ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KAN DOLAŞIMINDAKİ GRAM NEGATİF BAKTERİLERİN KLİNİK VE MİKROBİYOLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

ALI ABDUL AMIR IBRAHIM IBRAHIM

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2023

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Ali Abdul Amir Ibrahim IBRAHIM tarafından hazırlanan "**Kan Dolaşımındaki Gram Negatif Bakterilerin Klinik ve Mikrobiyolojik Olarak Araştırılması**" adlı tez çalışması 01/06/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Özgür KUZUKIRAN

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Dunya Jawad Ridha AL-FAILY

Jüri Üyeleri:

Başkan : Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
Ankara Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Özgür KUZUKIRAN
Eldivan Sağlık Hizmetleri MYO
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Müge FIRAT
Eldivan Sağlık Hizmetleri MYO
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hamit ALYAR

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Kan Dolaşımındaki Gram Negatif Bakterilerin Klinik ve Mikrobiyolojik Olarak Araştırılması**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (19/06/2023).

Ali Abdul Amir Ibrahim IBRAHIM

ÖZET

KAN DOLAŞIMINDAKİ GRAM NEGATİF BAKTERİLERİN KLİNİK VE MİKROBİYOLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

Ali Abdul Amir Ibrahim IBRAHIM

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özgür KUZUKIRAN
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Dunya Jawad Ridha AL-FAILY

Özellikle çocuklarda artan kan dolaşımı enfeksiyonları ve antibiyotiklere dirençli bakterilerin yayılması dünya çapında endişe yaratan ciddi bir sağlık sorunudur. Bağdat'taki şehir hastanelerinin çocuk yoğun bakım ünitelerinde kan dolaşımı enfeksiyonu teşhisiyle yatan 150 hastadan kan örneği alındı. Bu örneklerden bakteri izolasyonu ve tanımlanması yapıldı. Ardından antibiyotik duyarlılık testi ve MIC değerleri belirlendi. Çoklu antimikrobiyal direnç gösteren izolatlarda *OXA-51, ISAba1, Intl1* ve *Intl2* genleri PCR ile araştırılıp pozitif sonuçlar dizilendi. İzolatların %34'ünün Gram negatif bakteriler olduğu bulundu. Tespit edilen bakterilerden *A. baumannii'nin* levofloksasine karşı en yüksek dirence sahip olduğu görüldü. Tigesikline en yüksek direnç oranları ise *E. coli* ve *K. pneumoniae*'de görüldü. *A. baumannii* izolatlarında *blaOXA-51* ve *ISAba1* genleri tespit edilirken, *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarında tespit edilemedi. Özellikle *E. coli* izolatlarında *Intl1* (%97) ve *Intl2* (%100) yaygınlığı yüksekti. *K. pneumoniae* izolatlarında ise bu oran %98 olarak tespit edildi. Sonuç olarak, mevcut çalışma, yaygın bakterilerin dağılımının ve antimikrobiyal duyarlılıklarının "BSI'ler ve PICU'lar" arasında önemli ölçüde farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

2023, 68 sayfa

Anahtar Kelimeler: Gram negatif bakteriler, Kan kültürü, Çoklu ilaç direnç genleri

ABSTRACT

Master of Science Thesis

CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL INVESTIGATION OF GRAM NEGATIVE BACTERIA IN THE BLOOD CIRCULATION

Ali Abdul Amir Ibrahim IBRAHIM

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Özgür KUZUKIRAN
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Dunya Jawad Ridha AL-FAILY

Increasing bloodstream infections and the spread of antibiotic-resistant bacteria, especially in children, is a serious health problem of worldwide concern. Blood samples were taken from 150 patients hospitalized with the diagnosis of bloodstream infection in the pediatric intensive care units of city hospitals in Baghdad. Bacteria isolation and identification were performed from these samples. Then, antibiotic susceptibility test and MIC values were determined. *OXA-51*, *ISAba1*, *Intl1* and *Intl2* genes in isolates showing multiple antimicrobial resistance were investigated by PCR and positive results were sequenced. It was found that 34% of the isolates were Gram negative bacteria. Among the detected bacteria, *A. baumannii* was found to have the highest resistance to levofloxacin. The highest rates of resistance to tigecycline were seen in *E. coli* and *K. pneumoniae*. While *blaOXA-51* and *ISAba1* genes were detected in *A. baumannii* isolates, they could not be detected in *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates. In particular, the prevalence of *Intl1* (97%) and *Intl2* (100%) was high in *E. coli* isolates. This rate was found to be 98% in *K. pneumoniae* isolates. In conclusion, the current study reveals that the distribution of common bacteria and their antimicrobial susceptibility differ significantly between "BSIs and PICUs".

2023, 68 pages

Keywords: Gram negative bacteria, Blood culture, Multidrug resistance genes.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Doç Dr. Özgür KUZUKIRAN ve eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Dunya Jawad Ridha AL-FAILY'ye sabırları, rehberlikleri ve anlayışları için teşekkür ederim.

Ali Abdul Amir Ibrahim IBRAHIM

Çankırı-Haziran 2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
SİMGELER DİZİNİ vii
KISALTMALAR DİZİNİ viii
ŞEKİLLER DİZİNİ ix
ÇİZELGELER DİZİNİ x
1. GİRİŞ 1
2. LİTERATÜR ÖZETİ 3
2.1 Kan Dolaşımı Enfeksiyonları 3
2.1.1 Tanımlar 3
2.1.2 BIS tanısı 3
2.2 Antibiyotiklere Karşı Direnç 4
2.2.1 Bakterilerde antibiyotik direnci mekanizması 5
2.2.2 Bakterilerde antibiyotik direncinin kazanılması ve yayılması 5
2.3 Gram Negatif Bakteriler 6
2.3.1 *Escherichia coli* 8
2.3.2 *Klebsiella pneumoniae* 9
2.3.3 *Acinetobacter baumannii* 10
2.4 Ekleme Dizisi (IS) 10
2.4.1 Veritabanı Bulucu ve Sınıflandırma 11
3. MATERYAL VE METOT 13
3.1 Materyal 13
3.2 Metot 15
3.2.1 Ayıraç ve solüsyonların hazırlanması 15
3.2.2 Besi yerlerinin hazırlanması 16
3.2.3 Bakteri izolatlarının saklanması 16
3.2.4 Konvansiyonel PCR 17
3.2.5 Bakteriyel Tanı 17

3.2.6 VITEK-2 Sistemi 19
3.2.7 Genotip tespiti 19
3.2.8 Antimikrobiyal duyarlılık testi 19
3.3 DNA Ekstraksiyonu 21
3.3.1 Genomik DNA ekstraksiyonu 21
3.3.2 DNA konsantrasyonu ve saflığının belirlenmesi 21
3.3.3 PCR prosedürü 21
3.3.4 Agaroz jel electroforezi 22
3.3.5 PCR ürünlernin dizilenmesi 22
3.3.6 Nükleotit dizilerinin hizalanması 22
3.3.7 İstatistik analiz 23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 24
4.1 Bakteriyel Etkenlerin İzolasyonu ve Tanımlanması 24
4.1.1 Kültür sonuçları 26
4.1.2 Mikroskopik bakı sonuçları 28
4.1.3 Biyokimyasal test sonuçları 28
4.2 Antibiyotik duyarlılığı 29
4.2.1 *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılığı 29
4.2.2 *K. pneumoniae* izolatlarının antibiyotik duyarlılığı 30
4.2.3 *A. baumannii* izolatlarının antibiyotik duyarlılığı 31
4.3 Genetik Çalışma Sonuçları 34
4.3.1 *blaOXA-51* geni sonuçları 34
4.3.2 *ISAba1* geni sonuçları 34
4.3.3 *Intl-1* geni sonuçları 35
4.3.4 *Intl-2* geni sonuçları 35
4.3.5 PCR ürünlerinin dizilenmesi 36
4.4 Tartışma 43
4.4.1 Kan dolaşımı enfeksiyonları 43
4.4.2 Örnek tipine göre izolatların sınıflandırılması 44
4.4.3 *E. coli*'de antibiyotik duyarlılığı 45
4.4.4 *K. pneumoniae*'de antibiyotik duyarlılığı 46
4.4.5 *A. baumannii*'de antibiyotik duyarlılığı 47

4.4.6 *blaOXA-51* geni yaygınlığı 47
4.4.7 *ISAba1* geni yaygınlığı 48
4.4.8 *Intl-1* geni yaygınlığı 49
4.4.9 *Intl-2* geni yaygınlığı 50
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 52
KAYNAKLAR 53
ÖZGEÇMİŞ 68

SİMGELER DİZİNİ

A	Ağırlık
dk	Dakika
°C	Derece selsius
g	Gram
h	Hacim
X	İzolasyon numarası
l	Litre
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikrometre
µ	Mikron
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
+	Pozitif
s	Saat
sn	Saniye
%	Yüzde

KISALTMALAR DİZİNİ

AST	Antibakteriyal duyarlılık testi
ATP	Adenozin trifosfat
BSI	Kan dolaşımı enfeksiyonu
CFU	Koloni oluşturan birim
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDB	Evde doğan bebek
EDTA	Etilendiamin tetrasetik asit
ESBL	Genişletilmiş spektrumlu β-laktamaz
GTP	Guanozin trifosfat
HDB	Hastanede doğan bebek
IS	Ekleme dizileri
MDR	Çoklu ilaç direnci
OD	Optik yoğunluk
PCR	Polimer zincir reaksiyonu
PDR	Pan ilaç direnci
PH	Hidrojen iyon konsantrasyonu
PICU	Çocuk yoğun bakım üniteleri
RNA	Ribonükleik asit
SIRS	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
SPSS	Sosyal bilimler için SPSS İstatistik paketi
UV	Ultraviole indeksi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XDR	Büyük ölçüde ilaca dirençli

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Gram negatif bakterilerde direnç mekanızmaları (Valsamatzi *et al*. 2020)..... 6
Şekil 2.2 Gram negaitf bakteri hücre duvarı (Atanasova *et al*. 2008)..... 7
Şekil 4.1 Kültürü yapılan örneklerde bakteri üremesi..... 24
Şekil 4.2 Gram pozitif ve Gram negatif izolatların cinsiyete göre dağılımı 25
Şekil 4.3 Gram pozitif ve Gram negatif izolat dağılımı 26
Şekil 4.4 İzolatlarda tanımlanan bakterilerin dağılımları..... 26
Şekil 4.5 MacConkey agar'da üreyen bakterilerin koloni yapısı: (A) *E. coli*, (B) *K. pneumoniae* ve (C) *A. baumannii*..... 27
Şekil 4.6 K agar'da üreyen bakterilerin koloni yapısı: (A) *E. coli*, (B) *K. pneumoniae* ve (C) *A. baumannii*..... 27
Şekil 4.7 Işık mikroskobu (1000 X): (A) *E. coli*, (B) *K. pneumoniae* and (C) *A. baumannii* 28
Şekil 4.8 İzolatların MDR durumlarına göre dağılımları 33
Şekil 4.9 *blaOXA-51* geni jel elektroforezi sonucu..... 34
Şekil 4.10 *ISAba1* geni jel elektroforezi sonucu 34
Şekil 4.11 *Intl-1* geni jel elektroforezi sonucu 35
Şekil 4.12 *Intl-2* geni jel elektroforezi sonucu 36
Şekil 4.13 *blaOXA-51* geni ile hizalama sonucu (*A. baumannii*)..... 37
Şekil 4.14 Sanger dizileme sonucu (*A. baumannii*) 37
Şekil 4.15 Avustralya izolatı *A. baumannii* suşu B9 kromozomu ile hizalama sonucu..... 38
Şekil 4.16 *ISAba1* Sanger dizileme sonucu (*A. baumannii*)..... 38
Şekil 4.17 *Intl-1* hizalama sonucu (*A. baumannii*)..... 38
Şekil 4.18 *Intl-1* hizalaması sonucu (*E. coli*) 39
Şekil 4.19 *Intl-1* hizalaması sonucu (*E. coli*) 39
Şekil 4.20 *Intl-1* hizalaması sonucu (*K. pneumoniae)*..... 40
Şekil 4.21 *Intl-1* Sanger dizileme sonuçları (*A. baumannii, E. coli* ve *K. pneumoniae)* 40
Şekil 4.22 *Intl-2* hizalama sonucu (*A. baumannii*)..... 41
Şekil 4.23 *Intl-2* hizalama sonucu (*E. coli*)..... 42
Şekil 4.24 Sequence alignment of *Intl-2* of *K. pneumoniae* X6 isolate to *K. pneumoniae* strain NH34 chromosome from Thailand 42
Şekil 4.25 *Intl-2* Sanger dizileme sonucu (*A. baumannii, E. coli* and *K. pneumoniae*) 43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Alet ve ekipman bilgileri 13
Çizelge 3.2 Kullanılan kimyasal ve biyolojik materyaller 13
Çizelge 3.3 Antimikrobiyal disklere ait bilgiler 14
Çizelge 3.4 Besi yerlerine ait bilgiler 14
Çizelge 3.5 Moleküler analizde kullanılan kitler ve bileşimleri 15
Çizelge 3.6 PCR için kullanılan primer bilgileri 17
Çizelge 3.7 PCR programı 21
Çizelge 4.1 EBD ve HDB karşılaştırması 25
Çizelge 4.2 Örneklerde cinsiyete bağlı dağılım 25
Çizelge 4.3 Biyokimyasal test sonuçları 29
Çizelge 4.4 *E. coli* izolatlarının antibakteriyel duyarlılığı 30
Çizelge 4.5 *K. pneumoniae* izolatlarının antibakteriyel duyarlılığı 31
Çizelge 4.6 *A. baumannii* izolatlarının antibakteriyel duyarlılığı 32
Çizelge 4.7 MIC değerine göre duyarlılık değerlendirmesi (Anonim, 2021) 32
Çizelge 4.8 *E. coli, K. pneumoniae* ve *A. baumannii* izolatlarının *blaOXA51*, *ISAba1*, *Intl-1* ve *Intl-2* geni nükleotit değişiklikleri 43

1. GİRİŞ

Kan dolaşımı enfeksiyonu (BSI), kanda bakteri varlığı ile karakterize edilen ve yüksek oranda morbidite ve mortalite ile bağlantılı olan klinik bir hastalıktır. BSI'ya neden olan mikrobiyal enfeksiyonların epidemiyolojisi, Gram negatif organizmalarının daha yaygın hale gelmesiyle zaman içinde değişmiştir (Luzzaro *et al*. 2011). Uygun bir ampirik tedavinin hızla uygulanması enfeksiyon tedavisi açısından önemlidir. Hastalık prevalansının ve antibiyotik direncinin artması tedaviyi zorlanştırmaktadır (Marchaim *et al*. 2008). Özellikle hastanelerde yaygın olan enfeksiyonların BSI için de önemli bir kaynak olduğu belirtilmektedir (Elaldi *et al*. 2013). BSI'lar sıklıkla sepsis ve diğer yaşamı tehdit eden organ yetmezliklerine neden oldukları için ciddi hastalıklar olarak sınıflandırılmaktadırlar (Loonen *et al*. 2014). Hastanın hayatta kalma şansını artırmak ve BSI gibi dinamik enfeksiyonlara bağlı yüksek morbidite ve mortalite oranlarını azaltmak için yeterli tanımlama ve uygun antimikrobiyal tedavinin uygulanması çok önemlidir (Liu *et al*. 2014). Sağlık kuruluşlarının antimikrobiyal direnç yönetimi için oluşturulan yönergeler, hasta bakımını sağlamak ve antimikrobiyal uygulama politikalarını yönetmek açısından çok önemli bir adım olarak belirtilse de coğrafi konumdan kaynaklanan özel koşullara göre özelleştirilmesi gerektiği belirtilmektedir (Johnson *et al.* 2015). Klinik ve mikrobiyolojik izlemenin yapılması yerel epidemiyolojik çalışmaların yapılabilmesi için gerekli bir uygulamadır (Johnson *et al*. 2015). Bununla birlikte, antibiyotik direnci konusunda yapılan az sayıda çalışmanın direnç genlerine yönelik olduğu bildirilmiştir (Pereira *et al*. 2013).

Septisemi, özellikle çocuklardaki ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Pediatrik sepsisin mikrobiyal profili sürekli değişmektedir. Bu nedenle sepsis bakımından en temel problemlerden birinin çoklu ilaç direnci olan patojen bakteriler olduğu belirtilmektedir (Sundaram *et al*. 2009). Yenidoğan septisemisinin erken teşhisinin ve tedavisinin morbidite ve ölümü önemli ölçüde azaltabildiği saptanmıştır (Micek *et al*. 2010). Septisemi vakalarında bakteriyel etkenin tespiti için kültür yapılması uygulaması, her zaman üreme olmamasına rağmen altın standart olmaya devam etmektedir (Paolucci *et al*. 2012).

Bu çalışma, kanda izole edilecek gram negatif bakteri türlerinin izolatları arasındaki antimikrobiyal direnç durumunu ortaya koymayı amaçlamaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Kan Dolaşımı Enfeksiyonları

2.1.1 Tanımlar

Bakteriyemi, kanda bakteri varlığını tanımlamak için kullanılan terimdir. Enfeksiyon, genellikle steril bir doku sıvısına veya boşluğuna giren patojenik veya potansiyel olarak zararlı mikroorganizmalardan kaynaklanmaktadır (Dark *et al*. 2009). Ortaya çıkan şiddetli sepsis tablosu klinik olarak farklı kökenlere sahip olabilir. İntravasküler sistemden veya bilinmeyen bir odaktan sekonder enfeksiyon olarak köken alabileceği gibi primer kan enfeksiyonu sekonder olarak organlara yayılabilir. Bunların sonucunda da organ yetmezliği ve dokulara kan akışında azalma görülebilir (Codjoe and 2017).

2.1.2 BIS tanısı

BIS tanısı için önce etkenin izole edilip tanımlanması gerekmektedir (Martin *et al*. 2015). Fakat bu altın standardın BIS'te uygulanması, enfeksiyon odağı belli enfeksiyonlara göre %30-40 gibi bir başarı sağlamaktadır. Kan dolaşımı enfeksiyonlarını belirlemek için sistemik yangı cevabı sendromu (SIRS) kriterlerinin kullanılması da kan dolaşımı enfeksiyonlarının olduğundan fazla tahmin edilmesine yol açabilmektedir (Fenollar and Raoult 2007).

Yapılan optimizasyonlar sonucunda analiz süreleri kısalmış olan klinik laboratuvarlar, BSI'ların tanısında; verdikleri antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarıyla da tedaviye karar verilmesinde kritik öneme sahiptirler. Yaygın yaklaşım ise kandan bakteri yapılması şeklindedir (Anderson *et al*. 2014).

Kan kültürü yapıldıktan sonra antibiyotik duyarlılık sonucunun alınması 5 günü bulabilmektedir (Goto and Al-Hasan 2013). Kan kültürü için örneğin alınmasından pozitif olarak belirlenmesine kadar geçen süre genellikle 12-24 saattir (Adhikari *et al*.

2010). Genel kabul gören prosedürleri kullanarak bakteri türlerini ve antimikrobiyal duyarlılıklarını belirlemek ise 36 saat daha gerektirmektedir (Maurer *et al*. 2017).

Antimikrobiyal duyarlılık testleri (AST), çoğu durumda antibiyotik varlığında bakteri üremesini belirlemeye dayanmaktadır. Standart tanı laboratuvarlarında hasta bakımı için kullanılan standart test tekniklerinin tümünde 24-72 saat arasında değişen sıvı besiyeri, disk difüzyon ve "e test" olarak isimlendirilen antibiyotik gradyan şeritlerini içermektedir (Meda *et al*. 2017). Bunun yanında 12-24 saat içinde sonuç verebilmeyi sağlayan BD Phoenix, VITEK-2 ve MicroScan gibi otomatik sistemler de bulunmaktadır (Romero *et al*. 2012).

Klinik olarak kullanılabilir antimikrobiyal duyarlılık verilerinin elde edilmesi için geçen süre, hasta tedavisini etkileyerek doktorların dirençli izolatlar için daha etkili bir antibiyotiğe geçmesine veya duyarlı izolatlar için daha dar spektrumlu bir ilaca odaklanmasına olanak tanımaktadır. Hızlı teşhisin antibiyotik direnci ile mücadelede en önemli hedeflerden biri olduğu bildirilmektedir (Buehler *et al*. 2016). Nükleik asit amplifikasyon testleri gibi genotipik yaklaşımlar ise yüksek maliyetleri nedeniyle rutin kan kültürlerinden antibiyotik direncinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılmamaktadır (Caliendo *et al*. 2013).

2.2 Antibiyotiklere Karşı Direnç

Antibiyotiğin icadından bu yana, antibiyotik direnci neredeyse kesin olarak var olduğu tespit edilmiştir. Ancak ölümcül, dirençli formların yüksek sıklıkta ortaya çıkmasının yalnızca son 20 yılda gerçekleştiği belirtilmektedir. Antimikrobiyal ajanlara dirençli bakterilerdeki artış, bulaşıcı hastalıkların kontrolünü tehlikeye atmaktadır. Dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların standart tedaviye yanıt vermemesi nedeniyle hastalıklar uzun sürmekte ve ölümle sonuçlanmaktadır (Appelbaum 2012).

2.2.1 Bakterilerde antibiyotik direnci mekanizması

Neredeyse tüm bakteri türlerinde florokinolon direnci yaklaşık 10 yıl kadar önce ve bu ilaçların terapötik kullanım için onaylanmasından kısa bir süre sonra tespit edilmiştir. Metabolizmaları farklı bakterilerde bu kadar hızlı direnç gelişimi birçoğu birbiriyle ilişkili olan çeşitli direnç mekanizmalarıyla açıklanabilmektedir. Bu mekanizmalarla antibiyotik kimyasal olarak değiştirilebilmekte, hücreden fiziksel olarak uzaklaştırarak etkisiz hale getirilebilmekte veya antibiyotiğin etki ettiği hedef bölgeyi antibiyotik tarafından tanınmayacak şekilde değiştirilmektedir (Simon *et al*. 2009). Epidemiyolojik faktörler, yerel antibiyotik politikası, hasta özellikleri, suş kaynağı ve coğrafi konum da direnç gelişimine katkıda bulunan değişkenler arasında sıralanmaktadır (Peng *et al*. 2006). En yaygın mekanizma, antibiyotiğin enzimatik deaktivasyonudur (Watkinson *et al*. 2007). Bunun yanında pek çok bakteri, antibiyotik hedef bölgesinin, bakteriye artık zarar vermeyerek reaksiyona girebileceği şekilde değiştirildiği alternatif bir strateji benimsemektedir (Jen *et al*. 1998).

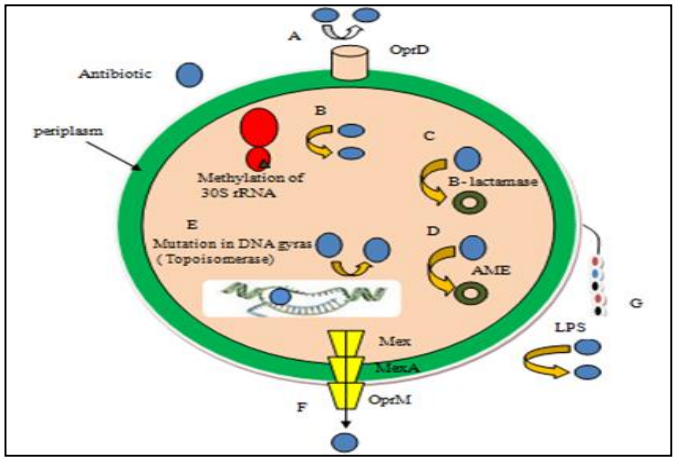
2.2.2 Bakterilerde antibiyotik direncinin kazanılması ve yayılması

Bakterilerde antibiyotik direnci, organizmanın DNA'sındaki bir mutasyonla, başka bir kaynaktan direnç kazandıran DNA'nın alınmasıyla veya kendi doğaları gereği antibiyotiklere dirençli olabilirler (Rosenberg 2001).

Gram-negatif bakterilerin hücre duvarı da antibiyotiklere karşı geçirgenlik bariyeri oluşturan bir engel olarak görev yapmaktadır (Sabath 1982).

Uygulanan antibiyotiğin kesilmesi neticesinde bir süre sonra dirençli bakteri miktarının azalacağı ileri sürülmektedir. Buna karşın destekleyici bazı mutasyonların direnci sürdürmesi; gelişen direnci koruması ve antibiyotik direncini teşvik etmesi söz konusu olabilmektedir (Şekil 2.1) (Andersson 2006). Son yıllarda yapılan çalışmalar da mikroorganizmaların telafi edici değişiklikler üretme kapasiteleri nedeniyle direnç

azalmasının değil gelişiminin daha olası olduğunu ve önceden düşünülenden daha hızlı ortaya çıkabileceğini göstermektedir (Handel *et al*. 2006).



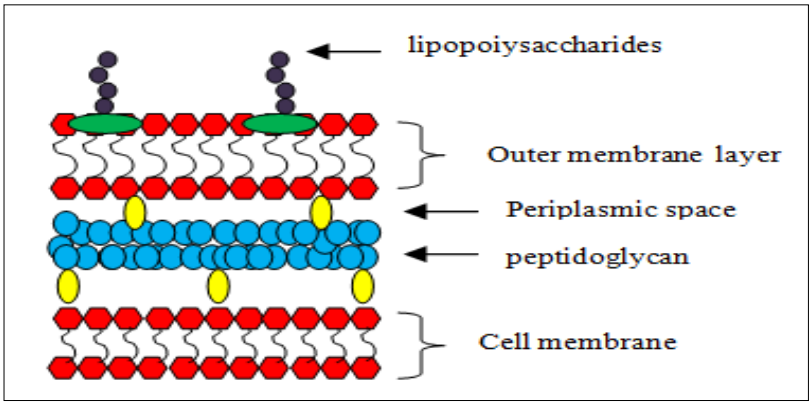
Şekil 2.1 Gram negatif bakterilerde direnç mekanızmaları (Valsamatzi *et al*. 2020).

Antibakteriyel direnci mekanizmalarını uygun şekilde kategorize etmek için çoklu biyokimyasal yollar kullanılmaktadır. Bakteriler, ilacı bozabilen veya kimyasal olarak etkisiz hale getirebilen belirli enzimler oluşturur (Munita and Arias 2016). Aminoglikozitlere karşı direncin ortaya çıkmasını sağlayan aminoglikozit modifiye edici enzimler antibiyotiğin amino veya hidroksil grubunu değiştirerek çalışırlar. Böylece antibiyotik molekülü yok edilebilir (Shaw *et al*. 1993). Hedef bölge atlaması, değişikliği ve mutasyonu gibi eylemler ise antibiyotiğin hedef bölge ile bağlantı kurmasını engelleyerek bakterilere karşı kullanışsız hale getirebilir (Munita and Arias 2016).

2.3 Gram Negatif Bakteriler

Adını 1853-1938 yılları arasında yaşamış Danimarkalı bilim adamı ve hekim Christian Gram'dan alan Gram boyama, değerli ve yaygın olarak kullanılan diferansiyel bir boyadır. Gram negatif olarak sınıflandırılan bakterilerde peptidoglikan hücre duvarını çevreleyen lipopolisakarit içeren bir dış zarf bulunmaktadır. Bu nedenle Gram boya ile boyanmazlar. (Silhavy *et al*. 2010). Elektron mikroskobu sayesinde Gram negatif bakterilerdeki bu dış zar net bir şekilde görülebilmiştir (Glauert and Thornley 1969).

Dış zarf, dahili bir fosfolipid yaprakçıktan ve endotoksin olarak da bilinen bir lipopolisakaritten oluşmaktadır (Silhavy *et al*. 2010). Kafes benzeri peptidoglikan tabakası, bakterileri ozmotik dalgalanmalardan ve kayma geriliminden korumaktadır (Huang *et al*. 1983). Zarf proteinleri ya çözünür periplazmik proteinler ya da zarla ilişkili, yekpare ya da kovalent olarak bağlı lipit eklentili proteinlerdir (Şekil 2.2) (Huang *et al.* 1983).



Şekil 2.2 Gram negaitf bakteri hücre duvarı (Atanasova *et al*. 2008)

Gram negatif bakterilerde antimikrobiyal direncin dünya çapında arttığı bildirilmektedir. Bu durum hastanede yatan hastalarda yüksek morbidite ve ölüm oranlarına yol açan önemli bir halk sağlığı sorunudur. Hasta ölüm oranı, sağlık maliyetleri ve hastanede kalış süresinin artması bununla ilişkilendirilmektedir (Tumbarello *et al*. 2006). *Enterobacteriaceae* ailesi hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olduğu bilinen Gram negatif patojenleri barındırmaktadır. Genişletilmiş etkili β-laktamaz (ESBL) veya karbapenemaz üreten *Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii* ve *Enterobacteriaceae* gibi çoklu ilaca dirençli bakteriler daha yaygın hale geldiğinden, hastane kaynaklı enfeksiyonların epidemiyolojisini değerlendirmek için patojen dağılımını ve ilişkisini anlamak kritik öneme sahiptir (Bratzler *et al*. 2013). Bakteriyel kaynak takibi için çeşitli teknolojik teknikler geliştirilmiştir (Simpson *et al*. 2002). Ancak saha uygulaması için tek bir yaklaşım üzerinde fikir birliği yakın zamana kadar sağlanamamıştır (Casarez *et al*. 2007). Atımlı alan jel elektroforezi, ribotipleme ve PCR tabanlı parmak izi teknolojileri genomik parmak izi alma yaklaşımları arasında yer

almakta olup şu anda yaygın olarak, mikroorganizma tiplendirmesi için en kesin yöntemler olarak kabul edilmektedir (Tenover *et al*. 1997, Speijer *et al*. 1999).

Septisemi, yüksek oranda morbidite ve mortalite ile çocuklarda yaygın bir hastalıktır (Nwadioha *et al*. 2011). Yeni doğan septisemisine neden olan bakteriyel enfeksiyon, bir ülkeden diğerine ve ayrıca aynı ülke içinde bir hastaneden veya bölgeden diğerine farklılık gösterebilmektedir (Karambin and Zarkesh 2011). Yeni doğanlardaki doğumdan sonraki 72 saat içinde görülen bakteriyemide etken erken başlangıçlı olanlarda çoğunlukla aerobik gram-pozitif bakteriler, geç başlangıçlı olanlarda ise ağırlıklı olarak aerobik gram-negatif bakterilerdir (Brook 2008). Septiseminin klinik belirtileri zayıf aktivite, ateş, kusma, titreme, nefes almada zorluk, taşikardi, halsizlik, beslenmeyi reddetme veya uyuşukluktur (Schulman *et al.* 2015).

2.3.1 *Escherichia coli*

Çubuk şeklinde Gram negative bir bakteri olan *E. coli* koliformlar oalrak da bilinen *Enterobacteriaceae* ailesinin bir üyesidir. Oksijenli ve oksijensiz ortamlarda, çeşitli sıcaklıklarda hayatta kalabilmektedir. En aktif olduğu sıcaklık 37°C'dir (Gross and Rowe 1985). Yeni doğan dışkısında *E. coli*'yi ilk kez 1885 yılında keşfeden bilim adamı Esherich, ona adını vermiştir. O zamandan beri yapılan mikrobiyolojik araştırmalar, *E. coli*'nin doğumdan sonraki birkaç hafta içinde insan bağırsağını kolonize ettiğini ve gastrointestinal enfeksiyonlara yol açabilecek bakteriyel aşırı üreme tehlikesini azaltarak insan konakçıya fayda sağladığını ortaya koymuştur (Gross and Rowe 1985).

E. coli, BSI'nın yaygın bir nedenidir ve toplumdan edinilenlerde ilk, hastanelerden kaynaklananlarda ise ikinci sırada yer almaktadır (Uslan *et al*. 2007). Önemli oranda ölüm görülen BSI'larla da bağlantılıdır (Bou-Antoun *et al*. 2016). Özellikle hematolojik kanser nedenli immun baskılanma ve merkezi venöz katater uygulamaları en önemli BSI kaynaklarıdır (Samet *et al*. 2013, Lee *et al*. 2015). Bunun yanında *E. coli* diyare veya idrar yolları enfeksiyonlarına da neden olabilmektedir (Kaper *et al*. 2004).

E. coli'de görülen antibiyotik direnci endişeye neden olacak kadar yaygındır. Özellikle bakteriyemi vakalarından izole edilenlerde siprofloksasin ve gentamisin direnci uzun zamandır gösterilmektedir (Maleki *et al.* 2014).

2.3.2 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella, adını onları ilk bulan Alman bilim adamı Edwin Klebs'den (1834-1913) almıştır. *K. pneumoniae* büyük, polisakkarit kapsüllü, fakültatif anaerobik ve aerobik Gram negatif silindir şeklinde, hareketsiz, mukoid koloniler oluşturan fırsatçı bir patojendir. Hastanelerde idrar yolu enfeksiyonları, pnömoni, septisemi, yara enfeksiyonları ve BSI gibi yaygın enfeksiyonlara neden olmaktadır (Brook 2004, Arivett *et al*. 2015).

Semptomlar, bakterinin vücudun hangi bölgesine bulaştığına bağlı olarak değişmektedir. Fakat spesifik semptomlar görülmez. Hastada yüksek ateş, titreme, göğüste rahatsızlık ve nefes almada güçlük vardır (Arivett *et al*. 2015).

K. pneumoniae ampisiline karşı doğal bir dirence sahiptir (Arivett *et al.* 2015). Neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için çoğunlukla kullanılan sefalosporin ve aminoglikozid antibiyotiklere karşı direnç kazanmıştır. Karbapenemler şu anda tercih edilen antibiyotiklerdir (Paterson 2006). Bu ilaçların kullanıma girmesinden sonra karbapenemlere karşı da direnç gözlenmiştir. Bu nedenle direnç gelişimini önlemek için *K. pneumoniae* izolatları için uygun tedavi stratejisinin belirlenmesi ve direnç durumunun analiz edilmesi kritik hale gelmiştir. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarının neden olduğu enfeksiyonlar, özellikle ameliyat sonrası septisemi, müdahalede kullanılan ekipman ve aletler ile vücuttaki koloniler komorbidite riskini artırmaktadır (Bassetti *et al*. 2018).

2.3.3 *Acinetobacter baumannii*

Hollandalı bir bilim adamı olan Beijerinck, organizmayı 1911'de kalsiyum asetatla güçlendirilmiş minimum bir besiyeri kullanarak topraktan elde etmiştir (Beijerinck 1911). Genellikle *Micrococcus calco-aceticus* olarak bilinen *Acinetobacter* cinsi, ilk olarak *Micrococcus calco-aceticus* olarak karakterize edilmiştir (Brisou and Prevot 1954).

A. baumannii, hastanede 90 günden fazla yatan ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda enfeksiyona neden olan fırsatçı bir bakteridir (Montefour *et al*. 2008). Hastaların solunum ve faringeal sekresyonlarından büyük miktarlarda izolasyonunun yanı sıra ciltte kolonize olduğu da gösterilmiştir (Turton *et al*. 2006). Son yıllarda çok sayıda antibiyotiğe dirençli olduğu tespit edilmiştir (Peleg *et al*. 2008).

A. baumannii özellikle yoğun bakım üniteleri olmak üzere yaygın olarak izole dilen bir türdür (Peleg *et al*. 2008). Travmatik deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, hastane kaynaklı menenjit ve daha seyrek fakat potansiyel olarak ölümcül BSI'da da izole edilmiştir (Peleg *et al*. 2008). Kontamine vantilatörler veya solunum bakım ekipmanları hastane içinde bir salgına neden olabilmektedir. Enfeksiyonlarında ölüm oranı %40-60 arasındadır (Luna and Aruj 2007).

A. baumannii ilaç direnci geliştirme eğilimi ve klinikte izole edilen bazı izolatların tüm antibakteriyellere direnç göstermesi nedeniyle ciddi bir halk sağlığı sorunudur (Perez *et al*. 2007). *A. baumannii* klonlarından oluşan salgınlar, hastanelerde mevcut olan çevresel koşullara dayanabilmelerini sağlayan antibiyotiklere direnç, bazal düzeyde akış pompaları üretimi ve sınırlı zar geçirgenliği, bu türe kapsamlı içsel direnç kazandırmaktadır (Vila *et al*. 2007).

2.4 Ekleme Dizisi (IS)

Ekleme dizisi, yer değiştirebilir öğe olarak işlev gören kısa bir DNA dizisidir. Ekleme dizileri genellikle yaklaşık 700 ila 2500 bp uzunluğundadırlar. Yani diğer yer

değiştirebilir elemanlara göre küçüktürler ve yalnızca yer değiştirme aktivitesinde yer alan proteinleri kodlarlar. Antibiyotik direnç genleri de bu yapıdadır. Ekleme dizileme (IS) *E. coli* genomunun temel bir bileşeni olduğu ve mutajenik aktivitelerinin yeni genetik konumlara hareketlerinin bir sonucu olduğu keşfedilmiştir (Hirsch *et al*. 1972). Bunların ayrıca bakteriyel plazmitlerin bileşenleri olduğu da keşfedilmiştir (Hu *et al*. 1975). Aynı yıllarda antibiyotiğe direnç genlerinin bir plazmitten diğerine taşınabileceği veya "transpoze edilebileceği" de keşfedildi (Heffron *et al*. 1975).

Mobile DNA kitabı 1989'da yayınlandığından beri hem prokaryotik hem de ökaryotik bileşenler için çok sayıda in vitro transpozisyon sisteminin geliştirilmiş ve moleküler süreç bilgisi edinilmiştir (Kleckner *et al*. 1996, Kennedy *et al*. 1998). Başka bir değişiklik, tanımlanan ve tarif edilen nükleotit dizilimlerinde yer değiştirebilir elementlerin çeşitliliğindeki artış olmuştur. 1989'da, bu seviyede yaklaşık 50 bakteri IS'si incelendi (Galas ve Chandler 1983). Artık çok sayıda farklı IS olduğu için, sistematik sınıflandırmayı mümkün kılacak bir çerçeve giderek daha gerekli hale gelmektedir (Finnegan 1997).

2.4.1 Veritabanı Bulucu ve Sınıflandırma

IS, 1998 yılında IS bulucu veritabanıyla birleştirildi. Böylece IS terminolojisi ve ilgili gruplara veya ailelere göre sınıflandırma için bir temel oluşturulnuş oldu (Siguier *et al*. 2006). Ekleme dizileri" terimi, bu kararsız değişikliklere bağlı az sayıda özdeş DNA dizisinin tekrar tekrar tanımlanmasından sonra türetilmiştir (Campbell *et al*. 1979). IS'de cinsin ilk harfini, türün ilk iki harfi ve ardından bir sayı takip etmektedir (Chandler and Mahillon 2000). 1977'de yalnızca beş IS "IS1, IS2, IS3, IS4 ve IS5" keşfedilmişti (Nevers and Saedler 1977). Mobil DNA'nın ilk baskısı yayınlandığında bu sayı 50'ye çıkmıştı (Chandler and Galas 1983).

İlk tam bakteri genomunun 1995'te dizilişinden bu yana dizileme teknolojilerindeki hızlı ilerlemeyle birlikte, mevcut mikrobiyal genomik veri miktarı muazzam bir şekilde artmaktadır (Fleischmann *et al* 1995). Bu çabalar sayesinde üretilen dizileme verilerinin miktarının artması hücresel DNA replikasyonunu başlatmak için moleküler yolları

keşfetmek için in vivo testler ve genom düzeyinde in silico analizi kullanılabilir kılmaktadır (Bouchie 2016).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Araştırmada kullanılacak kan örnekleri Ağustos-Kasım 2021 tarihleri arasında Çocuk Eğitim Hastanesi, Bağdat Eğitim Hastanesi, Ghazy Al-Hariri Hastanesi ve Eğitim Laboratuvarları'na (Medical City) sevk edilen septisemi teşhisi konulmuş 150 bebekten toplandı ve hiç beklenmeden inokulasyon yapıldı.

Araştırmada kullanılan alet ve ekipman bilgileri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Alet ve ekipman bilgileri

No	Alet-Ekipman Adı	İmalatçı Bilgileri
1	Otoklav	Hiramyama (Japonya)
2	Soğutmalı santrifüj	Hettich (Almanya)
3	Dijital kamera	Sony (Japonya)
4	Elektroforez	Mupid – One (Japonya)
5	Isıtmalı manyetik karıştırıcı	Labcco (Almanya)
6	İnkubatör	Memmert (Almanya)
7	Termal döngüleyici	TECHNE ,TC-3OOO, Bibby scientific Ltd, (ABD)
8	UV-transilluminator	21- Scope (Japonya)
9	Vorteks karıştırıcı	Labcoo (Almanya)
10	Işık mikroskobu	Olympus (Japonya)
11	Su banyosu	Memmert (Almanya)
12	BACT/ALERT® 3D	Biomeriux (Fransa)

Kullanılan kimyasal ve biyolojik materyaller Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Kullanılan kimyasal ve biyolojik materyaller

No	Materyal	İmalatçı Bilgileri
1	Agaroz	Promega (ABD)
2	Kristal viole	BDH (İngiltere)
3	Etidyum bromid	Promega (ABD)
4	Gram boya	BDH (Kuveyt)
5	Yükleme boyası	Promega (ABD)
6	McFarland's solüsyonu	BioMerieux (Fransa)
7	TBE buffer x	Promega (ABD)
8	Hidrojen peroksit	BDH (İngiltere)
9	N-N-N-N-tetrametil parafenel diamin	BDH (İngiltere)
10	Dihidroklorid	BDH (İngiltere)

Araştırmada kullanılan antimikrobiyal disklere ait bilgiler Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3 Antimikrobiyal disklere ait bilgiler

No	Antimikrobiyal Sınıfları	Antimikrobiyaller	Ürün Kodu	Konsantrasyon (µg/mL)
1	Sefalosporinler	Seftazidim	CAZ	30
		Sefotaksim	CTX	30
		Seftriakson	CRO	30
		Sefiksim	CFM	5
2	Tetrasiklinler	Tetrasiklin	T	30
		Doksisiklin	DXT	30
3	Penisilin kombinasyonları	Tikarsilin/Klavulanik	TIM	10
		Ampisilin/	SAM	85
		Piperasilin/	PTZ	100/10
		Amoksisilin/	AMC	875 / 125
4	Lipopeptitler	Sülfat	SU	25
5	Sülfonamidler	Trimetoprim	TS	23,75/ 1,25
6	Karbapenemler	mipenemİ	IMI	10
		Meropenem	MEM	10
7	Aminoglilozidler	inAmikas	AK	30
		inTobramis	TN	10
		inNetilmis	NET	30
		inGentamis	GM	10
8	Kinolonlar	inLevofloksas	LEV	5
		inSiprofloksas	CIP	5

Bakterilerin izolasyon ve tanımlanmasında kullanılan besi yerlerine ait bilgiler Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.4 Besi yerlerine ait bilgiler

No	Besi Yeri	İmalatçı Bilgileri
1	brot Beyin kalp infüzyon	Himedia (Hindistan)
2	Beyin kalp infüzyonagar	Himedia (Hindistan)
3	Kanlı agar	Himedia (Hindistan)
4	MacConkey Agar	Himedia (Hindistan)
5	Muller-Hinton agar (MHA)	Himedia (Hindistan)
6	Muller-Hinton brot	Himedia (Hindistan)
7	Nutrient agar	Himedia (Hindistan)
8	Nutrient brot	Himedia (Hindistan)
9	Kligler iron agar	Oxoid (İngiltere)
10	Peptone water	Himedia (Hindistan)
11	Simmon citrate agar	Himedia (Hindistan)
12	Agarose	Himedia (Hindistan)

Moleküler çalışmalarda kullanılan kitler ve bileşimleri Çizelge 3.5'te verilmiştir.

Çizelge 3.5 Moleküler analizde kullanılan kitler ve bileşimleri

No	Kit	Kit İçeriği	İmalatçı Bilgileri
1	API 20E API20NE	Api20E strip, Api süspansiyon vasatı; Mineral yağ Ayıraçlar: VP1; VP2; TDA	BioMérieux (Fransa)
2	Master Miks	Go Taq ® Green Master Go Taq ® Green Master Mix 2x, pH = 8.5 400mM of dATP, dGTP, dCTP, ve dTTP 3mM $MgCl_2$, Deionize Nükleaz free su	Promega (ABD)
3	QRT-PCR	Go Taq ® RT-q PCR master miks RT miks Nükleaz free su	Promega (ABD)
4	DNA Ladder	DNA moleküler ladder (100-1500)	Promega (ABD)
5	NA LadderD	DNA moleküler ladder (100-3000)	Genedirex (Tayvan)
6	DNA Ladder	DNA moleküler ladder (100- 10000bp)	KAPA (Güney Afrika)

İnsan kanı Bağdat Tıp Şehri kan bankasından tedarik edilmiştir.

3.2 Metot

3.2.1 Ayıraç ve solüsyonların hazırlanması

Katalaz ayıracı, 9 mL distile su içerisine 1mL of %30'luk hidrojen peroksit eklenerek hazırlandı. Son serişimi %3 olan ayıraç koyu renkli şişide karanlıkta saklandı (Prescott *et al.* 2015).

Oksidaz ayıracı 100 mL distile su içine 1g N-N-N-N-tetrametil parapineal diamin dihidroklorit eklenerek hazırlandı.

Bulanıklık ölçümü için McFarland standardı hazırlandı. Bunun için %1,175'lik (a/h) 0,5 mL baryum klorit dihidrat ($BaCl_2.2H_2O$) ve 99,5 mL %1'lik sülfirik asit 10 mL'lik steril cam test tüpüne konularak oda sıcaklığında karanlıkta muhafaza edildi. Absorbans ölçümü için spektrofotometrede 625 nm dalga boyunda okuma yapıldı. Elde edilen 0,08-

0,13 arasındaki değer 1,5 x 10^8 CFU/mL bakteriye eşdeğerdi (Farhan *et al.* 2017 and Finegold 1990).

Jel elektroforez için 10 mg/mL derişimindeki etidyum bromidden 1 g alınarak 100 mL steril distile suyla karıştırıldı ve karanlık ortamda 2-8°C sıcaklıkta saklandı. Tris-borat-EDTA (TBE) hazırlamak için 100 mL solüsyon 900 mL distile su ile karıştırıldı (Sambrook and Russel 2003).

3.2.2 Besi yerlerinin hazırlanması

Kanlı agar üretici firma talimatlarına göre hazırlanıp otoklavlandıktan sonra 50°C'ye soğutuldu. Her 95 ml besi yeri için aseptik olarak alınmış 5 ml steril defibrine insan kanı eklendi. Oda sıcaklığında sertleşene kadar bekletildi ve buzdolabında saklandı (Forbes *et al*. 2007).

Üre agar hazırlamak için 95 ml of ure agar bazı ve 2g üre içeren 5 ml üre solüsyonu steril cam tüp içine konularak karıştırıldı ve buzdolabında saklandı (Forbes *et al*. 2007).

Yarı katı besiyeri için 10 g peptonlu su, 5 g tuz ve 3 g agar 1000 ml distile su içinde çözdürüldü. Her biri 10 mL besi yeri içrecek şekilde cam tüplere porsiyonlandı ve otoklavlandı. Ardından oda sıcaklığında sertleşene kadar bekletilip buzdolabına kaldırıldı (Forbes *et al*. 2007).

Bakteri izolatlarının uzunsüreli saklanması için 80 mL BHI brot 20 mL gliserol ile karıştırıldı ve her biri 10 ml besi yeri içerecek şekilde kapaklı cam tüplere porsiyonlandı. Otoklavlanan tüpler 37°C'ye kadar soğutuldu.

3.2.3 Bakteri izolatlarının saklanması

İki güne kadarki kısa süreli saklama için 4°C'lik buzdolabı kullanıldı. Üç haftaya kadarki saklamalar için bakteriler vidalı kapaklı tüpler kullanılarak beyin kalp infüzyon agar

üzerinde kültürlenip 24 saat inkübe edildi. Ardından 4°C'de saklandı (Rojas *et al*. 2013). Uzun dönem saklama için bakteriler %15'lik gliserolden 2 mL alınarak 8 mL beyin kalp infüzyon brot ile pipetlendi ve 4°C'de tutuldu (Rojas *et al*. 2013).

3.2.4 Konvansiyonel PCR

Konvansiyonel PCR için kullanılan primer bilgileri Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.6 PCR için kullanılan primer bilgileri

Gen	Primer dizisi	Ürün boyutu (pb)
OXA-51	TAATGCTTTGATCGGCCTTG	353
	TCGATTGCACTTCATCTTGG	
ISAbal	CACGAATGCAGAAGTTG	300
	CGACGAATACTATGACAC	
Intl 1	CAGTGGACATAAGCCTGTTC	160
	CCCGAGGCATAGACTGTA	
Intl 2	GTAGCAAACGAGTGACGAAATG	788
	CACGGATATGCGACAAAAAGGT	

3.2.5 Bakteriyel Tanı

Bakteriyel tanının ilk aşaması morfolojik tanıydı. Bunun için izole dilen bakterilerin besi yerindeki koloni şekli, yapısı ve rengi incelendi (Ghaima *et al*. 2015). Ardından tüm bakteri izolatlarına gram boyama yapılarak ışık mikroskobuyla renk ve şekil yönünden incelendi. Bunun ardından biyokimyasal testler uygulandı (Forbes *et al*. 2007).

Oksidaz testi bakterilerin oksidaz üretme kabiliyetini tespit etmek için kullanıldı. Filtre kağıdı oksidaz reaktifi %1'lik N-N-tetrametil parapineal diamin dihidroklorür ile doyuruldu ve bir petri kabına yerleştirildi. Test edilecek bir koloni filtre kağıdına aktarılarak üzerine steril tahta bir çubukla reaktif uygulandı. 20-30 saniye içerisinde mor renk oluşması pozitif, rengin aynı kalması negatif olarak değerlendirildi.

Katalaz testi için saf koloni steril tahta bir çubuk yardımıyla lam üzerine aktarıldı. Ardından koloniye bir damla %3'lük hidrojen peroksit uygulandı. Gaz çıkışı pozitif olarak değerlendirildi.

Kligler demir agar (KIA) besi yeri bakterilerin laktoz ve glikoz gibi şekerleri fermente etme yeteneklerini belirlemek için kullanıldı. MacConkey agarda üreyen bakteri izolatları KIA'da saplama ve sürme yöntemiyle kültüre edildi. 37°C'de 24 saat inkübe edildi.

İndol testi, bakterilerin triptofanı hidrolize ederek metabolik ürünler indol, piruvik asit ve amonyak üreten triptofanaz enzimini üretip üretmediğini tespit etmek için yapıldı. Daha önce MacConkey agar üzerinde üreyen test edilmiş bakteri kültürleri pepton brota inoküle edildi. Ardından 37ºC'de 24 saat inkübe edildi. Kısa bir süre sonra, doğrudan kültür tüpüne 10 damla Kovaks reaktifi eklendi. Hafif çalkalamanın ardından koyu kırmızı bir halka oluşması pozitif olarak yorumlandı (Forbes *et al*. 2007).

Sitrat testi, Simmon's sitrat agar sürme yolu ile test edilen bakteriler steril bir öze ile inoküle edildi ve 37ºC'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda bromotimol mavisinin yeşilden maviye dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi. Bu test, bakterilerin sodyum sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanma yeteneğini belirlemek için uygulandı.

Laktoz fermentasyon testi, Gram negatif bakterileri laktoz fermantasyonu için MacConkey agar besiyerinde büyüterek ayırt etmek için kullanıldı. Alt çalışma bakterisi tarafından inoküle edilen MacConkey agar 37ºC'de 24 saat inkübe edildi. Bu besiyerinde kullanılan gösterge, laktoz fermantasyonundan asit oluşumu sonucunda alkali pH'ta sarıya veya asidik pH'ta pembeye dönüşen nötr kırmızıydı.

Üreaz testi, üreyi analiz eden ve amonyak ve karbondioksit üreten bakterilerin gücünü tespit etmek için kullanıldı. Test edilen bakteriler bir üre agar slantına sürülerek inoküle edildi. 37ºC'de 24 saat inkübe edildi. İnkubasyon sonrası oluşan pembe renk pozitif olarak değerldirildi.

E. coli, K. pneumonia and *A. baumannii*'nin API 20 E ile tanısı için şüpheli *E. coli, K. pneumoniae* ve *A. baumannii*'nin saf bir kolonisi MacConkey agardan alındı. Süspanse edilerek her bir test gözeneğine koyuldu. Ardından mineral yağ eklenerek ve 37°C'de 24 saat inkübe edeldi. Böylece bakterinin anaerobik olup olmadığı test edildi. 24 saatlik inkübasyondan sonra "API 20 E" şerit okuması yapıldı. 1 damla indol reaktifi eklendi ve sonuç 2 dakika sonra değerlendirildi (Forbes *et al.* 2007).

3.2.6 VITEK-2 Sistemi

VITEK-2 sistemi, kendine özel tanımlama kartlarında bulunan besiyerleri ile solüsyonlarında asılı duran bakteri izolatları arasındaki biyokimyasal reaksiyonlara dayanan bir tanımlama sistemi olarak kullanılmaktadır. Bakteri izolatları MacConkey agar plaklarına inoküle edilerek 37ºC'de 1 gece boyunca inkübe edildi. Ardından izole bir koloni alınıp süspanse edildi. Bakteriyel süspansiyonun bulanıklık ölçümü yapıldı. VITEK densichek (BioMerieux) ile %0,45 sodyum klorür içinde McFarland 0,5 standardına uyacak şekilde ayarlandı. Bunu takiben Gram negatif VITEK-2 ID-GN kartı ve bakteriyel süspansiyon tüpleri manuel olarak VITEK-2'e yüklendi (Ling *et al*. 2003).

3.2.7 Genotip tespiti

Bunun için PCR yapıldı. Alınan forward ve reverse primerler imalatçı talimatlarına göre sulandırıldı. Ardından termal döngüleyicide 30 dögülük bri program uygulandı. Program 94ºC'de 20 saniye denatürasyon adımıyla başladı, 58ºC'de 45 saniye ve 72ºC'de 40 saniye tavlama ile devam etti. Ardından 7 dakika boyunca 72°C'de son basamak olacak şekilde uygulandı. Negatif kontrol olarak DNA şablonu olmayan bir PCR karışımı kullanıldı (Spilker *et al*. 2004).

3.2.8 Antimikrobiyal duyarlılık testi

Öncelikle disk difüzyon testi yapıldı. Bu analizde Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanıldı. Bunun için 2-3 izole koloni toplanarak ve 4 mL normal salin içeren bir test

tüpüne yerleştirilip karıştırılarak süspanse edildi. Standart turbidite çözeltisine kıyaslanarak bulanıklığın $1,5x10^8$ CFU/mL (0.5 McFarland) olacak şekilde ayarlandı. Ardından steril bir svap yardımıyla alınan bu süspansiyon dikkatlice Mueller-Hinton agar besiyerine yayıldı. 5-10 dakika beklemenin ardından antimikrobiyal diskler steril forseps ile sıkıca bastırılarak agar üzerine yerleştirildi. 37ºC'de 18-24 saat inkubasyonun ardından disklerin etrafında gelişen inhibisyon zon çapları metrik cetvelle mm'ye göre ölçüldü (Dudley *et al.* 2013).

Her antimikrobiyal ilaç, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tavsiyelerine göre test edildi. İzolatlar, duyarlılık testinin sonuçlarına göre 3 gruba ayrıldı: en az 3 antibiyotik grubu ilaca direnç gösterenler çoklu ilaca dirençli (MDR); 7-8 antibiyotik grubu ilaca direnç gösterenler aşırı ilaca dirençli (XDR) ve hiçbir antibiyotiğe duyarlı olmayanlar pan ilaca dirençli (PDR) olarak sınıflandırıldı (Magiorakos *et al*. 2012).

Disk difüzyon testinin ardından minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) belirlendi. Test için önce standart Muller-Hinton agar seyreltme yöntemine göre sulandırmalar hazırlandı. Bu amaçla hazırlanan sulandırmalar 0,06-32 g/mL aralığında idi. Ardından hazırlanan sulandırmalar otoklavda sterilize edildi. 45°C'ye kadar soğutulan Muller-Hinton agara antibiyotik stok solüsyonundan uygun miktarda ilave edilerek iyice karıştırıldı. Bunun ardından besi yeri petri kaplarına döküldü. İki mL'lik steril tuzlu su içerisine 2-4 bakteri kolonisi aktarılıp vortekste karıştırıldı. Böylece bakteri süspansiyonu hazırlandı. Hazırlanan bu süspansiyonlar, McFarland bulanıklığına göre ayarlanıp her birinden 5 µL alınarak agar yüzeyine eklendi. Petriler 5-10 dakika kurumaya bırakıldı. Ardından 37ºC'de 18-24 saat inkübe edildi. Her izolat ayrıca, pozitif kontrol olarak kullanılmak üzere herhangi bir antibiyotik içermeyen Muller-Hinton agar besiyerinde ve negatif kontrol olarak standart HB101 suşu üzerinde kültürlendi. İnkübasyon sonrası MIC sonuçları okundu (Dudley *et al.* 2013).

3.3 DNA Ekstraksiyonu

3.3.1 Genomik DNA ekstraksiyonu

XDR izolatlarından DNA ekstraksiyonu için ZR Fungal/Bakteriyel DNA MiniPrep Kit (Zymo Research, Irvine, CA, ABD) kullanılarak prosedürüne göre yapıldı.

3.3.2 DNA konsantrasyonu ve saflığının belirlenmesi

The NanoDrop™ 2000 spektrofotometre kullanılarak DNA saflığı belirlendi. Bunun için, her DNA örneğinin 1 µL'si NanoDrop™ spektrofotometreye yerleştirildi. 260 ve 280 nanometre dalga boylarında okuma yapıldı. DNA'nın saflığı, 2 dalga boyunda okunan optik dansitenin birbirine oranıyla (260/280) hesaplandı. 1,7-2,0 arasındaki saflık kabul edildi (Maniatis *et al.* 1978, Sambrook and Russell 2003).

3.3.3 PCR prosedürü

E. coli, K. pneumonia ve *A. baumannii* izolatlarının tespiti için PCR yapıldı. Bunun için son hacim 25 mL olacak şekilde 12,5 mL Green Master Mix 2x, 4 mL ekstrakte edilmiş DNA, 1,5 mL forward ve reverse primerler ile 5,5 mL nükleaz içermeyen su karıştırıldı.

Her monopleks PCR karışımı için programlam, Çizelge 3.7'de gösterildiği gibi ayarlandı. En iyi tavlama sıcaklığı, her bir oligonükleotid primerinin optimizasyon sürecinden geçen bir gradyandan sonra seçildi.

Çizelge 3.7 PCR programı

Gen	İlk denatürasyon	Döngü	Denatürasyon	Tavlama	Uzama	Son uzatma
ISAbal	95°C/ 7 dk	40	95°C/ 1 dk	56°C/ 1	72°C/1 dk	72°C/ 10 dk
Intl 1	95°C/ 5 dk	40	95°C/ 1 dk	59°C/ 1	68°C/1 dk	68°C/ 10 dk
Intl 2	95°C/ 5 dk	40	95°C/ 1 dk	59°C/ 1	68°C/1 dk	68°C/ 10 dk
OXA-51	95°C/ 5 dk	40	95°C/ 30 sn	55°C/ 1	72°C/1 dk	72°C/ 10 dk

3.3.4 Agaroz jel electroforezi

Ekstraksiyondan sonra DNA bantlarını tanımlamak için RedSafe boyası ve bir UV transillüminatör dokümantasyon sistemi kullanılarak elektroforez yapıldı. Bir DNA ladder kullanılarak ilgili bantlar belirlendi.

Önceden hazırlanan 100 mL 1X TBE solüsyonuna 0,8 g ve 1,5 g Agaroz ilave edilerek solüsyon mikrodalgada ısıtıldı. 45-50 °C'ye kadar soğumaya bırakılıp çözeltisiye 4 µL Safe Red boyası eklendi. Elde edilen jel döküm levhasına döküldü. 30 dk soğutmanın ardından jel kullanıma hazırdı (Sambrook and Russel 2003).

Jelin üzerine TBE döküldü, rezervuar kapatıldı ve elektroforez, boya jelin karşı tarafına ulaşana kadar 1-2 saat 7 V/cm^2 elektrik akımında yapıldı (Sambrook *et al*. 2003).

3.3.5 PCR ürünlernin dizilenmesi

Sekanslama, Bosystems (California) uygulamalı 3730 xl DNA analizörleri kullanılarak makrogen DNA sekanslama (Seul, Kore) aracılığıyla başarılı bir şekilde yürütüldü. *blaOXA-51*'den 1 örnek, *ISAba1*'den 2 örnek, *Intl-1* ve *Intl-2*'den 1'er örnek, forwarding primer ile 17 pmol/µL polimeraz zincir reaksiyonu üreten her bir gen ayrı ayrı seçildi ve dizilendi.

3.3.6 Nükleotit dizilerinin hizalanması

İncelenen genlerin her birinde beklenen amplifikasyon boyutuna eşdeğer olan amplifiye edilmiş PCR fragmanlarının DNA dizilimi, ortaya çıkan düşük kaliteli diziler silindikten sonra makrogen şirketinde (Macrogen Research, Seul, Kore) gerçekleştirildi. Sonuç aldığımızda, DNA dizileri arasındaki benzerliği bulmak için NCBI'de temel hizalama işlemini gerçekleştirdiğimiz BLAST programını kullanarak verileri analiz ettik.

3.3.7 İstatistik analiz

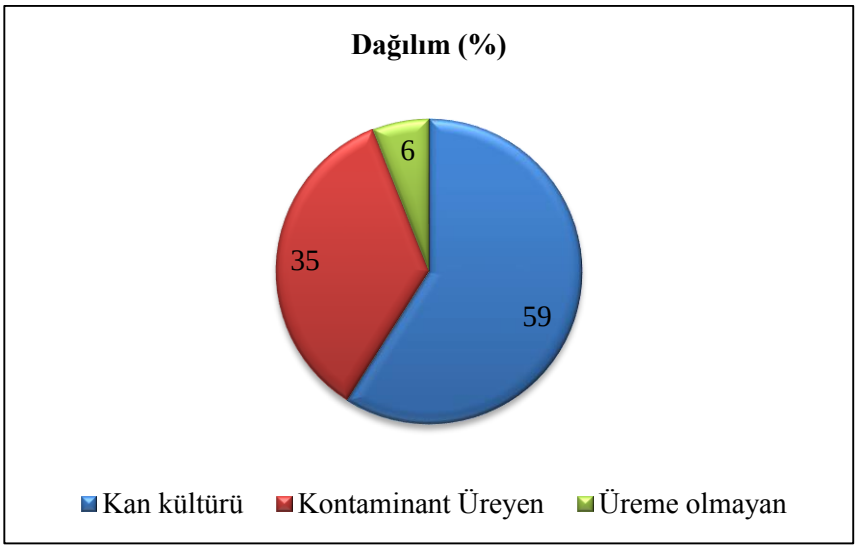
Verilerin analizinde IBM SPSS v.24 ve Microsoft® Excel® 2019 MSO yazılımı kullanıldı. 0,05 ve 0,01 olasılık yüzdeleri arasında karşılaştırma yapmak için ki-kare testi kullanıldı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Bakteriyel Etkenlerin İzolasyonu ve Tanımlanması

Araştırmada kullanılacak kan örnekleri Ağustos-Kasım 2021 tarihleri arasında Çocuk Eğitim Hastanesi, Bağdat Eğitim Hastanesi, Ghazy Al-Hariri Hastanesi ve Eğitim Laboratuvarları'na (Medical City) sevk edilen septisemi teşhisi konulmuş 150 bebekten toplandı ve hiç beklenmeden inokulasyon yapıldı.

Şekil 4.1'de gösterildiği gibi, çocuk yoğun bakım ünitesi (PICU) hastalarından alınan 150 kan kültürünün 88'inde (%58,66) üreme olurken, 9'unda (%6) kontaminant üredi ve 52'sinde (%34,66) bakteri üremesi görülmedi.



Şekil 4.1 Kültürü yapılan örneklerde bakteri üremesi

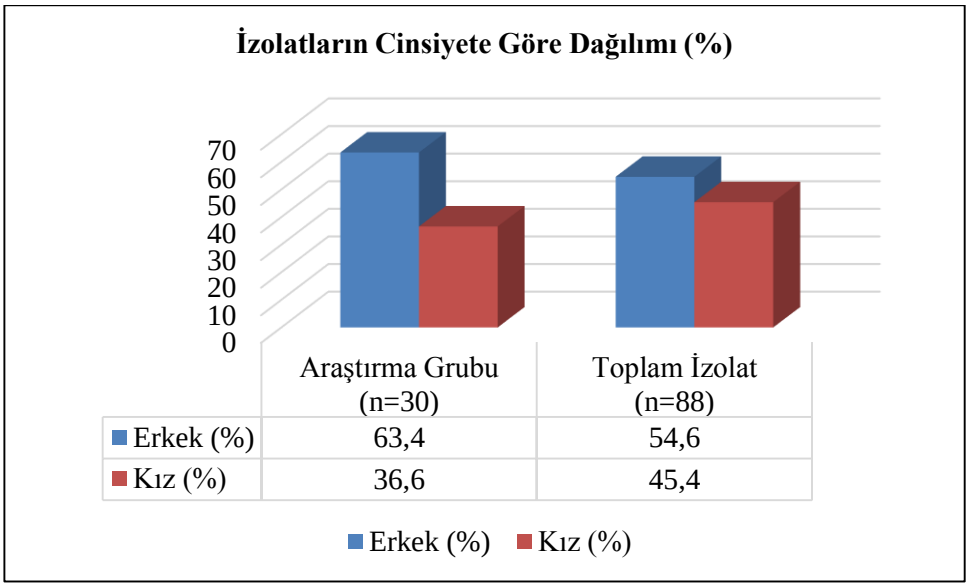
Çizelge 4.1'de gösterildiği gibi toplam 88 yenidoğana ait kan örneğinden 34'ü hastanede doğan bebek (HDB), 54'ü ise evde doğan bebek (EDB)'lerden alınmıştı. Toplam 88 örneğin 48'i erkek ve 40'ı kız çocuklara aitti (Çizelge 4.1). Örneklerin 30'unun Gram negatif olduğu tespit edildi. Bunun 13'ü yenidoğan 17'si ise EDB'ye aitti. Cinsiyet dağılımı ise 19 erkek, 11 kız çocuk şeklindeydi (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2).

Çizelge 4.1 EBD ve HDB karşılaştırması

Parametre	Toplam Örnek (n=88)	Çalışma Grubu (n=30)
EDB	54 (61.36%)	17 (56.6%)
HDB	34 (38.36%)	13 (43.3%)
Ki-kare	13.71	
P-değeri	0.004	

Çizelge 4.2 Örneklerde cinsiyete bağlı dağılım

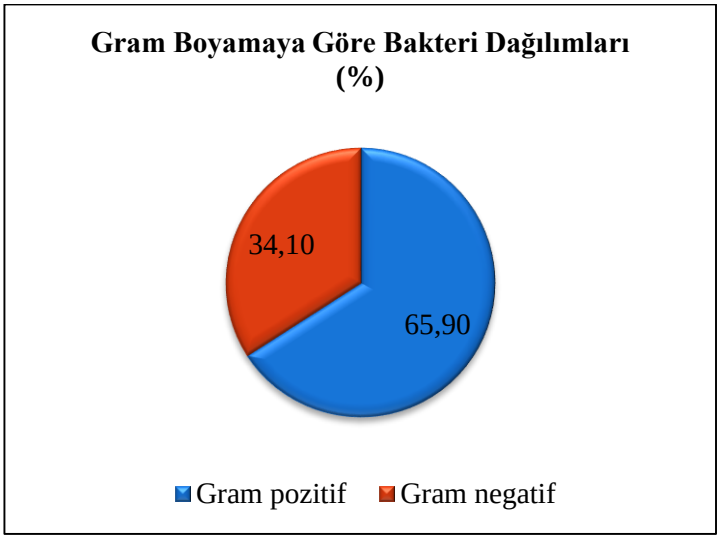
Cinsiyet	Toplam Örnek (n=88)	Çalışma Grubu (n=30)
Erkek	48 (54.5%)	19 (63.3%)
Kız	40 (45.4%)	11 (36.6%)
Ki-kare	10.90	
P-değeri	0.008	



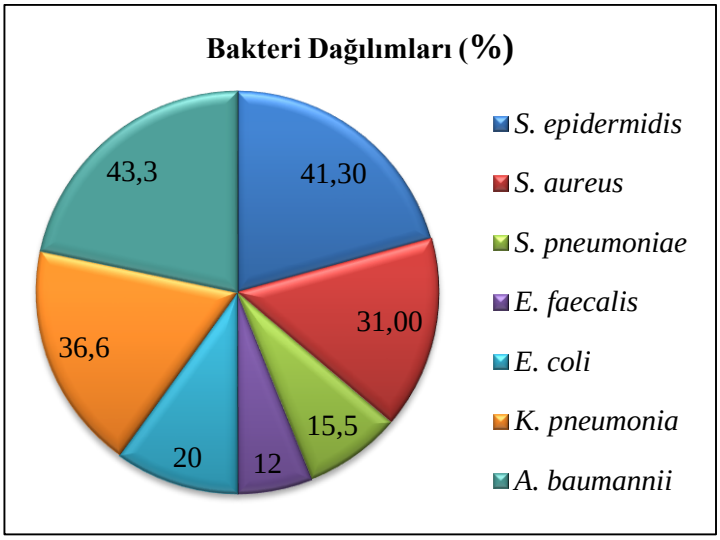
Şekil 4.2 Gram pozitif ve Gram negatif izolatların cinsiyete göre dağılımı

Toplam 58 Gram pozitif bakteri izolatı içinde 24 (%41,4) *Staphylococcus epidermidis*, 18 (%31) *Staphylococcus aureus*, 9 (%15,5) *Streptococcus pneumoniae* ve 7 (%12) *Enterococcus faecalis* tanımlandı. Toplam 30 Gram negatif bakteri izolatı içinde ise 6 (%20) *E. coli*, 11 (%36,6) *K. pneumoniae* ve 13 (%43,3) *A. baumannii* tanımlandı. Gram

pozitif ve Gram negatif izolat dağılımı Şekil 4.3'te toplam izolat içinde tanımlanan bakteri dağılımları ise Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.3 Gram pozitif ve Gram negatif izolat dağılımı

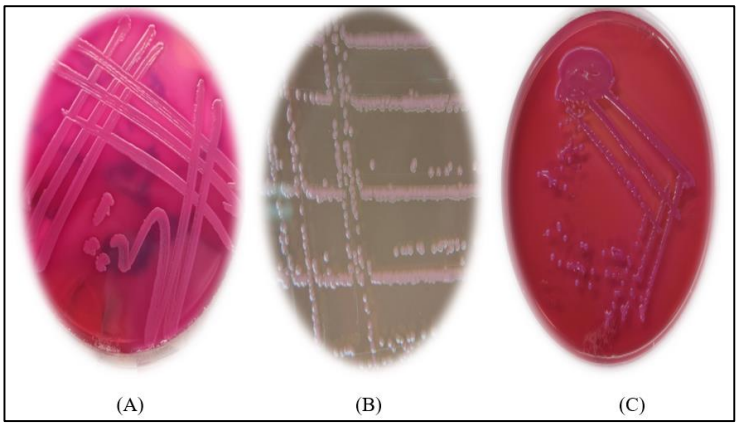


Şekil 4.4 İzolatlarda tanımlanan bakterilerin dağılımları

4.1.1 Kültür sonuçları

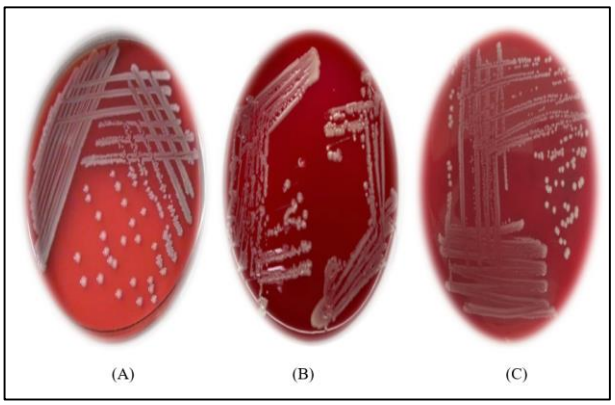
Kültürlenen örneklerin tanımlanması: Toplanan tüm örnekler ilk önce kanlı agar ve MacConkey agarda üretildi. *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* MacConkey agarda tiplendirildi.

MacConkey agarda 37ºC'de 18-24 saat inkubasyon sonrası üreyen *E. coli* kolonileri pembe, dairesel, nemli, pürüzsüz, tam kenarlı, mukoid olmayan koloniler oluşturdu. *K. pneumoniae* pembe renkli ve laktoz fermantasyonu nedeniyle mukoid koloniler oluşturdu. *A. baumannii* 1-2 mm çapında küçük, fermente olmayan laktoz şeker kristalleri üzerinde pürüzsüz, yuvarlak, mukoid koloniler oluşturdu. Koloniler Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5 MacConkey agar'da üreyen bakterilerin koloni yapısı: (A) *E. coli*, (B) *K. pneumoniae* ve (C) *A. baumannii*

Kanlı agar inokulasyonu sonucu üreyen kolonilerden *E. coli* olan mukoid kolinilerin bazıları hemoliz gösterdi. *K. pneumoniae*'ye ait olan koloniler hemolitik olmayan, gri-beyaz renkli ve mukoid yapıdaydı. *A. baumannii*'ye ait koloniler ise beyazdan griye kadar değişen renkte, küçük ve hemolitik olmayan görüntüdeydi (Şekil 4.6).

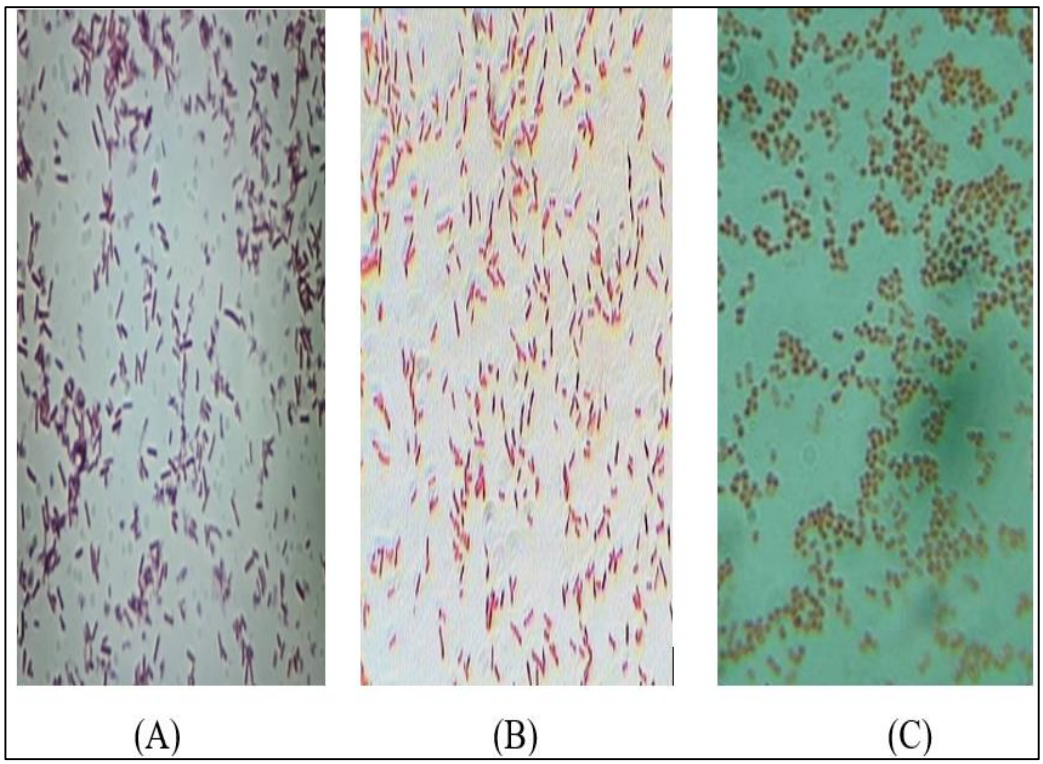


Şekil 4.6 K agar'da üreyen bakterilerin koloni yapısı: (A) *E. coli*, (B) *K. pneumoniae* ve (C) *A. baumannii*

4.1.2 Mikroskopik bakı sonuçları

MacConkey agar'dan elde edilen izolatlara Gram boyama yapıldı. *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* Gram negatif kokobasil yapıda teşhis edildi.

E. coli, pembe-gri renkte, dairesel; *K. pneumoniae*, mukuslu pembe mukoza zarlı; *A. baumannii* ise mavi veya mor renkli göründü (Şekil 4.7).



Şekil 4.7 Işık mikroskobu (1000 X): (A) *E. coli*, (B) *K. pneumoniae* and (C) *A. baumannii*

4.1.3 Biyokimyasal test sonuçları

Biyokimyasal test sonuçları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Buna göre *E. coli* oksidaz, indol, üreaz, sitrat ve H_2S negatif; motilite ve katalaz testinde pozitif sonuç verdi. *K. pneumoniae* oksidaz, motilite, katalaz, indol ve H_2S negatif; üreaz, sitrat ve asit pozitif sonuç verdi. *A. baumannii* oksidaz, motilite ve H_2S negatif; katalaz, indol, üreaz, sitrat ve alkali pozitif sonuç verdi.

Çizelge 4.3 Biyokimyasal test sonuçları

Biyokimyasal Test	***E. coli***	***K. pneumoniae***	***A. baumannii***
Katalaz üretimi	+	v	+
Sitrat kullanımı	-	+	+
İndol üretimi	+	-	-
Metil kırmızısı (MR)	-	-	+
Vogesproskauer (VP)	+	+	-
Hareketlilik	+	-	-
Oksidazüretimi	-	-	-
Üreaz üretimi	-	+	-
H_2S	-	-	-
Gaz	+	+	-
A/A	++	++	K/NC

(+): Pozitif sonuç, (-): Negatif sonuç, A: Asit üretimi, K: Alkali, NC: Değişiklik bulunmaması, V: Değişken sonuç.

4.2 Antibiyotik duyarlılığı

İzolatlar için antibiyotik duyarlılık testi disk difüzyon testi kullanılarak yapıldı. Her suşun antibakteriyel ilaçlara duyarlılığı veya direnci CLSI 2021 yönergelerine göre belirlendi. İzolatların çoğunun test edilen antibiyotiklere karşı yüksek oranda direnç gösterdiği tespit edildi.

4.2.1 *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılığı

Toplam 6 *E. coli* izolatında tespit edilen antibiyotik direnç durumu Çizelge 4.4'te verildiği gibi trimetoprim/sülfametoksazol, piperasilin/tazobaktam, siprofloksasin ve ampisilin/sülbaktama karşı %83,33 oranındadır. Bunu sırasıyla %66,67 ile seftriakson, sefazolin, seftazidim, amikasin ve tobramisin; %50 sefepim, aztreonam, imipenem ve gentamisin; %33,33 ile levofloksasin, meropenem ve ertapenem; %16,67 ile tigesikline karşı dirençli bulundu.

Çizelge 4.4 *E. coli* izolatlarının antibakteriyel duyarlılığı

Antibiyotik	Direnç		Yarı Duyarlılık		Duyarlılık	
	n	%	n	%	n	%
Trimetoprim/ sülfametoksazol	5	%83,33	0	-	1	%16,67
Piperasilin/tazobaktam	5	%83,33	0	-	1	%16,67
Ampisilin/sülbaktam	5	%83,33	1	%16,67	0	-
Siprofloksasin	5	%83,33	0	-	1	%16,67
Sefazolin	4	%66,67	1	%16,67	1	%16,67
Seftriakson	4	%66,67	0	-	2	%33,33
Seftazidim	4	%66,67	1	%16,67	1	%16,67
Amikasin	4	%66,67	0	-	2	%33,33
Tobramisin	4	%66,67	1	%16,67	1	%16,67
Sefepim	3	%50,00	1	%16,67	2	%33,33
Aztreonam	3	%50,00	0	-	3	%50,00
Gentamisin	3	%50,00	1	%16,67	2	%33,33
İmipenem	3	%50,00	1	%16,67	2	%33,33
Levofloksasin	2	%33,33	2	%33,33	2	%33,33
Meropenem	2	%33,33	1	%16,67	3	%50,00
Ertapenem	2	%33,33	1	%16,67	3	%50,00
Tigesiklin	1	%16,67	1	%16,67	4	%66,67

4.2.2 *K. pneumoniae* izolatlarının antibiyotik duyarlılığı

Toplam 11 *K. pneumoniae* izolatında tespit edilen antibiyotik direnç durumu Çizelge 4.5'te verilmiştir. İzolatların trimetoprim/sülfametoksazol ve piperasilin/tazobaktama karşı %72,73; ampisilin/sülbaktam, sefazolin, seftriakson ve seftazidime karşı %63,64; sefepim, aztreonam ve tobramisine karşı %54,55; gentamisin, amikasin, levofloksasin ve siprofloksasine karşı %45,45; imipenem ve meropenem'e karşı %36,36; tigesikline karşı %27,27 olarak tespit edildi.

Çizelge 4.5 *K. pneumoniae* izolatlarının antibakteriyel duyarlılığı

Antibiyotik	Direnç		Yarı Duyarlılık		Duyarlılık	
	n	%	n		n	%
Trimetoprim/ sülfametoksazol	8	%72,73	2	%18,18	1	%9,09
Piperasilin/tazobaktam	8	%72,73	1	%9,09	2	%18,18
Ampisilin/sülbaktam	7	%63,64	3	%27,27	1	%9,09
Sefazolin	7	%63,64	2	%18,18	2	%18,18
Seftriakson	7	%63,64	3	%27,27	1	%9,09
Seftazidim	7	%63,64	1	%9,09	3	%27,27
Sefepim	6	%54,55	3	%27,27	2	%18,18
Aztreonam	6	%54,55	4	%36,36	1	%9,09
Gentamisin	5	%45,45	3	%27,27	3	%27,27
İmipenem	4	%36,36	5	%45,45	2	%18,18
Amikasin	5	%54,55	4	%36,36	2	%18,18
Tobramisin	6	%54,55	2	%18,18	3	%27,27
Levofloksasin	5	%45,45	4	%36,36	2	%18,18
Siprofloksasin	5	%45,45	5	%45,45	1	%9,09
Meropenem	4	%36,36	3	%27,27	4	%36,36
Tigesiklin	3	%27,27	3	%27,27	5	%45,45

4.2.3 *A. baumannii* izolatlarının antibiyotik duyarlılığı

Toplam 11 *A. baumannii* izolatında tespit edilen antibiyotik direnç durumu Çizelge 4.6'te verildiği gibi piperasilin/tazobaktama %69,23; trimetoprim/sülfametoksazol, tikarsilin/klavulanat ve siprofloksasin %61,54; seftazidime, sefotaksim ve doksisikline %53,85; meropenim, sefepim ve tetrasikline %46; imipenem, tobramisin ve amikasine %38,46; levofloksasine %30,77'dir.

E. coli, *K. pneumoniae* ve *A. Baumanni* için CLSI 2021'de belirlenmiş olan MIC değerleri Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.6 *A. baumannii* izolatlarının antibakteriyel duyarlılığı

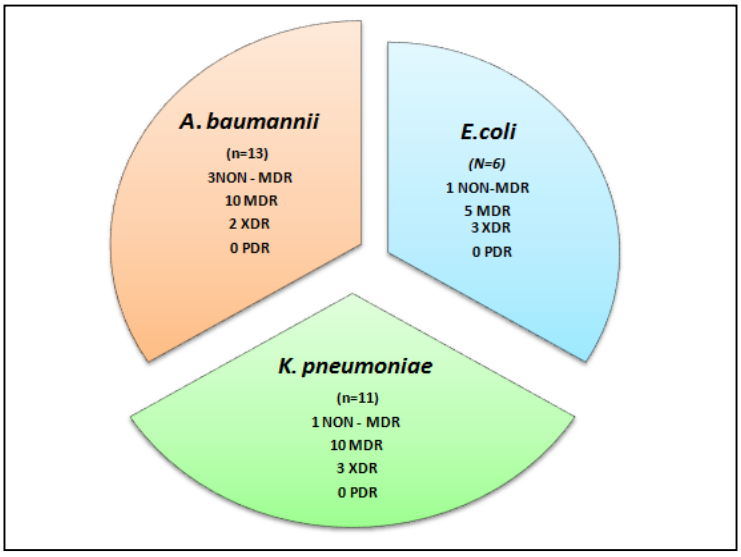
Antibiyotik	Direnç		Yarı Duyarlılık		Duyarlılık	
	n	%	n		n	%
Piperasilin/tazobaktam	9	%69,23	2	%15,38	2	%15,38
Trimetoprim/ sülfametoksazol	8	%61,54	1	%7,69	4	%30,77
Tikarsilin/Klavulanat	8	%61,54	3	%23,08	2	%15,38
Siprofloksasin	8	%61,54	3	%23,08	2	%15,38
Seftazidim	7	%53,85	2	%15,38	4	%30,77
Sefotaksim	7	%53,85	2	%15,38	4	%30,77
Doksisiklin	7	%53,85	3	%23,08	3	%23,08
Meropenem	6	%46,15	2	%15,38	5	%38,46
Sefepim	6	%46,15	3	%23,08	4	%30,77
Tetrasiklin	6	%46,15	4	%30,77	3	%23,08
İmipenem	5	%38,46	3	%23,08	5	%38,46
Tobramisin	5	%38,46	3	%23,08	5	%38,46
Amikasin	5	%38,46	2	%15,38	6	%46,15
Levofloksasin	4	%30,77	2	%15,38	7	%53,85

Çizelge 4.7 MIC değerine göre duyarlılık değerlendirmesi (mm) (Anonim, 2021)

Antibiyotik	*E. coli*	*K. pneumoniae*	*A. Baumanni*
Ampisilin/sülbaktam	≥64	≥64	-
Piperasilin/tazobaktam	≥64	≥128	≥128
Sefazolin	≥128	≥128	≥128
Seftazidim	≥32	≥128	≥64
Seftriakson	≥64	≥64	-
Sefepim	≥32	≥64	≥32
Aztreonam	≥32	≥64	≥64
İmipenem	≤0,25	≥32	≥32
Meropenem	≥32	≥32	≥32
Amikasin	≥32	≥64	≥64
Gentamisin	≥64	≥32	-
Tobramisin	≥32	≥32	≥32
Siprofloksasin	≥64	≥32	≥32
Levofloksasin	≥32	≥32	≤0,5
Tetrasiklin	-	-	≥64
Trimetoprim/Sülfametoksazol	≥32	≥32	≥32
Ertapenem	≥32	-	-
Tigesiklin	≤0,5	≤0,25	-
Doksisiklin	-	-	≥64
Sefotaksim	-	-	≥64

Tespit edilen MDR oranları *E. coli*'de %83,33 *K. pneumoniae*'de %90,91; *A. baumannii*'de %76,62 idi. Sonuç olarak, tüm E. coli, *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* izolatlarını MDR olmayan ve MDR dahil olmak üzere iki ana kategoride sınıflandırmak çok önemliydi. MDR, MDR, XDR ve PDR dahil olmak üzere üç kategoride sınıflandırıldı. Sınıflandırma, Magiorakos ve arkadaşlarının belirttiği kriterlere göre yapılmıştır (2012). *E. coli, K. pneumoniae* ve *A. baumannii* izolatları ilk etapta MDR olarak sınıflandırıldı ancak bunların büyük çoğunluğu direnç profillerine bağlı olarak Şekil 4.11'de gösterildiği gibi ve aşağıdaki gibi XDR'ye ve hatta PDR'ye dönüştürüldü:

Tüm antimikrobiyallerden yalnızca 2'sine duyarlı oldukları için XDR olarak sınıflandırılan izolat oranları *E. coli*'de %50, *K. pneumoniae*'de %18,18 ve *A. baumannii*'de %15,38 olarak belirlendi. Bu bakteri izolatlarında hiç PDR tespit edilmedi (Şekil 4.8).

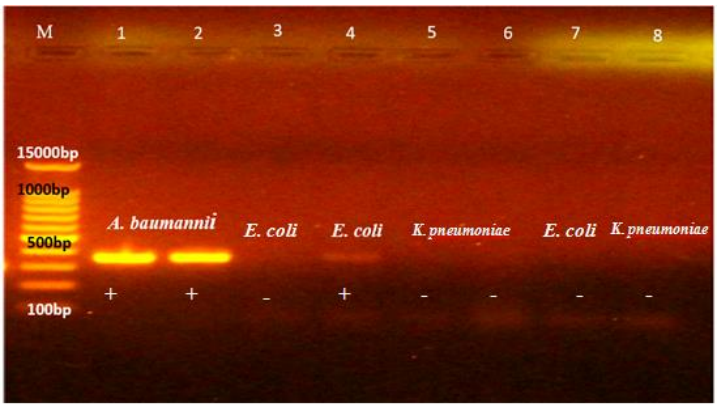


Şekil 4.8 İzolatların MDR durumlarına göre dağılımları

4.3 Genetik Çalışma Sonuçları

4.3.1 *blaOXA-51* geni sonuçları

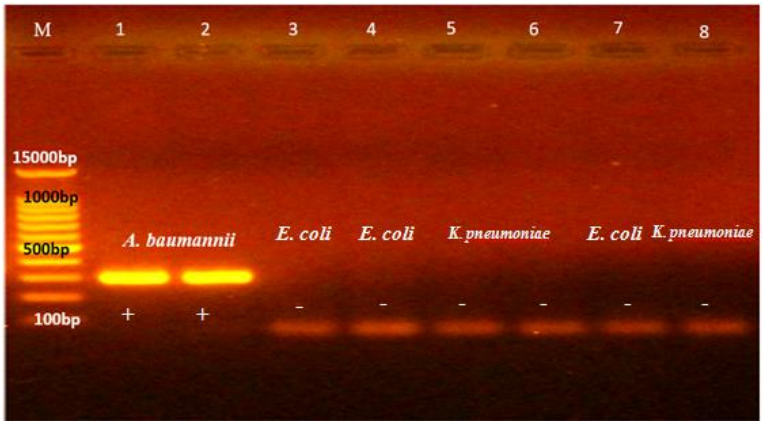
Karbapenemi hidrolize eden *blaOXA-51* geni yönünden *K. pneumoniae* izolatları negatif sonuç vermiştir. *E. coli*'de ise zayıf olarak tespit edilmiştir. *A. baumannii* izolatları ise pozitif sonuç vermiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 *blaOXA-51* geni jel elektroforezi sonucu

4.3.2 *ISAba1* geni sonuçları

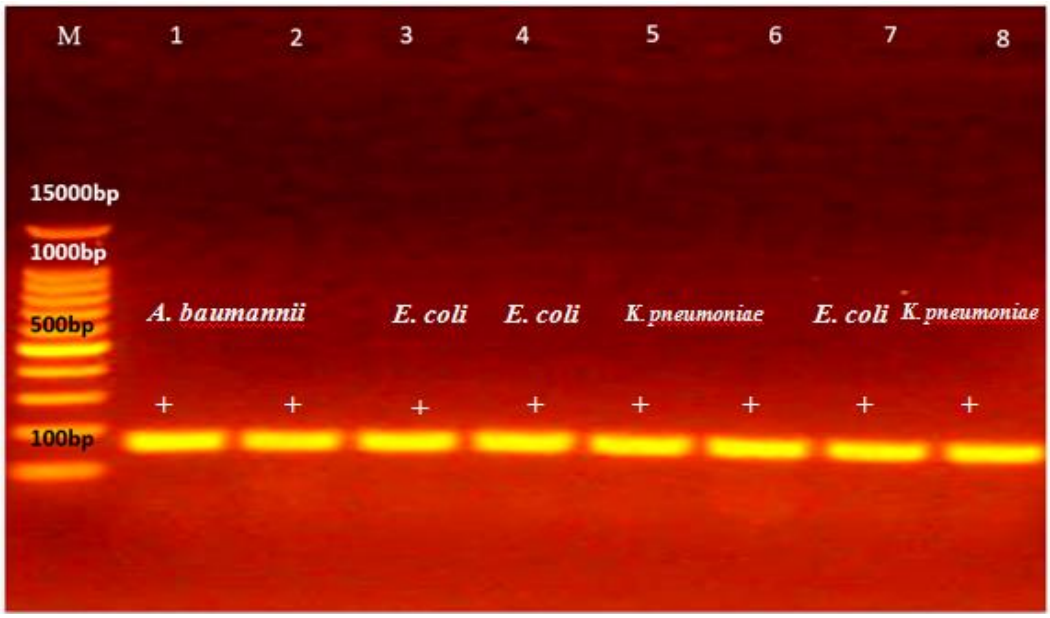
ISAba1 geni, *A. baumannii* XDR izolatlarında belirlendi, *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarında ise belirlenemedi (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 *ISAba1* geni jel elektroforezi sonucu

4.3.3 *Intl-1* geni sonuçları

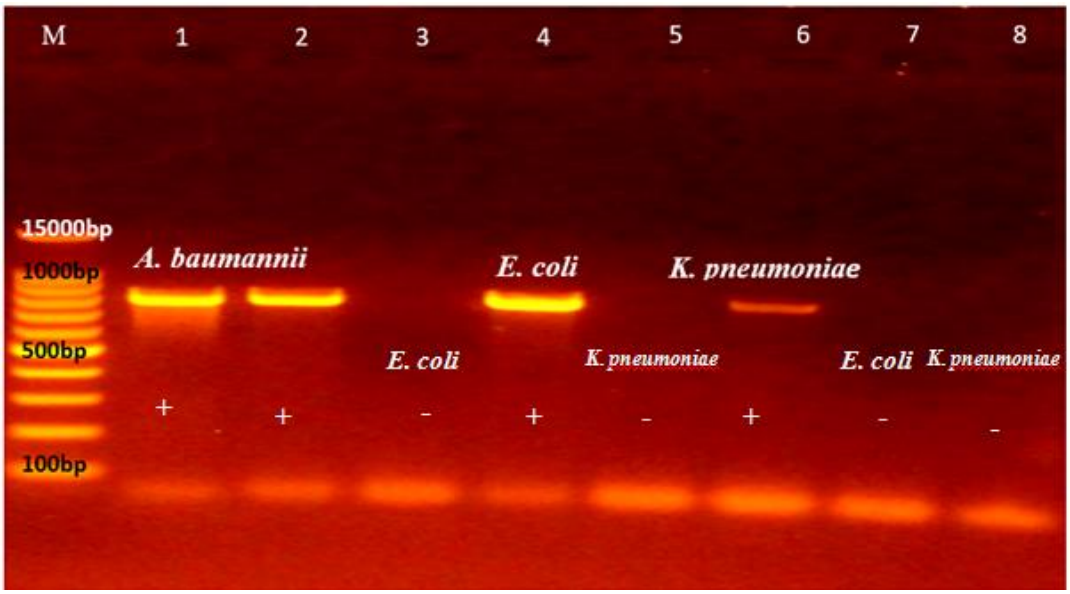
E. coli, *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* izolatlarında integron geni *Intl-1* pozitif olarak tespit edildi. Bu genin prevalansı, BSI'lı hastalarda anlamlı olarak daha yüksekti (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 *Intl-1* geni jel elektroforezi sonucu

4.3.4 *Intl-2* geni sonuçları

Intl-2 geni XDR *A. baumannii* izolatlarının tamamında ve bazı *E. coli* izolatlarında pozitif, *K. pneumoniae* izolatlarının bazılarında ise zayıf pozitif sonuç vermiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12 *Intl-2* geni jel elektroforezi sonucu

4.3.5 PCR ürünlerinin dizilenmesi

İncelenen genlerin monopleks PCR ürünlerin dizileme, Macrogen Research tarafından yapıldı ve doğrulandı.

blaOXA-51 geni dizileme NCBI'de BLAST yazılımı ile analiz edildi. Hint izolatı (Erişim no. MK807117.1.) *A. baumannii* suşu *STM51 OXA* familyası beta-laktamaz *blaOXA*-51 geni ile hizalama sonucu Şekil 4.13'te gösterilmektedir. Nükleotit afinitesinde yer alan diziler, orijinal izolatlarla %100 özdeşti. Çizelge 4.8 *A. baumannii* X1 izolatının *blaOXA-51* geninin nükleotitlerinin değişmediğini göstermektedir. Sanger dizileme sonuçları Şekil 4.14'de gösterilmektedir.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
411 bits(222)	6e-113	222/222(100%)	0/222(0%)	Plus/Plus

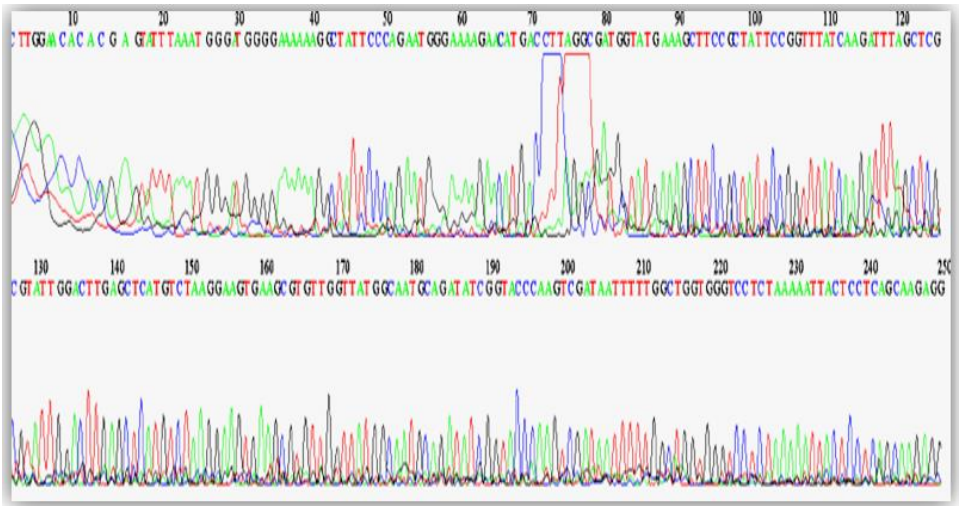
```
Query  1    GCTTCCGCTATTCCGGTTTATCAAGATTTAGCTCGTCGTATTGGACTTGAGCTCATGTCT  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  300  GCTTCCGCTATTCCGGTTTATCAAGATTTAGCTCGTCGTATTGGACTTGAGCTCATGTCT  359

Query  61   AAGGAAGTGAAGCGTGTTGGTTATGGCAATGCAGATATCGGTACCCAAGTCGATAATTTT  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  360  AAGGAAGTGAAGCGTGTTGGTTATGGCAATGCAGATATCGGTACCCAAGTCGATAATTTT  419

Query  121  TGGCTGGTGGGTCCTCTAAAAATTACTCCTCAGCAAGAGGCACAGTTTGCTTACAAGCTA  180
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  420  TGGCTGGTGGGTCCTCTAAAAATTACTCCTCAGCAAGAGGCACAGTTTGCTTACAAGCTA  479

Query  181  GCTAATAAAACGCTTCCATTTAGCCAAAAAGTCCAAGATGAA  222
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  480  GCTAATAAAACGCTTCCATTTAGCCAAAAAGTCCAAGATGAA  521
```

Şekil 4.13 *blaOXA-51* geni ile hizalama sonucu (*A. baumannii*)



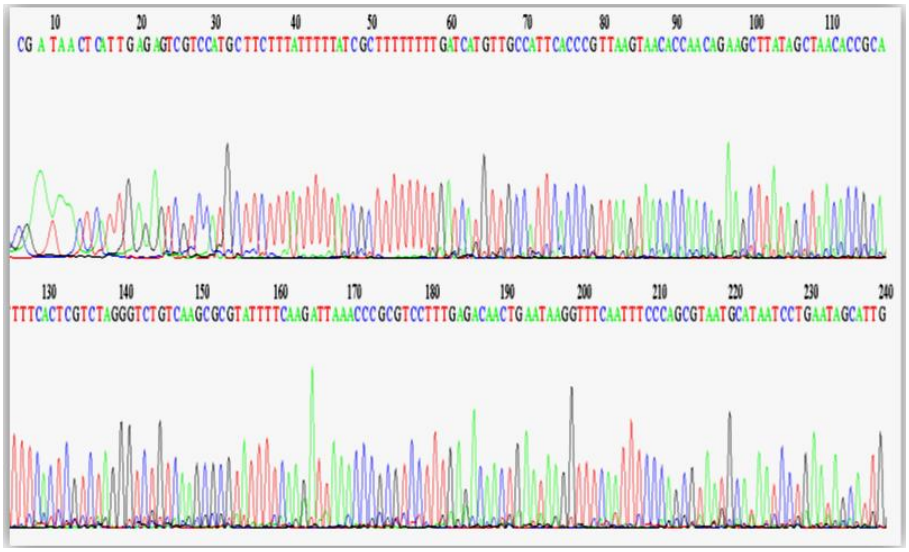
Şekil 4.14 Sanger dizileme sonucu (*A. baumannii*)

ISAba1 geni dizileme, Avustralya izolatı *A. baumannii* suşu B9 kromozomu ile hizalama sonucu Şekil 4.15'de gösterilmektedir. Nükleotit sekanslarının CP059548.1 ana izolatlarınınkine benzer olduğu belirlendi. Çizelge 4.8'de *A. baumannii*'den elde edilen *ISAba1*'deki nükleotitlerin X1 izolatından farklı olmadığı ortaya konmaktadır.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
111 bits(60)	1e-23	60/60(100%)	0/60(0%)	Plus/Plus

```
Query  1       TTGAAACCTTATTCAGTTGTCTCAAAGGACGCGGGTTTAATCTTGAAAATACGCGCTTGA 60
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  922142  TTGAAACCTTATTCAGTTGTCTCAAAGGACGCGGGTTTAATCTTGAAAATACGCGCTTGA 922083
```

Şekil 4.15 Avustralya izolatı *A. baumannii* suşu B9 kromozomu ile hizalama sonucu



Şekil 4.16 *ISAba1* Sanger dizileme sonucu (*A. baumannii*)

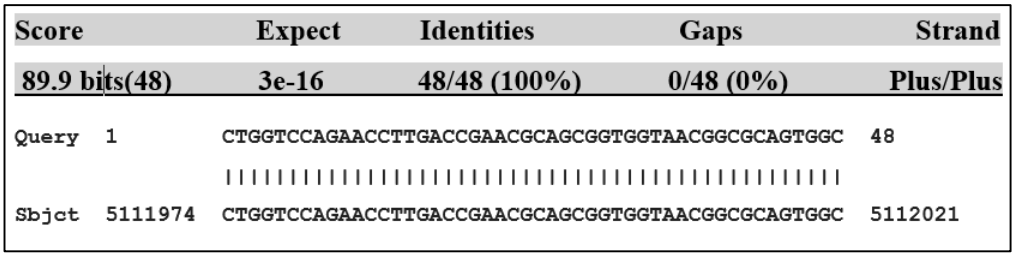
Intl-1 geni dizileme BLAST yazılımı kullanılarak işlendi. Şekil 4.17 Çin izolatı *A. baumannii* suşu ABF9692 kromozomunun hizalama sonucunu göstermektedir. Ana izolatlar ile karşılaştırıldığında izolatlar arasındaki benzerliğin nükleotitlerde %100 olduğu görülmüştür. Çizelge 4.8, nükleotidlerin *A. baumannii* X1 ve X2 izolatlarından *Intl-1*'i değiştirmediğini göstermektedir. Sanger dizileme sonuçları Şekil 4.17'de gösterilmektedir.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
89.9 bits(48)	4e-17	48/48 (100%)	0/48 (0%)	Plus/Plus

```
Query  1       CTGGTCCAGAACCTTGACCGAACGCAGCGGTGGTAACGGCGCAGTGGC  48
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  150881  CTGGTCCAGAACCTTGACCGAACGCAGCGGTGGTAACGGCGCAGTGGC  150928
```

Şekil 4.17 *Intl-1* hizalama sonucu (*A. baumannii*)

Güney Afrika'dan *E. coli* suşu 131 kromozomunun kullanıldığı hizalama sonucu Şekil 4.18'de gösterilmektedir (Erişim numarası CP093011.1). Dizinin referans izolatlarla nükleotit homolojisinin %100 olduğu bulundu. *E. coli*'den *Intl-1*, Çizelge 4.8'de gösterildiği gibi nükleotitlerde farklılık göstermedi. X3 ve X7 izolatları Sanger dizileme verileri Şekil 4.21'de gösterilmektedir.

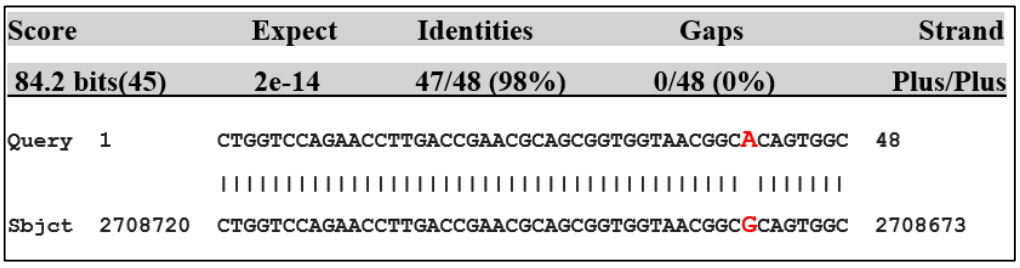


Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
89.9 bits(48)	3e-16	48/48 (100%)	0/48 (0%)	Plus/Plus

```
Query  1        CTGGTCCAGAACCTTGACCGAACGCAGCGGTGGTAACGGCGCAGTGGC  48
                ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  5111974  CTGGTCCAGAACCTTGACCGAACGCAGCGGTGGTAACGGCGCAGTGGC  5112021
```

Şekil 4.18 *Intl-1* hizalaması sonucu (*E. coli*)

BLAST programında arama yapıldığında Çin'in "CP060979.1" numaralı izolatlara sahip olduğu tespit edildi. Şekil 4.19 ve Çizelge 4.8'de gösterildiği gibi Çin'den gelen *EC3* suşundan bir *E. coli* kromozomu içeren X4 izolatından nükleotit yüzdesindeki değişim ve izolatımız ile diğer izolat arasındaki uyum oranının her ikisi de %97 idi. Şekil 4.21 Sanger dizileme sonuçlarını göstermektedir.



Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
84.2 bits(45)	2e-14	47/48 (98%)	0/48 (0%)	Plus/Plus

```
Query  1        CTGGTCCAGAACCTTGACCGAACGCAGCGGTGGTAACGGCACAGTGGC  48
                ||||||||||||||||||||||||||||||||||||| |||||||
Sbjct  2708720  CTGGTCCAGAACCTTGACCGAACGCAGCGGTGGTAACGGCGCAGTGGC  2708673
```

Şekil 4.19 *Intl-1* hizalaması sonucu (*E. coli*)

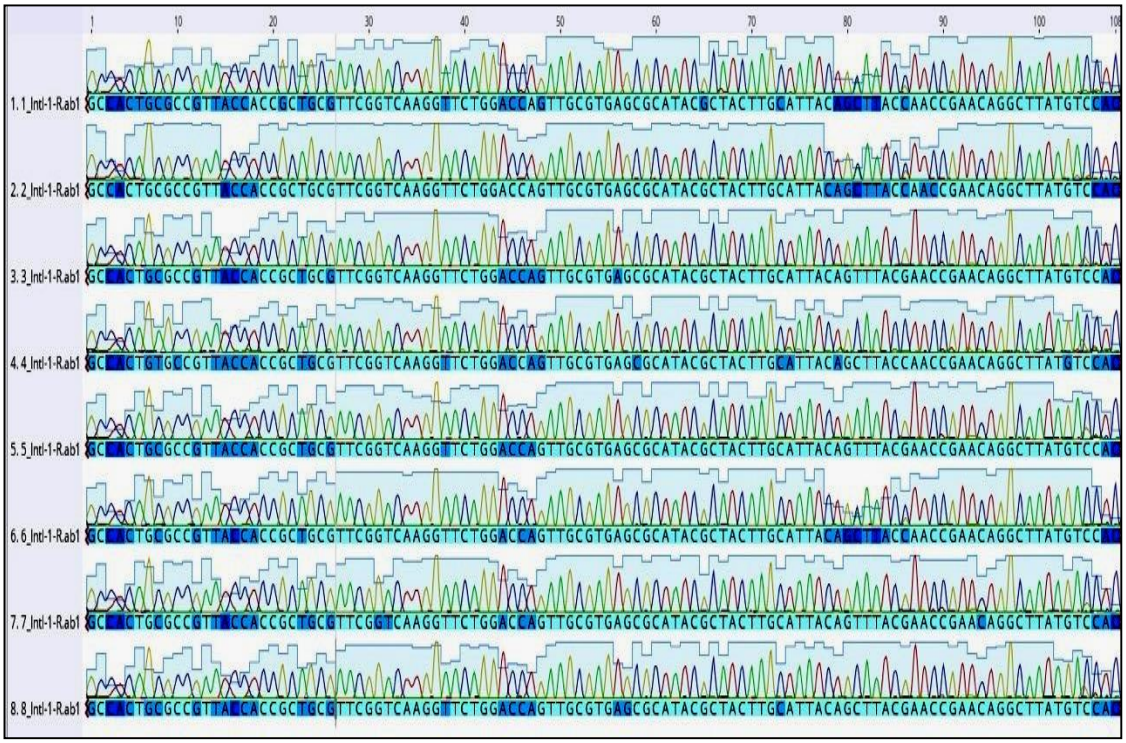
Diziyi değerlendirmek için NCBI'nin BLAST yazılımı kullanıldı. Şekil 4.20, Çin izolatı, *K. pneumoniae* suşu WCHKP115038, kromozomu ile hizalama sonucunu göstermektedir. Dizilerin, standart izolatlara %100 homolog nükleotit olduğu doğrulandı. Çizelge 4.8, nükleotitlerin *K. pneumoniae* X5, X6 ve X8 izolatlarında *Intl-1*'in değişmediğini göstermektedir. Sanger dizileme sonuçları Şekil 4.21'de gösterilmektedir.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
200 bits(108)	3e-49	108/108 (100%)	0/108 (0%)	Plus/Plus

```
Query  1        GCCACTGCGCCGTTACCACCGCTGCGTTCGGTCAAGGTTCTGGACCAGTTGCGTGAGCGC  60
               ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  3125354  GCCACTGCGCCGTTACCACCGCTGCGTTCGGTCAAGGTTCTGGACCAGTTGCGTGAGCGC  3125413

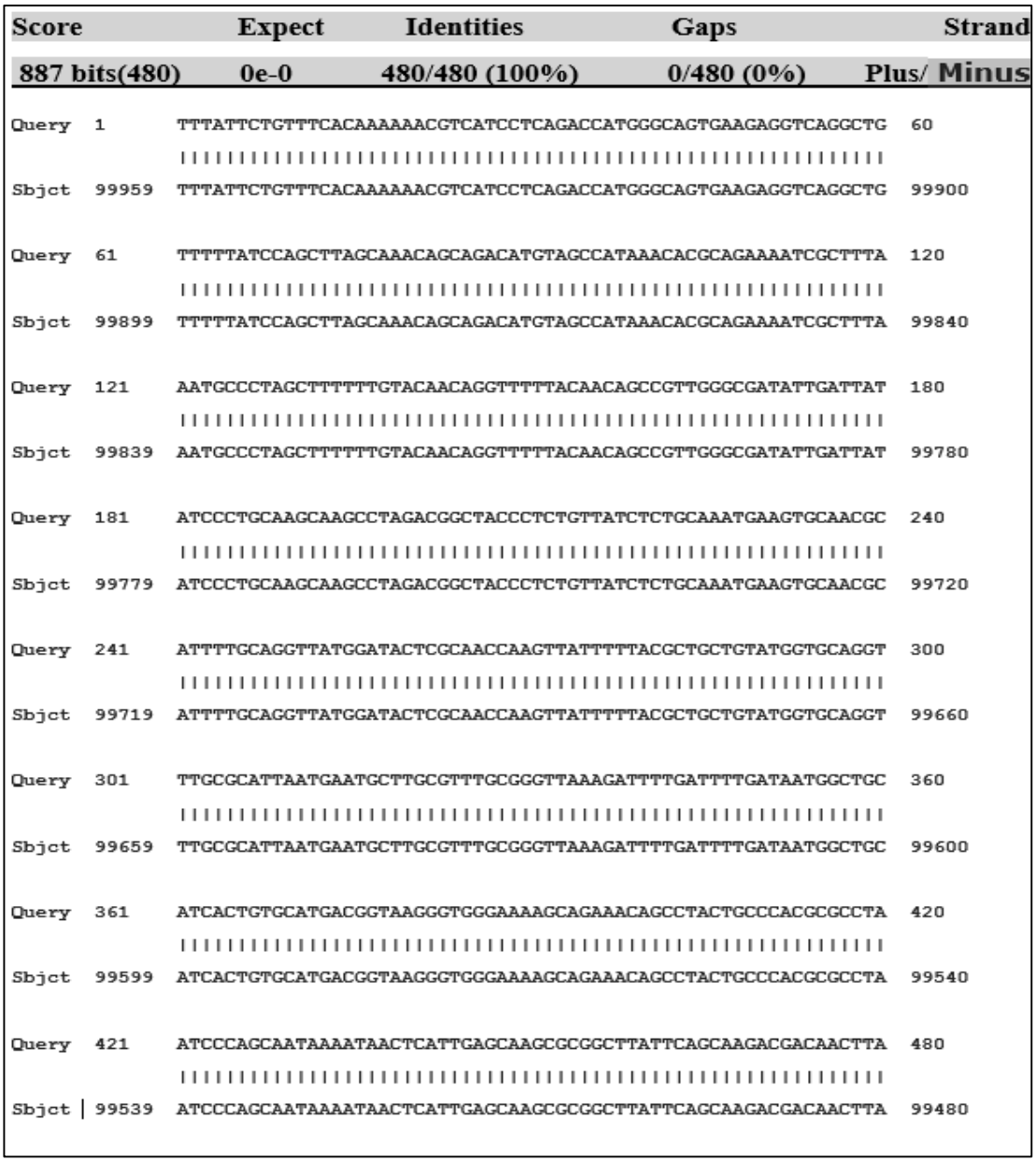
Query  61       ATACGCTACTTGCATTACAGTTTACGAACCGAACAGGCTTATGTCCAC  108
                ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  3125414  ATACGCTACTTGCATTACAGTTTACGAACCGAACAGGCTTATGTCCAC  3125461
```

Şekil 4.20 *Intl-1* hizalaması sonucu (*K. pneumoniae)*



Şekil 4.21 *Intl-1* Sanger dizileme sonuçları (*A. baumannii*, *E. coli* ve *K. pneumoniae)*

Şekil 4.22'de *Intl-2* geni dizileme sonuçları verilmiştir. Silver Spring, MD 20910, ABD izolatı, *A. baumannii* suşu MRSN15313 ile hizalanmıştır. Referans izolatlar arasındaki nükleotid benzerliğinin %100 olduğu tespit edildi. Çizelge 4.8, nükleotitlerin *A. baumannii* izolatlarında *Intl-2*'nin değişmediğini göstermektedir. Sanger dizileme sonuçları Şekil 4.25'te gösterilmektedir.



Şekil 4.22 *Intl-2* hizalama sonucu (*A. baumannii*)

Şekil 4.23'te, Çin izolatı *E. coli* AH01 ile hizalama sonucu verilmiştir. İzole edilmiş referans ile dizi %100 nükleotit homolog rekombinasyonunu paylaşmaktadır. Çizelge 4.8'de, nükleotitlerin *E. coli* X4 izolatından *Intl-2*'yi değiştirmediği görülmektedir. Sanger dizileme sonuçları Şekil 4.25'de verilmiştir.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
331 bits(179)	4e-88	179/179 (100%)	0/179 (0%)	Plus/Plus

```
Query  1        ATTATCAAAATCAAAATCTTTAACCCGCAAACGCAAGCATTCATTAATGCGCAAACCTGC  60
                ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  4670697  ATTATCAAAATCAAAATCTTTAACCCGCAAACGCAAGCATTCATTAATGCGCAAACCTGC  4670756

Query  61       ACCATACAGCAGCGTAAAAATAACTTGGTTGCGAGTATCCATAACCTGCAAAATGCGTTG  120
                ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  4670757  ACCATACAGCAGCGTAAAAATAACTTGGTTGCGAGTATCCATAACCTGCAAAATGCGTTG  4670816

Query  121      CACTTCATTTGCAGAGATAACAGAGGGTAGCCGTCTAGGCTTGCTTGCAGGGATATAAT  179
                ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  4670817  CACTTCATTTGCAGAGATAACAGAGGGTAGCCGTCTAGGCTTGCTTGCAGGGATATAAT  4670875
```

Şekil 4.23 *Intl-2* hizalama sonucu (*E. coli*)

Tayland izolat numarası CP034408.1 ile hizalama sonucu Şekil 4.24'de gösterilmektedir. Dizilerin referans izolatlarla %98 özdeşliğe sahip olduğu görüldü. Çizelge 4.8'de, *K. pneumoniae* X6 izolatı ile *K. pneumoniae* suşu NH34 kromozomu arasındaki nükleotit varyasyonları listenmiştir. Şekil 4.25'de Sanger dizileme sonuçları verilmiştir.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
327 bits(117)	4e-87	181/183 (99%)	0/183 (0%)	Plus/Plus

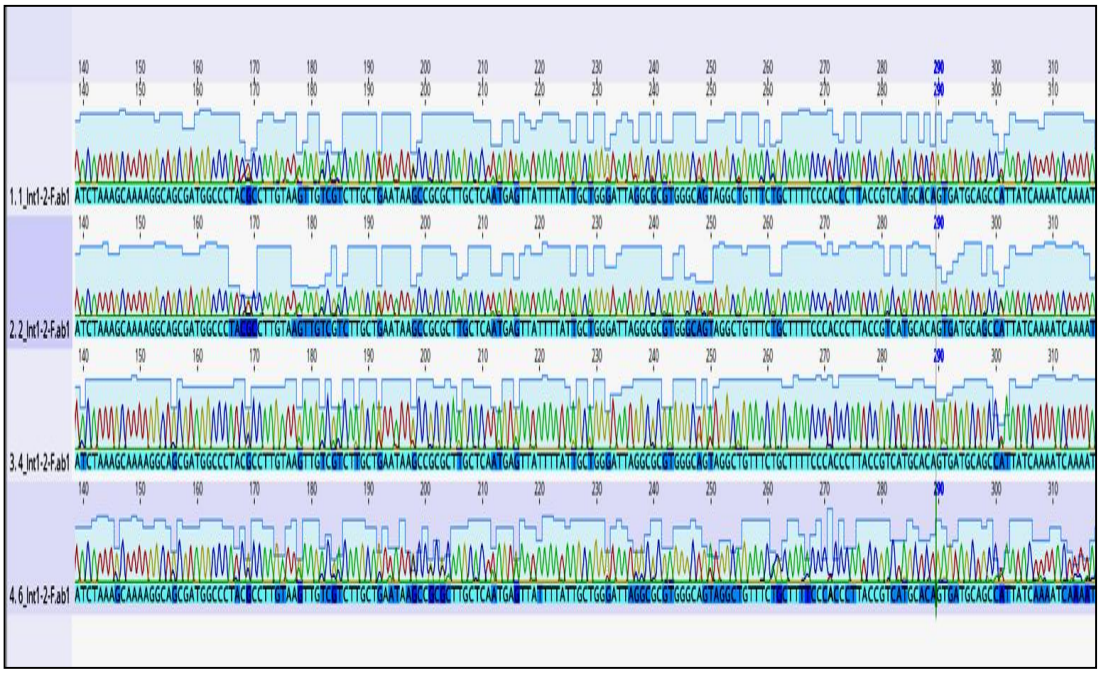
```
Query  1        ATTATCAAAATCAAAATCTTTAACCCGCAAACGCAAGCATTCATTAATGCGCAAACCTGC  60
                ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  3570918  ATTATCAAAATCAAAATCTTTAACCCGCAAACGCAAGCATTCATTAATGCGCAAACCTGC  3570977

Query  61       ACCATACAGCAGCGTAAAAATAACTTGGTTGCGACTATCCTTAACCTGCAAAATGCGTTG  120
                |||||||||||||||||||||||||||||||| ||||| ||||||||||||||||||||
Sbjct  3570978  ACCATACAGCAGCGTAAAAATAACTTGGTTGCGAGTATCCATAACCTGCAAAATGCGTTG  3571037

Query  121      CACTTCATTTGCAGAGATAACAGAGGGTAGCCGTCTAGGCTTGCTTGCAGGGATATAATC  180
                ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  3571038  CACTTCATTTGCAGAGATAACAGAGGGTAGCCGTCTAGGCTTGCTTGCAGGGATATAATC  3571097

Query  181      AAT  183
                |||
Sbjct  3571098  AAT  3571100
```

Şekil 4.24 Sequence alignment of *Intl-2* of *K. pneumoniae* X6 isolate to *K. pneumoniae* strain NH34 chromosome from Thailand



Şekil 4.25 *Intl-2* Sanger dizileme sonucu (*A. baumannii*, *E. coli* and *K. pneumoniae*)

Çizelge 4.8 *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* izolatlarının *blaOXA51*, *ISAba1*, *Intl-1* ve *Intl-2* geni nükleotit değişiklikleri

Gen	Bakteri	Eşleşme	Değişiklik	Dizileme ID	Konum	Nükleotit	İzolasyon
*bla*OXA51	*A.baumannii*	100%	-	MK807117.1	-	-	1
ISAba1	*A.baumannii*	100%	-	CP059548.1	-	-	1
Intl-1	*A.baumannii*	100%	-	CP048827.1	-	-	1, 2
Intl-1	*E. coli*	100%	-	CP093011.1	-	-	3, 7
Intl-1	*E. coli*	97%	Geçiş	CP060979.1	41	A - G	4
Intl-1	*K.pneumoniae*	100%	-	CP043602.1	-	-	5, 6, 8
Intl-2	*A.baumannii*	100%	-	CP033869.1	-	-	1, 2
Intl-2	*E. coli*	100%	-	CP055251.1	-	-	4
Intl-2	*K.pneumoniae*	98%		CP034408.1	95	C- G	6
					101	T - A	

4.4 Tartışma

4.4.1 Kan dolaşımı enfeksiyonları

Bağdat'taki Tıbbi Şehir'deki prematüre bebeklerin yoğun bakım ünitesinde yapılan incelemelerde, neonatal morbidite ve septiseminin ana nedeninin Gram negatif bakteriler olduğu tespit edildi. Araştırmamızda toplam 88 pozitif örnekte sepsis oranı %34 idi. Diğer bir çalışmada sepsis oranı bizim çalışmamızdan daha yüksekti. % 48'e varan daha yüksek

bir yenidoğan sepsisi oranı da belgelenmiştir. Bu durum önceki çalışmalarla uyumludur (Bai *et al*. 2021). Al Shamahy ve çalışma arkadaşları (2012), enfeksiyon oranını % 57 bulmuştur. Bu çalışmanın sonuçları Duan ve çalışma arkadaşları (2021), ve mevcut çalışmadakinden daha düşük olup, BSI yayılımı en yüksek %10,85 ile Miyun'da ve %8,36 ile PICU'da izlemiştir. Ek olarak, Gram negatif bakteri suşlarından daha fazla Gram pozitif bakteri suşları izole edildi. Neonatal septisemide pozitif olan kan kültüründeki tutarsızlıkların, numune büyüklüğü farklılıkları, numune alınmasından önce uygulanan antibiyotik tedavisi veya numune toplamadan önce anaerobik mikropların neden olduğu hastalıklar ile ilişkili olabileceği değerlendirilmektedir (Duan *et al*. 2021).

4.4.2 Örnek tipine göre izolatların sınıflandırılması

Kan örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılımına göre, PICU'daki toplam Gram pozitif bakteri oranı, Gram negatif bakteri suşlarından önemli ölçüde daha yüksekti. Benzer bir çalışmada Gram pozitif bakterilerin Gram negatif bakterilere göre daha yaygın olduğu saptanmıştır. Başka bir çalışmada Gram negatif izolat %69,6 ile baskın izolat olmuştur (Singhi *et al*. 2008).

Araştırmamızda en sık görülen etken *A. baumannii*'dir (%43,3). Benzer başka bir çalışmada *A. baumannii* en yaygın bakteri olmuştur (Singhi *et al*. 2008). Bir diğer çalışmada da PICU'larda %21,82 ile baskın etken *A. baumannii* olarak bildirilmiştir (Duan *et al*. 2021). Mamishi ve çalışma arkadaşları (2019), yaptıkları çalışmada % 13,5 ile *A. baumannii*'yi en az oranda izole edilen bakteri olarak bildirmişlerdir (Mamishi *et al*. 2019). Duan ve çalışma arkadaşları (2021), yaptıkları çalışmada *K. pneumoniae* izolatı oranını %36,6 olarak bildirmişlerdir. Bu oran mevcut çalışmadakine %30,39'a yakındır (Duan *et al*. 2021). Yapılan çalışmanın aksine Çin'in Hangzhou ilçesine bağlı Zhejiang Üniversitesi Çocuk Hastanesi'ndeki yenidoğan yoğun bakım ünitesinde gerçekleştirilen çalışmada *K. pneumoniae* en yaygın patojen olarak tespit edilmiştir. Bunu *A. baumannii* izlemekteydi. Farklı yerlere göre değişen sosyokültürel ve çevresel faktörlerin sonuçlardaki tutarsızlıkların nedeni olabileceği önerilmektedir (Yu *et al*. 2022). Çalışmalarımızda *E. coli*'nin %20'lik bir oranı vardı. Prematüre yenidoğanlar ve yenidoğan kritik bakım ünitelerindeki hastaların nozokomiyal enfeksiyonlara yakalanma

olasılığı daha yüksektir. Bunlar bağışıklığı zayıf olan kişilerdir (Tan *et al*. 2021). Çalışmamızda 88 kan kültüründen 88'i pozitifti. 48'i (%54,5) erkek, 40'ı (%45,4) kadındı. Çalışmadaki izolatlar 30 pozitif kan kültürüne sahipti. 19 (%63,3) erkek, 11 (%36,6) kadındı. Bu sonuca benzer şekilde, erkeklerde enfeksiyon insidansı kadınlara göre daha yüksektir (Hafsa ve ark. 2011). Başka bir çalışmada 104 vakanın 70'inin (%67,31) erkek, 34'ünün (%32,69) kız olduğu bildirilmiştir (Elhalik *et al*. 2018). Yadav ve çalışma arkadaşları (2018), tarafından yapılan bir araştırmaya göre, septisemi ve menenjit geçiren 380 bebekten 210'u erkek ve 170'i kızdı (Yadav *et al*. 2018). Başka bir çalışmada 350 BSI vakaların %52'sinin erkek, %48'inin kız olduğu bildirilmiştir (Chen *et al*. 2018). Başka bir çalışmada da 106 kan kültürünün pozitif çıktığı, bunların 57'sinin (%53,77) erkek ve 49'unun (%46,23) kız çocuğu olduğu bildirilmiştir (Bai *et al*. 2021).

4.4.3 *E. coli*'de antibiyotik duyarlılığı

E. coli bakterileri genel olarak, trimetoprim/sülfametoksazol, piperasilin/tazobaktam, ampisilin/sulbaktam ve siprofloksasine karşı direnç göstermiştir. Seftriakson, sefazolin, seftazidim, amikasin ve tobramisine karşı da direnç ortaya konmuştur. Bakterilerde sefepim, aztreonam, imipenem ve gentamisin'e karşı da yüksek ara direnç saptanmıştır. Levofloksasin, meropenem ve ertapeneme karşı bakteriler tarafından daha az direnç tespit edilmiştir. Bununla birlikte, izole edilen bakteriler tigesikline karşı daha yüksek bir duyarlılık göstermiştir. Pekin Çocuk Hastanesi'ne göre, *E. coli* yüksek oranda direnç penisilinlere karşı dirençte bulunmuş olup bunu sefalosporinler, aminoglikozidler ve sülfonamidler izlemiştir. Meropenem ise tüm izolatlara karşı etkili olmuştur (Wu *et al*. 2021). Bizim sonuçlarımızda imipenem direnci ortalama %50 iken Mısır'da El-Sokkary ve Abdelmegeed (2015), tarafından yapılan çalışmada ampisilin direnci %92.9 gibi çok yüksek bir oranda bulunmuştur (El-Sokkary ve Abdelmegeed 2015). Öte yandan, tüm *E. coli* izolatlarının imipenem'e duyarllı olduğu belirtilmiştir (El-Sokkary and Abdelmegeed 2015). Ayrıca yenidoğan hastalardan izole edilen *E. coli*'nin aminoglikozitlere ve sefalosporinlere karşı daha dirençli olduğu, florokinolonlara ise duyarlı olduğu bildirilmiştir (Monsef and Eghbalian 2010). Bulgulara göre, yenidoğan yoğun bakım ünitesinden izole edilen *E. coli*'ler yüksek oranda amoksisilin direnci sergilemiştir (Nitsch *et al*. 2015). Ayrıca yenidoğanlardan izole edilen *E. coli*'lerin amikasin ve

netilmisine duyarlı, ampisiline ise %83 gibi yüksek bir oranda dirençli olduğu belirtilmiştir (Bhat *et al*. 2011). Mevcut araştırmada üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı yüksek düzeyde direnç, büyük olasılıkla β-laktamazların edinilmesinden kaynaklanmaktadır. β-laktamaz inhibitörlerine direnç, β-laktamazların hiper üretimi, inhibitöre dirençli β-laktamazların üretimi ve kromozomal sefalosporinler dahil olmak üzere çeşitli işlemlerden kaynaklanmaktadır (Espinasse *et al*. 1997).

4.4.4 *K. pneumoniae*'de antibiyotik duyarlılığı

K. pneumoniae izolatları, trimetoprim/sülfametoksazol ve piperasilin/tazobaktama %72 oranında direnç göstermiştir. Bunu %63 ile ampisilin/sulbaktam, sefazolin, seftriakson ve seftazidim izlemiştir. %54 ile sefepim, aztreonam ve tobramisin; %45 ile de gentamisin, amikasin, levofloksasin ve siprofloksasine karşı direnç tespit edildi. Bakteriler tarafından imipenem ve meropenem'e karşı daha az direnç tespit edildi (%36). İzole edilen bakteriler tigesikline karşı daha yüksek bir duyarlılık göstermiştir (%27). Ancak Suudi Arabistan'daki bir çalışmada tigesikline olan duyarlılık %61,4 gibi daha yüksek bir orana sahiptir (Al-Zalabani *et al*. 2020). Bir çalışmada *K. pneumoniae* izolatları tüm antibiyotiklere farklı düzeylerde direnç göstermiş ve en yüksek duyarlılık oranı imipeneme karşı olmuştur (Firoozeh *et al*. 2019). Hussein ve çalışma arkadaşları (2017), *K. pneumonia* izolatlarının tüm antibiyotiklere karşı yüksek direnç gösterdiği; en yüksek oranın ampisiline (%100), ardından da %87,6 ile sefazoline karşı olduğu; imipeneme karşı ise %36 gibi düşük bir oranın tespit edildiği bildirilmiştir (Hussein *et al*. 2017). Mevcut çalışmada hem levofloksasin hem de siprofloksasin için ortalama direnç oranı %45 idi. Duan ve çalışma arkadaşları (2021), verdikleri sonuçlarda PICU enfeksiyonlarında siprofloksasin ve levofloksasin duyarlılığını yüksek bildirmiştir (Duan *et al.* 2021). Tumbarello ve çalışma arkadaşları (2012), PICU enfeksiyonlarında doksisiklin, minosiklin ve tigesiklin haricindeki antibiyotiklere karşı orta veya nispeten düşük ilaç duyarlılığı bildirirmiştir. B-laktam antimikrobiyallere karşı direncin gelişimini belirleyen karbapenemaz üreten suşların ortaya çıkışı bu direnç oranı ile işaret edilebilir. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae*'nin ortaya çıkmasının ardından, β-laktam olmayan antibiyotikler geçerli bir tedavi seçeneği haline gelmiştir (Tumbarello *et al*. 2012).

4.4.5 *A. baumannii*'de antibiyotik duyarlılığı

Mevcut çalışmada *A. baumannii* izolatlarının çoğunun antibiyotiğe dirençli olduğu belirlendi. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin yanlış kullanımı *A. baumannii* direncinin potansiyel nedenlerinden biri olarak gösterilmektedir (Duan *et al*. 2021). *A. baumannii* izolatlarının piperasilin/tazobaktama, trimetoprim/sülfametoksazol, tikarsilin/klavulanat, siprofloksasin, seftazidime, sefotaksim ve doksisikline karşı direnci %50'nin üzerindeydi. Daha az direnç görülen meropenem, sefepim, tetrasiklin, imipenem, tobramisin ve amikasine direnç bile %40-45 aralığında belirlenmiştir. Sadece ve en yüksek oranda duyarlılık levofloksasine karşı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar seftazidim, sefepim, tobramisin, levofloksasin, doksisiklin ve minosikline orta derecede duyarlılık belirlenen bir diğer çalışmayla benzerdir (Duan *et al*. 2021). Başka bir çalışmada, Shi ve çalışma arkadaşları (2020), sefalospori, karbapenem, aminoglikozit ve sülfnamidlerin çoğunun *A. baumannii*'ye karşı etkili olmadığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada yüksek oranda polimiksin (%96) ve tigesiklin (%89) duyarlılığı tespit edilmiştir (Shi *et al*. 2020). Benzer sonuçlar Çin'de 86 suşla yapılan bir çalışmada da bildirilmiştir. PICU hastalarından alınan izolatlarda antibiyotiklerin çoğuna karşı %90'on üzerinde direnç tespit edilmiştir (Chen *et al*. 2018). Bir diğer çalışmada ise kolistin en uygun ve etkili tedavi olarak gösterilmiştir (Kapoor *et al*. 2014). Daha önce geleneksel antibiyotiklere duyarlı olan *A. baumannii* suşlarının büyük bir kısmı için, antibiyotiklere direncin 1970'lerden bu yana istikrarlı bir şekilde arttığı bildirilmektedir (Bergogne and Towner 1996). Bunun sebebi olarak geniş spektrumlu laktamazların oluşumu, aminoglikozit modifiye edici enzimler, dış zardaki değişiklikler ve penisilin bağlayıcı proteinlerdeki modifikasyonlar gösterilmektedir (Karageorgopoulos *et al*. 2008).

4.4.6 *blaOXA-51* geni yaygınlığı

Mevcut çalışma, tüm *A. baumannii* izolatlarında intrinsik blaOXA-51'in varlığını göstermiştir; başka bir çalışmada elde edilen sonuçlara benzer şekilde en yüksek *blaOXA-51* düzeyi %95 olarak bulunmuştur (Tolba *et al*. 2019). Başka bir çalışmada *A. baumannii*'de *blaOXA-51* prevalansı %47 oranında bulunmuştur (Hou and Yang 2015). Bali ve çalışma arkadaşları (2013), Hint topluluğunda karbapenem dirençli *Acinetobacter*

için birincil patojenlerin %59 oranında *blaOXA-51* olduğunu bildirmiştir (Bali *et al*. 2013). Bu gen, ekleme dizileri tarafından düzenlendiğinden, *blaOXA-51* benzeri genin yapısal olarak kromozomal olarak konumlanmış genlerinin varlığı, *A. baumannii*'deki karbapenem direnci seviyesi ile korelasyon göstermemektedir (Woodford *et al*. 2006). *blaOXA-51* enzimlerinin penisilinleri hidrolize ettiği, ancak genişletilmiş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize etmediği bilinmektedir. Çoğunlukla düşük seviyeli *Acinetobacter spp.*'den sorumlu oldukları, karbapenem direncinin in vitro olarak klavulanik asit yerine $NaCl_2$ tarafından inhibe edildiği belirtilmektedir (Budak *et al*. 2013). Çalışmamızda *K. pneumoniae* bakterisinin prevalansı negatifti. Türkiye'de yapılan bir çalışmada, çoklu ilaca dirençli *A. baumannii* enfeksiyonu olan bir hastayı tedavi etmek için genişletilmiş spektrumlu bir β-laktam ve β-laktamaz inhibitörü kombinasyonu kullanılmıştır. Ancak 2 hafta sonra aynı hastada ertapeneme dirençli bir *K. pneumoniae* izole edilmiştir. İn vivo rekombinasyon, eş bütünleşme ve transpozisyon gibi genetik süreçlerin bu genlerin kromozoma eklenmesinden muhtemelen sorumlu olduğu belirtilmiştir (Budak *et al*. 2013). İran'da yapılan başka bir çalışma da *K. pneumoniae*'de *blaOXA-51* prevalansının arttığını göstermiştir (Pourbaghi *et al*. 2022). Daha önce sadece *A. baumannii* türünde bulunduğu düşünülen *blaOXA-51* geni ABD ve Avrupa'da *E. coli*'de de tanımlanmıştır (Pollett *et al*. 2014). Başka bir çalışmada ise *blaOXA-51* genlerini barındıran dönüştürücü veya transkonjugantlar elde edilmiş, bu da genin kromozomal bir konumundan kaynaklandığını düşündürmüştür. Araştırmadaki tutarsızlıkların örneklem büyüklüğü, örneklem seçimi ve farklı etnik gruplar arasındaki genlerdeki farklılıklardan kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Hou and Yang 2015).

4.4.7 *ISAba1* geni yaygınlığı

Mevcut çalışmada *ISAba1* geni *A. baumannii*'de tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada *A. baumannii*'de %100 oranında *ISAba1* geni saptanmıştır (Abouelfetouh *et al*. 2019). Bizimki ve diğer çalışmalarla uyumlu bir çalışmada 105 izolatın tamamının *ISAbal* pozitif olduğu belirtilmiştir (Owrang *et al*. 2018). Genin bulunma sıklığı, daha önce %93 ile 59 İspanyol izolatında bulunanla karşılaştırılabilir düzeydedir (Villalón *et al*. 2013). Hindistan'da yapılan bir çalışmada bu oran %33 olarak bildirilmiştir (Karunasagar *et al*. 2011). *A. baumannii*, dünyanın geri kalanından daha düşük enfeksiyon oranlarına sahip

olmasına rağmen, çok sayıda yerleştirme dizisine sahip olduğu için karbapenem'e dirençlidir (Lee *et al*. 2011). Karbapenemazlar, özellikle *OXA* tipi genlerde bulunmuş ve gen ekspresyonundaki artıştan sorumlu olduğu görülmüştür (Corvec *et al*. 2003). Enfeksiyon profilaksisi, mikroorganizmanın hem kuru hem de nemli koşullarda gelişebilmesi, plastik ve metal yüzeyleri tercih etmesi nedeniyle başarısız olmaktadır. Gelişme koşullarındaki değişiklikler, birden fazla hareketli elemanın yer değiştirmesinin etkinliğini etkileyebilmekte dirençte artışa yol açabilmektedir. Özellikle karbapenemlerin mevcudiyetinde çeşitli yöntemlerin yukarı regülasyonu veya elde edilmesi yoluyla direnç geliştiği tespit edilmiştir (Héritier *et al*. 2003). Başka bir çalışmada ise izolatların %85'i *ISAba1* geninin taşıyıcısı olarak belirlenmiştir (Yousefi *et al*. 2021). *ISAba1*'in yüksek görülme sıklığı, XDR *A. baumannii*'de β-laktam antibiyotiklere, özellikle de *A. baumannii* enfeksiyonları için tercih edilen karbapenemlere karşı antimikrobiyal direncin artmasına katkıda bulunan birkaç faktörden biri olabilir. *ISAba1*, direnç genlerinin edinilmesinde ve ifade edilmesinde önemli bir rol oynayabilmektedir (Segal *et al*. 2005).

4.4.8 *Intl-1* geni yaygınlığı

Özellikle Gram negatif bakteriler arasında yaygın olarak bulunan sınıf 1 integronun direnç genlerinin birincil kaynağı ve mikrobiyal popülasyonlarda antimikrobiyal direnç genlerinin rezervuarları olarak hizmet ettiklerinden şüphelenilmektedir (Ochman *et al*. 2000, Hall and Collis 1998). Transpozonlar, integronların bulunması için yaygın yerlerdir. Bu genetik elemanlar, bölgeye özgü bir rekombinasyon sistemi ile antimikrobiyal direnci kodlayan genleri yakalama yeteneğine sahiptir. Ayrıca bakterilerde yeni genlerin kazanılmasına yardımcı olmaktadırlar. *Intl-1* hem Gram pozitif hem de özellikle Gram negatif bakterilerde yaygındır (Mazel 2006). Hastanelerde integron pozitif izolatların yayılması, çoklu ilaca dirençli izolatların yayılmasına yol açabilmektedir. Bu mobil genetik elementler genellikle yatay gen transferi yoluyla bakteriler arasında yayılabilen çoklu ilaç direnç genleri içermektedir ve böylece antimikrobiyal direncin Gram negatif bakteriler arasında yatay bulaşma yoluyla yayılmasına neden olmaktadır (Roy *et al*. 2011).

Güncel çalışmalar *Intl1*'in kan dolaşımından izole edilen *E. coli, K. pneumoniae* ve *A. baumannii* suşları arasında en baskın integron olduğunu göstermektedir. Mevcut çalışmada da *E. coli* izolatlarının tamamında *Intl1* geni tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada *Intl-1*'in Çin'deki klinik *E. coli* izolatlarının %85'inde mevcut olduğu bulunmuştur (Su *et al*. 2006). Mısır'da yapılan başka bir çalışmada toplam 84 *E. coli* izolatından 43'ünde *Intl-1* geni gösterilmiştir (El-Sokkary and Abdelmegeed 2015). Sudan'da yapılan çalışmada ise *Intl-1* geni bakteri izolatlarının %40'ında bulunmuştur (Roe *et al*. 2003).

İran'ın Yezd ve Kaşan ilinde yapılan iki bağımsız çalışmada *Intl-1* yaygınlığının %91 ile %100 arasında olduğu bildirilmiştir (Mokhtari *et al*. 2018; Firoozeh *et al*. 2019). Başka bir çalışmada 167 örnekten 90'ında *Intl-1* geni tespit edilmiştir (Li *et al*. 2013). Güncel çalışmalardan elde edilen sonuçların mevcut çalışmadakilere yakın olduğu görüldü. İran'da yapılan başka bir çalışma *Intl1*'in *K. pneumoniae* suşları arasında en baskın integron olduğunu göstermiştir (Delarampour *et al*. 2019). Çalışmamızın sonuçları *Intl-1*'in *A. baumannii* izolatlarınıntamamında bulunduğunu göstermiştir. *Intl-1*'in *A. baumannii* mihraklarını değerlendirmek için faydalı bir sinyal olduğu düşünülmektedir (Chang *et al*. 2011). Türkiye'de yapılan bir çalışmada *A. baumannii* prevalansı bizim sonuçlarımızın aksine düşük çıkmıştır. Türkiye'de 9 merkezden alınan 281 izolatın 109'unda *IntI-1* bulunmuştur (Çiçek *et al*. 2013). İran'da yapılan başka bir çalışmada *A. baumannii* suşlarında *Intl-1* yaygınlık oranı %79 olarak bulunmuştur (Nikibakhsh *et al*. 2021).

4.4.9 *Intl-2* geni yaygınlığı

Bulgularımızda *Intl-2* prevalansının varlığı *E. coli'de* %33 iken, Tajbakhsh ve çalışma arkadaşları (2015), %10'luk bir oran bulmuştur (Tajbakhsh *et al.* 2015). Ek olarak, dirençli *E. coli* suşlarının %18'inde sınıf 2 integron prevalansının arttığı bildirilmiştir (Sunde 2005). *IntI-2*'nin önceden düşünülenden daha kısıtlı bir dağılıma sahip olduğu gösterilmiştir (Grape *et al*. 2005). Başka bir çalışmada *Intl2*, suşların sadece %3'ünde bulunmuştur (Mirnezami *et al*. 2020). Başka bir çalışmada ise *Intl1* %54 oranında tespit edilirken hiç *Intl-2* bulunmamıştır (Mohammad *et al*. 2015).

Firoozeh ve çalışma arkadaşları (2019), *IntI-2* geninin *K. pneumoniae*'deki prevalansını %36 olarak bildirmiş olup mevcut çalışmaya benzerlik göstermektedir. Xu ve çalışma arkadaşları (2017), tarafından Çin'de yapılan bir çalışmada toplam 178 *K. pneumoniae* izolatından 2'si (%1,7) *IntI2* tespit edilmiştir (Xu *et al*. 2017). Bir karşı çalışmada ise *K. pneumoniae* izolatlarında *Intl*-2 geni bulunmamıştır (Mokhtari *et al*. 2018).

Çalışmalarımızın sonuçları, *A. baumannii* izolatlarında %100 oranında *Intl-2* geninin olduğunu ortaya koymaktadır. Yapılan başka bir çalışmada toplam 153 *A. baumannii* izolatının %28'inin *Intl-2* içerdiği tespite dilmiştir (Martins *et al*. 2015). MDR *A. baumannii*'nin 27 izolatında yapılan çalışmada ise %36,61 oranında *IntI-2* geni bulunmuştur (Ramírez *et al*. 2012). Brezilya'da yapılan bir çalışmada *IntI-2 geni* için prevalans oranı %36 olarak bulunmuş olup, bu önceki çalışma ile uyumlu olmakla birlikte bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre daha düşüktür (Fonseca *et al*. 2011). Bazı epidemiyolojik çalışmalar da Şili'de izole edilen *A. baumannii* izolatlarında sınıf 2 integronların sıklığının yüksek olduğunu göstermiştir (Gonzalez *et al*. 1998). Bu durum Avrupa ve Güney Kore'deki çalışmalarda tespit edilen sınıf 2 integronun sıklığının aksinedir (Turton *et al*. 2005). Üçüncü dünyada ülkelerindeki çeşitli antibakteriyel direnç oranların, antimikrobiyal ilaçların irrasyonel kullanımına, örnekleme önyargılarına, coğrafi varyasyonlara, sosyal faktörlere ve hasta özelliklerine bağlı olabileceği değerlendirilmektedir (Halaji *et al*. 2018).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mevcut çalışma, PICU'larda Gram negatif bakterilerden kaynaklanan BSI'lerin Gram pozitiflere göre daha az olduğunu göstermiştir. Yoğun bakım üniteleri için büyük bir endişe kaynağı olan direnç faktörlerinin ise XDR *E. coli, K. pneumoniae* ve *A. baumannii* izolatlarında yaygın olduğu tespit edilmiştir. Bu durum Bağdat hastaneleri için olağanüstü tehlikedir. Yayılmayı kontrol altına almak için daha fazla çaba gerektiği görülmektedir.

Antibiyotiğe dirençli hastalıkların ortaya çıkması ve yayılması için proaktif önleme ve kontrol tekniklerine duyulan ihtiyacın vurgulanması. Bu nedenle, yüksek oranda antibiyotiğe dirençli enfeksiyonların ortaya çıkışını ve yayılmasını kontrol etmek için farklı antibiyotik tedavileri düşünülmelidir. Bunula birlikte eski ilaçları yeniden değerlendirmek ve antibiyotiklere etkili alternatifler bulmak da elzemdir.

Yenidoğanlarda bakteriyemi ve septisemiye neden olan enfeksiyonların kaynağı ve bunların önlenmesi için kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır. Özellikle Irak'taki yerel suşların kaydedilmesi ve antibiyotik direnç genlerinin tespit edilmesi gerekmektedir. XDR, *K. pneumonia* ve *E.*coli'lerde *OXA23, 24, 48, 58* ve *69* gibi başka *OXA* tipi genleri ile *E.coli, K. pneumoniae* ve *A.baumannii*'deki *Int-l* ve *3* de incelenmelidir.

KAYNAKLAR

Abouelfetouh, A., Torky, A. S., and Aboulmagd, E. 2019. Phenotypic and genotypic characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Egypt. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 8(1): 1-9.

Adhikari, N. K., Fowler, R. A., Bhagwanjee, S., and Rubenfeld, G. D. 2010. Critical care and the global burden of critical illness in adults. The Lancet, 376(9749): 1339-1346.

Al-Zalabani, A., Al Thobyane, O. A., Alshehri, A. H., Alrehaili, A. O., Namankani, M. O., & Aljafri, O. H. 2020. Prevalence of Klebsiella pneumoniae antibiotic resistance in Medina, Saudi Arabia, 2014-2018. Cureus, 12(8).

Anderson, D. J., Moehring, R. W., Sloane, R., Schmader, K. E., Weber, D. J., Fowler Jr, V. G., & Sexton, D. J. 2014. Bloodstream infections in community hospitals in the 21st century: a multicenter cohort study. PloS One, 9(3): e91713.

Andersson, D. I. The biological cost of mutational antibiotic resistance: any practical conclusions? Curr. Opin. Microbiol., 9: 461-465 (2006).

Anonim, 2021. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100.Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2021.

Appelbaum, P. C. 2012. 2012 and beyond: potential for the start of a second pre-antibiotic era?. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 67(9): 2062-2068.

Arivett, B. A., Ream, D. C., Fiester, S. E., Mende, K., Murray, C. K., Thompson, M. G., & Actis, L. A. 2015. Draft genome sequences of *Klebsiella pneumoniae* clinical type strain ATCC 13883 and three multidrug-resistant clinical isolates. Genome Announcements, 3(1): e01385-14.

Atanasova, K., Gucht, S. V., Barbé, F., Lefebvre, D. J., Chiers, K., & Reeth, K. V. (2008). Lung cell tropism and inflammatory cytokine-profile of porcine respiratory coronavirus infection. The Open Veterinary Science Journal, 2(1).

Bai, X., Wei, Q., Duan, T., Yi, Y., Peng, H., & Hu, L. 2021. Predominance of Gram-negative infections a cause of neonatal sepsis among low birth weight preterm infants. Journal of Laboratory Medicine, 45(1): 7-12.

Bali, N. K., Fomda, B. A., Bashir, H., Zahoor, D., Lone, S., & Koul, R. A. 2013. Emergence of carbapenem-resistant Acinetobacter in a temperate north Indian State. British Journal of Biomedical Science, 70(4): 156-160.

Bassetti, M., Giacobbe, D. R., Giamarellou, H., Viscoli, C., Daikos, G. L., Dimopoulos, G., & Poulakou, G. 2018. Management of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* infections. Clinical Microbiology and Infection, 24(2): 133-144.

Beijerinck, M. W. 1911. Über pigmentbildung bei essigbakterien. Cent. Bakteriol. Parasitenk., 29: 169-76.

Bergogne-Berezin, E., and Towner, K. J. 1996. Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clinical Microbiology Reviews, 9(2): 148-165.

Bhat Y, R., Lewis, L. E. S., & KE, V. 2011. Bacterial isolates of early-onset neonatal sepsis and their antibiotic susceptibility pattern between 1998 and 2004: an audit from a center in India. Italian Journal of Pediatrics, 37(1): 1-6.

Bou-Antoun, S., Davies, J., Guy, R., Johnson, A. P., Sheridan, E. A., & Hope, R. J. 2016. Descriptive epidemiology of Escherichia coli bacteraemia in England, April 2012 to March 2014. Eurosurveillance, 21(35): 30329.

Bouchie, A. 2016. White house unveils national microbiome initiative. Nature Biotechnology, 34(6): 580-581.

Bratzler, D. W., Dellinger, E. P., Olsen, K. M., Perl, T. M., Auwaerter, P. G., Bolon, M. K., & Weinstein, R. A. 2013. Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. Surgical Infections, 14(1): 73-156.

Brisou, J., and Prevot, A. R. 1954. Studies on bacterial taxonomy. X. The revision of species under Acromobacter group. In Annales de l'Institut Pasteur, 86(6): 722-728.

Brook, I. 2004. Role of anaerobic bacteria in infections following tracheostomy, intubation, or the use of ventilatory tubes in children. Annals of Otology, Rhinology & Laryngology, 113(10): 830-834.

Brook, I. 2008. Bacteremia and septicemia due to anaerobic bacteria in newborns. Journal of Neonatal-Perinatal Medicine, 1(4): 201-208.

Budak, S., Aktaş, Z., Oncul, O., Acar, A., Ozyurt, M., Turhan, V., & Gorenek, L. 2013. Detection of *OXA-51* carbapenemase gene in klebsiella pneumoniae: a case report

and a new dimension on carbapenemase resistance. J. Mol. Genet. Med., 7(63): 1747-0862.

Buehler, S. S., Madison, B., Snyder, S. R., Derzon, J. H., Cornish, N. E., Saubolle, M. A., & Wolk, D. M. 2016. Effectiveness of practices to increase timeliness of providing targeted therapy for inpatients with bloodstream infections: a laboratory medicine best practices systematic review and meta-analysis. Clinical Microbiology Reviews, 29(1): 59-103.

Caliendo, A. M., Gilbert, D. N., Ginocchio, C. C., Hanson, K. E., May, L., Quinn, T. C., & Infectious Diseases Society of America (IDSA). 2013. Better tests, better care: improved diagnostics for infectious diseases. Clinical Infectious Diseases, 57: 139-170.

Campbell, A., Berg, D., Botstein, D., Lederberg, E. M., Novick, R. P., Starlinger, P., & Szybalski, W. 1979. Nomenclature of transposable elements in prokaryotes. Gene, 5(3): 197-206.

Casarez, E. A., Pillai, S. D., & Di Giovanni, G. D. 2007. Genotype diversity of *Escherichia coli* isolates in natural waters determined by PFGE and ERIC-PCR. Water Research, 41(16): 3643-3648.

Chandler, M., and Galas, D. J. 1983. Cointegrate formation mediated by Tn9: II. Activity of IS1 is modulated by external DNA sequences. Journal of Molecular Biology, 170(1): 61-91.

Chandler, M., & Mahillon, J. 2000. Insertion sequence nomenclature. Asm News, 66(6): 324.

Chen, Y., Ai, L., Guo, P., Huang, H., Wu, Z., Liang, X., & Liao, K. 2018. Molecular characterization of multidrug resistant strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from pediatric intensive care unit in a Chinese tertiary hospital. BMC Infectious Diseases, 18(1): 1-7.

Codjoe, F. S., & Donkor, E. S. 2017. Carbapenem resistance: a review. Medical Sciences, 6(1): 1.

Corvec, S., Caroff, N., Espaze, E., Giraudeau, C., Drugeon, H., & Reynaud, A. 2003. AmpC cephalosporinase hyperproduction in *Acinetobacter baumannii* clinical strains. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 52(4): 629-635.

Çiçek, A. Ç., Düzgün, A. Ö., Saral, A., Kayman, T., Çizmeci, Z., Balcı, P. Ö., & Sandallı, C. 2013. Detection of class 1 integron in *Acinetobacter baumannii* isolates collected from nine hospitals in Turkey. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 3(9): 743-747.

Dark, P. M., Dean, P., & Warhurst, G. 2009. Bench-to-bedside review: the promise of rapid infection diagnosis during sepsis using polymerase chain reaction-based pathogen detection. Critical Care, 13(4): 1-6.

Delarampour, A., Ghalehnoo, Z. R., Khademi, F., Delarampour, M., & Vaez, H. 2019. Molecular detection of carbapenem-resistant genes in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. Ann. Ig., 31(4): 349-55.

Duan, N., Sun, L., Huang, C., Li, H., & Cheng, B. 2021. Microbial distribution and antibiotic susceptibility of bloodstream infections in different intensive care units. Frontiers in Microbiology, 12.

Dudley, M. N., Ambrose, P. G., Bhavnani, S. M., Craig, W. A., Ferraro, M. J., Jones, R. N., & Antimicrobial Susceptibility Testing Subcommittee of the Clinical and Laboratory Standards Institute. 2013. Background and rationale for revised Clinical and Laboratory Standards Institute interpretive criteria (breakpoints) for Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa: I Cephalosporins and aztreonam. Clinical Infectious Diseases, 56(9): 1301-1309.

Elaldi, N., Gozel, M. G., Kolayli, F., Engin, A., Celik, C., Bakici, M. Z., & Vahaboglu, H. 2013. Community-acquired CTX-M-15-type ESBL-producing *Escherichia coli* meningitis: a case report and literature review. The Journal of Infection in Developing Countries, 7(5): 424-431.

Elhalik, M., Habibullah, J., & El-Atawi, K. 2018. Epidemiology of sepsis in NICU; A 12 years study from Dubai. J. Pediatr. Neonatal Care, 8(2): 84-88.

El-Sokkary, M. M. A., and Abdelmegeed, E. S. 2015. Characterisation of class 1 integron among *Escherichia coli* isolated from Mansoura University Hospitals in Egypt. Advances in Microbiology, 5(4): 269.

Espinasse, F., Gheorghiu, R., Poiata, A., Labia, R., & Nicolas-Chanoine, M. H. 1997. Reduced susceptibility to co-amoxiclav in *Escherichia coli*, Salmonella typhimurium and *Klebsiella pneumoniae* isolated in Romania between 1985 and 1993. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 39(1): 103-106.

Farhan, R. K., Ahmed, T., & Mohammad, S. 2017. Epidemiology of cutaneous candidiasis among patients attending Tikrit Teaching Hospital. Med. J. Tikrit Univ., 22(1): 212-219.

Fenollar, F., and Raoult, D. 2007. Molecular diagnosis of bloodstream infections caused by non-cultivable bacteria. International Journal of Antimicrobial Agents, 30: 7-15.

Firoozeh, F., Mahluji, Z., Khorshidi, A., & Zibaei, M. 2019. Molecular characterization of class 1, 2 and 3 integrons in clinical multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 8(1): 1-7.

Fleischmann, R. D., Adams, M. D., White, O., Clayton, R. A., Kirkness, E. F., Kerlavage, A. R, & Venter, J. C. 1995. Whole-genome random sequencing and assembly of Haemophilus influenzae Rd. Science, 269(5223): 496-512.

Fonseca, É. L., dos Santos Freitas, F., Scheidegger, É. M. D., Jacinto, T., & Vicente, A. C. P. 2011. Class 2 integrons in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* circulating in different Brazilian geographic regions. International Journal of Antimicrobial Agents, 38(1): 95-96.

Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. 2007. Diagnostic microbiology. Mosby, 973 page, St Louis.

Galas D. J., Chandler M. 1989. Bacterial insertion sequences. In: Mobile DNA. Berg, D. E., Howe, M. M. (eds), Washington, D. C: American Society for Microbiology, pp. 109-162, Washington D. C.

Ghaima, K. K., Saadedin, S. M. K., & Jassim, K. A. 2015. Isolation, molecular identification and antimicrobial susceptibility of Acinetobacter baumannii isolated from Baghdad hospitals. Burns, 27: 31.

Gonzalez, G., Sossa, K., Bello, H., Dominguez, M., Mella, S., & Zemelman, R. 1998. Presence of integrons in isolates of different biotypes of Acinetobacter baumannii from Chilean hospitals. FEMS Microbiology Letters, 161(1): 125-128.

Goto, M., & Al-Hasan, M. N. 2013. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. Clinical Microbiology and Infection, 19(6): 501-509.

Gould, D. 2011. *Escherichia coli* recognition and prevention. Primary Health Care, 21(8).

Grape, M., Farra, A., Kronvall, G., & Sundström, L. 2005. Integrons and gene cassettes in clinical isolates of co-trimoxazole-resistant Gram-negative bacteria. Clinical Microbiology and Infection, 11(3): 185-192.

Gross, R. J., and Rowe, B. 1985. *Escherichia coli* diarrhoea. Epidemiology & Infection, 95(3): 531-550.

Hafsa, A., Fakruddin, M., Hakim, M. A., & Sharma, J. D. 2011. Neonatal bacteremia in a neonatal intensive care unit: analysis of captive organisms and antimicrobial susceptibility. Bangladesh Journal of Medical Science, 10(3): 187-194.

Halaji, M., Rezaei, A., Zalipoor, M., & Faghri, J. 2018. Investigation of class I, II, and III integrons among *Acinetobacter Baumannii* isolates from hospitalized patients in Isfahan, Iran. Oman Medical Journal, 33(1): 37.

Hall, R. M., and Collis, C. M. 1998. Antibiotic resistance in gram-negative bacteria: the role of gene cassettes and integrons. Drug resistance UPDATES, 1(2): 109-119.

Handel, A., Regoes, R. R. & Antia, R. 2006. The role of compensatory mutations in the emergence of drug resistance. PLoS Comput. Biol. 2: e137.

Heffron, F., Sublett, R., Hedges, R. W., Jacob, A. L. A. N., & Falkow, S. T. A. N. L. E. Y. 1975. Origin of the TEM-beta-lactamase gene found on plasmids. Journal of Bacteriology, 122(1): 250-256.

Héritier, C., Poirel, L., Aubert, D., & Nordmann, P. 2003. Genetic and functional analysis of the chromosome-encoded carbapenem-hydrolyzing oxacillinase *OXA*-40 of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47(1): 268-273.

Hirsch, H. J., Starlinger, P., & Brachet, P. 1972. Two kinds of insertions in bacterial genes. Molecular and General Genetics MGG, 119(3): 191-206.

Hou, C., and Yang, F. (2015). Drug-resistant gene of *blaOXA-23*, *blaOXA-24*, *blaOXA-51* and blaOXA-58 in *Acinetobacter baumannii*. International journal of Clinical and Experimental Medicine, 8(8): 13859.

Hu, S., Ohtsubo, E. I. I. C. H. I., & Davidson, N. 1975. Electron microscopic heteroduplex studies of sequence relations among plasmids of *Escherichia coli*: structure of F13 and related F-primes. Journal of Bacteriology, 122(2): 749-763.

Huang, Y. X., Ching, G., & Inouye, M. 1983. Comparison of the lipoprotein gene among the enterobacteriaceae. DNA sequence of Morganella morganii lipoprotein gene

and its expression in *Escherichia coli*. Journal of Biological Chemistry, 258(13): 8139-8145.

Hussein, J. D., and Hamed, S. L. 2017. Comparison of Three Phenotypic Methods for Detection of Extended-Spectrum β-Lactamase (ESBL) Producing Klebsiella Pneumoniae. J. Glob. Phar. Tech., 9(9): 157-165.

Jen, J. F., Lee, H. L., & Lee, B. N. 1998. Simultaneous determination of seven sulfonamide residues in swine wastewater by high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography, 793(2): 378-382.

Johnson, A. P., Ashiru-Oredope, D., & Beech, E. 2015. Antibiotic stewardship initiatives as part of the UK 5-year antimicrobial resistance strategy. Antibiotics, 4(4): 467-479.

Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. 2004. Pathogenic escherichia coli. Nature Reviews Microbiology, 2(2): 123-140.

Kapoor, K., Jain, S., Jajoo, M., Dublish, S., Dabas, V., & Manchanda, V. 2014. Risk factors and predictors of mortality in critically ill children with extensively-drug resistant *Acinetobacter baumannii* infection in a pediatric intensive care unit. Iranian Journal of Pediatrics, 24(5): 569.

Karageorgopoulos, D. E., Kelesidis, T., Kelesidis, I., & Falagas, M. E. 2008. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant (including carbapenem-resistant) Acinetobacter infections: a review of the scientific evidence. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 62(1): 45-55.

Karambin, M., and Zarkesh, M. 2011. Entrobacter, the most common pathogen of neonatal septicemia in Rasht, Iran. Iranian Journal of Pediatrics, 21(1): 83.

Karunasagar, A., Maiti, B., Shekar, M., Shenoy M, S., & Karunasagar, I. 2011. Prevalence of *OXA* type carbapenemase genes and genetic heterogeneity in clinical isolates of *Acinetobacter spp*. from Mangalore, India. Microbiology and Immunology, 55(4): 239-246.

Kennedy, A. K., Guhathakurta, A., Kleckner, N., & Haniford, D. B. 1998. Tn10 transposition via a DNA hairpin intermediate. Cell, 95(1): 125-134.

Kleckner, N., Chalmers, R. M., Kwon, D., Sakai, J., & Bolland, S. 1996. Tn10 and IS10 transposition and chromosome rearrangements: mechanism and regulation in vivo and in vitro. Transposable Elements, 204: 49-82.

Lee, C. H., Su, L. H., Chen, F. J., Tang, Y. F., Chien, C. C., & Liu, J. W. 2015. Clinical and microbiologic characteristics of adult patients with recurrent bacteraemia caused by extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae*. Clinical Microbiology and Infection, 21(12): 1105-e1.

Lee, Y., Kim, C. K., Lee, H., Jeong, S. H., Yong, D., & Lee, K. 2011. A novel insertion sequence, IS Aba10, inserted into IS Aba1 adjacent to the *bla OXA-23* gene and disrupting the outer membrane protein gene caro in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 55(1): 361-363.

Li, B., Hu, Y., Wang, Q., Yi, Y., Woo, P. C., Jing, H., & Liu, C. H. 2013. Structural diversity of class 1 integrons and their associated gene cassettes in Klebsiella pneumoniae isolates from a hospital in China. PloS One, 8(9): e75805.

Ling, T. K., Liu, Z. K., & Cheng, A. F. 2003. Evaluation of the VITEK 2 system for rapid direct identification and susceptibility testing of gram-negative bacilli from positive blood cultures. Journal of Clinical Microbiology, 41(10): 4705-4707.

Liu, V., Escobar, G. J., Greene, J. D., Soule, J., Whippy, A., Angus, D. C., & Iwashyna, T. J. 2014. Hospital deaths in patients with sepsis from 2 independent cohorts. Jama, 312(1): 90-92.

Loonen, A. J., de Jager, C. P., Tosserams, J., Kusters, R., Hilbink, M., Wever, P. C., & van den Brule, A. J. 2014. Biomarkers and molecular analysis to improve bloodstream infection diagnostics in an emergency care unit. PloS One, 9(1): e87315.

Luna, C. M., and Aruj, P. K. 2007. Nosocomial acinetobacter pneumonia. Respirology, 12(6): 787-791.

Luzzaro, F., Ortisi, G., Larosa, M., Drago, M., Brigante, G., & Gesu, G. 2011. Prevalence and epidemiology of microbial pathogens causing bloodstream infections: results of the OASIS multicenter study. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 69(4): 363-369.

Maleki, M. H., Sekawi, Z., Soroush, S., Azizi-Jalilian, F., Asadollahi, K., Mohammadi, S., & Taherikalani, M. 2014. Phenotypic and genotypic characteristics of tetracycline resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from nosocomial infections at Tehran hospitals. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 17(1): 21.

Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., & Monnet, D. L. 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clinical Microbiology and Infection, 18(3): 268-281.

Mamishi, S., Mahmoudi, S., Naserzadeh, N., Hosseinpour Sadeghi, R., Haghi Ashtiani, M. T., Bahador, A., & Pourakbari, B. 2019. Antibiotic resistance and genotyping of gram-negative bacteria causing hospital-acquired infection in patients referred to Children's Medical Center. Infection and Drug Resistance, 12: 3377-3384.

Maniatis, T., Hardison, R. C., Lacy, E., Lauer, J., O'Connell, C., Quon, D., & Efstratiadis, A. 1978. The isolation of structural genes from libraries of eucaryotic DNA. Cell, 15(2): 687-701.

Marchaim, D., Zaidenstein, R., Lazarovitch, T., Karpuch, Y., Ziv, T., & Weinberger, M. 2008. Epidemiology of bacteremia episodes in a single center: increase in Gram-negative isolates, antibiotics resistance, and patient age. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 27(11): 1045-1051.

Martins, N., Picão, R. C., Adams-Sapper, S., Riley, L. W., & Moreira, B. M. 2015. Association of class 1 and 2 integrons with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* international clones and *Acinetobacter* nosocomialis isolates. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 59(1): 698-701.

Maurer, F. P., Christner, M., Hentschke, M., & Rohde, H. 2017. Advances in rapid identification and susceptibility testing of bacteria in the clinical microbiology laboratory: implications for patient care and antimicrobial stewardship programs. Infectious Disease Reports, 9(1): 18-27.

Mazel, D. 2006. Integrons: agents of bacterial evolution. Nature Reviews Microbiology, 4(8): 608-620.

Meda, M., Clayton, J., Varghese, R., Rangaiah, J., Grundy, C., Dashti, F., & Hutley, E. 2017. What are the critical steps in processing blood cultures? A prospective audit evaluating current practice of reporting blood cultures in a centralised laboratory serving secondary care hospitals. Journal of Clinical Pathology, 70(4): 361-366.

Micek, S. T., Welch, E. C., Khan, J., Pervez, M., Doherty, J. A., Reichley, R. M., & Kollef, M. H. 2010. Empiric combination antibiotic therapy is associated with

improved outcome against sepsis due to Gram-negative bacteria: a retrospective analysis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 54(5): 1742-1748.

Mirnezami, M., Ranjbar, R., Niakan, M., & Ahmadi, M. H. 2020. Frequency of antimicrobial resistance and class 1 and 2 integrons in Escherichia coli strains isolated from urinary tract infections. Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR, 19(3): 282.

Mokhtari, H., Eslami, G., Zandi, H., Dehghan-Banadkouki, A., & Vakili, M. 2018. Evaluating the frequency of aac (6)-IIa, ant (2)-I, *intl1*, and *intl2* genes in aminoglycosides resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates obtained from hospitalized patients in Yazd, Iran. Avicenna Journal of Medical Biotechnology, 10(2): 115.

Monsef, A., and Eghbalian, F. 2010. Antibiotic sensitivity pattern of common bacterial pathogens in NICU and neonatal ward in Hamedan province of Iran. Health, 2(06): 625.

Montefour, K., Frieden, J., Hurst, S., Helmich, C., Headley, D., Martin, M., & Boyle, D. A. 2008. *Acinetobacter baumannii*: an emerging multidrug-resistant pathogen in critical care. Critical Care Nurse, 28(1): 15-25.

Munita, J. M., and Arias, C. A. 2016. Mechanisms of antibiotic resistance. Microbiology Spectrum, 4(2): 4-2.

Nikibakhsh, M., Firoozeh, F., Badmasti, F., Kabir, K., & Zibaei, M. 2021. Molecular study of metallo-β-lactamases and integrons in *Acinetobacter baumannii* isolates from burn patients. BMC Infectious Diseases, 21(1): 1-6.

Nwadioha, S. I., Kashibu, E., Alao, O. O., & Aliyu, I. 2011. Bacterial isolates in blood cultures of children with suspected septicaemia in Kano: a two-year study. The Nigerian Postgraduate Medical Journal, 18(2): 130-133.

Ochman, H., Lawrence, J. G., & Groisman, E. A. 2000. Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. Nature, 405(6784): 299-304.

Owrang, M., Fallah, F., Irani, S., Rahbar, M., & Eslami, G. 2018. Identification and isolation of insertion sequences, in carbapenem resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from Tehran hospitals. Jundishapur Journal of Microbiology, 11(6): 1-7.

Paolucci, M., Landini, M. P., & Sambri, V. 2012. How can the microbiologist help in diagnosing neonatal sepsis?. International Journal of Pediatrics, 2012.

Paterson, D. L. 2006. Resistance in gram-negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. American Journal of Infection Control, 34(5): S20-S28.

Peleg, A. Y., Seifert, H., and Paterson, D. L. 2008. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin. Microbiol. Rev. 21: 538-582.

Peng, X., Wang, Z., Kuang, W., Tan, J., & Li, K. 2006. A preliminary study on the occurrence and behavior of sulfonamides, ofloxacin and chloramphenicol antimicrobials in wastewaters of two sewage treatment plants in Guangzhou, China. Science of the Total Environment, 371(1-3): 314-322.

Pereira, C. A. P., Marra, A. R., Camargo, L. F. A., Pignatari, A. C. C., Sukiennik, T., Behar, P. R. P., & Brazilian SCOPE Study Group. 2013. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian pediatric patients: microbiology, epidemiology, and clinical features. PloS One, 8(7): e68144.

Perez, F., Hujer, A. M., Hujer, K. M., Decker, B. K., Rather, P. N., & Bonomo, R. A. 2007. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 51(10): 3471-3484.

Pollett, S., Miller, S., Hindler, J., Uslan, D., Carvalho, M., & Humphries, R. M. 2014. Phenotypic and molecular characteristics of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in a health care system in Los Angeles, California, from 2011 to 2013. Journal of Clinical Microbiology, 52(11): 4003-4009.

Pourbaghi, E., Doust, R. H., Rahbar, M., & Rahnamaye, M. 2022. Investigation of OXA-23, OXA-24, OXA-40, OXA-51, and OXA-58 Genes in Carbapenem-Resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Isolates from Patients with Urinary Tract Infections. Jundishapur Journal of Microbiology (JJM), 15(2): e119480.

Ramírez, M. S., Morales, A., Vilacoba, E., Márquez, C., & Centrón, D. 2012. Class 2 integrons dissemination among multidrug resistance (MDR) clones of *Acinetobacter baumannii*. Current Microbiology, 64(3): 290-293.

Reif, H. J., and Saedler, H. 1975. IS1 is involved in deletion formation in the gal region of *E. coli* K12. Molecular and General Genetics MGG, 137(1): 17-28.

Roe, M. T., Vega, E., & Pillai, S. D. 2003. Antimicrobial resistance markers of class 1 and class 2 integron-bearing *Escherichia coli* from irrigation water and sediments. Emerging Infectious Diseases, 9(7): 822.

Rosenberg, S. M. 2001. Evolving responsively: adaptive mutation. Nature Reviews Genetics, 2(7): 504-515.

Sabath, L. D. 1982. Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics in strains of Staphylococcus aureus. Annals of Internal Medicine, 97(3): 339-344.

Sambrook, J. F., & Russell, D. W. 2003. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2100 page, New York.

Samet, A., Śledzińska, A., Krawczyk, B., Hellmann, A., Nowicki, S., Kur, J., & Nowicki, B. 2013. Leukemia and risk of recurrent *Escherichia coli* bacteremia: genotyping implicates *E. coli* translocation from the colon to the bloodstream. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 32(11): 1393-1400.

Schulman, J., Dimand, R. J., Lee, H. C., Duenas, G. V., Bennett, M. V., & Gould, J. B. 2015. Neonatal intensive care unit antibiotic use. Pediatrics, 135(5): 826-833.

Segal, H., Garny, S., & Elisha, B. G. 2005. Is IS ABA-1 customized for *Acinetobacter*?. FEMS Microbiology Letters, 243(2): 425-429.

Shaw, K. J., Rather, P. N., Hare, R. S., & Miller, G. H. 1993. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. Microbiological Reviews, 57(1): 138-163.

Shi, J., Sun, T., Cui, Y., Wang, C., Wang, F., Zhou, Y., & Zhang, Y. 2020. Multidrug resistant and extensively drug resistant *Acinetobacter baumannii* hospital infection associated with high mortality: a retrospective study in the pediatric intensive care unit. BMC Infectious Diseases, 20(1): 1-9.

Siguier, P., Pérochon, J., Lestrade, L., Mahillon, J., & Chandler, M. 2006. ISfinder: the reference centre for bacterial insertion sequences. Nucleic Acids Research, 34: 32-36.

Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. 2010. The bacterial cell envelope. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2(5): a000414.

Simon, A., Nghiem, L. D., Le-Clech, P., Khan, S. J., & Drewes, J. E. 2009. Effects of membrane degradation on the removal of pharmaceutically active compounds

(PhACs) by NF/RO filtration processes. Journal of Membrane Science, 340(1-2): 16-25.

Simpson, J. M., Santo Domingo, J. W., & Reasoner, D. J. 2002. Microbial source tracking: state of the science. Environmental Science & Technology, 36(24): 5279-5288.

Singhi, S., Ray, P., Mathew, J. L., & Jayashree, M. 2008. Nosocomial bloodstream infection in a pediatric intensive care unit. The Indian Journal of Pediatrics, 75(1): 25-30.

Speijer, H., Savelkoul, P. H., Bonten, M. J., Stobberingh, E. E., & Tjhie, J. H. 1999. Application of different genotyping methods for Pseudomonas aeruginosa in a setting of endemicity in an intensive care unit. Journal of Clinical Microbiology, 37(11): 3654-3661.

Spilker, T., Coenye, T., Vandamme, P., & LiPuma, J. J. 2004. PCR-based assay for differentiation of Pseudomonas aeruginosa from other Pseudomonas species recovered from cystic fibrosis patients. Journal of Clinical Microbiology, 42(5): 2074-2079.

Su, J., Shi, L., Yang, L., Xiao, Z., Li, X., & Yamasaki, S. 2006. Analysis of integrons in clinical isolates of *Escherichia coli* in China during the last six years. FEMS Microbiology Letters, 254(1): 75-80.

Sundaram, V., Kumar, P., Dutta, S., Mukhopadhyay, K., Ray, P., Gautam, V., & Narang, A. 2009. Blood culture confirmed bacterial sepsis in neonates in a North Indian tertiary care center: changes over the last decade. Jpn. J. Infect. Dis., 62(1): 46-50.

Sunde, M. 2005. Prevalence and characterization of class 1 and class 2 integrons in *Escherichia coli* isolated from meat and meat products of Norwegian origin. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 56(6): 1019-1024.

Tajbakhsh, E., Khamesipour, F., Ranjbar, R., & Ugwu, I. C. 2015. Prevalence of class 1and 2 integrons in multi-drug resistant *Escherichia coli* isolated from aquaculture water in Chaharmahal Va Bakhtiari province, Iran. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 14(1): 1-5.

Tan, J., Wang, Y., Gong, X., Li, J., Zhong, W., Shan, L., & Zhang, Y. 2022. Antibiotic resistance in neonates in China 2012–2019: A multicenter study. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 55(3): 454-462.

Tenover, F. C., Arbeit, R. D., & Goering, R. V. 1997. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections a review for healthcare epidemiologists. Infection Control & Hospital Epidemiology, 18(6): 426-439.

Tolba, S., El Shatoury, E. H., & Abo AlNasr, N. M. 2019. Prevalence of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) in some Egyptian hospitals: evaluation of the use of *blaOXA-51-like* gene as species specific marker for CRAB. Egyptian Journal of Botany, 59(3): 723-733.

Tumbarello, M., Spanu, T., Sanguinetti, M., Citton, R., Montuori, E., Leone, F., & Cauda, R. 2006. Bloodstream infections caused by extended-spectrum-β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: risk factors, molecular epidemiology, and clinical outcome. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 50(2): 498-504.

Tumbarello, M., Viale, P., Viscoli, C., Trecarichi, E. M., Tumietto, F., Marchese, A., & Bassetti, M. 2012. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase–producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. Clinical Infectious Diseases, 55(7): 943-950.

Turton, J. F., Kaufmann, M. E., Gill, M. J., Pike, R., Scott, P. T., Fishbain, J., & Pitt, T. L. 2006. Comparison of *Acinetobacter baumannii* isolates from the United Kingdom and the United States that were associated with repatriated casualties of the Iraq conflict. Journal of Clinical Microbiology, 44(7): 2630-2634.

Turton, J. F., Kaufmann, M. E., Glover, J., Coelho, J. M., Warner, M., Pike, R., & Pitt, T. L. 2005. Detection and typing of integrons in epidemic strains of Acinetobacter baumannii found in the United Kingdom. Journal of Clinical Microbiology, 43(7): 3074-3082.

Uslan, D. Z., Crane, S. J., Steckelberg, J. M., Cockerill, F. R., Sauver, J. L. S., Wilson, W. R., & Baddour, L. M. 2007. Age-and sex-associated trends in bloodstream infection: a population-based study in Olmsted County, Minnesota. Archives of Internal Medicine, 167(8): 834-839.

Vila, J., S. Marti, and J. Sanchez-Cespedes. 2007. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. J. Antimicrob. Chemother., 59: 1210-1215.

Villalón, P., Valdezate, S., Medina-Pascual, M. J., Carrasco, G., Vindel, A., & Saez-Nieto, J. A. 2013. Epidemiology of the Acinetobacter-derived cephalosporinase,

carbapenem-hydrolysing oxacillinase and metallo-β-lactamase genes, and of common insertion sequences, in epidemic clones of *Acinetobacter baumannii* from Spain. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 68(3): 550-553.

Watkinson, A. J., Murby, E. J., & Costanzo, S. D. 2007. Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: implications for environmental discharge and wastewater recycling. Water Research, 41(18): 4164-4176.

Woodford, N., Ellington, M. J., Coelho, J. M., Turton, J. F., Ward, M. E., Brown, S, & Livermore, D. M. 2006. Multiplex PCR for genes encoding prevalent *OXA* carbapenemases in *Acinetobacter spp*. International Journal of Antimicrobial Agents, 27(4), 351-353.

Wu, D., Ding, Y., Yao, K., Gao, W., & Wang, Y. 2021. Antimicrobial Resistance Analysis of Clinical *Escherichia coli* Isolates in Neonatal Ward. Frontiers in Pediatrics, 9: 471.

Xu, X., Li, X., Luo, M., Liu, P., Su, K., Qing, Y., & Li, Y. 2017. Molecular characterisations of integrons in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese tertiary hospital. Microbial Pathogenesis, 104: 164-170.

Yadav, N. S., Sharma, S., Chaudhary, D. K., Panthi, P., Pokhrel, P., Shrestha, A., & Mandal, P. K. 2018. Bacteriological profile of neonatal sepsis and antibiotic susceptibility pattern of isolates admitted at Kanti Children's Hospital, Kathmandu, Nepal. BMC Research Notes, 11(1): 1-6.

Yu, Y. Q., He, X. R., Wan, L. J., Yang, Y. H., & Chen, P. Y. 2022. Etiology, antimicrobial resistance, and risk factors of neonatal sepsis in China: a systematic review and meta-analysis from data of 30 years. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 35(25): 7541-7550.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Ali Abdul Amir Ibrahim IBRAHIM

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Universitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı	2019-2023
Lisans	Mustansyria Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2004-2008

İş Deneyimi

Yıl	**Kurum**	**Görev**
2017-2019	Sağlık Bakanlığı Teknik İşler Bölümü	Laboratuvar Sorumlusu
2013-2016	Sağlık Bakanlığı Şehit Gazi Hariri Hastanesi	Laboratuvar Sorumlusu