



T.C  
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**TAM GENOM DİZİLEMESİ ile ÇOKLU- İLAÇ DİRENÇLİ *Acinetobacter baumannii* SUŞUNUN DİRENÇ ve VİRÜLANS MEKANİZMALARININ  
ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MÜBERRA ÇİMEN**

**TEMMUZ 2021**

**GÜMÜŞHANE**

T.C.  
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

TAM GENOM DİZİLEMESİ ile ÇOKLU- İLAÇ DİRENÇLİ *Acinetobacter baumannii* SUŞUNUN DİRENÇ ve VİRÜLANS MEKANİZMALARININ  
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS YEZİ

Müberra ÇİMEN

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

“Biyoteknoloji Anabilim Dalı”

Yüksek Lisans Programında Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 29.06.2021

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 13.07.2021

TEMMUZ 2021

## TEZ BEYANNAMESİ

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoteknoloji** Anabilim Dalı’nda, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlamış olduğum “**Tam Genom Dizilemesi ile Çoklu-İlaç Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşunun Direnç ve Virülans Mekanizmalarının Araştırılması**” isimli yüksek lisans tez çalışmasında; bütün bilgi ve belgeleri genel akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel ve yazılı bütün bilimsel sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğumu, başka kaynaklardan yararlandığım bilgileri metin ve kaynaklarda eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma süresince bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksi durumda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 29/06/2021

**Müberra ÇİMEN**

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### **TAM GENOM DİZİLEMESİ İLE ÇOKLU- İLAÇ DİRENÇLİ *Acinetobacter baumannii* SUŞUNUN DİRENÇ VE VİRÜLANS MEKANİZMALARININ ARAŞTIRILMASI**

Müberra ÇİMEN

Gümüşhane Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Azer ÖZAD DÜZGÜN

2021, 86 sayfa

*Acinetobacter baumannii* çoklu- ilaç dirençli fırsatçı hastane patojenlerinden biridir, hastane enfeksiyonlarının ana nedenidir ve çok çeşitli antibakteriyel maddelere karşı dirençli olması nedeniyle dünya çapında endişe oluşturmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, çoklu ilaca dirençli (ÇİD) *Acinetobacter baumannii*'nin sergilediği antimikrobiyal direnç ve virülans faktör genlerini belirlemek, biyofilm oluşumunu analiz etmek ve izolatın klonal alt tiplerini araştırmaktır.

Bu çalışmada, Trabzon Fatih Devlet Hastanesi'nden *A. baumannii* suşu izole edilerek VITEK 2 Kompakt sistemi ile izolatın antibakteriyel duyarlılıkları tespit edildi. İzolatta  $\beta$ -laktamaz kodlayan genler ve sınıf 1 integronların varlığı PZR yöntemiyle araştırıldı. PZR

sonucu pozitif örnek (*bla*<sub>OXA-23</sub>) pGEM-T easy vektörüne klonlanarak baz dizin analizine gönderildi ve sonuçlar biyoinformatik programlar kullanılarak analiz edildi.

Tam genom dizilimi Illumina NovaSeq 6000 platformu ile yapıldı ve MLST analizi Oxford ve Pasteur tiplere şemaları kullanılarak değerlendirildi. VFDB database programı kullanılarak *A. baumannii* A73 suşunda var olan tüm virülans faktör genleri tanımlandı. İmipenem ve levofloksasin MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle tespit edildi. Biyofilm oluşumu ve biyofilm oluşumunun indüklenmesi imipenem ve levofloksasin (1/2, 1/4, 1/8\*MİK) konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalarda 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. İzolatın hareket etme yeteneği petri kabında üç tekrarlı olarak yapıp, %0,2 kristal viyole ile görselleştirildi.

Suşun antibiyotik duyarlılık testine göre; karbapenemlere, penisilinlere, aminoglikozidlere ve florokinolonlara karşı direnç göstermesiyle çoklu -ilaç dirençli (ÇİD) olarak tanımlandı. Tam genom dizileme sonucuna göre izolatın *bla*<sub>OXA-23</sub>, *bla*<sub>OXA-51</sub>, *bla*<sub>ampC</sub> ve *bla*<sub>TEM</sub> beta- laktamaz genlerini taşıdığı belirlendi. *bla*<sub>OXA-51</sub> benzeri genin dizisi biyoinformatik programlar ile değerlendirilerek, *bla*<sub>OXA-66</sub> olduğu tespit edildi.

Pasteur MLST şemasına göre suş, ST2 alelik profilini gösterdi. Oxford MLST şemasında kullanılan genlerden olan *gdhB* de bir nükleotit değişimi tespit edildi (G189A) ve *gdhB*-227 olarak adlandırıldı. Oluşan yeni varyant ve diğer MLST Oxford şeması genleri kullanılarak MLST analizi yapıldığında yeni ST klonu belirlendi. Oluşan yeni klon ST2121 olarak adlandırıldı. Ayrıca *gyrA* geninde bir amino asit değişikliği (Met638Leu) tespit edildi.

Çoklu ilaca dirençli izolatın *bap*, *bas*ABCDFGHII, *csuA*/BABCDE, *bau*ABCDEF, *plcD*, *pga*ABCD, *entE*, *barAB*, *ompA*, *abaIR*, *piT2EAFTE/AUbl*, *fim*ADT, *cvaC*, *bfmR*, *bfmS* virülans faktör genleri taşıdığı belirlendi. Çalışmamızda en yüksek biyofilm oluşumunu 32 µg/mL konsantrasyonda imipenem ve 16 µg/mL konsantrasyonda levofloksasin oluşturduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak, *A. baumannii*'de çoklu ilaç direncinin nedeni araştırıldı. Yeni bir ST<sub>Oxf</sub>, ST2121 klonu tespit edildi. Bu çalışma ile *bla*<sub>OXA-66</sub> genini barındıran ST2Pas/ST2121 suşu Türkiye'de ilk kez *A. baumannii*'de bildirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Biyofilm, MLST, OXA-66, ST2121, Virulans faktör genleri

## ABSTRACT

## MS THESIS

# INVESTIGATION of RESISTANCE and VIRULENCE MECHANISMS of MULTI- DRUG RESISTANT *Acinetobacter baumannii* STRAIN by WHOLE GENOME SEQUENCING

Müberra ÇİMEN

Gümüşhane University

The Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biotechnology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Azer ÖZAD DÜZGÜN

2021, 86 pages

*Acinetobacter baumannii* is one of the multi-drug resistant (MDR) opportunistic nosocomial pathogens, it is the main cause of nosocomial infections and is of worldwide concern due to its resistance to a wide variety of antibacterial agents.

The aim of this study was to identify antimicrobial resistance and virulence factor genes exhibited by multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*, to analyze biofilm formation and to investigate clonal subtypes of isolate.

In this study, *A. baumannii* strain was isolated from Trabzon Fatih State Hospital and antibacterial susceptibility of the isolate was determined with VITEK 2 Compact system. The presence of  $\beta$ -lactamase encoding genes and class 1 integrons in the isolate was investigated by PCR method. The sample with positive PCR result (*bla*<sub>OXA-23</sub>) was cloned into pGEM-T easy vector and sent for base sequence analysis and the results were analyzed using bioinformatics programs.

Whole genome sequencing was performed with the Illumina NovaSeq 6000 platform and MLST analysis was evaluated using the Oxford and Pasteur typing schemes. All virulence factor genes in *A. baumannii* A73 strain were identified using the VFDB database program. Imipenem and levofloxacin MIC values were determined by liquid microdilution method. Biofilm formation and induction of biofilm formation were performed at imipenem and levofloxacin (1/2, 1/4, 1/8\*MIC) concentrations in 96-well plates in triplicate. The ability of the isolate to move was performed in petri dishes in triplicate and visualized with 0.2% crystal violet.

According to the antibiotic susceptibility test of the strain; It was defined as multi-drug resistant (MDR) with resistance to carbapenems, penicillins, aminoglycosides, and fluoroquinolones. According to the results of whole genome sequencing, it was determined that the isolate carried *bla*<sub>OXA-23</sub>, *bla*<sub>OXA-51</sub>, *bla*<sub>ampC</sub> and *bla*<sub>TEM</sub> beta-lactamase genes. The sequence of the *bla*<sub>OXA-51-like</sub> gene was evaluated with bioinformatics programs, and it was determined to be *bla*<sub>OXA-66</sub>.

According to the Pasteur MLST scheme, the strain showed the ST2 allelic profile. A nucleotide change was detected in *gdhB*, one of the genes used in the Oxford MLST scheme (G189A) and named *gdhB*-227. When MLST analysis was performed using the newly formed variant and other MLST Oxford scheme genes, the new ST clone was determined. The resulting new clone was named ST2121. An amino acid change (Met638Leu) was also detected in the *gyrA* gene.

It was determined that multi-drug resistant isolate carried *bap*, *basABCDEFGHIJ*, *csuA/BABCDE*, *bauABCDEF*, *plcD*, *pgaABCD*, *entE*, *barAB*, *ompA*, *abaIR*, *piT2EAFTE/AUBI*, *fimADT*, *cvaC*, *bfmR*, *bfmS* virulence factor genes. In our study imipenem induced the highest biofilm formation at a concentration of 32  $\mu$ g/mL and levofloxacin at a concentration of 16  $\mu$ g/mL.

In conclusion, the cause of multidrug resistance in *A. baumannii* was investigated. A new clone of STOxf, ST2121 has been detected. In this study, the ST2Pas/ST2121 strain harboring the *bla*<sub>OXA-66</sub> gene was reported for the first time in *A. baumannii* in Turkey.

**Key Words:** Biofilm, MLST, OXA-66, ST2121, Virulence factor genes,



## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Yüksek Lisans'a başladığım zamandan itibaren gerek dersler gerek deneyler boyunca bilgisini ve yardımını esirgemeyen, Gümüşhane'de ve üniversitede ilk arkadaşım olma yakınlığını gösteren çok değerli sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Azer ÖZAD DÜZGÜN'e kişiliğine ve eğitim hayatıma kazandırdığı değerler için çok teşekkür ederim. Değerli hocama, bana hata yapmanın hayatın ve deneylerin olağanları arasında olduğunu öğrettiği için minnettarım.

Çalışmada kullanılan klinik izolatın teminini sağlayan Dr. Tuba KÖSE'ye teşekkürlerimi iletiyorum.

Hayatım boyunca iyi, kötü ve zor günlerimde her anlamda yanımda bulunan aileme maddi ve manevi destekleri için ayrıca minnettarım. Bütün hayatım boyunca idolüm olacak olan annem Nigâr ÇİMEN'e, daima arkamda desteğini hissettiren babam Sırrı ÇİMEN'e, en yakın arkadaşım olan ve akademik tartışmalarla her zaman bilgi paylaşımında bulunduğum ablam Büşra ÇİMEN'e ve son olarak stresli zamanlarımda yüzümü güldüren evimizin neşesi kardeşim V. Hakan ÇİMEN'e bütün içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

Çok zorlandığım, bırakmak istediğim zamanlara, stresli ve çaresiz hissettiğim durumlara rağmen yılmadan devam ettiğim için, desteğini aldığım insanların umutlarını boşa çıkarmamak adına ve en önemlisi hayatta amaçladığım yerlere ulaşmak, insanlığa bir nebze de olsa katkıda bulunmak için çalışan ve çabalayan benliğime bu teşekkürü borç bilirim.

Müberra ÇİMEN

Gümüşhane, 2021

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa No

|                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------|-----|
| ÖZET                                                                     | IV  |
| ABSTRACT                                                                 | VI  |
| TEŞEKKÜR                                                                 | IX  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                     | XIV |
| TABLolar DİZİNİ.....                                                     | XV  |
| SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....                                     | XVI |
| 1. GENEL BİLGİLER.....                                                   | 1   |
| 1.1. Antibiyotiklerin Tarihi.....                                        | 1   |
| 1.2. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması.....                             | 2   |
| 1.2.1. Etki Güçlerine Göre Antibiyotikler .....                          | 2   |
| 1.2.2. Etki Mekanizmalarına Göre Antibiyotikler .....                    | 2   |
| 1.2.3. Kimyasal Yapılarına Göre Antibiyotikler .....                     | 3   |
| 1.3. Antibiyotik Direnci.....                                            | 3   |
| 1.3.1. Doğal Direnç (içsel, yapısal) .....                               | 4   |
| 1.3.2. Kazanılmış Direnç .....                                           | 4   |
| 1.3.3. Çapraz Direnç .....                                               | 4   |
| 1.3.4. Çoklu İlaç ve Diğer Direnç Türleri.....                           | 5   |
| 1.4. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları.....                               | 5   |
| 1.4.1.1. Modifikasyon.....                                               | 5   |
| 1.4.1.2. Enzimatik İnaktivasyon .....                                    | 6   |
| 1.4.1.3. İç ve Dış Membran Geçirgenliği .....                            | 6   |
| 1.4.1.4. Aktif Pompa Sistemleri .....                                    | 6   |
| 1.4.1.5. Alternatif Metabolik Yolak Kullanımı .....                      | 6   |
| 1.4.2. Antibiyotik Grubuna Göre Direnç Mekanizmaları.....                | 7   |
| 1.4.2.1. Beta-laktam Direnci.....                                        | 7   |
| 1.4.2.2. Aminoglikozid Grubu Direnci.....                                | 8   |
| 1.4.2.3. Tetrasiklin Direnci.....                                        | 8   |
| 1.4.2.4. Makrolid, Linkosamid ve Streptogramin (MLS) Grubu Direnci ..... | 9   |
| 1.4.2.5. Kloramfenikol Direnci.....                                      | 9   |
| 1.4.2.6. Kinolon Direnci .....                                           | 9   |
| 1.4.2.7. Rifampisin Direnci .....                                        | 10  |
| 1.4.2.8. Sülfonamid ve Trimetoprim Direnci .....                         | 10  |

|            |                                                             |    |
|------------|-------------------------------------------------------------|----|
| 1.4.2.9.   | Glikopeptid Direnci .....                                   | 10 |
| 1.5.       | <i>Acinetobacter</i> Cinsi .....                            | 10 |
| 1.5.1.     | Tarihsel Bakış Açısı.....                                   | 10 |
| 1.5.2.     | Güncel Taksonomi.....                                       | 11 |
| 1.5.3.     | <i>Acinetobacter</i> Türlerinin Tanımlanması.....           | 11 |
| 1.5.4.     | Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri .....                     | 12 |
| 1.5.5.     | Epidemiyolojisi.....                                        | 13 |
| 1.6.       | <i>Acinetobacter baumannii</i> .....                        | 13 |
| 1.6.1.     | Epidemiyolojisi.....                                        | 15 |
| 1.6.2.     | <i>Acinetobacter baumannii</i> Antimikrobiyal Direnci ..... | 16 |
| 1.6.2.1.   | Enzimatik Mekanizmalar.....                                 | 16 |
| 1.6.2.1.1. | A Sınıfı Beta-Laktamazlar .....                             | 16 |
| 1.6.2.1.2. | B Sınıfı Beta-Laktamazlar .....                             | 17 |
| 1.6.2.1.3. | C Sınıfı Beta-Laktamazlar .....                             | 17 |
| 1.6.2.1.4. | D Sınıfı Beta-Laktamazlar .....                             | 18 |
| 1.6.2.2.   | Enzimatik Olmayan Mekanizmalar .....                        | 18 |
| 1.6.2.2.1. | Dış Membran Proteinleri/ Geçirgenlik Kusurları .....        | 18 |
| 1.6.2.2.2. | Hedef Proteindeki Değişiklikler .....                       | 19 |
| 1.6.2.2.3. | Efluks Pompaları .....                                      | 20 |
| 1.7.       | <i>Acinetobacter baumannii</i> Virülans Faktörleri .....    | 20 |
| 1.7.1.     | Dış Membran Bileşenleri.....                                | 20 |
| 1.7.1.1.   | Dış Membran Proteinleri .....                               | 20 |
| 1.7.1.2.   | Lipopolisakkarit, Lipooligosakkarit ve Kapsül .....         | 22 |
| 1.7.1.3.   | Fosfolipaz .....                                            | 23 |
| 1.7.2.     | Salgı Sistemleri.....                                       | 24 |
| 1.7.2.1.   | Tip II Salgı Sistemi.....                                   | 24 |
| 1.7.2.2.   | Tip V Salgı sistemi .....                                   | 25 |
| 1.7.2.3.   | Efluks Sistemleri.....                                      | 25 |
| 1.7.2.4.   | Dış Membran Vezikülleri .....                               | 27 |
| 1.7.3.     | Besin Edinimi .....                                         | 27 |
| 1.7.3.1.   | Metal Edinimi .....                                         | 27 |
| 1.7.3.2.   | Demir .....                                                 | 28 |
| 1.7.3.3.   | Çinko ve Manganez .....                                     | 29 |
| 1.7.4.     | Topluluk Etkileşimleri.....                                 | 30 |

|          |                                                                                                                          |    |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.7.4.1. | Yeterli Çoğunluk Algılama (Quorum Sensing).....                                                                          | 30 |
| 1.7.4.2. | Biyofilm Oluşumu .....                                                                                                   | 31 |
| 1.7.5.   | Hareketlilik .....                                                                                                       | 33 |
| 2.       | YAPILAN ÇALIŞMALAR.....                                                                                                  | 34 |
| 2.1.     | Materyal.....                                                                                                            | 34 |
| 2.1.1.   | Alet ve Ekipmanlar .....                                                                                                 | 34 |
| 2.1.2.   | Kimyasallar, Enzimler, Vektörler ve Kitler.....                                                                          | 35 |
| 2.1.3.   | Çözeltiler, Tampon Solüsyonlar ve Besiyerlerinin Hazırlanması .....                                                      | 35 |
| 2.2.     | Yöntem .....                                                                                                             | 36 |
| 2.2.1.   | <i>A. baumannii</i> İzolatının Temini ve Antibiyotik Duyarlılığının Tanımlanması.....                                    | 36 |
| 2.2.2.   | <i>A. baumannii</i> İzolatının 16S rRNA Dizi Analizi.....                                                                | 36 |
| 2.2.3.   | <i>A. baumannii</i> İzolatının Stoklanması ve DNA İzolasyonu.....                                                        | 37 |
| 2.2.4.   | $\beta$ -laktamaz Direnç Genlerinin Varlığının PZR Yöntemiyle Araştırılması ...                                          | 37 |
| 2.2.5.   | Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntülenmesi .....                                                                         | 38 |
| 2.2.6.   | Kompetent Hücre Hazırlanması .....                                                                                       | 39 |
| 2.2.7.   | PZR Pozitif Örneklerin pGEM-T Easy Vektörüne Klonlanması .....                                                           | 39 |
| 2.2.8.   | Plazmit İzolasyonu .....                                                                                                 | 40 |
| 2.2.9.   | Sekans Sonuçlarının Değerlendirilmesi .....                                                                              | 40 |
| 2.2.10.  | Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile İmipenem ve Levofloksasin Minimum İnhibitör Konsantrasyonlarının (MİK) Belirlenmesi ..... | 40 |
| 2.2.11.  | DNA İzolasyonu .....                                                                                                     | 40 |
| 2.2.12.  | Tam Genom Dizileme .....                                                                                                 | 41 |
| 2.2.13.  | MLST Sekans Tipi Belirlenmesi .....                                                                                      | 41 |
| 2.2.14.  | Biyoinformatik Analiz.....                                                                                               | 41 |
| 2.2.15.  | Virülans Genlerinin Belirlenmesi.....                                                                                    | 41 |
| 2.2.16.  | Biyofilm Oluşumunun Kantitatif Olarak belirlenmesi .....                                                                 | 41 |
| 2.2.17.  | Antibiyotik ile İndüklenmiş Biyofilm Oluşum Deneyi .....                                                                 | 42 |
| 2.2.18.  | Motilite Deneyi.....                                                                                                     | 42 |
| 3.1.     | <i>A. baumannii</i> İzolatının Temini ve Antibiyotik Duyarlılığının Tanımlanması.....                                    | 43 |
| 3.2.     | İzolatın Tam Genom Sekans Analiz Sonuçları.....                                                                          | 44 |
| 3.3.     | $\beta$ - Laktamaz Genlerinin PZR ile Belirlenmesi .....                                                                 | 45 |
| 3.4.     | <i>bla</i> <sub>OXA-23</sub> Geninin pGEM-T Easy Vektörüne Klonlanması .....                                             | 46 |
| 3.5.     | MLST Analiz Sonucu.....                                                                                                  | 46 |

|      |                                                                                                                          |    |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.5. | Virölans Genlerinin Belirlenmesi.....                                                                                    | 48 |
| 3.6. | Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile İmipenem ve Levofloksasin Minimum İnhibitör Konsantrasyonlarının (MİK) Belirlenmesi ..... | 49 |
| 3.7. | Biyofilm Oluşumunun Kantitatif Olarak Belirlenmesi .....                                                                 | 49 |
| 3.8. | Antibiyotik ile İndüklenmiş Biyofilm Oluşumu.....                                                                        | 50 |
| 3.9. | Motilitenin Belirlenmesi.....                                                                                            | 51 |
| 4.   | TARTIŞMA.....                                                                                                            | 52 |
| 5.   | SONUÇ ve ÖNERİLER .....                                                                                                  | 57 |
| 6.   | KAYNAKLAR.....                                                                                                           | 58 |
|      | ÖZGEÇMİŞ                                                                                                                 |    |



## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

|            |                                                                                    |    |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.1. | 822 Bp'lık <i>bla</i> <sub>OXA-23</sub> ' ün DNA Marker ile Jeldeki Görüntüsü..... | 45 |
| Şekil 3.1. | Transformasyon Sonucu Mavi- Beyaz Koloni Oluşumu.....                              | 46 |
| Şekil 3.3. | Plazmit İzolasyonu Jel Görüntüsü.....                                              | 46 |
| Şekil 3.4. | <i>A. baumannii</i> A73 Suşu MLST Profil Gen Sıraları.....                         | 48 |
| Şekil 3.5. | İmipenem Konsantrasyonuna Göre Biyofilm Oluşumu.....                               | 50 |
| Şekil 3.6. | Levofloksasin Konsantrasyonuna Göre Biyofilm Oluşumu.....                          | 51 |
| Şekil 3.7. | Motilite Deneyi.....                                                               | 51 |

## TABLÖLAR DİZİNİ

### Sayfa No

|                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1.1. Beta- Laktamazların Sınıflandırılması.....                                                 | 7  |
| Tablo 2.1. Çözelti, Tampon ve Besiyerlerinin Hazırlanması.....                                        | 35 |
| Tablo 2.2. PZR Amplifikasyonu için Kullanılan T <sub>M</sub> ve Primerler.....                        | 38 |
| Tablo 3.1. <i>A. baumannii</i> A73 Suşu Antibiyogram Sonuçları.....                                   | 43 |
| Tablo 3.2. <i>A. baumannii</i> A73 Suşu Antibiyotik Direnç Genleri<br>ve Eflüks Pompası Aileleri..... | 44 |
| Tablo 3.3. <i>A. baumannii</i> A73 Suşu MLST Klonal Alt Tipleri.....                                  | 48 |
| Tablo 3.4. <i>A. baumannii</i> A73 Suşunda Tespit Edilen Virülans Faktör Genleri.....                 | 49 |

## SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

|                         |                                                         |
|-------------------------|---------------------------------------------------------|
| A                       | : Absorbans                                             |
| <i>A. baumannii</i>     | : <i>Acinetobacter baumannii</i>                        |
| <i>A. calcoaceticus</i> | : <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>                    |
| ABC                     | : ATP bağlayıcı kaset ailesi                            |
| ABD                     | : Amerika Birleşik Devletleri                           |
| AbOmpA                  | : <i>Acinetobacter baumannii</i> dış membran proteini A |
| ABS                     | : <i>Acinetobacter baumannii</i> suş                    |
| AFLP                    | : Amplifiye fragman Uzunluk Polimorfizmi                |
| AHL                     | : N- açıl- D/ L- homoserin lakton                       |
| AIF                     | : Apoptoz İndükleyici Faktör                            |
| AME                     | : Aminoglikozid Modifiye Edici Enzim                    |
| AmpC                    | : Ambler sınıf C beta- laktamaz                         |
| ATCC                    | : Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu                      |
| <i>bla</i>              | : Beta- laktamaz                                        |
| C°                      | : Santigrad derece                                      |
| CARB                    | : Karbenisilin hidrolize eden beta- laktamaz            |
| CAT                     | : Kloramfenikol asetiltransferaz                        |
| CHDL                    | : Karbapenem hidrolize edici sınıf D beta- laktamaz     |
| ClpP                    | : ATP' ye Bağlı Clp proteaz proteolitik alt birimi      |
| cm                      | : Santimetre                                            |
| CTX- M                  | : Sefotaksim hidrolizleme yeteneği                      |
| ÇİD                     | : Çok İlaça Dirençli                                    |
| DAP                     | : 1,3 diaminopropan                                     |
| DHFR                    | : Dihidrofolat redüktaz                                 |
| DHPs                    | : Sülfonamid dihidropteorat sentaz                      |
| DMT                     | : İlaç/ metabolit taşıyıcı ailesi                       |
| DNA                     | : Deoksiribonükleik asit                                |
| dNTP                    | : Deoksinükleotid                                       |

|                   |                                                             |
|-------------------|-------------------------------------------------------------|
| DSÖ               | : Dünya Sağlık Örgütü                                       |
| <i>E. coli</i>    | : <i>Escherichia coli</i>                                   |
| EDTA              | : Etilendiamin tetra asetik asit                            |
| EMB               | : Eosin Methylen- Blue                                      |
| ESBL              | : Genişletilmiş Spektrumlu Beta- laktamaz                   |
| EUCAST            | : Avrupa Klinik Değer Tablosu                               |
| Fe                | : Demir                                                     |
| FSB               | : Frozen Storage Buffer                                     |
| G                 | : Gram                                                      |
| GES               | : Guiana genişletilmiş spektrum                             |
| HKD               | : HxKx4Dx6GS/GGxN motif                                     |
| HSL               | : D/ L homoserin lakton                                     |
| IC                | : Uluslararası klon                                         |
| IM                | : Inner- İç Membran                                         |
| IPTG              | : İzopropiltiogalaktozid                                    |
| KCl               | : Potasyum Klorür                                           |
| kDa               | : Kilodalton                                                |
| KPC               | : <i>Klebsiella pneumoniae</i> karbapenemaz                 |
| LB                | : Laura- Bertani                                            |
| LOS               | : Lipooligosakkarit                                         |
| LPS               | : Lipopolisakkarit                                          |
| MALDI- TOF        | : Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon-Uçuş Süresi |
| MATE              | : Çoklu ilaç ve toksin ihraç ailesi                         |
| MBK               | : Minimum Bakterisidal Konsantrasyon                        |
| MBL               | : Metallo beta- laktamaz                                    |
| MDR               | : Çoklu İlaç Dirençli                                       |
| MFS               | : Kolaylaştırıcı süper ailesi                               |
| mg                | : Miligram                                                  |
| Mg                | : Magnezyum                                                 |
| MgCl <sub>2</sub> | : Magnezyum Klorür                                          |

|                      |                                                |
|----------------------|------------------------------------------------|
| MGE                  | : Mobil Genetic Elemanlar                      |
| MHA                  | : Mueller Hinton agar                          |
| MİK                  | : Minimum İnhibitör Konsantrasyon              |
| mL                   | : Mililitre                                    |
| MLS                  | : Makrolid, Linkosamid ve Streptogramin        |
| MLST                 | : Multilokus Dizi Tiplendirme                  |
| mM                   | : Mikromolar                                   |
| mm                   | : Milimetre                                    |
| Mn                   | : Mangan/ Manganez                             |
| NaCl                 | : Sodyum klorür                                |
| NaCl                 | : Sodyum Klorür                                |
| ng                   | : Nanogram                                     |
| nm                   | : Nanometre                                    |
| NRAMP                | : Doğal Dirençle İlişkili Makrofaj Proteinleri |
| OD                   | : Optik yoğunluk                               |
| OM                   | : Outher- Dış Membran                          |
| OMP                  | : Dış Membran Proteini                         |
| OmpA                 | : Dış membran proteini A                       |
| OMV                  | : Dış membran vezikülleri                      |
| ORF                  | : Açık okuma çerçevesi                         |
| OXA                  | : Oksasilinaz                                  |
| <i>P. aeruginosa</i> | : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                |
| PABA                 | : Paraaminobenzoikasit                         |
| PagP                 | : Palmitoil transferaz                         |
| PBP                  | : Penisilin Bağlayıcı Protein                  |
| PDR                  | : Panresistant İlaç Direnci                    |
| PER                  | : Pseudomonas genişletilmiş direnç             |
| PFGE                 | : Pulsed- field jel elektroforezi              |
| pH                   | : Power of hydrogen (Hidrojen gücü)            |
| Pmol                 | : Pikomol                                      |

|                  |                                                    |
|------------------|----------------------------------------------------|
| PNAG             | : poly- $\beta$ - 1, 6- N- asetilglukosamin        |
| PZR              | : Polimeraz Zincir Reaksiyonu                      |
| RNA              | : Ribonükleik asit                                 |
| RND              | : Direnç- nodülasyon- hücre bölünmesi süper ailesi |
| ROS              | : Reaktif oksijen türleri                          |
| Rpm              | : Revolutions Per Minute                           |
| rRNA             | : Ribozomal Ribonükleik asit                       |
| S                | : Sülfür                                           |
| <i>S. aureus</i> | : <i>Staphylococcus aureus</i>                     |
| SCO              | : Kendi kendine transfer edilebilir                |
| SHV              | : Sülfhidril değişkeni                             |
| SIM              | : Seul imipenemaz                                  |
| SMR              | : Küçük çoklu ilaç direnç ailesi                   |
| ST               | : Sekans Türü                                      |
| TAE              | : Tris-asetik asit-etilendiamin tetra asetik asit  |
| TCS              | : İki bileşenli düzenleyici sistem                 |
| TEM              | : Termoniera                                       |
| Tet              | : Tetrasiklin                                      |
| THISS            | : Tip 3 salgılama sistemi                          |
| TISS             | : Tip 2 salgılama sistemi                          |
| TISS             | : Tip 1 salgılama sistemi                          |
| TIVSS            | : Tip 4 salgılama sistemi                          |
| TLR              | : Toll- like reseptör                              |
| TVISS            | : Tip 6 salgılama sistemi                          |
| TVSS             | : Tip 5 salgılama sistemi                          |
| UV               | : Ultra Viyole                                     |
| VAP              | : Ventilator ilişkili Pnömoni                      |
| VEB              | : Vietnam genişletilmiş spektrum                   |
| VFDB             | : Virülans Faktör Database                         |
| VIM              | : Verona integron kodlu metallo beta- laktamaz     |

|                    |                                                          |
|--------------------|----------------------------------------------------------|
| X- gal             | : 5-bromo-4-kloro-3-indolil- $\beta$ -D-galaktopiranosid |
| XDR                | : Bütün Antibiyotiklere Dirençli                         |
| YBÜ                | : Yoğun Bakım Ünitesi                                    |
| Zn                 | : Çinko                                                  |
| QS                 | : Yeterli çoğunluk algılama                              |
| WGS                | : Whole genome sequencing                                |
| WW                 | : World Wide                                             |
| $\beta$            | : Beta                                                   |
| $\beta$ - laktam   | : Beta- laktam                                           |
| $\beta$ - laktamaz | : Beta- laktamaz                                         |
| $\mu$ L            | : Mikrolitre                                             |

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Antibiyotiklerin Tarihi

‘Sihirli mermiler’ Alman bakteriyolog Paul Ehrlich tarafından enfeksiyonları tedavi edecek kimyasal ajanların test etmesindeki temel düşünceydi (US News World Rep., 1998). 1909 yılında erken frengiyi iyileştirdiğini gözlemlediği bir arsenik bileşiği olan salvarsanın ilk tedavisini de keşfetmiş oldu. Tıpçılar, frengiye neden olan belirli mikropları öldürdüğü için buna ‘sihirli mermi’ adını verdiler (Hoel vd., 1997).

19. yüzyıl ortalarına gelindiğinde Louis Pasteur bazı mikroorganizmaların diğerlerini imha ettiğini gözlemledi. 1928 yılında İsveçli bakteriyolog Alexander Fleming, stafilokok varyantı ile çalıştığı sırada tesadüf eseri olarak kültür ortamına bulaşmış olan küf mantarının çevresinde bakterilerin üreyemediğinin farkına vardı. Fleming, kültür ortamında üreyen ve bakterileri öldüren küf mantarının *Penicillium notatum*, olmasına ithafen keşfettiği ajana ‘Penicillin’ adını verdi. Böylece ilk antibiyotik olan penisilin 1928 yılında Sir Alexander Fleming tarafından keşfedilmiş oldu (Goldsworthy vd., 2002). Fleming tarafından keşfedilmiş olan penisilin 1940 yılında Howard W. Florey ve Ernst B. Chain tarafından kültür filtratından, Fleming’in orijinal filtratındakinden milyon kat daha güçlü olan ‘penisilin tozu’ izole edildi. Bütün bu keşifler sonucunda Fleming, Florey ve Chain 1945 yılında Nobel Tıp Ödülü’nü kazandılar (Hoel vd., 1997).

Yunanca anti (karşı) ve bios (yaşam) sözcüklerinden türevlenmiş olan ‘antibiyotik’ terimi, Amerika Birleşik Devletleri’ne giden Rus göçmen bilim adamı Selman A. Waksman tarafından, toprakta taşınan mantarlar ve organizmalar tarafından üretilen, diğer mikropları yok eden veya büyümesini yavaşlatan kimyasallara hitaben verilen addır (Hoel ve Williams, 1997). Penisilinin potansiyelinden etkilenen Waksman hayatını antibiyotik üreten mikroorganizmalara adanmıştır. Penisilinin tüberküloz hastaları için işe yaramadığını kanıtlayınca, Waksman o eski belayı dindirebilecek bir antibiyotiğin peşine düşmeye karar verdi. O ve öğrencileri 10.000’den fazla toprak kültürünü araştırdı (Hoel ve Williams, 1997). 1943 yılında *Tubercle* basilini öldüren küfü keşfetti ve ona ‘streptomisin’ adını verdi. Bir yıl sonra kritik bir hastada denendi başarılı oldu. 1952 yılının Nobel Ödülü keşfinden dolayı Selman A. Waksman’ a verildi (Khardori, 2006).

Enfeksiyon karşıtı ilaçların altın ağı 1943'te başlamıştır. Alman eczacı Gerhard Domagk kıyafet boyası olarak kullanılan boyanın farelerde streptokok kaynaklı enfeksiyonu tedavi ettiğini fark etti. Bu boyanın aktif bileşeni olan 'sülfonamid' İsveçli bilim adamı Daniel Boveri tarafından keşfedildi. Keşfinden dolayı 1939 Nobel Tıp dl Gerhard Domagk'a layık görüldü (Goldsworthy vd., 2002,). Fleming ve Waksman'ın keşifleri bilimi antibiyotiklerin harikalarına uyandırdı. Çok geçmeden daha geniş spektrumlu penisilinler ve aminoglikozitler bulundu, ardından diğer önemli antibiyotikler geldi (Meleney, 1947). Bugün 5000'den fazla antibiyotik bilinmektedir. Bunların yaklaşık 1000 tanesi detaylıca araştırılmış ve 100'e yakını enfeksiyon tedavisinde kullanılmaktadır. Bunların çoğu aktinomisetler, küfler ve bakteriler tarafından üretilmektedir (Dixon, 1994).

## **1.2. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması**

Günümüzde bilinmekte olan antibiyotikler farklı kriterlere göre sınıflandırılabilirler. Etki gücü, etki mekanizması ve kimyasal yapı yaygın olarak kullanılan üç sınıflandırma kriteridir (Topal vd., 2015). Aynı sınıflandırma grubunda bulunan antibiyotikler genellikle etkinlik, toksisite ve alerjik potansiyelli yan etkiler açısından benzerlik gösterebilir (Etebu ve Ariekpar, 2016).

### **1.2.1. Etki Güçlerine Göre Antibiyotikler**

Etki glerine göre antibiyotikler iki ana gruba ayrılır. Bunlardan birincisi; bakteri hücrelerinin gelişmesini veya üremesini engelleyen 'bakteriyostatikler' iken ikincisi ise bakteri hücresini doğrudan yok eden 'bakterisidler' dir. Bu sınıflara ait antibiyotiklerin etki gücü bakteriyostatikler için MİK (Minimum İnhibitor Konsantrasyon), bakterisidler için MBK (Minimum Bakterisidal Konsantrasyon) ile gösterilir (Akkan, 1997).

### **1.2.2. Etki Mekanizmalarına Göre Antibiyotikler**

Antibiyotikler, etki mekanizmalarına göre 5 gruba ayrılır; bunlar bakteri hücre duvar sentezini bozan ve litik enzimleri aktive edenler, sitoplazma membran permeabilitesini bozanlar (deterjan etkisi yapanlar), ribozomlarda protein sentezini bozanlar, bakteri genetik materyali üzerine etki edenler (DNA ve RNA sentezini bozanlar) ve bakteriyel antimetabolitler (Akkan, 1997).

### **1.2.3. Kimyasal Yapılarına Göre Antibiyotikler**

Kimyasal yapılarına göre sınıflandırılan antibiyotikler; beta-laktamlar, fenikoller, sülfonamidler, tetrasiklinler, aminoglikozidler, makrolidler, linkozamidler, polipeptidler, kinolonlar, nitrofuranlar, imdidazoller ve rifampimisiner olarak sıralandırılır (Akkan, 1997).

### **1.3. Antibiyotik Direnci**

Yirminci yüzyılın sonlarında farmasötik araştırma ve imalat katlanarak büyüme gösterdi. İlaçlar keşfedildi, hastalıklara karşı zafer kazanıldı, dirençli mikroorganizmalar ortaya çıktı ve görünüşte tükenmez bir döngüde daha fazla ilaç keşfedildi (Meleney, 1947). Enfeksiyonları tedavi etmek için gerekli antimikrobiyal bileşiklerin keşfi ve yaygın kullanılmaya başlanması modern tıpta devrim etkisi yaptı. Sonrasında, enfeksiyon tedavisi yanı sıra cerrahi prosedürler, organ nakli ve kanserli hasta tedavisinde gerekli olan önemli tıbbi müdahale ajanları haline geldiler (WHO, 2014).

Yoğun antibiyotik kullanımı ile yıllar içinde dirençli mikroorganizmalar ortaya çıktı ve bu dirençli mikroorganizmaların tedavisinde sorunlar yaşanmaya başladı (Yüce, 2001; Tenover and Hugles, 1996; Gold and Muellering, 1996). Önemli bakteriyel patojenler arasında direncin ortaya çıkması dünya çapında önemli bir halk sağlığı tehdidi olarak sayılmaktadır. Birden fazla ilaca dirençli bakterilerin hastane ortamına ek olarak toplum ortamlarında da görülmesi antibiyotiğe dirençli bakterilerin hastane dışında da bulunduğunu göstermektedir (Munita ve Arias, 2016). Antibiyotik direnci Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 21. Yüzyılın en önemli üç halk sağlığı tehdidinden biri olarak adlandırmaktadır (WHO, 2014). Yapılan çalışmalar doğrultusunda 2050 yılında antimikrobiyal direnç sebebiyle 10 milyon insanın ölmesi beklenmektedir (AMR Review, 2014).

Bakteriyel direnç, bakteri hücrelerinin antibiyotiklerin bakteriyostatik veya bakterisidal etkilerini önleme kapasitesi olarak tanımlanabilir (Munita ve Arias, 2016). Günümüzde neredeyse bütün bakteriler kendisine karşı kullanılan antibiyotiklere karşı direnç kazanmıştır (Öztürk, 1997). Bir grup veya tür olarak bakteriler, herhangi bir belirli antimikrobiyal maddeye her zaman eşit şekilde duyarlı veya dirençli değildir. Direnç seviyeleri, ilgili bakteri grupları içinde büyük ölçüde değişebilir. Duyarlılık ve direnç genellikle, bakterilerin büyümesini engelleyecek minimum ilaç konsantrasyonu olan

minimum inhibe edici konsantrasyonun (MİK) bir fonksiyonu olarak ölçülür (Coculescu, 2009; Martinez, 2014).

Antibiyotik direnci dört ana temelde gerçekleşir; doğal (içsel, yapısal), kazanılmış, çapraz ve çoklu ilaç ve diğer direnç türleri.

### **1.3.1. Doğal Direnç (içsel, yapısal)**

Bu tip dirençte antibiyotik kullanımı dirençle ilişkili olmayıp, bakterinin yapısal özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Kadhum ve Hasan, 2019). Bu, yapısal direnç veya hedef antibiyotik yapısını takip etmeyen mikroorganizma veya özellikleri nedeniyle hedefi ile karşılaşmayan antibiyotiklerin bir sonucu olarak ortaya çıkar (Waglechner ve Wright, 2017). Örneğin, gram negatif bakteriler ve vankomisin. Vankomisin antibiyotikleri dış membrandan geçmez, bu yüzden Gram negatif bakteriler doğal olarak vankomisine karşı duyarlı değildir (Antonoplis vd., 2019).

### **1.3.2. Kazanılmış Direnç**

Bakterilerin genetik özelliklerinde meydana gelen değişiklikler sonucunda daha önce yanıt verdiği antibiyotiklerden etkilenmemesi nedeniyle kazanılmış bir direnç oluşumudur (Andersson vd., 2020). Bu direnç biçimi ana kromozomdan veya ekstra kromozom yapılarından (plazmit, transpozon vb.) kaynaklıdır (Aljanaby ve Aljanaby, 2018). Kromozomal direnç, rastgele bakteri kromozomunu değiştiren mutasyonlardan kaynaklanır. Bu mutasyonlar belirli fiziksel ve kimyasal faktörlerle meydana gelebilir (Majeed ve Aljanaby, 2019). Ekstrakromozomal direnç plazmitler, transpozonlar ve integronlar yoluyla iletilebilen ekstrakromozomal materyallere dayanır (Jabuk vd., 2017).

### **1.3.3. Çapraz Direnç**

Özdeş veya ilişkili mekanizmalarla çalışan ve aynı zamanda diğer antibiyotiklere de dirençli olan mikroorganizmalar taşıyan spesifik bir antibiyotiğe karşı direnç anlamına gelir (Etebu ve Arikekpar, 2016). Bu genelde antibiyotiklerin ortak yapıları olduğunda görülür. Eritromisin, kanamisin, neomisin direnci ya da sefalosporinlere ve penisiline direnç örnek olarak gösterilebilir (Jahne vd., 2015). Bunlara ek olarak çapraz direnç bazen tamamiyle farklı ilaç grupları arasında da görülebilir, örneğin eritromisin-linkomisin arasında var olan çapraz direnç. Bu direnç kromozomal orijinli olabilir veya olmayabilir (Ng, 2019).

#### 1.3.4. Çoklu İlaç ve Diğer Direnç Türleri

Çoklu ilaca dirençli türler tipik olarak antibiyotiklerine dirençli olan patojenlerdir, bu bakterilerin artık tek bir ilaçla ortadan kaldırılamamasına ve düzenlenememesine sebep olur (Alanis, 2005). Tedavi için uygun olmayan antibiyotik kullanımı, çoklu ilaca dirençli patojenik bakterilerin ortaya çıkmasıyla sonuçlanmıştır (Dheda, 2017).

Bakterilerde çoklu ilaç direncini indükleyen mekanizmalar; ilk olarak, bu bakterilerin her biri spesifik ilaç direncini kodlayan birkaç gen kazanacaktır, bu direnç şekli genellikle R-plazmitlerinde mevcuttur (Tóth vd., 2020). İkinci olarak efluks pompaları için geliştirilmiş gen ekspresyonu, antibiyotikler için enzimatik inaktivasyon, hedef yapıdaki değişiklikler ve diğerleri tarafından da çoklu ilaç direnç formu ortaya çıkabilir (Salloum, 2020).

Bakteri suşları üç veya daha fazla antimikrobiyal sınıfa dirençli ise ‘çoklu ilaca dirençli (MDR)’ kabul edilir. Bir veya iki antibiyotik grubu dışında hepsine dirençli suşlar ‘genişlemiş ilaç direnci (XDR)’ ve bütün antibiyotiklere dirençli suşlar ise ‘‘panresistant’’ ilaç direnci (PDR)’ olarak sınıflandırılır (Nikaido, 2009; Manchanda vd., 2010; Eliopoulos, 2008). Çoklu ilaç direncine sahip *Acinetobacter* türleri örneğin tüm penisilin ve sefalosporin, aminoglikozidler ve kinolon grupları için en az üç grup antibiyotik sınıfına direnç kabiliyetine sahip bakteriler olarak tanımlanabilir (Escudero, 2018). XDR suşlar yukarıda belirtilen üç tip antibiyotik sınıfına dirençli ve hatta karbapenem dirençli *Acinetobacter* suşları, PDR bakteriler ise XDR suşların direnci yanı sıra polimiksin ve tigesiklin dirençli olabilir (AL-Harmoosh vd., 2016; Nikaido, 2009).

#### 1.4. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Antimikrobiyal direnç mekanizmaları 5 ana kategoriye ayrılır; modifikasyon, enzimatik inaktivasyon, iç ve dış membran geçirgenliği, aktif pompa sistemleri ve alternatif metabolik yolak kullanımı.

##### 1.4.1.1. Modifikasyon

İlaçla ilgili reseptörde ve antibiyotiklerle ilişkinin hedef bölgenin lokasyonundameydana gelen değişiklikler belirgindir, bunlar karmaşık enzimler ve ribozomlar olabilir (Parashanth vd., 2012). Ribozomal hedefteki varyasyonlarla uyumlu en sık tanımlanan direnç, makrolid antibiyotiklerdedir (Shaikh vd., 2007). Buradaki en popüler örnekler *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria*

*meningitides* ve *Enterococcus faecium* şuşlarında penisilin bağlayıcı proteinlerde beta-laktamaz enzimlerinin mutasyonlarına bağlı olarak penisilin direncinin gelişmesidir (Southon vd., 2020).

#### **1.4.1.2. Enzimatik İnaktivasyon**

Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin çoğu antibiyotikleri parçalayan enzimleri sentezler. Bu enzimatik inaktivasyon mekanizması, en önemli direnç mekanizmalarından biridir (Pérez-Llarena ve Bou, 2016). Bu grupta beta-laktamazlar, aminoglikozidaz, kloramfenikol ve eritromisin modifiye edici enzimler bulunmaktadır (Sharkey ve O'Neill, 2019).

#### **1.4.1.3. İç ve Dış Membran Geçirgenliği**

Bu mekanizma, iç ve dış zarın geçirgenliğindeki değişikliklerden kaynaklanır, böylece hücreye ilaç alımını azaltır veya pompa sistemlerinden hızla dışarı atılır (Santajit ve Indrawattana, 2016). Örneğin dirençli suşların proteinlerinde meydana gelebilen porin mutasyonları sonucunda membran geçirgenliğindeki azalma nedeniyle, OprD adı verilen belirli porinlerdeki bir mutasyon *Pseudomonas aeruginosa* suşunda karbapeneme karşı dirence neden olabilir (Nikaido ve Pagès, 2012). Dış membran (OM) geçirgenliğindeki azalma kinolon direnci ve aminoglikozid direncinde önemli bir rol oynayabilir (Li vd., 2012).

#### **1.4.1.4. Aktif Pompa Sistemleri**

Aktif pompa sistemleri yoluyla gelişen direnç, en çok tetrasikin grubu antibiyotiklerde yaygındır (Breidenstein vd., 2011). Tetrasiklinler enerjiye bağlı aktif pompa sistemi ile dışarı atılır ve hücrede birikmez (Liv vd., 2020). Bu tür bir direnç plazmidin ve kromozomun kontrolündedir. Aktif pompa sistemleri kinolonlara, 14 üyeli makrolidlere, kloramfenikol ve beta-laktamlara dirençte etkilidir (Guo, 2020).

#### **1.4.1.5. Alternatif Metabolik Yolak Kullanımı**

Bakterilerdeki bazı hedef değişikliklerinin aksine, ilaca duyarlılık için yeni bir yol, objektif geliştirme ihtiyacını ortadan kaldırır (Fatahi-Bafghi, 2019). Bakteriler folik asidi sülfonamid ve trimetoprim arasında dirençli hale gelecek şekilde sentezlemek yerine çevreden folik asit hazırlayabilir (Tan vd., 2020).

## 1.4.2. Antibiyotik Grubuna Göre Direnç Mekanizmaları

### 1.4.2.1. Beta-laktam Direnci

Penisilinler, sefalosporinler (birinci nesil, ikinci nesil, üçüncü nesil, dördüncü nesil ve beşinci nesil), monobaktamlar ve karbapenemleri içeren geniş bir antibiyotik sınıfıdır. Bu gruptaki en yaygın direnç mekanizması beta-laktamaz enzim sentezi dolayısıyladır (Yüce, 2001; Jawetz vd., 1995; Mayer vd., 1995; Medeiros, 1997; Philippon vd., 1994; Gülay, 2005). Beta-laktamaz enzimlerinin basit sınıflandırılması moleküler yapıya dayanır ve buna göre A, B, C ve D olmak üzere dört temel gruba ayrılır. Tablo 1.1. Beta-laktamaz enzimlerinin basit sınıflandırılmasını göstermektedir (Sawa vd., 2020). A, B ve C grubu hem kromozomal olarak kodlanmış hem de plazmit aracılı enzimler olarak iyi bir şekilde belgelenmiştir (Gutkind vd., 2013). D grubu beta-laktamazların bulunması çok daha zordur ve çoğunlukla Gram negatif bakterilerde plazmitle kodlanmış beta-laktamazlar olarak tanımlanırlar. D grubu beta-laktamaz enzimleri de aslında penisilinazlardır ve bunlar, A grubu beta-laktamazlardan farklı olarak, penisilinin yanı sıra oksasilini hidrolize eder ve direnç kazanabilir, dolayısıyla adı oksasilinazdır ve OXA ön eklidir (Bush vd., 1995).

Tablo 1.1.  $\beta$ -laktamazların sınıflandırılması (Sawa vd., 2020)

|                      |                                                                                                                                                                                                 |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Metal- olmayan (ser) | A Sınıfı: Klasik dar- spektrum (PSE, CARB)<br>Genişletilmiş spektrumlu $\beta$ - laktamazlar (ESBLs) (TEM, SHV, CTX- M)<br>A sınıfı karbapenemazlar (GES, KPC, SME, IMI/ NMC-A, SHV- 38, SFC-1) |
| Metal (çinko)        | B Sınıfı: Metallo $\beta$ - laktamaz (MBL)<br>Alt sınıf B1: (IMP, VIM, SPM, IND, NDM, DIM, GIM, SIM)<br>Alt sınıf B3: (AIM, CAU- 1, GOB-1, FEZ- 1)<br>Alt sınıf B2: (CphA, Sfh- I, ImiS)        |
|                      | C Sınıfı: AmpC<br>ESAC (Genişletilmiş spektrum AmpC)                                                                                                                                            |
|                      | D Sınıfı: ESBLler (Genişletilmiş spektrumlu $\beta$ - laktamazlar) (Oksasilinazlar, OXA)<br>CHDLler (Karbapenem- hidrolize edici D sınıfı $\beta$ - laktamazlar)                                |

Karbapenemazlar

Bakteriyel peptidoglikan hücre duvarının temel bileşeni olan penisilin bağlayıcı proteinlerde (PBP) değişiklikler de beta-laktam direnci mekanizmaları arasındadır. PBP' ler glikan polimerizasyonundan ve glikan zincirleri arasındaki çapraz bağlardan sorumlu

enzim ailesidir (Meroueh vd., 2006; Sauvage vd., 2008). Bu proteinler beta-laktam antibiyotiklerine bağlanma yeteneği dolayısıyla penisilin bağlayıcı protein olarak anılır (Scheffers ve Pinho, 2005; Josephine vd., 2006). PBP' lerinin penisilin bağlanma domainleri, peptidoglikan metabolizmasında rol oynayan transpeptidazlar veya karboksipeptidazlardır (Goffin ve Ghuysen, 2002; Sauvage vd., 2008). Bu enzimlerdeki mutasyonel değişiklikler, antibiyotiğin aktif bölgeye bağlanmasını azaltarak veya antibiyotiği bozan bir beta-laktamaz aktivitesi geliştirerek direnç sağlayabilir (Sun vd., 2014).

Gram negatif bakterilerde porin kanallarındaki değişiklik, membran proteinlerinde modifikasyon dolayısıyla beta-laktam direncine sebep olur. OprD' de kayıtlı özel bir kanal proteinine sahip *P. aeruginosa*, karbapenem direnci geliştirebilir (Sauvage ve Terrak 2016). Aktif pompa sistemleri ile antibiyotik birikimi önlenir. Sonuç olarak, beta-laktamlar, tetrasiklinler, kloramfenikol ve kinolon grubu dirence yol açabilir (Harkins vd., 2017).

#### **1.4.2.2. Aminoglikozid Grubu Direnci**

Aerobik Gram negatif bakterilerde aminoglikozidlere karşı direnç gelişimindeki en önemli mekanizma enzimatik inaktivasyondur. Enzim modifikasyonu, aminoglikozidlere dirençte önemli bir role sahiptir (Naha vd., 2020). Bu enzimler genelde plazmit veya transpozon kökenlidir, bu grupta asetiltransferaz ve fosfotransferaz vardır (Gonzalez, 2019). Enterokoklarda yüksek dereceli gentamisin direncinden modifiye edici enzimler sorumludur (Gil- Gil, 2020).

Ribozomal hedef modifikasyonları ise özellikle streptomisin direncinde önemlidir. Enterokoklarda ribozomal 30S alt ünitesi mutasyonu sebebiyle streptomisin hedefi ribozomal 30S alt ünite ile bağlantı kuramaz (Breijyeh vd., 2020). Bunlarla birlikte, ilacın sitoplazmaya geçişinin önlenmesi anaerobik bakterilerde streptomisin direncinden sorumlu temel mekanizmadır (Yüce, 2001; Jawetz vd., 1995; Mayer vd.,1995).

#### **1.4.2.3 Tetrasiklin Direnci**

Bakterilerdeki spontan kromozom mutasyonlarından kaynaklanan membran geçirgenliğinin azalması sonucu ilaç alımını önlemek için direnç gelişimi ve aktif pompa sistemlerine bağlı olarak gelişen direnç birincil mekanizmalardandır (Das vd., 2020; Böhm, 2020). Tetrasiklin direncine sebep olan ikinci önemli mekanizma ise ribozomun

korunmasıdır. TetM, tetO, tetQ ile tetS genleri tetrasiklin bağlanan sitoplazmik ribozomu modifiye ederek ilaç aktivitesini inhibe ederler (Sivagami vd., 2020; Kapoor, 2017).

#### **1.4.2.4. Makrolid, Linkosamid ve Streptogramin (MLS) Grubu Direnci**

Gram negatif bakteriler MLS grubu antibiyotiklere karşı doğal dirençlidir. Ribozomal hedef modifikasyonu mekanizması ise en çok Gram pozitif bakterilerde 50S ribozomal alt birimde yaygındır. rRNA'da bir adenin molekülünün spesifik metilasyonu ile oluşan yapısal değişiklik dolayısıyla ilacın rRNA'ya bağlanmasında azalma görülür. Buna ek olarak ilacın enzimatik aktivite ile inaktivasyonu da direnç mekanizmaları arasındadır (Linkevicius vd., 2016; Zhanel, 2020).

#### **1.4.2.5. Kloramfenikol Direnci**

Kloramfenikol asetiltransferazın (CAT), kloramfenikol antibiyotiğini asetile eden enzimler tarafından inaktivasyonu, bu enzimin üretildiği bakterilerde direnç yol açar (Siibak, 2011). Azalmış ilaç alımı genellikle Gram negatif bakterilerde direnç kaynağıdır (Petrov, 2004).

#### **1.4.2.6. Kinolon Direnci**

Kinolon direnci için farklı direnç mekanizmaları vardır. Hedef enzim topoizomerazlarında esas olarak enzim fonksiyonunu tehlikeye atmadan kinolonların afinitesini azaltan mutasyonların neden olduğu modifikasyonlar, edinilmiş kinolon direncinin en yaygın mekanizmasıdır ve birkaç bakteri türünde bildirilmiştir (Munita ve Arias, 2016; Roberts ve Schwarz, 2017). Geçirgenliğin azalması nedeniyle ilaç alımının azalması veya aktif pompa sistemleri, Gram negatif bakterilerde kinolonlara karşı direnç dışı zar proteinlerindeki varyasyonlara bağlı olarak ilaç alımının azalması ile olur (Theuretzbacher vd., 2020). Topoizomerazın belirli proteinlerle hedef koruması, topoizomeraz için hedeflere bağlanan ve onları kinolon etkileşiminden koruyan Qnr proteinleri adı verilen küçük bir pentapeptid tekrar protein ailesi tarafından sağlanır (Bansal vd., 2017). Kinolonlara karşı en son tanımlanan direnç mekanizması ilaç modifikasyonu ile inaktivasyondur (Ghai ve Ghai, 2017). Asetilasyon, plazmit tarafından kodlanmış bir AAC enzim varyantı tarafından gerçekleştirilir (Ruiz vd., 2012).

#### **1.4.2.7. Rifampisin Direnci**

Çoğu bakteride yüksek seviyeli direnç kromozomal mutasyona bağlı olarak hızlıca gelişir, böylece RNA polimerazda bağlanmayı engelleyen kararlı değişiklik oluşur (Hooper ve Jacoby, 2016).

#### **1.4.2.8. Sülfonamid ve Trimetoprim Direnci**

Sülfonamidler paraaminobenzoik asit (PABA) yapısal analoglarıdır ve metabolik yollarda sülfonamid dihidropteorat sentetaz (DHPs) enzimini, trimetoprim ise dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimini inhibe ederek tetrahidrofolik asit sentezini engeller (Goldstein, 2014; Imran vd., 2019). Sülfonamid ve trimetoprim direnci kromozom ve plazmit aracılı gelişebilir (Capasso ve Supuran, 2019).

#### **1.4.2.9. Glikopeptid Direnci**

Bu grup antibiyotikler (vankomisin, teikoplanin, ristostin ve avoparisin) peptidoglikanda D-alanin-D-alanine bağlanır ve bakteriyel hücre duvarı peptidoglikan sentezinde geç bir aşamayı inhibe eder. Gram negatif bakterilerin dış membranından geçemediği için, bu bakteriler doğal olarak bu antibiyotiklere karşı dirençlidir. Enterokoklarda glikopeptid antibiyotik direncinin üç fenotipi bulunur VanA, VanB ve VanC. VanA tipi direnç plazmit aracılıdır, VanB tipi indüklenebilir kromozomal aracılıdır. VanC ise özel yapısal direnç fenotipidir ve iletilip indüklenemez (Gold ve Moellering, 1996; Mayer, 1995; Hollenbeck ve Rice, 2012).

### **1.5. *Acinetobacter* Cinsi**

#### **1.5.1. Tarihsel Bakış Açısı**

*Acinetobacter* cinsinin tarihi, 20. yüzyılın başlarına dayanmaktadır. 1911 yılında Hollandalı mikrobiyolog Beijerinck, organizmayı kalsiyumasetat içeren minimal bir besiyerinde zenginleştirme yoluyla topraktan izole etmiş ve *Micrococcus calcoeceticus* olarak tanımlamıştır (Beijerinck, 1911). Sonraki yıllarda, benzer organizmalar tanımlanmıştır ve *Diplococcus mucosus*, *Micrococcus calcoaceticus*, *Alcaligenes haemolysans*, *Mima polymorpha*, *Moraxella lwoffii*, *Herellea vaginicola*, *Bacterium anitratum*, *Moraxella lwoffii* var. *glucidolytica*, *Neisseria winogradskyi*, *Achromobacter anitratus* ve *Achromobacter mucosus* içeren en az 15 farklı cins ve tür gösterilmiştir (Baumann vd., 1968).

Mevcut cins tanımı, *Acinetobacter* (Yunanca ‘akinetos’ yani hareketsiz) başlangıçta Brisou ve Prevot tarafından 1954 yılında hareketli olmayanları *Acromobacter* cinsi içindeki hareketli mikroorganizmalardan ayırmak için önerilmiştir (Brisou ve Prevot, 1954). Sonra, Baumann ve diğerleri kapsamlı bir anket yayımladılar ve listelenen farklı türlerin, *Acinetobacter* adının önerildiği tek bir cinse ait olduğu ve fenotipik özelliklere dayanarak farklı türlere daha fazla alt sınıflandırma yapılmasının mümkün olmadığı sonucuna vardılar (Baumann vd., 1968). Bu bulgular, 1971’de Moraxella ve Allied Bacteria Taksonomisi Alt Komitesi tarafından *Acinetobacter* cinsinin resmi olarak kabul edilmesiyle sonuçlanmıştır (Lessel, 1971). Bergey’in Sistematik Bakteriyoloji El Kitabı’nın 1974 baskısında, *Acinetobacter* cinsi, tek bir türün tanımı olan *Acinetobacter calcoaceticus* (hem cins hem de tür için suş tipi *A. calcoaceticus* ATCC23055) ile listelenmiştir (Beijerinck, 1911). *Acinetobacter* cinsi, Gamma- proteobacteria sınıfına, Pseudomonadales takımına ve Moraxellace ailesine aittir (McConnell vd., 2012; Espinal vd., 2011).

### 1.5.2. Güncel Taksonomi

Günümüzde tanımlandığı gibi *Acinetobacter* cinsi %39 ila %47 oranında DNA G+C içeriğine sahip, Gram negatif, zorunlu aerob, non-fermentatif, güç üremeyen, katalaz pozitif, oksidaz negatif bakterilerden oluşur (Peleg vd., 2008). *A. calcoaceticus*- *A. baumannii* kompleksi, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii*, *Acinetobacter nosocomialis* ve *Acinetobacter calcoaceticus*’tan oluşan, dört farklı *Acinetobacter*’yı kapsayan bir gruptur. Bunlardan ilk üçü enfeksiyonlarla ilişkilendirilirken, sonuncusu nadiren patojenik olarak kabul edilir (Pourabbas vd., 2016).

### 1.5.3. *Acinetobacter* Türlerinin Tanımlanması

Yakın ilişkili türlerin kümelenmeleri nedeniyle, *Acinetobacter* taksonomisini fenotipik özellikler ve kemotaksonomik yöntemler kullanarak ayırt etmek zordur. Antibiyotik duyarlılığı ve klinik ilişkisi, farklı genomik türler arasında önemli ölçülerde farklı olduğundan, *Acinetobacter* türlerinin tam olarak tanımlanması gerekir (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996; Dijkshoorn vd., 1996; Houang vd., 2003; Lee vd., 2007). Birçok genomik parmak izi yöntemi geliştirilmiştir (Koeleman vd., 1998; Chang vd., 2005; La Scola vd., 2006; Croxatto vd., 2012; Higgins vd., 2012; Lee C. R. vd., 2015; Li X. M. vd., 2016);

- tekrarlayan ekstrasjenik palindromik sekans bazlı polimeraz zincir reaksiyonu (rep-PCR),
- darbeli alan jel elektroforezi (PFGE),
- matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş süresi (MALDI-TOF) kütle spektrometrisi,
- ribotipleme,
- güçlendirilmiş ribozomal DNA kısıtlaması dahil analizi,
- rastgele amplifiye polimorfik DNA analizi,
- multilocus sekans tipleme (MLST),
- RNA spacer parmak izi, amplifiye edilmiş fragman uzunluğu polimorfizm analizi
- 16S-23S rRNA intergen ayırıcı bölgelerin veya rpoB ve gyrB genlerinin sekans analizi.

#### 1.5.4. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

İnsan kökenli *Acinetobacter* türleri, 37°C inkübasyon sıcaklığında koyun kanlı agar, triptik soya agar, çikolata agar ve MacConkey agar gibi klinik mikrobiyoloji laboratuvarında rutin olarak kullanılan katı besiyerinde iyi gelişir. Kanlı agarda, 37°C’de 18-24 saat inkübasyondan sonra renksiz, hemolitik olamayan, parlak mukoid koloniler oluşturur. MacConkey agar üzerinde parlak mukoid ve laktoz içermeyen fermentasyon kabiliyeti gösteren, lahit şekilli, renksiz koloniler üretir. Seçici agar üzerinde, Leeds *Acinetobacter* Medium, takviye varlığında büyütüldüğünde pembe renkli koloniler verir (Almasaudi, 2018). Bu organizmalar düz, bazen mukoid, grimsi beyaz koloniler oluşturur; *A. calcoaceticus*- *A. baumannii* kompleksi bir gecelik kültürden sonra koloni çapı 1,5 ila 3 mm olan *Enterobacteriaceae*’ninkilere benzerken, diğer *Acinetobacter* türlerinin çoğu daha küçük ve daha yarı saydam koloniler üretir. *A. calcoaceticus*- *A. baumannii* kompleksi 35°C- 37°C’de iyi gelişir; bununla birlikte bazı çevresel izolatlar 20°C- 30°C sıcaklık aralığında iyi gelişim gösterir. *A. baumannii*, cins içinde 44°C’de büyüeyebilen tek bakteridir (Bouvet ve Grimont, 1987).

### 1.5.5. Epidemiyolojisi

*Acinetobacter* cinsine ait organizmaların hemen hemen tüm toprak ve yüzey suyu örneklerinden geri kazanılabildikleri göz önüne alındığında, doğada her yerde bulunduğu düşünülmektedir (Baumann vd., 1968). *Acinetobacter* türleri serbest yaşayan saprofitik organizmalardır ve toprak, su, atık su, sebzeler, hayvanların ve insanların derisi dahil olmak üzere farklı ortamlarda yaygın olarak bulunur (Maravić vd., 2016). *Acinetobacter*, insan cilt florasının bir parçasıdır (Seifert vd., 1997); burun, kulak, boğaz, alın, trakea, konjunktiva, vajina ve perine, koltuk altı, kasık, el ve ayak parmakları dahil olmak üzere sağlıklı bireylerin çeşitli vücut kısımlarından izole edilmişlerdir ancak izole edilen suşların çoğu *A.baumannii*'den farklı olarak bulunmuştur (Al Atrouni vd., 2016).

### 1.6. *Acinetobacter baumannii*

*Acinetobacter baumannii* (Yunanca akinetos bactrum: hareketsiz çubuk; baumannii: Paul Baumann'dan sonra) (Murray vd., 2016; Bouvet ve Grimont, 1986) Moraxellaceae familyasına ait Gram negatif, fermente olmayan, zorunlu aerobik, oksidaz negatif, katalaz pozitif kokkobasildir (Bouvet ve Grimont, 1986; Baumann vd., 1968). Bu bakterinin önemi, hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olma kabiliyetine (Stirland, 1969) ve artan antibiyotik direncine (Tognim vd., 2004; Chung vd., 2011; van Dessel vd., 2004) dayanmaktadır. *Acinetobacter* türleri arasında *A. baumannii*, dünya çapında hastane kaynaklı enfeksiyonlarla ilişkili en önemli üyedir (Lin ve Lan, 2014).

*Acinetobacter* türleri hastane ortamında yatakların, perdelerin, duvarların, çatıların, tıbbi cihazların ve ekipmanın yanı sıra tıbbi personelin eşyalarında, musluk suyu lavabolarında, telefonlarda, kapı kollarında, el dezenfektanlarında, dağıtıcılarda, arabalarda, kutularda ve hatta bilgisayarlarda bulunur. Cansız nesneler üzerinde uzun süre yaşama kapasitesine sahiptirler. Hastane ortamında kalıcılıklarından sorumlu olan faktörler, temel antimikrobiyal ilaçlara ve dezenfektanlara karşı direnç ve kurutucularda hayatta kalma yetenekleridir (Evans vd., 2013).

*A. baumanii*, etkilenen hastaların ya da çarşaf, perdeler, yatak rayları, masalar, lavabolar, kapılar, besleme tüpleri ve hatta tıbbi ekipman gibi kolonileştiricilerin çevresinden bulaşabilir. İntravasküler erişim için kullanılan solunum destek ekipmanı, aspirasyon cihazları ve cihazların kontaminasyonu enfeksiyonun temel kaynağıdır (Jung ve Park, 2015).

*A. baumannii*, dünya çapında özellikle yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) hastane kaynaklı enfeksiyonlara sebep olan önemli bir suçlu olarak ortaya çıkmıştır. Bu organizmanın uzun süre hastane yüzeylerini kirletme yeteneği, hastane kaynaklı salgınlarla bağlantılıdır (Shimose vd., 2016). Sadece hastanede yatan hastaları değil, aynı zamanda genel nüfusu da enfekte etme yeteneği kazanmıştır. Hastane ortamlarında yoğun bakım ünitelerinde %26'dan %43'e varan ölüm oranı vermektedir (Greene vd., 2016a). *A. baumannii*, tıbbi servislerde ve özellikle YBÜ'de en yüksek morbidite ve mortalite ile hastane kaynaklı enfeksiyonların yaklaşık %15'ini oluşturan ventilatör ilişkili pnömoninin (VAP) ana ajanıdır. YBÜ'de toplam antibiyotik kullanımının yaklaşık %50'sini oluşturur (Demirdal vd., 2016).

*A. baumannii* esas olarak akciğer, idrar yolu, kan dolaşımı veya cerrahi yara enfeksiyonlarına neden olur. Ana risk faktörleri arasında mekanik ventilasyon, santral venöz veya üriner katater kullanımı ve geniş spektrumlu antimikrobiyaller gibi invaziv prosedürler yer alır (Schreckenberger vd., 2003). MDR *A.baumannii* enfeksiyonları, immun sistemi baskılanmış hastalarda, altta yatan ciddi hastalıkları olan hastalarda ve invaziv prosedürlere maruz kalmış ve geniş spektrumlu antibiyotiklerle tedavi edilen hastalarda ortaya çıkma eğilimindedir (Garcia-Garmendia vd., 2001). Bu nedenle, *A.baumannii*'ye bağlı enfeksiyonlar sıklıkla YBÜ'de bulunur ve burada ventilatörle ilişkili pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları ve bakteriyeminin nedeni olarak suçlanırlar. Ayrıca daha az sıklıkta da olsa karmaşık cilt ve doku, abdominal ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarına neden olur (Fournier ve Richet, 2006).

*A. baumannii*, geçmişte düşük kategorili bir patojen kabul edilirken, günümüzde hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonların önde gelen sorumlusu olarak kabul görmektedir (Pourhajibagher vd., 2016; Qi vd., 2016). Bu çok ilaca dirençli (ÇİD) patojen fenomeni, hem hastane hem de toplum kaynaklı enfeksiyonlar açısından giderek artan şekilde ciddi bir endişe haline gelmiştir (Peleg vd., 2008). Son yıllarda, büyük ölçüde geniş antibiyotik direnç spektrumundan kaynaklanan, tıp kardeşliği arasında alarm oluşturan bir 'kırmızı alarm' insan patojeni olarak belirlenmiştir (Cerqueira ve Peleg, 2011). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) son zamanlarda antimikrobiyal direnci insan sağlığının karşı karşıya olduğu en önemli üç sorundan biri olarak tanımladı (Bassetti vd., 2011). Direnç, hastalıkların uzunluğunu, hastalık ve ölüm oranını, sağlık tesislerindeki maliyetini artırmaktadır (WHO, 2014). *A. baumannii*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*,

*Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter spp.*'yi belirten bir kısaltma olan 'ESCAPE' adlı bir bakteri grubuna aittir. Bu grubun patojenleri birçok antibakteriyel ilacın etkisinden kaçmaktadır ve şu anda hastane kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu olan başlıca antibiyotiğe dirençli mikroorganizmalardır (Rice, 2008; Boucher vd., 2009). Dahası, bu organizmaların hepsi tercihli olarak immün sistemi baskılanmış ve klinik hastalığı olan yoğun bakım ünitelerindeki hastaları etkilemektedir (Rice, 2010).

### 1.6.1. Epidemiyolojisi

Son yıllarda *A. baumannii*'nin ÇİD suşları yaygın hale gelmiştir ve bu suşların epidemiyolojisini tanımlamak için önemli çaba sarfedilmektedir. *A. baumannii* salgınları genellikle klonaldır ve klonların veya soyların yayılması ulusal ve uluslararası düzeyde görülebilir (Dijkshoorn vd., 1996; van Dessel vd., 2004). Küresel epidemiyolojik anlayış için ve salgın potansiyeli gibi *A. baumannii* izolatlarının genotipi ve fenotipi arasındaki ilişkileri incelemek için bir temel olarak klonal ilişkilerin standart bir tanımına ihtiyaç vardır. Multilokus (çok odaklı) sekans tipleme (MLST), bakteri türlerinin popülasyon yapısını araştırmak için mevcut standarttır (Feil, 2004; Maiden, 2006; Spratt, 2004). İlk çalışmalar, ÇİD *A. baumannii*'nin küresel yayılmasını uluslararası klonlar (IC) I, II ve III (Dijkshoorn vd., 1996; van Dessel vd., 2004) olarak adlandırılan, amplifiye fragman uzunluk polimorfizmi (AFLP) analizi ile tanımlanan üç ana klonal soy ile ilişkilendirilmiştir. Küresel olarak çok sayıda enfeksiyon, bu salgın soylardan üçüne atfedilebilir. Daha yakın zamanlarda, MLST, *A. buamnii*'nin popülasyon yapısını araştırmak için altın standart haline geldi (Zarrilli vd.,2013) ve ST1, ST2 ve ST3 gibi IC I, II, III ile bağlantılı (sırasıyla) sekans türlerine (ST) sahiptir (Diancourt vd., 2010). Son zamanlarda, Higgins ve arkadaşları (Higgins vd., 2010), imipenem dirençli *A.baumannii* izolatlarının geniş bir araştırmasında beş başka soy belirlediler ve salgın soyların WW1'den WW8'e ( WW1, WW2 ve WW3 sırasıyla ICI, ICII ve ICIII'e karşılık gelir) kadar dünya çapında soylar olarak adlandırılmasını önerdiler (Coelho vd., 2006).

Kuzey Avrupa'daki (Belçika, Danimarka, Çek Cumhuriyeti, Fransa, İspanya, Hollanda ve Birleşik Krallık'taki hastaneler dahil) hastanelerin yanı sıra İtalya, Yunanistan ve Türkiye gibi Güney Avrupa ülkeleri (Dijkshoorn vd., 1996; Nemec vd., 2004a; van Dessel, 2004) ve Doğu Avrupa (Wroblewska vd., 2007) hastanelerinden, üç uluslararası *A. baumannii* klonu (sözde Avrupa klonları I, II ve III) rapor edilmiştir.

### **1.6.2. *Acinetobacter baumannii* Antimikrobiyal Direnci**

Son yıllarda *A. baumannii*'nin neden olduğu enfeksiyonlardaki artış, etkili antimikrobiyal tedavinin uygulanmasında karşılaşılan zorluklar nedeniyle büyük endişe kaynağıdır (Valencia vd., 2009). Son 20 yılda yapılan çalışmalar *A. baumannii*'nin, küresel olarak MDR, XDR ve PDR fenotipleri ortaya çıkaran, oldukça sorunlu bir hastane kaynaklı patojen olarak ortaya çıktığını göstermektedir (Upadhyay vd., 2018). İnanılmaz antimikrobiyal direnç kazanma yeteneği nedeniyle *A. baumannii*, modern sağlık hizmetlerinde en başarılı patojenlerden biri haline geldi (Lin ve Lan, 2014). Karbapenemler, iyi aktiviteleri ve düşük toksisiteleri dolayısıyla *A.baumannii* enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan tek büyük sürdürülebilir antibiyotik grubudur (diğer gruplara karşı oluşan direnç nedeniyle). Bununla birlikte, son birkaç yılda karbapenemlere karşı artan direncin ortaya çıkışı bu terapötik seçeneği de tehlikeye atmaktadır (Livermore, 2009). *A. baumannii*, aminoglikozidler, kinolonlar ve geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamlar dahil olmak üzere hemen hemen bütün yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal ajanlara dirençli hale geldi (Livermore vd., 2008; Rossolini ve Mantengoli, 2008; Morgan vd., 2009). *A. baumannii*'nin birkaç suşu, klinik olarak mevcut antibiyotiklerin çoğuna oldukça dirençlidir (Lin ve Lan, 2014).

*Acinetobacter* türlerinde rastlanan başlıca direnç mekanizmaları; ilacı inaktive eden enzimlerin üretimi (beta-laktamazlar, aminoglikozid modifiye edici enzimler), antibiyotiğin hedef bölgesinde değişiklik, dış membran proteinlerinde değişim ve eflüks pompa sistemlerinin aşırı aktivitesi olarak sınıflandırılabilir (Giamarellou vd., 2008).

*A. baumannii*'deki  $\beta$ -laktamlara dirençle ilgili mekanizmalar tipik olarak şunları içerir: (i) enzimatik mekanizmalar veya  $\beta$ -laktam hidrolize eden enzimlerin ( $\beta$ -laktamazlar) üretimi ve (ii) OMP'lerin ekspresyonunun kaybı veya azalması veya eflüks pompalarının artan ekspresyonu ve ayrıca PBP'lerin sekans varyasyonu yoluyla membran geçirgenliğinin modifikasyonunu içeren enzimatik olmayan mekanizmalar (Roca vd., 2012).

#### **1.6.2.1. Enzimatik Mekanizmalar**

##### **1.6.2.1.1. A Sınıfı Beta-Laktamazlar**

Klavulanat tarafından inhibe edilen A sınıfı  $\beta$ -laktamazlar, bazı KPC tipi enzimler dışında penisilinleri ve sefalosporinleri karbapenemlerden daha verimli bir şekilde hidrolize eder (Jeon vd., 2015). *A.baumannii*' de termoniera (TEM), sülfhidril değişkeni

(SHV), sefotaksim hidrolizleme yetenekleri (CTX-M), Guiana genişletilmiş spektrum (GES), *Escherichia coli*'den kendi kendine transfer edilebilir plazmit (SCO), *Pseudomonas* genişletilmiş direnç (PER), Vietnam genişletilmiş spektrum  $\beta$ -laktamaz (VEB), karbenisilin hidrolize eden  $\beta$ -laktamaz (CARB), *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz (KPC) dahil olmak üzere bir dizi A sınıfı  $\beta$ -laktamaz tanımlanmıştır. TEM-1, CARB-4 ve SCO-1 gibi bu enzimlerin bazıları dar spektrumlu  $\beta$ -laktamazlar iken, PER-1, TEM-92, CARB-10, SHV-5, PER-2, CTX-M-2, CTX-M-15, VEB-1, GES-14 ve PER-7 gibi diğer enzimler ise geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamazlardır (ESBL). *A.baumannii*'de GES-14 ve KPC-2 gibi bazı karbapenemazlar tespit edilmiştir (Moubareck vd., 2009; Bogaerts vd., 2010).

#### 1.6.2.1.2. B Sınıfı Beta-Laktamazlar

Serin bağımlı  $\beta$ -laktamazların (sınıf A, C ve D) aksine, B sınıfı  $\beta$ -laktamazlar, kataliz için çinko veya başka bir ağır metal gerektiren metallo- $\beta$ -laktamazlardır (MBL'ler) (Jeon vd., 2015). Sınıf B  $\beta$ -laktamazlar geniş aralıklı güçlü karbapenemaz aktiviteleri ve inhibitörlere dirençleri nedeniyle  $\beta$ -laktamların çoğuna direnç sağlayabilir (Cornaglia vd., 2011). MBL'ler *A. baumannii*'de baskın karbapenemazlar olmamasına rağmen, Verona integron kodlu metallo  $\beta$ -laktamaz (VIM), imipenemaz ve Seul imipenemaz (SIM) MBL'lerin karbapenemlere karşı yüksek düzeyde direnç katkısı sağladığı bulunmuştur (Yum vd., 2002).

#### 1.6.2.1.3. C Sınıfı Beta-Laktamazlar

Sınıf C  $\beta$ -laktamazlar, sefamisinlere (sefotaksim ve sefotetan), penisilinlere, sefalosporinlere ve  $\beta$ -laktamaz inhibitör kombinasyonlarına direnç gösterebildikleri için terapötik problemler oluşturur, ancak klavulonik asit gibi klinik olarak kullanılan  $\beta$ -laktamaz inhibitörleri tarafından büyük ölçüde inhibe edilmezler (Jeon vd., 2015). *A. baumannii* kendine özgü bir AmpC sefalosporinaza sahiptir (Gordon ve Wareham, 2010).

*A. baumannii*'de bir AmpC  $\beta$ -laktamaz kodlayan kromozomal sefalosporinaz geninin nükleotid dizisi ilk olarak 2000 yılında İspanya'dan bir klinik izolatta karakterize edilmiştir (Bou vd., 2000). *A.baumannii*'nin farklı izolatlarının hemen hemen aynı AmpC sekanslarına sahip olduğu gösterilmiştir (en fazla iki aminoasit substitüsyonu) (Héritier vd., 2006). Filogenetik bir analiz, *Acinetobacter ampC* genlerinin ortak bir atadan geldiğini ve diğer bakteri türlerinde bulunan *ampC* genlerinden daha yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (Hujer vd., 2005). AmpC  $\beta$ -laktamaz varlığı *A. baumannii*'de  $\beta$ -laktam

direncinde önemli bir rol oynar ve aslında ilaç dirençli *A. baumannii*'nin yüksek bir yüzdesi *ampC*'ye sahiptir (Chen vd., 2006).

#### **1.6.2.1.4. D Sınıfı Beta-Laktamazlar**

Sınıf D  $\beta$ -laktamazlara OXA'lar (oksasillinaazlar) adı verilir, çünkü bunlar genellikle izoksazolilpenisilin oksalini penzilpenisilinden çok daha hızlı hidrolize ederler (Jeon vd., 2015). Bazı OXA'lar ayrıca geniş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize edebilir ve hatta bazıları karbapenemazlar gibi davranarak karbapenemleri inaktive edebilir (Perez vd., 2007). 400'den fazla OXA tipi enzim tanımlanmıştır ve birçok varyant aslında karbapenemaz aktivitesine sahiptir. Karbapenem hidrolize edici sınıf D  $\beta$ -laktamazların (CHDL'ler) veya MBL'lerin varlığı, *A. baumannii*'deki başlıca karbapenem direnç mekanizmalarından biridir (Lin ve Lan, 2014). OXA-23, OXA-40/24, OXA-51 ve OXA-58 gibi karbapenem hidrolize edici OXA alt grupları *A. baumannii*'de yaygındır (Walther-Rasmussen ve Høiby, 2006; Poirel vd., 2010). OXA-23 enzimi ilk olarak 1985 yılında Birleşik Krallık'ta bir *A. baumannii* izolatında tanımlanmıştır (Perez vd., 2007). *bla*<sub>OXA-23</sub> geni dünya çapında yayılmıştır ve OXA-23 üreten *A. baumannii* suşlarının sıklığı önemli ölçüde yüksektir (Mugnier vd., 2010; Al -Agamy vd., 2016). *bla*<sub>OXA</sub> genleri, kromozom veya plazmit üzerinde ve bazen integronlarda bulunabilir (Vila vd., 1997; Navia vd., 2002). ISAbal1'in *bla*<sub>OXA-23</sub> promotor sekansına ilave olmasının, *A. baumannii*'de *bla*<sub>OXA-23</sub>, *bla*<sub>OXA-51</sub> veya *bla*<sub>OXA-58</sub>'in aşırı ekspresyonu ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Turton vd., 2006). Bugüne kadar tanımlanan en büyük OXA tipi  $\beta$ -laktamaz grubu, OXA-51 benzeri  $\beta$ -laktamazlardır. Grubun kurucu üyesi OXA-51, ilk olarak 1996'da Arjantin'den izole edilen *A. baumannii* izolatlarında tanımlandı. Bu enzimler *A. baumannii*'ye özgüdür ve doğal olarak bu türün kromozomunda bulunur (Brown vd., 2005; H  ritier vd., 2005). Bunlar arasında OXA-23  $\beta$ -laktamaz, OXA-23 üreten *Acinetobacter* izolatlarının dünya çapında yayılması nedeniyle *A. baumannii*'de karbapenem direncinin başlıca kaynağı olarak kabul edilmektedir (Mugnier vd., 2010; Poirel vd., 2010).

#### **1.6.2.2. Enzimatik Olmayan Mekanizmalar**

##### **1.6.2.2.1. Dış Membran Proteinleri/ Geçirgenlik Kusurları**

Membranlarda çok sayıda işlevi yerine getiren porinler, moleküllerin çift katmanlı membranlar boyunca taşınmasına izin veren kanallar oluşturabilen proteinlerdir (Vila vd., 2007). Bu dış zar proteinleri (OMP) sadece Omp38 ile indüklenen epitel hücre apoptozu,

OmpA ile ilişkili biyofilm oluşumu (Gaddy vd., 2009), OmpA'ya bağlı konakçı hücre ölümü ile *A. baumannii* virülansını etkilemekle kalmaz, CarO ve OprD benzeri protein kodlayan genlerin ekspresyonunun azalması ile virülansın hafiflemesinde ve aynı zamanda direnç mekanizmalarında önemli bir rol oynar (Jin vd., 2011). *A.baumannii*, diğer Gram negatif bakterilere kıyasla nispeten daha az porine sahiptir ve bu, içsel antimikrobiyal direncinin bir kısmından kısmen sorumlu olabilir (Sato ve Nakae, 1991). Yapılan çalışmalar *A.baumannii*' de CarO olduğu belirlenen 29kDa'luk bir dış zar proteini kaybının, imipenem direncine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Jin vd., 2011; Siroy vd., 2005; Mussi vd., 2005; Catel-Ferreira, 2011). Diğer bazı çalışmalar da *A. baumannii*' nin karbapenem direncinde rol oynayan bir dizi OMP'yi tanımlamıştır (Bou vd., 2000). OXA-51 benzeri veya OXA-23 benzeri karbapenemazlar üreten *A. baumannii*' deki Omp29 kaybı, imipenem direncinin artmasına neden olur (Jeong vd., 2009; Fonseca vd., 2013). Bir çalışma, OmpA ve CarO'nun OXA-23 karbapenemaz ile fiziksel olarak etkileşime girdiğini ve bu etkileşimlerin antibiyotik direnci ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Wu vd., 2016).

#### **1.6.2.2.2. Hedef Proteindeki Değişiklikler**

Antibiyotikler için, antibiyotik hedef bölgelerindeki değişiklikler *A. baumannii*' de antibiyotik direncine neden olabilir. Penisilin bağlayıcı proteinlerdeki (PBP) değişiklikler, DNA giraz mutasyonları, TetM proteini tarafından ribozomal korunma ve trimethoprim direncinde dihidrofolat redüktazının katılımının tümü, antibiyotikler için hedef bölgeleri değiştiren mekanizmalar yoluyla gerçekleşir (Lambert, 2005). Bu direnç mekanizmalarından biri PBP' lerin afinite veya ekspresyon seviyelerindeki değişiklikleri içerir. Çeşitli raporlar, karbapeneme duyarlı ve karbapeneme dirençli *A. baumannii* suşları arasındaki PBP ekspresyon modellerinde farklılıklar tanımlamıştır. Bu türlerin bazılarında, karbapenem direnci, bilinen başka herhangi bir direnç mekanizmasının yokluğunda (Gehrlein vd., 1991; Urban, 1995) karbapenem için düşük afiniteye sahip PBP'lerin aşırı ekspresyonu ile, aynı zamanda farklı  $\beta$ -laktamaz üretimi veya 22.5 kDa OMP kaybıyla birlikte PBP tiplerinin azalmış ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (Fernández-Cuenca vd., 2003; Cayo vd., 2011).

#### **1.6.2.2.3. Efluks Pompaları**

*A. baumannii* efluks pompa sistemleri, aşırı ekspresyon durumunda çeşitli antimikrobiyal ajanlara dirençten sorumlu kromozomal genler tarafından kodlanır (Chen vd., 2017). Spesifik ajanların efluks mekanizmalarını kodlayan genler genellikle MGE’lerde (transpozonlar, integronlar ve plazmitler) bulunur ve bunların diğer organizmalardan elde edilmeleri direnç katkısında bulunur (Butaye vd., 2003; Poole, 2005). Efluks pompaları *A. baumannii*’de imipenem (Hu vd., 2007) ve tigesiklin (Peleg vd., 2007) gibi birçok farklı antibiyotik sınıfına karşı dirençle ilişkilendirilmiştir. Direnç-nodülasyon- hücre bölünmesi (RND) ailesine ait üç efluks pompasının (AdeABC, AdeIJK ve AdeFGH) *A. baumannii*’de  $\beta$ -laktam direncine katkıda bulunduğu kanıtlanmıştır (Magnet vd., 2001; Damier- Piolle vd., 2008; Coyne vd., 2010). Genel olarak efluks sistemleri aracılığıyla  $\beta$ -laktam ihracı, MIC’de küçük artışlara neden olur ve yüksek düzeyde direnç yalnızca ek direnç mekanizmalarıyla birlikte elde edilebilir (Heritier vd 2005).

### **1.7. *Acinetobacter baumannii* Virülans Faktörleri**

#### **1.7.1. Dış Membran Bileşenleri**

##### **1.7.1.1. Dış Membran Proteinleri**

Porinler, hidrofilik çözünenler için çok az geçirgenlik gösteren, moleküllerin lipid çift tabakalı zarlar boyunca taşınmasına izin veren kanallar oluşturan proteinlerdir. Çok işlevli membranlar sağlarlar. Porinler, diğer hücrelere yapışma ve bakterisidal bileşiklerin Gram negatif bakterilerin yüzeyine bağlanması için potansiyel hedef olarak hareket edebilir. Antibiyotiklerin varlığına yanıt olarak antibakteriyel basınçtan kaçma mekanizması veya porin ekspresyonunun regülasyonu gibi yapılarındaki varyasyonlar, birçok bakteri tarafından geliştirilen hayatta kalma stratejileridir. Porinler direnç mekanizmalarında rol oynayabilir (Vila vd., 2007). Gram negatif bakterilerin dış zar proteinleri (OMP) konakçı hücrelerde antibiyotik direnci, adaptasyon ve patogenez ile ilişkilendirilmiştir (Vallenet vd., 2008).

Dış zar proteini A (OmpA, daha önce Omp38 idi), en bol bulunan *A. baumannii* dış zar proteini ve en iyi karakterize edilmiş virülans faktörlerinden biridir. OmpA, 103 klinik izolattan 83’ünde %99’dan fazla sekans özdeşliği göstererek yüksek oranda korunur ve en

farklı olanı %85 sekans özdeşliğine sahiptir (Ahmad vd., 2016; Ansari vd., 2018; Iyer vd., 2018). Daha önce yapılan çalışmalar, *A. baumannii*' den salgılanan bazı moleküllerinin konakçı hücre ölümünden sorumlu olduğunu belirlemiştir (Lee vd., 2001). Bu moleküller arasında *A. baumannii*' den OmpA (AbOmpA), patogeneze ve sinyal işlemede çok sayıda önemli etkiye sahip potansiyel bir virülans faktörü oluşturur (Perez vd., 2011). AbOmpA, epitel hücrelerine tutunma ve bu hücrelerin istila edilmesinde görev alan en bol yüzey proteindir ayrıca *A. baumannii* enfeksiyonunun erken aşamalarında apoptozu indükler (Gaddy vd., 2009). *A. baumannii*, hücre yüzeyi ölüm reseptörleri ve mitokondriyel parçalanma yoluyla hücre ölümüne (Hep-2 hücreleri) neden olabilir. Safaştırılmış AbOmpA, epitel hücrelerinde apoptoz-indükleyici faktör (AIF) bağımlı ve kaspaz bağımlı apoptozu aracılık eden ve aynı zamanda kromozomal DNA'yı degrade eden, apoptoz indükleyici faktör ve sitokrom C gibi proapoptotik moleküllerin salınımının indüklediği yer olan mitokondride tanımlanmıştır. Epitel hücre apoptozu, bozulmuş mukozal astar yoluyla bakterinin içselleşmesine yol açabilir ve bu nedenle, bu mikroorganizmanın neden olduğu enfeksiyonların sonucu, epitel hücrelerinde apoptoz indüksiyonuna bağlıdır (Choi vd., 2005).

AbOmpA ayrıca komplement (tamamlayıcı) ve biyofilm oluşumuna karşı dirençle ilişkilendirilir (Gaddy ve Actis 2009; Kim vd., 2009). Bazı *A. baumannii* suşları, *Acinetobacter* yeteneklerini bakteremiye neden olacak şekilde artıran genetik bileşenler aracılığıyla insan serumunun öldürme aktivitesine dirençlidir. Seruma direnç için önerilen mekanizma, konakçı kompleman C3 proteini bölünmesinin inhibisyonunu ve konakçı fagositik hücre tanınmasını inhibe eden ve serum direnci fenotipi ile sonuçlanan bakteri yüzeyine bağlanmasını içerir. Ek olarak, kompleman düzenleyicilerin OMP'lere bağlanması da tamamlayıcı aktivasyonun da rol oynar. Bir çalışma, normal insan serumunda *A. baumannii*' nin öldürülmesinden alternatif bir tamamlayıcı yolun sorumlu olduğunu gösterdi. *In vitro* deneyler, bu yolun ana düzenleyicisi olan faktör H'nin, normal insan serumu ile muamele edilen bu organizmanın yüzeyine bağlanmasının, konakta *Acinetobacter*'in kalıcılığına ve yayılmasına katkıda bulunabileceğini göstermiştir (Kim vd., 2009).

Omp34, *A. baumannii*' de yüksek oranda korunur, OmpA'ya benzer şekilde Omp34, kaspaz bağımlı mekanizmalar ve otofajinin inhibisyonu yoluyla ökaryotik hücrelerde apoptozu indükler ve otofagozomda bakteriyel kalıcılığı teşvik eder (Rumbo vd., 2014;

Jahangiri vd., 2018). Ek olarak, OmpW aynı zamanda hem yüksek derecede immunojenik olan hem de dış membran veziküllerinde (OMV) konsantre olan sekiz iplikli bir OM  $\beta$ -varil proteini oluşturur, ancak bu proteinin fonksiyonel rolünün demir alımı ve antibiyotik direnci ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Huang vd., 2015; Manuella vd., 2016).

#### 1.7.1.2. Lipopolisakkarit, Lipooligosakkarit ve Kapsül

Lipopolisakkarit (LPS), bir endotoksik lipid A parçası, bir oligosakkarit çekirdek ve tekrarlayan O- antijenden oluşur (Lee vd, 2013). LPS'nin aksine lipooligosakkarit (LOS) O- antijen içermez ve bunun yerine genişletilmiş çekirdek oligosakkaritlere sahiptir (Whitfield ve Trent, 2014; Weber vd., 2016; Joseph ve Stephen, 2018). Sitoplazmada çok adımlı Raetz yoluyla sentezlenen her iki tip de iç zardan hücre yüzeyine Lpt yolu ile taşınır. İki potansiyel *waal* (O- antijen ligaz) homologunu kodlamasına rağmen, *A. baumannii* O- antijen veya LPS üretmez bunun yerine OM'yi LOS ile dekore eder (Iwashkiw vd., 2012). Lipid A, LPS ve LOS'un immun sistemi uyarıcı bileşenidir ve daha önce bütün Gram negatif bakterilerde gerekli olduğu düşünülmüştür. Son on yıl içinde *Acinetobacter*, daha önce sadece *Neisseria meningitidis* ve *Moraxella catarrhalis*'in bu kapasiteye sahip olduğu düşünülen, lipid A'nın yokluğunda hayatta kalabilen yalnızca üçüncü Gram negatif patojen haline geldi. Lipid A içermeyen *A. baumannii* ilk olarak in vitro kolistin maruziyetine yanıt olarak tanımlandı ve ATCC 19606'da *lpxA*, *lpxC* veya *lpxD*'nin inaktivasyonu ile sonuçlandı (Moffat vd., 2010). İlginç bir şekilde *lpxA*, *lpxC*, *lpxD* ve *lptD* hariç diğer tüm LOS biyosentetik genleri, sonuçta ortaya çıkan toksik ara ürünler nedeniyle gereklidir (Joseph ve Stephen, 2018). Lipid A, toll-like reseptör (TLR4) için ana uyarıcı olduğundan, lipid A eksi suşlarının TLR4 sinyalini azaltması, ancak artan OM lipoprotein maruziyetinin bir sonucu olduğu düşünülen TLR2 uyarımını yükseltmesi şaşırtıcı değildir (Moffat vd., 2013). LOS eksikliğinin tersine *A. baumannii*, antimikrobiyal direnci artırmak için lipid A kısmını daha sık değiştirir. Diğer Gram negatif patojenlerin aksine, *A. baumannii* bir lipid A palmitoil transferaz (PagP) homologunu kodlayamaz; bu nedenle, heksa-açillenmiş lipid A'nın modifikasyonu, sırasıyla LpxL ve LpxM aktivitesi ile sentez sırasında bir ve iki lauril açil zincirinin eklenmesi yoluyla gerçekleşir (Boll vd., 2015; Lopalco vd., 2017). Bu modifikasyon, katyonik antimikrobiyal peptidlere daha dirençli, TLR4'ü daha az uyarıcı ve kurutucu sağ kalımında rol oynayan hepta- açillenmiş lipid A ile sonuçlanır (Boll vd., 2015).

Kapsül gibi yüzey polisakkariti, Gram negatif bakterilerde önemli bir virülans özelliği olarak kabul edilir (Russo vd., 2010). OmpA'nın ötesinde, *A. baumannii* zarfı, patojeniteye katkıda bulunan birçok faktörle ilişkilidir. Bunlar arasında kapsüller ekzopolisakkaritler *A. baumannii*' de patojenite faktörleridir. Özellikle *A. baumannii* enfeksiyonlu hastalardan alınan birçok izolat yüzey kapsüller polisakkaritleri ekspres eder ve kapsüller polisakkaritlerin üretimini belirleyebilen K lokusu adı verilen korunmuş bir gen kümesi içerir (Koeleman vd., 2001; Hu vd., 2013; Kenyon ve Hall, 2013; Geisinger ve Isberg, 2015). Yapılan bir çalışmada, kapsül polimerizasyonu ve montajı için gerekli olduğu tahmin edilen *ptk* ve *epsA* genlerinin tanımlanmasına yol açtı ve bu genlerin mutantları kapsül üretiminde yetersizdir ve insan serumunda bir büyüme kusuruna sahiptir, bu da yumuşak doku enfeksiyon bölgesinde hayatta kalmada oldukça önemli bir düşüşe neden olur (Russo vd., 2010). Kapsül, hücre dışı yüzeyde koruyucu bir tabaka oluşturur, katyonik antimikrobiyal peptidlere ve seruma karşı dirence aracılık eder ve ardından *in vivo* hayatta kalmayı artırır. Bir çalışma, kapsüller polisakkaritlerin *A.baumannii*' nin antimikrobiyal direncinde rol oynadığını göstermiştir. Kapsüller polisakkaritlerde eksik mutantlar, peptid antibiyotiklerine karşı daha düşük dirence sahiptir. Ek olarak, antibiyotiklerin varlığı, kapsüller polisakkaritlerin hiper üretimine neden olur. Bu çalışma ayrıca, bir antibiyotiğe maruz kaldıktan sonra artan kapsül üretiminin, K lokusu gen ekspresyonundaki transkripsiyonel artışlara bağlı olduğunu ve K lokus genlerinin ekspresyonunun bfmRS iki bileşenli düzenleyici sistem tarafından düzenlendiğini gösterdi. Kapsül üretimi, belirli antibiyotikler (kloramfenikol ve eritromisin) olmak üzere çevresel uyaranlara yanıt olarak iki bileşenli düzenleyici sistem (TCS) olan BfmRS tarafından negatif olarak düzenlenir ve bu da artan ekspresyon ve antimikrobiyal dirençle sonuçlanır (Geisinger ve Isberg, 2015). Ayrıca kapsülün varlığı veya yokluğu, *Acinetobacter* fenotipik değişimiyle de ilişkilendirilmiştir; bu sayede opak virulent form, iki kat daha az kapsül üretimi sergileyen yarı saydam avirulent formun aksine, gelişmiş kapsül üretimi ile karakterize edilir (Chin vd., 2018).

#### **1.7.1.3. Fosfolipaz**

Fosfolipazlar, iyi bilinen virülans faktörleridir ve *Acinetobacter*, hem fosfolipaz C hem de D enzimini kodlar, bölünme pozisyonu tercihleriyle farklılaşırlar ve bir fosfo baş grubu (fosfolipaz C) veya fosfatidik asit ve ayrı bir baş grubu (fosfolipaz D) ile sonlanır (Schmiel ve Miller, 1999). *A.baumannii*, tümü ökaryotik membran bileşeni olan

fosfatidilkoline yönelik substrat özgülüne sahip iki fosfolipaz C ve üç fosfolipaz D enzimini kodlamaktadır (Stahl vd., 2015; Fiester vd., 2016). Her iki enzim de ferrik alım düzenleyici (Fur) tarafından transkripsiyonel olarak düzenlenir ve insan eritrositlerine karşı hemolitik aktivite gösterir, bu da demir alımına yardımcı olur. Bu önemli rolle tutarlı olarak, fosfolipaz C, ATCC 19606, ATCC 17978, ACICU, AYE ve AB0057 dahil olmak üzere çok sayıda suşta korunur (Fiester vd., 2016). Benzer şekilde, üç fosfolipaz D geni, serum direnci, epitel hücre istilası ve *in vivo* patogenezi ile ilişkilidir (Jacobs vd., 2010; Stahl vd., 2015). İki fosfolipaz D enzimi, HxKx4Dx6GS/GGxN (HKD) motifini içeren iki katalitik alan tarafından tanımlanabilen bir gen kopyasının sonucu gibi görünürken, fosfolipaz D3, yalnızca bir tane içerir. Benzerliğine rağmen, fosfolipaz D2'nin istila için diğer ikisinden daha önemli olduğu gösterilmiştir (Stahl vd., 2015). *A. baumannii*'de virülans faktörleri olarak önerilen ek proteinler arasında fosfolipaz D ve fosfolipaz C bulunur (Antunes vd., 2011a).

### 1.7.2. Salgı Sistemleri

Diğer Gram negatif patojenik bakterilerde olduğu gibi *A. baumannii*, çevresel ve konakçı adaptasyonunu kolaylaştırmak için salgılanan proteinleri kullanır. Bugüne kadar *Acinetobacter* türlerinde beş salgı sistemi (tip I, II, IV, V ve VI) tanımlanmıştır (Weber vd., 2017). Tip I salgılama sistemi (T1SS), proteinleri sitozolden hücre dışı ortama taşıyan üçlü bir sistemdir (Harding vd., 2017). Tip IV salgılama sistemi (T4SS), DNA, plazmitler ve diğer mobil genetik elemanların konjugatif transferinden sorumludur (Smith vd., 2007; Lacono vd., 2008; Liu vd., 2014). Tip VI salgılama sistemi (T6SS), hem ökaryotik hem de prokaryotik hücreleri hedefleyebilir, ancak *Acinetobacter*'de T6SS yalnızca diğer bakterileri hedef alır, peptidoglikan hidrolazlar, nükleazlar veya hücre zarlarını hedefleyenler dahil bir dizi toksin salgılar (Elhosseiny ve Attia, 2018). *A. baumannii* bakteriyel rekabet için T6SS kullanır (Weber vd., 2013; Carruthers vd., 2013).

#### 1.7.2.1. Tip II Salgı Sistemi

Tip II salgılama sistemi (T2SS), salgılamadan önce periplazmaya substrat translokasyonu için Sec veya Tat'a bağlı iki aşamalı bir salgı mekanizmasıdır (Eijkelkamp vd., 2014). Yaygın olarak Gram negatif bakterilerde bulunan tip IV pili sistemlerine yapısal olarak çok benzeyen, çok proteinli bir komplekstir (Korotkov vd., 2012). T2SS, periplazmik boşluktan hücre dışı ortama veya dış zar yüzeyine geniş bir protein yelpazesini

yerleştirir; dört alt gruptan oluşan 12- 15 proteinden oluşur: bir psödopilus, bir sitoplazmik salgı ATPase, bir iç zar platform tertibatı ve dodekamerik dış zar kompleksi (Korotkov vd., 2012; Harding vd., 2016). T2SS ile salgı iki adımlı bir süreçtir. Hedef proteinler ilk önce genel salgı (Sec) veya ikiz arginin taşıma (Tat) sistemi tarafından periplazmaya aktarılır, burada hedef proteinler daha sonra T2SS yoluyla hücreden salgılanır (Korotkov vd., 2012).

Efektör proteinler, *A. baumannii* virölansı için kritik olan lipaz, elastaz, alkalın fosfataz ve fosfolipazlar gibi enzimleri içerir (Elhosseiny ve Attia, 2018). *A. baumannii*' de spesifik T2SS efektörleri arasında, büyüme için karbon kaynakları olarak uzun zincirli yağ asitlerini hidrolize eden lipazlar, LipA ve LipH, fibrinojen ve faktör V degradasyonundan sorumlu olan metallo-endopeptidaz, CpaA bulunurken, PilD peptidaz T2SS ve T4SS arasında paylaşılır (Harding vd., 2016; Johnson vd., 2016; Weber vd., 2017). Bu sistemin önemi, çeşitli mutantların gözlenen zayıflamasıyla açıklanmaktadır (Harding vd., 2016; Johnson vd., 2016).

#### **1.7.2.2. Tip V Salgı sistemi**

Tip V salgılama sistemi (T5SS) (otomatik aktarıcılar), Gram negatif bakterilerde en basit ve en yaygın salgı sistemidir (Henderson vd., 2000). Bunlar bir N- terminal Sec-bağımlı sinyal peptidi, bir merkezi yolcu alanı ve C- terminali  $\beta$ -fiçi dahil olmak üzere kendi farklı alan mimarileri ile tanımlanabilirler (Henderson vd., 2004). Bugüne kadar, bu ailenin beş alt bölümü Tip Va- Ve olarak tanımlanmıştır (Leo vd., 2012); ancak *Acinetobacter* yalnızca iki tip Vb (AbFhaB/ C) ve bir tip Vc (Ata) kodlamaktadır (Bentancor vd., 2012a, b; Pérez vd., 2017; Elhosseiny ve Attia, 2018). *A.baumannii*' de tanımlanan ilk salgılama sistemi, membranla ilişkili bir taşıyıcı domain ve taşıyıcı alan üzerinden dışarı çıkan büyük, tekrarlayan yolcu domaininden oluşan, bir Ve tipi trimerik otomatik taşıyıcı olan adezin *Acinetobacter* otomatik taşıyıcı (Ata) idi. Ata, *Acinetobacter* enfeksiyonunun murin sistemik modelinde biyofilm oluşumuna, kollajen I, III ve IV gibi hücre dışı matris bileşenlerine yapışmaya ve virölansa aracılık eden trimerik bir membran proteinidir. Bu proteinin silinmesi, ATCC 17978'in biyofilm oluşturma yeteneğini önemli ölçüde azaltır ve *in vivo* virölansı tamamen zayıflatır (Bentancor vd., 2012a).

#### **1.7.2.3. Efluks Sistemleri**

Bakteriyel efluks sistemleri, periplazmadan hücre dışı ortama potansiyel olarak toksik bileşikleri ihraç eden, geniş substrat özgüllüğü sergileyen, membranı kapsayan, üç

parçalı sistemlerdir. Bugüne kadar başlıca ATP bağlayıcı kaset ailesi (ABC), kolaylaştırıcı süper ailesi (MFS), küçük çoklu ilaç direnç ailesi (SMR), çoklu ilaç ve toksin ihraç ailesi (MATE), direnç- nodülasyon hücre bölünmesi süper ailesi (RND) ve ilaç/ metabolit taşıyıcı ailesi (DMT) dahil olmak üzere altı bakteriyel efluks pompası ailesi tanımlanmıştır (Du vd., 2018; Poole, 2002). Tam metabolik süreçlerde, protein ve enzimlerin taşınmasında genellikle yüksek derecede özgülük vardır, ancak çoklu ilaç efluks pompaları geniş bir yapısal ve kimyasal olarak farklı substrat yelpazesini tanır (Henderson PJF vd., 2000). Gram negatif bakterilerde, dış zar hücreye giren antimikrobiyallerin oranını sınırlar ve çoklu ilaç efluks pompaları, çoklu, yapısal olarak farklı sınıfların antimikrobiyallerini aktif olarak bakteri dışına verir. Efluks pompaları tüm canlı hücrelerde ifade edilir ve onları organik kimyasalların toksik etkilerinden korur. Bakteriyel çoklu ilaç direnci, sıklıkla bu taşıyıcıların aşırı ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Hücreden dışarı atılan antimikrobiyallerin tekrar içeri girebilmek için düşük geçirgenliğe sahip dış zarını geçmesi gerekir; bu nedenle efluks pompaları, dış zarın düşük geçirgenliği ile sinerjik olarak çalışır (Poole, 2002).

*A. baumannii*' de, antimikrobiyallere efluks pompası aracılı direnç genellikle MFS ve RND ailesi ile ilişkilidir. Fransa'da salgın olan *A. baumannii* ÇİD AYE suşunda bulunan tüm direnç genlerinin belirlenmeye çalışıldığı bir çalışmada (Fournier vd., 2006), suşta bulunan direnç genlerinin çoğu bir adada kümelenmiştir. Bu direnç adasının (AbaRI) dışında, 46 açık okuma çerçevesi (ORF) antimikrobiyallere dirençle ilişkilendirildi ve bunların 32'si RND ailesiyle, yedisi MFS ile, ikisi MATE ailesiyle ve biri SMR ailesiyle ilişkilendirildi. Dahası, bir gen ABC üst ailesi ile ve diğeri DMT üst ailesi ile ilişkilendirildi. *A. baumannii* klinik izolatları, biyofilm oluşturma konusunda güçlü bir yeteneğe sahiptir (Rodriguez-Bano vd., 2008). AdeFGH efluks pompasının düşük doz antimikrobiyal terapi ile aşırı ekspresyonu, biyofilm oluşumunu indükleyen otoindüktör moleküllerinin sentezini ve taşınmasını artırır (He, X vd., 2015). *Acinetobacter*'de AceI ve AdeABC efluks pompaları sırasıyla biyositlere ve aminoglikozidlere direnci artırır (Marchand vd., 2004; Hassan vd., 2013; Liu vd., 2018). Karakterize edilen efluks pompalarının çoğunluğu yalnızca toksik moleküllerin dışlanmasına bağlıyken, AdeABC pompasının *in vivo* bakteriyel uygunluğu etkilediği gösterilmiştir (Yoon vd., 2016).

#### 1.7.2.4. Dış Membran Vezikülleri

Dış membran vezikülleri (OMV'ler), çeşitli büyüme koşulları altında incelenen tüm Gram negatif türler tarafından üretilen, 10 ila 300 nm arasında değişen boyutlarda küçük, küresel veziküllerdir ve bu evrimsel olarak korunmuş bir mekanizmanın göstergesidir. İsminin aksine, bu veziküller sitoplazmik bileşenler, iç membran (IM), periplazmik proteinler ve dış membranın (OM) kapsüllenmesidir (Kulkarni ve Jagannadham, 2014; Roier vd., 2016). Biyogenezleri için üç hipotez mevcuttur: birincisi, OM lipoprotein-peptidoglikan etkileşimlerinin kaybı zar çıkıntısına ve vezikül oluşumuna yol açar; ikincisi, periplazmada yanlış katlanmış proteinlerin ve peptidoglikan fragmanlarının birikmesi zar şişkinliğine yol açar; üçüncüsü, membran eğriliğini yönlendiren moleküllerin zenginleşmesi vezikül oluşumunu tetikler (Roier vd., 2016).

OMV'lerin bakteriyel sinyalizasyon, konakçı- patojen etkileşimlerinin modülasyonu ve immun kaçınma ile ilişkileri nedeniyle konakçı doğal immun sistemine karşı bakteriyel bir savunma mekanizması olarak işlev gördükleri uzun süredir varsayılmaktadır (Beceiro vd., 2013). *A. baumannii* OMV'ler ökaryotik kolesterol mikro alanlarıyla etkileşim yoluyla, OmpA ve diğer varsayılan virülans faktörlerinin konak hücrelere salgılanması için önemli bir mekanizma sağlar (Kwon vd., 2009; Jin vd., 2011). *In vivo* OMV'ler, TLR sinyalinin aktivasyonu yoluyla bağışıklık tepkilerini uyarabilir veya doğuştan gelen bağışıklık faktörlerinin ayrılması yoluyla bağışıklıktan kaçınmayı düzenleyebilir (Kaparakis-Liaskos, ve Ferrero, 2015). Ayrıca OMV'ler, enkapsüle edilmiş genetik materyalin topluluklar içinde veya türler arasında bakteriyel yayılımı için eşsiz bir fırsat sağlar (Koeppen vd., 2016; Bitto vd., 2017). Birden fazla grup *A. baumannii* klinik izolatlarının OMV'leri *bla*<sub>OXA-24</sub> ve *bla*<sub>NDM-1</sub> dahil olmak üzere karbapenem dirençli genleri içeren plazmitlerin yayılması için bir mekanizma olarak kullandığını ve bu sistemin çok yönlülüğünü göstermiştir (Rumbo vd., 2011; Chatterjee vd., 2017). Bu bakımdan OMV'ler, sadece konakçı- patojen etkileşimlerine katıldıkları için değil, aynı zamanda antibiyotik direnç genlerinin çevredeki bakterilere yayılmasına izin verdikleri için de önemli virülans faktörleri olarak düşünülebilir (Roca vd., 2012).

#### 1.7.3. Besin Edinimi

##### 1.7.3.1. Metal Edinimi

İnsan konağı enfekte etmek, *A. baumannii*' den yalnızca hücresel savunma mekanizmalarını bozmakla kalmayıp, esas olarak kapsüler polisakkarit yoluyla koruma

şeklinde, aynı zamanda metabolik ve beslenme esnekliğini de mümkün kılan koordineli bir yanıt gerektirir. Demir, manganez ve çinko gibi geçiş metalleri yaşamın tüm alanları için gereklidir; bu nedenle konakçılar, besin bağışıklığı olarak adlandırılan bir süreç olan metalleri ayırmak için ayrıntılı mekanizmalar geliştirmiştir. *A. baumannii*'nin hastane kaynaklı patojen olarak başarısının anahtarlarından biri, bu yetersiz besin maddelerini *in vivo* olarak temizlemeye yönelik çeşitli mekanizmalarıdır (Wang vd., 2014; Subashchandrabose vd., 2016; Gebhardt, 2015).

### 1.7.3.2. Demir

Demir, çevresel ve biyolojik sistemlerde en bol bulunan elementlerden biri olmasına rağmen ferrik demir, aerobik ve nötr pH koşullarında zayıf çözünürlüğünün (ferrik demir için 10<sup>-17</sup> M) yanı sıra hem gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşikler veya laktoferrin ve transferrin gibi yüksek afiniteli demir bağlayıcı bileşikler tarafından şelasyonu nedeniyle bakteriler için tercih edilen durumda nispeten bulunmaz (Rakin vd., 2012; Saha vd., 2013). Bu demir sınırlamasının üstesinden gelmek için, çoğu aerobik bakteri, siderofor olarak bilinen yüksek afiniteli bir demir şelatörü üretir. Sideroforlar, demir için yüksek afiniteye sahip, düşük moleküler ağırlıklı (400- 1000 kDa) bileşiklerdir (Saha vd., 2013). *A.baumannii* ayrıca demir sideroforlara sahiptir ve en iyi karakterize edilen *A. baumannii* sideroforu olan acinetobactin, treoninden türetilmiş bir oksazolin halkası ile karışık tipte bir siderofordur (McConnell vd., 2013). Dahası, *A. baumannii* suşları beş farklı sideroforu kodlar. Küme 1, sekiz geni ve 1 MFS ailesi efluks pompasını içerir; küme 2 (yalnızca ATCC 17978'de mevcuttur) ayrı bir MFS ve MATE efluks pompasına sahip 15 geni içerir; küme 3, iyi karakterize edilmiş acinetobactin ve ABC efluks pompası iken; küme 4 yalnızca 8399 suşunda bulunur ve küme 5, ATCC 17978 haricinde çoğu suшта mevcuttur. Küme değişkenliğine rağmen, bugüne kadar tarif edilenlerin tümü transkripsiyonel olarak Fur tarafından düzenlenir ve ilgili promotorlarında bir Fur box sekansının (palindromik 25-nükleotid sekansı) varlığı ile tanımlanabilir (Eijkelkamp vd., 2011a). *A.baumannii*'de en yaygın olarak korunan demir şelatör maddesi, katekol- hidroksimat siderofor acinetobactindir (Antunes vd., 2011b). Hücre dışı ortamın pH'sına bağlı olarak acinetobactin, her ikisi de demir şelatlayan, oksazolin içeren veya izooksazolidinon içeren iki formdan birine izomerize olabilir (Shapiro ve Wencewicz, 2016). Bu benzersiz izomerizasyon özelliği, acinetobactinin akut enfeksiyonlar sırasında bulunan asidik koşullar altında demiri bağlamasını sağlar. Önemli olarak acinetobactin virülans için kesin

gereklidir. Bozulmuş acinetobactin biyosentezi ve taşıma fonksiyonları, *A.baumannii* ATCC 19606 hücrelerinin epitel hücreleri içinde kalma, hücre hasarı ve hayvan ölümüne neden olma kabiliyetini önemli ölçüde azaltır (Gaddy vd., 2012). Bir çalışma, acinetobactin üretiminin, MDR *A. baumannii* izolatlarında avirulent izolatlara göre önemli ölçüde daha sık meydana geldiğini göstermiştir (Megeed vd., 2012).

Fe- S kümelerinin oluşumuna katılan ve demir şelasyonuna ve oksidatif strese hücre yanıtlarında rol oynayan *A. baumannii* NfuA Fe- S iskele proteini de virülans faktörü olarak tanımlanmıştır. NfuA mutanti, hidrojen peroksit ve kümen peroksit gibi reaktif oksijen türlerine (ROS) daha duyarlıdır ve insan epitel hücrelerinde önemli ölçüde azalmış büyüme gösterir (Zimbley vd., 2012).

#### 1.7.3.3. Çinko ve Manganez

Demire benzer şekilde, çinko biyolojik olarak önemlidir ve çeşitli proteinler için hem doğal bir katalizör hem de kofaktör olarak hareket eder (Hood ve Skaar, 2012). Doğal immun metal şelatlayıcı protein kalprotektin, çinko ( $Zn^{2+}$  ve Zn) ve manganez ( $Mn^{2+}$  ve Mn) gibi metallerin konakçı aracılı şelasyonu yoluyla bakteriyel büyümeyi inhibe eder (Corbin vd., 2008). Ancak *A. baumannii*, *in vivo* olarak bu besleyici immun proteinin varlığında hastalığa neden olabilir (Juttukonda vd., 2016). Çinko sınırlamasıyla mücadele etmek için *A. baumannii*, Zn sınırlayıcı koşullar altında up- regüle edilen bir çinko toplama sistemi (ZnuABC) kullanır ve *znuB* mutant suşu, vahşi tipten daha yüksek Zn konsantrasyonlarında Zn açlığı yaşar (Hood vd., 2012). *A. baumannii*, transkripsiyonel olarak Zur tarafından kontrol edilen ZnuABC taşıyıcısı ve ZigA GTPase aktivitesi ile hücre içi çinko konsantrasyonlarını düzenler. ZnuABC çinkoyu hücreye ithal ederken, ZigA onun salınımını HutH aktivasyonu ve histidin katabolizması yoluyla teşvik eder (Mortensen vd., 2014; Nairn vd., 2016).

Aynı derecede karakterize edilmemesine rağmen, manganez açlığı aynı derecede önemlidir; bu nedenle NRAMP ailesi taşıyıcısı MumT ve üre karboksilaz, MumC, kalprotektine yanıt olarak manganez birikimini kolaylaştırır. *A. baumannii* tarafından bir Mn sınırlamasının üstesinden gelebilmek için kullanılan bir mekanizma tanımlanmıştır. Kalprotektin, bir NRAMP (Doğal Dirençle İlişkili Makrofaj Proteinleri) ailesi Mn taşıyıcısının ve kalprotektinin antimikrobiyal aktivitelerine direnmek için bir üre karboksilazının transkripsiyonunu artıran *A. baumannii*'de Mn açlığını indükler. Bir üre karboksilaz enzimi (MumC), kalprotektin varlığında *A.baumannii*'nin büyümesi için

önemlidir ve bir NRAMP ailesi taşıyıcısı (MumT), bir murin pnömoni modelinde *A. baumannii* uygunluğuna katkıda bulundu. *A. baumannii*, üreyi tek bir nitrojen kaynağı olarak kullanabilir ve bu üre kullanımı MumC için gereklidir (Juttukonda vd., 2016). Ayrıca *A. baumannii*, Mn açlığından ve oksidatif stresten kurtulmak için MumR aracılı bir transkripsiyon mekanizmasına sahiptir. MumR'nin fenilasetat ve gama- aminobütirik asit katabolizma yollarını düzenlemedeki rolü aracılığıyla ROS'a karşı bakteriyel direnç katkıda bulunduğu ortaya çıktı (Green vd., 2020).

#### **1.7.4. Topluluk Etkileşimleri**

##### **1.7.4.1. Yeterli Çoğunluk Algılama (Quorum Sensing)**

Bakterilerin komşu hücreleri algılama, yanıt verme ve onlarla iletişim kurma yeteneği, popülasyonun başarısı için kritik öneme sahiptir (Bhargava vd., 2010; Rutherford ve Bassler, 2012). Bakteriler, hücreler arası etkileşimi ve çevresel adaptasyonu gerçekleştirmek için hücrelerden salgılanan kimyasal sinyalleri ayırtılandırırlar. Bakterilerin bir fenotipi ifade etmeden önce hücre yoğunluğunu izleme yeteneği 'yetersayı algılama (QS)' olarak bilinir (Whitehead vd., 2001). QS, Gram negatif bakteriler arasında yaygın bir düzenleyici mekanizmadır ve genellikle LuxI ailesi AHL sentazları tarafından üretilen açıl- homoserin lakton (AHL) benzeri sinyal moleküllerinin yardımıyla gerçekleşir (Sarkar ve Chakraborty, 2008; González vd., 2009). Aynı zamanda QS, bakterilerin AHL gibi hormona benzer molekülleri tespit edip bunlara tepki vermesi, motilite ve biyofilm oluşumu dahil olmak üzere çok sayıda fenotipi düzenleyen süreçtir (Bhargava vd., 2010; Rutherford ve Bassler, 2012). Açıl homoserin laktonlar (HSL) ve açıl olmayan HSL aracılı sistemler tarafından kontrol edilen fizyolojik süreçlerin modülasyonu, hücre yoğunluğuna ve büyüme fazına bağlı bir şekilde gerçekleşir. AHL aracılı QS, virülans faktörlerinin üretimi, biyoemülsan üretimi, biyoluminesans ve biyofilm oluşumu ile bağlantılıdır (Whitehead vd., 2001; Vallenet vd., 2008). Bu otoindükleyiciler, transkripsiyonel düzenleyici proteinlere bağlanır ve organizmada gen ekspresyonunu aktive eder veya düzenler (Bhargava vd., 2010). Gram negatif bakterilerin ortak AHL sistemine iki protein aracılık eder: LuxR ile etkileşimde olan LuxI proteinleri. Bu kompleks, QS hedef genlerinin ekspresyonunu düzenleyen *lux- box* olarak bilinen spesifik bir promotor sekansına bağlanır. *Acinetobacter*'de *lux- box abaI*'nin varsayılan ATG'sinin yukarısında bulunur ve AbaR için bir bağlanma bölgesini temsil eder. AbaI proteini, birincil sinyal olarak N-(3-hydroxydodecanoyl)-l-HSL (3-hydroxy-C(12)-HSL) üreten ve sinyal üretimi ve QS

işlevini yerine getiren LuxI otoindüktör sentaz ailesine aittir. *A.baumannii*' de bir otoindüktör reseptörü olan AbaR proteini, AHL ile etkileşime girer ve gen ekspresyonunu kontrol eder (Niu vd., 2008).

*Acinetobacter* quorum sinyallerinin virülen ve virülen olmayan suşlarda değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir, bu nedenle bunlar arasında QS temelinde ayırım yapmak zordur (Niu vd., 2008; Bhargava vd., 2010). Diğer yandan, *A. baumannii*' de son çalışmalar biyofilm gelişimini QS ile ilişkilendirmiştir (Kroger vd., 2016; Paluch vd., 2020; Saipriya vd., 2020). *A. baumannii*, *Vibrio*'nun arketipsel QS genlerinin *luxI* ve *luxR* homolog genlerini (*abaI* ve *abaR*) kodlar. *AbaI*'nın silinmesi *A. baumannii*' de biyofilm oluşumunu azaltır (Niu vd., 2008). Ayrıca *A. baumannii*' de kuruma döneminde oksidatif stres de indüklenir (Gayoso vd., 2014; Harding vd., 2018). Yapılan bir çalışmada, QS ve oksidatif stres arasındaki ilişki incelendi ve ilk kez *A. baumannii*' deki katalaz ve süperoksit dismutazın QS sistemi tarafından düzenlendiği bildirildi (Bhargava vd., 2010).

#### 1.7.4.2. Biyofilm Oluşumu

Konakçı hücrelere bağlılık, kolonizasyon veya enfeksiyonun ilk adımını temsil eder. Kolonizasyon sırasında bakteriler 'biyofilm' adı verilen, oldukça yapılandırılmış bir mikrobiyal toplulukla sonuçlanan mikro koloniler oluşturabilir. Biyofilm, sert ortamlarda ve konak enfeksiyonu sırasında hayatta kalmak için koruyucu bir mekanizma oluşturan, bir polimerik matriks (karbonhidratlar, nükleik asitler, proteinler ve diğer makromoleküllerden oluşan) içine yerleştirilmiş, biyotik veya abiyotik bir yüzeyle ilişkili çok sayıda bakteri hücresinden oluşan yapısal bir topluluk oluşturur (Costerton, 1995). Bu bakteriler antimikrobiyal stres faktörlerine, antibiyotiklere veya temizlemeye, planktonik benzerlerine göre daha dirençli hale gelir ve bu nedenle biyofilm üretme yeteneği önemli bir virülans faktörünü temsil eder (Donlan, 2002; Wroblewska vd., 2008; de Breij vd., 2009; Gaddy ve Actis, 2009). Biyofilm, besin bulunabilirliği, bakteriyel uzantılar ve yüzey bileşenleri, QS, makromoleküler sekresyonlar (Irie ve Porsek, 2008; Gaddy ve Actis 2009; Bhargava vd., 2010) ve çevresel sinyallere yanıt olarak biyofilm ile ilişkili gen ürünlerinin ekspresyonu ile ilgili iki bileşenli düzenleyici sistemler ve transkripsiyon düzenleyicileri içeren karmaşık düzenleyici ağlar gibi ortak faktörlerden etkilenebilir (Standley ve Lazazzera, 2004).

*A. baumannii*, hem biyotik hem de abiyotik yüzeylerde biyofilmler oluşturarak, kalıcı tıbbi cihazlarda, hastane yüzeylerinde veya başka şekilde elverişsiz koşullarda hayatta

kalmayı teşvik eder. Biyofilm oluşumu, ilk bağlanma ile başlayan, hücrelerin mikrokolonilere güçlü bir şekilde yapışması ve toplanması ile devam eden, ardından çevreye hücre dağılımından önce biyofilm büyümesi ve olgunlaşması ile takip edilen çok aşamalı bir süreçtir (Hall-Stoodley vd., 2004). Abiyotik yüzeylerde biyofilm oluşumu, titanyum ve polistiren gibi tıbbi olarak ilgili yüzeylere yapışma kabiliyetleri ile hastane ortamlarında bu patojenlerin başarısına katkıda bulunmuştur (Loehfelm vd., 2008; Brossard ve Campagnari, 2011). Hücreden hücreye bağlanma ve biyofilmin başlatılmasıyla ilişkili Csu tip1 şaperon-user pili için çok sayıda suş kodlar (Tomaras vd., 2008; Brossard ve Campagnari, 2011). Operon, sırasıyla pili ve minör alt birimleri, şaperon, kullanıcı veya yapışkan uç kodlayan altı gen içerir *csuA/B*, *A*, *B*, *C*, *D* ve *E* (Moon vd., 2017). Ağırlıklı olarak BfmRS TCS tarafından düzenlenmesine rağmen, GacAS TCS ayrıca *csu* ve *bfmR* promotorlerinde tanımlanan varsayılan bir folata duyarlı riboswitch'e ek olarak, çevresel sinyaller ve popülasyon dinamikleri arasındaki etkileşimi vurgulayarak ifadesini de modüle eder (Cerquiera vd., 2014; Moon vd., 2017). BfmRS' nin ağırlıklı olarak abiyotik biyofilmlerle ilişkili olmasına rağmen, bu sistem aynı zamanda ökaryotik hücre yapışması ve antimikrobiyal direnç ile bağlantılıdır (Liou vd., 2014).

*A. baumannii* ayrıca abiyotik filmlerle ilişkili T1SS efektör biyofilm ile ilişkili protein, Bap, üretir. Daha önce *Staphylococcus*'da tanımlanan homolog, muazzam boyutu (800kDa'nın üzerinde) ve immünoglobulin benzeri kıvrımı ile tanımlanır. *Staphylococcus*'un aksine, *A.baumannii* Bap, hücre yüzeyi hidrofobikliğinin modülasyonu yoluyla hücreden hücreye yapışmayı ve ökaryotik hücre yapışmasını destekleyen çok sayıda dahili tekrar içeren dört modül, A- D içerir (Loehfelm vd., 2008; Brossard ve Campagnari, 2011). Pilus komplekslerine ek olarak, ototransporter Ata ve *pagABCD* lokusu tarafından kodlanan hücre dışı poly- $\beta$ -1,6-N- acetylglucosamine (PNAG) gibi proteinlerin de biyofilmdeki hücrelerin bağlanmasına ve yapışmasına aracılık ettiği gösterilmiştir (Choi vd., 2009; Brossard ve Campagnari, 2011).

Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları sırasında, *A. baumannii* popülasyonları hem yarada hem de tıkaçıcı pansumanlarda sağlam biyofilmler oluşturur (Thompson vd., 2014). *A. baumannii* ayrıca, endotrakeal tüpler gibi sağlıkla ilgili ekipmanların yanı sıra polikarbonat ve paslanmaz çelik de dahil olmak üzere çoğu abiyotik yüzeyde biyofilm toplulukları oluşturur (Greene, 2016b). Özellikle *A. baumannii* dahil olmak üzere biyofilm topluluklarındaki bakteriler, hücre dışı strese karşı toleransı artırmıştır (Greene, 2016b;

Greene, 2016a). *A. baumannii*, uzun süreler boyunca kuru koşullara ve besin açlığına maruz kaldıktan sonra bile parmak uçları, cam, plastik ve diğer çevresel yüzeyler gibi cansız nesneler üzerinde hayatta kalır (Jawad vd., 1996; Wendt vd., 1997; Lee et al., 2006; de Breij vd., 2009; Espinal vd., 2012). Bu hayatta kalma, aynı zamanda bu mikroorganizmanın antimikrobiyal ilaçlara ve kurumaya karşı direncine atfedilmiştir (Jawad vd., 1998; Tomaras vd., 2003). Tarama ve transmisyon elektron mikroskobu çalışmaları, yalnızca biyofilm oluşturan suşlarda hücreleri kaplayan ekler ve bir polisakkarit tabakası göstermiştir (Espinal vd., 2012). Bu yüksek oranda hidratlanmış katman, ölümcül kurumayı önleyebilir ve böylece nemdeki değişikliklere karşı koruyabilir, ayrıca mekanik stabiliteye, daha uzun süre hayatta kalmaya ve antimikrobiyal dirence katkıda bulunabilir (Sutherland, 2001; Donlan, 2002).

#### 1.7.5. Hareketlilik

Pek çok farklı cinste bakteriyel hareketlilik, bir organizmanın hastalığa neden olma yeteneği ile yakından bağlantılıdır (Eijkelkamp vd., 2013). Paradoksal olarak *Acinetobacter* ‘hareketsiz çubuk’ anlamına gelmektedir; ancak, *A. baumannii* ve *A. nosocomialis*, yüzey ilişkili hareketlilik (surface associated motility) ve seğirme hareketliliği (twitching motility) olmak üzere iki bağımsız bakteri hareket formuna sahiptir (Harding vd., 2018). Seğirme hareketliliği, birçok bakteri tarafından kullanılan iyi tanımlanmış bir bakteriyel hareket çeşididir. *A. baumannii* ve *A. nosocomialis*’ de seğirme hareketliliği, bakteri hücrelerini ileri doğru çekmek için tekrarlanan uzatma ve geri çekme turları için tam işlevli tip IV piliye bağlıdır (Eijkelkamp vd., 2011b; Wilharm vd., 2013; Harding vd., 2013). *A. baumannii* için tip IV pili ve/ veya virülanstaki seğirme hareketliliği arasında doğrudan bir bağlantı gözlenmemiş olsada, tip IV pilinin biyogenezi için gerekli olan proteinleri kodladığı tahmin edilen genlerin insan serumundaki büyüme sırasında up-regüle olduğu gösterilmiştir (Jacobs vd., 2012) bu da tip IV pilinin bakteriyemi sırasında önemli olabileceğini gösterir (Harding vd., 2018). Ayrıca, neredeyse tüm *A. baumannii* ve *A. nosocomialis* suşları, tip IV pilinin biyogenezi için gerekli olan proteinleri kodlayan oldukça homolog genleri taşır. Bununla birlikte, ana pilinin alt birimi olan fimbrial protein Pila, türler arasında ve hatta suşlar arasında kayda değer dizi farklılığı gösterir (Piepenbrink vd., 2016).

*A. baumannii* klinik izolatlarında yüzeyle ilişkili hareketlilik olarak adlandırılan başka bir hareketlilik biçimi de gözlemlenmiştir. *Acinetobacter* türlerinin yüzeyle ilişkili

hareketliliğine dair en eski raporlar, bu hareketin seğirme hareketliliğine bağlı olduğunu göstermiştir (Henrichsen vd., 1984). Yapılan bazı çalışmalar (Wilharm vd., 2013; Clemmer vd., 2011) *A. baumannii* ve *A. nosocomialis* tip IV pili mutant suşların, bozulmuş yüzeyle ilişkili hareketlilik gösterdiği gözlemlenmiştir. *A. baumannii*' de yüzeyle ilişkili hareketlilik, görünüş olarak *P. aeruginosa*'nın kümelenme hareketliliğine (swarming motility) çok benzerdir, ancak kümelenme flagellaya bağlıdır ve *A. baumannii* flagella üretmez (Kearns, 2010). Şu anda, *A. baumannii* yüzeyle ilişkili hareketliliğin 1, 3 diaminopropan (DAP) (Skiebe vd., 2012), quorum algılama (Clemmer vd., 2011) ve LOS üretimi (McQueary vd., 2012) sentezine dayandığı gösterilmiştir. DAP'ın veya DAP'ın bir türevinin, quorum algılama yoluyla yüzeyle ilişkili hareketliliğin düzenlenmesi için önemli olan bir sinyal molekülü olarak işlev görmesi mümkündür (Skiebe vd., 2012). Spesifik olarak *A. baumannii* suşu AB5075' te yeni faz değişkenli koloni opasitesi keşfedilmiştir, burada koloniler opak ve yarı saydam varyantlar arasında birbirine dönüşüm göstermiştir. İlginç bir şekilde, opak faz varyantları geliştirilmiş yüzeyle ilişkili hareketliliğe ve buna eşlik eden gelişmiş bir virülans faktörüne sahipken, yarı saydam varyantlar büyük ölçüde daha az hareketlilik göstermiştir (Tipton ve Rather, 2016).

## **2. YAPILAN ÇALIŞMALAR**

### **2.1. Materyal**

#### **2.1.1. Alet ve Ekipmanlar**

Çalışmada kullanılan, Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Laboratuvarında bulunan cihazlar şunlardır:

- Buzdolabı (Beko, Türkiye),
- Buz makinesi (Scotsman Ice, İtalya),
- Çalkalayıcı inkübatör (Shel Lab, USA),
- Diktip otoklav (Hirayama, Japan),
- Distile su cihazı (mes, Türkiye),
- Elektroforez Güç Kaynağı (BIO-RAD, USA),
- Elektroforez tankı (Scie-Plas HU10 Mini, England),
- Etüv (Daihan, Türkiye),
- Hassas terazi (Kern ABJ-NM/ABS-N, England),
- Manyetik karıştırıcı (IKA RH Basic 2, Germany),
- Mikrodalga fırın (Altus, Türkiye),
- Otomatik pipetler (Eppendorf, Germany)
- Santrifüj (Allegra, Germany),
- Steril Kabin,
- Termal döngü cihazı (Thermo scientific, USA),
- Thermo-Shaker inkübatör (Thermo Scientific, USA),
- UV illüminatör (Herolab, Germany),
- Vorteks (Heidolph, Germany),
- Pipet ucu, eppendorf tüp, falkon,

Genetik ve Biyomühensilik Laboratuvarında bulunan erlenmayer, beher, petri, mezür, jel dökme tepsi ve tarak, öze, deney tüpü, tüplük, eküvyon çubuğu, parafilm kullanıldı.

### 2.1.2. Kimyasallar, Enzimler, Vektörler ve Kitler

#### Kullanılan kimyasallar:

Agaroz (Sigma, USA), Agar (Liofilchem, Italy), Gliserol (ADR), dNTP (Solis Biodyn) MgCl<sub>2</sub> (GeneON), Buffer (GeneON), Etidyum bromür (PanReac AppliChem, Germany), Etanol (Alkomed, Türkiye), Tripton (Pronadisa, Spain), Maya özütü (Lab M, United Kingdom), DNA ladder (Promega), Ampisilin, NaCl, KCl, Tris, EDTA, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (Sigma), KCO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (Sigma), IPTG (Sigma), X-gal (Sigma), Glasiyal asetik asit (Merck), Kristal viyole (Merck), MHA (Nitra Kimia).

#### Kullanılan enzimler:

Taq DNA polimeraz (GeneON).

#### Kullanılan kitler ve vektörler:

Plazmid DNA izolasyon kiti (Thermo Fisher Scientific, ABD), pGEM-T Easy klonlama kiti kullanıldı.

### 2.1.3. Çözeltiler, Tampon Solüsyonlar ve Besiyerlerinin Hazırlanması

Deneyler sırasında kullanılan çözelti ve tamponların isimleri ve bileşenleri Tablo 2.1 de belirtilmiştir.

Tablo 2. 1. Çözelti, Tampon ve Besiyerlerinin Hazırlanması

| Çözeltiler, Tampon Solüsyonları ve Besiyerleri | Bileşenleri                                                                                                                                                                                                      |
|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1X TAE                                         | 20 mL 50X TAE, 980 mL saf su                                                                                                                                                                                     |
| %1 Agaroz jel                                  | 0.7 g agaroz, 70 ml 1X TAE, 5 µl etidyum bromür                                                                                                                                                                  |
| dNTP                                           | Stok dNTP'den 50 µL, 950 µL steril deiyonize su                                                                                                                                                                  |
| FSB (Frozen Storage Buffer)                    | 50 mM CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O, %10 gliserol, 1 M KCO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> , 100 mM KCl, 50 ml saf su. pH'sı HCl kullanılarak 6.2 olacak şekilde hazırlandı. Son hacim 100 mL'ye tamamlandı. |

Tablo 2.1. (Devamı)

|                                |                                                                                                             |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Primer                         | Stok çözeltiden 10 µL, 90 µl steril saf su. Son konsantrasyon 10 pmol/µL.                                   |
| LB (Luria-Bertani) agar        | 10 tripton, 5 g maya özütü, 5 g NaCl, 15 g agar, 1000 mL saf su.                                            |
| Ampisilinli LB (Luria-Bertani) | 10 g tripton, 5 g maya özütü, 5 g NaCl, 1000 mL saf su, sıcaklık 55°C'ye düştükten sonra 1000 µl ampisilin. |
| LB (Luria-Bertani)             | 10 g tripton, 5 g maya özütü, 5 g NaCl, 1000 mL saf su                                                      |
| %1 Kristal viyole              | 1 g Kristal viyole, %95'lik Etil alkol (etanol)                                                             |

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. *A. baumannii* İzolatının Temini ve Antibiyotik Duyarlılığının Tanımlanması

Bu çalışmada Trabzon Fatih Devlet Hastanesinden *A. baumannii* suşu temin edildi ve tam genom sekanslaması yapıldı.

Antibiyotik duyarlılık testi için kullanılan antibiyotikler; piperasilin, piperasilin/tazobaktam, seftazidim, sefepim, aztreonam, imipenem, meropenem, amikasin, gentamisin, netilmisin, tobramisin, siprofloksasin, levofloksasin, tetrasiklin, tigesiklin, kolistin, trimetoprim/sülfametaksazol dur. VITEK 2 Kompakt Otomatize Sistemi (bioMerieux, Craponne, Fransa) ile izolatların antibakteriyel duyarlılıkları tespit edilmiştir ve sonuçlar Avrupa Klinik Sınır Değer Tablosuna (EUCAST 2017 standartlarına) göre belirlendi.

### 2.2.2. *A. baumannii* İzolatının 16S rRNA Dizi Analizi

Moleküler tanımlama amacıyla, çoklu- ilaç dirençli izolatlar için 16S rRNA gen bölgesi 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') Forward ve 1492L (5'-GGYTACCTTGTTACGACTT-3') reverse (Macrogen, Amsterdam, The Netherlands)

oligonükleotidleri (primer) kullanılarak amplifiye edildi. PZR reaksiyonu; 5 µL DNA, 10 µl 5X DNA polimeraz tamponu (Promega), 3 µL 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2,5 µL 4 mM dNTP, 2 µL Forward 2 µL Reverse primer stoğu (25 pmol/ µL) ve 1,5 ünite DNA polimeraz (GoTaq, Promega) son hacim 50 µL' ye tamamlanacak şekilde deiyonize su eklenerek hazırlandı. PZR amplifikasyon şartları sırasıyla 94°C'de 2 dk, 94 °C'de 45 sn, 55 °C'de 60 sn, 72 °C'de 60 sn (35 döngü) ve son sentez 72 °C'de 10 dk olacak şekilde gerçekleştirildi. PZR sonucu oluşan ürünler %1'lik hazırlanmış olan agaroz jelde yürütüldü. Yürütme sonrası UV ışık altında görüntülendi. Uygun görülen PZR ürünleri DNA dizi analizi yapılmak üzere MacroGen'e (Amsterdam, Hollanda) gönderildi. Dizileme sonrası elde edilen verileri değerlendirmek için BLAST programı (NCBI GenBank database) kullanıldı.

### **2.2.3. *A. baumannii* İzolatının Stoklanması ve DNA İzolasyonu**

*A. baumannii* izolatından seçilen tek koloni, tek koloni düşürme yöntemiyle EMB besiyerine ekimi yapıldı. Ardından 16 saat inkübasyon süresince 37°C etüv içerisinde bırakıldı. Inkübasyon süresi sonrasında seçilen tek koloni, 3 mL LB broth besiyerine ekildi ve sonrasında 37°C' de çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakıldı. Üretilen bakteriyel süspansiyonların stoklamam işlemi, -20°C' de stoklanmak üzere bakteriyel süspansiyondan 800 µl ve %20'lik gliserolden 200 µl olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan örnekler etiketlenerek -20°C' ye kaldırıldı.

DNA izolasyonu için Kaynatma metodu tercih edildi. Hazırlanmış olan 3 mL gecelik kültür eppendorf tüplere aktarıldı ve 10.000 rpm' de 2 dk santrifüj edildi. Sonrasında süpernatant uzaklaştırıldı ve pellet kısmı 1000 µl saf su eklenerek vortekslendi. Ardından tekrar 10.000 rpm' de 2 dk santrifüj edildi. Tekrar süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra pellet 1000 µl saf su eklenerek vortekslendi. Örnekler 100°C' de 10 dk kaynatıldıktan sonra tekrar 10.000 rpm' de 2 dk santrifüj edildi. Son olarak tüplerin üst kısmından 500 µl DNA alınarak, PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) reaksiyonlarında kullanılmak üzere yeni eppendorflara aktarıldı ve etiketlendi.

### **2.2.4. β-laktamaz Direnç Genlerinin Varlığının PZR Yöntemiyle Araştırılması**

Antibiyotik direnç genleri (*bla*<sub>OXA-23</sub>, *bla*<sub>OXA-51</sub>, *bla*<sub>OXA-58</sub>, *bla*<sub>GES</sub> ve *bla*<sub>TEM</sub>) ve sınıf 1 integronların *A. baumannii* suşlarındaki varlığının belirlenmesi, PZR yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. PZR reaksiyonu standart olarak 1,5 ünite Taq DNA polimeraz (GeneON), 5 µL genomik DNA, 10 µL DNA polimeraz tamponu, 4 µL 2,5 mM her bir dNTP, 2'şer

$\mu\text{L}$  ileri ve geri primer stoğu (20 pmol/  $\mu\text{L}$ ) (Sentegen), 3  $\mu\text{L}$  25 mM  $\text{MgCl}_2$  ve son hacim 50  $\mu\text{L}$ ’ ye tamamlanacak şekilde steril deiyonize su eklenerek hazır hale getirildi.

Amplifikasyon döngü şartları ön denatürasyon 94°C’de 3 dk, denatürasyon 94 °C’de 25 sn’de, uzama 72 °C’de 50 sn ve son sentez 72 °C’de 5 dk olacak şekilde uygulandı. PZR amplifikasyonu için kullanılan  $T_m$  ve primerler Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2. PZR Amplifikasyonu için Kullanılan  $T_m$  ve Primerler

| Primer           | Sekans (5’-3’)                                                               | $T_m$ °C | Ürün (bp) | Kaynak                |
|------------------|------------------------------------------------------------------------------|----------|-----------|-----------------------|
| Sınıf 1 İntegron | F: 5’CS:5’-<br>GGCATCCAAGCAGCAAG-3’<br>3’CS:5’-AAGCAGACTT<br>ACCTGA-3’<br>R: | 56       | Değişken  | Çiçek vd., 2013       |
| OXA-23           | F: ATGAATAAATATTTTACTTG<br>TTAAATAATATTCAGCTGTTR:                            | 52       | 501       | Woodford vd., 2006    |
| OXA-51           | F: TAATGCCTTTGATCGGCCTTG<br>TGGATTGCACTTCATCTTGG<br>R:                       |          | 353       | Woodford vd., 2006    |
| OXA-58           | F: AAGTATTGGGGCTTGTGCTG<br>CCCCTCTGCGCTCTACATAC<br>R:                        |          | 599       | Woodford vd., 2006    |
| GES              | F: ATGCGCTTCATTACGCAC<br>CTATTTGTCCGTGCTCAGGA<br>R:                          | 56       | 863       | Moubareck vd., 2009   |
| TEM              | F:<br>R: AGTATTCAACATTTYCGTGT<br>TAATCAGTGAGGCACCTATCTC                      | 49       | 860       | Çopur Çiçek vd., 2013 |

#### 2.2.5. Agaroz Jel Elektroföresi ve Görüntülenmesi

Agaroz jel elektroföresi PZR ürünlerini görüntölemek ve değerlendirmek için kullanıldı. Agaroz jel, 0,7 g agaroz ve 70 mL 1X TAE ve 0,5  $\mu\text{g/mL}$  etidyum bromür kullanılarak %1’lik olacak şekilde hazırlandı. PZR ürünlerinin %1’ lik agaroz jel

kuyucuklarına yüklemesi yapıldı. İlk kuyucuğa marker olarak 3 µL DNA Ladder (Promega) yüklendi. PZR örneklerinin yürütülmesi 90- 100 voltta, marker tam açılana kadar sürdürüldü. Son olarak UV illüminatör kullanılarak jelin görüntülenmesi gerçekleştirildi ve sonuçlar değerlendirildi.

#### **2.2.6. Kompetent Hücre Hazırlanması**

Kompetent hücre için, *E. coli* DH5α stoğundan 3 mL LB broth besiyerine ekildi ve sonrasında 1 gece 37°C’ de inkübasyon gerçekleştirildi. Hazırlanan gece kültüründen 30 mL’ lik LB besiyerine 100 µl aktararak ekim yapıldı ve OD<sub>600</sub>= 0,4’ e ulaşana kadar 30 dk çalkalayıcı inkübatörde büyütüldü. İstenilen OD’ ye ulaşınca kültür çalkalayıcı inkübatörden çıkarılarak iki falkona ayrıldı ve 10- 15 dk buz üstünde bırakıldı. Sonrasında, 5 dk 4°C’ de 4500 rpm’de santrifüj yapıldı ve süpernatant uzaklaştırıldı. Kalan pellet kısmı üzerine 7,5 mL soğuk FSB (Frozen Storage Buffer) eklenerek mikropipet yardımıyla çözdürüldü. Ardından 2 saat buzda bekletildi ve sonrasında tekrar 10 dk 4°C’ de 4500 rpm’de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant uzaklaştırıldı ve kalan pellet kısmı 2 mL FSB ile mikropipet yardımıyla çözdürüldü. Son olarak, hazırlanmış olan kompetent hücreler steril eppendorflara aktararak kullanıma hazır hale getirildi.

#### **2.2.7. PZR Pozitif Örneklerin pGEM-T Easy Vektörüne Klonlanması**

PZR ürünleri pGEM- T easy vektör protokol kuralları takip edilerek ligasyonu sağlandı. Ligasyon reaksiyonu için, son hacim 4 µl olacak şekilde 0,2 µl pGEM- T easy vektörüne (10 ng), 2 µl 2X T4 ligasyon tamponu, 0,2 µl T4 DNA ligaz ve 1,6 µl PZR ürünü eklenerek 16°C’ de 16 saat bırakıldı.

PZR ürünün vektöre ligasyon yapıldıktan sonra transformasyon işlemi gerçekleştirildi. Daha önce hazırlanmış olan *E. coli* DH5α kompetent hücrelerine kimyasal yöntemle transforme edildi.

Transferlerin seçilmesi aşamasında mavi- beyaz koloni tekniği tercih edildi. Mavi- beyaz koloni seçimi için, AMP’ li (ampisilin) hazırlanmış LB agar üzerine 40 µl IPTG (100 mM stok) ve 40 µl X- gal (40 mg/ mL) eklenerek yayımı yapıldı. Kimyasal yöntemle transformasyonu gerçekleştirilmiş hücreler bu petriler üzerine yayıldı ve 37°C’ de gece boyu inkübasyona bırakıldı.

### 2.2.8. Plazmit İzolasyonu

İnkübasyon sonrası oluşan beyaz koloniler steril pipet ucuyla seçilerek her biri ayrı ayrı hazırlanmış, içerisinde 3 mL AMP' li LB broth besiyeri bulunan tüplere ekimi yapıldı. Tüpler 37°C' de 16 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası kültürler eppendorflara aktararak 12. 000 rpm' de 2 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant uzaklaştırıldı ve kalan pelletten GeneJET Plazmit Miniprep kiti protokolü takip edilerek, plazmit DNA izolasyonnu yapıldı. İzolasyon sonrası elde edilen plazmit DNA'sı %1' lik hazırlanmış agaroz jelde yürütüldü. Jelin görüntülenmesi sonrasında değerlendirilen ve seçilen örnekler DNA dizi analizi için Sentebiolab' a (Ankara/ Türkiye) gönderildi.

### 2.2.9. Sekans Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Sentebiolab'a DNA dizi analizi için gönderilen örneklerin sonuçlarının değerlendirilmesi, Expasy translate Tool ve BLAST programları aracılığıyla gerçekleştirildi.

### 2.2.10. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile İmipenem ve Levofloksasin Minimum İnhibitör Konsantrasyonlarının (MİK) Belirlenmesi

Suşun farklı antibiyotik gruplarına dirençli olduğu daha önce tespit edilmişti. Bu doğrultuda karbapenem grubunu temsilen imipenem ve florokinolon grubundan levofloksasin seçilerek minimum inhibitör konsantrasyonları sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle belirlendi. Deneyler 96 kuyucuklu plakalar kullanılarak üçlü tekrar halinde yapıldı. Antibiyotik konsantrasyonları 128-1 µg/mL olarak hazırlandı. Kontrol olarak *E.coli DH5α* kullanıldı. Sonuçlar EUCAST'a göre değerlendirildi. Elde edilen MİK değerleri antibiyotik ile indüklenerek biyofilm oluşumunun araştırılmasında referans olarak kullanılmıştır.

### 2.2.11. DNA İzolasyonu

Bakteri genomik DNA'sı, Zymo Research "Quick-DNA TM Fungal / Bakteri Miniprep Kiti, Kat. No: D6005" üreticisinin talimatlarına göre izole edildi. DNA kalitesi ve miktarı spektrofotometrik ve florometrik olarak ölçüldü.

#### **2.2.12. Tam Genom Dizileme**

Sıralama kütüphanesi, Nextera XT DNA Kütüphanesi Hazırlama Kiti kullanılarak hazırlandı ve sıralama, eşleştirilmiş uç (PE) 2x150 baz okumaları olarak Illumina NovaSeq 6000 platformu tarafından yapıldı.

#### **2.2.13. MLST Sekans Tipi Belirlenmesi**

Suşun klonal alt tiplerini karakterize etmek için Oxford ve Pasteur tipleme şemaları kullanıldı.

#### **2.2.14. Biyoinformatik Analiz**

Sekanslamadan sonra ham okumaların kalitesi kontrol edildi ve adaptör sekansları, kontaminasyon ve düşük kaliteli okumalar çıkarıldı. Daha sonra, *Acinetobacter baumannii* suşu AB030 (NCBI erişimi: NZ\_CP009257.1) referans genomu üzerinde temiz veriler haritalandı ve referans bazlı bir konsensus genomu toplandı. Konsensus genomundaki varsayılan genler, CLC genomik çalışma tezgâhı aracı kullanılarak referans genom ek açıklama dosyasına dayalı olarak çıkarıldı ve bu genler, OmicsBox aracı kullanılarak işlevsel olarak açıklandı.

#### **2.2.15. Virülans Genlerinin Belirlenmesi**

Virülans faktör database (VFDB) programı kullanılarak *A. baumannii* A73 izolatında bulunan tüm virülans genleri (*bap*, *bas*, *csu*, *bau*, *plc*, *pga*, *entE*, *bar*, *omp*, *abaI*, *pil*, *fim*, *cvaC*) belirlendi.

#### **2.2.16. Biyofilm Oluşumunun Kantitatif Olarak belirlenmesi**

Suşun kantitatif analizi yarı kantitatif kristal viyole boyama kullanılarak yapıldı. İzolat, Mueller Hinton Agar (MHA) ortamında gece boyunca inkübe edildi ve tek bir koloni, 0.5 birim bakteri süspansiyonu hazırlamak için LB broth besiyeri ile karıştırıldı. 96 kuyucuklu plakanın her bir kuyucuğuna 200 mL bakteriyel süspansiyon ilave edildi ve daha sonra plaka, 24 saat boyunca 37°C' de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra kuyucuklarda bulunan bakteriyel süspansiyon döküldü ve plaka daha sonra her 30 saniyede bir üç kez saf su ile yıkandı. Her kuyucuğa 200 µL %1 kristal viyole boya ilave edildikten sonra oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi ve daha sonra boya uzaklaştırıldı. Boya uzaklaştırıldıktan sonra saf su ile plaka tekrar yıkandı ve 15 dakika oda sıcaklığında kurutuldu. Her bir kuyucuğa 200 µL %95 etanol ilave edildi ve optik absorbans (A) değeri,

kuyucuk duvarına yapışan kristal viyole tamamen çözüldükten sonra 620 nm'de spektrometrede (Thermo Scientific, ABD) okundu. Negatif kontrol olarak *E.coli DH5a*'nın OD değeri ( $A_c$ ) ilk önce iki kez ölçüldü ve ortalama değeri, izolatlar tarafından dört biyofilm oluşturma kabiliyetinde yorumlama kriterleri oluşturmak için kullanıldı: (1) negatif (-),  $A \leq A_c$ ; (2) zayıf pozitif (+),  $A_c < A \leq 2A_c$ ; (3) orta derecede pozitif (++),  $2A_c < A \leq 4A_c$ ; ve (4) kuvvetli pozitif (+++),  $A > 4A_c$  (Zhand vd., 2016; Çimen ve Özad Düzgün, 2021).

#### **2.2.17. Antibiyotik ile İndüklenmiş Biyofilm Oluşum Deneyi**

Antibiyotik indükleme ile biyofilm oluşumunu araştırmak için yukarda bahsedilen imipenem ve levofloksasin antibiyotikleri kullanılmıştır. Biyofilm oluşum deneyleri 96 kuyucuklu plakalarda gerçekleştirildi ve 3 tekrarlı olarak yapıldı. *A. baumannii* A73 suşu, farklı sublethal imipenem ve levofloksasin konsantrasyonları (1/2, 1/4, 1/8 \* MİK) ile LB broth içerisinde inoküle edilerek 37°C' de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası yukarda bahsedilen biyofilm oluşumunun kantitatif olarak belirlenmesi metodu gerçekleştirildi (He vd., 2015; Çimen ve Özad Düzgün, 2021).

#### **2.2.18. Motilite Deneyi**

Tüm hareketlilik deneyleri için %0,8 agar ile modifiye edilmiş LB broth (tripton- 10 g/l; NaCl- 5 g/l; maya özü- 5 g/l) kullanıldı. Suşun hareketliliğini test etmek için kültür, erken durağan faza büyütüldü ve steril LB broth ilave edilerek aynı optik yoğunluğa ayarlandı ve plakanın merkezine 1 mL'lik bir damla yerleştirildi. Aşılamadan sonra, 37°C' de 48 saat inkübe edildi. Pozitif izolatların toplanması, aşılama bölgesinde > 10 mm'lik bir bölge gösteren suşlar olarak tanımlandı. Seğirme hareketliliği için agar atıldı. Plakalar %0,2 kristal viyole ile boyandı ve fotoğraflandı. Deneyler üç kez gerçekleştirildi (Vijayakumar vd., 2016; Çimen ve Özad Düzgün, 2021).

### 3. BULGULAR

#### 3.1. *A. baumannii* İzolatının Temini ve Antibiyotik Duyarlılığının Tanımlanması

Bu çalışmada kullanılan suş, 2017 yılında Türkiye' de Trabzon Fatih Devlet Hastanesinde yoğun bakım hastasının balgam kültüründen izole edildi ve tam genom sekanslaması yapıldı. İzolatın biyokimyasal ve moleküler tanımlaması yapıldı ve her iki yöntemle göre suşun *A. baumannii* olduğu belirlendi.

VITEK 2 Kompakt sistemi ile izolatın antibakteriyel duyarlılıkları tespit edilmiştir ve sonuçlar Avrupa Klinik Sınır Değer Tablosu (EUCAST 2017) standartlarına göre belirlenmiştir. İzolat antibiyotik duyarlılık testine göre karbapenemlere (imipenem, meropenem), penisilinlere (piperasilin, piperasilin / tazobaktam), aminoglikozitlere (amikasin, gentamisin, tobramisin, netilmisin) ve florokinolonlara (siprofloksasin, levofloksasin) karşı dirençlidir (Tablo 3.1). İzolatın bu antibiyotik gruplarına duyarlılık profiline göre suşun ÇİD olduğu bulundu.

Tablo 3.1. *A. baumannii* A73 Suşu Antibiyogram Sonuçları

| Antimikrobiyal               | MİK        | Yorum |
|------------------------------|------------|-------|
| Piperasilin                  | $\geq 128$ | IE    |
| Piperasilin/ Tazobaktam      | $\geq 128$ | IE    |
| İmipenem                     | $\geq 16$  | R     |
| Meropenem                    | $\geq 16$  | R     |
| Amikasin                     | $\geq 64$  | R     |
| Gentamisin                   | $\geq 16$  | R     |
| Netilmisin                   | $\geq 32$  | R     |
| Tobramisin                   | $\geq 16$  | R     |
| Siprofloksasin               | $\geq 4$   | R     |
| Levofloksasin                | $\geq 8$   | R     |
| Tigesiklin                   | $\leq 0,5$ | S     |
| Kolistin                     | $\leq 0,5$ | S     |
| Trimetoprim/ Sülfametaksazol | $\leq 20$  | S     |

(IE: Türein tedavi için iyi bir hedef olduğuna dair yetersiz kanıt, R: Dirençli, S: Duyarlı)

### 3.2. İzolatın Tam Genom Sekans Analiz Sonuçları

*A. baumannii* (A73) suşunun tam genom dizisi verileri bu çalışmada NCBI BioProject'e erişim numarası PRJNA600804 ve GenBank erişim numarası CP047930 olarak girilmiştir. Tam genom sekans analiz sonuçlarına göre izolatın OXA-23, OXA-51, ampC ve TEM-tipi beta-laktamazları taşıdığı belirlendi. Tam genom sekans analiz sonucu, izolatın taşıdığı olduğu *bla*<sub>OXA-51</sub> benzeri genin *bla*<sub>OXA-66</sub> varyantı olduğunu ortaya çıkardı. *bla*<sub>OXA-23</sub> genine ek olarak CarO geninin varlığı da suşta gözlemlendi. CarO, karbapenem ile ilişkili bir dış zar proteindir ve *A.baumannii*' de karbapenem direncini destekleyen ana faktörlerden biridir.

Ayrıca izolatın, tabloda gösterildiği gibi diğer ilaç direnç genlerini de içerdiği görüldü; aminoglikozid direnç genleri (aac (3), aac6', aph (6) -I, strA), kloramfenikol direnç genleri (cat, CatB), tetrasiklin direnç genleri (tetR; baskılayıcı). Florokinolon direncinden sorumlu olan *GyrA* geninin Metiyonin olan 683. amino asidinin Lösin (Met638Leu) amino asidine değiştiği tespit edildi (Tablo 3.2). Tam genom dizileme analiz sonucuna göre tanımlanan eflüks pompaları aileleri ise, RND (adeA, adeB, adeC, adeF, adeG, adeH, adeI, adeJ, adeK), MFS (EmrA / B), SMR (EmrE) ve DMT (permease) olduğu belirlendi (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. *A. baumannii* A73 Suşu Antibiyotik Direnç Genleri ve Eflüks Pompası Aileleri

| Antibiyotik Sınıfı | Gen Adı                      | Eflüks Pompası Ailesi  | Gen Adı                         |
|--------------------|------------------------------|------------------------|---------------------------------|
| Betalactam         | <i>ampC</i>                  | MFS family             | MFS-ShiA-like                   |
|                    | <i>bla</i> <sub>OXA-65</sub> |                        | AraJ                            |
|                    | <i>bla</i> <sub>OXA-23</sub> |                        | MFS transporter                 |
|                    | <i>bla</i> <sub>TEM-1</sub>  |                        | MFS_NepI_like                   |
|                    |                              |                        | MFS transporter NreB            |
| Aminoglycosides    |                              | DMT family transporter | MFS                             |
|                    |                              |                        | EmrA/B                          |
|                    |                              |                        | ABC transporter                 |
|                    |                              |                        | permease                        |
|                    |                              |                        | DMT family transporter          |
| Chloramphenicol    | aac(3)                       | RND Family             | multidrug DMT transporter       |
|                    | aac6'                        |                        | drug/metabolite DMT transporter |
|                    | aph(6)-I                     |                        | permease                        |
|                    | strA                         |                        | adeA                            |
|                    |                              |                        | adeF                            |
|                    | Cat                          |                        | adeG                            |
|                    | CatB                         |                        | adeH                            |
|                    |                              |                        | adeI                            |

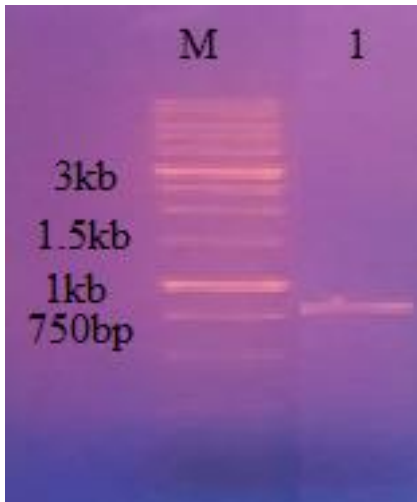
Tablo 3.2. (Devamı)

|                  |                                             |                  |        |                                                                       |
|------------------|---------------------------------------------|------------------|--------|-----------------------------------------------------------------------|
|                  |                                             |                  |        | adeJ<br>adeK<br>adeT<br>adeT2<br>OEP<br>tolC<br>LolA_like<br>permease |
| Fluoroquinolones | Mutation at position 638 in gyrA: Met → Leu | LysE transporter | family |                                                                       |
| Tetracyclines    | tetR                                        | SMR              | EmrE   |                                                                       |

### 3.3. $\beta$ - Laktamaz Genlerinin PZR ile Belirlenmesi

*A. baumannii* suşunda; Sınıf 1 İntegron, OXA-23, OXA-51, OXA- 58, GES ve TEM genlerinin varlığı PZR yöntemiyle araştırıldı.

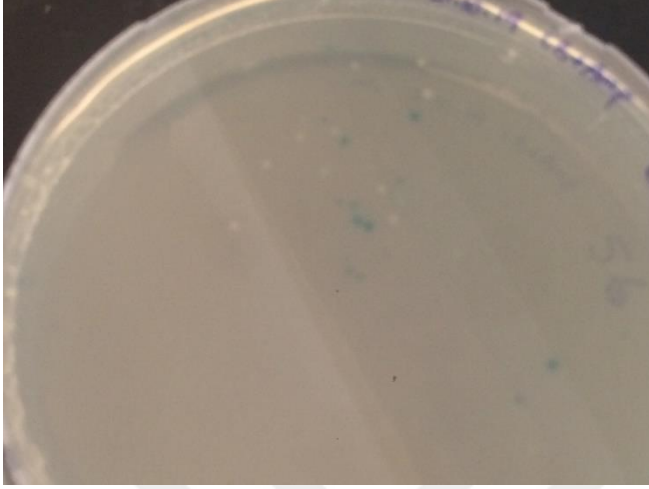
*bla*<sub>OXA-51</sub> geni *A. baumannii* izolatlarının tanımlanmasında kullanılmaktadır. Çalışmadaki izolatın *bla*<sub>OXA-51</sub> geni tespit açısından pozitif olduğu belirlenmiştir. *bla*<sub>OXA-58</sub> genine ise suşta rastlanmamıştır. Ayrıca örneğin sınıf D  $\beta$ -laktamazlardan *bla*<sub>OXA-23</sub> geni taşıdığı tespit edilmiştir. 822 bp büyüklüğünde PZR ürünü DNA markır ile yürütülerek UV altında görüntüsü alındı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. 822 bp'lik *bla*<sub>OXA-23</sub> 'ün DNA Markır ile Jeldeki Görüntüsü (M: marker; 1: OXA-23 pozitif örnek).

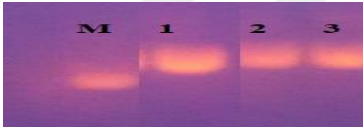
### 3.4. *bla*<sub>OXA-23</sub> Geninin pGEM-T Easy Vektörüne Klonlanması

pGEM-T easy vektörüne 822 bp'lik *bla*<sub>OXA-23</sub> geninin ligasyonu gerçekleştirildikten sonra *E. coli* DH5 $\alpha$  hücrelerine transformasyonu yapıldı (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Transformasyon Sonucu Mavi- Beyaz Koloni Oluşumu.

GeneJET Plazmit Miniprep kitindeki protokol takip edilerek plazmit DNA izolasyonu gerçekleştirildi. İzole edilen plazmitler %1'lik agaroz jelde yürütüldü (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Plazmit İzolasyonu Jel Görüntüsü (M: Mavi koloniden izole edilen plazmid, 1, 2, 3: *bla*<sub>OXA-23</sub> genini bulunduran plazmid)

### 3.5. MLST Analiz Sonucu

MLST analizi için, Oxford tiplene şemaları (*gdhB*, *gltA*, *gpi*, *gyrB*, *recA*, *rpoD* ve *cpn60*) ve Pasteur sistemi (*cpn60*, *fusA*, *gltA*, *pyrG*, *recA*, *rpIB* ve *rpoB*) kullanıldı. Suşun, Pasteur tipine göre ST2 alelik profiline sahip olduğu gösterildi. Oxford MLST tiplendirme şemasına göre ise, *gdhB* geninde tek bir alelik değişikliğe (G189A) sahip olduğu görüldü.

Pubmlst.org sitesine mutasyonlu olan *gdhB* gen sırası girildi ve site bu alelik değişimi *gdhB*-227 varyantı olarak adlandırdı. Yeni varyant belirlenip ve adlandırılması yapıldıktan sonra aynı siteye Oxford MLST tiplendirmesinde kullanılan genlerin nükleotid sıraları (Şekil 3.4) girildi. Sonuç olarak, Oxford tiplene şemasına dayalı yeni bir klon tespit edildi ve Pubmlst.org sitesi bu klonu ST2121 olarak adlandırdı (<https://pubmlst.org/>).

```

>Oxf_recA_2
TTGCAAGCAATTGCTCAATGTCAAAAATCTGGTGGTACATGTGCCTTCATTGATGCTGA
GCACGCCCTAGACCCTCAATATGCACGCAAACCTGGTGTAGATATTGATAACCTACTT
GTTTCACAACCCGACAACGGTGAGCAAGCACTTGAAATTGCTGACATGCTTGTCCGTT
CAGGCGCAATTGATTTAATCGTTGTGGACTCGGTAGCTGCACCTACCCCTAAAGCAGA
AATCGAAGGTGAGATGGGTGACTCTCATATGGGTCTACAAGCACGTCTTATGAGCCAG
GCACTTCGTAAAATTACGGGTAATGCTAAACGTTCAAACGTATGGTTATCTTCATTAA
CCAGATTTCGTATGAAAATTGG

>Oxf_gpi_102
CGCGGTGCTACGGGTGAAGTGATTCAGGATGTCGTTAATATTGGTGTAGGTGGTTCCG
ATTTAGGGCCTCAAATGGTGACCCATGCACTATGCGATTTTAAAGTAAAACTGCCAA
ACCACTTAATGTACACTTTGTTTCGACTATGGATGGTAGCCAGTTATCAGACCTACTCC
ATCAACTGCGTCCGGAAACAACCTTTATTTATTATTTCTTCAAAGTCATTTGGTACCATT
GATACCTTATCAAATGCACAGACAGTTCGTCAGTGGCTTGAAAAAGCTTTAGGAAAAC
ATGATCGCGTTGT

>Oxf_gltA_1
GATCCTGGTTTTATGGCGACAGCTTCATGCGAGTCTAAAATCACATTTATCGATGGTGA
CAAAGGTATTTTATTACACCGCGGTTACCCGATTGACCAGTTAGCGACTCAAGCAGAC
TACCTTGAACTTGTTATTTATTATTAATGGCGAGTTACCAACTGCTGAACAAAAAGT
TGAGTTCGATGCGAAAGTTCGTGCTCATACTATGGTTCATGATCAAGTTAGCCGTTTCT
TCAATGGTTTCCGTCGTGATGCTCACCTATGGCAATCATGGTTGGTGTAGTAGGCCGA
TTATCTGCTTTCTATCACAACAACCTTGACATTGAAGACATCAACCACCGCGAAATTAC
TGCGATTTCGTTTGATTGCTAAAATTCCAACGCTTGCTGCTTGGAGCTACAAATATACTG
TAGGTCAGCCATTCATCTATCCACGTAATGACTTAAATTACGCGGAAAACCTTCTTACAC
ATGATGTTTGCAA

>Oxf_gdhB_227
AGAGTAAATCCTGAATCTGGTAGCGCGAAAACAGTATTTTCAGGTTCCCTGAAATTGTGA
GTGATGCTGATGGGCAAAATGGTTTGTAGGCTTTGCTTTTCATCCTGACTTTAAACAT
AACCTTATATCTATATTTTCAGGCACTTTTAAAAATCCAAAATCTACAGATAAAGAGTT
ACCTAATCAGACAATTATTCGTAGATATACCTATAACAAAACCTACAGATACATTTGAA
AAGCCTATTGATTTGATTGCAGGTTTACCGTCATCAAAAGACCATCAGTCTGGTCGTCT
TGTCATTGGTCCAGACCAAAAAATCTACTATACGATTGGTGACCAAGGCCG

>Oxf_rpoD_3
TGGCCAAATGCTGTTGAAGTTGTATTAAGAATATAATGATTTTTTAACTGGCGAAC
GCCGTCTTGCCGATATCTTATCTGGTTATTTAGACCCTGAAACTGACGAAGATATTCCT
GAAGTTTTAGAAGATGTTGAAGAGCTTGAGGAAGAAGACGAATCATCTACAAAGTCA
ACGAAAGAAGTTAAGCTTGATGATGACGATGAAGAAGAAGAGTCTGAAGGTGATGAT
GATTCTGAAGGTGATTCAGGTCCAGACCCTGAAGTTGCAAAAGTTTCGTTTTGCTGAATT
AGAAGCTGCATGGGCTCAAACCTAAAGCTGTCATCGAAAAACATGGCCGTAATAGCCCT
GAAGCAAATGAAGCTCTTGAGTCTTTAGCAACTGTATTTATGATGTTTTAAATTTACTCC
ACGTTTATTTGACATCATTTACAGAAATGATTCGCGGAACTCATGAACAAATTCGTGCC
AATGAACGTGAAATTATGCGTTATGCAGTACGTCGTGGCCGTATGGAC

```

Şekil 3.4. *A. baumannii* A73 Suşu MLST Profil Gen Sıraları

```
>Oxf_cpn60_2
ATGAACCCAATGGATTTAAAACGCGGTATCGACATTGCAGTAAAACTGTAGTTGAAA
ATATCCGTTCTATTGCTAAACCAGCTGATGATTTCAAAGCAATTGAACAAGTAGGTTC
AATCTCTGCTAACTCTGATACTACTGTTGGTAACTTATTGCTCAAGCAATGGAAAAA
GTAGGTAAAGAAGGCGTAATCACTGTAGAAGAAGGCTCAGGCTTCGAAGACGCATTA
GACGTTGTAGAAGGTATGCAGTTTGACCGTGGTTATATCTCTCCGTACTTTGCAAACAA
ACAAGATACTTTAACTGCTGAACTTGAAAATCCGTTTCATCCTTCTTGTGATAAAAAAA
TCAGCAACATTCGTGAATTGATTTCTGTTTTAGAAAGCAGTTGCTAAAACCTGGTAAACCA
CTTCTTATCATCG
```

Şekil 3.4. (Devamı)

Tablo 3.3. *A. baumannii* A73 MLST Klonal Alt Tipleri

| Pasteur<br>ST | cpn60 | fusA | gltA | pyrG | recA | rplB | rpoB |
|---------------|-------|------|------|------|------|------|------|
| ST2           | 2     | 2    | 2    | 2    | 2    | 2    | 2    |

| Oxford<br>ST | gltA | gyrB | gdhB | recA | cpn60 | gpi | rpoD |
|--------------|------|------|------|------|-------|-----|------|
| ST2121       | 1    | 3    | 227  | 2    | 2     | 102 | 3    |

### 3.5. Virülans Genlerinin Belirlenmesi

İzolatın tam genomu dizilenmesi yapıldıktan sonra virülans faktörü genleri VFDB programı kullanılarak belirlendi. Elde edilen verilere göre, izolatın *bap*, *bas* (*basA*, *basB*, *basC*, *basD*, *basG*, *basJ*, *basF*, *basH*, *basI*), *csu* (*csuA*, *csuB*, *csuC*, *csuD*, *csuE*, *csuA* / *csuB*), *bau* (*bauA*, *bauB*, *bauC*, *bauD*, *bauE*, *bauF*), *plc* (*plc*, *plcD*), *pga* (*pgaA*, *pgaB*, *pgaC*, *pgaD*), *entE*, *bar* (*bara*, *barB*), *ompA*, *pil* (*pilT2*, *pilE*, *pilA*, *pilF*, *pilT*, *pilE* / *A*, *pilU*, *pilB*), *aba* (*abaR*, *abaI*), *cvaC*, *fim* (*fimA*, *fimT*, *fiD*), *bfmR*, *bfmS* virülans genlerini taşıdığı tespit edilmiştir (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. *A. baumannii* A73 Suşunda Tespit Edilen Virulans Faktör Genleri

| <i>Virulans faktor genleri</i> |              |             |             |             |             |               |             |             |             |
|--------------------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------|-------------|-------------|-------------|
| <i>cvaC</i>                    |              |             |             |             |             |               |             |             |             |
| <i>Bap</i>                     |              |             |             |             |             |               |             |             |             |
| <i>bfmR</i>                    | <i>bfmS</i>  |             |             |             |             |               |             |             |             |
| <i>bas</i>                     | <i>basA</i>  | <i>basB</i> | <i>basC</i> | <i>basD</i> | <i>basf</i> | <i>basG</i>   | <i>basH</i> | <i>basI</i> | <i>basJ</i> |
| <i>csu</i>                     | <i>csuA</i>  | <i>csuB</i> | <i>csuC</i> | <i>csuD</i> | <i>csuE</i> |               |             |             |             |
| <i>bau</i>                     | <i>bauA</i>  | <i>bauB</i> | <i>bauC</i> | <i>bauD</i> | <i>bauE</i> | <i>bauF</i>   |             |             |             |
| <i>pga</i>                     | <i>pgaA</i>  | <i>pgaB</i> | <i>pgaC</i> | <i>pgaD</i> |             |               |             |             |             |
| <i>entE</i>                    |              |             |             |             |             |               |             |             |             |
| <i>bar</i>                     | <i>barA</i>  | <i>barB</i> |             |             |             |               |             |             |             |
| <i>aba</i>                     | <i>abaI</i>  | <i>abaR</i> |             |             |             |               |             |             |             |
| <i>omp</i>                     | <i>ompA</i>  |             |             |             |             |               |             |             |             |
| <i>plc</i>                     | <i>plc</i>   | <i>PlcD</i> |             |             |             |               |             |             |             |
| <i>pil</i>                     | <i>pilT2</i> | <i>pilE</i> | <i>pilA</i> | <i>pilF</i> | <i>pilT</i> | <i>pilE/A</i> | <i>pilU</i> | <i>pilB</i> |             |
| <i>Fim</i>                     | <i>FimA</i>  | <i>FimT</i> | <i>fimD</i> |             |             |               |             |             |             |

### 3.6. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile İmipenem ve Levofloksasin Minimum İnhibitör Konsantrasyonlarının (MİK) Belirlenmesi

İmipenem ve levofloksasin MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre imipenemin ve levofloksasinin MİK değerlerinin 64 µg/mL olduğu tespit edilmiştir.

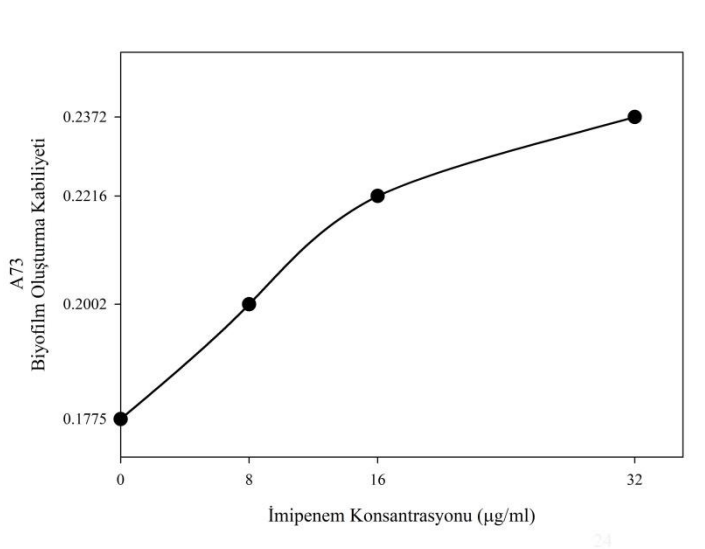
### 3.7. Biyofilm Oluşumunun Kantitatif Olarak Belirlenmesi

*A.baumannii'* nin virülansla ilgili en önemli özelliklerinden biri biyofilm oluşturma yeteneğidir. Bu nedenle, izolatın biyofilm oluşturma kapasitesini ölçüldü. İzolatın biyofilm oluşturabilme kabiliyetinin olduğu görüldü. Biyofilm oluşturmalarının kantitatif değerinin OD<sub>620</sub> de üç tekrarlı okuma ile elde edilen ortalama değer 0.1775 olduğu tespit edildi. Negatif kontrolün üç tekrarlı ile okuma sonucu elde edilen değerin 0, 0450 olduğu görülmüştür. Bu sonuç doğrultusunda suşun orta derecede biyofilm oluşturduğu tespit

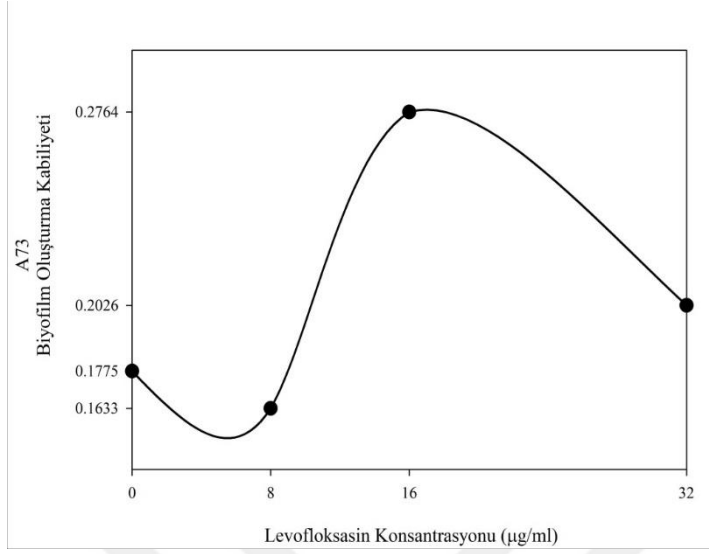
edilmiştir. Şekil 3.5 ve Şekil 3.6, antibiyotiklerin yokluğunda (0 µg/mL) ve 1/8, 1/4 ve 1/2 MİK'lerde imipenem ve levofloksasin varlığında suşun biyofilm oluşum profilini göstermektedir.

### 3.8. Antibiyotik ile İndüklenmiş Biyofilm Oluşumu

Suş için, imipenem varlığında biyofilm oluşturma kapasitesi önemli ölçüde artmıştır, 32µg/mL (MİK'in 1/2) konsantrasyonunda en yüksek biyofilm indüksiyonunun olduğu tespit edilmiştir (yaklaşık 1,5 kat). Yine imipenemin ¼ (OD<sub>620</sub> değeri 0.2216) ve 1/8\*Mik (OD<sub>620</sub> değeri 0.2002) konsantrasyonunda antibiyotiksiz biyofilm oluşumuna göre suşun biyofilm oluşturma kabiliyetinin arttığı görülmektedir (Şekil 3.5). Levofloksasin konsantrasyonu 32 µg/mL de 0,2026, 16 µg/mL de 0,2764 ve 8 µg/mL de 0,1633 olarak kantitatif biyofilm oluşum değerleri gözlemlendi. 16 µg/mL (MİK'in 1/4'ü) konsantrasyonlarında levoflaksasin varlığında suşta 1,66 kat artışla sonuçlanan biyofilm oluşumunda önemli bir indüksiyon görülmüştür. 8 µg/mL levofloksasin konsantrasyonunda ise suşun biyofilm oluşturma kabiliyetinde düşüş olduğu görülmüştür (Şekil 3.6). Bu sonuçlara göre biyofilim oluşumun en çok indüklenmesi 16 µg/mL de levofloksasin konsatrasyonunda olmuştur. *A. baumannii*' nin biyofilm oluşumu, levofloksasin ve imipenem varlığında önemli ölçüde indüklenmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, orta derecede biyofilm oluşturma kabiliyeti olan suşun hem imipenem hem de levofloksasin varlığında güçlü bir şekilde biyofilm oluşturma kabiliyetinin olduğu tespit edilmiştir.



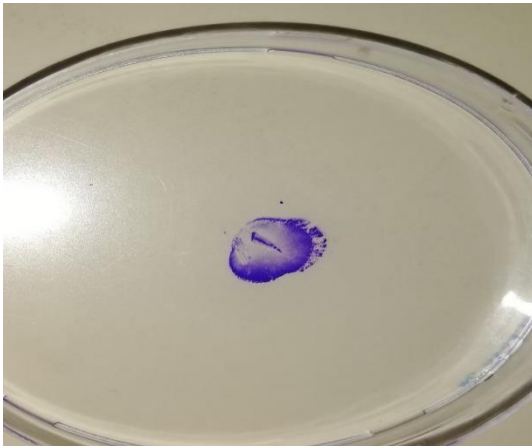
Şekil 3.5. İmipenem Konsantrasyonuna Göre Biyofilm Oluşumu



Şekil 3.6. Levofloksasin Konsantrasyonuna Göre Biyofilm Oluşumu

### 3.9. Motilitenin Belirlenmesi

*A. baumannii* seğirme motilitesi, hücrenin petri kaplarına yayılma kabiliyetine dayanılarak analiz edildi. Seğirme bölgesi çapı <5 mm ise, izolat seğirme negatif olarak kabul edildi. 5 ila 20 mm arasında bir seğirme bölgesi çapı ara olarak kabul edilirken, > 20 mm seğirme bölgesi oldukça hareketli izolat olarak kabul edilir. Şekil 3.7'de, izolatın ortalama 16,6 mm çapında bir hareket alanı sergilediği görülmektedir.



Şekil 3.7. Motilite deneyi.

#### 4. TARTIŞMA

*A. baumannii*, dünya çapında çeşitli enfeksiyonlara neden olan fırsatçı bir hastane patojenidir. Çoklu ilaç direnci gelişimi ve virülans belirleyicilerinin üretimi nedeniyle yüksek morbidite ve mortaliteye yol açmaktadırlar (Liu F. vd., 2014). *A. baumannii*' nin neden olduğu enfeksiyon semptomlarının virülans faktörü ile yakından ilişkili olduğu bilinmesine rağmen, virülans genlerinin klinik *A. baumannii*' deki dağılımı nadiren bildirilmiştir.

Klinik enfeksiyonlarında *A. baumannii* suşlarının en önemli virülans genlerinden biri kolisin V üretimidir (*cvaC*). Bu çalışmada *A. baumannii* izolatının *cvaC* geni taşıdığı tespit edilmiştir. Momtaz ve arkadaşları hastane enfeksiyonlarından izole edilen *A. baumannii*' deki virülans genlerinin araştırılması üzerine bir çalışma yapmışlardır. Yaptıkları çalışmada çeşitli örneklerden *A. baumannii* izole etmişlerdir. *cvaC* geninin en yüksek, kan örneklerinden izole edilen *A. baumannii*' lerde olduğu görülmüştür. İdrar ve beyin omurilik sıvısından izole edilen suşların hiçbirinde *cvaC* genine rastlamamışlardır (Momtaz vd., 2015). Yapılan başka bir çalışmada *cvaC* geninin idrar örneklerinden izole edilen *A. baumannii*' de yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir (Darvishi, 2016).

Biyofilm ile ilgili genlerin varlığının (*bap*, *ompA*, *csuE*, *fimH*, *epsA*, *bla<sub>PER-1</sub>*, *bfmS*, *ptk*, *pgaB*, *csgA* ve *kpsMII*) PZR kullanılarak araştırıldığı bir çalışmada, en yaygın gen *csuE* (%100), ardından *pgaB* (%98), *epsA* ve *ptk* (%95), *bfmS* (%92) ve *ompA* (%81) bulunmuştur (Zeighami vd., 2019). Biyofilm *A. baumannii*' nin önemli bir virülans faktörüdür. Loehfelm ve arkadaşları gelişme ve adezyonun Bap ailesi proteinleri (kodlanmış gen *bap*) ile yakından ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Liu vd., 2018). ÇİD *A. baumannii*' nin nozokomiyal enfeksiyonlarda artan önemine rağmen, *A. baumannii* patogeneğinde insan enfeksiyonları için virülans faktörlerinin rolü ve mekanizması büyük ölçüde belirsizliğini korumaktadır. Dünya genelinde olduğu gibi Türkiye'de de *A.baumannii* virulans genlerinin araştırılmasına yönelik kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. 2020 yılında Türkiye'de *csgA*, *csuE*, *fimH*, *ompA* ve *bla<sub>PER-1</sub>* virülans genlerinin varlığı PCR ile araştırılmıştır. Çalışılan izolatların %60'nın biyofilm oluşturduğunu tespit etmişlerdir. PCR ile araştırılan virulans faktör genlerinin (*ompA*, *csuE*, *fimH* ve *csgA*) sırasıyla %71.2, %32.1, %21.8, %7.1 oranda izolatlarda

belirlemişlerdir. Çalışmada yüksek oranda virülans gen varlığı saptamışlar ve bu izolatlarda virülans ile biyofilm yapımının ilişkili olabileceğini sırasıyla *csgA*, *ompA* ve *csuE* gen varlıklarının izolatlardaki biyofilm oluşumunda katkılarının olduğunu, *fimH* geninin ise biyofilm yapımıyla ilişkili olmadığını göstermişlerdir (Altınok vd., 2020).

Tam genom dizileme ile virülans genlerinin belirlendiği bir çalışmada *A. baumannii*'nin, *adeG*, *csuD*, *bap*, *lpsB*, *lpxA*, *lpxB*, *lpxC*, *lpxD*, *lpxL*, *barAB*, *basA*, *basB*, *basD*, *bauA*, *entE*, *hemO*, *pbpG*, *plcC* ve *abaI*, *abaR*, *bfmRS* virülans determinatlarını taşıdığı tespit edilmiştir (Silva vd., 2018). Yine tam genom dizileme ile yapılan başka bir çalışmada ClpP (ATP'ye bağlı Clp proteaz proteolitik alt birimi), aldA (aldehit dehidrojenaz), xcpR (genel salgı yolu protein E), ureA (üreaz alfa alt birimi), tviB (Vi polisakkarit biyosentez proteini), pilG (seğirme hareketlilik proteini) homologları pilH (seğirme motilite proteini), htpB (60 K ısı şok proteini), sodB (süperoksit dismutaz) ve manB (fosfomannomutaz) *A. baumannii* suşlarının tamamında mevcut olduğu görülmüştür (Liu F. vd., 2014). Bu çalışmada ÇİD *A. baumannii*'nin tam genom dizelemesi ile (*basA*, *basB*, *basC*, *basD*, *basG*, *basJ*, *basF*, *basH*, *basI*), *csu* (*csuA*, *csuB*, *csuC*, *csuD*, *csuE*, *csuA / csuB*), *bau* (*bauA*, *bauB*, *bauC*, *bauD*, *bauE*, *bauF*), *plc* (*plc*, *plcD*), *pga* (*pgaA*, *pgaB*, *pgaC*, *pgaD*), *entE*, *bar* (*bara*, *barB*), *ompA*, *pil* (*pilT2*, *pilE*, *pilA*, *pilF*, *pilT*, *pilE / A*, *pilU*, *pilB*), *aba* (*abaR*, *abaI*), *cvaC*, *fim* (*fimA*, *fimT*, *fiD*), *bfmR*, *bfmS* virülans genlerini taşıdığı tespit edilmiştir. Çeşitli raporlar, *csuE*, *ompA*, *bap*, *epsA*, *bfmS* dahil olmak üzere *A. baumannii*'nin biyofilm ile ilgili genlerinin biyofilm gelişiminden ve antibiyotik direncinden sorumlu olduğunu göstermiştir (Zeighami vd., 2019). Ayrıca, PgaABCD genleri *A. baumannii*'de biyofilm oluşumu için önemli yapılardır. *Acinetobacter spp.* klinik izolatları arasında biyofilm oluşumunun çekirdek algılama sistemi (*abaI*, *abaR*) molekülünün kontrolü altında olduğu bulunmuştur. İlaç direnci ile *abaR*'nin *A. baumannii*'nin biyofilm oluşumu üzerindeki etkisi araştırılmış ve *A. baumannii*'deki *abaR*'ın biyofilm oluşumu ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Eze vd., 2018). PCR metodu daha ucuz ve kullanışlı bir metot olsada bir veya birkaç genin varlığını tespit etmek için uygundur. WGS ise pahalı bir metot olmasının yanı sıra, bir suşun tüm DNA dizisinin ortaya çıkarılması sayesinde taşıdığı genleri daha net bir şekilde tespit etme imkânı sağlamaktadır.

Bu çalışmada ÇİD *A. baumannii* A73'ün hareket etme yeteneği araştırılmış olup, suşun orta seviyede hareket etme özelliğinin olduğu tespit edilmiştir. Türkiye' de Eraç ve arkadaşları 2014 yılında 65 *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturma, seçirme ve yayılma

hareketlerinin de incelendiği çalışmada 1 suşun seğirme, 7 suşun ise yayılma hareketinin olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada suşların 12 güçlü, 3 orta, 1 tanesinin ise zayıf biyofilm oluşturma yeteneğinin olduğunu tespit etmişlerdir (Eraç vd., 2014).

Yapılan bir çalışma da biyofilm indüklenabilirliğini değerlendirmek için *A. baumannii* ABR2, ABR11 ve ABS17 olarak adlandırılan üç temsilci suş kullanılmıştır. Bu suşların biyofilm indüklenmesi meropenem ve levofloksasinin konsantrasyonu 1/8, 1/4 ve 1/2 \*MİK'lerde yapılarak değerlendirilmiştir. Antibiyotik yokluğunda, biyofilm oluşturmada en büyük kabiliyetin ABS17 suşunda, ardından ABR11 ve ABR2'de olduğunu gözlemlemişlerdir. ABR2 suşu için, biyofilm oluşturma kapasitesi levofloksasin varlığında önemli ölçüde arttığı gösterilmiş, 2 µg/mL (MİK'nin 1/2) konsantrasyonunda en yüksek biyofilm indüksiyonunu (2,51 kat) tespit etmişlerdir. ABR11 suşu için biyofilm oluşumu levofloksasin varlığında, 2 µg/mL (MİK'nin 1/4) konsantrasyonunda önemli bir artışla indüklendiği görülmüştür. Biyofilmin indüksiyonu meropenem varlığında ABR2 suşunda açık bir şekilde saptayamamışlardır ki 32 µg/mL (1/2 MİK) meropenem konsantrasyon varlığında biyofilm oluşumunun önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. 8 µg/mL (MİK 1/8) ve 16 µg/mL (MİK 1/4) konsantrasyonlarında meropenem varlığında 2.12 ve 2,43 kat artışla ABR11 suşunda önemli bir biyofilm oluşumu indüksiyonunu göstermişlerdir. *A. baumannii* ABS17'nin biyofilm oluşumu, hem levofloksasin hemde meropenem varlığında önemli ölçüde indüklendiğini bildirmişlerdir; 0.06 µg/mL levofloksasin konsantrasyonda (MİK 1/4) 6.24 kat artış ve 0.06 µg/mL meropenem varlığında (1/8 MİK) 4.41 kat artışla bu suşta en fazla biyofilm oluşumunu göstermişlerdir (He vd., 2015). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde *A. baumannii* A73'ün karbapenem grubu antibiyotiklerden olan imipenem ve florokinolon grubundan olan levofloksasin varlığında biyofilim oluşumunun indüklendiği tespit edilmiştir. En yüksek biyofilm indüklenmesi 16 µg/mL (1/4 MİK) levofloksasin konsantrasyonunda belirlenmiştir. Bu sonuç *A. baumannii* tarafından oluşturulan biyofilmlere karşı antibiyotik tedavisi seçiminden önce moleküler epidemiyolojinin önemine ışık tutmaktadır.

Bugüne kadar yapılan çalışmalar, *A. baumannii* izolatındaki en önemli virülans genlerinin varlığının klinik önemleri ile tutarlı olduğunu bulmuş ve ayrıca hepsinin potansiyel biyofilm üreticileri olduğunu doğrulamıştır. Biyofilm oluşumu, antimikrobiyal direnç ve kuruma direnci, birbiriyle ilişkili önemli faktörlerdir. Biyofilm oluşumu antibiyotik direnci geliştirmede önemli bir virülans faktörü olmakla birlikte, kolistin gibi

katyonik polipeptitlere karşı direncin kuruma toleransına aracılık ettiği ve arttırdığı bilinmektedir (Lee vd., 2008; Boll vd., 2015). Tüm bunlara dayanarak, virülans faktörleri, biyofilm oluşumu ve antibiyotik direnci arasındaki ilişkinin araştırılması *A. baumannii* ile ilgili sorunların ortadan kaldırılmasında önemli bir araç olacağı düşünülmektedir.

OXA tipi karbapenemazlar, *A. baumannii*' deki karbapenem direncinin ana mekanizmalarından biridir (Lopes vd., 2012; Lukovic, 2020). *A. baumannii*' nin beş OXA karbapenemaz ailesi vardır (de Souza Gusatti vd., 2012). OXA-23 benzeri enzimlerin varlığı, *A. baumannii*' deki en yaygın karbapenem direnç mekanizmalarından biridir. Bu çalışmada, *A. baumannii*' de hem OXA-23 hem de OXA-66 tip D sınıfı beta laktamazlar tespit edildi. Bildiğimiz kadarıyla, bu çalışmada OXA-66 Türkiye'de ilk kez *A. baumannii* klinik izolatında rapor edilmiştir. TEM gibi OXA ve ESBL genlerinin varlığı hemen hemen tüm beta-laktam antibiyotiklere direnç sağlar (Sharif vd., 2014). Bu çalışmada *A. baumannii*' nin beta-laktamaz tip TEM-1 taşıdığı belirlendi. Hem OXA hem de TEM tipi beta laktamaz taşıyan suşun karbapenemlere direnç gösterdiği görülmektedir. Suşun ADC tipi ampC ürettiği tespit edildi. Çin'de *A. baumannii*' de AmpC  $\beta$ -laktamazların yaygınlığını ve ilgili ilaç direncini belirlemek için bir çalışma yapıldı ve *A. baumannii* suşlarındaki çoğu geniş spektrumlu  $\beta$ -laktam antibiyotiğe direncin ADC tipi ampC ile ilişkili olabileceğini gösterdi. (Liu vd., 2015).

Eflux pompaları, Gram-negatif bakterilerde çoklu ilaç direncine katkıda bulunur. *A. baumannii*' de, dört akış pompası kategorisi RND, MF, MATE, SMR taşıyıcı ailesi antimikrobiyal direnç ile ilişkilidir (Farlow vd., 2019). Birçok çalışma, AdeABC'nin aşırı ekspresyonunun ve mutasyonların, *A. baumannii* izolatlarında çoklu ilaç direnci için önemli bir mekanizma sağladığını göstermiştir (Jassim vd., 2016). *bla<sub>OXA</sub>* ve AdeABC genleri arasındaki iş birliği, *A. baumannii* izolatlarında yüksek karbapenem direncine neden olabilir. Bazı çalışmalar, adeFGH operonunun kısmen antimikrobiyal ajana dirençle ilişkili olabileceğini göstermiştir. AdeFGH eflux pompası muhtemelen *A. baumannii*' deki florokinolonlara dirence aracılık etmektedir. Çalışmamızda izolatın florokinolonlara karşı yüksek direnç gösterdiği görülmüştür. Bazı araştırmacılar, AdeG'in aşırı ekspresyonu ile siprofloksasin direncindeki artış arasında bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Mobasser vd., 2018). Çalışmalar, AdeG'in aşırı ekspresyonunun *A. baumannii* patojenitesi ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. *A. baumannii*' de bulunan bir başka pompa da AdeIJK pompasıdır. Bu pompa beta-laktamlar, kloramfenikol, florokinolonlar, rifampin, trimetoprim gibi çeşitli

antibiyotik gruplarını dışarı akıtır. Araştırmacılar, *A. baumannii*' deki AdeIJK kaybının antibiyotik duyarlılık profilleri üzerinde bir etkisi olduğunu göstermiştir (Knight vd., 2018). Küçük çoklu ilaç direnci (SMR) ailesi, RND akış pompası ailesi gibi bir ilaç direnci belirleyicisidir. *Escherichia coli*'nin EmrE proteini, SMR ailesinin iyi bilinen bir üyesidir ve toksik bileşiklere karşı dirence katkıda bulunur (Li X.Z. vd., 2003). Bu çalışmada *A. baumannii*' de EmrA/B, EmrE, adeABC, adeFGH ve adeIJK akış pompaları tespit edilmiştir.

GyrA, gyrB, parC ve parE genlerindeki mutasyonlar sıklıkla *A. baumannii*' de tanımlanır ve bunlar yüksek düzeyde florokinolon direnci sağlar. Çalışmalar, GyrA'daki Ser83Leu'nun amino asit değişikliğinin siprofloksasin ve nalidiksik aside yüksek dirence neden olduğunu göstermiştir (Liu Y.H. vd., 2012). Bu çalışmada, gyrA geninde yeni bir mutasyon tespit edildi (Met638Leu). Bu mutasyon, izolatın yüksek florokinolon direncinin nedenlerinden biri olarak gösterilebilir.

Daha önce, Türkiye dahil Akdeniz ülkelerinde *A. baumannii*' de ST2 klonu rapor edilmişti (Nawfal vd., 2019; Abhari vd., 2019). ST2 klonunun OXA-23 karbapenemaz üretimi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Dagher vd. izolatların Lübnan'da en yaygın ST2 klonuna sahip olduğunu göstermiştir (Nawfal vd., 2019). SENTRY Antimikrobiyal Gözetim Programı tarafından Çin, Hong Kong, Hindistan, Kore, Singapur ve Tayland'da yapılan bir araştırma, OXA-23 üreten yüksek bir *A. baumannii* dağılımının olduğunu gösterdi. Farklı ülkelerde benzer sonuçların elde edilmesi gerçeği, dünya çapında salgınların uluslararası I ve II klonlarının yayılmasıyla ilgilidir. Ayrıca Türkiye gibi Akdeniz ülkelerinde *A. baumannii* salgınları özellikle ST2 suşlarının yayılmasından kaynaklanmıştır (Nawfal vd., 2019). Oxford şemasına göre, ST218 gibi ST'ler, antimikrobiyal direncin yayılmasından sorumludur. *A. baumannii*' nin klinik izolatlarındaki ST218 klonları Türkiye'de henüz rapor edilmemiştir. Bugüne kadar, ST218 klonu Danimarka, Japonya, Çin ve Tayvan'daki *A. baumannii* izolatlarında rapor edilmiştir (Wang vd., 2013; Liu vd., 2019). Bu çalışmada ST218 klonuna benzer Yeni ST2121 klonu tespit edilmiş ve Türkiye'de ilk olarak *A. baumannii* izolatında rapor edilmiştir (Çimen ve Özad Düzgün, 2021).

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Biyofilm oluşumu, antimikrobiyal direnç ve kuruma direnci birbiriyle ilişkili önemli faktörlerdir (Ranjbar ve Farahani, 2019). Biyofilm oluşumu antibiyotik direncinin gelişmesinde önemli bir virülans faktörü iken, kolistin gibi katyonik polipeptidlere direncin kuruma toleransına aracılık ettiği ve onu arttırdığı bilinmektedir (Boll vd., 2015). Tüm bunlardan yola çıkarak, virülans faktörleri, biyofilm oluşumu ve antibiyotik direnci arasındaki ilişkinin araştırılması ve analiz edilmesi, *A. baumannii* ile ilgili sorunların giderilmesinde önemli bir araç olacaktır.

Sonuç olarak, izole *A. baumannii*' de çoklu ilaç direncinin nedeni araştırıldı. Bu çalışmada *gyrA* genindeki yeni amino asit değişiklikleri WGS ile belirlendi. Yeni bir ST<sub>Oxf</sub>, ST2121, klonu da tespit edildi ve araştırıldı. Ayrıca *bla*<sub>OXA-66</sub> genini barındıran ST2Pas/ST2121 suşu Türkiye'de ilk kez *A. baumannii*' de bildirildi.

*A. baumannii*, dünya çapında sorunlu bir yoğun bakım patojeni haline gelmiştir. Her geçen gün MDR, WDR ve PDR suşları artış göstermektedir. Bu durum, yoğun bakım hastaları, polikliniklerde yatan hastalar ve trajik olarak sağlıklı insanlar için tehlike arz etmekte ve halk sağlığı problemi olarak kabul görmektedir. Dünya çapında önemi fark edilmiş olup araştırılrsa da, Türkiye'de literatür açısından fazlaca eksik bulunmaktadır. *A. baumannii* kaynaklı sağlık problemleri ile başa çıkmak için epidemiyolojisinin araştırılması, tam genom dizilemesi ile sahip olduğu kritik genlerin ortaya çıkarılması önem arz etmektedir. Yapılacak olan çalışmaların ivedilikle yapılması ise kritik önem taşımaktadır.

Bu çalışma, Türkiye'deki *A. baumannii* profilini oluşturmak için bir adım sayılabilir ve sonradan yapılacak çalışmalar için yol gösterici olabilir. Bu kapsamda gelecekte yapılacak olan detaylı çalışmalar, literatür için önem arz etmektedir. Daha detaylı ve kapsamlı literatür bilgisi ile, *A. baumannii* ile verilen savaşta üstün konumda olmak öngörülebilir bir durum olabilir.

## 6. KAYNAKLAR

- US News World Report, 1998. Alexander Fleming medicine's accidental hero, 58–63.
- Abhari, S.S., Badmasti, F., Modiri, L., Aslani, M.M. and Asmar, M., 2019. Circulation of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ST10, ST2 and ST3 in a university teaching hospital from Tehran, Iran, J Med Microbiol., 68, 860-865.
- Ahmad, T. A., Tawfik, D. M., Sheweita, S. A., Haroun, M. and El-Sayed, L. H., 2016. Development of immunization trials against *Acinetobacter baumannii*, Trials Vaccinol., 5, 53–60.
- Akkan G., 2 - 3 Mayıs 1997. Antibiyotiklerin Sınıflandırmaları, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Pratikte Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu, İstanbul, 53-62.
- Al Atrouni, A., Joly-Guillou, M-L., Hamze, M. and Kempf, M., 2016. Reservoirs of non-*baumannii* *acinetobacter* species, Front Microbiol., 7, 49.
- Al-Agamy, M. H., Jeannot, K., El-Mahdy, T. S., Shibl, A. M., Kattan, W., Plesiat, P., et al., 2016. First Detection of GES-5 Carbapenemase-Producing *Acinetobacter baumannii* Isolate, Microb. Drug Resist., 23, 5, 556-562.
- Alanis, A. J., 2005. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era?, Archives of medical research, 36, 6, 697-705.
- AL-Harmoosh, R.A., Jarallah, E.M. and AL-Shamari, A.M., 2016. Coexistence of the *blaIMP* and *blaSIM* Genes in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii* In Babylon Hospitals-Iraq, International Journal of PharmTech Research, 9, 7, 257-264.
- Aljanaby, A. A. J., and Aljanaby, I. A. J. 2018. Prevalence of aerobic pathogenic bacteria isolated from patients with burn infection and their antimicrobial susceptibility patterns in Al-Najaf City, Iraq-a three-year cross-sectional study. F1000Research, 7(1157), 1157.
- Almasaudi SB., 2018. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology and resistance features. Saudi J Biol Sci., 25, 3, 586–596.
- Altınok, Ö., Boral, B., Ergin, A. and Eser, Ö.K., 2020. Çok İlaça Dirençli İnvaziv *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Biyofilm ve Biyofilm İlişkili Virülans Genlerinin Varlığı, Mikrobiyol Bul., 54, 1, 40-49.
- Andersson, D. I., Balaban, N. Q., Baquero, F., Courvalin, P., Glaser, P., Gophna, U., ... and Tønjum, T., 2020. Antibiotic resistance: turning evolutionary principles into clinical reality, FEMS Microbiology Reviews, 44, 2, 171-188.

- Ansari, H., Doosti, A., Kargar, M., Bijanzadeh, M. and Jaafarinia, M., 2018. Cloning of ompA gene from *Acinetobacter baumannii* into the eukaryotic expression vector pBudCE4.1 as DNA vaccine, Indian J. Microbiol., 58, 174–181.
- Antonoplis, A., Zang, X., Wegner, T., Wender, P. A. and Cegelski, L., 2019. Vancomycin arginine conjugate inhibits growth of carbapenem-resistant *E. coli* and targets cell-wall synthesis, ACS chemical biology, 14, 9, 2065–2070.
- Antunes, L. C., Imperi, F., Carattoli, A. and Visca, P., 2011a. Deciphering the multifactorial nature of *Acinetobacter baumannii* pathogenicity, PLoS ONE, 6, e22674.
- Antunes, L. C., Imperi, F., Towner, K. J. and Visca, P., 2011b. Genome-assisted identification of putative iron-utilization genes in *Acinetobacter baumannii* and their distribution among a genotypically diverse collection of clinical isolates, Res. Microbiol., 162, 279–284.
- Bansal, S., Bajaj, P., Pandey, S. and Tandon, V., 2017. Topoisomerases: Resistance versus sensitivity, how far we can go?, Medicinal research reviews, 37, 2, 404–438.
- Bassetti, M., Ginocchio, F. and Mikulska, M., 2011. New treatment options against gram-negative organisms, Crit Care, 15, 215.
- Baumann, P., Doudoroff, M. and Stanier, R.Y., 1968. A study of the Moraxella group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*), J Bacteriol., 95, 1520–41.
- Beceiro, A., Tomás, M. and Bou, G., 2013. Antimicrobial resistance and virulence: a successful or deleterious association in the bacterial world?, Clin. Microbiol. Rev., 26, 185–230.
- Beijerinck, M., 1911. Pigmenten als oxydatieproducten gevormd door bacterien. Versl. Koninklijke Akad. Wetensch. Amsterdam 19:1092–110.
- Bentancor, L. V., Camacho-Peiro, A., Bozkurt-Guzel, C., Pier, G. B. and Maira-Litrán, T., 2012a. Identification of Ata, a multifunctional trimeric autotransporter of *Acinetobacter baumannii*, J. Bacteriol., 194, 3950–3960.
- Bentancor, L. V., Routray, A., Bozkurt-Guzel, C., Camacho-Peiro, A., Pier, G. B. and Maira-Litrán, T., 2012b. Evaluation of the trimeric autotransporter Ata, as a vaccine candidate against *Acinetobacter baumannii* infections, Infect. Immun., 80, 3387–3388.
- Bergogne-Berezin, E. and Towner, K. J., 1996. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features, Clin. Microbiol Rev., 9, 148–165.
- Bhargava, N., Sharma, P. and Capalash, N., 2010. Quorum sensing in *Acinetobacter*: an emerging pathogen, Crit. Rev. Microbiol., 36, 349–360.
- Bitto, N. J., Chapman, R., Pidot, S., Costin, A., Lo, C., Choi, J., et al., 2017. Bacterial membrane vesicles transport their DNA cargo into host cells, Sci. Rep., 7, 7072.

- Bogaerts, P., Naas, T., El Garch, F., Cuzon, G., Deplano, A., Delaire, T., et al., 2010. GES extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Acinetobacter baumannii* isolates in Belgium, Antimicrob. Agents Chemother., 54, 4872–4878.
- Boll, J. M., Tucker, A. T., Klein, D. R., Beltran, A. M., Brodbelt, J. S., Davies, B. W., et al., 2015. Reinforcing lipid A acylation on the cell surface of *Acinetobacter baumannii* promotes cationic antimicrobial peptide resistance and desiccation survival, MBio, 6, e00478–e00415.
- Bou, G. and Martínez-Beltrán, J., 2000. Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*, Antimicrob. Agents Chemother., 44: 428-432.
- Bou, G., Cerveró, G., Domínguez, M.A., Quereda, C. and Martínez-Beltrán, J., 2000. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of beta-lactamases, J Clin Microbiol., 38, 3299-3305.
- Boucher, H.W., Talbot, G.H., Bradley, J.S., Edwards, J.E., Gilbert, D., Rice, L.B., et al., 2009. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America, Clin Infect Dis., 48, 1–12.
- Bouvet, J.M. and Grimont, P.A.D., 1986. Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov. *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov. *Acinetobacter johnsonii* sp. nov. and *Acinetobacter junii* sp. nov. and emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*, Int J Syst Bacteriol., 68, 228–40.
- Bouvet, P.J. and Grimont, P.A., 1987. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*, Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie, 138, 5, 569–578.
- Böhm, M. E., Razavi, M., Marathe, N. P., Flach, C. F. and Larsson, D. J., 2020. Discovery of a novel integron-borne aminoglycoside resistance gene present in clinical pathogens by screening environmental bacterial communities, Microbiome, 8, 1, 1-11.
- Breidenstein, E. B., de la Fuente-Núñez, C. and Hancock, R. E., 2011. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance, Trends in microbiology, 19, 8, 419-426.
- Breijyeh, Z., Jubeh, B. and Karaman, R., 2020. Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It, Molecules, 25, 6, 1340.
- Brisou, J. and Prevot, A. R., 1954. Studies on bacterial taxonomy. X. The revision of species under *Achromobacter* group, Ann. Inst. Pasteur Paris, 86, 6, 722–728.
- Brossard, K. A. and Campagnari, A. A., 2011. The *Acinetobacter baumannii* biofilm associated protein (Bap) plays a role in adherence to human epithelial cells, Infect. Immun., 80, 228–233.

- Brown, S., Young, H.K. and Amyes, S.G.B., 2005. Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of *Acinetobacter baumannii* from Argentina, Clin. Microbiol. Infect., 11, 15–23.
- Bush, K., Jacoby, G.A. and Medeiros, A.A., 1995. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure, Antimicrob. Agents Chemother., 39, 1211–1233.
- Butaye, P., Cloeckaert, A. and Schwarz, S., 2003 Mobile Genes Coding for Efflux-Mediated Antimicrobial Resistance in Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria, Int. J. Antimicrob. Agents, 22, 205–210.
- Capasso, C. and Supuran, C. T., 2019. Dihydropteroate synthase (sulfonamides) and dihydrofolate reductase inhibitors, Bacterial Resistance to Antibiotics From Molecules to Man, 163-172.
- Carruthers, M. D., Nicholson, P. A., Tracy, E. N. and Munson, R. S. Jr., 2013. *Acinetobacter baumannii* utilizes a type VI secretion system for bacterial competition, PLoS ONE, 8, e59388.
- Catel-Ferreira, M., Coadou, G., Molle, V., Mugnier, P., Nordmann, P., Siroy, A., Jouenne, T. and Dé, E., 2011. Structure-function relationships of CarO, the carbapenem resistance-associated outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii*, J Antimicrob Chemother, 66, 2053-2056.
- Cayo, R., Rodríguez, M. C., Espinal, P., Fernández-Cuenca, F., OcampoSosa, A. A., Pascual, A., Ayala, J. A., Vila, J. and Martínez-Martínez, L., 2011. Analysis of genes encoding for penicillin-binding proteins in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*, Antimicrob. Agents Chemother., 55, 5907–5913.
- Cerqueira, G. M., Kostoulas, X., Khoo, C., Aibinu, I., Qu, Y., Traven, A., et al., 2014. A global virulence regulator in *Acinetobacter baumannii* and its control of the phenylacetic acid catabolic pathway, J. Infect. Dis., 210, 46–55.
- Cerqueira, G.M. and Peleg, A.Y., 2011. Insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenicity, IUBMB Life, 63, 1055- 60.
- Chang, H. C., Wei, Y. F., Dijkshoorn, L., Vaneechoutte, M., Tang, C. T. and Chang, T. C., 2005. Species-level identification of isolates of the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex by sequence analysis of the 16S-23S rRNA gene spacer region, J. Clin. Microbiol., 43, 1632–1639.
- Chatterjee, S., Mondal, A., Mitra, S. and Basu, S., 2017. *Acinetobacter baumannii* transfers the *bla*NDM-1 gene via outer membrane vesicles, J. Antimicrob. Chemother., 72, 2201–2207.
- Chen, C.H., Young, T.G. and Huang, C.C., 2006. Predictive biomarkers for drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates with *bla*(TEM-1), AmpC-type bla and integrase 1 genotypes, J. Microbiol. Immunol. Infect., 39, 372-379.

- Chen, H., Cao, J., Zhou, C., Liu, H., Zhang, X. and Zhou, T., 2017. Biofilm Formation Restrained by Subinhibitory Concentrations of Tigecyclin in *Acinetobacter baumannii* Is Associated with Downregulation of Efflux Pumps, Chemotherapy, 62, 128–133.
- Chin, C. Y., Tipton, K. A., Farokhyfar, M., Burd, E. M., Weiss, D. S. and Rather, P. N., 2018. A high-frequency phenotypic switch links bacterial virulence and environmental survival in *Acinetobacter baumannii*, Nat. Microbiol., 3, 563–569.
- Choi, A. H. K., Slamti, L., Avci, F. Y., Pier, G. B. and Maira-Litrán, T., 2009. The pgaABCD locus of *Acinetobacter baumannii* encodes the production of poly- $\beta$ -1-6-N-acetylglucosamine, which is critical for biofilm formation, J. Bacteriol., 191, 5953–5963.
- Choi, C. H., Lee, E. Y., Lee, Y. C., Park, T. I., Kim, H. J., Hyun, S. H., Kim, S. A., Lee, S. K. and Lee, J. C., 2005. Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells, Cell. Microbiol., 7, 1127–1138.
- Chung, D.R., Song, J.H., Kim, S.H., Thamlikitkul, V., Huang, S.G., Wang, H., et al., 2011. High prevalence of multidrug-resistant nonfermenters in hospital-acquired pneumonia in Asia, Am J Respir Crit Care Med., 184, 1409–17.
- Cicek, C.A., Saral, A., Duzgun, A.O., Yasar, E., Cizmeci, Z., Balci, O.P., Sari, F., Firat, M., Altintop, Y.A., AK, S., Caliskan, A., Yildiz, N., Sancaktar, M., Budak, E.E., Erturk, A., Ozgumus, O.B. and Sandalli, C., 2013. Nationwide study of *Escherichia coli* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases TEM, SHV and CTX-M in Turkey, The Journal of antibiotics, 66,11, 647.
- Clemmer, K. M., Bonomo, R. A. and Rather, P. N., 2011. Genetic analysis of surface motility in *Acinetobacter baumannii*, Microbiology, 157, 2534–2544.
- Coculescu, B.I., 2009. Antimicrobial resistance induced by genetic changes, J Med Life, 2, 114– 123.
- Coelho, J.M., Turton, J.F., Kaufmann, M.E., et al., 2006. Occurrence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clones at multiple hospitals in London and southeast England, J Clin Microbiol., 44, 10, 3623-7.
- Corbin, B. D., Seeley, E. H., Raab, A., Feldmann, J., Miller, M. R., Torres, V. J., et al., 2008. Metal chelation and inhibition of bacterial growth in tissue abscesses, Science, 319, 962–965.
- Cornaglia, G., Giamarellou, H. and Rossolini, G.M., 2011. Metallo- $\beta$ -lactamases: a last frontier for  $\beta$ -lactams?, Lancet Infect Dis., 11: 381-393.
- Costerton, J., 1995. Overview of microbial biofilm, J. Ind. Microbiol., 15, 137–140.
- Coyne, S., Rosenfeld, N., Lambert, T., Courvalin, P. and P  richon, B., 2010. Overexpression of resistance-nodulation-cell division pump AdeFGH confers

- multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*, Antimicrob. Agents Chemother., 54, 4389–4393.
- Croxatto, A., Prod'hom, G. and Greub, G., 2012. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology, FEMS Microbiol. Rev., 36, 380–407.
- Çimen, M. and Özad Düzgün, A. 2021. Antibiotic induced biofilm formation of novel multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* ST2121 clone, Acta Microbiol Immunol Hung, 68, 2, 80-86.
- Damier-Piolle, L., Magnet, S., Brémont, S., Lambert, T. and Courvalin, P., 2008. AdeIJK, a resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*, Antimicrob. Agents Chemother., 52, 557–562.
- Darvishi, M., 2016. Virulence Factors Profile and Antimicrobial Resistance of *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Various Infections Recovered from Immunosuppressive Patients, Biomedical & Pharmacology Journal, 9, 3, 1057-1062.
- Das, B., Verma, J., Kumar, P., Ghosh, A. and Ramamurthy, T., 2020. Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae*: understanding the ecology of resistance genes and mechanisms, Vaccine, 38, A83- A92.
- de Breij, A., Gaddy, J., van der Meer, J., Koning, R., Koster, A., van den Broek, P., Actis, L., Nibbering, P. and Dijkshoorn, L., 2009. CsuA/BABCDE-dependent pili are not involved in the adherence of *Acinetobacter baumannii* ATCC19606(T) to human airway epithelial cells and their inflammatory response, Res. Microbiol., 160, 213–218.
- de Souza Gusatti, C., Bertholdo, L.M., Otton, L.M., Marchetti, D.P., Ferreira, A.E. and Corção, G., 2012. First occurrence of *bla*<sub>OXA-58</sub> in *Acinetobacter baumannii* isolated from a clinical sample in Southern Brazil, Braz J Microbiol., 43, 243-6.
- Demirdal, T., Sari, U.S. and Nemli, S.A., 2016. Is inhaled colistin beneficial in ventilator associated pneumonia or nosocomial pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii*?, Ann Clin Microbiol Antimicrob., 15, 1, 1–6.
- Dheda, K., Gumbo, T., Maartens, G., Dooley, K. E., McNerney, R., Murray, M., ... and Theron, G., 2017. The epidemiology, pathogenesis, transmission, diagnosis, and management of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and incurable tuberculosis, The lancet Respiratory medicine, 5, 4, 291-360.
- Diancourt, L., Passet, V., Nemec, A., Dijkshoorn, L. and Brisse, S., 2010. The population structure of *Acinetobacter baumannii*: expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool, PLoS One, 5, 10034.
- Dijkshoorn, L., Aucken, H., Gerner-Smidt, P., Janssen, P., Kaufmann, M. E., Garaizar, J., et al., 1996. Comparison of outbreak and nonoutbreak *Acinetobacter baumannii* strains by genotypic and phenotypic methods, J. Clin. Microbiol., 34, 1519–1525.
- Dixon, B.F., 1994. Power unseen: how microbes rule the world. BMJ, 309, 616.

- Donlan, R., 2002. Biofilms: microbial life on surfaces, Emerging Infect. Dis., 8, 881–890.
- Du, D., Wang-Kan, X., Neuberger, A., Van Veen, H. W., Pos, K. M., Piddock, L. J. V., et al., 2018. Multidrug efflux pumps: structure, function and regulation, Nat. Rev. Microbiol., 16, 523–539.
- Eijkelkamp, B. A., Stroehler, U. H., Hassan, K. A., Paulsen, I. T., and Brown, M. H., 2014. Comparative analysis of surface-exposed virulence factors of *Acinetobacter baumannii*, BMC Genomics, 15, 1020.
- Eijkelkamp, B. A., et al., 2013. H-NS plays a role in expression of *Acinetobacter baumannii* virulence features, Infect. Immun., 81, 2574–2583.
- Eijkelkamp, B. A., Hassan, K. A., Paulsen, I. T. and Brown, M. H., 2011a. Investigation of the human pathogen *Acinetobacter baumannii* under iron limiting conditions, BMC Genomics, 12, 126.
- Eijkelkamp, B. A., et al., 2011b Adherence and motility characteristics of clinical *Acinetobacter baumannii* isolates, FEMS Microbiol. Lett., 323, 44–51.
- Elhosseiny, N. M. and Attia, A. S., 2018. *Acinetobacter*: an emerging pathogen with a versatile secretome, Emerg. Microb. Infect., 7, 1–15.
- Eliopoulos, G.M., Maragakis, L.L. and Perl, T.M., 2008. *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Treatment Options, Clin Infect Dis, 46, 1254-1263.
- Eraç, B., Yılmaz, F.F., Hoşgör Limoncu, M., Oztürk, I. and Aydemir, S., 2014. Investigation of the virulence factors of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates, Mikrobiyol Bul., 48, 1, 70-81.
- Escudero, J. A., Loot, C. and Mazel, D., 2018. Integrins as adaptive devices. In *Molecular Mechanisms of Microbial Evolution*, Springer, 119,239.
- Espinal, P., Martí, S. and Vila, J., 2012. Effect of biofilm formation on the survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces, J. Hosp. Infect., 80, 56–60.
- Espinal, P., Roca, I. and Vila, J., 2011. Clinical impact and molecular basis of antimicrobial resistance in non-baumannii *Acinetobacter*, Future Microbiol., 6, 495–511.
- Etebu, E. and Arikekpar, I., 2016. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives, International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research (IJAMBR), 4, 90- 101.
- Evans, B.A., Hamouda, A. and Amyes, S.G., 2013. The rise of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. Curr Pharm Des., 19, 2, 223–238.
- Eze, E.C., Chenia, H.Y. and El Zowalaty, M.E., 2018. *Acinetobacter baumannii* biofilms: effects of physicochemical factors, virulence, antibiotic resistance determinants, gene

- regulation, and future antimicrobial treatments, Infect Drug Resist., 15, 11, 2277–2299.
- Farlow, J., Nozadze, M., Mitaishvili, N., Kotorashvili, A., Kotaria, N., Arobelidze, K et al., 2019. Comparative genomic analysis of four multidrug resistant strains of *Acinetobacter baumannii* from the country of Georgia, J Glob Antimicrob Resist., 21, 363–368. (2019).
- Fatahi-Bafghi, M., 2019. Antibiotic resistance genes in the Actinobacteria phylum, European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 38, 1599–1624.
- Feil, E.J., 2004. Small change: keeping pace with microevolution, Nat Rev Microbiol., 2, 483–495.
- Fernández-Cuenca, F., Martínez-Martínez, L., Conejo, M. C., Ayala, J. A., Perea, E. J. and Pascual, A., 2003. Relationship between  $\beta$ -lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*, J. Antimicrob. Chemother., 51, 565–574.
- Fiester, S. E., Arivett, B. A., Schmidt, R. E., Beckett, A. C., Ticak, T., Carrier, M. V., et al., 2016. Iron-regulated phospholipase C activity contributes to the cytolytic activity and virulence of *Acinetobacter baumannii*, PLoS One, 1, e0167068.
- Fitzsimons, T. C., Lewis, J. M., Wright, A., Kleifeld, O., Schittenhelm, R. B., Powell, D., et al., 2018. Identification of novel *Acinetobacter baumannii* type VI secretion system anti-bacterial effector and immunity pairs, Infect. Immun., 86, e00297-18.
- Fonseca, E. L., Scheidegger, E., Freitas, F. S., Cipriano, R. and Vicente, A. C., 2013. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Brazil: role of carO alleles expression and blaOXA-23 gene, BMC Microbiol., 13, 245.
- Fournier, P. E. and Richet, H., 2006. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities, Clin. Infect. Dis., 42, 692–699.
- Fournier, P.E., Vallenet, D., Barbe, V. et al., 2006. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*, PLoS Genet., 2, 62–72.
- Gaddy, J. A., et al., 2012. Role of acinetobactin-mediated iron acquisition functions in the interaction of *Acinetobacter baumannii* strain ATCC 19606T with human lung epithelial cells, *Galleria mellonella* caterpillars, and mice, Infect. Immun., 80, 1015–1024.
- Gaddy, J. A. and Actis, L. A., 2009. Regulation of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation, Future Microbiol., 4, 273–278.
- Gaddy, J. A., Tomaras, A. P. and Actis, L. A., 2009. The *Acinetobacter baumannii* 19606 OmpA protein plays a role in biofilm formation on abiotic surfaces and in the interaction of this pathogen with eukaryotic cells, Infect. Immun., 77, 3150–3160.

- Garcia-Garmendia, J. L., Ortiz-Leyba, C., Garnacho-Montero, J., Jimenez-Jimenez, F. J., Perez-Paredes, C., Barrero-Almodovar, A. E. and Gili-Miner, M., 2001. Risk factors for *Acinetobacter baumannii* nosocomial bacteremia in critically ill patients: a cohort study, Clin. Infect. Dis., 33, 939–946.
- Gayoso, C. M., Mateos, J., Mendez, J. A., Fernandez-Puente, P., Rumbo, C., Tomas, M., vd., 2014. Molecular mechanisms involved in the response to desiccation stress and persistence in *Acinetobacter baumannii*, J. Proteome Res., 13, 460–476.
- Gebhardt, M. J., et al., 2015. Joint transcriptional control of virulence and resistance to antibiotic and environmental stress in *Acinetobacter baumannii*, mBio, 6, e01660-15.
- Gehrlein, M., Leying, H., Cullmann, W., Wendt, S. and Opferkuch, W., 1991. Imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* is due to altered penicillin-binding proteins, Chemotherapy, 37, 405–412.
- Geisinger, E. and Isberg, R. R., 2015. Antibiotic modulation of capsular exopolysaccharide and virulence in *Acinetobacter baumannii*, PLoS Pathog., 11, e1004691.
- Ghai, I. and Ghai, S., 2017. Exploring bacterial outer membrane barrier to combat bad bugs, Infection and drug resistance, 10, 261.
- Giamarellou, H., Antoniadou, A. and Kanellakopoulou, K., 2008. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health?, Int J Antimicrob Agents, 32, 2, 106-19.
- Gil-Gil, T., Martínez, J. L. and Blanco, P., 2020. Mechanisms of antimicrobial resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*: a review of current knowledge, Expert Review of Anti-infective Therapy, 18, 4, 335-347.
- Goffin, C. and Ghuysen, J.M., 2002. Multimodular penicillin-binding proteins: an enigmatic family of orthologs and paralogs, Microbiol Mol Biol Rev, 62, 1079–1093.
- Gold, H.S. and Moellering, R.C. Jr., 1996. Antimicrobial drug resistance, N Engl J Med, 335, 1445-1453.
- Goldstein, B. P., 2014. Resistance to rifampicin: a review, The Journal of antibiotics, 67, 9, 625-630.
- Goldsworthy P.D., McFarlane A.C., Florey H., 2002. Alexander Fleming and the fairy tale of penicillin, Med. J., 176, 4, 176–8.
- Gonzalez, M. R., Ducret, V., Leoni, S. and Perron, K., 2019. *Pseudomonas aeruginosa* zinc homeostasis: Key issues for an opportunistic pathogen, Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms, 1862, 7, 722-733.
- González, R. H., Dijkshoorn, L., Van den Barselaar, M. and Nudel, C., 2009. Quorum sensing signal profile of *Acinetobacter* strains from nosocomial and environmental sources, Rev. Argent. Microbiol., 41, 73–78.

- Gordon, N. C. and Wareham, D. W., 2010. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance, Int. J. Antimicrob. Agents, 35, 219–226.
- Green, E. R., Juttukonda, L. J. and Skaar, E. P., 2020. The manganese responsive transcriptional regulator MumR protects *Acinetobacter baumannii* from oxidative stress, Infect. Immun., 88, e00762-19.
- Greene, C., Vadlamudi, G., Newton, D., Foxman, B. and Xi, C., 2016a. The influence of biofilm formation and multidrug resistance on environmental survival of clinical and environmental isolates of *Acinetobacter baumannii*, Am. J. Infect. Control, 44, e65–e71.
- Greene, C., Wu, J., Rickard, A. H. and Xi, C., 2016b. Evaluation of the ability of *Acinetobacter baumannii* to form biofilms on six different biomedical relevant surfaces, Lett. Appl. Microbiol., 63, 233–239.
- Guo, R., Li, K., Qin, J., Niu, S. and Hong, W., 2020. Development of Polycationic Micelles as an Efficient Delivery System of Antibiotics Overcoming Biological Barriers to Reverse Multidrug Resistance in *Escherichia coli*, Nanoscale, 12, 20, 11251-11266.
- Gutkind, G.O., Di Conza, J., Power, P. and Radice, M., 2013.  $\beta$ - Lactamase mediated resistance: a biochemical, epidemiological and genetic overview, Curr. Pharm. Des., 19, 164 –208.
- Gülay, Z., 2001. Beta-laktamlara direnç mekanizmaları. Hastane İnfeksiyonları Dergisi, 5, 210-229.
- Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W. and Stoodley, P., 2004. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases, Nat. Rev. Microbiol., 2, 95–108.
- Harding, C., Hennon, S. and Feldman, M., 2018. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence, Nat Rev Microbiol., 16, 91–102.
- Harding, C. M., Pulido, M. R., Di Venzio, G., Kinsella, R. L., Webb, A. I., Scott, N. E., et al., 2017. Pathogenic *Acinetobacter* species have a functional type I secretion system and contact-dependent inhibition systems, J. Biol. Chem., 292, 9075–9087.
- Harding, C. M., Kinsella, R. L., Palmer, L. D., Skaar, E. P. and Feldman, M. F., 2016. Medically relevant *Acinetobacter* species require a type II secretion system and specific membrane-associated chaperones for the export of multiple substrates and full virulence, PLoS Pathog., 12, e1005391.
- Harding, C. M., et al., 2013. *Acinetobacter baumannii* strain M2 produces type IV pili which play a role in natural transformation and twitching motility but not surface-associated motility, mBio, 4, e00360-13.
- Harkins, C. P., Pichon, B., Doumith, M., Parkhill, J., Westh, H., Tomasz, A., de Lencastre, H., Bentley, S. D., Kearns, A. M. and Holden, M., 2017. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* emerged long before the introduction of methicillin into clinical practice, Genome biology, 18, 1, 130.

- Hassan, K. A., Jackson, S. M., Penesyan, A., Patching, S. G., Tetu, S. G., Eijkelkamp, B. A., et al., 2013. Transcriptomic and biochemical analyses identify a family of chlorhexidine efflux proteins, Proc. Natl. Acad. Sci., 110, 20254–20259.
- He, X., Lu, F., Yuan, F., Jiang, D., Zhao, P., Zhu, J., et al., 2015. Biofilm formation caused by clinical *Acinetobacter baumannii* isolates is associated with overexpression of the AdeFGH efflux pump, Antimicrob. Agents Chemother., 59, 4817–4825.
- Henderson, I. R., Navarro-Garcia, F., Desvaux, M., Fernandez, R. C. and Ala'aldien, D., 2004. Type V protein secretion pathway: the autotransporter story, Microbiol. Mol. Biol. Rev., 68, 692–744.
- Henderson, I. R., Cappello, R. and Nataro, J. P., 2000. Autotransporter proteins, evolution and redefining protein secretion, Trends Microbiol., 8, 529–532.
- Henderson, P.J.F., Hoyle, C.K. and Ward, A. 2000. Efflux proteins, Biochem. Soc. Trans., 28, 513–7.
- Henrichsen, J., 1984. Not gliding but twitching motility of *Acinetobacter calcoaceticus.*, J. Clin. Pathol., 37, 102–103.
- Héritier, C., Poirel, L. and Nordmann, P., 2006. Cephalosporinase over expression resulting from insertion of ISAbal in *Acinetobacter baumannii*, Clin. Microbiol. Infect., 12: 123-130.
- Heritier, C., Poirel, L., Fournier, P.E., Claverie, J.M., Raoult, D. and Nordmann, P., 2005. Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*, Antimicrob. Agents Chemother., 49, 4174 –4179.
- Higgins, P. G., Janssen, K., Fresen, M. M., Wisplinghoff, H. and Seifert, H., 2012. Molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* bloodstream isolates obtained in the United States from 1995 to 2004 using rep-PCR and multilocus sequence typing, J. Clin. Microbiol., 50, 3493–3500.
- Higgins, P., Dammhayn, C., Hackel, M. and Seifert, H., 2010 Global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*, J. Antimicrob. Chemother., 65, 2, 233-8.
- Hoel, D., Williams D.N. and Berkelman R.L., 1997. Antibiotics: Past, present, and future, Postgraduate Medicine, 101, 1, 114-122.
- Hollenbeck, B.L. and Rice, L.B., 2012. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus, Virulence, 3, 421-433.
- Hood, M. I. and Skaar, E. P., 2012. Nutritional immunity: transition metals at the pathogen–host interface, Nat. Rev. Microbiol., 10, 525–537.
- Hood, M. I., Mortensen, B. L., Moore, J. L., Zhang, Y., Kehl-Fie, T. E., Sugitani, N., et al., 2012. Identification of an *Acinetobacter baumannii* zinc acquisition system that facilitates resistance to calprotectin-mediated zinc sequestration, PLoS Pathog., 8, e1003068.

- Hooper, D. C. and Jacoby, G. A., 2016. Topoisomerase inhibitors: fluoroquinolone mechanisms of action and resistance, Cold Spring Harbor perspectives in medicine, 6, 9, a025320.
- Houang, E. T., Chu, Y. W., Chu, K. Y., Ng, K. C., Leung, C. M. and Cheng, A. F., 2003. Significance of genomic DNA group delineation in comparative studies of antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* spp, Antimicrob. Agents Chemother., 47, 1472–1475.
- Hu, D., Liu, B., Dijkshoorn, L., Wang, L. and Reeves, P. R., 2013. Diversity in the major polysaccharide antigen of *Acinetobacter baumannii* assessed by DNA sequencing, and development of a molecular serotyping scheme, PLoS ONE, 8, e70329.
- Hu, W. S., Yao, S. M., Fung, C. P., Hsieh, Y. P., Liu, C. P. and Lin, J. F., 2007. An OXA-66/OXA-51-like carbapenemase and possibly an efflux pump are associated with resistance to imipenem in *Acinetobacter baumannii*, Antimicrob. Agents Chemother., 51, 3844–3852.
- Huang, W., Wang, S., Yao, Y., Xia, Y., Yang, X., Long, Q., et al., 2015. OmpW is a potential target for eliciting protective immunity against *Acinetobacter baumannii* infections, Vaccine, 33, 4479–4485.
- Hujer, K.M., Hamza, N.S., Hujer, A.M., Perez, F., Helfand, M.S., Bethel, C.R., Thomson, J.M., Anderson, V.E., Barlow, M., Rice, L.B., Tenover, F.C. and Bonomo, R.A., 2005. Identification of a new allelic variant of the *Acinetobacter baumannii* cephalosporinase, ADC-7 beta-lactamase: defining a unique family of class C enzymes, Antimicrob. Agents Chemother., 49, 2941-2948.
- Iacono, M., Villa, L., Fortini, D., Bordoni, R., Imperi, F., Bonnal, R. J. P., et al., 2008. Whole-genome pyrosequencing of an epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain belonging to the European clone II group, Antimicrob. Agents Chemother., 52, 2616–2625.
- Imran, M., Das, K. R. and Naik, M. M., 2019. Coselection of multi-antibiotic resistance in bacterial pathogens in metal and microplastic contaminated environments: An emerging health threat, Chemosphere, 215, 846-857.
- Irie, Y. and Parsek, M. R., 2008. Quorum sensing and microbial biofilms, Curr. Top. Microbiol. Immunol., 322, 67–84.
- Iwashkiw, J. A., Seper, A., Weber, B. S., Scott, N. E., Vinogradov, E., Stratilo, C., et al., 2012. Identification of a general O-linked protein glycosylation system in *Acinetobacter baumannii* and its role in virulence and biofilm formation, PLoS Pathog., 8, e1002758.
- Iyer, R., Moussa, S. H., Durand-Réville, T. F., Tommasi, R. and Miller, A., 2018. *Acinetobacter baumannii* OmpA is a selective antibiotic permeant porin, ACS Infect. Dis., 4, 373–381.

- Jabuk, S. I.A., Jabuk, N.A.G., AL-Harmoosh, R.A. and Hussien, R.S., 2017. Isolation and Identification of antibiotic producing bacteria from local soil in Babylon province, *Euphrates Journal of Agriculture Science*, Second Veterinary Conference, 304-3010.
- Jacobs, A. C., et al., 2012. Characterization of the *Acinetobacter baumannii* growth phase-dependent and serum responsive transcriptomes, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 64, 403–412.
- Jacobs, A. C., Hood, I., Boyd, K. L., Olson, P. D., Morrison, J. M., Carson, S., et al., 2010. Inactivation of phospholipase D diminishes *Acinetobacter baumannii* pathogenesis, *Infect. Immun.*, 78, 1952–1962.
- Jahangiri, A., Rasooli, I., Owlia, P., Imani Fooladi, A. A. and Salimian, J., 2018. Highly conserved exposed immunogenic peptides of Omp34 against *Acinetobacter baumannii*: an innovative approach, *J. Microbiol. Methods*, 144, 79–85.
- Jahne, M. A., Rogers, S. W., Ramler, I. P., Holder, E. and Hayes, G., 2015. Hierarchical clustering yields insight into multidrug-resistant bacteria isolated from a cattle feedlot wastewater treatment system, *Environmental monitoring and assessment*, 187, 1, 4168.
- Jassim, K.A., Ghaima, K.K. and Saadedin, S.M.K., 2016. AdeABC Efflux Pump Genes in Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates, *Avicenna J Clin Microb Infec.*, 3, e40898.
- Jawad, A., Seifert, H., Snelling, A., Heritage, J. and Hawkey, P., 1998. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates, *J. Clin. Microbiol.*, 36, 1938–1941.
- Jawad, A., Heritage, J., Snelling, A. M., Gascoyne-Binzi, D. M. and Hawkey, P. M., 1996. Influence of relative humidity and suspending menstrua on survival of *Acinetobacter* spp. on dry surfaces, *J. Clin. Microbiol.*, 34, 2881–2887.
- Jawetz E, Melnick JL. And Adelberg EA., 1995. *Medical Microbiology*. East Norwalk, CT: Appleton & Lange, pp 137-167.
- Jeon, J. H., Lee, J. H., Lee, J. J., Park, K. S., Karim, A. M., Lee, C. R., et al., 2015. Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance, *Int. J. Mol. Sci.*, 16, 9654–9692.
- Jeong, H. W., Cheong, H. J., Kim, W. J., Kim, M. J., Song, K. J., Song, J. W., et al., 2009. Loss of the 29-kilodalton outer membrane protein in the presence of OXA-51-like enzymes in *Acinetobacter baumannii* is associated with decreased imipenem susceptibility, *Microb. Drug Resist.*, 15, 151–158.
- Jin, J. S., Kwon, S.-O., Moon, D. C., Gurung, M., Lee, J. H., Kim, S. I., et al., 2011. *Acinetobacter baumannii* secretes cytotoxic outer membrane protein A via outer membrane vesicles, *PLoS One*, 6, e17027.

- Johnson, T. L., Waack, U., Smith, S., Mobley, H. and Sandkvist, M., 2016. *Acinetobacter baumannii* is dependent on the type II secretion system and its substrate LipA for lipid utilization and in vivo fitness, J. Bacteriol., 198, 711–719.
- Joseph, P. M. and Stephen, T. M., 2018. Expanding the paradigm for the outer membrane: *Acinetobacter baumannii* in the absence of endotoxin, Mol. Microbiol., 107, 47–56.
- Josephine, H.R., Charlier, P., Davies, C., Nicholas, R.A. and Pratt, R.F., 2006. Reactivity of penicillin-binding proteins with peptidoglycan-mimetic beta-lactams: what's wrong with these enzymes?, Biochemistry, 45, 15873–15883.
- Jung, J. and Park, W., 2015. *Acinetobacter* species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives, Appl Microbiol Biotechnol., 99, 6, 2533–2548.
- Juttukonda, L. J., Chazin, W. J. and Skaar, E. P., 2016. *Acinetobacter baumannii* coordinates urea metabolism with metal import to resist host-mediated metal limitation, MBio, 7, e01475-16.
- Kadhun, H. A. and Hasan, T. H., 2019. The Study of Bacillus Subtilis Antimicrobial Activity on Some of the Pathological Isolates, International Journal of Drug Delivery Technology, 9, 02, 193-196.
- Kaparakis-Liaskos, M. and Ferrero, R. L., 2015. Immune modulation by bacterial outer membrane vesicles, Nat. Rev. Immunol., 15, 375–387.
- Kapoor, G., Saigal, S. and Elongavan, A., 2017. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians, Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology, 33, 3, 300.
- Kearns, D. B., 2010. A field guide to bacterial swarming motility, Nat. Rev. Microbiol., 8, 634–644.
- Kenyon, J. J. and Hall, R. M., 2013. Variation in the complex carbohydrate biosynthesis loci of *Acinetobacter baumannii* genomes, PLoS ONE, 8, e62160.
- Khordori, N., 2006. Antibiotics Past, Present, and Future, Med Clin North Am., 90, 6, 1049–107.
- Kim, S. W., Choi, C. H., Moon, D. C., Jin, J. S., Lee, J. H., Shin, J. H., Kim, J. M., Lee, Y. C., Seol, S. Y., Cho, D. T. and Lee, J. C., 2009. Serum resistance of *Acinetobacter baumannii* through the binding of factor H to outer membrane proteins, FEMS Microbiol. Lett., 301, 224–231.
- Knight, D.B., Rudin, S.D., Bonomo, R. and Rather, P.N., 2018. *Acinetobacter nosocomialis*: Defining the Role of Efflux Pumps in Resistance to Antimicrobial Therapy, Surface Motility, and Biofilm Formation, Front Microbiol., 9, 1902.
- Koeleman, J. G., van der Bijl, M. W., Stoof, J., Vandenbroucke-Grauls, C. M. and Savelkoul, P. H., 2001. Antibiotic resistance is a major risk factor for epidemic behavior of *Acinetobacter baumannii*, Infect. Control Hosp Epidemiol., 22, 284–288.

- Koeleman, J. G., Stoof, J., Biesmans, D. J., Savelkoul, P. H., and VandenbrouckeGrauls, C. M., 1998. Comparison of amplified ribosomal DNA restriction analysis, random amplified polymorphic DNA analysis, and amplified fragment length polymorphism fingerprinting for identification of *Acinetobacter* genomic species and typing of *Acinetobacter baumannii*, J. Clin. Microbiol., 36, 2522–2529.
- Koeppen, K., Hampton, T. H., Jarek, M., Scharfe, M., Gerber, S. A., Mielcarz, D. W., et al., 2016. A novel mechanism of host-pathogen interaction through sRNA in bacterial outer membrane vesicles, PLoS Pathog., 12, e1005672.
- Korotkov, K. V., Sandkvist, M. and Hol, W. G., 2012. The type II secretion system: biogenesis, molecular architecture and mechanism, Nat. Rev. Microbiol., 10, 336–351.
- Kroger, C., Kary, S. C., Schauer, K. and Cameron, A. D., 2016. Genetic regulation of virulence and antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii*, Genes, 8, 12.
- Kulkarni, H.M. and Jagannadham, M.V., 2014. Biogenesis and multifaceted roles of outer membrane vesicles from gram-negative bacteria, Microbiology, 160, 2109–2121.
- Kwon, S.-O., Gho, Y. S., Lee, J. C. and Kim, S. I., 2009. Proteome analysis of outer membrane vesicles from a clinical *Acinetobacter baumannii* isolate, FEMS Microbiol. Lett., 297, 150–156.
- La Scola, B., Gundi, V. A., Khamis, A. and Raoult, D., 2006. Sequencing of the *rpoB* gene and flanking spacers for molecular identification of *Acinetobacter* species, J. Clin. Microbiol., 44, 827–832.
- Lambert, P.A., 2005. Bacterial resistance to antibiotics: modified target sites. Adv Drug Deliv Rev., 57, 1471-1485.
- Lee, C. R., Lee, J. H., Park, K. S., Jeong, B. C. and Lee, S. H., 2015. Quantitative proteomic view associated with resistance to clinically important antibiotics in Gram-positive bacteria: a systematic review, Front. Microbiol., 6, 828.
- Lee, C. R., Lee, J. H., Jeong, B. C. and Lee, S. H., 2013. Lipid a biosynthesis of multidrug-resistant pathogens- a novel drug target, Curr. Pharm. Des., 19, 6534–6550
- Lee, H.W., Koh, Y.M., Kim, J., Lee, J.C., Lee, Y.C., Seol, S.Y., Cho, D.T. and Kim, J., 2008. Capacity of multidrugresistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces, Clin Microbiol Infect., 14, 49–54.
- Lee, J. C., Koerten, H., van den Broek, P., Beekhuizen, H., Wolterbeek, R., van den Barselaar, M., van der Reijden, T., van der Meer, J., van de Gevel, J. and Dijkshoorn, L., 2006. Adherence of *Acinetobacter baumannii* strains to human bronchial epithelial cells, Res. Microbiol., 157, 360–366.
- Lee, J. C., Oh, J. Y., Kim, K. S., Jeong, Y. W., Park, J. C. and Cho, J. W., 2001. Apoptotic cell death induced by *Acinetobacter baumannii* in epithelial cells through caspase-3 activation, APMIS, 109, 679–684.

- Lee, J. H., Choi, C. H., Kang, H. Y., Lee, J. Y., Kim, J., Lee, Y. C., et al., 2007. Differences in phenotypic and genotypic traits against antimicrobial agents between *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomic species 13TU, J. Antimicrob. Chemother., 59, 633–639.
- Leo, J. C., Grin, I. and Linke, D., 2012. Type V secretion: mechanism(s) of autotransport through the bacterial outer membrane, Philos. Trans. R. Soc. Bio. Sci., 367, 1088–1101.
- Lessel, E. F., 1971. Subcommittee on nomenclature of *Moraxella* and allied bacteria, Int. J. Syst. Bacteriol., 21, 213–214.
- Li, H., Luo, Y. F., Williams, B. J., Blackwell, T. S. and Xie, C. M., 2012. Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: from antibiotic resistance to novel therapies, International Journal of Medical Microbiology, 302, 2, 63-68.
- Li, T., Liu, C., Lu, J., Gaurav, G. K. and Chen, W., 2020. Determination of how tetracycline influences nitrogen removal performance, community structure, and functional genes of biofilm systems, Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 106, 99-109.
- Li, X. M., Choi, J. A., Choi, I. S., Kook, J. K., Chang, Y. H., Park, G., et al., 2016. Development and evaluation of species-specific PCR for detection of nine *Acinetobacter* species, Ann. Clin. Lab. Sci., 46, 270–278.
- Li, X.Z., Poole, K. and Nikaido, H., 2003. Contributions of MexAB-OprM and an EmrE homolog to intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides and dyes, Antimicrob Agents Chemother, 47, 27-33.
- Lin, M. F. and Lan, C. Y., 2014. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: from bench to bedside, World J. Clin. Cases, 2, 787–814.
- Ling, B-D., Zhang, L. and Li, X-Z., 2016. Antimicrobial resistance and drug efflux pumps in acinetobacter, In: *Efflux-Mediated Antimicrobial Resistance in Bacteria*, Li, X.Z., Elkins, C.A. and Zgurskaya, H.I., Springer International Publishing: Springer, 329–358.
- Linkevicius, M., Sandegren, L. and Andersson, D. I., 2016. Potential of tetracycline resistance proteins to evolve tigecycline resistance, Antimicrobial agents and chemotherapy, 60, 2, 789-796.
- Liou, M.-L., Soo, P.-C., Ling, S.-R., Kuo, H.-Y., Tang, C. Y. and Chang, K.-C., 2014. The sensor kinase BfmS mediates virulence in *Acinetobacter baumannii*, J. Microbiol. Immunol. Infect., 47, 275–281.
- Liu C, Chang Y, Xu Y, Luo Y, Wu L, Mei Z, et al., 2018. Distribution of virulence-associated genes and antimicrobial susceptibility in clinical *Acinetobacter baumannii* isolates. Oncotarget, 9, 31, 21663-21673.

- Liu, C.-C., Kuo, H.-Y., Tang, C. Y., Chang, K.-C. and Liou, M.-L., 2014. Prevalence and mapping of a plasmid encoding a type IV secretion system in *Acinetobacter baumannii*, Genomics, 104, 215–223.
- Liu, C.P., Lu, H.P. and Luor, T., 2019. Clonal relationship and the association of the ST218 strain harboring blaOXA-72 gene to mortality in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia. J Microbiol Immunol Infect., 52, 297-303.
- Liu, F., Zhu, Y., Yi, Y., Lu, N., Zhu, B1. and Hu. Y., 2014. Comparative genomic analysis of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates reveals extensive genomic variation and diverse antibiotic resistance determinants, BMC Genomics, 22, 15, 1163.
- Liu, Q., Hassan, K. A., Ashwood, H. E., Gamage, H. K. A. H., Li, L., Mabbutt, B. C., et al., 2018. Regulation of the aceI multidrug efflux pump gene in *Acinetobacter baumannii*, J. Antimicrob. Chemother., 73, 1492–1500.
- Liu, Y. and Liu, X., 2015, Detection of AmpC  $\beta$ -lactamases in *Acinetobacter baumannii* in the Xuzhou region and analysis of drug resistance, Exp Ther Med, 10, 933-36.
- Liu, Y.H., Kuo, S.C., Lee, Y.T., Chang, I.C., Yang, S.P., Chen, T.L. and Fung. C.P., 2012. Amino acid substitutions of quinolone resistance determining regions in GyrA and ParC associated with quinolone resistance in *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomic species 13TU, J Microbiol Immunol Infect., 45, 108-12.
- Livermore, D.M., 2009. Doripenem: antimicrobial profile and clinical potential, Diagn Micr Infect Dis., 63, 4, 455-8.
- Livermore, D. M., Hope, R., Brick, G., Lillie, M. and Reynolds, R., 2008. Non-susceptibility trends among *Pseudomonas aeruginosa* and other non-fermentative Gram-negative bacteria from bacteraemias in the UK and Ireland, 2001-06, J. Antimicrob. Chemother., 62(Suppl. 2), ii55–ii63.
- Loehfelm, T. W., Luke, N. R. and Campagnari, A. A., 2008. Identification and characterization of an *Acinetobacter baumannii* biofilm-associated protein, J. Bacteriol., 190, 1036–1044.
- Lopalco, P., Stahl, J., Annese, C., Averhoff, B. and Corcelli, A., 2017. Identification of unique cardiolipin and monolysocardiolipin species in *Acinetobacter baumannii*, Sci. Rep., 7, 2972.
- Lopes, B.S., Al-Hassan, L., Amyes, S.G.: ISAb825 controls the expression of the chromosomal bla<sub>OXA-51-like</sub> and the plasmid borne bla<sub>OXA-58</sub> gene in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* isolated from the USA. *Clin Microbiol Infect* **18**, E446-51 (2012).
- Lukovic, B., Gajic, I., Dimkic, I., Kekic, D., Zornic, S., Pozder, T., Radisavljevic, S., Opavski, N., Kojic, M. and Ranin, L., 2020. The first nationwide multicenter study of *Acinetobacter baumannii* recovered in Serbia: emergence of OXA-72, OXA-23 and NDM-1-producing isolates, Antimicrob Resist Infect Control, 9, 101.

- Maiden, M.C., 2006. Multilocus sequence typing of bacteria, Annu Rev Microbiol., 60, 561–588.
- Majeed, H. T., and Aljanaby, A. A. J., 2019. Antibiotic Susceptibility Patterns and Prevalence of Some Extended Spectrum Beta-Lactamases Genes in GramNegative Bacteria Isolated from Patients Infected with Urinary Tract Infections in Al-Najaf City, Iraq, Avicenna journal of medical biotechnology, 11, 2, 192.
- Manchanda, V., Sanchaita, S. and Singh, N.P., 2010. Multidrug Resistant Acinetobacter. J Glob Infect Dis, 2, 291-304.
- Manuella, C.-F., Sara, M., Laurent, G., Luis, J., Gaël, C., Virginie, M., et al., 2016. The outer membrane porin OmpW of *Acinetobacter baumannii* is involved in iron uptake and colistin binding, FEBS Lett., 590, 224–231.
- Maravić, A., Skočibušić, M., Fredotović, Ž., et al., 2016. Urban riverine environment is a source of multidrug-resistant and ESBL-producing clinically important *Acinetobacter* spp., Environ Sci Pollut Res Int., 23, 4, 3525–3535.
- Marchand, I., Damier-Piolle, L., Courvalin, P. and Lambert, T., 2004. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the AdeRS two-component system, Antimicrob. Agents Chemother., 48, 3298–3304.
- Martinez, J.L., 2014. General principles of antibiotic resistance in bacteria, Drug Discov Today, 11, 33–39.
- Mayer, K.H., Opal, S.M. and Medeiros, A.A., 1995. Mechanisms of antibiotic resistance. In Principles and Practice of Infectious Diseases. Ed by GL Mandell, JE Bennett, R Dolin. Mandell, Douglas, and Bennett Ōs Fourth ed. New York: Churchill Livingstone, 212-225.
- McConnell, M. J., Actis, L. and Pachon, J., 2013. *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models, FEMS Microbiol. Rev., 37, 130–155.
- McQueary, C. N., et al., 2012. Extracellular stress and lipopolysaccharide modulate *Acinetobacter baumannii* surface-associated motility, J. Microbiol., 50, 434–443.
- Medeiros, AA., 1997. Evolution and dissemination of  $\beta$ -lactamases accelerated by generations of  $\beta$ -lactam antibiotics, Clin Infect Dis., 24, 19-45.
- Megeed, A. A., Hayssam, M. A., Salem, M. Z., El-Shikh, M. S., Talea, I. A. and Alogaibi, Y. A., 2016. Investigation of the virulence factors and molecular characterization of the clonal relations of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates, J. AOAC Int., 100, 1, 152-158.
- Meleney, F.L., 1947. Treatment of surgical infections by chemical and antibiotic agents. Postgrad Med. 1, 2, 87-96.

- Meroueh, S.O., Bencze, K.Z., Hesek, D., Lee, M., Fisher, J.F., et al., 2006. Three dimensional structure of the bacterial cell wall peptidoglycan, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103, 4404–4409.
- Mobasser, P., Azimi, L., Salehi, M., Hosseini, F. and Fallah, F., 2018. Distribution and Expression of Efflux Pump Gene and Antibiotic Resistance in *Acinetobacter baumannii*, Arch Clin Infect Dis, 13, e67143.
- Moffatt, J. H., Harper, M., Mansell, A., Crane, B., Fitzsimons, T. C., Nation, R. L., et al., 2013. Lipopolysaccharide-deficient *Acinetobacter baumannii* shows altered signaling through host toll-like receptors and increased susceptibility to the host antimicrobial peptide LL-37, Infect. Immun., 81, 684–689.
- Moffatt, J. H., Harper, M., Harrison, P., Hale, J. D. F., Vinogradov, E., Seemann, T., et al., 2010. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production, Antimicrob. Agents Chemother., 54, 4971–4977.
- Momtaz, H., Seifati, S.M. and Tavakol, M., 2015. Determining the Prevalence and Detection of the Most Prevalent Virulence Genes in *Acinetobacter baumannii* Isolated From Hospital Infections, International Journal of Medical Laboratory, 2, 2, 87-97.
- Moon, K. H., Weber, B. S. and Feldman, M. F., 2017. Subinhibitory concentrations of trimethoprim and sulfamethoxazole prevent biofilm formation by *Acinetobacter baumannii* through inhibition of Csu Pilus expression, Antimicrob. Agents Chemother., 61, e00778-17.
- Morgan, D. J., Weisenberg, S. A., Augenbraun, M. H., Calfee, D. P., Currie, B. P., Furuya, E. Y., Holzman, R., Montecalvo, M. C., Phillips, M., Polsky, B. and Sepkowitz, K. A., 2009. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in New York City – 10 years into the epidemic, Infect. Control Hosp. Epidemiol., 30, 196–197.
- Mortensen, B. L., Rathi, S., Chazin, W. J. and Skaar, E. P., 2014. *Acinetobacter baumannii* response to host-mediated zinc limitation requires the transcriptional regulator Zur, J. Bacteriol., 196, 2616–2626.
- Moubareck, C., Bremont, S., Conroy, M. C., Courvalin, P. and Lambert, T., 2009. GES-11, a novel integron-associated GES variant in *Acinetobacter baumannii*, Antimicrob. Agents Chemother., 53, 3579–3581.
- Mugnier, P. D., Poirel, L., Naas, T. and Nordmann, P., 2010. Worldwide dissemination of the *blaOXA-23* carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*, Emerg. Infect. Dis., 16, 35–40.
- Munita, J.M. and Arias, C.A., 2016. Mechanisms of Antibiotic Resistance. Microbiology spectrum, VMBF, 4, 2, 10.
- Murray, P.R., Rosenthal, K.S. and Pfaller, M.A., 2016. Medical Microbiology, Philadelphia, Elsevier, 274s.

- Mussi, M.A., Relling, V.M., Limansky, A.S. and Viale, A.M., 2007. CarO, an *Acinetobacter baumannii* outer membrane protein involved in carbapenem resistance, is essential for L-ornithine uptake, FEBS Lett., 581, 5573-5578.
- Mussi, M.A., Limansky, A.S. and Viale, A.M., 2005. Acquisition of resistance to carbapenems in multidrug-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of beta-barrel outer membrane proteins, Antimicrob Agents Chemother., 49, 1432-1440.
- Naha, A., Miryala, S. K., Debroy, R., Ramaiah, S. and Anbarasu, A., 2020. Elucidating the multi-drug resistance mechanism of *Enterococcus faecalis* V583: A gene interaction network analysis, Gene, 748, 144704.
- Nairn, B. L., Lonergan, Z. R., Wang, J., Braymer, J. J., Zhang, Y., Calcutt, M. W., et al., 2016. The response of *Acinetobacter baumannii* to zinc starvation, Cell Host Microbe, 19, 826–836.
- Navia, M.M., Ruiz, J. and Vila, J., 2002. Characterization of an integron carrying a new class D beta-lactamase (OXA-37) in *Acinetobacter baumannii*, Microb Drug Resist., 8, 261-265.
- Nawfal Dagher, T., Al-Bayssari, C., Chabou. S., Antar, N., Diene, S.M., Azar, E. and Rolain, J.M., 2019. Investigation of multidrug-resistant ST2 *Acinetobacter baumannii* isolated from Saint George hospital in Lebanon, BMC Microbiol., 19, 29.
- Nemec, A., Dijkshoorn, L. and van der Reijden, T. J., 2004a. Long-term predominance of two pan-European clones among multi-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in the Czech Republic, J. Med. Microbiol., 53, 147– 153.
- Ng, H.F., 2019. Selection And Characterization Of A Tigecycline-Resistant Mutant Of *Mycobacterium Abscessus* To Identify Possible Resistance Determinants (Doctoral dissertation, UTAR).
- Nikaido, H. and Pagès, J. M., 2012. Broad-specificity efflux pumps and their role in multidrug resistance of Gram-negative bacteria, FEMS microbiology reviews, 36, 2, 340- 63.
- Nikaido, H., 2009. Multidrug resistance in bacteria, Annu Rev Biochem, 78, 119-146.
- Niu, C., Clemmer, K. M., Bonomo, R. A. and Rather, P. N., 2008. Isolation and characterization of an autoinducer synthase from *Acinetobacter baumannii*, J. Bacteriol., 190, 3386–3392.
- Öztürk R., 1997. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları, Antimikrobik İlaçlara Karşı Direnç Gelişmesi ve Günümüzde Direnç Durumu, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Pratikte Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu 2 - 3 Mayıs, İstanbul, 27-51.
- Paluch, E., Rewak-Soroczynska, J., Jedrusik, I., Mazurkiewicz, E. and Jermakow, K., 2020. Prevention of biofilm formation by quorum quenching, Appl. Microbiol. Biotechnol., 104, 1871–1881.

- Prashanth, K., Vasanth, T., Saranathan, R., Makki, A.R. and Pagal, S., 2012. Antibiotic resistance, biofilms and quorum sensing in *Acinetobacter* species, Antibiotic resistant bacteria: a continuous challenge in the new millennium, 179-212.
- Peleg, A.Y., Seifert, H. and Paterson, D.L., 2008. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen, Clin Microbiol Rev., 21, 538-82.
- Peleg, A. Y., Adams, J. and Paterson, D. L., 2007. Tigecycline efflux as a mechanism for nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*, Antimicrob. Agents Chemother., 51, 2065–2069.
- Pérez, A., Merino, M., Rumbo-Feal, S., Álvarez-Fraga, L., Vallejo, J. A., Beceiro, A., et al., 2017. The FhaB/FhaC two-partner secretion system is involved in adhesion of *Acinetobacter baumannii* AbH12O-A2 strain, Virulence, 8, 959–974.
- Perez, F., Ponce-Terashima, R., Adams, M. D. and Bonomo, R. A., 2011. Are we closing in on an “elusive enemy?” The current status of our battle with *Acinetobacter baumannii*, Virulence, 2, 86–90.
- Perez, F., Hujer, A.M., Hujer, K.M., Decker, B.K., Rather, P.N. and Bonomo, R.A., 2007. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, Antimicrob. Agents. Chemother., 51, 3471-3484.
- Pérez-Llarena, F. J. and Bou, G., 2016. Proteomics as a tool for studying bacterial virulence and antimicrobial resistance, Frontiers in microbiology, 7, 410.
- Petrov, A., Meskauskas, A. and Dinman, J. D., 2004. Ribosomal protein L3: influence on ribosome structure and function, RNA biology, 1, 1, 58-64.
- Philippon, A., Arlet, E. and Lagrange, P.H., 1994. Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases, Eur J Clin Microbiol Infect Dis., 13, 17-19.
- Piepenbrink, K. H., et al., 2016. Structural diversity in the type IV pili of multidrug-resistant *Acinetobacter*, J. Biol. Chem., 291, 22924–22935.
- Poirel, L., Naas, T. and Nordmann P., 2010. Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases, Antimicrob Agents Chemother., 54, 24-38.
- Poole, K., 2005. Efflux-Mediated Antimicrobial Resistance, J. Antimicrob. Chemother., 56, 20–51.
- Poole, K., 2002. Outer membranes and efflux: the path to multidrug resistance in Gram-negative bacteria, Curr Pharm Biotechnol, 3, 77–98.
- Pourabbas, B., Firouzi, R. and Pouladfar, G., 2016. Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex isolates from nosocomial bloodstream infections in southern Iran, J Med Microbiol., 65, 3, 235–239.

- Pourhajibagher, M., Hashemi, F.B., Pourakbari, B., Aziemzadeh, M. and Bahador, A., 2016. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* to imipenem in Iran: a systematic review and meta-analysis, Open Microbiol J., 10, 32–42.
- Prashanth, K., Vasanth, T., Saranathan, R., Makki, A. R., and Pagal, S., 2012. Antibiotic resistance, biofilms and quorum sensing in *Acinetobacter* species. Antibiotic resistant bacteria: a continuous challenge in the new millennium, 179-212.
- Qi, L., Li, H., Zhang, C., et al., 2016. Relationship between antibiotic resistance, biofilm formation, and biofilm-specific resistance in *Acinetobacter baumannii*, Front. Microbiol. 7, 483.
- Rakin, A., Schneider, L. and Podladchikova, O., 2012. Hunger for iron: the alternative siderophore iron scavenging systems in highly virulent *Yersinia*, Front. Cell. Infect. Microbiol., 2, 151.
- Ranjbar, R. and Farahani, A., 2019. Study of genetic diversity, biofilm formation, and detection of Carbapenemase, MBL, ESBL, and tetracycline resistance genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from burn wound infections in Iran, Antimicrob Resist Infect Control., 7, 172.
- Rice, L.B., 2010. Progress and challenges in implementing the research on ESKAPE pathogens, Infect Control Hosp Epidemiol., 31, 7–10.
- Rice, L.B., 2008. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE, J Infect Dis., 197, 1079–81.
- Roberts, M. C. and Schwarz, S., 2017. Tetracycline and chloramphenicol resistance mechanisms, In *Antimicrobial drug resistance*, Springer, 231-243.
- Roca, I., Espinal, P., Vila-Farrés, X. and Vila, J., 2012. The *Acinetobacter baumannii* oxymoron: commensal hospital dweller turned pan-drug-resistant menace, Front. Microbiol., 3, 148.
- Rodriguez-Bano, J., Marti, S., Soto, S., Fernandez-Cuenca, F., Cisneros, J. M., Pachon, J., et al., 2008. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: associated features and clinical implications, Clin. Microbiol. Infect., 14, 276–278.
- Roier, S., Zingl, F. G., Cakar, F., Durakovic, S., Kohl, P., Eichmann, T. O., et al., 2016. A novel mechanism for the biogenesis of outer membrane vesicles in gram-negative bacteria, Nat. Commun., 7, a10515.
- Rossolini, G. M. and Mantengoli, E., 2008. Antimicrobial resistance in Europe and its potential impact on empirical therapy, Clin. Microbiol. Infect., 14(Suppl. 6), 2–8.
- Ruiz, J., Pons, M. J. and Gomes, C., 2012. Transferable mechanisms of quinolone resistance, International journal of antimicrobial agents, 40, 3, 196-203.
- Rumbo, C., Tomás, M., Fernández Moreira, E., Soares, N. C., Carvajal, M., Santillana, E., et al., 2014. The *Acinetobacter baumannii* Omp33-36 porin is a virulence factor that

- induces apoptosis and modulates autophagy in human cells, Infect. Immun., 82, 4666–4680.
- Rumbo, C., Fernández-Moreira, E., Merino, M., Poza, M., Mendez, J. A., Soares, N. C., et al., 2011. Horizontal transfer of the OXA-24 carbapenemase gene via outer membrane vesicles: a new mechanism of dissemination of carbapenem resistance genes in *Acinetobacter baumannii*, Antimicrob. Agents Chemother., 55, 3084–3090.
- Russo, T. A., Luke, N. R., Beanan, J. M., Olson, R., Sauberman, S. L., MacDonald, U., Schultz, L. W., Umland, T. C. and Campagnari, A. A., 2010. The K1 capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* strain 307-0294 is a major virulence factor, Infect. Immun., 78, 3993–4000.
- Rutherford, S. T. and Bassler, B. L., 2012. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control, Cold Spring Harb. Perspect. Med., 2, a012427.
- Saha, R., Saha, N., Donofrio, R. S. and Bestervelt, L. L., 2013. Microbial siderophores: a mini review, J. Basic Microbiol., 53, 303–317.
- Saipriya, K., Swathi, C. H., Ratnakar, K. S. and Sritharan, V., 2020. Quorum-sensing system in *Acinetobacter baumannii*: a potential target for new drug development, J. Appl. Microbiol., 128, 15–27.
- Salloum, S., Michel, T.A.W.K. and Tayyara, L., 2020. Bacterial resistance to antibiotics and associated factors in two hospital centers in Lebanon from January 2017 to June 2017, Infection Prevention in Practice, 2, 2, 100043.
- Santajit, S. and Indrawattana, N., 2016. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens, BioMed research international, 2016:2475067.
- Sarkar, S. and Chakraborty, R., 2008. Quorum sensing in metal tolerance of *Acinetobacter junii* BB1A is associated with biofilm production, FEMS Microbiol. Lett., 282, 160–165.
- Sato, K. and Nakae, T., 1991. Outer membrane permeability of *Acinetobacter calcoaceticus* and its implication in antibiotic resistance, J. Antimicrob. Chemother., 28, 35–45.
- Sauvage, E. and Terrak, M., 2016. Glycosyltransferases and Transpeptidases/Penicillin-Binding Proteins: Valuable Targets for New Antibacterials, Antibiotics, 5, 1, 12.
- Sauvage, E., Kerff, F., Terrak, M., Ayala, J. and Charlier, P., 2008. The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis, FEMS Microbiol. Rev., 32, 2, 234–58.
- Sawa, T., Kooguchi, K. and Moriyama, K., 2020. Molecular diversity of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance, J. intensive care, 8, 13.
- Scheffers, D.J. and Pinho, M.G., 2005. Bacterial cell wall synthesis: new insights from localization studies, Microbiol. Mol. Biol. Rev., 69, 585–607.

- Schmiel, D. H. and Miller, V. L., 1999. Bacterial phospholipases and pathogenesis, Microbes Infect., 1, 1103–1112.
- Schreckenberger, P.C., Daneshvar, M.I., Weyant, R.S. and Hollis, D.G., 2003. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and other nonfermentative Gram-negative rods, Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Tenover, M.A., Tenover, R.H., eds., *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. Washington, DC, ASM Press, 44.
- Seifert, H., Dijkshoorn, L., Gerner-Smidt, P., Pelzer, N., Tjernberg, I. and Vaneechoutte, M., 1997. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods, J. Clin. Microbiol., 35, 2819–2825.
- Shaikh, S. A., Jain, T., Sandhu, G., Latha, N., and Jayaram, B., 2007. From drug target to leads-sketching a physicochemical pathway for lead molecule design in silico, Current pharmaceutical design, 13, 34, 3454- 3470.
- Shapiro, J. A. and Wencewicz, T. A., 2016. *Acinetobactin* isomerization enables adaptive iron acquisition in *Acinetobacter baumannii* through pH-triggered siderophore swapping, ACS Infect. Dis., 2, 157–168.
- Sharif, M., Mirnejad, R., Amirmozafari, N.: Molecular identification of TEM and SHV extended spectrum  $\beta$ lactamase in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from Tehran hospitals, Journal of Genes, Microbes and Immunity, 2014, 1-9.
- Sharkey, L. K. and O'Neill, A. J., 2019. Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance Part II. Bacterial Resistance to Antibiotics From Molecules to Man, 27-50.
- Shimose, L.A., Masuda, E., Sfeir, M., et al., 2016. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: concomitant contamination of air and environmental surfaces, Infect Control Hosp Epidemiol., 37, 7, 777–781.
- Siibak, T., 2011. Effect of antibiotics on ribosome assembly is indirect, Institute of Molecular and Cell Biology, University of Tartu, Estonia, 134s.
- Silva, L., Mourão, J., Grosso, F. and Peixe, L., 2018. Uncommon carbapenemase-encoding plasmids in the clinically emergent *Acinetobacter pittii*, J Antimicrob Chemother, 73, 1, 52-56.
- Siroy, A., Molle, V., Lemaître-Guillier, C., Vallenet, D., Pestel- Caron, M., Cozzzone, A.J., Jouenne, T., Dé, E., 2005. Channel formation by CarO, the carbapenem resistance-associated outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii*, Antimicrob Agents Chemother., 49, 4876-4883.
- Sivagami, K., Vignesh, V. J., Srinivasan, R., Divyapriya, G. and Nambi, I. M., 2020. Antibiotic usage, residues and resistance genes from food animals to human and environment: An Indian scenario, Journal of Environmental Chemical Engineering, 8, 1, 102221.

- Skiebe, E., et al., 2012. Surface-associated motility, a common trait of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*, depends on 1,3-diaminopropane, Int. J. Med. Microbiol., 302, 117–128.
- Smith, M. G., Gianoulis, T. A., Pukatzki, S., Mekalanos, J. J., Ornston, L. N., Gerstein, M., et al., 2007. New insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenesis revealed by high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis, Genes Dev., 21, 601–614.
- Southon, S. B., Beres, S. B., Kachroo, P., Saavedra, M. O., Erlendsdottir, H., Haraldsson, G., ... and Kristinsson, K.G., 2020. Population genomic molecular epidemiological study of macrolide resistant *Streptococcus pyogenes* in Iceland, 1995- 2016: Identification of a large clonal population with a pbp2x mutation conferring reduced in vitro beta-lactam susceptibility, J Clin Microbiol., 58, 9, 00638-20.
- Spratt, B.G., 2004. Exploring the concept of clonality in bacteria, Methods Mol Biol., 266, 323–352.
- Stahl, J., Bergmann, H., Göttig, S., Ebersberger, I. and Averhoff, B., 2015. *Acinetobacter baumannii* virulence is mediated by the concerted action of three phospholipases D, PLoS One, 10, e0138360.
- Stanley, N. and Lazazzera, B. A., 2004. Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation, Mol. Microbiol., 52, 917–924.
- Stirland, R.M., Hillier, V.F. and Steyger, M.G., 1969. Analysis of hospital bacteriological data, J Clin Pathol Suppl Coll Pathol., 3, 82–6.
- Su, X. Z., Chen, J., Mizushima, T., Kuroda, T. and Tsuchiya, T., 2005. AbeM, an H<sup>+</sup>-coupled *Acinetobacter baumannii* multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters, Antimicrob. Agents Chemother., 49, 4362–4364.
- Subashchandrabose, S. et al., 2016. *Acinetobacter baumannii* genes required for bacterial survival during bloodstream infection, mSphere, 1, 1, e00013-15.
- Sun, S., Selmer, M. and Andersson, D.I., 2014. Resistance to b-Lactam Antibiotics Conferred by Point Mutations in Penicillin-Binding Proteins PBP3, PBP4 and PBP6 in *Salmonella enterica*, PLOS ONE, 9, 5, 97202.
- Sutherland, I., 2001. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework, Microbiology, 147, 3–9.
- Tan, J., Tay, J., Hedrick, J. and Yang, Y. Y., 2020. Synthetic macromolecules as therapeutics that overcome resistance in cancer and microbial infection, Biomaterials, 252, 120078.
- Tenover, F.C. and Hughes J.M., 1996. The challenges of emerging infectious diseases development and spread of multiply resistant bacterial pathogens, JAMA, 275, 300-304.

- The Review on Antimicrobial Resistance, 2014. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations, The Review on Antimicrobial Resistance Chaired by Jim O'Neill December, 20s.
- Theuretzbacher, U., Bush, K., Harbarth, S., Paul, M., Rex, J. H., Tacconelli, E. and Thwaites, G. E., 2020. Critical analysis of antibacterial agents in clinical development, Nature Reviews Microbiology, 18, 286–298.
- Thompson, M. G. et al., 2014. Validation of a novel murine wound model of *Acinetobacter baumannii* infection, Antimicrob. Agents Chemother., 58, 1332–1342.
- Tipton, K. A. and Rather, P. N., 2016. An ompR-envZ two-component system ortholog regulates phase variation, osmotic tolerance, motility, and virulence in *Acinetobacter baumannii* strain AB5075, J. Bacteriol., 199, e00705-16.
- Tognim, M.C.B., Andrade, S.S., Silbert, S., Gales, A.C., Jones, R.N. and Sader, H.S., 2004. Resistance trends of *Acinetobacter* spp. in Latin America and characterization of international dissemination of multi-drug resistant strains: five-year report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, Int J Infect Dis., 8, 284–91.
- Tomaras, A. P., Flagler, M. J., Dorsey, C. W., Gaddy, J. A. and Actis, L. A., 2008. Characterization of a two-component regulatory system from *Acinetobacter baumannii* that controls biofilm formation and cellular morphology, Microbiology, 154, 3398–3409.
- Tomaras, A., Dorsey, C., Edelmann, R. and Actis, L., 2003. Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system, Microbiology, 149, 3473–3484.
- Topal, M., Uslu Şenel, G., Arslan Topal, E.I. ve Öbek, E., 2015. Antibiyotikler ve kullanım alanları, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 31, 3, 121-127.
- Tóth, S., Szepesi, Á., Tran-Nguyen, V. K., Sarkadi, B., Németh, K., Falson, P., ... and Boumendjel, A., 2020. Synthesis and Anticancer Cytotoxicity of Azaaurones Overcoming Multidrug Resistance, Molecules, 25, 3, 764.
- Turton, J. F., Ward, M. E., Woodford, N., Kaufmann, M. E., Pike, R., Livermore, D. M., et al., 2006. The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*, FEMS Microbiol. Lett., 258, 72–77.
- Upadhyay, S., Khyriem, A.B., Bhattacharya, P., Bhattacharjee, A. and Joshi, S.R., 2018. High-Level Aminoglycoside Resistance in *Acinetobacter baumannii* Recovered from Intensive Care Unit Patients in Northeastern India, Indian J. Med. Microbiol., 36, 43–48.
- Urban, C., Go, E., Mariano, N. and Rahal, J. J., 1995. Interaction of sulbactam, clavulanic acid and tazobactam with penicillin-binding proteins of imipenem-resistant and-susceptible *Acinetobacter baumannii*, FEMS Microbiol. Lett., 125, 193–197.

- Valencia, R., Arroyo, L.A., Conde, M., et al., 2009. Nosocomial Outbreak of Infection With Pan-Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in a Tertiary Care University Hospital, Infect Contr Hosp Ep., 30, 3, 257-63.
- Vallenet, D., Nordmann, P., Barbe, V., Poirel, L., Mangenot, S., Bataille, E., Dossat, C., Gas, S., Kreimeyer, A., Lenoble, P., Oztas, S., Poulain, J., Segurens, B., Robert, C., Abergel, C., Claverie, J. M., Raoult, D., Medigue, C., Weissenbach, J. and Cruveiller, S., 2008. Comparative analysis of *Acinetobacter*: three genomes for three lifestyles, PLoS ONE, 3, e1805.
- van Dessel, H., Dijkshoorn, L., van der Reijden, T., Bakker, N., Paauw, A., van den Broek, P., et al., 2004. Identification of a new geographically widespread multiresistant *Acinetobacter baumannii* clone from European hospitals, Res Microbiol., 155, 105–112.
- Vila, J., Martí, S., Sánchez-Céspedes, J., 2007. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*, J Antimicrob Chemother., 59, 1210-1215.
- Vila, J., Navia, M., Ruiz, J. and Casals, C., 1997a. Cloning and nucleotide sequence analysis of a gene encoding an OXA-derived beta- lactamase in *Acinetobacter baumannii*, Antimicrob Agents Chemother., 41, 2757-2759.
- Vila, J., Ruiz, J., Goni, P. and Jimenez de Anta, T., 1997b. Quinolone-resistance mutations in the topoisomerase IV parC gene of *Acinetobacter baumannii*, J. Antimicrob. Chemother., 39, 757–762.
- Vijayakumar, S., Rajenderan, S., Laishram, S., Anandan, S., Balaji, V. and Biswas I., 2016. Biofilm Formation and Motility Depend on the Nature of the *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates, Front Public Healt., 24, 4, 105.
- Waglechner, N. and Wright, G. D., 2017. Antibiotic Resistance: It's Bad, but Why Isn't it Worse?, BMC biology, 15, 1, 1-8.
- Walther-Rasmussen, J. and Høiby, N., 2006. OXA-type carbapenemases, J. Antimicrob. Chemother., 2006; 57, 373-383.
- Wang, X., Qiao, F., Yu, R., Gao, Y. and Zong, Z., 2013. Clonal diversity of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates revealed by a snapshot study, BMC Microbiol., 13, 234.
- Wang, N., Ozer, E. A., Mandel, M. J. and Hauser, A. R., 2014. Genome-wide identification of *Acinetobacter baumannii* genes necessary for persistence in the lung, mBio, 5, e01163-14.
- Weber, B. S., Kinsella, R. L., Harding, C. M. and Feldman, M. F., 2017. The secrets of *Acinetobacter* secretion, Trends Microbiol., 25, 532–545.
- Weber, B. S., Harding, C. M. and Feldman, M. F., 2016. Pathogenic *Acinetobacter*: from the cell surface to infinity and beyond, J. Bacteriol., 198, 880–887.
- Weber, B. S., et al., 2013. Genomic and functional analysis of the type VI secretion system in *Acinetobacter*, PLoS ONE, 8, e55142.

- Wendt, C., Dietze, B., Dietz, E. and Ruden, H., 1997. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces, J. Clin. Microbiol., 35, 1394–1397.
- Whitehead, N. A., Barnard, A. M., Slater, H., Simpson, N. J. and Salmond, G. P., 2001. Quorum-sensing in Gram-negative bacteria, FEMS Microbiol. Rev., 25, 365–404.
- Whitfield, C. and Trent, M. S., 2014. Biosynthesis and export of bacterial lipopolysaccharides, Annu. Rev. Biochem., 83, 99–128.
- Wilharm, G., Piesker, J., Laue, M. and Skiebe, E., 2013. DNA uptake by the nosocomial pathogen *Acinetobacter baumannii* occurs during movement along wet surfaces, J. Bacteriol., 195, 4146–4153.
- Woodford, N., Ellington, M.J., Coelho, J.M., Turton, J.F., Ward, M.E., Brown, S., Amyes, S.G.B. and Livermore, D.M., 2006. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp., International journal of antimicrobial agents, 27, 4, 351-353.
- World Health Organization, 2014. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance, WHO, Geneva, Switzerland, 10s.
- Wroblewska, M. M., Towner, K. J., Marchel, H. and Luczak, M., 2007. Emergence and spread of carbapenem-resistant strains of *Acinetobacter baumannii* in a tertiary-care hospital in Poland, Clin. Microbiol. Infect., 13, 490–496.
- Wroblewska, M., Sawicka-Grzelak, A., Luczak, M. and Sivan, A., 2008. Biofilm production by clinical strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from patients hospitalized in two tertiary care hospitals, FEMS Immunol. Med. Microbiol., 53, 140–144.
- Wu, X., Chavez, J. D., Schweppe, D. K., Zheng, C., Weisbrod, C. R., Eng, J. K., et al., 2016. In vivo protein interaction network analysis reveals porin-localized antibiotic inactivation in *Acinetobacter baumannii* strain AB5075, Nat. Commun., 7, 13414.
- Yoon, E.-J., Balloy, V., Fiette, L., Chignard, M., Courvalin, P. and Grillot-Courvalin, C., 2016. Contribution of the Ade resistance-nodulation-cell division-type efflux pumps to fitness and pathogenesis of *Acinetobacter baumannii*, MBio, 7, e00697–e00716.
- Yum, J.H., Yi, K., Lee, H., Yong, D., Lee, K., Kim, J.M., Rossolini, G.M. and Chong, Y., 2002. Molecular characterization of metallo-beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomospecies 3 from Korea: identification of two new integrons carrying the *bla(VIM-2)* gene cassettes, J Antimicrob Chemother., 49, 837-840.
- Yüce A., 2001. Antimikrobiyal ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları, Klinik Dergisi, 14, 41-46.
- Zarrilli, R., Pournaras, S., Giannouli, M. and Tsakris, A., 2013. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages, Int J Antimicrob Agents, 41, 11–19.

- Zeighami, H., Valadkhani, F., Shapouri, R., Samadi, E. and Haghi, F., 2019. Virulence characteristics of multidrug resistant biofilm forming *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit patients, BMC Infect Dis., 19, 1, 629.
- Zhanel, G. G., Esquivel, J., Zelenitsky, S., Lawrence, C. K., Adam, H. J., Golden, A., ... and Bay, D., 2020. Omadacycline: A Novel Oral and Intravenous Aminomethylcycline Antibiotic Agent, Drugs, 80, 3, 285-313.
- Zhang, D., Xia, J., Xu, Y., Gong, M., Zhou, Y., Xie, L. and Fang, X., 2016. Biological features of biofilm-forming ability of *Acinetobacter baumannii* strains derived from 121 elderly patients with hospital-acquired pneumonia, Clin Exp Med., 16, 1, 73-80.
- Zimble, D. L., Park, T. M., Arivett, B. A., Penwell, W. F., Greer, S. M., Woodruff, T. M., et al., 2012. Stress response and virulence functions of the *Acinetobacter baumannii* NfuA Fe-S scaffold protein, J. Bacteriol., 194, 2884–2893.

## ÖZGEÇMİŞ

İlköğretimini İstanbul Sultanbeyli Merkez İlköğretim Okulu'nda 2010 yılında tamamladı. 2014 yılında İstanbul Sultanbeyli Kız Anadolu İmam- Hatip Lisesi'nde lise eğitimini tamamladı. 2014 yılında Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2014- 2015 eğitim ve öğretim yılını Balıkesir Üniversitesi'nde tamamladıktan sonra, 2015- 2016 güz yarısında ortalamaya göre yatay geçiş programı ile Gebze Teknik Üniversitesi Temel Bilimler Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'ne geçiş yaptı. Lisans eğitimini 2018 yılında tamamlayarak mezun oldu. 2019 yılında Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. İyi seviyede mesleki İngilizce bilmektedir.

## Makaleler

Çimen, M. and Özad Düzgün, A. 2021. Antibiotic induced biofilm formation of novel multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* ST2121 clone, Acta Microbiol Immunol Hung, 68, 2, 80-86.