektedirler. Bu özellikleriyle hastaneye yatan özellikle immün sistemi yetersiz olan, uzun süre antibiyotik tedavisi alan, cerrahi operasyon geçiren ve kanserli hastalarda önemli nozokomiyal patojen olarak dikkati çekmektedirler. *Acinetobacter*'lerin diğer bir önemi ise kullanılan birçok antibiyotiğe karşı çoğul direnç göstermeleri ve tedavilerinde problem yaşanmasıdır.

Eğitim hastanesinde yapılan bir araştırmada *Acinetobacter* 'lere bağlı nozokomiyal infeksiyon insidansı her 1000 hasta günü için %0.6 olarak bildirilmiştir (68). Yine eğitim hastanesinde yapılan bir başka araştırmada nozokomiyal infeksiyon insidansı 3/100 hasta/ay olarak saptanmıştır (5). Toplam 593 yataklı hastanemizde ise 18 aylık periyotta 30.000 hasta yatmış bunların 50'sinde (%0.17) *A. baumannii* izole edilmiştir. Bu verilere göre *Acinetobacter* 'lere bağlı nozokomiyal infeksiyon insidans hızı her 1000 hasta günü için %0.05 olarak hesaplandı. Hastaneler arasında oldukça farklı sonuçlar alındığı ve bulduğumuz oranın yurtdışından bildirilenlere göre oldukça düşük olduğu dikkat çekmektedir. Farklı oranların elde edilmesinde, incelenen hasta popülasyonu, hastaların servislere göre dağılımı, hastanelerin asepsi-antisepsi politikaları ve antibiyotik kullanım ilkelerinin önemli payı bulunmaktadır. Hastanemizdeki yatan hastaların ancak %27'si gibi düşük bir kısmının bu infeksiyon için risk grubuna ait cerrahi klinik, yoğun bakım, pediatrik ve hemotoloji-onkoloji hastaları içermektedir. Diğer bir ifade ile incelemeye alınan hastalardan 1/3'üne yakın kısmı herhangi bir operasyon geçirmemiş, malignitesi olmayan hastalardan oluşmaktadır. Bu durumlar infeksiyon oranının düşük saptanmasında etkili olabilir.

Yapılan araştırmalarda *Acinetobacter* infeksiyonları sıklıkla yoğun bakım birimleri, cerrahi servis ve pediatri servislere bildirilmiştir (3, 5, 60, 89-91). Hastanemizde de

literatüre uygun olarak 52 izolatın %38.5'i ortopedi servisi, %26.9'u pediatri, %34.6'i ise yetişkin yoğun bakımlarından izole edilmiştir.

Acinetobacter'ler sıklıkla solunum yolu örnekleri olmak üzere yara, kan ve idrar gibi değişik kaynaklardan izole edilmektedir (3, 68). Şili'de yapılan bir çalışmada *A. baumannii* izolatlarının çoğunun yara, üriner sistem ve solunum yolu infeksiyonlarından izole edildiği bildirilmektedir (92). Bir başka araştırmada 45 *A. baumannii* izolatının %31'i idrar, %26.7'si alt solunum yolu örnekleri, %17.8'i yara, % 11.1 kan, % 6.7'si deri, %4.4'ü beyin omurilik sıvısı ve %2.2 sinüs örneklerinden izole edilmiştir (63). Bu çalışmada ise 52 *A. baumannii* izolatının %51.9'u yara, %25'i kan, %11.5'i trekeal aspirat, %5.8 plevra, %3.9'u idrar ve %1.9'u trekeostomi çevresinden izole edildi.

D' Agata ve ark.'ı (5) yaptıkları çalışmada; *A. baumannii* infeksiyonu gelişmesinde etkili risk faktörlerini tanımlamışlar ve infeksiyon gelişen kişilerde mekanik ventilasyon, santral venöz katater ve antibiyotik kullanım sürelerinin, *A. baumannii* infeksiyonu gelişmeyen kontrollere göre anlamlı olarak uzun olduğunu bildirmişlerdir. Benzer diğer bir çalışmada da trekeostominin varlığı ve mekanik ventilasyonun süresi infeksiyon için anlamlı risk faktörü olarak bulunmuştur (10). Pediyatrik hastalarla ilgili olarak yapılan bir çalışmada *Acinetobacter* infeksiyonu gelişen 21 hastanın 10'unda düşük doğum ağırlığı, 14'ünde solunum yetmezliği sendromu, 20'sinde mekanik ventilasyon kaydedilmiştir (89). Hatanemizde ortopedi servisinde *A. baumannii* infeksiyonları görülen hastaların yarısından çoğunda trafik kazası sonucunda kırık, hemen hepsinde ise invaziv girişim sonrası internal veya eksternal tespit uygulaması vardı. Hastaların hepsinde infeksiyon öncesi antibiyotik kullanımı mevcuttu. Pediyatrik hastaların çoğu düşük doğum ağırlıklı ve prematür olup, çoğunda mekanik ventilasyon olmak üzere invaziv girişim ve infeksiyon öncesi antibiyotik kullanımı bulunmaktadır. Yetişkin yoğun bakım birimlerindeki hastalarda gözlenen ortak risk

faktörü ise antibiyotik kullanımı, genel anestezi altında çeşitli ameliyatlara ve mekanik ventilasyon gibi çeşitli invaziv girişimlerdir.

Acinetobacter türlerinin hastane çevresinde varlığı ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bazı uzun süreli salgınlarda kontamine materyaller kaynak olarak saptanmıştır. Kolonize hasta mevcut değilken, hava yoluyla kontaminasyon nadirdir. Ancak kolonize veya enfekte hastaların çevresindeki respiratör gibi cihazların ve havanın kontamine olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca kolonize kişilerin yastık, çarşaf ve odalarının perdeleri, telefon avizeleri, kapı kolları ve hasta tabelaları gibi yerlerde kolonizasyon saptanmıştır. Lavabo musluklarından ve yer sürüntü örneklerinden de üretilmişlerdir. Kolonize hastaların taburcu edilmesinden 13 gün sonra çevre kontaminasyonu gösterilmiştir. Yatak eşyalarının bu bakterinin çevre kontaminasyonu ve kalıcılığında önemli rol oynadığı vurgulanmıştır. Yine yukarıdaki verilere ilaveten *Acinetobacter*'lerin günlerce kuru ortamda, tozlarda canlılığını koruduğu saptanmıştır (3, 93-102).

A. baumannii enfeksiyonu gözlenen hastalarda enfeksiyonun kaynağı ile ilgili yaptığımız çalışmada toplam 57 sağlık personelinin el ve burun kültürlerinde ve çevreden alınan 97 kültürde *A. baumannii* izole edilemedi. Literatürde bu konuyla ilgili çalışmalarda oldukça farklı sonuçlar elde edilmiştir. Webster ve ark.'ı (60) yaptıkları çalışmada 15 farklı çevre örneğinin 10 tanesinden *Acinetobacter* üretilmişlerdir. Bu araştırmacılar, bizim çalışmamızdan farklı olarak, çevre izolasyonunda *Acinetobacter* için özel bir besiyeri olan Leeds *Acinetobacters* Medium (LEEDS) kullanmışlar ve inkübasyon periodunu 4 güne kadar uzatmışlardır. Houang ve ark.'ı (17) ise vankomisin içeren Modifiye Leeds *Acinetobacters* Medium'u (MLAM) kullanarak çeşitli çevre örneklerinden *Acinetobacter*'leri izole etmişlerdir. Diğer bir çalışmada çevresel kaynaklardan 225 örnek alınmış, ticari bir besiyeri olan "Count Tact agar" besiyerine ekim yapılmış ve 37°C'de bir günlük inkübasyon sonucunda; yüzeylerden %34.3, havadan %8, personel ellerinden %12 ve önlüklerden %7

oranında *Acinetobacter* izole etmişlerdir (103). Mahi ve ark.'ı (10) yaptıkları çalışmada ise çevreden *Acinetobacter* izole edilmiştir. Yine bir başka araştırmada da *A. baumannii* normal flora ve çevresel kaynaklardan üretilmemiştir (5). *A. baumannii* infeksiyonlarında kaynak saptamaya yönelik çalışmalarımızdan hiçbirinde etken izole edilememiş olmasını, kullandığımız yöntemin yetersizliği yanında, hastane personelinin örnek alımından önce büyük bir tedirginlikle çevreyi ve ellerini temizlemiş olmalarına bağlamaktayız.

1970'li yıllarda nozokomiyal *Acinetobacter* infeksiyonları ampisilin, ikinci kuşak sefalosporinler, gentamisin, minosiklin, nalidiksik asit veya karbenisilin ile kolayca tedavi edilmekteydi. Fakat bu durum *Acinetobacter* 'lerin bazı türleri için uzun sürmedi. Günümüzde *A. baumannii* izolatların büyük kısmı ampisilin, karbenesilin, sefotaksim, gentamisin ve kloromfenikole dirençlidir. Tobramisin ve amikasin direnci artmaktadır. Bazı 4-florokinolonlar, seftazidim, trimetoprim-sülfametoksazol, doksisiklin, polimiksin B ve imipenem birçok nozokomiyal infeksiyonlarda hala etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak son 10 yıl içerisinde *Acinetobacter* için bu antibiyotiklerin MIC değerlerinin yükseldiği gözlenmektedir (18, 23, 103). İmipenem ve polimiksin en etkili antibiyotikler olmakla birlikte son yıllarda imipeneme de dirençli nozokomiyal infeksiyon etkeni *Acinetobacter* 'ler rapor edilmiştir (1, 14, 18). Bu da gelecekte tedavinin başarısı için kaygılar yaratmaktadır. Sulbaktam ve tazobaktam *Acinetobacter* 'lere karşı antibakteriyel etki gösteren beta laktamaz inhibitörleridir. Bir diğer beta laktam antibiyotiğe eklenmesi etkiyi artırır ve direnç gelişimini geciktirir. Bu amaçla *Acinetobacter* 'lerin infeksiyonlarının tedavisinde ampisilin/sulbaktam da kullanılabilir (18, 104). Direnç bildirilmesine rağmen siprofloksasin, ofloksasin, pefloksasin ve enoksasin gibi yeni kinolonlar da tedavide etkin olarak kullanılmaktadır (1, 12, 14, 80).

Bu çalışmada incelenen 38 *A. baumannii* izolatında birçok antibiyotiğe direnç gözlemlendi. Disk difüzyon yöntemi ile test edilen 24 antibiyotikten 16'sı suşların tamamına

etkisizdi. Etkisiz antibiyotikler içerisinde penisilin ve sefalosporin grubu antibiyotikler yanında β laktamaz inhibitör kombinasyonlu antibiyotiklerin olması dikkat çekicidir. İzolatlarda SAM, SXT, AK'e direnç oranı %55-%74 arasında, TOB ve CIP'e direnç %10'un altında saptandı. En etkili iki antibiyotik İMP ve MEM olup, bu antibiyotiklere karşı hiçbir suş dirençli değildi. Aynı suşların "Sceptor" sistemi ile yapılan duyarlılıklarında hemen hemen benzer sonuçlar alındı.

Ülkemizdeki sonuçları içeren bir derlemede *Acinetobacter* türlerinde IMP duyarlılığı %87-92, CAZ duyarlılığı %7-22, GN duyarlılığı %4-39, AK duyarlılığı %29-56, CIP duyarlılığı %6-45 bulunmuştur (105). Yapılan bir araştırmada 41 *A. calcoaceticus* - *A. baumannii* kompleksinde duyarlılık MEM'e %95, IMP'e %93, TOB ve SAM'a %78, AK'e %61, TIM'e %64 ve GN'e %24 olarak bildirilmiştir (106). Diğer bir araştırmada hastane infeksiyonlarından izole edilen 41 *A. baumannii*'de direnç MEM'e %51, IMP'e %60, CIP'e %88, TZP'a %74 ve TOB'e %32 olarak bulunmuştur. Ayrıca, bu izolatlarda %17 oranında da GSBL saptanmıştır (107).

Hastanemizde elde edilen bulgular ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla kıyaslandığında antibiyotikler arasında büyük farklılıklar olduğu görülmektedir. Hacettepe hastanesinden izole edilen *A. baumannii*'nin yarısından çoğunda IMP ve MEM direncinin saptanması dikkat çekicidir. Kanımızca bu büyük fark, izolatlardaki GSBL varlığı ve duyarlılık durumunu belirlemede E test yönteminin kullanılmasından kaynaklanabilir. Ayrıca hiç kuşkusuz hastanelerin antibiyotik kullanım politikalarının da direnç gelişimi üzerinde büyük etkisi vardır.

İsrail'de yapılan bir çalışmada *A. baumannii* izolatlarında IMP duyarlılığı 1990'da %98 iken 2000 yılında %64'e, CIP duyarlılığı %50'den %13'e azalma gösterirken, AK ve CAZ duyarlılığında değişim gözlenmemiştir (108). Diğer bir çalışmada yenidoğan yoğun bakımından izole edilen 56 *Acinetobacter* suşunun tamamı PRL, CAZ, IMP, GN, TOB, SXT

ve CIP'e duyarlı iken, AML ve CXM direnci sırasıyla %65 ve %85 olarak bildirilmiştir (89). Altı yılı aşkın bir periyotta toplumda kazanılmış pnömoni etkeni olarak izole edilen 13 *A. baumannii* izolatlarının hepsi IMP'e duyarlı iken, çoğu suşta aminoglikozit, CAZ, CIP ve geniş spektrumlu penisilinlere de duyarlılık bildirilmiştir (11). Ohio State Üniversitesi Tıp Merkezinde yapılan bir çalışmada florokinolonlara direncin yaklaşık %20 olduğu bildirilmektedir. Aynı çalışmada *A. baumannii* izolatlarına ATM ve PRL'nin orta, SAM'ın yüksek seviyede etkili olduğu, izolatların çoğunun sefalosporinler içerisinde sadece CAZ'e karşı duyarlı oldukları kaydedilmektedir. Yine IMP, TOB ve SXT *A. baumannii*'ye karşı etkili antibiyotikler olarak bulunmuştur (109).

Kalifornia'da yapılan bir çalışmada çoğul direnç gösteren *A. baumannii* izolatlarına karşı sulbaktam kombinasyonlarının antimikrobiyal aktiviteyi değiştirmediği kaydedilmektedir. Bu durum başlangıçta etkili olarak değerlendirilen beta laktamaz inhibitörlerine de direnç gelişmesi olarak değerlendirilmiştir (90). Bununla ilişkili olarak çalışmamızdaki izolatların %55 gibi önemli bir kısmında SAM direnci saptandı.

Beta laktam antibiyotiklerinin *Acinetobacter*'ler üzerine etkisi ile ilgili bir çalışmada en etkili antibiyotiğin SAM olduğu bunu sırasıyla TIM, TZP ve AMC'in izlediği, sulbaktamın en etkili beta laktamaz inhibitörü olduğu saptanmıştır (104). Amerika'da yapılan bir çalışmada 14 nozokomiyal *A. baumannii* izolatının hepsinin IMP'e, %57'sinin SAM'a, %2'sinin AK'e ve %14'ünün TZP duyarlı oldukları bildirilmiştir. TOB ise etkisiz bulunmuştur (91). Şili'de yapılan araştırmalarda *Acinetobacter* izolatlarına karşı IMP ve MEM etkili olmasına rağmen MIC değerlerinde artış kaydedilmiştir (110). Aynı yerde yapılan diğer bir çalışmada izolatların aminoglikozitlere karşı çoğunlukla dirençli olduğu ve direncin %47 (AK) ile %88 (GN) arasında dağılım gösterdiği (111), başka bir çalışmada ise IMP'in en etkili antibiyotik; AK, SAM ve CAZ'ın orta derecede etkili olduğu, buna karşın ilk kuşak sefalosporin ve ampisiline direncin oldukça yüksek olduğu rapor edilmiştir (112).

A. baumannii izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları ile ilgili çalışmaların ortak bir değerlendirilmesi yapıldığında, çalışmamıza paralel olarak, IMP ve MEM'in genelde etkili oldukları ve β laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara değişen oranlarda direnç geliştiği dikkat çekmektedir. Aminoglikozitlerden en etkili antibiyotik ise TOB'dir.

Tüm infeksiyon hastalıklarda olduğu gibi nozokomiyal kaynaklı olan *Acinetobacter* infeksiyonlarından korunmada, etkenin kaynağı ve bulaşma yollarının belirlenmesinin büyük önemi vardır. Bu amaçla mikroorganizmaların izole edildiği hastalara ait epidemiyolojik verilerin yanında etkenin alttür düzeyinde tiplendirilmesi gerekmektedir. Tiplendirme ile izolatlar arasındaki klonal ilişki ortaya konulabilmekte ve böylece salgının kaynağına inilebilmektedir. Altipleme yöntemlerinin sağladığı bu avantajlar yanında uygun yöntemin seçilememesinden kaynaklanan yanıltıcı sonuçlar da alınabilmektedir. Yöntemden beklenen en önemli özellikler ucuz, kolayca uygulanabilir, tekrarlanabilir ve ayırt edici olmasıdır (85).

Moleküler epidemiyolojik çalışmalarda kullanılan yöntemin seçimi yanında hastalara ait epidemiyolojik verilerin de büyük yararı vardır. Epidemiyolojik veri olmadan yapılan tiplendirme yöntemlerinde çoğunlukla izolatlar arasındaki klonal ilişki hatalı yorumlanabilmektedir.

Yaptığımız çalışmada incelenen suşların izole edildiği hastaların servisi, hastalara uygulanan invaziv girişim ve izolasyon tarihi esas alınarak epidemiyolojik gruplandırma yapıldı. Pediatri suşlarında tek bir epidemiyolojik grup; ortopedi suşlarında bir ana epidemiyolojik grup, sekiz alt grup; yetişkin yoğun bakım suşlarında ise iki ana epidemiyolojik grup ve altı altgrup saptandı.

Antibiyotipleme kolay ve ucuz olması nedeniyle birçok mikroorganizmada olduğu gibi *Acinetobacter*'lerin tiplendirilmesinde de kullanılabilir. Bu yöntemi kullanarak yaptığımız çalışmada dokuz pediatri salgın suşunun sekiz tanesinde aynı profil saptandı. Bir hastanın kan kültürü ve trekeal aspiratından üretilen iki izolat farklı profil gösterdi. Salgından

altı ay sonra aynı servisten izole edilen diğerk bir suş, salgın suşlarıyla aynı tipteydi. Bu bulgular pediatri servisindeki epidemiyolojik olarak ilişkili izolatların ortak kaynaktan gelmiş olduğunu doğrulamaktadır. Ancak aynı hastadan izole iki suştan birinin farklı profil göstermesi yöntemin yetersizliği olarak değerlendirildi. Çünkü bu suştaki diğerlerinden farklı olarak yalnızca bir antibiyotik sonucu değışikti. AP-PZR ile incelenmede aynı hastaya ait iki izolat ortak profil gösterdi. Ancak salgın içinde değerlendirilen bir suş (P2) %64 benzerlik katsayısı ve beş bant farkı ile ayrı bir tip olarak değerlendirildi. Bu durum birçok araştırmacının da belirttiği gibi AP-PZR sonuçlarının yorumlanmasında kaç bant farkı veya yüzde benzerliğin epidemiyolojik ilişkiyi tam olarak gösterdiğinin kesin olmadığı görüşünü desteklemektedir.

Ortopedi servisinde iki ayrı salgın döneminden izole edilen ve epidemiyolojik gruplandırmada iki profilde (Ia, Ie) toplanan izolatların büyük çoğunluğu farklı antibiyotip profili gösterdi. İlk salgından izole edilen altı izolat üç ve ikinci salgından izole edilen yedi izolat dört farklı antibiyotip içerisinde değerlendirildi. Aynı izolatların AP-PZR kullanılarak yapılan moleküler tiplendirilmesinde ilk salgın izolatlarının beş tanesi, ikinci salgın izolatlarının yine beş tanesi, epidemiyolojik gruplara uygun olarak, klonal yönden ilişkili bulundu.

Yoğun bakımdan izole edilen suşlarda iki ana epidemiyolojik grup saptanmış olmasına rağmen antibiyotiplendirmede dört farklı profil belirlendi. Aynı izolatların genotiplendirilmesinde izolatlar arasında klonal olarak tamamen farklı genotip bulunamadı. Suşların dört tanesi aynı genotip, diğerk dört tanesi ise salgın suşları ile ilişkili genetik profil gösterdi.

A. baumannii izolatlarının tiplendirilmesinde fenotipik ve genotipik yöntemleri karşılaştıran diğerk araştırmacılar da yöntemler arasındaki uyumsuzlukları kaydetmişlerdir. Seifert ve ark. (65) yaptıkları araştırmada; antibiyotik duyarlılık paternlerinin *A. baumannii*

izolatlarının tiplendirilmesinde çok fazla faydalı olmadığını ve sonuçların yorumlanmasında problemler yaşandığını kaydetmişlerdir. Biendo ve ark. (68) yaptığı araştırmada ise 18 çoğul dirençli *A. baumannii* izolatlarının tiplendirilmesinde antibiyotipleme ve ribotiplemeyi karşılaştırmışlar; sonuçta izolatlar arasında dört farklı antibiyotip ve dört farklı ribotip saptamışlardır. Saptanan alttip eşit olmakla birlikte antibiyotiplendirmede aynı grup içerisinde yer alan 14 izolat; ribotipleme ile 3 gruba ayrılmıştır. *A. baumannii* izolatlarının tiplendirilmesinde PZR bazlı yöntemlerle PFGE'in karşılaştırıldığı bir çalışmada; iki yöntem arasında %80 oranında uyum kaydedilmiştir (113). Reboli ve ark. (77) yaptıkları çalışmada da antibiyotik direnç paternlerinin epidemiyolojik çalışmalar için faydalı olmadığı, PZR bazlı tiplendirme yöntemlerinin biotipleme, antibiyotipleme ve plazmid profillerinden daha faydalı ve özgül olduğunu kaydetmişlerdir. Avrupa'da çok merkezli bir çalışmada antibiyotipleme ile moleküler tiplendirme arasında %60'dan fazlası uyumsuzluk saptanmıştır (114). Antibiyotipleme ve biotipleme gibi fenotipik yöntemlerin *Acinetobacter*'lerle ilgili kısa süreli salgınların tiplendirilmesinde faydalı olacağı belirtilmektedir (89).

Alttiplemede kullanılan yöntemlerden antibiyotipleme salgının ilk göstergesi olabilir. Ancak epidemiyolojik yönden ilişkili izolatların farklı antibiyotik profili gösterebilecekleri ve zaman içerisinde klonal yönden ilişkili suşların antibiyotik direnç paternlerinin değişebileceği akılda tutulmalıdır.

Moleküler yöntemlerden PZR bazlı olanlar uygulaması kolay ve ucuz olmasına rağmen sonuçların yorumlanmasında ve yöntemin standardizasyonunda problemler yaşanmaktadır. En önemli sorun izolatlar arasındaki bant farklılıklarını yorumlamada yaşanmaktadır. Henüz bu yöntem için standardize edilmiş kriterler bulunmamaktadır. Bazı araştırmalar tek bant farkını (113), diğerleri iki veya daha fazla bant farkını (115), diğer bir grup araştırmacı (88) ise benzerlik katsayısını esas alarak %70 ve altını farklı gruplara koymuşlardır. Bu çalışmada kriter olarak benzerlik katsayısı esas alınmış olup, %70 ve

yukarısında benzerlik gösteren izolatlar klonal olarak ilişkili gruba konulmuştur. AP-PZR ile yapılan çalışmada sonuçların yorumlanmasında en önemli faktörlerden birisi de her bir suştaki bant sayısıdır. Sağlıklı bir değerlendirmenin yapılabilmesi için en az on farklı bantın bulunması arzu edilmektedir.

Genellikle kısa sürede ortaya çıkan salgınların tiplendirilmesinde AP- PZR sonuçları ile epidemiyolojik veriler arasında yüksek oranda uyum görülmektedir. Bu bilgiye uygun olarak hastanemizin pediatri servisinde görülen ve bir ay içerisinde gelişen salgın izolatlarının %90'ı klonal olarak ilişkili bulundu. Aynı şekilde ortopedi de ilk salgının görüldüğü altı izolattın beş tanesi (%84), ikinci salgındaki yedi izolattın beş tanesi (%71.4) klonal olarak ilişkili idi. Benzer ilişki yoğun bakımdan üretilen izolatlarda da kaydedildi. Bir ay içerisinde izole edilen üç suş aynı genetik profil göstermekteydi.

Bulgularımız genel olarak değerlendirildiğinde *A. baumannii* infeksiyonları ortopedi, pediatri ve yetişkin yoğun bakım hastalarında, özellikle invaziv işlem uygulaması ve antibiyotik tedavisi almış kişilerle ilişkilidir. Ayrıca hastanemizdeki izolatlar imipenem ve meropenem dışındaki antibiyotiklere farklı oranda direnç göstermektedir. Standardize edilmiş AP-PZR kısa süreli salgınlardaki izolatlar arasında klonal ilişkiyi göstermekte başarıyla kullanılabilir.

SONUÇLAR

- 1- Bu çalışmanın yapıldığı 18 aylık süre içerisinde hastanemizde görülen *A. baumannii* infeksiyon insidansı %0.17 olup; bu değer her 1000 hasta gün için %0.05'dir.
- 2- *A. baumannii* infeksiyonları sıklıkla yenidoğan ve erişkin yoğun bakım ile cerrahi müdahale yapılan hastalarda görülmektedir.
- 3- İnfeksiyon için major risk faktörleri olarak mekanik ventilasyon, uzun süreli antibiyotik kullanımı ve invaziv girişim sayılabilir.
- 4- Hastanemizde izole edilen *A. baumannii* suşlarının çoklu antibiyotiklere dirençli olduğu dikkat çekicidir. İzolatların tamamı imipenem ve meropeneme duyarlıdır. Beta laktamaz inhibitörlü kombinasyonlardan yalnızca SAM'a %44.8'i oranında duyarlılık vardı.
- 5- Kısa süre içerisinde (bir ay) gerçekleşen salgınlardaki *A. baumannii* izolatlarının tiplendirilmesinde; antibiyotiplendirme ve AP-PZR sonuçları klasik epidemiyolojik verilerle büyük oranda uyum içerisindedir.

ÖZET

Onsekiz aylık periyotta hastanemizde görülen *Acinetobacter baumannii* infeksiyonlarının klinik, demografik ve epidemiyolojik özelliklerini değerlendirmek ve izolatlar arasındaki klonal ilişkiyi ortaya çıkarmak amacıyla bu çalışma yapıldı.

Bu dönemde yatan hastalardan 52 *A. baumannii* izole edildi. Bunlardan epidemiyolojik verilerine ulaşılabilen 38 suş incelemeye alındı. Salgın dönemlerinde kaynak araştırmak amacıyla çevre ve personel taramaları yapıldı. Suşların tür düzeyinde tanımlanması yapıldıktan sonra disk diffüzyon ve sceptor ile antibiyotik duyarlılıkları belirlendi. Altıplendirmeye için antibiyotikleme ve Arbitrary-Primed polimeraz zincir reaksiyon (AP-PZR) yöntemleri kullanıldı.

İncelemeye alınan 38 *A. baumannii*'nin 10'u pediatri, 20'si ortopedi, 8'i yetişkin yoğun bakımlarından izole edildi. İzolasyon çoğunlukla invaziv girişim uygulamış, uzun süre antibiyotik tedavisi almış, cerrahi operasyon geçirmiş, veya prematür olan hastalardan yapıldı. Salgın döneminde hastaların çevresinden ve sağlık personelinin el ve burunlarından yapılan kaynak tarama çalışmalarının hiçbirinde *A. baumannii* bulunamadı.

A. baumannii izolatlarının tamamı amoksisilin- klavulonik asit, aztreonam, seftriakson, seftazidim, sefotaksim sodyum, sefoksitin, sefuroksim, penisilin G, piperasilin/tazobaktam, tikarsilin/ klavulonik asit sefepim, sefiksim, amoksisilin, kolistin sülfat, ampisilin, piperasilin ve gentamisine dirençli, imipenem ve meropeneme duyarlı bulundu. Ampisilin/sulbaktam %55.2, tobramisine %5.3, sülfometoksazol/ trimetoprim %65.8, siprofloksasine %7.9, amikasine %73.6 oranında direnç saptandı.

Suşların izole edildiği servis, izolasyon tarihi, yapılan major invaziv girişimler esas alınarak epidemiyolojik gruplandırma yapıldı. Buna göre pediatri suşlarında bir epidemiyolojik grup ve bir altgrup, ortopedi suşlarında bir epidemiyolojik grup ve sekiz altgrup; yetişkin yoğun bakımlarında ise iki epidemiyolojik grup ve altı altgrup bulundu.

Antibiyotipleme ile pediatri suşlarında 2 farklı antibiyotip (antibiyotip A ve B), ortopedi suşlarında 7 farklı antibiyotip (antibiyotip D, G, H, I, K, L, M) ve bir alttip (alttip Ha); yetişkin yoğun bakım servis suşlarında dört farklı antibiyotip (antibiyotip C, D, E, F) bulundu.

AP-PZR ile pediatri suşlarında iki farklı genotip, ortopedi suşlarında üç genotip sekiz alttip yetişkin yoğun bakım servis suşlarında sekiz izolatta bir genotip ve iki alttip saptandı.

Sonuç olarak *A. baumannii* infeksiyonları özellikle invaziv işlem uygulaması ve antibiyotik tedavisi almış kişilerde görülmektedir. Hastanemizdeki izolatlar imipenem ve meropenem dışındaki antibiyotiklere farklı oranda direnç göstermektedir. Standardize edilmiş AP-PZR kısa süreli salgınlardan izole edilen suşlar arasında klonal ilişkiyi göstermekte başarıyla kullanılabilir.

SUMMARY

This study was performed to assess the clinical, demographic and epidemiologic characteristics of *A. baumannii* infections observed in our hospital in a 18 month period and to show the clonal relationship between the isolates.

Of the 52 *A. baumannii* strains isolated from the patients hospitalized in this period, 38 isolates with available epidemiological data were investigated. To evaluate the source of infection in outbreak periods, cultures from the environment and the hospital staff were taken. After identification of the isolates, antibiotic susceptibility profiles were determined by disk diffusion method and the sceptor system. Antibiotyping and Arbitrary-Primed polymerase chain (AP-PCR) methods were used for the subtyping of the isolates.

Of the 38 *A. baumannii* isolates tested, 10, 20 and 8 were isolated from the patients in pediatrics and orthopedics wards, and adult intensive care units, respectively. In the majority of cases, the organism was isolated from the patients who had undertaken invasive procedures or surgery, or long term antibiotic therapy or from premature patients. *A. baumannii* was not isolated from the environmental samples, hand and nasal cultures of the hospital staff during the outbreak periods.

All of the *A. baumannii* isolates were found resistant to amoxicillin-clavulanate, aztreonam, ceftriaxone, ceftazidime, cefotaxime-sodium, cefoxitin, cefuroxime, penicillin G, piperacillin/tazobactam, ticarcillin-clavulonate, cefepim, cefixim, amoxicillin, colistin-sulphate, ampicillin, piperacillin and gentamycin but susceptible to imipenem and meropenem. The rate of resistance was %55.2, %5.3, %65.8, %7.9 and %73.6 for ampicillin-sulbactam, tobramycin, trimethoprim-sulfamethoxazole, ciprofloxacin and amikacin, respectively.

With respect to the hospital ward, date of isolation, and the major invasive procedures performed, epidemiologic grouping was made. One epidemiologic group and one sub-group were found among the isolates of pediatric patients. There were one epidemiologic group and 8 sub groups among the isolates of ortopedics ward and two epidemiologic groups and 6 sub-groups among the isolates from adult intensive care units.

Antibiogram typing yielded two types (A and B) among the isolates of pediatric, seven types (D, G, H, I, K, L and M) and one subtype (Ha) among the isolates ortopedic ward, and four types (C, D, E, F) among the isolates from adult intensive care unit. The results of AP-PCR for these units were two types, three types plus eight subtypes, and one type plus two subtype, respectively.

In conclusion, *A. baumannii* infections particularly seen in patients with invasive procedures or long term antibiotic therapy. In our hospital, the isolates show resistance of different rates to antibiotics other than imipenem and meropenem. Standardized AP-PCR can be successfully used to determine the clonal relation between the strains isolated in outbreaks of short time periods.

KAYNAKLAR

1. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996; 9: 148-65.
2. von Graevenitz A. *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella* and other nonfermentatives. In: Murray P (Ed.). Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. ASM Press, Washington, 1995:520-32.
3. Jawad A, Seifert H, Snelling AM, Heritage J, Hawkey PM. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates. J Clin Microbiol 1998; 36:1938-41.
4. Chu YW, Leung CM, Houang ET, Ng KC, Leung CB, Leung HY, Cheng AF. Skin carriage of *Acinetobacters* in Hong Kong. J Clin Microbiol 1999; 37: 2962-7.
5. D'Agata EM, Thayer V, Schaffner W. An outbreak of *Acinetobacter baumannii*: the importance of cross-transmission. Infect Control Hosp Epidemiol 2000;21: 588-91.
6. Gunseren F, Mamikoglu L, Ozturk S, Yucesoy M, Biberoglu K, Yulug N, Doganay M, Sumerkan B, Kocagoz S, Unal S, Cetin S, Calangu S, Koksall I, Leblebicioglu H, Gunaydin M. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. Antimicrob Chemother 1999; 43: 373-8.
7. Fagon JY, Chastre J, Hance AJ, Montravers P, Novara A, Gibert C. Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay. Am J Med 1993; 94: 281-8.

8. Gulati S, Kapil A, Das B, Dwivedi SN, Mahapatra AK. Nosocomial infections due to *Acineto-bacter baumannii* in a neurosurgery ICU. *Neurol India* 2000; 49: 134-7.
9. Bergogne-Berezin E, Joly-Guillou ML. Hospital infection with *Acinetobacter* spp.: an increasing problem. *J Hosp Infect* 1991; 18: 250-5.
10. Mah MW, Memish ZA, Cunningham G, Bannatyne RM. Outbreak of *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit associated with tracheostomy. *Am J Infect Control* 2001; 29: 284-8.
11. Chen MZ, Hsueh PR, Lee LN, Yu CJ, Yang PC, Luh KT. Severe community-acquired pneumonia due to *Acinetobacter baumannii*. *Chest* 2001; 120: 1072-7.
12. Lortholary O, Fagon JY, Hoi AB, Slama MA, Pierre J, Giral P, Rosenzweig R, Gutmann L, Safar M, Acar. Nosocomial acquisition of multiresistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors and prognosis. *J Clin Infect Dis* 1995; 20: 790-6.
13. Dijkshoorn L, van Dalen R, van Ooyen A, Bijl D, Tjernberg I, Michel MF, Horrevorts AM. Endemic *Acinetobacter* in intensive care units: epidemiology and clinical impact. *J Clin Pathol* 1993; 46: 533-6.
14. Nerad JL, Seville MT, Snyderman DR. Miscellaneous Gram-negative bacilli: *Acinetobacter*, *Cardiobacterium*, *Actinobacillus*, *Chromobacterium*, *Capnocytophaga*, and others. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, ed(s). *Infectious diseases*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company 1998:1876-80.
15. Urban C, Go E, Mariano N, Berger BJ, Avraham I, Rubin D, Rahal JJ. Effect of sulbactam on infections caused by imipenem-resistant *Acinetobacter calcoaceticus* biotype *anitratu*s. *J Infect Dis* 1993;167: 448-51.
16. Vahaboglu H, Öztürk R, Aygün G, Yaman A, Kaygusuz A, Leblebicioglu H, Aydin K, and Otkun M. Widespread Detection of PER-1-Type Extended-Spectrum β -Lactamases among Nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* Isolates

- in Turkey: a Nationwide Multicenter Study. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 484-88.
17. Elizabeth TS, Houang YW, Chu CM, Leung KY, Chu J, Berlau KC, Cheng AFB. Epidemiology and Infection Control Implications of *Acinetobacter* spp. in Hong Kong. *J Clin Microbiol* 2001; 39:228-34.
 18. Allen DM, Hartman BJ. *Acinetobacter* Species. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, ed (s). *Principles ve Practice of Infectious Diseases*. 4th ed. Philadelphia: Churcill Livingstone Inc. 2000: 2339-44.
 19. Garcia DC, Nociari MM, Sordelli DO, Di Martino A, Catalano M. The use of plasmid profile analysis and ribotyping for typing *Acinetobacter baumannii* isolates. *J Hosp Infect* 1996; 34: 139-44.
 20. Joly-Guillou ML, Bergogne-Berezin E, Vieu JF. A study of the relationships between antibiotic resistance phenotypes, phage-typing and biotyping of 117 clinical isolates of *Acineto-bacter* spp. *J Hosp Infect* 1990;16: 49-58.
 21. Alexander M, Ismail F, Jackman PJ, Noble WC. Fingerprinting *Acinetobacter* strains from clinical sources by numerical analysis of electrophoretic protein patterns. *J Med Microbiol* 1984;18:55-64.
 22. Seifert H, Gerner-Smidt P. Comparison of ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis for molecular typing of *Acinetobacter* isolates. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1402-7.
 23. Rubinstein E, Levy I. *Acinetobacter* spp. and other non-fermentative pathogens causing nosocomial bacteremias. *Clin Microbiol Infect* 1999; 5: 2S29-2S32.
 24. Weaver RE, Actis LA. Identification of *Acinetobacter* species. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1833.

25. Jawad A, Hawkey PM, Heritage J, Snelling AM. Description of Leeds *Acinetobacter* Medium, a new selective and differential medium for isolation of clinically important *Acinetobacter* spp., and comparison with Herellea agar and Holton's agar. J Clin Microbiol 1994; 32: 2353-58.
26. Obana Y. Pathogenic significance of *Acinetobacter calcoaceticus*: analysis of experimental infection in mice. Microbiol Immunol 1986; 30: 645-57.
27. Smith AW, Freeman S, Minett WG, Lambert PA. Characterisation of a siderophore from *Acinetobacter calcoaceticus*. FEMS Microbiol Lett 1990; 58: 29-32.
28. Echenique JR, Arienti H, Tolmasky ME, Read RR, Staneloni RJ, Crosa JH, Actis LA. Characterization of a high-affinity iron transport system in *Acinetobacter baumannii*. J Bacteriol 1992; 174:7670-9.
29. Actis LA, Tolmasky ME, Crosa LM, Crosa JH. Effect of iron-limiting conditions on growth of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol 1993; 31: 2812-5.
30. Struelens MJ, Carlier E, Maes N, Serruys E, Quint WG, van Belkum A. Nosocomial colonization and infection with multiresistant *Acinetobacter baumannii*: outbreak delineation using DNA macrorestriction analysis and PCR-fingerprinting. J Hosp Infect 1993; 25: 15-32.
31. Chastre J, Trouillet JL. Problem pathogens (*Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter*). Semin Respir Infect 2000; 15(4): 287-98.
32. Cisneros JM, Reyes MJ, Pachon J, Becerril B, Caballero FJ, Garcia-Garmendia JL, Ortiz C, Cobacho AR. Bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical findings, and prognostic features. Clin Infect Dis 1996; 22: 1026-32.

33. Lai SW, Ng KC, Yu WL, Liu CS, Lai MM, Lin CC. *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection: clinical features and antimicrobial susceptibilities of isolates. *Kaohsiung J Med Sci* 1999; 15: 406-13.
34. Gomez J, Simarro E, Banos V, Requena L, Ruiz J, Garcia F, Canteras M, Valdes M. Six-year prospective study of risk and prognostic factors in patients with nosocomial sepsis caused by *Acinetobacter baumannii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18: 358-61.
35. Wisplinghoff H, Perbix W, Seifert H. Risk factors for nosocomial bloodstream infections due to *Acinetobacter baumannii*: a case-control study of adult burn patients. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 1358-60.
36. Garcia-Garmendia JL, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J, Jimenez-Jimenez FJ, Perez-Paredes C, Barrero-Almodovar AE, Gili-Miner M. Risk factors for *Acinetobacter baumannii* nosocomial bacteremia in critically III patients: a cohort study. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 939-46.
37. Maas A, Flament P, Pardou A, Deplano A, Dramaix M, Struelens MJ. Central venous catheter-related bacteraemia in critically ill neonates: risk factors and impact of a prevention programme. *J Hosp Infect* 1998; 40: 211-24.
38. Siegman-Igra Y, Bar-Yosef S, Gorea A. Nosocomial *Acinetobacter* meningitis secondary to invasive procedures: report of 25 cases and review. *J Clin Infect Dis* 1993; 17: 843-9.
39. Seifert H, Richter W, Pulverer G. Clinical and bacteriological features of relapsing shunt-associated meningitis due to *Acinetobacter baumannii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 14: 130-4.
40. Chang WN, Lu CH, Huang CR, Chuang YC. Community-acquired *Acinetobacter* meningitis in adults. *Infection* 2000; 28: 395-7.

41. Ahmad S. Urinary tract infection at a specialist hospital in Saudi Arabia. *Bangladesh Med Res Counc Bull* 1995; 21: 95-8.
42. Arosio A, Ferrari S, Tranchina G, Borroni M, Grassi L. Urinary tract infections in a general medicine department. Comments on cases collected over 3 years. *Minerva Med* 1986; 77: 1339-46.
43. Thong ML. *Acinetobacter anitratus* infections in man. *Aust N Z J Med* 1975; 5: 435-9.
44. Malik AS. *Acinetobacter* endocarditis in children: a case report and review of the literature. *Infection* 1995; 23: 306-8.
45. Gradon JD, Chapnick EK, Lutwick LI. Infective endocarditis of a native valve due to *Acinetobacter*: case report and review. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 1145-8.
46. Sacks-Berg A, Calubiran OV, Epstein HY, Cunha BA. Sepsis associated with transhepatic cholangiography. *J Hosp Infect* 1992; 20: 43-50.
47. Tain YL, Lin G, Cher TW. Microbiological spectrum of septicemia and peritonitis in nephrotic children. *Pediatr Nephrol* 1999; 13: 835-7.
48. Valdez JM, Asperilla MO, Smego RA Jr. *Acinetobacter* peritonitis in patients receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis. *South Med J* 1991; 84: 607-10.
49. Lye WC, Lee EJ, Ang KK. *Acinetobacter* peritonitis in patients on CAPD: characteristics and outcome. *Adv Perit Dial* 1991; 7: 176-9.
50. Galvao C, Swartz R, Rocher L, Reynolds J, Starmann B, Wilson D. *Acinetobacter* peritonitis during chronic peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 1989; 14: 101-4.
51. Sheftel TG, Cierny G 3rd, Lefrock JL, Mader JT. Cefmenoxime therapy in bacterial osteomyelitis. *Am J Med* 1984; 77: 17-20.

52. Pribyl C, Salzer R, Beskin J, Haddad RJ, Pollock B, Beville R, Holmes B, Mogabgab WJ. Aztreonam in the treatment of serious orthopedic infections. *Am J Med* 1985; 78: 51-6.
53. Gentry LO, Rodriguez-Gomez G. Ofloxacin versus parenteral therapy for chronic osteomyelitis. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 538-41.
54. Mark DB, Gaynon MW. Trauma-induced endophthalmitis caused by *Acinetobacter anitratus*. *Br J Ophthalmol* 1983; 67: 124-6.
55. Corrigan KM, Harmis NY, Willcox MD. Association of *Acinetobacter* species with contact lens-induced adverse responses. *Cornea* 2001 Jul; 20: 463-6.
56. Kent HD, Cohen EJ, Laibson PR, Arentsen JJ. Microbial keratitis and corneal ulceration associated with therapeutic soft contact lenses. *CLAO J* 1990; 16: 49-52.
57. Gopal L, Ramaswamy AA, Madhavan HN, Saswade M, Battu RR. Postoperative endophthalmitis caused by sequestered *Acinetobacter calcoaceticus*. *Am J Ophthalmol* 2000; 129: 388-90.
58. *Acinetobacter* Species. <http://www.medschool.com/futuretense-cs/MedSchool/datasets/>
59. Patil JR, Chopade BA. Distribution and in vitro antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* species on the skin of healthy humans. *Natl Med J India* 2001; 14: 204-8.
60. Webster CA, Crowe M, Humphreys H, Towner KJ. Surveillance of an adult intensive care unit for long-term persistence of a multi-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17: 171-6.
61. Paavilainen T, Alanen M, Makela M, Routamaa M, Jarvinen H, Huovinen P, Kotilainen P. Infrequent isolation of multiresistant *Acinetobacter baumannii* from the

- staff tending a colonized patient with severe burns. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22: 388-91.
62. Corbella X, Pujol M, Ayats J, Sendra M, Ardanuy C, Dominguez MA, Linares J, Ariza J, Gudiol F. Relevance of digestive tract colonization in the epidemiology of nosocomial infections due to multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis* 1996; 23: 329-34.
63. Villers D, Espaze E, Coste-Burel M, Giauffret F, Ninin E, Nicolas F, Richet H. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections: microbiological and clinical epidemiology. *Ann Intern Med* 1998; 129: 182-9.
64. Wise KA, Tosolini FA. Epidemiological surveillance of *Acinetobacter* species. *J Hosp Infect* 1990; 16: 319-29.
65. Bouvet PJ, Grimont PA. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Ann Inst Pasteur Microbiol* 1987; 138: 569-78.
66. Towner KJ, Chopade BA. Biotyping of *Acinetobacter calcoaceticus* using the API 20NE system. *J Hosp Infect* 1987; 10: 145-51.
67. Oliveira MG, Irino K, Vaz TM, Goncalves CR, Levy CE. Biotypes, serovars and antimicrobial resistance patterns of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Zentralbl Bakteriologie* 1996; 284: 550-8.
68. Biendo M, Laurans G, Lefebvre J F, Daoudi F, Eb F. Epidemiological study of an *Acinetobacter baumannii* outbreak by using a combination of antibiotyping and ribotyping. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2170-5.
69. Pantophlet R, Nemec A, Brade L, Brade H, Dijkshoorn L. O-Antigen Diversity among *Acinetobacter baumannii* Strains from the Czech Republic and Northwestern Europe, as Determined by Lipopolysaccharide-Specific Monoclonal Antibodies. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2576-80.

70. Bergogne-Berezin E. *Acinetobacter* spp., saprophytic organisms of increasing pathogenic importance. *Zentralbl Bakteriol* 1994; 28: 389-405.
71. Andrews HJ. *Acinetobacter* bacteriocin typing. *J Hosp Infect* 1986; 7:169-75.
72. Alexander M, Rahman M, Taylor M, Noble WC. A study of the value of electrophoretic and other techniques for typing *Acinetobacter calcoaceticus*. *J Hosp Infect* 1988; 12:273-87.
73. Kropec A, Hubner J, Daschner FD. Comparison of three typing methods in hospital outbreaks of *Acinetobacter calcoaceticus* infection. *J Hosp Infect* 1993; 23: 133-41.
74. Gouby A, Carles-Nurit MJ, Bouziges N, Bourg G, Mesnard R, Bouvet PJ. Use of pulsed-field gel electrophoresis for investigation of hospital outbreaks of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1588-91.
75. Graser Y, Klare I, Halle E, Gantenberg R, Buchholz P, Jacobi HD, Presber W, Schonian G. Epidemiological study of an *Acinetobacter baumannii* outbreak by using polymerase chain reaction fingerprinting. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2417-20.
76. Koeleman JGM, Stoof J, Biesmans DJ, Savelkoul PHM, Vandenbroucke-Grauls CMJE. Comparison of amplified ribosomal DNA restriction analysis, random amplified polymorphic DNA analysis, and amplified fragment length polymorphism fingerprinting for identification of *Acinetobacter* genomic species and typing of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2522-29.
77. Reboli AC, Houston ED, Monteforte JS, Wood CA, Hamill RJ. Discrimination of epidemic and sporadic isolates of *Acinetobacter baumannii* by repetitive element PCR-mediated DNA fingerprinting. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2635-40.
78. Welsh J, McClelland M. Characterization of pathogenic microorganisms by genomic fingerprinting used arbitrarily primed PCR. In: Persing HD, Smith TF, Tenover FC,

- White TJ, ed(s). Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications. ASM, Washington, DC 1993: 595-602.
79. Chopade BA, Wise PJ, Towner KJ. Plasmid transfer and behaviour in *Acinetobacter calcoaceticus* EBF65/65. J Gen Microbiol 1985; 131: 2805-11.
80. Baştustaoglu A, Özyurt M. nozokomiyal patojen olarak *Acinetobacter*'lerin mikrobiyolojik, klinik ve epidemiyolojik özellikleri. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 1998;2: 88-93.
81. Gür D. Hastane infeksiyonu etkeni Gram negatif nonfermentatif basiller ve antibiyotiklere direnç sorunu. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 1999; 3:33-9.
82. Miller GH, Sabatelli FJ, Hare RS, Glupczynski Y, Mackey P, Shlaes D, Shimizu K, Shaw KJ. The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms-changes with time and geographic area: a reflection of aminoglycoside usage patterns? Aminoglycoside Resistance Study Groups. Clin Infect Dis 1997; 24S1: S46-62.
83. Lambert T, Gerbaud G, Galimand M, Courvalin P. Characterization of *Acinetobacter haemolyticus* aac(6')-I_g gene encoding an aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase which modifies amikacin. Antimicrob Agents Chemother 1993; 37: 2093-100.
84. Poh CL, Loh GK. Enzymatic profile of clinical isolates of *Acinetobacter calcoaceticus*. Med Microbiol Immunol (Berl) 1985; 174: 29-33.
85. Durmaz R. Moleküler Epidemiyolojinin Prensipleri. In: Durmaz R, (Ed.). Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji. 2 baskı. Adana Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti 2001: 139-48.
86. Grundmann HJ, Towner KJ, Dijkshoorn L, Gerner-Smidt P, Maher M, Seifert H, Vaneechoutte M. Multicenter study using standardized protocols and reagents for evaluation of reproducibility of PCR-based fingerprinting of *Acinetobacter* spp. J Clin Microbiol 1997; 35: 3071-3077.

87. Welsh J, McClelland M. Characterization of pathogenic microorganisms by genomic fingerprinting used arbitrarily primed PCR. In: Persing HD, Smith TF, Tenover FC, White TJ, ed(s). Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications. ASM, Washington, DC 1993: 595-602.
88. Grundmann H, Schneider C, Tichy HV, Simon R, Klare I, Hartung D, Daschner FD. Automated laser fluorescence analysis of randomly amplified polymorphic DNA: a rapid method for investigating nosocomial transmission of *Acinetobacter baumannii*. J Med Microbiol 1995;43:446-51.
89. A Horrevorts, K Bergman, L Kollee, I Breuker, I Tjernberg, and L Dijkshoorn. Clinical and epidemiological investigations of *Acinetobacter* genomospecies 3 in a neonatal intensive care unit. J Clin Microbiol 1995; 33:1567-72.
90. Maria D. Appleman, Howard Belzberg, Diane M. Citron, Peter N. R. Heseltine, Albert E. Yellin, James Murray, Thomas V. Berne. In Vitro Activities of Nontraditional Antimicrobials against Multiresistant *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated in an Intensive Care Unit Outbreak. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44:1035-1040.
91. Marques MB, Brookings ES, Moser SA, Sonke PB, Waites KB. Comparative in vitro antimicrobial susceptibilities of nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* and synergistic activities of nine antimicrobial combinations. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 881-85.
92. Gonzalez G, Ramirez C, Munoz M. Antibacterial activity of aminoglycosides against nosocomial strains of *Acinetobacter baumannii* isolated between 1990 and 1999. Rev Esp Quimioter 2000;13:401-4.
93. Allen KD, Green HT. Hospital outbreak of multi-resistant *Acinetobacter anitratus*: an airborne mode of spread? J Hosp Infect 1987; 9: 110-9.

94. Hartstein AI, Rashad AL, Liebler JM, Actis LA, Freeman J, Rourke JW Jr, Stibolt TB, Tolmasky ME, Ellis GR, Crosa JH. Multiple intensive care unit outbreak of *Acinetobacter calcoaceticus* subspecies anitratus respiratory infection and colonization associated with contaminated, reusable ventilator circuits and resuscitation bags. *Am J Med* 1988; 85: 624-31.
95. Pillay T, Pillay DG, Adhikari M, Pillay A, Sturm AW. An outbreak of neonatal infection with *Acinetobacter* linked to contaminated suction catheters. *J Hosp Infect* 1999; 43: 299-304.
96. Kappstein I, Grundmann H, Hauer T, Niemeyer C. Aerators as a reservoir of *Acinetobacter junii*: an outbreak of bacteraemia in paediatric oncology patients. *J Hosp Infect* 2000; 44: 27-30.
97. Catalano M, Quelle LS, Jeric PE, Di Martino A, Maimone SM. Survival of *Acinetobacter baumannii* on bed rails during an outbreak and during sporadic cases. *J Hosp Infect* 1999; 42: 27-35.
98. Wendt C, Dietze B, Dietz E, Ruden H. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J Clin Microbiol* 1997; 35:1394-7.
99. Weermink A, Severin WP, Tjernberg I, Dijkshoorn L. Pillows, an unexpected source of *Acinetobacter*. *J Hosp Infect* 1995; 29:189-99.
100. Beck-Sague CM, Jarvis WR. Epidemic bloodstream infections associated with pressure transducers: a persistent problem. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1989; 10:54-9.
101. Smith PW, Massanari RM. Room humidifiers as the source of *Acinetobacter* infections. *JAMA* 1977; 237:795-7.
102. Irwin RS, Demers RR, Pratter MR, Garrity FL, Miner G, Pritchard A, Whitaker S. An outbreak of *Acinetobacter* infection associated with the use of a ventilator

- spirometer. *Respir Care* 1980; 25:232-7.
103. Tankovic J, Legrand P, Gatines GD, Chemineau V, Brun-Buisson C, Duval J. Characterization of a hospital outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* by phenotypic and genotypic typing methods. *J Clin Microbiol* 1994; 32:2677-81.
104. Visalli MA, Jacobs MR, Moore TD, Renzi FA, Appelbaum PC. Activities of beta-lactams against *Acinetobacter* genospecies as determined by agar dilution and E-test MIC methods. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:767-70.
105. Akalın H. Yoğun bakım ünitelerinde *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* ve diğer tedavisi zor Gram negatif bakteriler. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 1999; 3:202-11.
106. Gökdal İ, Rota S. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında *Acinetobacter* subtipleri olarak değerlendirilen nonfermentatif Gram negatif bakterilerin API 20 NE sistemi ile tiplendirilmesi ve bazı antimikrobiyal ajanlara duyarlılık durumlarının belirlenmesi. X. Türk Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 2001: 337.
107. Zarakolu P, Kocagöz S, Haşçelik G, Akova M, Ünal S. Hastane infeksiyonu etkeni bazı Gram negatif bakterilerin ekstended spektrum beta laktamaz üretimi ve çeşitli antimikrobiyallere direnç durumları. X. Türk Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 2001: 331.
108. Simhon A, Rahav G, Shazberg G, Block C, Bercovier H, Shapiro M. *Acinetobacter baumannii* at a Tertiary-Care Teaching Hospital in Jerusalem, Israel. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 389-91.
109. Fass RJ, Barnishan J, Solomon MC, and Ayers LW. In vitro activities of quinolones, beta-lactams, tobramycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole against nonfermentative gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40:1412-18.

110. Bello H, Dominguez M, Sepulveda M, Cerda F, Gonzalez G, Mella S, Zemelman R. Activity of imipenem and meropenem against strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from various Chilean hospitals. Rev Esp Quimioter 2000; 13:405-7.
111. Gonzalez G, Ramirez C, Munoz M. Antibacterial activity of aminoglycosides against nosocomial strains of *Acinetobacter baumannii* isolated between 1990 and 1999. Rev Esp Quimioter 2000; 13:401-4.
112. Silva J, Avello C, Matamoro F, Villagra L, Rojas V, Sandoval L. Antimicrobial resistance of different *Acinetobacter baumannii* biotypes isolated in the northerregion of Chile. Rev Med Chil 1999; 127:926-34.
113. Bou G, Cervero G, Dominguez MA, Quereda C, Martinez-Beltran J. PCR-based DNA fingerprinting (REP-PCR, AP-PCR) and pulsed-field gel electrophoresis characterization of a nosocomial outbreak caused by imipenem- and meropenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. Clin Microbiol Infect 2000; 6:635-43
114. Dijkshoorn L, Aucken H, Gerner-Smidt P, Janssen P, Kaufmann ME, Garaizar J, Ursing J, Pitt TL. Comparison of outbreak and nonoutbreak *Acinetobacter baumannii* strains by genotypic and phenotypic methods. J Clin Microbiol 1996; 34:1519-25.
115. Krzewinski JW, Nguyen CD, Foster JM, Burns JL. Use of Random Amplified Polymorphic DNA PCR To Examine Epidemiology of *Stenotrophomonas maltophilia* and *Achromobacter (Alcaligenes) xylosoxidans* from Patients with Cystic Fibrosis. J Clin Microbiol 2001; 39:3597-602.