

**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**IRAKLI HASTALARIN KLİNİKTE İZOLE EDİLEN ÇOKLU İLACA
DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII* SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK
DİRENÇ GENLERİNİN BELİRLENMESİ**

Amenah Mohammed Zuhdi Jalal AL-OBEIDA

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ÇANKIRI
2023**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Amenah Mohammed Zuhdi Jalal AL-OBEIDA tarafından hazırlanan “**İraklı Hastaların Klinikte İzole Edilen Çoklu İlaça Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi**” adlı tez çalışması 09/08/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Özgür KUZUKIRAN

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Jaleel SAMANJE

Jüri Üyeleri:

Başkan : Prof. Dr. Oğuz KUL
Patoloji Anabilim Dalı
Kırıkkale Üniversitesi

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

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

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hamit ALYAR

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “**Traklı Hastaların Klinikte İzole Edilen Çoklu İlaça Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi**” konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (09/08/2023).

Amenah Mohammed Zuhdi Jalal AL-OBEIDA

ÖZET

IRAKLI HASTALARIN KLİNİKTE İZOLE EDİLEN ÇOKLU İLACA DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII* SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN BELİRLENMESİ

Amenah Mohammed Zuhdi Jalal AL-OBEIDA

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özgür KUZUKIRAN
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Jaleel SAMANJE

Acinetobacter baumannii, ticari olarak mevcut birçok antibiyotiğe karşı çoklu ilaç direnci eğiliminin yüksek olması nedeniyle yoğun bakım ünitelerindeki (YBÜ) hastalar için ciddi bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Araştırma için Ekim-Aralık 2022 tarihleri arasında Erbil şehrinde bulunan iki ayrı hastaneden toplam 150 örnek toplandı. Bakteriyel izolasyon ve tanımlama esas olarak geleneksel yöntemler kullanılarak gerçekleştirildi. Otuz iki izolat *A. baumannii* olarak tanımlandı ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniği kullanılarak teyit edildi. *A. baumannii* izolatlarının yanık örneklerinde 16 (%51,6), yara sürüntülerinde 9 (%29) ve balgam örneklerinde 6 (%19,3) yaygınlık gösterdiği tespit edildi. Bu izolatlar, rifampisin (%100), piperasilin, seftazidim (%93,7), tetrasiklin (%90,3), tigesiklin, amikasin, levofloksasin, gentamisin ve klaritromisin (%87,1), piperasilin/tazobaktam (%83,9), ampisilin/sülbaktam ve trimetoprim/ sülfametoksazol (%77,4), meropenem ve imipenem (%74,2) gibi çeşitli antibiyotiklere karşı yüksek direnç oranları sergiledi. Bununla birlikte, *A. baumannii* izolatları polimiksin B'ye hiç direnç göstermedi. İzolatların %6,25'inde çoklu ilaç direnci tespit edilirken, %84,37'sinde yaygın ilaç direnci gözlemlendi. Tetrasikline dirençli olan *A. baumannii* izolatlarının %55'inde *tet(A)* geni, izolatların %85'inde karbapenem direnci geni (*blaOXA-51*) bulundu. Ayrıca, izolatların %65'inde *qnr* geni bulundu. Polimiksin B, *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisi için umut verici bir alternatif olarak belirlendi.

ANAHTAR KELİMELEER: *A. baumannii*, *blaOXA-51*, Direnç, Polymyxin B, *tet (A)*



ABSTRACT

Master of Science Thesis

IDENTIFICATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES IN MULTI-DRUG RESISTANT *ACINETOBACTER BAUMANNII* CLINICAL ISOLATES OF IRAQI PATIENTS

Amenah Mohammed Zuhdi Jalal AL-OBEIDA

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

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Özgür KUZUKIRAN
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Jaleel SAMANJE

Acinetobacter baumannii is recognized as a significant healthcare challenge for patients in intensive care units (ICUs) due to its high propensity for multidrug resistance against a wide range of commercially available antibiotics. A total of 150 samples were collected from two distinct hospitals in Erbil city between October and December 2022. Bacterial isolation and identification were primarily carried out using conventional methodologies. Thirty-two isolates were identified as *A. baumannii*, and their confirmation was achieved using the polymerase chain reaction (PCR) technique. The prevalence of *A. baumannii* isolates was as follows: 16 (51.6%) in burn samples, 9 (29%) in wound swabs, and 6 (19.3%) in sputum samples. These isolates exhibited high resistance rates against various antibiotics, including rifampin (100%), piperacillin, ceftazidime (93.7%), tetracycline (90.3%), tigecycline, amikacin, levofloxacin, gentamycin, and clarithromycin (87.1%), piperacillin/tazobactam (83.9%), ampicillin/sulbactam, and trimethoprim/ sulfamethoxazole (77.4%), meropenem, and imipenem (74.2%). However, *A. baumannii* isolates did not exhibit resistance to polymyxin B. Multidrug resistance was detected in 6.25% of the isolates, while extensive drug resistance was observed in 84.37%. Among the *A. baumannii* isolates resistant to tetracycline, 55% carried the *tet(A)* gene, while 85% of the isolates harbored the carbapenem resistance gene (*blaOXA-51*). Furthermore, the *qnr* gene was found in 65% of the isolates. Polymyxin B was identified as a promising alternative for the treatment of *A. baumannii* infections.

2023, 54 pages

Keywords: : *A. baumannii*, *blaOXA-51*, Polymyxin B, Resistance, *tet (A)*



ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Doç Dr. Özgür KUZUKIRAN ve eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Jaleel SAMANJE'ye sabırları, rehberlikleri ve anlayışları için teşekkür ederim.

Hayatımın tüm zorluklarını benimle birlikte yaşayan ve hayatımın her aşamasında bana destek olan anne babama, ayrıca yanımda olan, destek olan, cesaret veren harika ve asil insan, sevgili eşime teşekkür ederim. tüm zorlukların ve zorlukların önünde. Bilimsel kariyerime devam etmemde bana verdiği destekten dolayı Najat teyzeme de ayrıca teşekkür ederim. Son olarak, üniversitemdeki tüm hocalarımızın ve yardımlarını unutmayacağım, onlarsız bu aşamaya gelmem mümkün olmazdı. Hepsine teşekkür ederim.

Amenah Mohammed Zuhdi Jalal AL-OBEIDA

Çankırı,

Ağustos

2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER DİZİNİ	vii
KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1 <i>Acinetobacter</i> Cinsi.....	3
2.2 <i>Acinetobacter</i> Türlerinin Genel Özellikleri.....	3
2.3 Virülens Faktörleri.....	4
2.3.1 Dış zar proteinleri	4
2.3.2 Lipopolisakkarit, lipooligosakkarit ve kapsül.....	5
2.3.3 Fosfolipazlar	5
2.3.4 Salgılama sistemleri.....	6
2.3.5 Dışa akış sistemleri	6
2.3.6 Dış zar vezikülleri	7
2.4 <i>Acinetobacter baumannii</i> 'de Antibiyotik Direnci	7
2.4.1 B-laktamlar	9
2.4.2 Aminoglikozitler	10
2.4.3 Tetrasiklinler ve glisinler	10
2.4.4 Polimiksinler	10
2.4.5 Florokinolonlar	11
2.4.6 Folik asit sentezi inhibitörleri.....	11
2.4.7 Kombinasyon tedavileri	11
2.5 <i>A. baumannii</i> 'yi Tanımlamak İçin Geleneksel Yöntemler	12
2.6 <i>A. baumannii</i> 'nin Moleküler Teşhisi	13
2.6.1 16S rRNA geni.....	13

2.6.2 <i>blaOXA-51</i> geni	13
2.6.3 <i>tet</i> genleri.....	14
2.6.4 <i>qnr</i> geni	15
3. MATERYAL VE METOT	16
3.1 Materyal	16
3.2 Sterilizasyon.....	19
3.3 Besi Yerlerinin Hazırlanması.....	19
3.3.1 HiCrome agar.....	19
3.3.2 Kanlı agar	19
3.3.3 Üre agar	19
3.3.4 Ayıraçların hazırlanması	20
3.3.5 Tampon çözeltilerin hazırlanması.....	20
3.4 <i>Acinetobacter baumannii</i> 'nin İzolasyonu ve Tanımlanması.....	21
3.4.1 Morfolojik tanı	21
3.4.2 Mikroskopik tanı	22
3.4.3 Laktoz fermentasyonu.....	22
3.4.4 44°C'de üreme	22
3.5 API 20E	22
3.6 VITEK®2 Sistemi	23
3.7 Antibiyotik Duyarlılık Çalışması.....	23
3.8 Moleküler Analizler	24
3.8.1 DNA ekstraksiyonu.....	24
3.8.2 DNA konsantrasyonu ve saflığının hesaplanması.....	24
3.8.3 Primerlerin hazırlanması.....	24
3.8.4 Jel elektroforezin hazırlanması	26
3.9 İstatistik Analiz	26
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	27
4.1 İzolasyon Bulguları	27
4.2 Biyokimyasal Test Bulguları	29
4.3 Klinik Bulgular.....	30
4.4 Antibiyotik Duyarlılığı Bulguları	31
4.5 Jel Elektroforez Bulguları	34

5. SONUÇ VE ÖNERİLER	37
KAYNAKLAR	38
EKLER.....	50
ÖZGEÇMİŞ.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.



SİMGELER DİZİNİ

dk	Dakika
g	Gram
L	Litre
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
sn	Saniye



KISALTMALAR DİZİNİ

ABC	ATP bağlama kaseti
ACB	<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> kompleksi
API	Analitik Profil İndeksi
CLSI	Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü
LOS	Lipoolgiosakkarit
LPS	Lipopolisakkarit
MDR	Çoklu ilaç direnci
OMP	Dış zar proteinleri
OmpA	Dış zar proteini A
OMV	Dış zar vezikülleri
PDR	Tüm ajanlara dirençli
RND	Direnç nodülasyon bölünmesi
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
<i>Tet</i>	Tetrasiklin direnç geni
XDR	Yüksek oranda ilaca dirençli

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Çoklu ilaç akış pompaları (Yılmaz and Özcengiz 2017).....	7
Şekil 2.2 <i>A. baumannii</i> tedavisinde kullanılan antibiyotikler (Sehree <i>et al.</i> 2021).....	8
Şekil 4.1 <i>A. baumannii</i> kolonileri (A): Kanlı Agar, (B): MacConkey Agar.....	28
Şekil 4.2 HiCrome agardaki <i>A. baumannii</i> izolatu ve ATTC19906 suşu üremesi	28
Şekil 4.3 <i>A. baumannii</i> 'lerin ışık mikroskobundaki görüntüsü	29
Şekil 4.4 <i>A. baumannii</i> izolatlarında antibiyotik direnç modeli	34
Şekil 4.5 <i>A. baumannii</i> izolatlarının jel elektroforez sonuçları.....	34
Şekil 4.6 <i>blaOXA-51</i> geni elektroforez sonuçları	35
Şekil 4.7 <i>tetA</i> ve <i>tetB</i> jel elektroforez sonuçları.....	35
Şekil 4.8 <i>qnrA</i> geni jel elektroforez sonucu	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Alet ve ekipman bilgileri	16
Çizelge 3.2 Kullanılan besiyerleri.....	17
Çizelge 3.3 Kimyasallara ait bilgiler.....	17
Çizelge 3.4 Antibiyotik direnci çalışmasında kullanılan malzemeler.....	18
Çizelge 3.5 Konvansiyonel PCR primerleri.....	18
Çizelge 3.6 PCR reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve miktarları	25
Çizelge 3.7 16S rRNA PCR reaksiyonunda kullanılan termal döngü programı.....	25
Çizelge 4.1 Gram negatif izolatlarda tür ve dağılım	27
Çizelge 4.2 <i>A. baumannii</i> izole edilen vakalar.....	30
Çizelge 4.3 İzolatların yaş grupları ve vaka türüne göre dağılımı	31
Çizelge 4.4 Vakalara göre kadın ve erkek hastalarda izolat dağılımı	31
Çizelge 4.5 <i>A. baumannii</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılığı.....	32

1. GİRİŞ

Acinetobacter baumannii (*A. baumannii*), laktozu fermente etmeyen, oksidaz negatif, ve insanlarda fırsatçı ekstraselüler patojen olan bir aerobik basıldır. Özellikle hastane yoğun bakım ünitelerinde (ICU) nosokomiyal enfeksiyonlara neden olmaktadır (Ioannou *et al.* 2020). Bu bakteri özellikle yanık ünitelerine ve yoğun bakıma kabul edilen hastalarda üriner sistem enfeksiyonu, bakteremi, sekonder menenjit, yumuşak doku enfeksiyonu, cilt enfeksiyonu, nosokomiyal ve ventilatör ilişkili pnömoni gibi çeşitli enfeksiyonlara da neden olabilir (Liu *et al.* 2017). *Acinetobacter* bakterileri 50'den fazla türde tespit edilmiştir ve bu cinsin önemli bir yüzdesi patojenik olmayanlardır (Harding *et al.* 2018). Bununla birlikte, *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* kompleksi (ACB), filogenetik olarak ilişkili organizmaların bir grubu olarak tanımlanmış ve hastalık nedenlerinden biri olarak belirlenmiştir. *A. baumannii*, cins içindeki bakteriyel patojenler arasında en belirgin ve saldırgan etkidir; ACB kompleksi tarafından üretilen hastalıklar genellikle *A. baumannii* hastalıkları olarak adlandırılmaktadır (Fitzpatrick *et al.* 2016).

Son zamanlarda, *A. baumannii*'nin iki önemli insan patojenesiyle ilişkilendirildiği belirtilmiştir. Bunlardan ilki katı yüzeylerde uzun süre canlı kalabilmesi, ikincisi ise birçok antimikrobiyale, özellikle karbapenemlere karşı çoklu ilaç direncine (MDR) sahip olmasıdır. *A. baumannii*'nin kolonizasyonu, özellikle uzun süreli hastane yatışı veya geniş spektrumlu antibiyotik veya kemoterapötik kullanımı olan hastalarda artmaktadır. *A. baumannii*, özellikle kinolonlar, aminoglikozidler ve geniş spektrumlu β -laktamlar olmak üzere neredeyse yaygın olarak kullanılan tüm antibiyotiklere karşı direnç kazanmıştır (Vahhabi *et al.* 2021). Karbapenemler, *A. baumannii*'nin tedavisi için son seçenek olarak kabul edilirken, bu antimikrobiyallere direnç küresel olarak hızla artmaktadır (Alqumaizi *et al.* 2022). *A. baumannii* suşlarında karbapeneme direnç, karbapenemi hidroliz eden oksasilinazlar ve moleküler sınıf B metallo-beta laktamazlar olmak üzere iki tür beta-laktamazdan kaynaklanabilir. En yaygın beta-laktamazlar moleküler sınıf D'ye dahil karbapenemi hidroliz eden oksasilinazlardır (Ghaima *et al.* 2015). Bunlar çekirdek genom içinde doğal olarak bulunabilmektedir. Buna örnek

olarak *A. radioresistence*'de OXA-23, *A. baumannii*'de OXA-51 ve *Acinetobacter lwoffii*'de OXA-134 verilebilir (Mitchell and Leonard 2014). *A. baumannii*'de karbapenem direnci, porinler aracılığıyla hücre duvarının düşük geçirgenliği, efüzyon pompalarının artmış üretimi ve β -laktamazların varlığı gibi birçok mekanizmanın birlikte etkisiyle oluşmaktadır (Liu *et al.* 2017). MDR'nin altında yatan nedenlerden biri, etkinliklerinin mikroorganizmalardan dışarı pompalanmasıdır. Tetrasiklin direnci üreten efüzyon pompasını kodlayan çeşitli *tet* gen türleri bulunmaktadır. Bunların en yaygın olanları *tetA* ve *tetB* genleridir. *A. baumannii*, çeşitli mekanizmalar sayesinde florokinolonlara dirençlidir. Bu yollardan biri *qnr* geninin varlığıdır. Plazmid *qnr* genleri olan *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS*, intravenöz DNA giraz ve topoizomerası florokinolon inaktivasyonundan koruyan pentapeptid tekrarlayan aile proteinlerini kodlamaktadır (Venkataramana *et al.* 2022).

Bu araştırmada idrar yolları enfeksiyonu, yara ve yanık vakalarından izole edilen *A. baumannii*'de bazı bazı antibiyotiklere karşı direncinin araştırılmasıdır. Bu amaçla *bla* OXA-51, *tetA* ve *tetB* genlerinin varlığına bakılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 *Acinetobacter* Cinsi

Acinetobacter cinsinin taksonomik geçmişi oldukça zorlu oldu; bilimsel çalışmalar, *Acinetobacter* cinsinin *Moraxellaceae* ailesinin bir üyesi olduğunu ve *Gammaproteobacteria* alt sınıfıyla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Imperi *et al.* 2011).

1992 yılında yayınlanan bir araştırma, ACB kompleksinin 4 türe ayrıldığını duyurmuştur (Gerner-Smidt 1992). Bu genomik türler *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. pittii* ve *A. nosocomialis* olup, bunları fenotipik olarak ayırt etmek zordur (Moubareck and Halat 2020).

Acinetobacter cinsinden 5 tür; *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*, *A. seifertii* ve *A. dijkshoorniae*, insanlar için patojen olarak tanımlanmıştır. Öte yandan çevrede birlikte var olan patojen olmayan suşlar, genellikle topraktan izole edilmektedir (Nemec *et al.* 2015, Cosgaya *et al.* 2016).

ACB, bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerdeki hastanede enfeksiyonlarının yaklaşık %80'ini oluşturan en tehlikeli tür olarak kabul edilmektedir (Bagudo *et al.* 2020b).

2.2 *Acinetobacter* Türlerinin Genel Özellikleri

Acinetobacter türleri homojen olmayan Gram negatif pleomorfik kokobasillerdir. Ayrıca, MacConkey agarda laktoz fermente etmeyen ve hemolitik olmayan; kanlı agarda bazen hemolitik, dış bükey ve yuvarlak koloniler oluşturan, katalaz pozitif ve oksidaz negatif hareketsiz bakterilerdir (Nguyen and Joshi 2021). Çoğu *Acinetobacter* spp. büyümek için 37°C'lik bir sıcaklığı tercih ederken, *A. baumannii* 44°C'de de gelişebilir (Lahiri *et al.* 2004, Asif *et al.* 2018). Bu organizmalar spor veya kamçı üretemezler (Peleg *et al.* 2008). Fimbriaların polar özelliğinden dolayı bazı

Acinetobacter türleri, seğirme motilitesi olarak bilinen bir yüzey üzerinde sürünerek hareket eder (Abdullah and Tarık 2019). Laktoz, galaktoz, glikoz, mannoz, ksiloz ve rhamnoz, çoğu *Acinetobacter* spp. tarafından kullanılan şekerlerdir. Simon'ın sitrat testini geçebilirler, ancak sukroz veya Mannitol'den asit üretemezler. Ayrıca bu organizmalarda eskülin hidrolizi, nitrat, H₂S oluşumu, indol ve Voges Proskauer negatiftir (Sehree *et al.* 2021).

2.3 Virülens Faktörleri

Bazı diğer Gram negatif bakterilerle karşılaştırıldığında *A. baumannii*'nin yalnızca birkaç virülans faktörü vardır. Dış akış pompaları, hemolitik faktörler, demir toplama sistemleri, lipopolisakkaritler ve dış zar proteini A (OmpA), konakçı bağışıklık tepkilerine veya epitel hücrelerine patojenik yapışmaya neden olabilen virülans faktörleridir (Aliramezani *et al.* 2019).

2.3.1 Dış zar proteinleri

Acinetobacter baumannii'de en yüksek oranlı virülans faktörlerinden biri OmpA'dır (Hee *et al.* 2008). Bakteriyel biyofilm üretimine, ökaryotik hücre patojenlerine, antimikrobiyal direnç ve bağışıklık tepkisine aracılık eden bu virülans faktörü, Gram negatif bakterilerde dış zar proteinleri (OMP)'nin ana bileşenidir. *A. baumannii*'nin neden olduğu nozokomiyal pnömoni ve bakteriyeminin ölüm oranı, OmpA'nın aşırı üretiminden bağımsız olarak etkilenmektedir (Sánchez-Encinales *et al.* 2017). OMP'nin özelliklerinden biri, membranda yüksek stabiliteye sahip olması ve son derece zorlu ortamlara dayanabilmesidir (Rollauer *et al.* 2015).

OmpA, *E. coli*'deki OmpF/C gibi diğer önemli porinlerle karşılaştırıldığında *A. baumannii*'nin geçirgenliğindeki düşüşe katkıda bulunan faktörlerden biridir (Sugawara and Nikaido 2012). OmpA'nın dış zar veziküllerinde (OMV) OMP birikimini etkilediğine inanılmaktadır. Bu muhtemelen ompA mutantlarında membran homeostazındaki değişikliklerin sonucunu yansıtmaktadır (Moon *et al.* 2012). OmpA,

diğer *A. baumannii* OMP'lerinde bulunmayan ve DNaz I benzeri konakçı DNA bozulmasına neden olan kendi kendini kodlayan nükleer lokalizasyon sinyali aracılığıyla çekirdeğe de aktarılabilmektedir (Morris *et al.* 2019).

Ek olarak, OmpA sitotoksik özelliklerini ve diğer virülans özelliklerini de modüle etmektedir. Bu özellikler, faktör H bağlanması yoluyla tamamlayıcı aracılı alternatif öldürmeye karşı direnci ve akciğer epitelyal kolonizasyonu için gerekli olan hücre dışı matris proteinlerine (fibronektin dahil) artan yapışmayı içermektedir (Smani *et al.* 2012).

2.3.2 Lipopolisakkarit, lipooligosakkarit ve kapsül

Kapsül, lipopolisakkarit (LPS) ve lipooligosakkarit (LOS), dış zarın diğer elemanları ile birlikte sitoplazmada üretilir ve proteinli mekanizmalar tarafından dış yaprağın hücresel zarfına aktarılır. Lipit A çapası, çekirdek oligosakkaritleri ve "O" antijeni, LPS'nin üç farklı elemanıdır. LOS ise "O" antijeni yerine genişlemiş çekirdek oligosakkaritlerine sahiptir. *A. baumannii* izolatları yüksek moleküler kütleli polisakkarit kapsüller (K1) üretir ve bu kapsüller, konakçının mikrobiyal direncini artıracak bir bağışıklık tepkisinden kaçınmak için bakterileri ortamdaki sert değişikliklerden ayırmak için oluşturulmuştur (Geisinger and Isberg 2015).

2.3.3 Fosfolipazlar

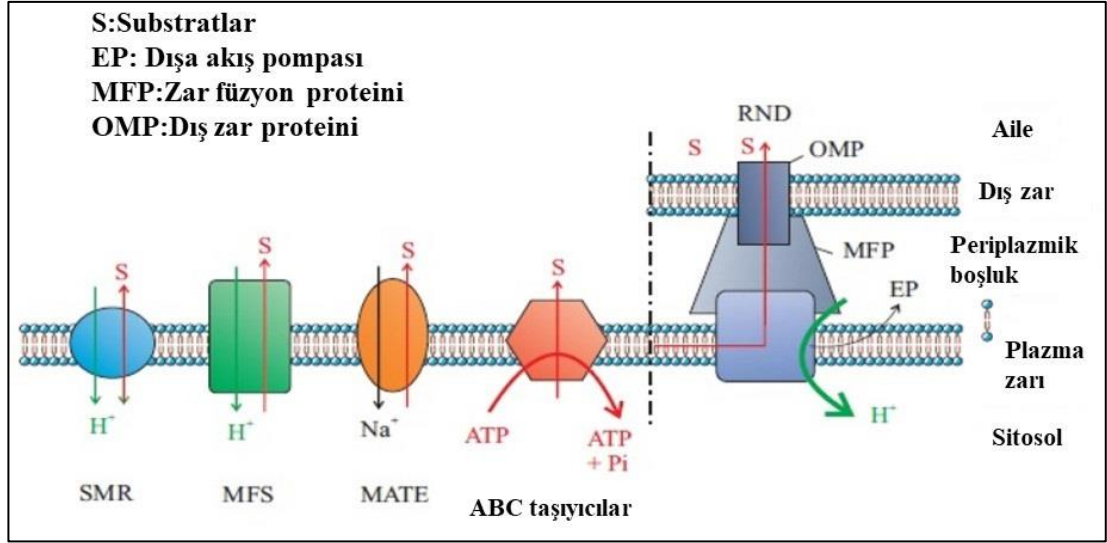
OmpA'nın diğer iyi bilinen virülans faktörlerinden biri, fosfolipaz C ve D gibi iki enzimi kodlayan fosfolipazlardır (Morris *et al.* 2019). İki fosfolipaz C ve üç fosfolipaz D enzimi kodlanır ve bunların tümü ökaryotik zar bileşeni olan fosfatidilkolin substratına özgüdür (Stahl *et al.* 2015, Fiester *et al.* 2016). İlginç bir şekilde, her iki enzimin bu transkripsiyonel düzenlemesi, insan eritrositlerine karşı hemolitik aktivite sergileyen ve demir alımını destekleyen demir alım düzenleyicisi ile ilişkilidir (Fiester *et al.* 2016).

2.3.4 Salgılama sistemleri

Protein salgılama sistemleri, *A. baumannii* tarafından kullanılan diğer prospektif virulent faktörlerini oluşturmaktadır. Patojenin tip I, II, IV, V ve VI sekresyon sistemleri vardır. *Acinetobacter* tarafından kodlanan Tip I Salgı Sistemi (T1SS), proteinleri sitoplazmadan hücre dışı ortama salınan üç bileşenli bir sistem oluşturur (Harding *et al.* 2017). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda *A. baumannii*'nin Tip 2 salgılama sistemi aracılığıyla efektör lipazlar LipA ve LipH ile proteaz CpaA'yı salgıladığı keşfedilmiştir (Harding *et al.* 2016, Tiku 2022).

2.3.5 Dışa akış sistemleri

Dışa akış pompaları, sitoplazmik zar da bulunan protein taşıyıcılardır. Birkaçı enerjilerini adenosin trifosfat hidrolizinden alan ana aktif taşıyıcılardır. Bazıları hücreye pompalanan H^+ veya Na^+ iyonlarının ürettiği elektrokimyasal potansiyel farkla taşımayı entegre eden aktif taşıma araçlarıdır (Blanco *et al.* 2016). Çeşitli akış taşıyıcıları, protein dizilerine bağlı olarak filogenetik kategoriler kullanılarak kategorize edilir. Milton grubu, tüm taşıyıcı proteinler için tek bir sınıflandırma yaklaşımı oluşturmuştur (Saier *et al.* 2014). Bir diğer çalışma grubu ise 2020'de prokaryotik canlılarda beş akış taşıyıcı ailesinin tanımlandığını gösterdi. *A. baumannii* aileleri majör kolaylaştırıcı üst aile, *tetA*, *tetB*, *comA*, çoklu ilaç ve toksik efflux, AbeM, direnç nodülasyon bölünmesi (RND), AdeABC, küçük çoklu ilaç direnci (MDR), ATP bağlama kaseti (ABC) ve MacB ile karakterize edilmektedir (Abdi *et al.* 2020). Bu sistemlerin çoğunun enerji kaynağı proton hareket gücüne dayanmaktadır. Substrat ihracatını belirlemek için, bu ABC aileleri ATP hidrolizini kullanmaktadır. Antibiyotik taşıyıcıları, antibiyotik döneminin baskılarına yanıt olarak henüz gelişmemiştir (Saier and Paulsen 2001). *Acinetobacter*, AceI ve AdeABC akış pompaları da biyositlere ve aminoglikozitlere karşı direncini arttırmaktadır (Liu *et al.* 2018). AdeABC pompasının in vivo olarak mikrobiyal uygunluğu etkilediği gösterilmiş olsa da, bilinen akış pompalarının yaygınlığı yalnızca zararlı bileşiklerin ortadan kaldırılmasıyla ilgilidir. Bu pompa, *BM4587* suşunda intraperitoneal yoldan 8 saate kadar hem solunum sistemindeki hem de dalaktaki bakteri yüklerini azaltmaktadır (Yoon *et al.* 2016). Bu sistem Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1 Çoklu ilaç akış pompaları (Yılmaz and Özcengiz 2017)

2.3.6 Dış zar vezikülleri

Dış zar vezikülleri, tüm Gram negatif türler tarafından üretilen, boyutları 10 ila 300 nm arasında değişen küresel partikül veziküllerdir (Roier *et al.* 2016). Bu kapsüllenmiş veziküller, sitoplazmik bileşenler, periplazmik proteinler ve OMP içermektedir (Kulkarni and Jagannadham 2014, Roier *et al.* 2016). Daha önce hücre zarı geriliminin bir sonucu olduğuna inanılsa da, biyosentez yolunun kesin mekanizmasına ve spesifik OMP'ler veya lipidlerle etkileşime rağmen vezikül oluşumunun doğal bir olay olduğu son zamanlarda keşfedilmiştir (McBroom and Kuehn 2007, Roier *et al.* 2016).

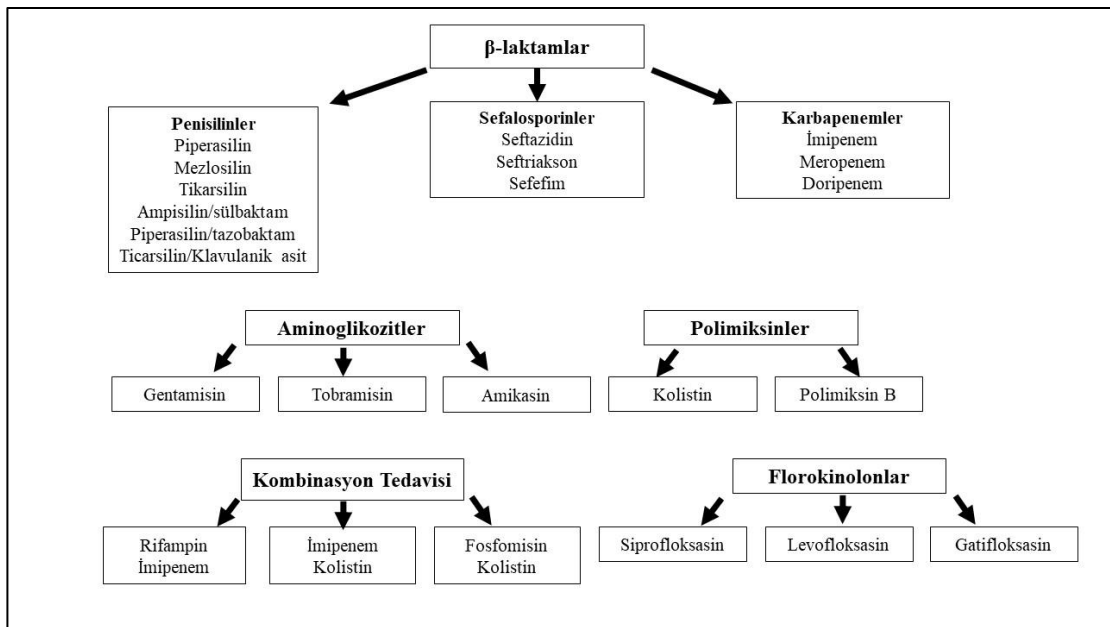
2.4 *Acinetobacter baumannii*'de Antibiyotik Direnci

Antibiyotiğe dirençli *A. baumannii* izolatlarının, özellikle de MDR suşların ortaya çıkması, bulaşıcı hastalıkların tedavilerinin önünde önemli bir engel oluşturmaktadır (Shamsizadeh *et al.* 2017). *A. baumannii*, MDR ile sonuçlanabilecek antimikrobiyal direnç genlerini hızla edinemez. Fakat sefalosporinler ve kinolonlar gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerin aşırı kullanımı bu süreci hızlandırmaktadır (Imperi *et al.* 2011).

Bunun yanında *A. baumannii*'nin farklı antibiyotik sınıflarına karşı direnç özellikleri edinme konusunda oldukça yetenekli olduğu belirtilmektedir. Porinlerde olduğu gibi genetik mutasyonlar, yeni gen edinimleri, mevcut genlerin düzenlenmiş ekspresyonu veya eksik genler gibi önemli faktörler muhtemelen bu soruna katkıda bulunmaktadır (Ghaima *et al.* 2015).

β -laktamaz üretimi, porin kaybı, dışa akış pompalarının artan ekspresyonu, antibiyotik modifiye edici enzimlerin varlığı, hedef bölge mutasyonları, ribozomal mutasyonlar veya modifikasyonlar, metabolik bypas mekanizmaları ve LPS'de bir mutasyon *Acinetobacter spp.*'nin Gram-negatif bakterilerinde MDR'nin kazanılmasına katkıda bulunan mekanizmalardan bazılarıdır (Poirel *et al.* 2011).

A. baumannii enfeksiyonları, β -laktamların karbapenem ve sulbaktam alt sınıflarının yanı sıra aminoglikozitler, florokinolonlar, tetrasiklinler, glisilsiklinler ve polimiksinler gibi diğer sınıfların yardımıyla düzenli olarak tedavi edilmektedir (Nwabor *et al.* 2021). Tedavide kullanılan antibiyotikler Şekil 2.2'de verilmiştir.



Şekil 2.2 *A. baumannii* tedavisinde kullanılan antibiyotikler (Sehree *et al.* 2021)

Üç farklı tipte antibiyotik direnç mekanizması tanımlanabilir. Bunlardan ilki membran geçirgenliğini azaltarak veya antibiyotiğin hedefe ulaşmasını önleyen antibiyotik akışını artırarak direnç oluşturulmasıdır. İkincisinde, patojenler antimikrobiyalın hedefini mutasyona uğramış gen veya translasyon sonrası modifikasyon yoluyla koruyabilmektedir. Üçüncü mekanizmada ise antibiyotikler hidroliz veya yapısal değişiklikle doğrudan etkisiz hale getirilebilmektedir (Kyriakidis *et al.* 2021).

2.4.1 B-laktamlar

β -laktam antibiyotikler, bakterisidal aktiviteye sahip bir grup antibakteriyel madde olarak tanımlanmaktadır. Bu antibiyotik sınıfı sefalosporinler, penisilinler, karbapenemler ve monobaktamlar olmak üzere 4 kategoriye ayrılmaktadır (Sehree *et al.* 2021).

Tüm bu antibiyotiklerin yapısı, d-alanil-d-alanin analogu olarak kabul edilen bir β -laktam halkasını içermektedir. Penisilin bağlayıcı proteinler buraya bağlanır ve böylece DD transpeptidazlar ile kovalent bağlar oluşturarak mikroorganizmaların hücre zarında yer alan transpeptidasyonunu engeller. β -laktam antimikrobiyallere direnç, hidroliz yoluyla bir inhibitör etki, akışta bir artış, akışta bir azalma ve antibiyotik hedefinin korunmasını içeren yukarıda belirtilen tüm mekanizmalar yoluyla da kazandırılabilir (Kyriakidis *et al.* 2021).

Meropenem ve imipenem'i içeren karbapenemler, etkili bir geniş spektrumlu antibiyotik sınıfıdır. Dünya çapında dirençli vakalar tanımlanmasına rağmen karbapenemlerin uzun süredir *Acinetobacter spp.*'nin etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde gerekli olduğu düşünülmüyordu. Bu olay, sınırlı antibakteriyel suş etkinliğine sahip bazı β -laktam antibiyotiklerin üretimi üzerinde olumsuz bir etkiye sahipti (Tal-jasper *et al.* 2016). Sonuç olarak, minosiklin, tigesiklin ve polimiksinler gibi birkaç β -laktam antibiyotik, *Acinetobacter spp.*'e karşı hala etkili olarak tanımlanmaktadır (Doi *et al.* 2015).

2.4.2 Aminoglikozitler

Bu antibiyotikler, bakteriyel ribozomal 30S alt birimine ve 16S ribozomal RNA'nın (16S rRNA) bir bölgesine tam olarak bağlanmaktadır (Krause *et al.* 2016). Ek olarak, protein sentezi, bazı aminoglikozitler tarafından başlangıç adımlarını engelleyerek veya protrakasyonu önleyerek etkilenebilir (Wilson 2014). Aminoglikozitlerin, vankomisin ve metisiline dirençli izolatların yanı sıra *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*'u da kapsayan bulaşıcı hastalıkları tedavi etmek için mükemmel bir seçim olduğu düşünülmektedir. Buna rağmen *Acinetobacter spp.*'e karşı etkinliklerinin biraz azaldığı belirtilmektedir (Krause *et al.* 2016).

2.4.3 Tetrasiklinler ve glisinler

Tetrasiklinler sırasıyla 1-3. kuşak tetrasiklin, doksisisiklin ve tigesiklin'i içeren geniş bir gruptur (Rusu and Buta 2021). Bu antibiyotikler, 30S ribozomal üniteye bağlanarak protein translasyonunu engellemek için RNA yapısında büyük değişikliklere neden olurlar (Nguyen *et al.* 2014, Chukwudi 2016). Minosiklin türevleri (Tigesiklin), MDR *A. baumannii*'ye karşı, öncelikle oral olarak uygulanan, nadiren bulunan bir antimikrobiyal ajandır (Özger *et al.* 2019).

2.4.4 Polimiksinler

Kolistin ve polimiksin B, MDR *A. baumannii* enfeksiyonları için etkili olan katyonik gruplara sahip polipeptit antimikrobiyallerdir (Olaitan *et al.* 2014). Polimiksinlerin bakterisidal performansı, *A. baumannii*'de bir LPS yüküne dayalı etkileşime aracılık etmektedir. Sonuç olarak LPS yapısını değiştirerek bakterinin dış zarının bütünlüğünün azalmasına neden olup sitoplazmik zarı bozmaktadır (Poirel *et al.* 2011). Kapsül üretimi, OMP ifadesinin değiştirilmesi, lipopolisakarit bileşiminin değiştirilmesi ve dışa akış sistemlerinin aşırı ifadesi, Gram negatif bakterilerin polimiksin direnç mekanizmalarındaki adımlardan bazılarıdır (Mitchell and Leonard 2014).

2.4.5 Florokinolonlar

Florokinolonlar grubuna ait bazı antibiyotikler birinci kinolonların temel yapısının sentetik türevleridir (Gadgul *et al.* 2010). Bakteriyel hücreler, florokinolonları bakteri hücrelerindeki gözeneklerden girip DNA ile bağlandığında, DNA'nın parçalanması, çift sarmallı DNA'nın bozulması ve kromozomun parçalanması gibi bazı kritik olayların sonucu olarak ölürlür (Dahdouh, 2017).

Levofloksasin, pazufloksasin ve siprofloksasin hastanelerde yaygın olarak kullanılan florokinolonlardır. Bununla birlikte, *A. baumannii*'nin florokinolonlara karşı direnç değişiklikleri son yıllarda giderek daha ciddi hale gelmiştir. *A. baumannii*'nin florokinolonlara direnci, kinolon direncini belirleyen bölgelerdeki mutasyonlar, değişen dış zar protein ekspresyonu ve ilaç dışı atım pompası aşırı ekspresyonundan kaynaklanmaktadır (Sun *et al.* 2015).

2.4.6 Folik asit sentezi inhibitörleri

Folik asit sentezi, dihidrofolat yolunu engelleyen bakterisidal antibiyotik trimetoprim/sülfametoksazol tarafından inhibe edilir (Goldberg and Bishara 2012). Trimetoprim/sülfametoksazol bakteriyel enfeksiyonların çoğunu iyileştirmek için kullanılan etkili bir antimikrobiyal ajan olarak kabul edilmektedir. Ancak bu tedavi, geleneksel olarak *A. baumannii*'yi tedavi edecek bir antibiyotik olarak tanımlanmamıştır (Karageorgopoulos and Falagas 2008).

2.4.7 Kombinasyon tedavileri

A. baumannii için başka bir tedavi yaklaşımı da kombinasyon tedavisidir. Antibiyotik direnci gelişimini azaltmak amacıyla sinerjik etkilere sahip antibiyotikler kullanılmaktadır (Fishbain and Peleg 2010, Durante-Mangoni *et al.* 2014). Rifampin, bakteriyel RNA polimerazın aktif bölgesine bağlanabilen ve transkripsiyon başlangıcını önleyebilen antibiyotiklerden biri olmasına rağmen, bu ilacın *A. baumannii* için

monoterapide olarak kullanılması önerilmemektedir (Viehman *et al.* 2014, Sehree *et al.* 2021). Bununla birlikte, rifampin kolistin, sülbaktam veya imipenem ile kombine edildiğinde sinerjistik etkiler açısından *A. baumannii*'ye karşı umut verici sonuçlar alındığı gösterilmiştir (Pachón-Ibáñez *et al.* 2010, Laishram *et al.* 2017).

Yapılan bir çalışmada trimetoprim/sülfametoksazol'ü kolistin ile kombine ederken benzer sonuçlar bildirilmiştir. Çalışmada karbapenem dirençli *A. baumannii*'ler için 24 saat içinde gerçekleşen hızlı ölüm gösterilmiştir (Nepka *et al.* 2016). Ek olarak, fosfomisin ve sülbaktam ile kombinasyon halinde kolistin, karbapenem dirençli suşlara veya yüksek oranda ilaca dirençli (XDR) *A. baumannii*'ye karşı aditif veya sinerjistik etkiler göstermiştir (Leelasupasri *et al.* 2018). Patojenik bakterileri tedavi etmek için birden fazla ilacın kullanımına ilişkin ortaya çıkan yararlı sonuçlara rağmen, klinik araştırmacıların antibakteriyel ajan kombinasyonunun belirli durumları tedavi etme yeteneklerini nasıl etkilediğini netleştirmesi gerekmektedir (Kheshti *et al.* 2019).

2.5 *A. baumannii*'yi Tanımlamak İçin Geleneksel Yöntemler

Biyokimyasal testlere ve mikroskopik görselleştirmeye dayalı yöntemler çeşitli tıbbi araştırma merkezlerinde rutin yöntemler olarak kabul edilmiştir. Ancak, bu süreçler zaman alıcıdır ve tipik olarak birkaç saatten birkaç güne kadar sürmektedir (Martiny *et al.* 2012). Ayrıca bakteri türlerini kesin olarak ayırt edilebilecek gerekli morfolojik özelliklerden yoksundur. Bu nedenle, cins veya suş seviyesinde tanımlama için kümelerin oluşumuna izin veren mikroorganizmaların metabolizmasına veya enzimatik prosedürlerine bakmak için çeşitli teknikler geliştirilmiştir (Romeua *et al.* 2010). Tekrarlanan prosedürlerin çoğu zaman alıcı olarak sınıflandırılırken, yarı otomasyon teknikleri önemli miktarda biyolojik malzeme gerektirmektedir. Bu kritik gereksinimler, bakteri teşhisi için gerçek zorluklardır (Ravea *et al.* 2019).

Analitik Profil İndeksi (API) 20E güç üreyen, enterik olmayan ve Gram negatif basilleri saptamak için kullanılan birkaç biyokimyasal testi birleştiren standartlaştırılmış bir sistemdir (Bagudo *et al.* 2020).

Bu teknik, bakteri suşlarını karşılaştırmak ve makul ölçüde doğru bir şekilde belirlemek için klinik laboratuvarlarda kullanılmaktadır. Bununla birlikte, 44°C’de *A. baumannii* büyümesini ayırt etmek için biyokimyasal analizler gibi destekleyici teknikler gerekmektedir (Sadiq and Sehlawi 2014). Bu sistem, *A. baumannii*’yi yaklaşık %99 doğrulukla tanımlamak için Gram negatif bakterilere yönelik BioMérieux kartı ile sağlanmaktadır. İlginç bir şekilde, birkaç yayınlanmış makale, bu tekniğin çevreden bakteri türlerinin tanımlanması için kullanıldığını bildirmiştir (Ravea *et al.* 2019).

2.6 *A. baumannii*’nin Moleküler Teşhisi

2.6.1 16S rRNA geni

Bakteri ve arkea içeren tüm prokaryotik hücreler, 30S ribozomal alt biriminin rRNA molekülünü kodlayan 16S rRNA genini içerir. En büyük ribozom 50S alt birimi, iki alt birimden oluşmaktadır: 23S rRNA ve 5S rRNA (Fukuda *et al.* 2016).

16S rRNA geni, bazı önemli nedenlerden dolayı bakteriyel enfeksiyonu ve taksonomi tanımlamak için kullanılabilecek en yaygın gen olarak kabul edilmektedir (Janda and Abbott 2007). İlk sebep, genlerin yaklaşık 1500 bp’lik göreceli kıtlığıdır. İkinci olarak, 16S rRNA gen dizisi, on bölge (dolayısıyla korunmuş bölge) içeren bakteri türlerinin büyük çoğunluğunda gözlenmiştir. Korunmuş bölgeler için kullanılan bazı hazır primerler bulunmaktadır. Son ilginç nokta, halka açık gen veritabanlarındaki büyük bir gelişmedir. Böylece taksonomik çalışmalarda bakteri türlerini tanımlamak ve sınıflandırmak için önemli ölçüde kullanılan diziler gözlenmiştir (Fukuda *et al.* 2016).

2.6.2 *blaOXA-51* geni

Bu gen ilk olarak Arjantin’de klinik bir *A. baumannii* izolatında kromozom aracılı bir laktamaz olarak keşfedilmiştir (Brown *et al.* 2005). Ek çalışmalar, OXA-51 enzim grubunun çok sayıda üyesinin varlığını ortaya çıkarmıştır (Evans and Amyes 2014). *A. baumannii*, doğal olarak oluşan ve bu türe özgü bir karbapenemaz genine (*blaOXA-51-*

like) sahiptir. Dolayısıyla bu gen, organizmaların tür düzeyinde tanımlanması için önemli bir genetik belirteç olarak ortaya çıkmaktadır (Ramirez *et al.* 2020). OXA-51 enzimi üzerine yapılan araştırmaya göre, *blaOXA-51* benzeri genler, *A. baumannii* kromozomuna özgüdür. Bu nedenle *Acinetobacter* izolatlarından *A. baumannii*'yi tanımlamak için *blaOXA-51* benzeri genler bir belirteç olarak kullanılmaktadır (Merkier and Centrón 2006, Turton *et al.* 2006).

Öte yandan *A. baumannii* olmayan üç *Acinetobacter* izolatı, geni *A. baumannii*'den türetilmiş bir plazmitten almış olabilecek plazmit aracılı *blaOXA-51* benzeri genler nedeniyle yanlış tanımlanmıştır (Lee *et al.* 2012). Birkaç *blaOXA-51* benzeri genin, doğru yönlendirildiğinde ekspresyonu iyileştiren ve tek başına veya diğer mekanizmaların ekspresyonu ile birlikte karbapenemlere karşı morfolojik direnç yol açabilen *ISAbA1* ile ilişkili olduğu keşfedildi (Ramirez *et al.* 2020). Bununla birlikte, ekspresyon derecesi, OXA-51 enziminin karbapenem duyarlılığını azaltmasının tek yolu olmayabilir. OXA-51'e kıyasla bir veya daha fazla amino asit ikamesine sahip varyantlar, gelişmiş hidrolitik aktiviteye sahiptir (Mitchell and Leonard 2014, June *et al.* 2016).

2.6.3 *tet* genleri

Şimdiye kadar en az 40 farklı tetrasiklin direnç geni (*tet*) tanımlanmıştır (Roberts 2005). Tetrasiklin direnci, farmasötik aktif akış, ribozomal savunma veya enzimatik ilaç değişikliğinde yer alan *tet* genleri tarafından kontrol edilmektedir. *tetA*, *tetB*, *tetD*, *tetE* ve *tetG* genleri Gram negatif bakterilerde keşfedilenler arasındadır. *tetK*, *tetL*, *tetM*, *tetO* ve *tetS* ise öncelikle gram pozitif bakterilerde bulunmaktadır (Hedayatianfard *et al.* 2014). *A. baumannii*'nin klinik izolatları, ana taşıyıcı kolaylaştırıcı süper ailesinden birkaç tet akış pompası elde ederek tetrasiklin direncine neden olmuştur (Mak *et al.* 2009). Tetrasiklin direnci en yaygın olarak *tetA* ve *tetB* tarafından verilmiştir. *tetA* akışı minosikline veya doksisisikline değil tetrasikline direnç vermektedir. *tetB* ise tetrasikline ve minosikline direnç verirken tigesikline vermez (Nguyen *et al.* 2014). Ek olarak, *tetA*'nın *A.baumannii*'de tigesiklin direnci için ana mekanizma olarak görev yapan, akış pompalarının RND süper ailesinin AdeABC ve AdeIJK üyeleri ile simbiyotik olarak

etkileşime girdiği keşfedilmiştir. Tetrasikline dirençli *A. baumannii* izolatları en az %50 *tetB* ve %14-46 *tetA* genleri içermektedir (Foong *et al.* 2020). Bu özelliklerin çoğunun genetik kökleri hala tanımlanamamıştır (Agersø and Petersen 2007).

2.6.4 *qnr* geni

A. baumannii'nin neden olduğu bulaşıcı hastalıkları tedavi etmek için sıklıkla kinolonlar olarak bilinen bir grup antimikrobiyal madde kullanılmaktadır. Pentapeptit tekrar ailesinden 218 amino asitlik bir *qnrA* proteinini kodlayan *qnrA* geni, topoizomeraz II ve IV'ü kinolon inhibisyonundan korumaya yardımcı olur (Al-Rafyay *et al.* 2021). Plazmid aracılı kinolon direnci mekanizması nedeniyle florokinolon direnci düşüktür. Plazmid kinolon direnç genlerinin tanımlanmasının ardından plazmitler veya bakteri kromozomları üzerinde çok sayıda *qnr* aleli tanımlanmıştır (Salah *et al.* 2019).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Ekim-Aralık 2023 tarihleri arasında, Erbil Şehrindeki Hawler Eğitim Hastanesi Genel Cerrahi Acil Yönetim Merkezi ve Nöroşirurji Bölümü'ndeki 1-60 yaş aralığındaki erkek ve kadın hastalardan 150 numune toplandı. Toplanan örnekler balgam, yanık, kan, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve idrar gibi farklı kaynaklardan alındı. Yanıklardan ve yaralardan alınan sürüntüler, enfeksiyon alanlarından dikkatli bir şekilde çıkarıldı ve kültür için kullanılabilmeleri amacıyla aktarılmadan önce örnekleri nemli tutmak için kömürlü Amies tüplere yerleştirildi. Balgam ve idrar örnekleri ağız sıkıca kapatılmış steril kaplara alındı. Yetiştirme prosedürü için ek bilgileri kaydetmek üzere laboratuvara götürülmeden önce tüm örnekler etiketler verildi. Hastane yönetiminin ve hastaların onayına istinaden bu örnekler alındı.

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

Çizelge 3.1 Alet ve ekipman bilgileri

No	Alet-Ekipman Adı	İmalatçı Bilgileri
1	Otoklav	Gallenkamp (İngiltere)
2	Soğutmalı santrifüj	Hettich (Almanya)
3	İnkubatör	Gallenkamp (İngiltere)
4	Dijital kamera	Sony (Japonya)
5	Elektroforez	Biorad (Japonya)
6	Isıtmalı manyetik karıştırıcı	Labcco (Almanya)
7	Laminar kabin	Gallenkamp (İngiltere)
8	Nanodrop spektrofotometre	Analytikjena (Almanya)
9	Termal döngüleyici	Biometra (Almanya)
10	UV-transilluminator	Quantum (Fransa)
11	Vorteks karıştırıcı	Griffin (Almanya)
12	VITEK®2 sistemi	Biomeriux (Fransa)

Kullanılan besiyerleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Kullanılan besiyerleri

No	Materyal	İmalatçı Firma	Ülke
1	Kanlı agar	LabM	Birleşik Krallık
2	Beyin kalp broth	Himedia	Hindistan
3	HiCrome agar	Himedia	Hindistan
4	Kligler iron agar	Biorex	Birleşik Krallık
5	Kovacs ayırıcı	BioMerieuex	Fransa
6	MacConkey agar	LabM	Birleşik Krallık
7	Mueller- Hinton agar	LabM	Birleşik Krallık
8	Nutrient agar	LabM	Birleşik Krallık
9	Nutrient broth	LabM	Birleşik Krallık
10	Simmon citrate agar	LabM	Birleşik Krallık
11	Tryptic soy broth	Fluka	Birleşik Devletler

Araştırmada kullanılan kimyasallara ait bilgiler Çizelge 3.3’te verilmiştir.

Çizelge 3.3 Kimyasallara ait bilgiler

No	Kimyasal Adı	İmalatçı Firma	Ülke
1	Etanol	CHEM-Lab	Belçika
2	Agaroz	Condalab	Birleşik Devletler
3	Di-potasyum hidrojen	Lab. Research	Hindistan
4	Red safe solüsyon	Intron	Kore
5	6X yükleme boyası	Intron	Kore
6	PCR premiksi	Intron	Kore
7	Gliserol (%20)	BDH	Birleşik Krallık
8	Tuzlu su	PSI	Suudi Arabistan
9	Fosfat buffer solüsyonu (pH 7,2)	HIMEDIA	Hindistan
10	NaCl	SDFCL	Hindistan
11	NaOH	Scharlau	İspanya
12	TBE buffer(10x)	Intron	Kore
13	Tris borat EDTA	BDH	Birleşik Krallık
14	Trisodyum sitrat	GCC	Hindistan
15	ZR Fungal/Yeast/Bacterial DNA MiniPrep	ZYMO	Birleşik Devletler

Bakteri tanımlamada API 20E (BioMerieux, Fransa), antibiyotik direncinin tespitinde VITEK®2 (BioMerieux, Fransa) kullanıldı. Direnç belirlenmesinde kullanılan antibiyotiklere ait bilgiler Çizelge 3.4’te verilmiştir.

Çizelge 3.4 Antibiyotik direnci çalışmasında kullanılan malzemeler

No	Antibiyotik	Konsantrasyon (µg/L)	Firma
1	Amikasin	30	BioMerieux, France
2	Ampicillin/sülbaktam	10/10 mg	BioMerieux, France
3	Gentamisin	10	BioMerieux, France
4	Levofloksasin	5	BioMerieux, France
5	Piperasilin	100	BioMerieux, France
6	Piperasilin/ Tazobaktam	100	BioMerieux, France
7	Rifampin	5	BioMerieux, France
8	Seftazidim	30	BioMerieux, France
9	Siprofloksasin	5	BioMerieux, France
10	Tetrasiklin	30	BioMerieux, France
11	Tigesiklin	30	BioMerieux, France
12	Trimetoprim/sülfametoksazol	1,25/23,75	BioMerieux, France

DNA ekstraksiyonunda ZR Fungal/Bacterial/Yeast DNA MiniPrep™ (ZYMO, Birleşik Devletler) kullanıldı. PCR’da kullanılan primerler Çizelge 3.5’te verilmiştir.

Çizelge 3.5 Konvansiyonel PCR primerleri

Gen	Primer	Sekans (5’- 3’)	Amplikon size	Kaynak
16S rRNA	F	TTGTACACACCGCCCGTC	1250	(Khalil <i>et al.</i> 2014)
	R	TTCGCCITTCCCTCACGGTA		
blaOXA-51	F	TAATGCTTTGATCGGCCTTG	353	(Hou and Yang 2015)
	R	TGGATTGCAACTTCATCTTGG		
tetA	F	GCTACATCCTGCTTGCCCTTC	210	(Salvador-Membreve and Rivera 2021)
	R	CATAGATCGCCGTGAAGAGG		
tetB	F	CCTTATCATGCCAGTCTTGC	206	(Abdi-Hachesoo <i>et al.</i> 2014)
	R	ACTGCCGTTTTTTCGCC		
qnr	F	ATTTCTCACGCCAGGATTTG	516	(Gay <i>et al.</i> 2006)
	R	GATCGGCAAAGGTTAGGTCA		

3.2 Sterilizasyon

Ortam ve solüsyonları sterilize etmek ve ısıtmanın etkilemediği nemi uzaklaştırmak için 121°C’de 15 dk süreyle 15 bar/in² basınç altında otoklav ekipmanı kullanıldı (Atlas *et al.* 1995).

3.3 Besi Yerlerinin Hazırlanması

3.3.1 HiCrome agar

Bu besiyeri, MDR *Acinetobacter spp.*’yi saptamak için üretici firma talimatlarına göre hazırlandı (Gordon and Wareham 2009).

3.3.2 Kanlı agar

Kanlı agar üretici firmanın talimatlarına göre hazırlandı. Ortam daha sonra 121°C’de 15 pound/inç² basınç altında 15 dakika otoklavda inkübe edildi. Daha sonra 50°C’ye soğutuldu. Ardından her 95 ml ortam için uygun koşullar altında alınan 5 ml steril insan kanı ilave edildi. Daha sonra steril petri kaplarına yerleştirilmek üzere homojen olması için iyice karıştırıldı. Son olarak *A. baumannii* izolasyonunda ve hemolizin üreten izolatların tanımlanmasında kullanılmak üzere 37°C’ye soğutulup ve oda sıcaklığında katılaşmaya bırakıldı (Harley and Prescott 2002).

3.3.3 Üre agar

Filtreyle sterilize edilmiş üre solüsyonu, 2 g ürenin 5 ml distile içinde çözülmesiyle hazırlandı. Daha sonra steril cam tüplere dökülmek üzere 95 ml üre agar bazına aseptik olarak eklendi. Son olarak 37°C’ye kadar soğutulmuş ve üreaz üreten izolatların tanımlanmasında kullanılmak üzere oda sıcaklığında slant formda katılaşmaya bırakılmıştır (Farhan *et al.* 2019).

3.3.4 Ayıracıların hazırlanması

Katalaz ayıracı hazırlanması 9 ml distile suya 1 ml %30 H₂O₂ eklenerek gerçekleştirildi. Konsantre çözeltinin %3'ünü elde etmek için, daha sonra kullanılabilecek kadar bir amber kapta saklandı (Harley and Prescott 2002).

Oksidaz ayıracı için 0,1 g N-N-N-N-tetrametil paraferal diamin dihidroklorür solüsyonu 10 ml distile su içinde çözündürüldü. İzolatların bir oksidaz enzimi üretme yeteneğini incelemek için kullanıldı (Maza *et al.* 2004).

Kovac's ayıracını hazırlamak için, 10 g P-dimetil amino benzaldehit 150 ml izoamil alkol içinde çözülerek 50 ml konsantre HCl ile kademeli olarak karıştırıldı. Daha sonra buzdolabında saklanarak indol üretiminin tespiti için kullanılmadan önce hafifçe çalkalandı (Dasgupta *et al.* 2015).

Metil kırmızısı ayıracı hazırlamak için 0,1 g metil kırmızısı 300 ml etanol içinde çözüldü. Ardından 200 ml distile su ilave edildi. Bu reaktif, bakteriyel glikoz fermantasyonunu tespit etmek için kullanıldı (Dasgupta *et al.* 2015).

Voges-Proskauer (VP) 1 numaralı ayıracı %40'lık KOH solüsyonudur. Bunu hazırlamak için 40 g KOH 100 ml'ye tamamlanan distile su içinde çözündürüldü. Voges-Proskauer (VP) 2 numaralı ayıracı ise 5 g α -naftolün 100 ml saf etanol içinde çözülmesiyle hazırlandı. Bu çözeltiler, bakterilerin aseton oluşturma yeteneğini belirlemek için kullanıldı (Noskin *et al.* 1996).

3.3.5 Tampon çözeltilerin hazırlanması

NaCl çözeltisi hazırlamak için 2,9 g NaCl 100 ml distile su içinde çözündürüldü (Thottoli and Unni 2013).

Fosfat tamponu için 4 ml K_2HPO_4 (0,2 mol/L), 16 ml KH_2PO_4 (0,2 mol/L) ve 50 ml NaCl (0,5 mol/L) üzerine 30 ml distile su eklenerek 50 ml'ye tamamlandı.

Trisodyum sitratın %1'lik solüsyonunu hazırlamak için 1 g $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ 10 ml distile su ile çözdürüp 100 ml'ye tamamlandı (Thottoli and Unni 2013).

Triborik EDTA stok solüsyonu için 27 g Tris (hidroksimetil) amino-metan, 14 g borik asit ve 1,8 g EDTA 500 ml distile su içinde çözdürüldü. Bu stok solüsyondan 50 ml alınıp distile su ile 500 ml'ye tamamlanarak tris borat EDTA çalışma solüsyonu hazırlandı.

3.4 *Acinetobacter baumannii*'nin İzolasyonu ve Tanımlanması

Acinetobacter spp. HiCrome seçici besiyeri kullanılarak tanımlandı (Ghaima *et al.* 2015). İzolatlar Gram boyama ve biyokimyasal testler (katalaz, oksidaz, sitrat kullanım testi, Kligler'in demir ortamında tepki) uygulandı; 44°C'de tamamlayıcı büyüme ve API 20E kiti (Hassan and Khider 2019) ile doğrulandı.

Ayrıca bakteri izolatlarını tanımlamak için VITEK® 2 tanımlama sistemi üreticinin önerileri doğrultusunda, ID-GNB kartları ile kullanıldı (Bagudo *et al.* 2020). Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü'ne (CLSI) göre *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 referans suş olarak kullanıldı.

3.4.1 Morfolojik tanı

Koloni şekli, dokusu, pigmenti ve marjları dahil olmak üzere besi yerindeki kolonilerin morfolojik özelliklerine dayanarak, mikrobiyal izolatlar tanımlandı. HiCrome, MacConkey ve kanlı agarların tümü, ayırıcı tanı amacıyla kullanıldı (Ghaima *et al.* 2015).

3.4.2 Mikroskopik tanı

Tüm *A. baumannii* izolatları, Gram boyamanın ardından immersiyon yağı kullanılarak ışık mikroskopunda incelendi. Bakteri hücrelerinin boyut ve renkleri değerlendirildi (Ahmad and Mohammad 2020).

3.4.3 Laktoz fermentasyonu

Gram negatif bakteri türlerinin laktoz fermentasyonu için MacConkey agar üzerine inokulasyon yapıldı. İnkübatörde 24 saat 37°C’de bekletildikten sonra renk değişimine bakıldı. Besi yerinin rengi nötr ortamda kırmızı asidikte pembe ve alkalide ise sarıya dönmektedir. Laktoz fermentasyonunda asit oluşumu nedeniyle pembe kolonilerin ortaya çıkmasına neden olur.

3.4.4 44°C’de üreme

Bu test, *A. baumannii*’nin aynı sıcaklıkta üremeyen diğer *Acinetobacter spp.*’den ayırt edilmesi için kullanıldı. Tüm izolatlar, Nutrient agar besiyerinde sürme yöntemi ile incelendi ve ardından 44°C’de 24 saat inkübe edilerek bakterilerin bu sıcaklıkta agar üzerinde üreme kabiliyeti incelendi.

3.5 API 20E

API 20E güç üreyen, enterik olmayan ve Gram negatif basilleri tanımlamak için çok sayıda biyokimyasal testi entegre eden standart bir sistemdir (Bagudo *et al.* 2020). Prosedür, kuyucukların 24 saat süreyle 0,5 McFarland bakteri süspansiyonu ile inoküle edilmesi ve ardından 24 saat süreyle 37°C’de inkübe edilmesiyle gerçekleştirildi.

Ardından reaktifler VP1, VP2, TDA ve indol kullanılarak test tamamlandı (Ghaima *et al.* 2015). Bunu takiben, test sonuçlarının değerlendirilmesiyle bir kod numarası

(0204042) oluştu. Bu sayı test programında değerlendirildi. API 20E, geleneksel testlerle karşılaştırıldığında %92 doğruluk ortaya koydu.

3.6 VITEK®2 Sistemi

VITEK® 2, sistem tanımlama kartı kullanılarak izole edilen süspansiyon halindeki Gram negatif bakterilerin solüsyonlarda ve besiyerinde biyokimyasal yol özelliklerine göre tanımlamaya yönelik otomatik bir cihazdır (Bagudo *et al.* 2020). Gram negatif çubuklar için hem seçici hem de diferansiyel MacConkey agar besiyeri bakteriyel izolatları aşılama için kullanıldı ve daha sonra 24 saat 37°C’de inkübe edildi (Ghaima *et al.* 2015, Ayarlar *et al.* 2020). Numuneler, spektrumda optik yoğunluğa (0,55 ila 0,63) sahip homojen bir askıda tutma çözeltisine tek bir izolat büyümesinin daldırılması ve bir DensiCHEK™ VITEK® 2 Kaliper ile ölçüldü (Ravea *et al.* 2019, Sehree *et al.* 2021). VITEK® 2 sistemi, *A. baumannii*’yi yaklaşık %99 güvenilirlikle tanımlayan bir BioMérieux Gram negatif kart içeriyordu (Abdullah and Tariq 2019).

3.7 Antibiyotik Duyarlılık Çalışması

A. baumannii’nin duyarlılık profilini incelemek için, amikasin, ampicilin/sülbaktam, gentamisin, levofloksasin, piperasilin, piperasilin/tazobaktam, rifampin, seftazidim, siprofloksasin, tetrasiklin, tigesiklin ve trimetoprim/sülfametoksazol olmak üzere 12 antibiyotik kullanıldı. 32 izolattan oluşan bir *A. baumannii* süspansiyonu ile üretilen ATCC 19606’dan 1-2 farklı koloni seçilerek $1,5 \times 10^8$ CFU/ml’ye eşit olan 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyon hazırlandı. Bakteriyel süspansiyonun bir kısmı dikkatli bir şekilde aktarıldı ve steril pamuk kullanılarak Muller Hinton agar besiyerine eşit şekilde dağıtıldı. Antimikrobiyal diskler üzerine yerleştirildi ve agar ile teması sağlamak için steril maşa ile sıkıca bastırıldı. Daha sonra petriler ters çevrilerek gece boyunca 37°C’de inkübe edildi. Disklerle ilgili oluşturulan inhibisyon bölgeleri, CLSI 2021 uyarınca bir metrik cetvel kullanılarak mm cinsinden ölçüldü (Ek 3).

A. baumannii izolatlarının fenotipleri MDR, XDR ve tüm antimikrobiyal kategorilerdeki tüm ajanlara dirençli (PDR) olarak değerlendirildi (Tafreshi *et al.* 2019).

3.8 Moleküler Analizler

3.8.1 DNA ekstraksiyonu

DNA parçalama tamponuna β -merkaptoetanol kullanılarak pozitif kontrol olarak ATCC 19606 kullanılan bir referans suş ile 31 *A. baumannii* izolatından genomik DNA ekstrakte edildi. Bu prosedürün adımları ZR Fungal/Yeast/Bacterial DNA MiniPrep kılavuzunda verildiği gibi yapıldı.

3.8.2 DNA konsantrasyonu ve saflığının hesaplanması

İzole edilmiş DNA'nın konsantrasyonu, bir nanodrop spektrofotometre kullanılarak belirlendi. Cihazı kalibre etmek için boş çözelti olarak 4 μ L miktarında bir elüsyon tamponu kullanıldı. Bundan sonra, bir nanodamlaya 4 μ L DNA yerleştirildi. Ardından DNA saflığını değerlendirmek için 260 ve 280 nm'de optik yoğunluk absorpsiyonları kullanılarak numune konsantrasyonu hesaplandı (ng/L) (Sambrook and Russell 2001). 260 nm'deki optik yoğunluk değerinin 280'dekine bölünmesiyle elde edilen sonucun $\sim$ 1,8 çıkması DNA saflığı için standart olarak kabul edilmektedir (Raso and Biassoni 2020).

3.8.3 Primerlerin hazırlanması

16S rRNA primeri hazırlamak için liyofilize 100 pmol/ μ L F primere 320 μ L ddH₂O ve liyofilize 100 pmol/ μ L R primere 300 μ L ddH₂O ilave edildi. Ardından her primerden 100 μ M stok çözeltiler üretmek için karanlık alanda oda sıcaklığında 10 dk beklendi. Her bir primerin stok solüsyonundan 10 μ L karıştırıldı ve ddH₂O'dan 180 μ L eklenerek hacmi 200 μ L'ye tamamlandı. Böylece 10 μ mol primer konsantrasyonunda çalışma stoğu olarak elde edildi. Her iki çözelti de -20°C'de dondurucuda saklandı.

Yüz pmol/ μ L'lik *blaOXA-51*, *tetA*, *tetB* ve *qnrA* primerlerinden 10 μ M'luk stok hazırlamak için kılavuzunda belirtilen miktarda moleküler saflıkta su ilave edilerek karanlıkta oda sıcaklığında 10 dk beklendi. Ardından 10 μ L'lik her bir stok 90 μ L nükleazsız su ile karıştırıldı ve kullanılabilecek kadar -20°C'de dondurucuda saklandı.

Hazır PCR premiksi Maxime PCR PreMix kit (i-Taq) kullanıldı. PCR reaksiyonu için kullanılan malzeme ve miktarları Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.6 PCR reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve miktarları

	Materyal	Hacim (μ L)
Maxime PCR PreMix kit (i-Taq)	i-Taq DNA Polimeraz	5U/ μ l
	DNTPs	2,5mM
	Reaksiyon tamponu (10X)	1X
	Jel yükleme tamponu	1X
PCR reaksiyonu	Taq PCR PreMix	5
	DNA templates (50 ng/ μ L)	1,5
	Forward primer (10 pM)	1
	Reverse primer (10 pM)	1
	Nükleaz free distile su	16,5
	Toplam	25

Uygun bir termal döngülenmesinin sağlanması için denemeler yapıldı. Bunun sonucunda 16S rRNA için Çizelge 3.7'de verilen program uygulandı.

Çizelge 3.7 16S rRNA PCR reaksiyonunda kullanılan termal döngü programı

Aşama	Adımlar	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü
1	İlk denatürasyon	94	3 dk	1
2	I DNA denatürasyonu	94	45 s	35
	II Primer bağlanması	63	45 s	
	III Uzama	72	1 dk	
3	Son uzatma	72	7 dk	1

Diğer genlerin PCR reaksiyonlarında primer bağlanması için gerekli sıcaklıklar *blaOXA-51* için 57°C; *tetA* için 55°C; *tetB* için 61°C; *qnrA* için 53°C idi.

3.8.4 Jel elektroforezin hazırlanması

Önce %2'lik agaroz jel hazırlandı. Bunun için 100 mL 0,5x TBE tamponu içine 1,5 g agaroz ilave edildi. Çözelti, tamamen çözünmesi için bir mikrodalga ısıtıcıya konularak kaynama derecesine ulaşmak için yavaşça ısıtıldı. Ardından karışım 45-50°C'de soğumaya bırakıldı. Agaroz jellerde nükleik asidi saptamak için geleneksel etidyum bromür (EtBr) lekesi yerine bir nükleik asit boyama solüsyonu (20000x) kullanıldı. Elektroforez tepsisinin kenarları tamamen kapatıldı, ardından tepsiye uygun bir tarak yerleştirildi. Agaroz yavaş yavaş tepsiye döküldü. Agaroz, katı ve daha tutarlı olması için oda sıcaklığında 15-30 dk bekletildi. Tepsinin plastik contası çıkarılarak tepsi elektroforez tankına yerleştirildi ve ardından tarak çıkarıldı. Elektroforez tankı TBE tamponu ile dolduruldu ve jel bu tamponun altına yerleştirildi. Her numuneden 3 uL'lik hacim kuyucuklara yüklenen 3 uL tampon boya ile iyice karıştırıldı. PCR ürününün boyutuna göre Ladder (3µl) için ilk veya son kuyu kullanıldı. Hem katot hem de anot elektrotları, ünitenin kenarlarına ayrı ayrı bağlandı. Jel, 5 volt/cm²'de 1,5 saat süreyle çalıştırıldı ve jelin görüntüleri, bir UV transillüminatör aracılığıyla çekildi.

3.9 İstatistik Analiz

Veriler Statistical Package for Social Sciences (SPSS) program versiyon 18 (SPSS, Inc., Chicago, IL) kullanılarak analiz edilerek P değeri hesaplandı ve p< 0,05 anlamlı fark olarak kabul edildi. Elde edilen yüzdeler arasındaki anlamlılığı ölçmek için Ki-kare testi ve Fisher kesin olasılığı (F.E.P) (Bryman and Cramer 2012) kullanıldı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

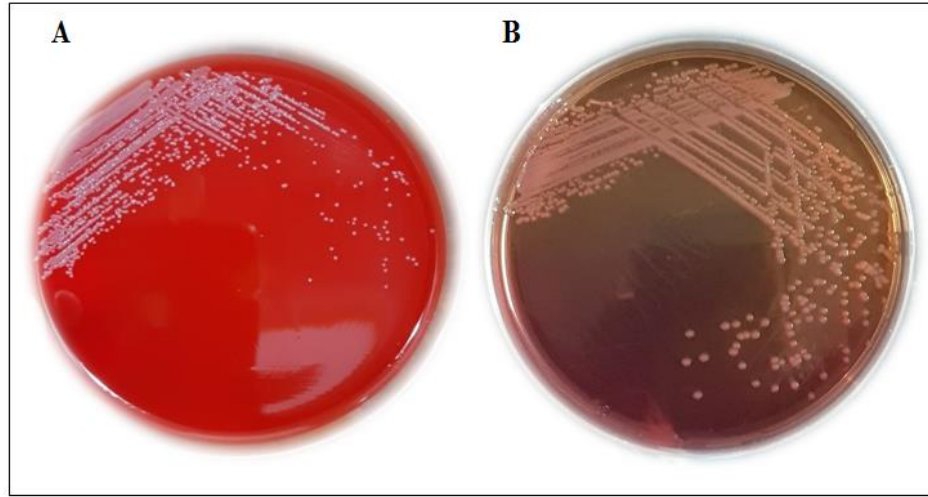
4.1 İzolasyon Bulguları

Tüm örnekler ICU servisinde yatan 1-60 yaş arası erkek ve kadın hastalardan toplandı. Toplanan toplam 150 örnekten 29’unda üreme olmadı. Üreme olan 121 örneğe Gram boyama yapıldı. İzolatların 27’si Gram pozitif ve 93 Gram negatifti. Gram negatif izolatlar, HiCrome agar ve geleneksel biyokimyasal testler kullanılarak cins ve türlerin belirlendiği MacConkey agarda pasajlandı. API 20E ve VITEK®2 sistemleri ile yapılan çalışmalar sonunda Gram negatif bakterilerin 31’inin (%33,33) *A. baumannii* olduğu tespit edildi. Üreyen diğer Gram negatif bakterilerin tür ve sayıları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Gram negatif izolatlarda tür ve dağılım

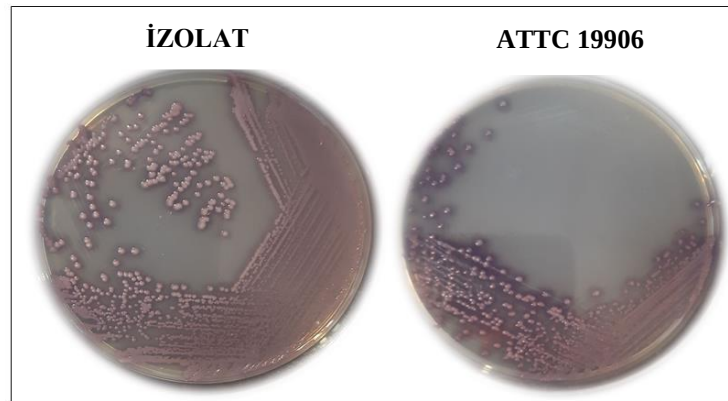
Bakteri Türü	İzolat Sayısı	Dağılım (%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34	36,55
<i>Acinetobacter baumannii</i>	31	33,33
<i>Escherichia coli</i>	12	12,9
<i>Burkholderia cepacia</i>	7	7,52
<i>Klebsiella pneumonia</i>	5	5,37
<i>Enterobacter faecalis</i>	3	3,22
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1,00
Total	93	100

Genel olarak, *A. baumannii* izolatları hem kanlı hem de MacConkey agarda morfolojik olarak ayırt edildi. Kanlı agarda beyazdan griye kadar değişen renklerde, küçük ve dışbükey ve non-hemolitik koloniler şeklinde görüldü. MacConkey besiyerinde ise laktozu fermente etmedikleri için 2-3 mm çapında, düzgün küresel şekilli uçuk sarı renkli koloniler olarak geliştiler (Şekil 4.1).



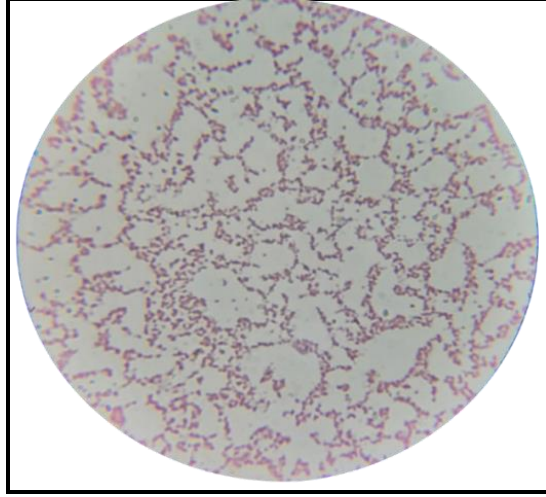
Şekil 4.1 *A. baumannii* kolonileri (A): Kanlı Agar, (B): MacConkey Agar

Ayrıca *A. baumannii* HiCrome agar besiyeri kullanılarak 37°C’de 24-48 saat içinde doğru ve hızlı bir şekilde izole edilmiştir. Tüm isolatlar, halelerle çevrili açık mor koloniler geliştirdi. *A.baumannii* isolatları ATCC 19606 standart izolatu ile karşılaştırıldı ve karşılaştırma oranı Şekil 4.2’de gösterildiği gibi %100 idi.



Şekil 4.2 HiCrome agardaki *A. baumannii* izolatu ve ATTC19906 suşu üremesi

Bir ışık mikroskopuyla incelenen Gram boyalı isolatlarda Şekil 4.3’te gösterildiği gibi tek veya çift diplokok olarak düzenlenmiş Gram negatif polimorfik kokobasil koloniler tespit edildi.



Şekil 4.3 *A. baumannii*'lerin ışık mikroskopundaki görüntüsü

4.2 Biyokimyasal Test Bulguları

Oksidaz ve katalaz testleri *A. baumannii* 'nin tanımlanmasının ilk aşamasında uygulandı. Sonuç her ikisi için de negatifti.

Geleneksel biyokimyasal testler, *A. baumannii*'yi saptamada hala yetersiz kaldığı için (Ghaima *et al.* 2015) diğer türlerden ayırmak ve daha kesin bulgular elde etmek için API 20E ve VITEK®2 sistemleri kullanıldı.

API 20E diğer geleneksel yöntemlerin aksine, *A. baumannii*'yi kesin olarak tanımlamak ve daha hassas sonuçlar bulmak için yararlanılmıştır. Sonuçta API 20E indeksindeki *A. baumannii* referans koduyla karşılaştırma yapıldı (Ek 1). Mevcut çalışmada sonuçlar API 20E sistemi kullanılarak doğrulanmıştır. Elde edilen sonuçlar diğer çalışma sonuçlarıyla uyumluydu (Bagudo *et al.* 2020).

A. baumannii izolatlarının kimliğini doğrulamak için, Ek 2'de belirtildiği gibi VITEK®2 tanımlama sistemi testleri yapılmıştır. Bu çalışmada kullanılan VITEK®2 yöntemine göre, izolatların 31'inin (%33,33) gram-negatif bakteri *A. baumannii*'ye ait olduğu kabul edildi ve ilginç bir kesinlik oranı (%99) gösterildi (Sehree *et al.* 2021).

Otur bir izolattan sadece 20'si DNA ekstraksiyonuna tabi tutulmuş ve *A. baumannii* bandının tespiti için Nanodrop spektrofotometre ile jel elektroforezi kullanılarak saflaştırmaya gidilmiştir. Sonuçlar standart *A. baumannii* ATCC 19606 suşu ile karşılaştırılmıştır (Şekil 4.5).

4.3 Klinik Bulgular

A. baumannii'nin prevalansı yanıklarda %51,6; yaralarda %29,0 ve balgamda %19,3 olarak bulundu. Serebrospinal sıvı, kan ve idrarda bu etkene rastlanmadı. Sonuçlar Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 *A. baumannii* izole edilen vakalar

İzolat Kaynağı	İzolat Sayısı	(%)
Yanık	16	51,6
Yara	9	29,1
Balgam	6	19,3

Mevcut bulgular, Irak'ta yürütülen ve yanıklarda tespit edilen *A. baumannii*'nin en yüksek yüzdesinin yanıklarda %36,6; yaralarda %34,1 ve balgamda %14,6 olduğunu bulan bir başka çalışmayla uyumluydu (Sehree *et al.* 2021).

Hem biyotik hem de abiyotik yüzeylerde güçlü bir şekilde hayatta kalma yeteneğine sahip olan *A. baumannii*'nin diğer klinik kaynaklara göre yanık ve yaralarda daha yüksek bulunma nedenlerinden birinin yanık ve yaraların hastane ortamında kontaminasyona karşı hassasiyetleri olduğu değerlendirilmektedir (Maslova *et al.* 2021).

İzolatların yaşa göre dağılımı Çizelge 4.3'te verilmiştir. Buna göre 13 vaka ile en yüksek sayıda izolasyon 23-32 yaş aralığındadır. Bunu sırasıyla 6'şar vaka ile 13-22 ve 33-40, 3'er vaka ile de 1-12 ve 41-60 yaş aralığı takip etmiştir.

Çizelge 4.3 İzolatların yaş grupları ve vaka türüne göre dağılımı

Yaş grupları	Vaka türü			Toplam
	Yanık	Yara	Balgam	
1-12	3	0	0	3
13-22	2	2	2	6
23-32	6	4	3	13
33-40	2	3	1	6
41-60	3	0	0	3
Toplam	16	9	6	31

İzolatların 16'sı erkeklerden 15'i ise kadınlardan alınan örneklerle aittir. Sonuçta istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Kadın ve erkek izolatlarındaki vaka dağılımları Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4 Vakalara göre kadın ve erkek hastalarda izolat dağılımı

Cinsiyet	Vaka türü			Toplam
	Yanık	Yara	Balgam	
Erkek	8	3	5	16
Kadın	8	6	1	15
Toplam	16	9	6	31

4.4 Antibiyotik Duyarlılığı Bulguları

A. *baumannii* izolatlarının kullanılan antibiyotiklerin çoğuna karşı dirençli olduğu görüldü. Bununla birlikte, izolatların hiçbirisi polimiksin B'ye karşı direnç göstermedi. Öte yandan izolatlarda %100 ile en fazla direnç rifampine karşıydı. Diğer antibiyotiklere karşı direnç oranları yüksekten alçağa doğru sırasıyla %93,7 ile piperasilin ve seftazidim, %90,3 ile tetrasiklin, %87,1 ile tigesiklin, amikasin, levofloksasin, gentamisin ve klaritromisin, %83,9 ile piperasilin/tazobaktam, %77,4 ile ampisilin/sülbaktam ve trimetoprim/sülfametoksazol, %74,2 ile meropenem ve imipenem şeklindeydi.

İzolatlardaki duyarlılığın en yüksek olduğu antibiyotik %93,5 ile polimiksin B idi. Gentamisin (%2,9), sefazidim (%3,12), piperasilin (%6,5) ampisilin/sülbaktam,

piperasilin/tazobaktam ve tigesiklin (%9,7) dışındaki antibiyotiklere karşı duyarlılık %12,9 olarak tespit edildi. Antibiyotik duyarlılık bilgileri Çizelge 4.5'te verilmiştir.

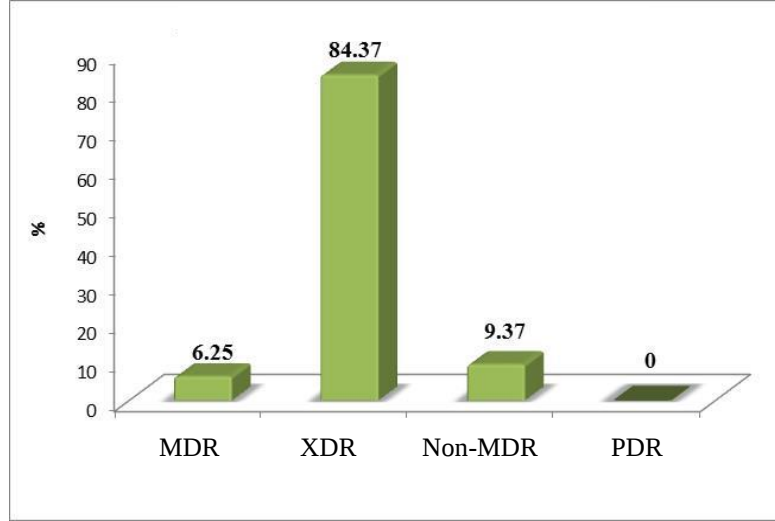
Çizelge 4.5 *A. baumannii* izolatlarının antibiyotik duyarlılığı

Sınıf	Antibiyotik	Duyarlılık Testi	N	%
Rifampisin	Rifampin	R	32	100
		I	0	0
		S	0	0
Sefalosporin	Sefazidim	R	30	93,7
		I	1	3,12
		S	1	3,12
Penicillin	Piperasilin	R	29	93,5
		I	0	0
		S	2	6,5
	Piperasilin/Tazo baktam	R	26	83,9
		I	2	6,5
		S	3	9,7
	Ampisilin/sülbaktam	R	24	77,4
		I	4	12,9
		S	3	9,7
Tetrasiklin ve Glisinler	Tigesiklin	R	27	87,1
		I	1	3,2
		S	3	9,7
Kinolonlar	Levofloksasin	R	27	87,1
		I	0	0
		S	4	12,9
	Siprofloksasin	R	27	87,1
		I	0	0
		S	4	12,9
Aminoglikozidler	Gentamisin	R	27	87,1
		I	0	0
		S	4	2,9
	Amikasin	R	27	87,1
		I	0	0
		S	4	12,9
Sülfonamidler	Trimetoprim/sülfametoksazol	R	24	77,4
		I	3	9,7
		S	4	12,9
Makrolitler	Klaritromisin	R	24	78,1
		I	0	0
		S	7	12,9
Karbapenemler	Meropenem	R	23	74,2
		I	4	12,9
		S	4	12,9
	İmipenem	R	23	74,2
		I	4	12,9
		S	4	12,9
Polimiksinler	Polymiksin B	R	0	0
		I	2	6,5
		S	29	93,5

Duyarlılık testinin mevcut sonuçları Irak'taki diğer çalışmalarla karşılaştırıldı ve önceki çalışmalara göre direnç oranının arttığı belirlendi (Ghaima *et al.* 2015, Sehree *et al.* 2021, İsmail *et al.* 2022). Diğer araştırmalarda antibiyotiğe dirençli izolatların çoğunluğunun ampisilin-sulbaktam (%70,9), tigesiklin (%70,3), seftriakson (%93), gentamisin (%86) ve rifampine (%96,8) karşı olduğunu göstermiştir (Biglari *et al.* 2013, Aliakbarzade *et al.* 2014).

Bu nedenle polymyxin'in MDR *A. baumannii* izolatlarının tedavisi için en etkili alternatif olduğu düşünülmektedir. Bu benzersiz sonuçlar, polymyxin'in iki mekanizma ile hareket edebilme etkisiyle açıklanabilir: ilk olarak, pozitif yüklü olduğundan, Gram negatif bakterilerin dış zarının elektropozitif LPS polipeptitleri ile etkileşime girer. Pozitif yüklü Ca^{+2} ve Mg^{+2} 'nin (dış hücre zarındaki LPS'lerin dengeleyicileri) yerini alırlar. Bu da hücre zarı homeostazının kaybına yol açar. Bu fenomen, zarın ozmoz sürecindeki bir kusur nedeniyle hücre ölümüne neden olur. İkinci olarak, polimiksinlerin güçlü antiendotoksin aktiviteye sahip oldukları ve A lipitlerine bağlanabildikleri kaydedilmiştir. LPS moleküllerinin bir kısmı tarafından nötralize edilir. Ne yazık ki, septik şoktan kaçınma mekanizması bilinmemektedir. Plazma endotoksininin LPS bağlayıcı protein tarafından anında bağlandığı ve kompleksin hızla hücre yüzeyi CD14'e bağlandığı düşünülmektedir (Garg *et al.* 2017).

Tüm *A. baumannii* izolatlarını MDR, XDR, non-MDR ve PDR olarak dört sınıfa ayırmak için antimikrobiyal duyarlılık testi kullanıldı. Bu kategorilerin yüzdesi sırasıyla %6,25; %84,37; %9,37 ve %0 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.4). Hassan ve Khider (2019) yaptıkları çalışmada, Erbil şehrindeki hastalardan örnekler almış ve izolatlarda MDR, XDR ve non-MDR oranlarını %18,2; %51,34 ve %29,73 olarak bulmuşlardır (Hassan and Khider 2019). MDR oranları mevcut çalışmada daha düşük iken XDR oranlarının %50'den fazla yükseldiği görülmüştür.



Şekil 4.4 *A. baumannii* izolatlarında antibiyotik direnç modeli

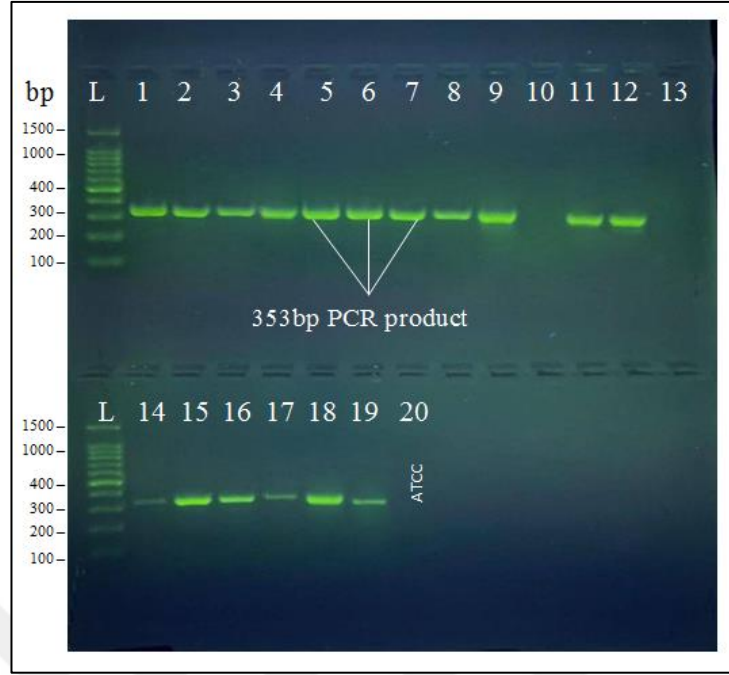
4.5 Jel Elektroforez Bulguları

A. baumannii için 16S rRNA'ya göre tür doğrulaması yapıldı. Jel elektroforez sonuçları Şekil 4.5'te verilmiştir.



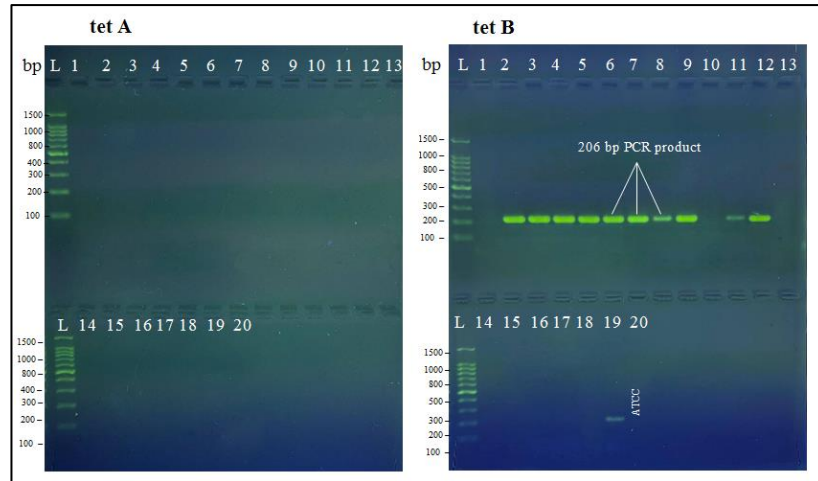
Şekil 4.5 *A. baumannii* izolatlarının jel elektroforez sonuçları

Tür doğrulaması yapılan örneklerde *blaOXA-51* geni için jel elektroforezi yapılmıştır. Sonuçlar Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6 *blaOXA-51* geni elektroforez sonuçları

Dışa akış pompasını kodlayan ve tetrasikline direnç faktörleri olan *tetA* ve *tetB* genlerini tanımlamak için yapılan jel elektroforez çalışması sonuçları Şekil 4.7’de verilmiştir. Analize alınan izolatların hiçbirinde *tetA* genine rastlanmamıştır.

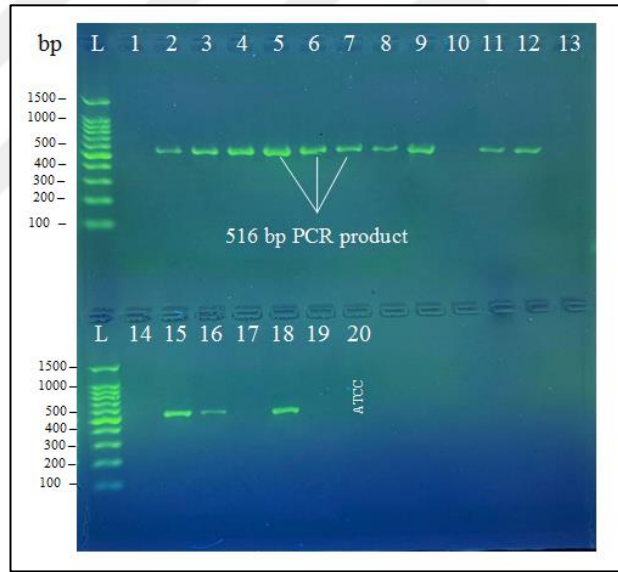


Şekil 4.7 *tetA* ve *tetB* jel elektroforez sonuçları

Araştırmamıza göre, tetrasikline dirençli izolatlar, *tetA* geni olmasa da *tetB* geninin (%55) önemli bir prevalansına sahipti. Mevcut çalışma, *A. baumannii* izolatlarının

%61,7'sinde *tetB* determinantlarını gösteren son araştırmalarla oldukça tutarlıdır. Ancak *tetA*, izolatların hiçbirinde tanımlanmadı (Beheshti *et al.* 2020). Bazı izolatlarda ise bu iki genin de bulunmaması diğer genetik faktörlerin de bu bakterilerin bazılarında tetrasiklin direnci üretimine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (Chen *et al.* 2009, Ardehali *et al.* 2019).

A. baumannii enfeksiyonlarından izole edilen suşlarda kinolon direncinden sorumlu olan plazmid aracılı kinolon direnci genlerinin görülme sıklığı son yıllarda yükselmiştir. *A. baumannii* suşlarında kinolon direncinin tespiti için PCR ile *qnrA* geni varlığı araştırılmış ve izolatlardaki varlığı %65 olarak tespit edilmiştir. Bu sonucun, % 52,6 ve % 66,27 olarak tespit edilen diğer 2 çalışmanın sonuçlarına yakın olduğu belirlenmiştir (Mohammed *et al.* 2021). Jel elektroforez sonuçları Şekil 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8 *qnrA* geni jel elektroforez sonucu

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ekim-Aralık 2023 tarihleri arasında, Erbil Şehrindeki Hawler Eğitim Hastanesi Genel Cerrahi Acil Yönetim Merkezi ve Nöroşirürji Bölümü'ndeki 1-60 yaş aralığındaki farklı klinik vakalardan toplanan balgam, yanık ve yara örneklerinde *A. baumannii* araştırılmıştır. Bakteri izolatlarının API 20E ve VITEK®2 ile yapılan tanımlanması sonucu tespit edilen suşlarda antibiyotik dirençliliğine bakılmış ve polimiksin B dışındaki tüm antibiyotiklere karşı değişen oranlarda direnç tespit edilmiştir. Tüm izolatların rifampine karşı dirençli olduğu görülmüştür. İzolatların yaklaşık % 85'i 1-2 antibiyotik grubu dışındaki tüm antibiyotiklere karşı dirençli çıkmıştır.

Kinolon direnci için incelenen *qnrA* geni ve tür tanımlanması için kullanılan 16S rRNA ve *blaOXA-51* genlerinin iyi sonuçlar verdiği teyit edilmiştir. Fakat izolatlardaki tetrasiklin direncine rağmen *tetA* geni hiçbirinde tespit edilememiş, *tetB* geni ise bir kısmında belirlenmiştir. Bu nedenle tetrasiklin direnci için farklı genlere de bakılması gerektiği düşünülmektedir.

Antibiyotik direncinin bu kadar yüksek çıkması nedeniyle tedavide öncelikle antibiyogram yapılması ve kombinasyon seçeneklerinin değerlendirilmesinin daha etkin ve tedavi sağlayacağı değerlendirilmektedir. Ayrıca diğer β -laktamaz kodlayan genlerinde incelenmesi tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Abdi-Hachesoo, B., Khoshbakht, R., Sharifiyazdi, H., Tabatabaei, M., Hosseinzadeh, S. and Asasi, K. 2014. Tetracycline resistance genes in campylobacter jejuni and C. coli isolated from poultry carcasses. Jundishapur Journal of Microbiology, 7(9): 7-11.
- Abdi, S. N., Ghotaslou, R., Ganbarov, K., Mobed, A., Tanomand, A., Yousefi, M., Asgharzadeh, M. and Kafil, H. S. 2020. Acinetobacter baumannii efflux pumps and antibiotic resistance. Infection and Drug Resistance, 13: 423-434.
- Abdullah, R. M. and Tariq, A. Z. R. 2019. 2nd International Scientific Conference of Applied Biotechnology. Journal of Biotechnology Research Center, 13(1): 9-14.
- Agersø, Y. and Petersen, A. 2007. The tetracycline resistance determinant Tet 39 and the sulphonamide resistance gene sulII are common among resistant Acinetobacter spp. isolated from integrated fish farms in Thailand. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 59(1): 23-27.
- Ahmad, N. H. and Mohammad, G. A. 2020. Identification of Acinetobacter baumannii and Determination of MDR and XDR Strains. Baghdad Science Journal, 17(3): 726-732.
- Al-Rafyay, H. M., Alwash, M. S. and Al-Khafaji, N. S. 2021. Quinolone resistance (qnrA) gene in isolates of Escherichia coli collected from the Al-Hillah River in Babylon Province, Iraq. Pharmacia, 68(1): 1-7.
- Aliakbarzade, K., Farajnia, S., Karimi Nik, A., Zarei, F. and Tanomand, A. 2014. Prevalence of aminoglycoside resistance genes in Acinetobacter baumannii isolates. Jundishapur Journal of Microbiology, 7(10): e11924.
- Aliramezani, A. Soleimani, M. Mazaheri, R. F. N. 2019. Virulence determinants and biofilm formation of Acinetobacter baumannii isolated from hospitalized patients. Pakistan Journal of Medical and Health Sciences, 13(3): 948-951.
- Alqumaizi, K. I., Kumar, S., Anwer, R. and Mustafa, S. 2022. Differential Gene Expression of Efflux Pumps and Porins in Clinical Isolates of MDR Acinetobacter baumannii. Life, 12(3): 1-9.

- Ardehali, S. H., Azimi, T., Fallah, F., Owrang, M., Aghamohammadi, N. and Azimi, L. 2019. Role of efflux pumps in reduced susceptibility to tigecycline in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbes and New Infections*, 30: 100547.
- Asadollahi, P., Akbari, M., Soroush, S., Taherikalani, M., Asadollahi, K., Sayehmiri, K., Maleki, A., Maleki, M. H., Karimi, P. and Emaneini, M. 2012. Antimicrobial resistance patterns and their encoding genes among *Acinetobacter baumannii* strains isolated from burned patients. *Burns*, 38(8): 1198-1203.
- Asif, M., Alvi, I. A. and Ur Rehman, S. 2018. Insight into *acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infection and Drug Resistance*, 11: 1249-1260.
- Atlas, R. M., Brown, A. E. and Parks, L. C. 1995. Laboratory manual of experimental microbiology. Mosby-Year Book. Inc., 25 pages, USA.
- Bagudo, A. I., Obande, G. A., Harun, A. and Singh, K. K. B. 2020. Advances in automated techniques to identify *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *Asian Biomedicine*, 14(5): 177-186.
- Beheshti, M., Ardebili, A., Beheshti, F., Lari, A. R., Siyadatpanah, A., Pournajaf, A., Gautam, D., Dolma, K. G. and Nissapatorn, V. 2020. Tetracycline resistance mediated by tet efflux pumps in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 62: 1-7.
- Biglari, S., Hanafiah, A., Ramli, R., Rahman, M. M. and Nizam Khaithir, T. M. 2013. Clinico-epidemiological nature and antibiotic susceptibility profile of *Acinetobacter* species. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 29(2): 4-8.
- Blanco, P., Hernando-Amado, S., Reales-Calderon, J. A., Corona, F., Lira, F., Alcalde-Rico, M. and Martinez, J. L. 2016. Bacterial multidrug efflux pumps: much more than antibiotic resistance determinants. *Microorganisms*, 4(1): 14.
- 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. *Clinical Microbiology and Infection*, 11(1): 15-23.
- Bryman, A. and Cramer, D. 2012. Quantitative Data Analysis with IBM SPSS 17, 18 & 19. In *Quantitative Data Analysis with IBM SPSS 17, 18 & 19*. Routledge.

- Chen, Y., Pi, B., Zhou, H., Yu, N. and Li, L. 2009. Triclosan resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Medical Microbiology*, 58(8): 1086-1091.
- Chukwudi, C. U. 2016. rRNA binding sites and the molecular mechanism of action of the tetracyclines. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(8): 4433-4441.
- Cosgaya, C., Mari-Almirall, M., Van Assche, A., Fernández-Orth, D., Mosqueda, N., Telli, M., Huys, G., Higgins, P. G., Seifert, H., Lievens, B., Roca, I. and Vila, J. 2016. *Acinetobacter dijkshoorniae* sp. Nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus-acinetobacter baumannii* complex mainly recovered from clinical samples in different countries. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(10): 4105-4111.
- Dasgupta, S., Das, S., Chawan, N. S. and Hazra, A. 2015. Nosocomial infections in the intensive care unit: Incidence, risk factors, outcome and associated pathogens in a public tertiary teaching hospital of Eastern India. *Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine*, 19(1): 14.
- Doi, Y., Murray, G. L. and Peleg, A. Y. 2015. *Acinetobacter baumannii*: evolution of antimicrobial resistance-treatment options. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 36(1): 85-98.
- Durante-Mangoni, E., Utili, R. and Zarrilli, R. 2014. Combination therapy in severe *Acinetobacter baumannii* infections: An update on the evidence to date. *Future Microbiology*, 9(6): 773-789.
- Evans, B. A., and Amyes, S. G. B. 2014. OXA β -lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(2): 241-263.
- Farhan, S. M., Ibrahim, R. A., Mahran, K. M., Hetta, H. F. and Abd El-Baky, R. M. 2019. Antimicrobial resistance pattern and molecular genetic distribution of metallo- β -lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospitals in Minia, Egypt. *Infection and Drug Resistance*, 12: 2125-2133.
- Fiester, S. E., Arivett, B. A., Schmidt, R. E., Beckett, A. C., Ticak, T., Carrier, M. V., Ghosh, R., Ohneck, E. J., Metz, M. L., Jeffries, M. K. S. and Actis, L. A. 2016. Iron-Regulated phospholipase C Activity contributes to the cytolytic activity and virulence of *acinetobacter baumannii*. *PLoS ONE*, 11(11): e0167068.

- Fishbain, J. and Peleg, A. Y. 2010. Treatment of *Acinetobacter* Infections. 51: 79-84.
- Fitzpatrick, M. A., Ozer, E. A. and Hauser, A. R. 2016. Utility of Whole-Genome Sequencing in Characterizing *Acinetobacter* Epidemiology and Analyzing Hospital Outbreaks. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(3): 593-612.
- Foong, W. E., Wilhelm, J., Tam, H. K. and Pos, K. M. 2020. Tigecycline efflux in *Acinetobacter baumannii* is mediated by TetA in synergy with RND-type efflux transporters. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(5): 1135-1139.
- Fukuda, K., Ogawa, M., Taniguchi, H. and Saito, M. 2016. Molecular Approaches to Studying Microbial Communities : Targeting the. *J. Uoeh*, 3: 223-232.
- Gadgul, A., Patarkar, R. and Deshpande, A. 2010. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 3(4): 1023-1028.
- Garg, S. K., Singh, O., Juneja, D., Tyagi, N., Khurana, A. S., Qamra, A., Motlekar, S. and Barkate, H. 2017. Resurgence of Polymyxin B for MDR/XDR Gram-Negative Infections: An Overview of Current Evidence. *Critical Care Research and Practice*, 2017: 10.
- Gay, K., Robicsek, A., Strahilevitz, J., Park, C. H., Jacoby, G., Barrett, T. J., Medalla, F., Chiller, T. M. and Hooper, D. C. 2006. Plasmid-mediated quinolone resistance in non-Typhi serotypes of *Salmonella enterica*. *Clinical Infectious Diseases*, 43(3): 297-304.
- Geisinger, E. and Isberg, R. R. 2015. Antibiotic Modulation of Capsular Exopolysaccharide and Virulence in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Pathogens*, 11(2): 1-28.
- Gerner-Smidt, P. 1992. Ribotyping of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(10): 2680-2685.
- Ghaima, K. K., Saadedin, S. M. K. and Jassim, K. A. 2015. Isolation, molecular identification and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolated from Baghdad hospitals. *Burns*, 27: 31.
- Goldberg, E. and Bishara, J. 2012. Contemporary unconventional clinical use of co-trimoxazole. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(1): 8-17.
- Gordon, N. C. and Wareham, D. W. 2009. Evaluation of CHROMagar *Acinetobacter* for detection of enteric carriage of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in

- samples from critically ill patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(7): 2249-2251.
- Harding, C. M., Hennon, S. W. and Feldman, M. F. 2018. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nature Reviews Microbiology*, 16(2): 91-102.
- 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 Pathogens*, 12(1): e1005391.
- Harding, C. M., Pulido, M. R., Di Venanzio, G., Kinsella, R. L., Webb, A. I., Scott, N. E., Pachón, J. and Feldman, M. F. 2017. Pathogenic *Acinetobacter* species have a functional type I secretion system and contact-dependent inhibition systems. *Journal of Biological Chemistry*, 292(22): 9075-9087.
- Harley, J. and Prescott, H. (2002). *Laboratory Exercises in Microbiology*. 5th Edition. The McGraw-Hill Companies, 1250 pages, New York.
- Hassan, P. A. and Khider, A. K. 2019. Correlation of biofilm formation and antibiotic resistance among clinical and soil isolates of *Acinetobacter baumannii* in Iraq. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 67(3): 161-170.
- Hedayatianfard, K., Akhlaghi, M. and Sharifiyazdi, H. 2014. Detection of tetracycline resistance genes in bacteria isolated from fish farms using polymerase chain reaction. *Veterinary Research Forum: An International Quarterly Journal*, 5(4): 269-275.
- Hee, C. C., Hyun, S. H., Lee, J. Y., Lee, J. S., Lee, Y. S., Kim, S. A., Chae, J. P., Yoo, S. M. and Lee, J. C. 2008. *Acinetobacter baumannii* outer membrane protein A targets the nucleus and induces cytotoxicity. *Cellular Microbiology*, 10(2): 309-319.
- Imperi, F., Visca, P., Antunes, L. C. and Carattoli, A. 2011. Deciphering the multifactorial nature of *Acinetobacter baumannii* pathogenicity. *PLoS ONE*, 6(8): e22674.
- Ioannou, P., Mavrikaki, V. and Kofteridis, D. P. 2020. Infective endocarditis by *Acinetobacter* species: a systematic review. *Journal of Chemotherapy*, 33(4), 1-13.

- Janda, J. M. and Abbott, S. L. 2007. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: Pluses, perils, and pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9): 2761-2764.
- June, C. M., Muckenthaler, T. J., Schroder, E. C., Klammer, Z. L., Wawrzak, Z., Powers, R. A., Szarecka, A. and Leonard, D. A. 2016. The structure of a doripenem-bound OXA-51 class D β -lactamase variant with enhanced carbapenemase activity. *Protein Science*, 25(12): 2152-2163.
- Karageorgopoulos, D. E. and Falagas, M. E. 2008. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *The Lancet Infectious Diseases*, 8(12): 751-762.
- Khalil, M. A. F., Azzazy, H. M. E., Attia, A. S. and Hashem, A. G. M. 2014. A sensitive colorimetric assay for identification of *Acinetobacter baumannii* using unmodified gold nanoparticles. *Journal of Applied Microbiology*, 117(2): 465-471.
- Kheshti, R., Pourabbas, B., Mosayebi, M. and Vazin, A. 2018. In vitro activity of colistin in combination with various antimicrobials against *Acinetobacter baumannii* species, a report from South Iran. *Infection and Drug Resistance*, 12: 129-135.
- Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R. and Connolly, L. E. 2016. Aminoglycosides : An Overview. 6: 1-18.
- Kulkarni, H. M. and Jagannadham, M. V. 2014. Biogenesis and multifaceted roles of outer membrane vesicles from Gram-negative bacteria. *Microbiology*, 160(10): 2109-2121.
- Kyriakidis, I., Vasileiou, E., Pana, Z. D. and Tragiannidis, A. 2021. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*, 10(3): 1-31.
- Lahiri, K. K., Mani, N. S. and Purai, S. S. 2004. *Acinetobacter* spp as nosocomial pathogen: Clinical significance and antimicrobial sensitivity. *Medical Journal Armed Forces India*, 60(1): 7-10.
- Laishram, S., Pragasam, A., Bakthavatchalam, Y. and Veeraraghavan, B. 2017. An update on technical, interpretative and clinical relevance of antimicrobial synergy testing methodologies. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 35(4): 445-468.

- Lee, Y. T., Kuo, S. C., Chiang, M. C., Yang, S. P., Chen, C. P., Chen, T. L. and Fung, C. P. 2012. Emergence of carbapenem-resistant non-baumannii species of *Acinetobacter* harboring a blaOXA-51-like gene that is intrinsic to *A. baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(2): 1124-1127.
- Leelasupasri, S., Santimaleeworagun, W. and Jitwasinkul, T. 2018. Antimicrobial Susceptibility among Colistin, Sulbactam, and Fosfomycin and a Synergism Study of Colistin in Combination with Sulbactam or Fosfomycin against Clinical Isolates of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Pathogens*, 2018: 1-5.
- Liu, Q., Hassan, K. A., Ashwood, H. E., Gamage, H. K. A. H., Li, L., Mabbutt, B. C. and Paulsen, I. T. 2018. Regulation of the *aceI* multidrug efflux pump gene in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(6): 1492-1500.
- Liu, Y. M., Lee, Y. T., Kuo, S. C., Chen, T. L., Liu, C. P. and Liu, C. E. 2017. Comparison between bacteremia caused by *Acinetobacter pittii* and *Acinetobacter nosocomialis*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 50(1): 62-67.
- Mak, J. K., Kim, M. J., Pham, J., Tapsall, J. and White, P. A. 2009. Antibiotic resistance determinants in nosocomial strains of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63(1): 47-54.
- Martiny, D., Busson, L., Wybo, I., Ait El Haj, R., Dediste, A. and Vandenberg, O. 2012. Comparison of the Microflex LT and Vitek MS systems for routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization - time of flight mass spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(4): 1313-1325.
- Maslova, E., Eisaiankhong, L., Sjöberg, F. and McCarthy, R. R. 2021. Burns and biofilms: priority pathogens and in vivo models. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 7(73): 1-9.
- Maza, L., Pezzlo, M., Sigeni, J. and Peterson, E. 2004. *Color Atlas of Medical Bacteriology*, ASM, 464 pages, Washington.
- McBroom, A. J. and Kuehn, M. J. 2007. Release of outer membrane vesicles by Gram-negative bacteria is a novel envelope stress response. *Molecular Microbiology*, 63(2): 545-558.

- Merkier, A. K. and Centrón, D. 2006. blaOXA-51-type β -lactamase genes are ubiquitous and vary within a strain in *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 28(2): 110-113.
- Mitchell, J. M. and Leonard, D. A. 2014. Common clinical substitutions enhance the carbapenemase activity of OXA-51-like class D β -lactamases from *Acinetobacter* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(11): 7015-7016
- Mohammed, M. A., Salim, M. T. A., Anwer, B. E., Aboshanab, K. M. and Aboulwafa, M. M. 2021. Impact of target site mutations and plasmid associated resistance genes acquisition on resistance of *Acinetobacter baumannii* to fluoroquinolones. *Scientific Reports*, 11(1): 1-16.
- Moon, D. C., Choi, C. H., Lee, J. H., Choi, C. W., Kim, H. Y., Park, J. S., Kim, S. Il and Lee, J. C. 2012. *Acinetobacter baumannii* outer membrane protein a modulates the biogenesis of outer membrane vesicles. *Journal of Microbiology*, 50(1): 155-160.
- Morris, F. C., Dexter, C., Kostoulas, X., Uddin, M. I. and Peleg, A. Y. 2019. The Mechanisms of Disease Caused by *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology*, 10: 1061.
- Moubareck, C. A. and Halat, D. H. 2020. Insights into *Acinetobacter baumannii*: A review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen. *Antibiotics*, 9(3): 119.
- Nemec, A., Krizova, L., Maixnerova, M., Sedo, O., Brisse, S. and Higgins, P. G. 2015. *Acinetobacter seifertii* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex isolated from human clinical specimens. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(3): 934-942.
- Nguyen, F., Starosta, A. L., Arenz, S., Sohmen, D., Dönhöfer, A. and Wilson, D. N. 2014. Tetracycline Antibiotics and Resistance Mechanisms. 395(5): 559-575. <https://doi.org/10.1515/hsz-2013-0292>
- Nguyen, M. and Joshi, S. G. 2021. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*, and their importance in hospital-acquired infections: a scientific review. *Journal of Applied Microbiology*, 131(6): 2715-2738.

- Noskin, G. A., Lee, J., Hacek, D. M., Postelnick, M., Reisberg, B. E., Stosor, V. and Peterson, L. R. 1996. Molecular typing for investigating an outbreak of *Candida krusei*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 26(3-4):117-123.
- Nwabor, O. F., Terbtthakun, P., Voravuthikunchai, S. P. and Chusri, S. 2021. Evaluation of the synergistic antibacterial effects of fosfomycin in combination with selected antibiotics against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Pharmaceuticals*, 14(3): 1-18.
- Olaitan, A. O., Morand, S. and Rolain, J. M. 2014. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 5: 643.
- Pachón-Ibáñez, M. E., Docobo-Pérez, F., López-Rojas, R., Domínguez-Herrera, J., Jiménez-Mejías, M. E., García-Curiel, A., Pichardo, C., Jiménez, L. and Pachón, J. 2010. Efficacy of rifampin and its combinations with imipenem, sulbactam, and colistin in experimental models of infection caused by imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3): 1165-1172.
- Peleg, A. Y., Seifert, H. and Paterson, D. L. 2008. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(3): 538-582.
- Poirel, L., Bonnin, R. A. and Nordmann, P. 2011. Genetic basis of antibiotic resistance in pathogenic *Acinetobacter* species. *IUBMB Life*, 63(12): 1061-1067.
- Ramirez, M. S., Bonomo, R. A. and Tolmasky, M. E. 2020. Carbapenemases: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace. *Biomolecules*, 10(5): 1-31.
- Raso, A., and Biassoni, R. 2020. A Quarter Century of PCR-Applied Techniques and Their Still-Increasing Fields of Use. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 2065, 1–4.
- Ravea, A. F. G., Kussb, A. V., Peila, G. H. S., Ladeirac, S. R., Villarreal, J. P. V. and Nascentee, P. S. 2019. Biochemical identification techniques and antibiotic susceptibility profile of lipolytic ambiental bacteria from effluents. *Brazilian Journal of Biology*, 79(4): 555-565.
- Roberts, M. C. 2005. Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS Microbiology Letters*, 245(2): 195-203.

- Roier, S., Zingl, F. G., Cakar, F., Durakovic, S., Kohl, P., Eichmann, T. O., Klug, L., Gadermaier, B., Weinzerl, K., Prassl, R., Lass, A., Daum, G., Reidl, J., Feldman, M. F. and Schild, S. 2016. A novel mechanism for the biogenesis of outer membrane vesicles in Gram-negative bacteria. *Nature Communications*, 7: 1-13.
- Rollauer, S. E., Soorashjani, M. A., Noinaj, N. and Buchanan, S. K. 2015. Outer membrane protein biogenesis in Gram-negative bacteria. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1679): 1-10.
- Romeua, B., Salazarb, P., Navarrob, A., Lugoa, D., Hernándezb, U., Rojasa, N. and Eslavab, C. 2010. Utilidad del sistema VITEK en la identificación y determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de bacterias aisladas de ecosistemas dulceacuícolas. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 41: 1-9.
- Rusu, A. and Buta, E. L. 2021. The Development of Third-Generation Tetracycline Antibiotics and New Perspectives. *Pharmaceutics*, 13: 1-30.
- Sadiq, Z. and Sehlawi, A. 2014. Isolation and Identification of *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates using Novel Methods. *Journal of Babylon University*, 22(3): 1041-1050.
- Saier, M. H. and Paulsen, I. T. 2001. Phylogeny of multidrug transporters. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 12(3): 205-213.
- Saier, M. H., Reddy, V. S., Tamang, D. G. and Västermark, Å. 2014. The transporter classification database. *Nucleic Acids Research*, 42: 251-258.
- Salah, Fortune Djimabi, Soubeiga, S. T., Ouattara, A. K., Sadji, A. Y., Metuor-Dabire, A., Obiri-yeboah, D., Banla-kere, A., Karou, S. and Simpore, J. 2019. Distribution of quinolone resistance gene (qnr) in ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in Lomé, Togo. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 8: 1-8.
- Salvador-Membreve, D. M. and Rivera, W. L. 2021. Predominance of *bla*tem and *tetA* genes in antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolates from Laguna Lake, Philippines. *Journal of Water Sanitation and Hygiene for Development*, 11(5): 814-823.
- Sánchez-Encinales, V., Álvarez-Marín, R., Pachón-Ibáñez, M. E., Fernández-Cuenca, F., Pascual, A., Garnacho-Montero, J., Martínez-Martínez, L., Vila, J., Tomás, M. M., Cisneros, J. M., Bou, G., Rodríguez-Baño, J., Pachón, J. and Smani, Y. 2017. Overproduction of Outer membrane protein A by *Acinetobacter baumannii* as a

- risk factor for nosocomial pneumonia, bacteremia, and mortality rate increase. *Journal of Infectious Diseases*, 215(6): 966-974.
- Sehree, M. M., Abdullah, H. N. and Jasim, A. M. (2021). Isolation and Evaluation of Clinically Important *Acinetobacter Baumannii* From Intensive Care Unit Samples. *JOURNAL OF TECHNIQUES*, 3(3), 83-90.
- Shamsizadeh, Z., Nikaeen, M., Esfahani, B. N., Mirhoseini, S. H., Hatamzadeh, M. and Hassanzadeh, A. 2017. Detection of antibiotic resistant *Acinetobacter baumannii* in various hospital environments: Potential sources for transmission of acinetobacter infections. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 22(1): 1-7.
- Smani, Y., McConnell, M. J., & Pachón, J. (2012). Role of fibronectin in the adhesion of *Acinetobacter baumannii* to host cells. *PloS one*, 7(4), e33073. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033073>
- 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(9): 1-19.
- Sugawara, E. and Nikaido, H. 2012. OmpA is the principal nonspecific slow porin of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Bacteriology*, 194(15): 4089-4096.
- Sun, C., Hao, J., Dou, M. and Gong, Y. 2015. Mutant prevention concentrations of levofloxacin, pazufloxacin and ciprofloxacin for *A. baumannii* and mutations in *gyrA* and *parC* genes. *Journal of Antibiotics*, 68(5): 313-317.
- Tafreshi, N., Babaeekhou, L. and Ghane, M. 2019. Antibiotic resistance pattern of *Acinetobacter baumannii* from burns patients: increase in prevalence of blaOXA-24-like and blaOXA-58-like genes. *Iranian Journal of Microbiology*, 11(6): 502.
- Tal-Jasper, R., Katz, D. E., Amrami, N., Ravid, D., Avivi, D., Zaidenstein, R. and Marchaim, D. 2016. Clinical and epidemiological significance of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(5): 3127-3131.
- Tiku, V. 2022. *Acinetobacter baumannii*: Virulence strategies and host defense mechanisms. *DNA and Cell Biology*, 41(1): 43-48.

- Thottoli, A. K. and Unni, A. K. A. 2013. Effect of trisodium citrate concentration on the particle growth of ZnS nanoparticles. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 3:1-12.
- Turton, J. F., Woodford, N., Glover, J., Yarde, S., Kaufmann, M. E. and Pitt, T. L. 2006. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the bla OXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(8): 2974-2976.
- Vahhabi, A., Hasani, A., Rezaee, M. A., Baradaran, B., Hasani, A., Samadi Kafil, H., Abbaszadeh, F. and Dehghani, L. 2021. A plethora of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: no end to a long insidious genetic journey. *Journal of Chemotherapy*, 33(3): 137-155.
- Venkataramana, G. P., Lalitha, A. K., Mariappan, S. and Sekar, U. 2022. Plasmid-Mediated Fluoroquinolone Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Laboratory Physicians*, 14(03): 271-277.
- Viehman, J. A., Nguyen, M. H. and Doi, Y. 2014. Treatment options for carbapenem-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Drugs*, 74(12): 1315-1333.
- Wilson, D. N. 2014. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. *Nature Publishing Group*, 12(1): 35-48.
- Yılmaz and Özcengiz, G. 2017. Antibiotics: Pharmacokinetics, toxicity, resistance and multidrug efflux pumps. *Biochemical Pharmacology*, 133: 43-62.
- 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(3): 10-1128

EKLER

EK 1. API 20E sonucu

EK 2. VITEK 2 Sistemi çizelge raporu

EK 3. CLSI (2021)'e göre inhibisyon bölgelerinin çap yorumlama standartları



EK 1. API 20E sonucu



EK 2. VITEK 2 Sistemi çizelge raporu

Identification Information	Analysis Time: 6.83 hours	Status: Final
Selected Organism	99% Probability Bionumber: 0241010001500210	Acinetobacter baumannii
ID Analysis Messages		

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	+	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	+	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAIap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			

bioMérieux Customer:
System #:

Laboratory Report

Printed Dec 9, 2020 21:29 CST
Autoprint

Patient Name:
Isolate: 24-1 (Qualified)

Patient ID:

Card Type: AST-N326 Bar Code: 7661269203501383 Testing Instrument: 000015F22E89 (12914)
Setup Technologist: Laboratory Administrator(Labadmin)

Organism Quantity: Selected Organism: *Acinetobacter baumannii*

Comments:	

Identification Information	
Organism Origin	Technologist
Selected Organism	<i>Acinetobacter baumannii</i>
Entered: Dec 9, 2020 11:02 CST	By: Labadmin
Analysis Messages:	
The following antibiotic(s) are suppressed from analysis: Amikacin,	

Susceptibility Information	Card: AST-N326		Lot Number: 7661269203	Expires: May 18, 2021 13:00 CDT	
	Completed: Dec 9, 2020 21:29 CST		Status: Final	Analysis Time: 10.38 hours	
Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Piperacillin	>= 128	R	Netilmicin	>= 32	R
Piperacillin/Tazobactam	>= 128	R	Tobramycin	>= 16	R
Ceftazidime	>= 64	R	Ciprofloxacin	>= 4	R
Cefepime			Levofloxacin	>= 8	R
Aztreonam			Tetracycline	8	I
Imipenem	>= 16	R	Tigecycline	4	I
Meropenem	>= 16	R	Colistin		
Amikacin			Trimethoprim/Sulfamethoxazole	160	R
Gentamicin	>= 16	R			

*= Deduced drug **= AES modified ***= User modified

AES Findings:	Last Modified: Aug 7, 2018 17:42 CDT	Parameter Set: CLSI+Natural Resistance
Confidence Level:	Consistent	

Installed VITEK 2 Systems Version: 08.01
MIC Interpretation Guideline: CLSI M100-S25 (2015)
AES Parameter Set Name: CLSI+Natural Resistance

Therapeutic Interpretation Guideline: NATURAL RESISTANCE
AES Parameter Last Modified: Aug 7, 2018 17:42 CDT

EK 3. CLSI (2021)'e göre inhibisyon bölgelerinin çap yorumlama standartları

Antibiotics	Code	Disc Content(ug)	Diameter of inhibition zone (mm)		
			Susceptible	Intermediate	Resistant
Tetracycline	TE	10 Mg	$15 \geq$	12-14	≤ 11
Meropenem	MEM	10 Mg	≥ 18	15-17	≤ 14
Imipinem	IPM	10 Mg	≥ 22	19-21	≤ 18
Amikacin	AK	30 Mg	≥ 17	15-16	≤ 14
Pipracillin /Tazobactam	PIT	100/10 Mg	≥ 21	18-20	≤ 17
Rifampin	RA	5 Mg	≥ 20	17-19	≤ 16
Ampicillin /sulbactam	A/S	10/10 Mg	≥ 15	12-14	≤ 11
Polymyxin B	PB	300 unis	≥ 19	14-18	≤ 13
Levofloxacin	LEV	5 Mg	≥ 17	14-16	≤ 13
Clarithromycin	CL	15 Mg	≥ 13	-	≤ 12
Tigcycline	TGC	15 Mg	≥ 16	13-15	≤ 12
Trimethoprim	TMP	1.25/23.75 Mg	≥ 16	11-15	≤ 10
Ciprofloxacin	CIP	10 Mg	≥ 21	16-20	≤ 15
Gentamycin	CN	10 Mg	≥ 15	13-14	≤ 12
Ceftazidime	CAZ	30 Mg	≥ 18	15-17	≤ 14
Piperacillin	PRL	100 Mg	≥ 21	18-20	≤ 17

