

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ACİNETOBACTER BAUMANNİ İZOLATLARINDA EFFLUX
POMPASI VE QUORUM SENSİNG GENLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

EBRU KARADAĞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof.Dr. Uğur ARSLAN

KONYA-2022

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ACİNETOBACTER BAUMANNİ İZOLATLARINDA EFFLUX
POMPASI VE QUORUM SENSİNG GENLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

EBRU KARADAĞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof.Dr. Uğur ARSLAN

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 20202009 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2022

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Ebru KARADAĞ tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr.Bahadır FEYZİOĞLU

Necmettin Erbakan Üniversitesi

İmza

Danışman:

Prof.Dr. Uğur ARSLAN

Selçuk Üniversitesi

İmza

Üye:

Prof.Dr. Hatice TÜRK DAĞI

Selçuk Üniversitesi

İmza

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu 07.01.2020 tarih ve 2020/41 sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. F. Hümeysra YERLİKAYA AYDEMİR

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜRLER

Lisansüstü eğitim sürecim boyunca ders ve tez dönemimde akademik bilgilerini ve deneyimlerini paylaşan, tezimin her aşamasında karşılaştığım tüm sorunlarıma çözümleyici yaklaşımlar sunan, öğrencilik sürecimde desteğini eksik etmeyen, öğrencisi olmaktan memnuniyet duyduğum değerli danışmanım, değerli hocam Sayın Prof. Dr. Uğur ARSLAN 'na ve desteklerini hissettiğim ailesine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Lisansüstü eğitim sürecinde akademik bilgi ve deneyimlerini paylaşan Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Sayın Prof. Dr. Duygu FINDIK'a ve Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı değerli öğretim üyeleri: Sayın Doç. Dr. Hatice TÜRK DAĞI'na ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Salih MAÇİN'e teşekkür ederim.

Emekli olup ders döneminde kendisinden dersler aldığım, her konunun en ayrıntısına kadar anlatan, bilgilerini paylaşan gerekirse uygulama yapıp gösteren, özverisiyle her dersinden memnun duyduğum, hayatla ilgili anılarını anlatarak öğrencilerine her konuda yardımcı olan, kendisini hayatımda örnek aldığım sevgili Prof. Dr. İnci TUNCER'e teşekkür ederim.

Her zaman desteğini gördüğüm, tez sürecimde bilgilerinden faydalandığım ve eksik olduğum her konuda gerek tecrübelerini gerek yardımlarını esirgemeyen Sayın Araştırma Görevlisi Dr. Nurullah ÇİFTÇİ'ye teşekkür ederim.

Tezimle ilgili her ayrıntısında yardımlarını esirgemeyen, tez süresince örneklerin toplanması aşamasında yanımda olan ve desteğini yakından hissettiğim yüksek lisans boyunca her anımda gerek dostluğu gerek mikrobiyoloji konusunda bilgisi ile beni aydınlatan, sevgili arkadaşım doktora öğrencisi Sayın Masma SHAHBAZOVA 'ya çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans yaptığım süre boyunca her anı gerek derslerde gerek üniversite dışında güzel anılar biriktirdiğim, ailemden uzakta olduğumda arkadaşlıkları ile hep yanımda olan, tezimde beni destekleyen manevi destekleri olan yüksek lisansta tanışmış olduğum bölüm arkadaşlarıma minnettarım. Her yeni bilgi ve tecrübeyi edindiğim Sayın Ruqiye SEMEDZADE'e teşekkür ederim.

Bölüme ilk başladığım andan itibaren her an laboratuvarı pratikte uygulanan her testi bilimsel olarak gözlemleyebildiğim, tecrübelerini paylaşan yeri geldiğinde bilimsel tartışmalara girebildiğim, laboratuvarı nasıl, ne şekilde bulunmam gerektiğini öğreten, ekipman, cihaz konularında tecrübelerini paylaşan, tezim boyunca yardımları olan tüm Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

20202009 nolu proje ile tezimin yürütülmesinde malzeme araç gereç ve maddi olarak sağlayan Selçuk Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemde büyük emekleri olan, sevgilerini ve özverilerini hiç esirgemeyen, her anımda yanımda olan ve dualarını benden eksik etmeyen canım annem Gülşen KARADAĞ ve babam İsmail KARADAĞ'a, kız kardeşim Kübra KARADAĞ ve erkek kardeşim Kadir KARADAĞ' a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET.....	x
SUMMARY	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Tarihçe ve sınıflandırma	4
2.2. İnsan Enfeksiyonlarında En Çok Rastlanılan Acinetobacter Türleri	5
2.3. Genel Mikrobiyolojik Özellikler	7
2.4. Epidemiyoloji.....	11
2.5. Patogenez Ve Virülans Faktörleri	15
2.5.1. Porinler ve OMP'ler	16
2.5.2. Lipopolisakkaritler	18
2.5.3. Kapsüler Polisakkaritler	18
2.5.4. Fosfolipazlar.....	19
2.5.5. Protein Sekresyon ve Salgı Sistemleri	20
2.5.6. Dış Memran Vezikülü (OMV)	21
2.5.7. Demir Kazanım Mekanizmaları	22
2.5.8. Penisilin Bağlayıcı Protein 7/8 ve β -laktamaz	22
2.5.9. Pili/Hareket Sistemi	23
2.5.10. Hemolitik Aktivite	24
2.5.11. Biyofilm Oluşturma	25
2.5.12. Efflux Sistemleri	36
2.5.13. Quorum Sensing	44
2.6. Antibiyotik Temelli Tedavi Yaklaşımları	49
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	52
3.1. Örneklerin Toplanması.....	52
3.2. Örneklerin İncelenmesi ve Ekimi.....	52
3.3. İzolasyon ve İdentifikasyon İçin Kullanılan Besiyeri ve Ayıraçlar	53
3.3.1. Besiyeri	53
3.3.2. Ayıraçlar.....	54
3.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemiyle identifikasyon.....	56
3.3.4. Agaroz jel elektroforezi.....	60
3.3.5. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi	60

4. BULGULAR	62
4.1. Hastalara Ait Özellikler.....	62
4.2. Moleküler Yöntemlerle Elde Edilen İdentifikasyon Bulguları	65
4.2.1. PCR Sonuçları.....	65
5. TARTIŞMA	67
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	78
7. KAYNAKÇA	80
8. EKLER	98
Ek A: Etik Kurul Kararı.....	98
Ek B: Turnitin Raporu	99



SİMGELER VE KISALTMALAR

A. baumannii	: Acinetobacter baumannii
ABC	: ATP bağlayıcı kaset ailesi
ACB Kompleksi	: Acinetobacter Calcoaceticus–Acinetobacter Baumannii Complex
AT	: Ototransportör
Ata	: Acinetobacter Trimeric Autotransporter
ATCC	: American Type Culture Collection
AFLP	: Amplifiye fragment uzunluk polimorfizm analizi,
AHL	: N- açıl- D/ L- homoserin lakton
AK	: Amikasin
Bç	: Baz çifti
Bla	: Beta- laktamaz
Bap	: Biyofilm-ilişkili Protein
BfmRS	: Biofilm Formation Regulator System
C°	: Santigrad derece
CARB	: Karbenisilin hidrolize eden beta- laktamaz
CAZ	: Seftazidim
CCCP	: Karbonil siyanür m-klorofenil hidrazon
CES	: Sefaperazon-sulbaktam
CFU/ml	: Coloni forming unit/mililitre (Koloni oluşturan birim/mililitre)
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CIP	: Siprofloksasin
COL	: Kolistin
ÇİD	: Çok İlaça Dirençli
CsuA/BABCDE	: Chaperone–usher Pili Assembly System
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksinükleotidtrifosfat
DAP	: 1,3 diaminopropan
Dk	: Dakika
EDTA	: Etilendiamintetraasetat
EMB	: Eozin Metilen Blue Agar
EPS	: Ekzopolisakkarit
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing/ Avrupa Klinik Değer Tablosu
FEP	: Sefepim

G	: Gram
GN	: Gentamisin
GSBL	: Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
İYE	: İdrar Yolu Enfeksiyonu
IM	: İç Membran
IMP	: İmipenem
Kb	: Kilobaz
Kbç	: Kilobaz çifti
KKA	: Koyun Kanlı Agar
KDE	: Kan Dolaşımı Enfeksiyonu
LAM	: Leeds Acinetobacter Medium
LEV	: Levofloksasin
LOS	: Lipooligosakkarit
LPS	: Lipopolisakkarit
M	: Molar
MATE	: Çoklu ilaç ve toksin ihraç ailesi
MBK	: Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MBL	: Metallo beta- laktamaz
MDR	: Çoklu İlaç Dirençli
MFS	: Kolaylaştırıcı süper ailesi
MIK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
ml	: Mililitre
MLST	: MultiLokus Sekans Tiplendirmesi
Mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
OM	: Outher- Dış Membran
OMP	: Dış Membran Proteini
OmpA	: Dış membran proteini A
OMV	: Dış membran vezikülleri
ORF	: Açık okuma çerçevesi
OXA	: Okzasilinaz
PagP	: Palmitoil transferaz
PBP	: Penisilin Bağlayıcı Protein
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PCR- ESIMS	: PCR-Electrospray İyonizasyon/Kütle Spektrometre
PDR	: Panresistant İlaç Direnci/Pan Drug Resistant
PFGE	: Pulsed Field Jel Elektroforezi
pH	: Power of hydrogen (Hidrojen gücü)
PL	: Fosfolipaz
PNAG	: poly- β - 1, 6- N- asetilglukosamin
RAPD	: Random polimorfik DNA amplifikasyon analizi,
pmol	: Pikomol
RND	: Direnç- nodülasyon- hücre bölünmesi süper ailesi
rpm	: Rotation per minute (dakikadaki devir sayısı)
SAM	: Sulbaktam- Ampisilin
SMR	: Küçük çoklu ilaç direnç ailesi
sn	: Saniye
TAE	: Tris-asetik asit-etilendiamin tetra asetik asit
TCS	: İki bileşenli düzenleyici sistem
Tet	: Tetrasiklin
TISS	: Tip 1 salgılama sistemi
TISS	: Tip 2 salgılama sistemi
TIVSS	: Tip 4 salgılama sistemi
TLR	: Toll- like reseptör
TVISS	: Tip 6 salgılama sistemi
TVSS	: Tip 5 salgılama sistemi
TSI	: Üç şekerli demirli besiyeri
Tris	:Tris (hidroksimetil) aminometan
UV	: Ultraviyole
VİP	: Ventilator İlişkili Pnömoni
V/cm	: Volt/santimetre
YBÜ	: Yoğun bakım ünitesi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü /World Health Organization
XDR	: Bütün Antibiyotiklere Dirençli /Extensively Drug Resistant
QS	: Quorum Sensing, Çoğunluğu Algılama
μ l	: Mikrolitre
μ m	: Mikrometre
β - laktam	: Beta- laktam
β - laktamaz	: Beta- laktamaz

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Acinetobacter cinsinin taksonomisi (Bouvet ve Grimont 1987).....	4
Tablo 2. Acinetobacter Türlerinin Fenotipik Karakterleri (Gupta ve ark 2015)	7
Tablo 3. Acinetobacter türlerine göre AHL tipleri (Garner ve ark 2012, Lade ve ark 2014)	48
Tablo 4. PCR Bileşenleri.....	57
Tablo 5. Acinetobacter baumannii izolatlarının virülans faktörlerinin saptanması için kullanılan primerler.....	58
Tablo 6. Acinetobacter baumannii izolatlarının virülans faktörlerinin saptanması genleri için PCR ısı döngü ve süre diyagramı (Modarresi, 2015) {Modarresi, 2015 #1}.....	59
Tablo 7. Hastaların Yaş Gruplarına Göre Dağılımı	62
Tablo 8. Hastaların Kliniklere Göre Dağılımı.....	62
Tablo 9. Antibiyotikler ve Hastaların Antibiyotiklere Karşı Gösterdiği Direnç/ Duyarlılık EUCAST'e Göre Yorumlamaları.....	63
Tablo 10. Kullanılan Antibiyotiklerin 53 Hastada Oluşturduğu Direnç Yüzdeleri...	65
Tablo 11. Virülans Genlerinin Dağılımı.....	65
Tablo 12. Konya İlinde Kan Kültürlerinden İzole Edilen A. baumannii'nin Yıllara Oranla Antibiyotik Direnç Yüzdeleri.....	74
Tablo13. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın 2006 Ve 2018 Yıllarında İzole Edilen A. baumannii Suşlarının Direnç Oranlarının Karşılaştırılması [N(%)]	75
Tablo 14. 2019-2021 Yıllarında Yaptığımız Çalışma Antibiyotik Ve Direnç Genlerinin Yüzdelik Olarak Oranlarının Karşılaştırılması	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Acinetobacter baumannii Virülans Faktörleri. (i) Porinler, hücre yüzeylerinde bulunur (ompA ve omp22 gibi) biyogenezin düzenlenmesine yardımcı olurlar. (ii) Dış membrandan oluşan LPS'ler, hayatta kalmada önemli bir rol oynar. (iii) Kapsüler polisakkaritler, antimikrobiyal dirençle ilişki dış membranda bulunur. (iv) Protein salgılama sistemleri, proteinleri periplazmik alandan hücre dışına taşır. (v) PL, membranın içine gömülü, fosfolipid metabolizmasında rol oynar. (vi) Dış membran vezikülleri (OMV), bakteriler ve konak hücre arasında vasıta görevi görür (Skariyachan ve ark 2019).	15
Şekil 2. Biyofilmi etkileyen faktörler (Saipriya ve ark 2020)	30
Şekil 3. A. Baumannii'nin Hücre Duvarındaki Adeabc Akış Pompasının İşlevi . AdeA Membran Füzyon Proteini, AdeB Çoklu İlaç Taşıyıcısı Ve AdeC Dış Membran Proteini Olarak Görev Yapar. AdeB, Antibiyotikleri Çift Katmanlı Fosfolipidlerin İç Zarında Veya Sitoplazmada Yakalar, Ardından Substratları AdeC (Membran Kanalı Proteini) İle Dışarı Taşır (Xu ve ark 2019).....	39
Şekil 4. A. baumannii'nin Kanlı Agar Besiyerinde Oluşan Koloni Görüntüsü	53
Şekil 5. Kullanılan PCR Cihazı (SensQuest Labcycler)	59
Şekil 6. Araştırmada Kullanılan Malzemeler.....	60
Şekil 7. Araştırmada Kullanılan Malzemeler 2.....	61
Şekil 8. AdeA Geninin Elektroforez Jelinde Pozitif Görünümü Fotoğrafı.....	66

ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ACINETOBACTER BAUMANNII İZOLATLARINDA EFFLUX POMPASI VE QUORUM SENSİNG GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Acinetobacter baumannii özellikle yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) ve immün sistemi baskılanmış hastalarda olmak üzere ciddi hastane infeksiyonlarına neden olabilmektedir. Uzun süre yoğun bakım ünitesinde kalma, antibiyotik kullanımı ve mekanik ventilatöre bağlı kalma, damar içi kateterizasyon, idrar sondası, endotrakeal tüp, trakeostomi, enteral beslenme ve birimde infekte veya kolonize hasta yoğunluğunun fazla olması infeksiyon için başlıca risk faktörleridir. Ventilatörle ilişkili pnömoni, bakteriyemi/sepsis, yumuşak doku infeksiyonları, üriner sistem infeksiyonları, nozokomiyal menenjit, peritonit, osteomyelit, sinovit ve konjunktivit gibi birçok infeksiyona neden olurlar.

Acinetobacter baumannii türleri hem antibiyotiklere karşı yüksek oranda direnç geliştirebilme hem de hastane ortamında uzun süre canlı kalabilme özellikleri nedeniyle hastaları kolaylıkla kolonize edebilmekte ve hastane personeli aracılığıyla ve solunum cihazları gibi ekipmanlarla diğer hastalara yayılarak epidemilere neden olabilmektedirler. Antimikrobiyal direnç profilleri hastaneden hastaneye, hatta aynı hastanenin farklı klinikleri arasında bile değişiklik gösterebilmektedir. Bu nedenle her hastanede *A. baumannii* suşlarının duyarlılık seviyelerini düzenli olarak izlenmeli ve tedavi protokolleri bu doğrultuda güncellenmelidir.

Bir bakterinin patogenezi için gerekli olan şartlardan biri, yeni çevreye uyum sağlamak ve çevreden gelen uyarınlara algılayarak yanıt geliştirmektir. Bakteri birçok farklı mekanizma ile pH, ozmolarite, besin kaynağı ve popülasyon yoğunluğu gibi çevresel şartlardaki değişiklikleri algıladığında, metabolizmasında birtakım değişiklikler yaparak yeni şartlara kendini adapte etmeye çalışır. “Minimum popülasyon birimini algılama” olarak ifade edilen “Quorum Sensing (QS)” mekanizması, bakterinin etrafındaki popülasyon yoğunluğunu saptamasına yarayan bir sistem olup, bakteri bu bilgiyi birçok genin regülasyonunu kontrol etmekte kullanır. *Acinetobacter* izolatlarında, QS sistemi sinyal moleküllerinin N-açıl homoserin lakton (NAHL) yapısında olduğu saptanmıştır. Bu sistemin, *Acinetobacter* gibi fırsatçı patojenlerde çeşitli virülans faktörlerinin otoindüksiyonunda temel mekanizma olabileceği düşünülmektedir. *A. baumannii*’nin QS genlerini (*abaI* ve *abaR*) horizontal olarak *Halothiobacillus neapolitanus*’tan kazandığı bildirilmekte ve bu sistemin, bakterinin biyofilm oluşturmada katkıda bulunduğu ifade edilmektedir.

Acinetobacter türlerinde bulunan özel antibiyotik ajanlar için spesifik eflüks pompalarına ek olarak Gram negatif bakterilerde kromozomal olarak kodlanan çoklu ilaç eflüks sistemi tanımlanmıştır. Antimikrobiyal ajanların etkilerinin azaltılmasına ya da etkisizleştirilmesine neden olan temel eflüks sistemleri; major kolaylaştırıcı süper ailesi, direnç-nodülasyon-bölünme ailesi, ATP-bağlayıcı kaset ailesi, küçük çoklu ilaç direnç ailesi ve çoklu ilaç ve toksik madde ekstrüzyon ailesi şeklinde ifade edilmiştir. Klinik direnç söz konusu olduğunda bu temel eflüks sistemleri arasında direnç nodülasyon bölünme ailesi öne çıkmaktadır. *A. baumannii*’de direnç nodülasyon bölünme ailesine ait *adeABC* eflüks sistemi tanımlanmış ve aminoglikozidlere dirençteki rolü ve kloramfenikol, florokinolonlar, trimetoprim ve sefotaksime azalmış duyarlılıkla ilişkisi açıkça ortaya konmuştur. Ayrıca *adeA*, *adeB* ve *adeC* genlerinin sıklıkla bulunduğu; *adeS* ve *adeR* genleri ile de birliktelik *Acinetobacter* izolatlarında direnç nodülasyon bölünme ailesine ait eflüks sistemi olan *adeDE* de saptanmıştır. *adeE* genindeki aktivasyonun amikasin, seftazidim, kloramfenikol, siprofloksasin, eritromisin, etidium bromür, meropenem, rifampisin ve tetrasikline azalmış duyarlılık ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir.

Bu çalışmada hastanemizde kan kültüründe üreyen hastane kaynaklı *A. baumannii* türlerinde direnç nodülasyon bölünme ailesine ait Eflüks Pompası genleri (*adeABC*) ve bakterinin biyofilm oluşturmada katkıda bulunduğu düşünülen (*luxI*, *luxR*) Quorum Sensing genlerinin varlığı araştırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, Eflüks Pompa, Quorum Sensing

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY
SELCUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

INVESTIGATION OF EFFLUX PUMP AND QUORUM SENSING GENES IN ACINETOBACTER BAUMANNII ISOLATES

Acinetobacter baumannii can cause serious hospital infections, especially in immunocompromised patients or intensive care units (ICUs). Main risk factors for infection are long stay in the intensive care unit, antibiotic usage, adherence to mechanical ventilator, intravenous catheterization, urinary catheter, endotracheal tube, tracheostomy, enteral nutrition and high density of infected or colonized patients. They cause many infection such as ventilator-associated pneumonia, bacteremia/sepsis, soft tissue infections, urinary system infections, nosocomial meningitis, peritonitis, osteomyelitis, synovitis and conjunctivitis.

A. baumannii species can easily colonize patients due to their high resistance to antibiotics and their long-term viability in the hospital environment. They can cause epidemics by spreading to other patients through hospital staff and equipment such as respiratory equipment. Antimicrobial resistance profiles can vary from hospital to hospital, even between different clinics of the same hospital. Therefore, susceptibility patterns of *A. baumannii* strains should be monitored regularly in every hospital and treatment protocols should be updated accordingly.

One of the conditions required for the pathogenesis of a bacterium is to adapt to the new environment and to develop responses by perceiving stimulants from the environment. When bacteria detect changes in environmental conditions such as pH, osmolarity, food source and population density with many different mechanisms, it tries to adapt itself to new conditions by making some changes in its metabolism. The Quorum Sensing (QS) mechanism, which is referred to as "sensing the minimum population unit", is a system for determining the population density around the bacteria and the bacteria uses this information to control the regulation of many genes. *Acinetobacter* izolatlarında, QS sistemi sinyal moleküllerinin N-açıl homoserin lakton (NAHL) yapısında olduğu saptanmıştır. It is thought that this system may be the main mechanism for auto-induction of various virulence factors in opportunistic pathogens such as *Acinetobacter*. It is reported that *A. baumannii* acquired QS genes (*abaI* and *abaR*) horizontally from *Halothiobacillus neapolitanus* and this system contribute to the biofilm formation of the bacteria.

In addition to specific efflux pumps found in *Acinetobacter* species, a chromosomally encoded multiple drug efflux system in Gram negative bacteria has been identified. Efflux systems that cause the effects of antimicrobial agents to be reduced or inactivated; Major facilitating superfamily was expressed as resistance-nodulation-cleavage family, ATP-binding cassette family, small multi-drug resistance family and multi-drug and toxic substance extrusion family. When it comes to clinical resistance, the resistance nodulation division family stands out among these basic efflux systems. In *A. baumannii*, the *adeABC* efflux system of the resistance nodulation cleavage family has been defined and its role in resistance to aminoglycosides and its relationship with reduced sensitivity to chloramphenicol, fluoroquinolones, trimethoprim and cefotaxime. In addition, *adeA*, *adeB* and *adeC* genes are frequently found; Along with the *adeS* and *adeR* genes, resistance in the *Acinetobacter* isolates was determined as *adeE*, the efflux system of the nodulation cleavage family. Activation in the *adeE* gene has been reported to be associated with reduced susceptibility to amikacin, ceftazidime, chloramphenicol, ciprofloxacin, erythromycin, etidium bromide, meropenem, rifampicin and tetracycline.

In this study, the presence of the Efflux Pump genes (*adeABC*) belonging to the resistance nodulation cleavage family and the Quorum Sensing genes (*luxI*, *luxR*) that are thought to contribute to the biofilm formation of the bacteria will be investigated.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, Efflux Pump, Quorum Sensing

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bu çalışmada Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nin farklı bölümlerinden Ocak 2019'dan Haziran 2021'e kadar geçen süre boyunca hastane laboratuvarına gelen kan kültürü ekimlerinden izole edilen, farklı yaş gruplarından oluşan 53 hastadan *Acinetobacter baumannii* izolatları toplanmıştır.

Bu çalışmada hastanemizde kan kültüründe üreyen hastane kaynaklı *Acinetobacter baumannii* türlerinde direnç nodülasyon bölünme ailesine ait Efflux Pompası genleri (adeABC) ve bakterinin biyofilm (bap geni) oluşturmada katkıda bulunduğu düşünülen (luxI, luxR) Quorum Sensing genlerinin varlığı araştırılacaktır.

GİRİŞ

Acinetobacter baumannii, Gammaproteobacteria sınıfından gram negatif bakteri cinsidir (Blanchard ve ark 2014). *A. baumannii* tüm çevresel yüzeylerden izole edilmektedir. İnsanda *A. baumannii* genel olarak kasık ve parmak araları gibi nemli bölgelerde bulunurken aynı zamanda cildin bakteriyel mikrobiyotasının bir parçasını oluşturmaktadır. Sağlıklı yetişkinlerin %40'ından fazlasında deri ve mukoz membranlarda kolonizasyon oluşturmaktadır. Bu oran hastane çalışanları arasında daha da yüksek gözlemlenmektedir (Manchanda ve ark 2010).

Acinetobacter spp. enfeksiyonlarının ilişkisinde birçok risk faktörü etkindir; hastanede kalış süresi, yoğun bakım ünitesiyle temas, hastanın immün sisteminin zayıflığı, mekanik ventilasyon, antimikrobiyal ajanlarla etkileşimi, mevcut cerrahi alet ekipmanların sterilizasyonu, kullanılan dezenfektanların oranları ve çeşitleri gibi birçok faktör etkili olabilmektedir. Genel çevre kirliliği, ortam koşulları, personellerin bilinçli hijyen kurallarına uyması faktörlerde eklenebilir. Bu bağlamda, solunum bakım ekipmanlarında, yara bakım prosedürlerinde ve bazı hasta bakım ürünlerinde enfeksiyon vakaları tespit edilmiştir (Maragakis ve Perl 2008).

A. baumannii çeşitli yüzeylerde biyofilm oluşturma, kuruluğa ve dezenfektanlara dirençli olma özellikleri nedeniyle özellikle yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) ventilatörle ilişkili pnömoniye (VİP) sebep olan ve hastane salgınlarından sıklıkla izole edilen mortalitesi yüksek önemli bir nozokomiyal patojendir (Almasaudi 2018). *Ventilatörle ilişkili pnömoni* (VİP), sepsis, endokardit, menenjit, üriner sistem

enfeksiyonu, kan dolaşım ve yumuşak doku enfeksiyonları gibi ciddi hastane kaynaklı oluşan enfeksiyonların etkenidirler (Ozdem ve ark 2011). Bu bakteri, çeşitli koşullarda uzun süre hayatta kalmasını ve hastanelerdeki yüzeylede ve materyallerde kolonize olmasını, insan rezervuarları veya cansız elementler yoluyla hastalar arasında transferini sağlaması nedeniyle klinik olarak önemli patojenler arasında yerini almaktadır. Ayrıca bu organizma çeşitli antibiyotik türlerine karşı direnç gösterir (Taitt ve ark 2014) . *A. baumannii* suşları ile enfeksiyonun en önemli yönü, tamamen bilinen antibiyotiklere karşı direnç göstermeleridir, bu da küresel sağlık hizmetleri camiasının acilen harekete geçmesi gerektiğinin işaretidir. Yüksek antibiyotik direnç oranı nedeniyle bu patojen hastane ortamında uzun süre hayatta kalabilmekte ve hastane ortamında yayılabilmektedir (Peleg ve ark 2008).

A. baumannii, hastane veya hastane kaynaklı hastalıklara neden olduğu için küresel bir tehdit unsurudur. Çoklu ilaca dirençli suşların artması ve yüksek morbidite ve mortalite nedeniyle *A. baumannii*, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) ilaca dirençli bakteri ve antimikrobiyal direnç araştırma öncelik listesinde yer almaktadır (Blanco ve ark 2018).

Çoklu ilaca dirençli bakterileri tedavi etmek, hastanede yatan hastaların bakımında klinisyenin pratiğinde en büyük öncelik olarak kalmıştır. *A. baumannii*, sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyonlarda giderek daha önemli ve ciddi bir tür olarak belirlenmiştir (Fishbain ve Peleg 2010). Çoklu ilaç direnci üç veya daha fazla antibiyotik kategorisinde en az bir ajana direnç olarak tanımlanmaktadır. MDR 'multi drug resistance' terimi bir ya da iki antibiyotik dışında tüm antibiyotiklere direnç olarak kabul edilmektedir (Magiorakos ve ark 2012).

Gelişmiş ülkelerin son 20 yılına bakıldığında, çoklu antibiyotik direncine sahip gram negatif basillerin oluşturduğu nazokomiyal enfeksiyonlar son dönemlerin başlıca sorunu haline gelmiştir (Chastre 2003). *Acinetobacter spp.* genellikle yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) hastane enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan bakteri türü olmasında bakterinin direnç genlerinin yatay olarak kazanılması ve MDR ortaya çıkması ana faktörlerdir. Son zamanlarda dışa akış sistemleri için kromozomal genlerin geliştirilmiş ekspresyonunun MDR'de önemli bir rol oynadığı görölmüştür (Coyne ve ark 2011).

Çoklu ilaca dirençli suşların yükselişi dünya çapında hastane hastaları için büyük bir tehdit haline gelen bu patojen için tedavi seçeneklerini sınırlamıştır (Lin ve Lan 2014).

Tıp alanında güncel gelişmelerle uygulanan yöntemler ile nozokomiyal enfeksiyona bağlı olarak uygulanan antibiyotik ilaç tedavi seçeneklerine karşı oluşan direnç oranları çeşitlilik göstermektedir. Bu durum hastalıklar ile ilgili tedavi seçimiyle birlikte mücadele yöntemlerinde de sorunlara neden olmaktadır (Fridkin ve ark 1997).

Moleküler tiplendirme, *A. baumannii* enfeksiyonlarının temel mekanizmalarını belirlemede ve bakteri türleri arasındaki ilişkiyi ayırır. Moleküler tiplendirme teknikleri günümüz koşullarında hastanelerde var olan enfeksiyonun birincil nedenini değerlendirmek ve tanımlamak için ilk başvurulacak etkili bir yöntemlerdir (Aljindan ve ark 2018).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe ve sınıflandırma

Acinetobacter spp. 1800'lü yıllarda morfolojik özellikleriyle dikkat çektikleri iki bilim insanının adları alarak 'Morax-Axenfeld basilleri' olarak literatüre geçmiştir (Bergogne-Berezin ve Towner 1996). 1911 yılında Beijerinck tarafından ilk defa topraktan izole edilen bu mikroorganizma, *Micrococcus calcoaceticus* olarak isimlendirilmiştir (Peleg ve ark 2008).

Acinetobacter sözcüğünün kökeni Yunanca hareketsiz anlamında olan "akinetos" kelimesinden üretilmiştir. 1954 yılında *Acinetobacter* türleri, Brison ve Prevot adında iki bilim insanı tarafından Gram negatif, pigmente sahip olmayan, hareketsiz, sporsuz, kapsül oluşturan, zorunlu aerobik ve nonfermentatif kokobasiller olarak tanımlanmıştır (Brisou ve Prevot 1954). Baumann ve ark. 1968'de yaptığı incelemelerde *Acinetobacter*'leri biyokimyasal ve morfolojik özelliklerini ayrıntılı araştırarak, *Acinetobacter* cinsi olarak Moraxellaceae ailesi içinde 1971'de "Moraxella ve ilişkili Bakteriler Taksonomi Komitesi" tarafından resmi olarak onaylanmıştır (Baumann 1968).

Tablo 1. *Acinetobacter* cinsinin taksonomisi (Bouvet ve Grimont 1987)

Alem:	Bacteria
Şube:	Proteobacteria
Sınıf:	Gamma Proteobacteria
Takım:	Pseudomonadales
Familya:	Moraxellaceae
Cins:	<i>Acinetobacter</i>

Acinetobacter cinsine ait tür çalışmaları 1986 yılında Bouvet ve Grimont bilim insanları tarafından yapılmıştır ve DNA-DNA hibridizasyon yöntemiyle *Acinetobacter* cinsi içinde 12 farklı genomik tür tanımlanmıştır (Bouvet ve Grimont 1987).

1989'da Tjernberg ve Ursing, ardından Bouvet ve Jeanjean'ın yaptığı çalışmalarla tanımlanıp keşfedilen genomik tür sayısı artmış (Bouvet ve Jeanjean 1989, Tjernberg ve Ursing 1989) ve günümüzde bu sayı 82'ye ulaşmıştır (*Acinetobacter* 2021). Bilimsel olarak en çok karşılaşılan genomik türler: *A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus*, *A. junii*, *A. johnsonii*, *A. lwoffii*, *A.*

radioresistens'dir. *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter* genomik tür 3 ve *Acinetobacter* genomik tür 13 TU, büyük bir benzerlik göstermektedir. Belirtilen dört tür Oksidasyon-Fermantasyon besiyerlerinde karbonhidratları fermente edip asit oluşturarak, sakkarolitik özellikte olup tür ayrımı aşağıdaki gibi yapılmıştır (Baumann ve ark 1968).

I- Sakkarolitik *Acinetobacter* Türleri:

A. Hemolitik: *A. alcaligenes*, *A. anitratus*, *A. haemolyticus*

B. Non-hemolitik: *A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. anitratus*, *A. calcoaceticus subsp. anitratus*

II- Asakkarolitik *Acinetobacter* Türleri:

Non-hemolitik: *A. calcoaceticus subsp. lwoffii*, *A. johnsonii*, *A. junii*, *A. lwoffii*

Fenotipik özelliklerinin karşılaştırılması yapıldığında benzer özellik gösteren bu dört bakteri türü '*Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* kompleks (ACB)' olarak adlandırılmıştır (Winn ve Woods 2006). *A. baumannii* klinik örneklerde en sık izole edilen patojen tür olmak birlikte klinik olarak önemli olan diğer türler *A. lwoffii*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, genomik tür 3 ve genomik tür 6' dır. *A. johnsonii*, *A. lwoffii* ve *A. radioresistens* insan derisinin doğal florasında yer alan ve sakkarolitik olarak fermente özelliği olmayan *Acinetobacter* türleridir (Winn J 2006).

2.2. İnsan Enfeksiyonlarında En Çok Rastlanılan *Acinetobacter* Türleri

Özellikle ACB kompleksini oluşturan bu bakteri türleri insanın doğal florası yanı sıra sağlık tesislerinde normal koşullarda en sık izole edilen bakterilerdir (Sahl ve ark 2013). Bu türler arasında *A. baumannii* MDR ve pan ilaç dirençli (PDR) izolatları ile mortalitesi yüksek nozokomiyal enfeksiyonlara sebep olurken, klinik salgınlarda en çok görülen tür olsa da diğer ACB üyeleri de ciddi hastalıklar oluşturmaktadır. Dünya genelindeki klinik laboratuvarlarda tür tanımlamasındaki teknolojik sınırlamalar nedeniyle tam ayırım yapılamayarak *Acinetobacter* spp. hakkında yapılan araştırmalar sınırlıdır (Wisplinghoff ve ark 2012).

Acinetobacter lwoffii nonfermentatif, gram negatif, glikoz oksidasyonu negatif olan aerobik bir basildir. *A. johnsonii* ve *A. lwoffii* olumsuz çevresel şartlarında hayatta kalabildikleri gibi domuz pastırması, yumurta, pastörize süt ve balık gibi

dondurulmuş gıdalarda da bulunabilmektedir. Bu bakteri orofarenks ve derinin normal florasında bulunan, hastane enfeksiyonlarında ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda izole edilen patojendir. *A. lwoffii*'ye bağlı toplum kökenli enfeksiyon vakalar pnömoni, akut gastroenterit, karaciğer apsesi, sepsis ve endokardit olarak bildirilmiştir (Winn J 2006).

A. nosocomialis suşu 1996 yılında kalça enfeksiyonundan izole edilerek keşfedilmiştir. ACB kompleksi içinde yer almaktadır. Virülansı düşük fırsatçı bir patojen olmasına rağmen virülans faktörleri açısından kapsamlı olarak incelenmiştir. *A. nosocomialis* daha önce *A. baumannii* olarak adlandırılrsa da genom dizilimindeki farklılıklardan dolayı yeniden sınıflandırılmıştır. *A. nosocomialis*'te birçok potansiyel virülans faktörü tanımlanmıştır. Bunlar, CTFR inhibitör faktörü (Cif), protein O-glikosilasyon sistemi, tip-I salgı sistemi, tip-II salgı sistemi, dış zar veziküllerinin salgılanması, OmpA'yı, CpaA proteaz ve çekirdek algılama'yı içerir (Carruthers ve ark 2013).

A. pittii gram negatif, oksidaz negatif, katalaz pozitif, katı aerobik, hareketsiz, diplococcoid çubuk bakteridir. DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları *Acinetobacter* cinsi içindeki DNA gruplarını (genomik türler) tanımlamak için kullanılır. Bu yöntemle tanımlanan ACB kompleksine ait olan *A. pittii*, ismini İngiliz mikrobiyolog Tyrone Pitt'in adını almıştır (Na ve ark 2016). *A. pittii* çevrede yaygın bulunarak yiyecekleri ve hayvanları kontamine eder. İnsanlara deri veya ağız yoluyla bulaşarak enfeksiyona neden olur (Chusri ve ark 2014). Hastalar ile yapılan çalışmalar sonucunda *A. pittii*'nin virülansı ve konakçı-patojenik etkileşimi daha iyi karakterize olurken, enfeksiyonun düşük prevalansı nedeniyle zor görünmektedir. *A. pittii* ile enfekte hastalarda ölüm oranı %15 iken *A. baumannii* %40 olarak bulunarak *A. pittii* enfeksiyonlarının düşük oranlarda karşılaşıldığını kanıtlamaktadır (Wisplinghoff ve ark 2012).

Tablo 2. *Acinetobacter* Türlerinin Fenotipik Karakterleri (Gupta ve ark 2015)

Testin Adı	<i>Acb complex</i>	<i>A. lwoffii</i>	<i>A. haemolyticus</i>	<i>A. junii</i>	<i>A. radioresistens</i>
Katalaz	+	+	+	+	+
Oksidaz	-	-	-	-	-
Üreaz	V	V	-	-	-
Sitrat	+	-	+	+	-
Glikoz Oksidasyon-Fermentasyonu	+	-	V	-	-
Nitrat	-	-	-	-	-
Hemoliz	-	-	+	-	-
Jelatin Hidrolizi	-	-	+	-	-
42°C Büyüme	+	-	-	-	-
Arginin Hidrolizi	R	S	R	R	R
Kloramfenikol	+	-	+	+	+

V: Değişken, S: Duyarlı, R: Dirençli, OF: Oksidasyon-Fermentasyon

2.3. Genel Mikrobiyolojik Özellikler

Acinetobacter spp. doğada toprak, su ve çevreyle etkileşim halinde olan her türlü habitatta yaygın olarak bulunur. Cansız yüzeylerde günlerce canlı kalarak nazokomiyal enfeksiyonların önemli bir bölümünü oluştururlar. Bu bakteriler nazlı değildir yani üremek için herhangi bir üreme faktörüne veya ekstrem koşullara gerek duymazlar (Baumann 1968).

Acinetobacter spp. biyokimyasal olarak katalaz pozitif, oksidaz negatif, sitrat pozitif, deoksiribonükleaz negatif, indol negatif, şeker fermente etmeyen, asit oluşturmeyen, nitrata redükte etmeyen, non-hemolitik ve non-fermentatif özelliklere sahiptir. Kültür ortamında üremek için aerobik koşulları tercih ederler. Optimum üreme dereceleri birçok tür için 20- 35°C, klinik olarak önemli türler için ise 37°C ve üzeridir (Bartual ve ark 2005).

Acinetobacter spp. Gram boyama ile tespit edilen morfolojik yapılarında gözlenebilen yaşam döngüsü evresine göre farklılık gösterebilmektedir. Genellikle bu bakteriler hızlı büyüme özelliği olan logaritmik üreme fazında basil olarak kısa, geniş

gram-negatif çubuklar olarak görünürken; üremenin durağan fazda ise daha kokobasil veya diplokok şeklinde görünebilmektedirler. Bu bakteriler taze kan preparat kültürü yapıldığında ilk zamanlarda Gram-pozitif olarak görüntülebilmektedir.

Acinetobacter cinsi bakterilerin hücre duvar yapısı diğer Gram-negatif bakterilere benzer yapılar gösterir. *A. baumannii*'de L-ramnoz, D-glikoz, D-glukronik asit, D-mannozdan oluşan polisakkarit yapıda bir kapsül bulunmaktadır. Bu kapsül bakterinin fagositozdan korunmasında rol oynayarak bakterinin virülansına katkı sağlar (Winn J 2006).

A. baumannii hücre duvar yapısı diğer gram negatif bakterilere benzerken kapsül yapısının içeriğindeki kristal viyoleyi tutma eğilimi mikroskopta gram pozitif kok olarak görünmesine neden olabilmektedir. Gram boyanma bakterideki bu yapısal farklılık ile dekolonizasyonda kısmi olarak oluşan direnç ile birlikte *Neisseria* türleri ve *Streptomonas maltophilia* bakterileriyle karıştırılabilmektedir fakat oksidaz negatif özellik göstermeleri nedeniyle *Neisseria* ve *Moraxella* gibi diğer nonfermentatif bakterilerden ayrılırlar (Doughari ve ark 2011).

Kapsül hücre yüzeyindeki hidrofobisiteyi artırır ve medikal aletlere tutunmada işlevsellik gösterir (Bergogne-Berezin ve Towner 1996). *A. baumannii* sitoplazmik membranı çevreleyen bir dış membrana sahiptir. Dış membranın lipopolisakkarit tabakası; hidrofobik lipit A, polisakkarit yapıdaki kor tabakası ve hidrofilik O antijeninden oluşmaktadır. Doymuş yağ asitlerinden oluşan Lipit A yapısı içeriğindeki endotoksin ile patajenite özelliğine sahiptir. Kor polisakkariti, lipit A ve O antijeni arasında yer almaktadır. Polisakkarit tabaka hapten niteliğinde olup antijenik özellik göstermekte ve ayrıca bakteriyofajlara özgü reseptörler taşımaktadır (Seifert ve ark 1993). O antijeni tekrarlayan karbonhidrat yapılarından oluşmuştur. *A. baumannii*'nin dış membranında çeşitli proteinler (porinler, integral proteinler) yer almaktadır. Bu proteinler hücre duvarına seçicilik kazandırmakla birlikte bazı moleküllerin hücre içine girişini; bazılarının da (hidrolitik enzimler vb.) hücre dışına çıkışını engelleyerek kontrolünden sorumludur. Dış membranda bulunan bu proteinlerin kaybı antimikrobiyal direncin ortaya çıkışında önemli bir mekanizmadır (Seifert ve ark 1993).

Acinetobacter türleri koyun kanlı agar, triptik soy agar ve Mac Conkey/ Eozin - Metilen Blue (EMB) agar gibi rutin laboratuvar ortamında kullanılan standart besiyerlerinde kolay üremektedir.

Üç şekerli demirli besiyeri (TSI) ve oksidatif fermentatif besiyerinde asit oluşturmazlar, yani non-fermentatifler.

Mac Conkey/ EMB agarda laktoz negatif renksiz/saydam ya da besiyerinin renginde S tipi koloniler oluşturlar (Bergogne-Berezin ve Towner 1996).

Klinik koşullarda genellikle en sık izole edilen patojen tür olan *A. baumannii* hemoliz yapmadan, glukozu oksitleyerek ve 44°C sıcaklıkta üreyebilme yeteneği ile diğer Acinetobacter türlerinden ayırt edilebilir. *A. lwoffii* glukozu oksitlemeyen ve hemoliz yapmayan türdür. *A. haemolyticus* türü de hemoliz yapan bir türdür. *A. johnsonii* ise 37°C’de üreyememesi ile diğer türlerden ayırt edilebilir (Schreckenberger PC 2007, Bahar İH 2008).

Koyun kanlı agarda bu türe ait bakteriler 0,5-2 mm çapında şeffaf-opak ya da grimsi-beyaz, zeminden kabarık sınırları düzgün, bazen mukoid koloniler oluşturmaktadırlar. *Acinetobacter haemolyticus* ve diğer türlerin çoğu (Acinetobacter genomik tür 6, 13BJ, 14BJ, 15BJ, 16 ve 17) koyun kanlı agarda hemoliz oluşturmalarına rağmen “*A. calcoaceticus*-*A. baumannii* complex (ACB)” üyeleri hemoliz yapamazlar (Winn J 2006, Peleg ve ark 2008).

ACB kolonileri, 1,5-3 mm koloni çapıyla Enterobacteriaceae kolonilerine benzer olup, diğer Acinetobacter türlerine göre daha küçük ve daha şeffaf koloniler oluşturmaktadırlar (Almasaudi 2018).

Acinetobacter spp. enfeksiyonlarını tanımlamak ve enfeksiyona neden olan bakteri türünü belirlemek için klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan geleneksel yöntemler uygulanmaktadır. Bu yöntemlerde tür ayırımında üreme derecesi, hemoliz oluşturma, jelatin hidrolizi, glikozdan asit oluşturma ve farklı karbon kaynaklarının özümlemesi gibi uygulanması zahmetli ve zaman alan metabolik testler kullanılmaktadır (Olaitan ve ark 2014).

Acinetobacter spp. standart kültürlerde kolayca ürer ve izole edilir, ancak gram negatif basilleri ayırt etmek için yaygın olarak kullanılan birçok biyokimyasal testte nispeten reaktif olmadığı için tanımlama geç konulabilmektedir (Berrin ESEN 2020).

Klinik servislerden ve diğer ortamlardan gelen örneklerin *Acinetobacter* türlerinin izole edilmesinde seçici ve ayırt edici besiyerleri geliştirilmiştir. Bu sebeple diğer mikroorganizmaların üremelerini inhibe eden bazı metal, tuz, boya gibi kullanılan seçici besiyerlerinde ekim yapılabilmektedir. Bu besiyerlerine örnek olarak bromkrezol moru, safra tuzları, bazı şekerleri içeren Herella agar, bazı antibiyotikleri içeren Leeds *Acinetobacter* Medium (LAM) ve Holton's agar gibi seçici besiyeri kullanılmaktadır. Herellea medium, diğer mikroorganizmaların üremesini inhibe eden bromkrezol moru, safra tuzları, laktoz ve maltoz şekerlerini içermektedir. Leeds *Acinetobacter* Medium ve Holton's Agar ise vankomisin, sefsulodin ve sefradin gibi antibiyotik ilavesi ile *Acinetobacter* türlerinin üremesi için uygun koşulları oluşturmaktadır (Jawad ve ark 1994).

Bakteri türlerini kesin olarak ayırt eden bir yöntem bulunmamaktadır. Ayırt etmede kullanılan yöntemler serolojik reaksiyonlu testler, bakteriyofaj, bakteriyosin, antibiyotik duyarlılık paternleri, protein profiller, multilokus enzim elektroforez, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), pulsed field jel elektroforez ve ribotiplendirme kullanılmaktadır ama bu metotlar içinde kullanılabilecek en uygun ve ideal metot kesin olarak bilinmemektedir. Geleneksel biyokimyasal metotlar türler arasında ayırım yapmada yeterli değildir. Bu amaçla birçok karbon kaynağının asimilasyonu temeline dayanan hazır ticari kitler geliştirilerek laboratuvarlarda kullanılmaktadır. Moleküler tiplendirme yöntemleri arasında ise plazmid profillemesi, ribotipleme, Pulsed Field Jel Elektroforezi (PFGE), Random polimorfik DNA amplifikasyon (RAPD) analizi, Rep-PZT, Amplifiye fragment uzunluk polimorfizm (AFLP) analizi, MultiLokus Sekans Tiplendirmesi (MLST) ve PCR-Electrospray İyonizasyon/Kütle Spektrometre (PCR-ESIMS) bulunmaktadır. Moleküler yöntemlerden olan PFGE, altın standart olarak kabul edilmektedir (Londero ve ark 2019).

Hastane ortamlarında *A. baumannii* suşlarının genotipik ilişkisini saptamak için kullanılan PFGE ve MLST dahil olmak üzere birkaç önemli genotipik yöntem vardır. Ayrıca, enterobakteriyel tekrarlayan intergenik konsensüs (ERIC)-PCR dahil olmak üzere PCR tabanlı yöntemler, fermentatif olmayan gram-negatif basiller için

değerli tiplendirme yöntemleridir (Silbert ve ark 2004). PFGE, MLST ve ERIC-PCR gibi genotip teknikler, bulunabilirliği, maliyet etkinliği ve daha kısa sürede yapılabilmesi nedeniyle başta bakteriler olmak üzere mikroorganizmalarda tiplendirme yöntemi olarak kullanılan yaygın olan yöntemlerdir. ERIC-PCR, bakterilerin epidemiyolojik ve genotipleme çalışmalarında kullanılan moleküler bir tekniktir. Bu yöntem, diziler daha uzun olduğu ve genomun belirli bir bölgesine dayanmadığı için bakteri dizilerini incelemek için büyük bir potansiyel sağlar. Bu yaklaşım aynı zamanda çok çeşitli bakteri türlerinin genomlarını araştırmak ve karşılaştırmak için ayrıntılı bilgi sağlar (Londero ve ark 2019, Moosavian ve Emam 2019).

2.4. Epidemiyoloji

Acinetobacter spp. genel olarak nemli toprak/çamur, sulak alanlar, göletler, su arıtma tesisleri, balık çiftlikleri, atık su ve hatta deniz suyu dahil olmak üzere ıslak ortamlarda saprofit olarak yaşayan mikroorganizmalardır (Al Atrouni ve ark 2016). Canlılığın devamı için besin ihtiyacı düşük olduğundan kuru ve cansız yüzeylerde ortalama beş ay kadar yaşayabilirler. Bu yaşam şekli ile insan rezervuarları ve hastane ortamlarında kolayca kolonize olur, hastane içi salgınlara neden olurlar (French GL 1999).

Acinetobacter türleri sağlıklı kişilerinde normal mikrobiyotasının %25'inde bulunarak, deri ve mukoz membranlarında kolonize olabilirler (Almasaudi 2018). Kasıklar ve ayak parmak araları gibi insan vücudunda nemli bölgelerden alınan örnekler kültürde sıklıkla üremektedir. Orofarengial ve rektal taşıyıcılık oranları yoğun bakım üniteleri dışındaki hastalarda nadir görülmektedir. *Acinetobacter* türleri özellikle hastane çalışanlarının ellerinde uzun süre kalabilen bakterilerdir (Metan ve ark 2009). *Acinetobacter* spp. genellikle hastane çalışanlarının deri mukozasında en yaygın taşınan gram negatif bakterilerdir (Van Looveren ve ark 2004).

Sağlıklı insanların ağız yapısı doğal flora içeriğinde, üst solunum yolunda, genitoüriner sistem ve alt gastrointestinal sistemlerinde bulunmaktadır. Yatan hastalarda özellikle salgınlar sırasında *Acinetobacter* kolonizasyon oranı çok artmaktadır (Lim ve Webb 2005). Mikroorganizmanın özellikle solunum yolları olmak

üzere orofarenks, deri, üriner sistem ve gastrointestinal sistemde kolonizasyon oluşturabilirler (Fournier ve Richet 2006).

Bulgulara göre menenjit, yara, hastane ve toplum kökenli oluşan pnömoni, bakteriyemi, yanık, endokardit, idrar yolu enfeksiyonları (İYE) ile cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları *Acinetobacter* ile ilişkili en yaygın hastane hastalıklarıdır (Pour ve ark 2011).

Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinin %80'den fazlasını ACB kompleksi oluşturmaktadır. *A. baumannii*'nin özellikle yoğun bakım ünitesine (YBÜ) yatan hastaların %71' ini yatışı takiben birinci haftanın sonunda kolonize ettiği ve bu hastalarda *A. baumannii* ile ilişkili enfeksiyonların arttığı gözlemlenmiştir. Özellikle YBÜ' de değişik risk faktörlerinin oluşması bu duruma zemin hazırlayan önemli bir risk etkenidir (Dy ve ark 1999).

Direnç ve virülans belirteçlerinin kazanılması ve yayılmasında dirençli suşların özellikle YBÜ bağışıklığı baskılanmış hastalarda tehlikeli fırsatçı patojen haline gelebilmektedir (Vrancianu ve ark 2020).

Hastane ortamında kullanılan ekipmanlar endotakeal tüp, intravenöz kateter, periton diyaliz kateteri, ventrikülostomi tüpü ve üriner kateter gibi invaziv uygulamalarla oluşan zayıf noktalardan direkt temas veya kontamine sıvılar vasıtasıyla *Acinetobacter* türlerinin enfeksiyona ya da kolonizasyona sebep olmaktadır. Temas izolasyonu, medikal aletlerin dekontaminasyonu, ünitelerde sıkı dezenfeksiyon uygulamaları ve el yıkama enfeksiyondan korunmada temasla bulaşı azaltan etmenlerdir. Hastane kaynaklı enfeksiyonlardan en sık karşılaşılan klinik tablo olan pnömoni etkeni *A. baumannii*'dir. Enfeksiyon hastane ortamında en sık mekanik ventilasyon uygulanan yoğun bakım hastalarının kaldığı yerde görülmekle birlikte yatan hastalarda sık karşılaşılan *A. baumannii*'ye bağlı kan dolaşımı enfeksiyonlarıdır. Bu enfeksiyonların gelişmesinde rol oynayan risk faktörleri arasında; immünsupresyon, solunum yetmezliğine bağlı ventilatör kullanımı, uzun süreli antibiyotik kullanımı, *A. baumannii* ile kolonizasyon ve invaziv girişimler bulunmaktadır (Zarrilli ve ark 2009, Nemec ve ark 2011).

Son 30 yılda pnömoni, idrar yolu enfeksiyonu ve cerrahi enfeksiyonlarda en sık görülen bakteri türünün *A. baumannii* olduğu bilinmektedir. Üstelik son 20 yılda

Acinetobacter enfeksiyonları coğrafi olarak ılıman iklimlerde giderek yaygınlaşan ortak bir nozokomiyal sorun olarak görülmektedir (Munoz-Price ve Weinstein 2008).

Günümüzde Acinetobacter türlerinin oluşturduğu enfeksiyona bağlı hastalıklar hızla artmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Ulusal Sağlık Güvenliği Ağı 2009-2010 sürveyans verileri, Acinetobacter spp.'nin sağlık alanında tüm enfeksiyonların %1,8'ini oluşturduğunu göstermiştir (Sievert ve ark 2013). Hastane yapılan sürveyans çalışmalarına göre, bu durum Avrupa ve Latin Amerika'daki yoğun bakım ünitelerinde de benzer bulunmuştur (Rodriguez-Bano ve ark 2004). Bununla birlikte Çin, Tayvan ve Güney Amerika'daki bazı ülkelerde, Acinetobacter'in çok daha yüksek oranda nozokomiyal enfeksiyonlara neden olduğu görülürken, Hindistan'da bu oranın daha da çok yüksek düzeylerde olduğu bilinmektedir. Toplum kaynaklı Acinetobacter enfeksiyonları Avustralya ve Asya kıtalarında da bildirilmiştir (Golia ve ark 2013). Bazı coğrafi bölgelerde Acinetobacter enfeksiyonlarının yüksek prevalansının nedeni bilinmemektedir ancak kısmen kolonize olan bakterileri etkileyen sıcaklık ve nem farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Cordes ve ark 1981).

Toplum kaynaklı enfeksiyonlarda, Acinetobacter türleri faringeal taşınma ve pnömoni kaynaklı yüksek vaka ölüm oranları ile karakterize olurken, toplum kökenli kan dolaşımı enfeksiyonları da bildirilmiştir (Wang ve ark 2002). Acinetobacter türleri immün sistemi baskılayan bir ilaç ya da kronik hastalık olmağı sürece hastanede yatan hastalar için düşük virülanslı bir patojen olarak kabul edilmektedir. *A. baumannii* enfeksiyonlarının başlıca risk faktörleri ilerleyen yaş, uzun süreli hastanede veya yoğun bakımda yatma durumu, mekanik ventilasyon desteği, invaziv girişimler, hastane ortamında enfekte veya kolonize hastalara daha fazla temas süreci, ağır cerrahi ameliyatlar, kan transfüzyonu ve geniş spektrumlu antimikrobiyal ajanların kullanılmasıdır (Karageorgopoulos ve Falagas 2008).

Ülkemizde geniş bir alanı kapsayan araştırmalara bakıldığında Acinetobacter türleri yoğun bakım ünitelerinden sıklıkla izole edilmekte ve bununla birlikte antibiyotiklere karşı direnç gelişimi de oluşmaktadır. Bu gibi nedenlerden dolayı alternatif tedavi yöntemlerinin çözümü de daralmaktadır. Çoklu direnç gelişiminin en önemli nedeni olarak plasmid veya transpozonların genetik bilgiyi aktarılmasıdır. Yapılan son çalışmalarda Gram negatif bakterilerde antibiyotiklere karşı dirence yol

açan kromozomal mekanizmaların olduğunu ortaya koymaktadır. *Acinetobacter* türlerinin klinik örneklerden izole edilen türleri ile çevreden izole edilen türleri arasında antibiyotik direnci bakımından farklılık olduğu saptanmıştır. Birçok virülans genlerine sahip olmasına rağmen, virulans ile ilişkili fenotiplerin ortaya çıkmasında farklılıklar görülebilmektedir. Bu farklılığın sebepleri arasında bakteriyel iletişim sistemi de vardır. Bu bağlamda bakteriyel iletişim sisteminin farklı biçimlerde inhibisyonunun antibakteriyel etki gösterebileceğine dair gözlem ve kanıtlar mevcuttur (Zahin ve ark 2010, Giannouli ve ark 2013, Luo ve ark 2015).

A. baumannii'nin kronik ve kalıcı enfeksiyonlarına ve antimikrobiyal direncine katkıda bulunan önemli faktörlerden biri, biyotik ve abiyotik yüzeylerde kolonize olma ve biyofilm oluşturma yeteneğidir (Thummeepak ve ark 2016).

Biyofilmler aynı zamanda halk sağlığı için önemli bir tehdidi temsil eder ve ilgili ekonomik ve sağlık etkileri olan kalıcı enfeksiyonlardan sorumludur. Aslında biyofilmler, hem tıbbi cihazlar hem de biyotik yüzeylerle ilişkili mikrobiyal hastalıkların %65'ini ve kronik enfeksiyonların yaklaşık %80'ini oluşturmaktadır (Jamal ve ark 2018). Bu sebeple *A. baumannii* enfeksiyonlarının yüksek prevalansı, küresel bir sağlık sorunu oluşturan biyofilm aracılı bir durumdur (Eze ve ark 2018).

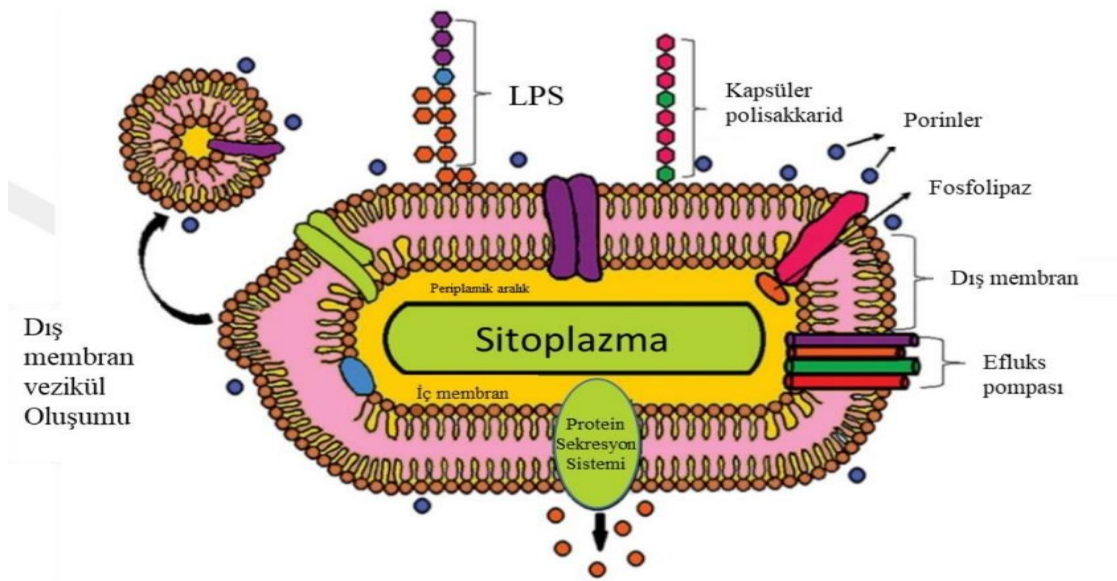
Antibiyotik direncinin fazla olmasının olumsuz sonuçları şu şekilde sıralanabilir. Bulaşıcı hastalık sıklığı, hastalık süresi, morbidite ve mortalite oranlarındaki benzeri görülmemiş artışın yanı sıra ilgili maliyetler ve organ nakli, büyük cerrahi operasyonlar, erken doğmuş bebeklerin yönetimi ve implante tıbbi cihazların kullanımı kanser tedavisi gibi etkili antibiyotik profilaksisi ve tedavisi gerektiren tıbbi prosedürlerin gerçekleştirilememesidir (Laxminarayan ve ark 2013, Weist ve Diaz Hogberg 2014).

Acinetobacter baumannii hastane ortamında bulunan yüzeylerde, tıbbi cihazlar üzerinde uzun süre canlı kalabilme potansiyeline sahiptir. *A. baumannii*'nin özellikle kateter ve solunum cihazlarına kontaminasyonu sonucu hastane ortamında uzun süre hayatta kalabilme yeteneği göstermesi biyofilm yapımına ve çoklu ilaç direncine bağlıdır (Bardbari ve ark 2017). Biyofilmler, kateterler, meme implantları, kontak lensler, kalp kapakçıkları, kalp pilleri ve defibrilatörler, ventriküler şantlar ve eklem protezleri gibi her türlü tıbbi cihaz yüzeyinde oluşabilir (Shunmugaperumal 2010).

2.5. Patogenez Ve Virülans Faktörleri

Mikroorganizmanın konak hücrede hastalık oluşturmaya patojen mikroorganizma, hastalık oluşturma yeteneğine ise patojenite denilmektedir. Mikroorganizmaların konak hücrede yerleşmesine, çoğalıp kolonize olmasına, konak hücrelerin hasara uğratarak deforme etmesiyle hastalık oluşturmaya virulans, bu olaylardan sorumlu olan mikrobiyal faktörlere de virulans faktörleri denir.

Acinetobacter baumannii ile ilişkili birçok virülans faktörü tanımlanmıştır. Bu virülans faktörleri porinler, lipopolisakkaritler (LPS), kapsüler polisakkaritler, fosfolipazlar (PL), protein sekresyon sistemleri, dış membran vezikülü (OMV), demir kazanımı mekanizmaları, penisilin bağlayıcı protein 7/8 (PBP7/8), pili/hareket yeteneği, hemolitik aktivite, biyofilm oluşturma, efluks pompaları ve quorum sensing (QS) gibi kritik mekanizmalara etki ederek enfeksiyon patogenezinde önemli rol oynamakta ve bakterinin olumsuz koşullarda hayatta kalmasını sağlamaktadır (Skariyachan ve ark 2019).



Şekil 1. *Acinetobacter baumannii* Virülans Faktörleri. (i) Porinler, hücre yüzeylerinde bulunur (ompA ve omp22 gibi) biyogenezin düzenlenmesine yardımcı olurlar. (ii) Dış membrandan oluşan LPS'ler, hayatta kalmada önemli bir rol oynar. (iii) Kapsüler polisakkaritler, antimikrobiyal dirençle ilişki dış membranda bulunur. (iv) Protein salgılama sistemleri, proteinleri periplazmik alandan hücre dışına taşır. (v) PL, membranın içine gömülü, fosfolipid metabolizmasında rol oynar. (vi) Dış membran vezikülleri (OMV), bakteriler ve konak hücre arasında vasıta görevi görür (Skariyachan ve ark 2019).

2.5.1. Porinler ve OMP'ler

Porinler, hidrofilik çözünen maddeler için çok az geçirgen olan, lipid yapılı çift katmanlı membranlar boyunca moleküllerin taşınmasına izin veren kanallar oluşturabilen proteinlerdir. Çok işlevli membran olarak fonksiyonel birçok görevi bulunmaktadır. Porinler, diğer hücrelere yapışma ve bakterisidal bileşiklerin Gram-negatif bakterilerin yüzeyine bağlanması için potansiyel hedef odaklı hareket ederek gerekli virülans cevabını oluşturmaktadır.

Antibakteriyel basınçtan kaçmak, bakteri mekanizmalarında oluşan varyasyonlar veya antibiyotiklerin varlığına yanıt olarak porin ekspresyonu düzenlenmesi, birçok bakteri tarafından geliştirilen hayatta kalma stratejileridir. Porinler direnç mekanizmalarında da önemli bir role sahiptirler. Porinlerin sayısı ve boyutu diğer Gram negatif organizmalarla karşılaştırıldığında *A. baumannii* dış zar geçirgenliğinde (%5'ten az) azalmayı kanıtlayabilir (Marti ve ark 2006).

A. baumannii'de dış membran ile sitoplazmik membran arasında kalan periplazmik aralıkta; proteaz, fosfataz, lipaz, nükleaz gibi hidrolitik enzimler ve penisilin bağlayıcı proteinlerin de aralarında olduğu çok sayıda protein bulunmaktadır (Seifert ve ark 1993). Gram negatif bakterilerde, periplazmik proteinler, enzimler, LPS, DNA ve RNA gibi moleküllerden oluşan dış membran vezikülleri bulunmaktadır (Lee ve ark 2017). *Acinetobacter* türleri özellikle OmpA, proteazlar, fosfolipazlar dahil çeşitli virülans faktörlerini içeren dış membran vezikülleri salgılamaktadır. Bakteriler bu veziküller sayesinde doku yıkıcı enzimleri içeren molekülleri konak hücrelere ileterek hem konak immün yanıtından korunduğu hem de konak hücresinde sitotoksositeye neden olduğu saptanmıştır (Russo ve ark 2010).

Acinetobacter baumannii'nin ana porini, dış membranda yer alan ısıya duyarlı bir protein olan 'heat-modifiable protein (HMP-AB)'dir (Vila ve ark 2007). HMP-AB geni, moleküler kütlesi 35 636 Da olan 346 amino asitlik bir proteini kodlar ve monomerik porinlere benzer şekilde zarda birleşik durmaktadır (Gribun ve ark 2004). Amino asit dizisinin analizi, Gram-negatif bakteriyel porinlerin tipik yapısını ortaya çıkarır: Oldukça negatif bir hidropati indeksi, hidrofobik kalıntı uzantılarının yokluğu, hafif negatif bir toplam yük, düşük kararsızlık indeksi, yüksek glisin içeriği ve sistein kalıntılarının yokluğu porinlerin genel yapısında yer almaktadır.

HMP-AB'nin diğer OMP'lerle sekans karşılaştırması, Enterobacteriaceae monomerik OMP A (OmpA) ve *P. aeruginosa*'nın OMP F (OprF) ile açık bir homoloji ortaya çıkarmaktadır. OmpA, *A. baumannii*'de bulunan önceden tanımlanmış fonksiyonel özellikleri iyi bilinen bir virülans faktörüdür. OmpA, sitokrom C ve apoptozu indükleyen "b-barrel" olarak adlandırılan fiçî şeklinde bir porindir. OmpA, yüzey motilitesi ve biyofilm oluşumu yoluyla *A. baumannii*'nin hayatta kalması üzerinde doğrudan etkiye sahiptir (Lee ve ark 2017).

Bu porinler, yaklaşık 800 Da'ya kadar β -laktamların ve sakkaritlerin penetrasyonuna izin veren yavaş porinler olarak bilinir (Nitzan ve ark 1999, Gribun ve ark 2003). Bu aileye ait yavaş porinler, küçük çözünen moleküllerin çok daha yavaş difüzyonuna izin verirken *E.coli*'nin OmpF kanalından geçemeyen çok daha büyük çözünen moleküllerin difüzyonuna izin verir. Bu nedenle, klasik trimerik porinden yoksun organizmalarda, bu ailenin proteini ana porin olarak işlev görür ve yüksek düzeyde içsel dirence katkıda bulunur (Nikaido 2003).

Acinetobacter baumannii'ye ait HMP-AB porini, antibiyotiklerin hücre içine girişi sağlamaktadır. HMP-AB porinin kaybı penisilin ve sefalosporinlere karşı direnç gelişmesine neden olmaktadır. Bu porinin aşırı ekspresyonu sefalosporinlerin hücre içine girişini artırarak, ampC enzimi varlığında bile sefalosporinlere karşı duyarlılık artışına neden olmaktadır (Vila ve ark 2007).

OmpA genini inakif etmek, birkaç antibiyotik (kloramfenikol, aztreonam ve nalidiksik asit) minimal inhibitör konsantrasyonlarını (MİK) önemli ölçüde azaltır (Smani ve ark 2014). OmpA, OMV'lerin biyogenezinin düzenlenmesinde yardımcı olmaktadır. Bunun yanı sıra OmpA, fibronektin ile etkileşime girerek epitel hücrelere yapışma ve invazyonda büyük bir rol oynar. OmpA, yüzey motilitesi ve biyofilm oluşumu yoluyla *A. baumannii*'nin hayatta kalması üzerinde doğrudan etkiye sahiptir (Lee ve ark 2017). *A. baumannii*'de bulunan Omp 33-Omp 36 proteinleri, suyun geçişi için köprü görevi görür ve apoptozu indükleyerek patogeneizde önemli bir rol oynamaktadır (Rumbo ve ark 2014).

2.5.2. Lipopolisakkaritler

Lipopolisakkarit (LPS), *A. baumannii*'nin dış membran yapısında bulunan kilit faktörlerden biridir ve LPS'lerin içeriğinde endotoksik lipid A parçası, oligosakkarit çekirdek ve tekrarlayan O - antijeni bulunmaktadır (Lee ve ark 2013).

Lipid A, LPS yapısında yer alan immun sistemi uyarıcı bileşenidir ve bütün Gram negatif bakterilerde var olduğu düşünülmektedir. Son on yıl içinde *Acinetobacter* türlerinin; daha önce sadece *Neisseria meningitidis* ve *Moraxella catarrhalis*'in lipid A'nın yokluğunda hayatta kalabilen yalnızca üçüncü Gram negatif patojen olduğu keşfedilmiştir. Lipid A içermeyen *A. baumannii* ilk olarak in vitro kolistin maruziyetine yanıt olarak tanımlanmıştır (Moffatt ve ark 2010).

Diğer Gram negatif patojenlerin aksine *A. baumannii* bir lipid A yapısında bulunan palmitoil transferaz (PagP) homologunu kodlayamaz; bu nedenle, heksa-açillenmiş lipid A'nın modifikasyonu, sentez sırasında bir ve iki lauril açıl zincirinin eklenmesi yoluyla gerçekleşir (Boll ve ark 2015, Lopalco ve ark 2017). Bu modifikasyon, katyonik antimikrobiyal peptidlere daha dirençli, Toll-benzeri reseptörü (TLR4) daha az uyaran ve kurutucu sağ kalımında rol oynayan hepta-açillenmiş lipid A ile sonuçlanır (Boll ve ark 2015).

LPS, makrofajlardan tümör nekroz faktörü ve interlekin-8 (IL-8)'in salınmasını indükleyen, bu sayede bakterinin patojenitesine katkıda bulunan immünoreaktif moleküllerdir (Rossi ve ark 2016) ayrıca Toll-benzeri reseptör 4 (TLR4) aracılı makrofaj uyarımında oldukça önemli olan immünoreaktif moleküldür. (Lin ve ark 2012).

LPS'deki modifikasyonlar, kolistin gibi antimikrobiyal ajanlara duyarlılığı azaltmaktadır (Chin ve ark 2015).

2.5.3. Kapsüler Polisakkaritler

Kapsüler polisakkaritler biyofilm oluşumunda, ökaryotik hücrelere yapışmada, antimikrobiyal dirençte, klinik *A. baumannii* izolatlarının bir kısmı tarafından eksprese edilen ve konakçı serumun öldürülmesine karşı koruma sağladığı bilinen önemli bir virülans faktörlerinden biridir. *A. baumannii*'nin ekzopolisakkarit üretimini

antibiyotiklerin MİK değerlerinin altında arttırdığı ve bu aşırı üretimin geri dönüşümlü olduğu, mutasyonel olmadığı gösterilmiştir (Geisinger ve Isberg 2015).

A. baumannii genomu içerisinde kapsüler polisakkaritlerin üretimini belirleyebilen K lokus adı verilen korunmuş bir gen kümesi bulunmaktadır (Liou ve ark 2014).

K lokus polisakkaritleri bazı subinhibitör konsantrasyonlardaki antibiyotiklere yanıt olarak kapsül üretimini arttırdığı ile birlikte çoklu antibiyotiklere karşı direnci kolaylaştırdığı tespit edilmiştir. K lokus genlerinin ekspresyonu da, BfmRS iki bileşenli düzenleyici sistem tarafından düzenlenmektedir. Kapsül üretimi, belirli antibiyotikler (kloramfenikol ve eritromisin) olmak üzere çevresel uyarılara yanıt olarak iki bileşenli düzenletici sistem olan BfmRS tarafından negatif olarak düzenlenir ve bu da artan ekspresyon ve antimikrobiyal dirençle sonuçlanır. BfmS geni ayrıca ökaryotik hücrelere tutunma ve biyofilm oluşumunda da rol oynayan faktördür (Geisinger ve Isberg 2015).

Kapsül polimerizasyonu için gerekli olan başka genlerde bulunmaktadır. “ptk” ve “epsA” genlerinin inaktive edilmesiyle yapılan bir araştırmada kapsül yapısının bozulduğunu, serum direncinin ve yumuşak doku enfeksiyonlarının engellendiği görülmüştür (Russo ve ark 2010).

A. baumannii’ de polisakkarit yapıda kapsül bulunmaktadır ve bu kapsül bakterinin fagositozdan korunmasında rol alır, kompleman sisteminin aktivasyonunu önler ve bakterinin virülansına katkıda bulunur. Kapsülün hücre yüzeyi hidrofobisitesini arttırdığı ve tıbbi aletlere yapışmada rolü olduğu bilinmektedir (Winn J 2006).

2.5.4. Fosfolipazlar

Fosfolipazlar (PL), fosfolipid metabolizmasında rol oynayan, birçok bakteride virülans faktörü olan bir lipolitik enzimdir. Genel olarak PLA, PLC ve PLD olarak sınıflandırılır. Fosfolipit yapının bozunması, konak hücrenin membran stabilitesini etkiler ve konak immün yanıtında değişikliklere neden olabilmektedir (Flores-Diaz ve ark 2016).

PLC ve PLD enzimleri *A. baumannii*'de tanımlanmış virülans faktörleridir (Stahl ve ark 2015). *A. baumannii* ATCC 17978 suşunda yapılan bir çalışmada, bakteri suşunda iki PLC geni (A1S-0043, A1S-2055) bulunmuş ve A1S-0043 geninin inaktivasyonu ile epitel hücrelerinde sitotoksik etkinin azalığı gözlenmiştir (Fiester ve ark 2016).

2.5.5. Protein Sekresyon ve Salgı Sistemleri

Gram negatif patojen bakterilerinin çoğunda olduğu gibi *A. baumannii*, çevreye ve konağa adaptasyonu kolaylaştırmak için protein ürünlerini salgılar. Genel sekresyon sistemleriyle hedef proteinleri periplazmik aralığa taşır ya da twin arjinin transport sistemiyle hedef proteinleri hücre dışına transfer eder. Salgılanan proteinler, enfekte dokulardaki mikrobiyal çoğalmada ve konak savunmasını manipüle etmede önemli rolleri nedeniyle terapötik hedef olarak dikkat çekmektedir (Korotkov ve ark 2012).

Bugüne kadar *Acinetobacter* türlerinde beş salgı sistemi (tip I, II, IV, V ve VI) tanımlanmıştır (Weber ve ark 2017).

Tip I salgılama sistemi (T1SS), membran füzyon proteinidir. Dış membranda ATP bağlayıcı transporter işlevi görerek proteinleri sitozolden hücre dışı ortama taşıyan üçlü bir sistemdir. Birçok T1SS substratı tanımlanmış ve bunlar hastalık süreciyle bağlantısı gözlenmiştir (Harding ve ark 2017).

Tip II salgılama sistemi (T2SS) birçok bakteride tanımlanmış ilk sekresyon sistemi olarak bilinen, iç ve dış membrana yerleşik bir multiprotein kompleksidir (Harding ve ark 2016). T2SS, dört alt gruptan ve 12-15 proteinden oluşan kompleksle birlikte bir psödopilus, bir iç zar platform düzeneği, bir dış zar kompleksi ve bir salgı ATPaz yapısından oluşur (Campos ve ark 2013). Gram negatif patojen biyopolimerlerin bozunmasıyla bağlantılı proteinlerin yanı sıra toksinlerin ihracı için T2SS'yi kullanır; bu nedenle, T2SS, çevresel nişe bağlı olarak bakteriler için hem patojenik hem de hayatta kalmalarına yardımcı olmaktadır (Tauschek ve ark 2002).

Tip IV salgılama sistemi (T4SS), DNA, plazmitler ve diğer mobil genetik elemanların konjugatif transferinden sorumludur (Smith ve ark 2007, Liou ve ark 2014).

Tip V salgılama sistemi (T5SS), bir ototransporter salgı sistemidir [Acinetobacter trimeric autotransporter (Ata)]. Yardımcı herhangi bir enerji formuna ihtiyaç duymadan salgılama yeteneğine sahiptir (Elhosseiny ve Attia 2018).

Tip VI salgılama sistemi (T6SS), hem ökaryotik hem de prokaryotik hücreleri hedefleyebilir, ancak Acinetobacter’de T6SS yalnızca diğer bakterilerde hedef alır, peptidoglikan hidrolazlar, nükleazlar veya hücre zarlarını hedefleyerek bir dizi toksin salgılar (Elhosseiny ve Attia 2018). *A. baumannii* bakteriyel rekabet için T6SS kullanır (Carruthers ve ark 2013, Weber ve ark 2013).

2.5.6. Dış Memran Vezikülü (OMV)

Gram negatif bakterilerde periplazmik proteinler, enzimler, LPS, DNA ve RNA gibi moleküllerden oluşan dış membran vezikülleri bulunmakla birlikte protein salgısının özel bir örneği olan OMV’ler, bakteri dış membranından balonlaşarak oluşur (Haurat ve ark 2015).

Birçok bakteri türlerinde olduğu gibi *A. baumannii* izolatlarında da özellikle OmpA, proteazlar, fosfolipazlar gibi çeşitli virülans faktörlerini de içeren dış membran vezikülleri salgılamaktadır. Bakterilerin bu veziküller sayesinde doku yıkıcı enzimleri içeren molekülleri konak hücrelere ileterek hem konak immün yanıtından korunduğu hem de konak hücrelerinde sitotoksositeye neden olduğu gözlemlenmiştir (Jin ve ark 2011).

Acinetobacter’deki OMV’ler üzerine yapılan birkaç çalışmada, yatay gen transferi, antibiyotik direnci ve virülans ilişkili birçok etki de kilit rol aldığı tespit edilmiştir. Acinetobacter türlerinde, virülans proteinleri, antibiyotik direnç genlerini içeren çeşitli OMV türleri tanımlanmıştır (Kwon ve ark 2009). *A. baumannii* dış membran vezikülleri, yatay gen transferleri ve antibiyotik direncinin yayılması ile karbapenem dirençli olmayan *A. baumannii* ATCC 17978 suşu, dirençli klinik izolatlar ile aynı ortamda inkübasyona bırakıldığında, karbapenem direnci kazanmış ve OXA-24 geni barındıran orijinal plazmidlerin varlığı tespit edilmiştir (Lee ve ark 2017).

OMV'ler, konakta bağışıklık yanıtını güçlü uyarabildikleri ve yapılan aşı uygulamalarında koruyucu etki oluşturabildikleri için yeni ilaçların ve aşılarda geliştirilmesinde öne çıkmaktadır (McConnell ve ark 2011).

2.5.7. Demir Kazanım Mekanizmaları

A. baumannii metabolik etkileri ile hücrel savunma mekanizmalarından kaçarak enfektif olmak için kolonize olmak zorundadırlar. Bakteriler çoğalmaları esnasında ihtiyaç duydukları demiri konak hücreden emilimi ile kendi metabolik faaliyetlerinde kullanabilmektedirler. Fakat demir, insan vücudunda serbest taşınmaması nedeniyle bakteride siderofor adı verilen protein yapıları tarafından üretilir. Siderofor demiri bağlayarak hücre içine alımı sağlar, hücre dışı demiri azaltarak konak savunma mekanizmalarından kaçıp kolonize olmayı kolaylaştırır ve enfekte konakta hücre hasarına neden olan bir virülans faktörüdür (Asik 2011).

Acinetobacter sideroforus "acinetobactin" olarak adlandırılır. NfuA, Fe-S proteini de demir şelasyonuna katılan ve oksidatif strese hücre yanıtında rol oynayan, *A. baumannii* için bir virülans faktörü olarak tanımlanmıştır. NfuA mutan bakteriler, hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen radikallerine daha duyarlıdır ve insan epitel hücrelerinde büyüme hızı önemli ölçüde azalmıştır (Zimble ve ark 2012).

2.5.8. Penisilin Bağlayıcı Protein 7/8 ve β -laktamaz

Bakteriyel peptidoglikan, çapraz bağlı N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asit glikan zincirlerinden oluşur. Bakteri şeklini sağlayan kritik bir hücre yapısıdır ve çeşitli fiziksel kuvvetlere direnmede etkilidir. Penisilin Bağlayıcı Protein (PBP)'ler, yüksek veya düşük moleküler kütleye sahip olmalarına göre sınıflandırılmaktadır. Yüksek moleküler kütleli PBP'ler, peptidoglikan polimerizasyonunu ve önceden var olan hücre duvarına yerleştirmeyi mümkün kılar (Macheboeuf ve ark 2006). Düşük moleküler kütleli PBP'ler hücre ayrılmasına ve peptidoglikan yeniden şekillenmesine katkıda bulunur (Vollmer ve ark 2008).

PBP'ler β -laktam antibiyotiklere dirençle ilgili olmalarına karşın, "pbpG" geni tarafından kodlanan PBP 7/8, *A. baumannii*'de bir virülans faktörü olarak bulunmuştur. PbpG mutant suşlarının PBP 7/8 kaybı ile peptidoglikan yapısının bozulduğu düşünülmüş ve bu suşların insan serumunda büyüme hızının azaldığı, sıçan

deneylerinde gözlemlendiği gibi yumuşak doku enfeksiyonu oluşturduğunu ve pnömoni modellerinde sağkalımı önemli ölçüde azalttığı görülmüştür (Russo ve ark 2009).

2.5.9. Pili/Hareket Sistemi

A. baumannii flagelladan yoksun ve hareketsiz tanımlanmaktadır. Yakın zamanda yapılan genom analizinde flagella genlerinin bulunmadığı doğrulanmıştır. Bakteride swimming (yüzme) ve swarming (yayılma) hareketinde olmadığınıda düşündürmüştür (Clemmer ve ark 2011).

Yapılan çalışmalar ACB kompleksine ait bakterilerin hareket yeteneğinin olduğunu göstermiştir (Barker ve Maxted 1975). *A. baumannii* suşları, iki bağımsız hareket formuna sahiptir: yüzeyle ilişkili hareketlilik (surface-associated motility) ve seğirme (twitching) hareketliliği. Seğirme hareketi birçok hareketli bakteride gözlemlenmiştir. *A. baumannii* seğirme hareketi, tip IV pilinin bakteri hücrelerini tekrarlayan ileri-geri çekme hareketi ile agar yüzeyinde karışık dallanmalar oluşturması şeklindedir (Harding ve ark 2013).

Bu hareket yeteneğinin organizmanın yarı katı ve bazı abiyotik yüzeylerde hızla yayılmasını sağladığı gösterilmiştir (Eijkelkamp ve ark 2011). Seğirme hareketi sağlayan Tip IV pili için gerekli genler pilA-C, pilF, pilMQ, pilW, pilZ, pilR-T *A. baumannii* genomunda tespit edilmiştir. Tüm genom analizi yapılan *A. baumannii* suşlarında birden fazla Tip IV pili ilişkili gen varlığı da gösterilmiştir (Clemmer ve ark 2011, Harding ve ark 2013). *A. baumannii*'de tip IV pili sistemi ve Csu pili sistemleri tanımlanmıştır. Tip IV pili, bakterilerin motilitesini düzenleyen, Csu pili ise hücre adezyonu ve biyofilm oluşumuna katkıda bulunan ipliksi ekstrasellüler yapılardır (Weber ve ark 2015).

Ayrıca klinik örneklerde PilA kodlayan gen ile seğirme hareketliliğinin derecesi arasında pozitif bir korelasyon gözlemlenmiştir (Clemmer ve ark 2011, Eijkelkamp ve ark 2011, McQueary ve ark 2012).

Bakterilerdeki hareketlilik sistemi çoklu sinyal iletim yollarıyla düzenlenir. Işık (özellikle mavi dalga boyunda), demir mevcudiyeti ve stres gibi çeşitli çevresel

faktörlerin *A. baumannii*'deki hareketliliği etkilediği gösterilmiştir (Mussi ve ark 2010).

A. baumannii yüzeyle ilişkili hareketliliği görünüş olarak *Pseudomonas aeruginosa*'nın yayılma hareketliliğine çok benzemektedir. Ancak yayılma hareketi flagella ile oluşmaktadır ve *A. baumannii*'nin flagellası bulunmamaktadır. Şimdiki çalışmalarda *A. baumannii* yüzeyle ilişkili hareketliliğin 1,3-diaminopropan (DAP) sentezine, QS ve lipooligosakkarit üretimine dayandığı gösterilmiştir (Kearns 2010, McQueary ve ark 2012).

A. baumannii 'de oluşan virülans bakterinin antibiyotiklere karşı çoklu direnç göstermesi ile birlikte biyofilm oluşturma yeteneğiyle de artış yapmaktadır. *A. baumannii* örneklerinin biyofilm oluşturmada farklı proteinleri kodlayan genlerin (*csgA* ve *csuE* geni) ve dış membran protein geni (*ompA*) önem taşıdığı varsayılmaktadır. Sadece *csuE* geninin inaktivasyonunun pili üretimini ve biyofilm oluşumunu ortadan kaldırdığı keşfedilmiştir (Altınok ve ark 2020).

Biyofilm oluşturma yeteneği (fimbria ve pili nedeniyle) *A. baumannii* enfeksiyonlarının hastalık sürecini ağırlaştırmaktadır. Abiyotik yüzeylere ilk bağlanmadan sonra, pili montajı ve biyofilm ile ilişkili protein (*bap*) yüzey yapışma proteininin sentezi, biyofilmin başlatılmasında ve olgunlaşmasında önemli bir rol oynar. Biyofilm hem biyotik hem de abiyotik yüzeylerde *A. baumannii* yapışmasını ve uzun süreli kalmasında etkilidir. Tıbbi ekipman ve çevresel yüzeyler gibi abiyotik yüzeylere yapışma; hücrelerin yapışma kapasitesi ve OMP mRNA'larının ekspresyon seviyesi, *A. baumannii* patogenezi için belirleyici virülans faktörleridir. Ek olarak, *OmpA* epitel hücreleri gibi biyotik yüzeylerde biyofilm oluşumuna katkıda bulunur ve hücre yüzeyindeki fibronektin ile etkileşime girerek akciğer epitel hücrelerine bakteri yapışmasına aracılık eder ve insan epitel hücrelerinde apoptozu indükleyebilir (Richards ve ark 2015, Sato ve ark 2017) .

2.5.10. Hemolitik Aktivite

A. baumannii genel olarak hemolitik olmayan bir tür olarak kabul edilmesine rağmen, tüm genom analizinde virülans rol oynayan hemolizinleri / hemagglutininleri kodlayan genlerin olduğu tespit edilmiştir. Bu genlerin ekspresyonu kanlı agar plaklarında ve sıvı vasatlarda da gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada özellikle *A.*

baumannii suşlarının hemolitik aktivitesinin, sıvı ortamda agar plaklarından çok daha belirgin olduğu, ayrıca koyun eritrositleri değil de, at kanı kullanılarak tespit edilebileceği kanıtlanarak gösterilmiştir. Bu farklılıktan dolayı *A. baumannii*'nin tarihsel olarak hemolitik olmayan bir bakteri olarak kabul edildiği belirtilmiştir (Bouvet ve Grimont 1987, Antunes ve ark 2011).

2.5.11. Biyofilm Oluşturma

Biyofilm 1980'li yıllarda ilk olarak dış plaklarında gözlemlenmiştir. Biyofilm tabakası, mikrobiyel hücre yoğunluğunun belirli bir eşik düzeyine ulaştıktan sonra çoğunluk algılanması ile oluşan, dış koşullara oldukça dayanıklı olmasıyla birlikte yüzey üzerine sıkıca tutunma yeteneğine sahip yapıdan oluşmaktadır. Bazı biyofilm tabakaları herhangi bir yüzeye tutunma gereksinimi göstermeden, serbest haldeyken de patojen formatını koruyabilmektedir. Konakçı olarak insan vücudunu kullanıyorsa bulunduğu organ ve ortam koşulları hem patojenitesini hem de davranış şekillerini etkilemekte, biyofilm tabakasının da genel özelliklerini belirlemektedir (Bjarnsholt ve ark 2013).

Biyofilm oluşturma aktivitesi tüm ekstrem ortamlarda, canlı rezervlerde ve cansız yüzeylerde bulunan yaygın bir bakteriyel özelliktir. Bir biyofilm popülasyonu içinde, farklı metabolik yollar, stres tepkileri ve diğer spesifik biyolojik aktiviteler ifade eden çeşitli genotiplere ve fenotiplere sahip hücreler yan yana yerleşik olarak bulunabilmektedir. Bu genetik ve fizyolojik heterojenlik dışında katkıda bulunan diğer mekanizmalar arasında mikro ölçekli kimyasal gradyanlar, bulunduğu çevresel koşullara oluşan adaptasyon, stokastik gen ekspresyonu ile birlikte mutasyon ve seleksiyon yoluyla meydana gelen genotipik varyasyonlarda yer almaktadır. Biyofilmler kimyasal gradyanlar oluşturan süreçleri, bakterilerin bu gradyanlara adapte olurken genetik ve fizyolojik tepkilerini ve biyofilmlerdeki bakterilerin mikro ölçekli fizyolojik heterojenlikleri gözlemlenmiştir (Stewart ve Franklin 2008).

Sıcaklık, ozmolarite, demir konsantrasyonu, besin mevcudiyeti, biyofilmlerin oluştuğu malzemelerin kalitesi, ışık ve ortamın asidik olması biyofilm oluşumunu etkileyen en önemli çevresel unsurlardır (Toyofuku ve ark 2016).

Fiziksel ve kimyasal ortamlardaki çevresel değişikliklerin fenotipik özellikler ve temel işlevlerin ifadesi üzerinde işlevsel etkisi vardır. *A. baumannii*, biyotik ve

abiyotik yüzeylere tutunmasında ve biyofilm oluşturmada ilgili virülans genlerine ve proteinlere sahiptir. Biyofilmlerin oluşumu, çeşitli hücre özelliklerinden etkilenen karmaşık bir süreçtir. *A. baumannii* 'de biyofilm oluşumu, hücre yüzeyi, yüzey hidrofobikliği, yüzey yükü, yapışma proteinleri ve hücre dışı polimerik bileşiklerin tümü ve oksijen içeriğinden etkilenmektedir. Biyofilmlerinin üretimi içinde bu etkiler önemli bir fonksiyondur (Eze ve ark 2018) .

Tüm virülans faktörleri arasında biyofilm, *A. baumannii* için etkili bir mekanizmadır. Biyofilm bu bakteri türü için çoklu antimikrobiyallere karşı toleranslı hale getirirken, onları çoklu ilaca dirençli hale getiren zorlu çevresel koşullar altında hayatta kalmak için bir yalıtım sağlamaktadır (Rao ve ark 2008). Bu nedenle, bakterileri çevreleyen biyofilm matrisi, mikropların aşırı koşullara dayanmasına ve antibiyotik tedavilerine direnmesine neden olmaktadır. Sonuç olarak, *A. baumannii* biyofilmi ile ilişkili enfeksiyonların tedavisi mevcut ilaçlarla yeterli olmamaktadır (Roy ve ark 2018).

Biyofilm Yapısı

Bakteriyel ekzopolisakkaritler (EPS) yüksek moleküler ağırlıklı biyopolimerlerdir. Yapısal olarak esas bileşeni karbonhidrat kısmından oluşurken piruvat, asetat, süksinat ve fosfat gibi karbonhidrat olmayan her bakteri türüne ya da çevresel unsurlar ile içeriği değişen stabil olmayan hücre dışı polimerik maddelerdir (Nwodo ve Okoh 2013). Bu metabolitler polisakkaritler, proteinler ve hücre dışı DNA'dan oluşan bir kendi kendine üretilen hücre dışı polimerik maddenin matrisi içinde düzenlenen yapışkan mikroorganizma kümelerinden oluşur (Wingender ve Flemming 2011).

Bir bariyer görevi görmesine rağmen EPS, besin maddelerinin biyofilme gömülü tüm hücrelere iletilmesini sağlamak için işlevsel bir mimariye sahiptir (Stoodley ve ark 2002). Biyofilmlerin mimarisi EPS bakteriyel hareketlilik, hücreler arası iletişim ve çevresel koşullar dahil olmak üzere çeşitli faktörlerden etkilenebilmektedir. Tüm bu değişkenler bireysel türlerin üretebileceği biyofilmlerin gelişimini, şeklini ve miktarını etkiler. Bazı ortak strateji göstermelerine rağmen, Gram-negatif bakteriler, Gram-pozitif bakterilere kıyasla yapısal farklılıkları nedeniyle biyofilm oluşumunda farklı özellikler geliştirmiştir. Gram-negatif

bakterilerin duvar yapısı, hücre zarfları bir iç (İM) ve bir dış zar (OM) içeren ve bu zarların arasında bir periplazmik boşluğa sahip olan didermik hücrelerdir. Hücre zarflarının ve hücre dışı uzantılarının özellikleri, biyofilm oluşumunda kritik rol oynar (Pompilio ve ark 2021).

Biyofilmlerin immün savunmaları ve antibiyotikleri barındırmaya karşı zayıf duyarlılığı, EPS'nin bariyer etkisinden kaynaklanacağı gibi antibiyotik direncinde yer alan genlerde dahil olmak üzere fenotipik, metabolik ve büyüme değişiklikleriyle sonuçlanan gen ekspresyonundaki önemli değişikliklerden de kaynaklanabilir (Hall ve Mah 2017).

EPS'nin antibiyotiklerin bakteri topluluğuna erişimini engellediği öne sürülmüştür. Klinik izolatların çoğunda MDR paterni sergileyen güçlü biyofilm olan bu bakteride MDR ve biyofilmler arasında güçlü bir ilişki vardır (Niu ve ark 2008).

Biyofilm Oluşum Mekanizmaları

İlk bakteri bağlanması substratın genel fizyokimyasal kuvvetleri ve bakteri hücre zarfı tarafından yönlendirilir (Jamal ve ark 2018). Birincil temastan sonra spesifik veya spesifik olmayan hücre yüzeyi adezinlerin katılımı, mikrokolonilerin oluşumuna yol açan geri dönüşü olmayan bir bağlanmayı tetikler (Berne ve ark 2015).

EPS matrisi ilk yapışmayı düzeltir, ardından mikrobiyal hücrelerin çoğalması başlar ve biyofilmin (yani mikro-koloni) temel yapısal birimi meydana gelir. Mikro koloni içindeki veya mikro koloniler arasındaki hücrelerin yakınlığı, substrat değişiminin yanı sıra ana metabolik ürünlerin dağılımında ve metabolik son ürünlerin atılımında önemli bir rol oynar (Nwodo ve Okoh 2013).

İlk biyofilm bağlanmasının inhibisyonu, biyomateriyallerin kimyasal ve değişen fiziksel özelliklerinin değiştirilmesine aracılık ederken, biyofilmlerin çıkarılması, matris bozundurucu enzimler, yüzey aktif maddeler, fiziksel kuvvetler ve amino asitler, serbest yağ asitleri ve nitrik oksit donörleri aracılığıyla yapılır. Ayrıca, çekirdek söndürme stratejisi ile biyofilm inhibisyonu, QS sinyallerinin bozunması, sinyal moleküllerinin antagonize edilmesi, sinyal sentezinin inhibisyonu, sinyal transdüksiyonu ve sinyal taşınması yoluyla gerçekleştirilir (Subhadra ve ark 2019).

Biyofilm olgunlaşması, geri dönüşümsüz olarak bağlanan hücrelerin besin kaynağının çeşidine bağlı olarak daha organize ve karmaşık bir yapı ve şekil geliştirdiğinde meydana gelir. Mikrobiyal hücreler, otomatik indükleyiciler olarak bilinen sinyal moleküllerini kullanarak popülasyon yoğunluklarını kontrol etmek için çekirdek algılama olarak bilinen hücreden hücreye sinyal mekanizması aracılığıyla birbirleriyle iletişim kurar (Stewart ve Franklin 2008). Nisap algılama ayrıca biyofilm kolonisinde uygun mutasyonların iletilmesine yardımcı olur, kaynaklara erişimi iyileştirir ve antibiyotik toleransına katkıda bulunur. Bu aşamada, matris ayrıca suyla dolu ve bir dolaşım sistemi görevi gören ara boşluklar (kanallar) üretir (Hannan ve ark 2010).

Son olarak, sapsız form hareketli forma dönüşür; yani biyofilmin dağılması durumu oluşur. Biyofilmin ayrılması/dağılması oksijen veya besin açlığı ve EPS'nin sakkarolitik enzimler tarafından çözünmesi ile başlatılır ve bakteri yüzeyinin kolonizasyon için yeni bir yere salınmasına izin verir (Jamal ve ark 2018).

Organizmanın fenotipinden bağımsız olarak biyofilm oluşumunun beş aşamalı döngü olarak yukarıda anlatılanların özeti olarak şu şekilde sıralanabilir.

Aşama I: Saniyeler süren ve muhtemelen çevresel sinyallerle tetiklenen geri dönüşümlü bağlanma aşamasıdır. Bu sinyaller organizmaya göre farklılık göstermekle birlikte besin maddelerinin konsantrasyonları, pH, sıcaklık, oksijen ve demir konsantrasyonu ve ozmolalitedeki değişiklikleri içerir. Aşama I sırasında, bakteri hücreleri logaritmik bir büyüme gösterir.

Aşama II: Geri dönüşsüz bağlanmayla karakterizedir ve aşama I' den dakikalar sonra başlar ve hücre kümeleri oluşarak hareketlilik azalır. Bu aşamanın sonuna doğru, besinleri ve planktonik bakterileri yakalayabilen ekzopolisakkarit (EPS) tabakası üretilir.

Aşama III: Hücre topluluklarının tabakalaşmaya başlayıp 10 μm ' den daha büyük boyuta ulaştığı evredir. Bu aşama aynı zamanda maturasyonun ilk basamağı olarak da adlandırılır. Biyofilmler bu aşamada organize olarak üç boyutlu yapı kazanmaya başlar.

Aşama IV: Biyofilmlerin, genellikle 100 µm' den daha büyük olan nihai boyutlarına ulaştığı maturasyonun ikinci fazıdır. Bu aşamaya ulaşmak birkaç gün sürer. Bu fazda hücre kümeleri substrattan uzaklaşır, ancak EPS' de tutulmuş halde kalır.

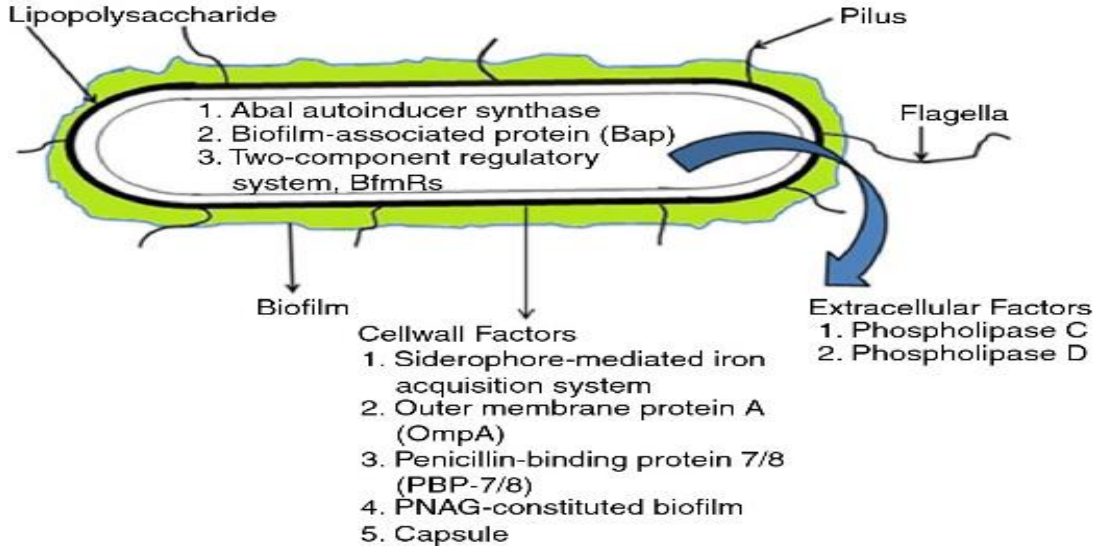
Aşama V: Hücrelerin dispersiyonunun (dağılım) gözlemlendiği evredir. Bu aşamada bakterilerin bir kısmı planktonik fenotip geliştirir ve biyofilmden ayrılır. Evre V, Evre IV' ten birkaç gün sonra başlar.

Daha fazla hücrenin bağlanması ve çoğalması, hücre dışı polisakaritler ve diğer maddeler üretmeye başlayan daha karmaşık mikrokoloni yapıları ve nihayetinde biyofilmin son mimarisini oluşturur (Wingender ve Flemming 2011).

Biyofilm Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Biyofilm oluşumunun modülasyonu, bakterinin bulunduğu yüzey ve programlanmış çok adımlı süreçte yer alan hücresel bileşenler kadar çeşitlidir (Gaddy ve Actis 2009).

A. baumannii'nin biyofilm oluşumunda rol oynayan çeşitli virülans faktörleri bulunmaktadır; dış zar proteini A (OmpA), biyofilm ilişkili protein (bap), hücre dışı ekzopolisakkarit (EPS), iki bileşenli bir sistem (BfmRS) tarafından düzenlenen CsuA/BABCDE pilus şaperon sistemi, poli-β-(1,6) -N-asetil glukozamin (PNAG) ve çekirdek algılama sistemi. Abiyotik yüzeylerde *A. baumannii*'nin biyofilm sürecinin oluşumu, çoklu ilaç direnci ve hücre dışı polisakkarit poli-β- 1,6 -N-asetil glukozamin (PNAG) OmpA gibi virülans faktörlerinin ifadesi ile pozitif bir korelasyona sahiptir (Thummeepak ve ark 2016, Goudarzi ve ark 2019).



Şekil 2. Biyofilmi etkileyen faktörler (Saipriya ve ark 2020)

-Dış Zar Protein A (OMPA)

A. baumannii'nin majör porini olan dış zar proteini OmpA, fibronektin ile etkileşim yoluyla epitel hücrelerine tutunma ve invazyonda önemli bir rol oynar. Bu protein ayrıca *A. baumannii*'nin serum direnci, biyofilm oluşumu ve kalıcılığı, apoptoz indüksiyonu ve antimikrobiyal direncinde rol oynar (Dahdouh ve ark 2017, Chapartegui-Gonzalez ve ark 2018).

OmpA, mitokondriye yerleşir ve epitel hücrelerinin apoptozunu ve yüzey hareketliliği ve konakçı hücrelerde sitotoksiteyi indükler (Choi ve ark 2005, Choi ve ark 2008). Hem biyofilmle ilişkili proteinler hem de OmpA proteini, *A. baumannii*'de biyofilm oluşumunda rol oynar (Loehfelm ve ark 2008, Gaddy ve Actis 2009).

-Biyofilm ile ilişkili protein (Bap)

Biyofilm oluşumu ve ardından olgun biyofilm içinde hücreler arası yapışmada rol almaktadır (Loehfelm ve ark 2008).

-Lipopolisakkarit (LPS)

Konağın bağışıklık tepkisinden kaçınma, katyonik antimikrobiyal peptitlere direnç, konakçı enflamatuar tepkisini tetikleme, TLR4 sinyali ve kuruma sağkalımını azaltmaktadır.

A. baumannii' nin hücre yüzeyindeki lipid A asilasyonunun güçlendirilmesi, katyonik antimikrobiyal peptit direncini ve kuruma sağkalımını desteklemektir (Luke ve ark 2010, Bonnichsen ve ark 2015).

-Penisilin bağlayıcı protein 7/8 (pbpG)

Peptidoglikanın biyosentezi, hücresel stabilite ve serumda büyümede etkilidir. PBP-7/8'in hücre duvarının yeniden şekillenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (Russo ve ark 2009).

-Dış zar vezikülleri (OMV)

Hücre sitoplazmasını barındırmak için virülans genlerinin sağlanması ve bakteri hücreleri arasında genetik materyalin aktarılmasında görevlidir (Jin ve ark 2011).

-Fosfolipaz D

Fosfolipaz D'nin inaktivasyonu *A. baumannii* patogenezi azaltır. Bakterilerin in vivo hayatta kalması, serum direnci ve bakterilerin yayılmasında etkilidir (Jacobs ve ark 2010).

-Fosfolipaz C

İnsan kırmızı kan hücrelerine karşı hemolitik etki sergilemek ve demir alımına yardımcı olmaktadır. Demirle düzenlenmiş fosfolipaz C aktivitesi, *A. baumannii*' nin sitolitik aktivitesine ve virülansına katkıda bulunur (Fiester ve ark 2016).

-Sidefor (Acinetobaktin) aracılı demir toplama mekanizması

Konakçı bakterinin hayatta kalması için demir sağlar ve hücre ölümünü indükler (Mihara ve ark 2004, Gaddy ve ark 2012).

-Kapsül

Katyonik antimikrobiyal peptit direncinin yanı sıra serum direncine ve in vivo sağkalıma aracılık eder (Geisinger ve Isberg 2015).

-Poli- β -1-6-N-Asetilglukozamin (PNAG)

Biyofilm oluşumu, hücre-hücre yapışması ve ayrıca doğuştan gelen konak savunmalarına karşı koruma sağlamaktadır. *Acinetobacter baumannii*'nin pgaABCD lokusu, biyofilm oluşumu için kritik olan Poli- β -1-6-N-asetilglukozamin üretimini kodlar (Choi ve ark 2009).

-İki bileşenli bir sistem (BfmRS) tarafından düzenlenen CsuA/BABCDE pilus şaperon sistemi

Csu pilus şaperon sistemi işlevsel olarak biyofilm oluşumu ve hücre morfolojiyi düzenlemektedir (Tomaras ve ark 2008). *A. baumannii* ATCC 19606 suşunda bulunan ve pilus yapımına neden olan CsuA/BABCDE operonu yüzeye tutunma ile birlikte biyofilm yapımı için gerekli olduğu gözlemlenmiştir. Başka bir operon olan poli N-asetil glukozamin (pgaABC)'in de biyofilm yapımında rolü olduğu saptanmıştır (Wright ve ark 2017).

Csu operonu iki bileşenli bir sistem BfmRS tarafından kontrol edilir ve BfmR inaktivasyonu, bu operon ifadesini ve bu nedenle pili ve biyofilm oluşumunu ortadan kaldırmaktadır (Tomaras ve ark 2008). Pilus şaperon sistemi abiyotik yüzeylerde biyofilm oluşumunu desteklemektedir (Tomaras ve ark 2003). Biyofilm oluşumu, abiyotik yüzeylere yapışmayla ilgili pililerin birleştirilmesi ve üretilmesi için gerekli olan CsuA/BABCDE pilus şaperon sistemi (bfmS/bfmR) kompleksinin ekspresyonunu gerektirir (Dorsey ve ark 2002). Bu transkripsiyonel düzenleyici sistem, polistiren yüzeylerde hücre tutunması ve biyofilm oluşumunda gerekli olan pili üretiminden sorumlu CsuA/BABCDE pilus şaperon düzenleyici sistemini aktifleştirmede görev alır (Tomaras ve ark 2008).

A. baumannii'nin yüzeye tutunmayla birlikte biyofilm oluşturma mekanizması geniş alanı kapsayan hücre faktörlerinin varlığı ile birlikte çevresel faktörlere de bağlıdır. Biyofilm oluşumunu etkileyen faktörler devamlı olarak birbiri ile etkileşim içindedir. Biyofilm yapımında ilişkili protein (bap), dış zar proteini A (ompA), blaPER-1, CsuA/BABCDE pilus şaperon sistemi ve demir alma mekanizmaları, *A. baumannii* izolatlarında biyofilm oluşumu ile bağlantılı olduğu gözlemlenmekle beraber ompA ve blaPER-1'in bakterilerin epitelyal hücrelere ve abiyotik yüzeylere bağlanmasından da sorumlu olduğu gözlemlenmiştir.

Acinetobacter baumannii'nin biyofilm ilişkili virülans belirleyicileri olarak tanımlanan gen bölgeleri ve proteinleri; iki bileşenli sistem tarafından düzenlenen CsuA/BABCDE pilus şaperon sistemi (bfmS/bfmR), dış membran proteini olan ompA, biyofilm proteini (bap) araştırılması gereken önemli fonksiyonel gen bölgeleridir (Bardbari ve ark 2017). Son yapılan çalışmalarda, *A. baumannii*'nin biyofilm oluşumu üzerine etkisi olan faktörler araştırılmıştır ancak klinik izolatlardaki biyofilm oluşumuna katkı sağlayan genlerin araştırılmasıyla ilgili veriler kısıtlıdır (Wright ve ark 2016, Eze ve ark 2018).

Biyofilm Dağılımını Etkileyen Faktörler

Bakteriler, geniş bir sinyal aralığında yanıt oluşturarak biyofilmin makro yapısından kaçmak için dağılmayı indükleyebilir. Biyofilm dağılma süreci, bakterilerin konakçıya salınmasını tetiklediğinden sistemik enfeksiyonların başlangıç noktasıdır (Marks ve ark 2013, Guilhen ve ark 2017).

Bu nedenle, dağılma faktörlerinin düzenlenmesi bilgisi, biyofilm gelişme sürecinin gelişimini ve bakterilerin sistemik yayılmasını kontrol etmeye yardımcı olacaktır. Biyofilm dağılımını çevresel/ dış faktörler; demirin mevcudiyeti (Musk ve ark 2005, Glick ve ark 2010), karbon kaynağı ve pH (Uppuluri ve ark 2010, Bonnicksen ve ark 2015), ağır metallerin varlığı (Petrova ve ark 2014), oksijen sınırlaması (An ve ark 2010) ve iç faktörler; bakteri ve konak tarafından üretilen sinyalleşme molekülleri [yani, AHL'ler, AIP'ler, yayılabilir sinyal faktörleri (DSF'ler) (Ueda ve Wood 2009, Periasamy ve ark 2012), insan bağırsak epitel hücre sinyalleri (Sanchez ve ark 2016) ile nitrik oksit (Li ve ark 2013) etkilemektedir.

Biyofilm oluşumunda akış pompalarının rolü

Akış pompaları antibiyotik direncinde yaygın olarak yer almasına rağmen, biyofilm oluşumu, QS, patojenite ve virülans dahil olmak üzere bir dizi bakteri davranışında rol oynayabileceklerini gösteren çok sayıda araştırma bulunmaktadır (Yang ve ark 2006).

Dışa akış pompalarının biyofilm oluşumunda en az dört farklı yol olduğu gözlemlenmiştir.

1. Biyofilm matris oluşumunu kolaylaştırmak ve QS'yi düzenlemek için EPS'lerin ve/veya QS ve çekirdek söndürme (QQ) moleküllerinin akışı,
2. Biyofilm oluşumunda rol oynayan genlerin dolaylı düzenlenmesi,
3. Antibiyotikler ve metabolik ara ürünler gibi zararlı moleküllerin akışı ve
4. Yüzeylere ve diğer hücrelere yapışmayı teşvik ederek veya önleyerek kümelenmeyi etkilemektedir (Alav ve ark 2018).

Hastalık Patogenezinde Biyofilm

Acinetobacter baumannii'nin olumsuz ortam koşullarında hayatta kalma yeteneği, bakteri hücrelerinin dormansisi olma durumu, çoklu antibiyotik direnç mekanizmaları, cansız nesnelerde hayatta kalma süresinin uzaması, çevresel strese karşı direnç oluşturma ve çeşitli subakut veya kronik enfeksiyonlarda bakterinin hayatta kalmasında rol oynamaktadır. Bu koşullar biyofilmlerin oluşmasına zemin hazırlamaktadır (Richards ve ark 2015, Greene ve ark 2016).

Biyofilmlerle ilişkili enfeksiyonlar öncelikle bir yerde kalarak sonradan rezerv olacağı doku, organa göre kan dolaşımında, üriner sistemde enfeksiyonlara neden olurken kan akışının kısıtlanmasına sebep olabilmektedir (Parsek ve Singh 2003).

Biyofilm yapısının hastalıkla ilişkisi şu şekildedir. Vestibuler sistemde otitis media, kolesteatom; kardiyovasküler sistemde infektif endokardit, ateroskleroz; sindirim sisteminde dental plaklar, periodontit, sialolityazis, hepatobilier kansere predispozisyon yaratan tedaviye dirençli tifoid ateş oluştururken, enflamatuvar barsak hastalığı ve kolorektal tümörler; cilt ve eklerinde kronik yara enfeksiyonları; kas ve iskelet sisteminde osteomyelit, prostetik eklem enfeksiyonları, nekrotizan fasiit; merkezi sinir sisteminde tıbbi cihazlarla ilişkili menenjit, reproduktif sistemde bakteriyel vajinoz, kronik endometrit, mastit; solunum sisteminde kronik rinosinüzit, farenjit, larenjit, pertussis, ventilatör ilişkili pnömoni (VİP), kistik fibrözis ilişkili pnömoniler; üriner sistemde kronik bakteriyel prostatit, idrar yolu enfeksiyonları gibi geniş spektrum gösteren enfeksiyon ve tıbbi durumlarla ilişkilendirilmişlerdir (Vestby ve ark 2020).

Biyofilm Sürecinde Hastalıklarda Tedavi, Önleme ve Kontrol

A. baumannii kaynaklı biyofilm enfeksiyonlarının tedavisi zor olmaktadır. Organizmaların biyofilm oluşturmalarını önleme ilk çözüm basamağıdır. Biyofilm büyümesini engellemek için bakterilerin biyotik veya abiyotik yüzeylere ilk bağlanmasının inhibisyonu, olgunlaşma süreci sırasında biyofilm hedeflerinin bozulması ve sinyal girişim yaklaşımı veya Nisap Söndürme (QQ) gibi üç temel strateji çalışılmaktadır (Subhadra ve ark 2019). Bu uyarılar, küresel düzenleyiciler, iki bileşenli ve çekirdek algılama (QS) sistemleri, döngüsel nükleotitler, nitrik oksit, fenazinler ve küçük peptitleri içeren karmaşık düzenleyici mekanizmalar aracılığıyla biyofilm oluşumunu tetikler (Landini 2009, Gunn ve ark 2016).

Yeni oluşan biyofilm, olgunlaşmış biyofilmden daha kolay elimine edilebildiğinden, biyofilm enfeksiyonları için erken ve güçlü antibiyotik tedavileri edilmesi önerilmektedir (Hoiby ve ark 2011). Biyofilmle ilişkili *A.baumannii* enfeksiyonlarının kalıcı doğası nedeniyle tedavi zor olmaktadır ve biyofilm oluşumu antibiyotik direncini arttırdığından biyofilmle ilişkili enfeksiyonların tedavisinde kombinasyon tedavisi faydalı olmaktadır (Eze ve ark 2018).

Hem büyüme hem de biyofilm oluşumu riboflavin, rafinoz, sitrat, inülin, trehaloz ve sorbitol gibi prebiyotik metabolitler tarafından inhibe edilir. Sonuç olarak, prebiyotikler, *A. baumannii*'nin biyofilmine karşı önemli bir anti-biyofilm etkinliğine sahiptir. *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturma yeteneği, inülinli *Lactobacillus rhamnosus* varlığında $75 \pm 6,5$ oranında azalır. Ayrıca, faj Φ AB6 ve onun Kuyruk Lifi (TF) proteini gibi faj tedavisi, çoklu ilaca dirençli *A. baumannii*'nin biyofilmini sırasıyla %78 ve %62 oranında önlediği gözlemlenmiştir ve biyofilm yapısını bozduğunu da tespit edilmiştir (Shahed-Al-Mahmud ve ark 2021).

A. baumannii tarafından oluşturulan biyofilmlerin tedavilerinde etkili antibiyotiklerden tigesiklin, imipenem-rifampisin ve kolistin-rifampisin (Song ve ark 2015) ile sulbaktam-tigesiklin ve meropenem sulbaktam'ın biyofilm kütlelerini ve kalınlığını azalttığı tespit edilmiştir (Wang ve ark 2015).

2.5.12. Efflux Sistemleri

Antibiyotik direncinden sorumlu bir başka mekanizma dışa atım pompa sistemi diğer adıyla effluks sistemidir. Effluks pompa sistemi işlevine ait olan genler ve proteinler tüm organizmaların işlevsel yapısında yer alan transport proteinleridir. Antimikrobiyal ajanların etkisini azaltan bu dışa atım sistemleri, tek bir substratı hedefleyebileceği gibi birbirinden farklı maddeleri de substrat olarak kullanabilmektedir. Bu durum mikroorganizmaların antibiyotiklerin yanı sıra dezenfektanlar, boyalar, biyositler, antiseptik ajanlar gibi pek çok farklı kimyasal maddenin etkisinden effluks pompaları aracılığıyla korunabildiği anlamına gelmektedir (Vila ve ark 2007).

Başlıca direnç mekanizmaları genellikle antimikrobiyal inaktive edici enzimler üretmeyi, hedefleri değiştirmeyi, membran geçirgenliğini azaltmayı, biyofilm oluşturmayı ve membran aktif akış sisteminin aşırı ekspresyonunu içerir (Wareham ve Gordon 2011).

Akış pompaları, bakterilerde antibiyotik direncinin ana mekanizmalarından biri olan ilaç akışının önemli bir bileşenidir (Blair ve ark 2015). Tüm metabolik süreçlerde, protein ve enzimlerin taşınmasında genellikle yüksek derecede özgüllük vardır, ancak çoklu ilaç efluks pompaları geniş bir yapısal ve kimyasal olarak farklı substrat yelpazesini tanır (Henderson ve ark 2000).

Gram negatif bakterilerde dış zar hücreye giren antimikrobiyallerin oranını sınırlar ve çoklu ilaç efluks pompaları, yapısal olarak farklı sınıfların antimikrobiyallerini aktif olarak bakteri hücresi dışına verir. Efluks pompaları tüm canlı hücrelerde ifade edilir ve onları organik kimyasalların toksik etkilerinden korur. Bakteriyel çoklu ilaç direnci, sıklıkla bu taşıyıcıların aşırı ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Hücreden dışarı atılan antimikrobiyallerin tekrar içeri girebilmek için düşük geçirgenliğe sahip dış zarını geçmesi gerekir; bu nedenle efluks pompaları, dış zarın düşük geçirgenliği ile sinerjik olarak çalışır (Poole 2002).

Effluks pompası hücrede ana işlevi zararlı olan moleküllerin, metabolik ürünlerin ve toksinlerin uzaklaştırılmasını içerir. Dışa akış pompaları, konakçı hücrelere yapışma ve kolonizasyon gibi enfeksiyonun erken bir aşamasında da

komplike olabilir. Bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde genel olarak kullanılan antibiyotikleri hücreden uzaklaştırırlar (Ribera ve ark 2002).

Spesifik ajanların efluks mekanizmalarını kodlayan genler genellikle transpozonlar, integronlar ve plazmitlerde bulunur ve bunların diğerk organizmalardan elde edilmeleri de dirence katkıda bulunur (Butaye ve ark 2003, Poole 2005). Bu pompalar hemen hemen tüm bakteri türlerinde bulunur. Bu protein sınıfının kodlayıcı genleri, kromozomlar veya plazmitler üzerinde yer alabilir (Sun ve ark 2014) .

Bakteriyel efluks sistemleri, periplazmadan hücre dışı ortama potansiyel olarak toksik bileşikler ihraç eden, geniş substrat özgüllüğü sergileyen ve membranı kapsayan sistemlerdir. Amino asit dizisinin homolojisine göre, membran akış pompası beş süper aileye ayrılır: Bugüne kadar başlıca ATP bağlayıcı ABC ailesi (ABC/ATP binding cassette), kolaylaştırıcı süper ailesi (MFS/Major facilitator), küçük çoklu ilaç direnç ailesi (SMR/Small Multidrug Resistance), çoklu ilaç ve toksin ihraç ailesi (MATE) ve direnç- nodülasyon hücre bölünmesi süper ailesi (RND / Resistance Nodulation Division) dahil olmak üzere beş bakteriyel efluks pompası ailesi tanımlanmıştır (Poole 2002, Du ve ark 2018).

ABC ailesi temel olarak enerji sağlamak için ATP'ye dayanan Gram pozitif bakterilerde bulunurken, SMR, MFS ve RND ailesinde için proton itici güç enerji kaynağı olarak kullanırken, MATE ailesi sodyumla birlikte proton itici güç kaynağı kullanır (Coyne ve ark 2011).

Dışa atım pompa sistemleri substrat aralığının geniş olmasıyla birden fazla antibiyotik ilaç türünü tanıyan kompleks sistemlerdir. Antibiyotiklerin dağılımı şu şekildedir: ABC tipi pompalar tetrasiklinler, florokinolonlar, aminoglikozidler, makrolidler, rifampisin, kloramfenikol ve linkozamidleri; MFS tipi pompalar bu antibiyotiklere ek olarak pristinamisin; RND tipi pompalar ise β -laktamlar, sülfonamidler ve fusidik asidi tanımlar. SMR tipi pompalardan en çok etkilenen antibiyotikler tetrasiklinler, eritromisin ve sülfadiyazindir. Tüm süper aileler içerisinde RND tipi pompa sistemi en geniş protein ve substrat çeşitliliğine sahip olan gruptur (Van Bambeke ve ark 2000, Li ve Nikaido 2009).

RND

Gram negatif bakterilerde çoklu ilaç direncinde rol alan dışa atım pompa sistemleri büyük çoğunlukla RND süper ailesinden oluştuğu gözlenmektedir. RND diğer effluks mekanizmalarına kıyasla oldukça karmaşıktır. Gram negatif bakterilerde özel bir role sahiptir ve antibiyotiğe karşı çoklu direnç geliştirmek, *A. baumannii*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* gibi MDR olarak da adlandırılır (Allen ve ark 2010).

Farklı pompa aileleri tarafından ilaç taşınması, protonların zar-ötesi elektrokimyasal gradyanı tarafından belirlenir. RND ailelerinden bazıları, akışı zorlamak için proton gradyanını kullanan ve yalnızca tek bir ilaç molekülü için bir H⁺ iyonu takas eden proton antiporterleridir (Wieczorek ve ark 2008).

Acinetobacter baumannii bakterisinde RND tipi AdeABC pompasını da inhibe etmektedir. *A. baumannii* üzerindeki RND akışı başlıca üç gen (AdeABC, AdeIJK, AdeFGH) ve bazı özel genler (AdeDE, AdeAA) ile gerçekleşir (Vila ve ark 2007, Eze ve ark 2018).

Yapılan yeni çalışmalarda, *A. baumannii*'nin çoklu ilaç direncinde RND süper ailesinin üyeleri olan AdeABC ve AdeIJK pompa sisteminin çok önemli rolü olduğu gözlenmektedir (Marchand ve ark 2004, Poole 2005). Bu pompa sistemleri birçok farklı antibiyotik ilaç grubunda yer alan aminoglikozitler, tetrasiklinler, florokinonlar, beta laktamlar ve eritromisin gibi ilaçların dışa atılımını sağlayarak antimikrobiyal direnç gelişiminde rol oynamaktadır (Coyne ve ark 2011, Wieczorek ve ark 2013).

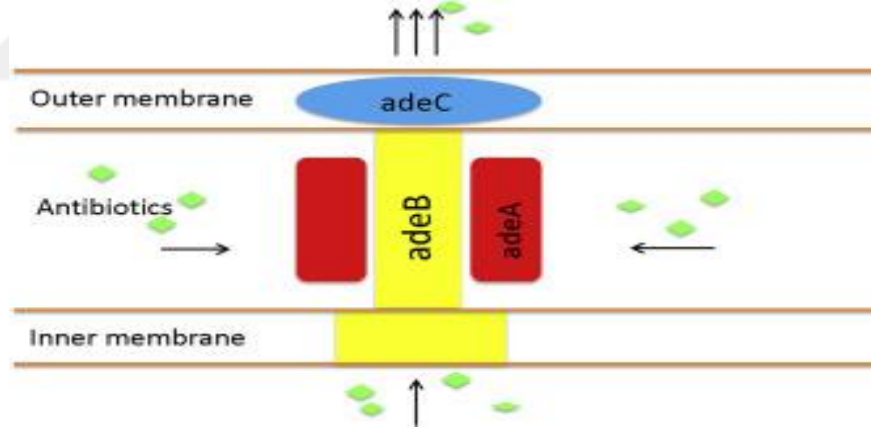
AdeABC ve AdeIJK pompalarını aşırı eksprese eden mutant suşların neden azaltılmış biyofilm oluşumu sergilediğini açıklayabilir; pilus sistemlerinde yer alan genlerin aşağı regülasyonu, biyofilm oluşumunun ilk aşamalarını bozacaktır. Bu nedenle, AdeABC ve AdeIJK akış sistemleri, düzenleyici genleri aktive eden molekülleri ihraç ederek pilus genlerinin ekspresyonunu dolaylı olarak düzenleyebilmektedir (Richmond ve ark 2016).

ABC

-AdeABC

AdeABC, *A. baumannii*'nin kromozom genomunda bulunur. AdeA, AdeB ve AdeC sırasıyla membran füzyon proteini, çoklu ilaç taşıyıcısı ve dış membran kanalı protein yapısını kodlayan genlerdir (Peleg ve ark 2008)

Periplazmik protein AdeA, AdeB ve AdeC bileşenleri arasındaki işbirliğine aracılık eder. AdeB iç zarda kullanılan periplazmik membran füzyon proteinleri (MFP'ler) ve dış zar faktörleri (OMF'ler) ile birlikte gram negatif bakterilerde taşıyıcı örtü kompleksleri oluşturarak substratlarını hem iç zarın fosfolipid çift tabakasının içinden hem de sitoplazmadan yakalar (Magnet ve ark 2001). AdeA ve AdeC sırasıyla MFP ve OMP içindedir (Marger ve Saier 1993). Substratlar OMP (AdeC) aracılığıyla hücre dışı ortama aktarır (Aires ve Nikaido 2005). Bu makromoleküler kompleksler üçlü birimler olduklarından, dış zarlardan birden fazla antibiyotik çıkaran yetkili makineler olarak işlev görürler (Marchand ve ark 2004).



Şekil 3. *A. baumannii*'nin hücre duvarındaki adeABC akış pompasının işlevi . adeA membran füzyon proteini, AdeB çoklu ilaç taşıyıcısı ve AdeC dış membran proteini olarak görev yapar. AdeB, antibiyotikleri çift katmanlı fosfolipidlerin iç zarında veya sitoplazmada yakalar, ardından substratları AdeC (membran kanalı proteini) ile dışarı taşır (Xu ve ark 2019).

AdeABC , β -laktamlar, florokinolonlar, tetrasiklin (tigesiklin), makrolid (linamidler) ve kloramfenikol dahil olmak üzere çok çeşitli substratlara sahiptir;

aminoglikozitlerin klinik direncini verir. Bunlar arasında netilmisin ve gentamisin, dışı akış pompası AdeABC için en iyi substratlardır (Magnet ve ark 2001).

Acinetobacter spp. AdeABC efluks pompaları sırasıyla biyositlere ve aminoglikozidlere direnci artırır (Hassan ve ark 2013, Liu ve ark 2018). AdeABC gibi efluks pompaları, ilaçları hedef alım bölgesinden uzağa atarak tigesiklinin direnç mekanizmalarında önemli bir rol oynar (Manchanda ve ark 2010, Singh ve ark 2013). Yapılan başka çalışmalarda AdeABC pompasının ilaç direnci üzerinde karbapenemler ve aminoglikosidazlar ile sinerjik bir etkiye sahip olduğunu bulmuştur (Yoon ve ark 2015). AdeB'nin yıkılması, diğer genetik temelli mekanizmalar doğrulanmış olan izolatlarda antibiyotiklere direnci azaltabilir (Abdi ve ark 2020).

Hassas suşlarda AdeABC geninin varlığı bu nedenle düşüktür ve ilaca dirençli suşlarda yaygındır, bu nedenle bazı araştırmacılar AdeABC'nin *A. baumannii*'nin direncinin bir işareti olarak kullanılabileceği fikrini desteklemektedir (Lin ve ark 2009). *A. baumannii* çoğu ilaca duyarlı değilken kolistine duyarlılığı yüksektir (Savari ve ark 2017). Bir çalışma, klinik izolatta AdeB'nin aşırı ekspresyonu yoluyla kolistine maruz kaldığında kolistin hetero-direncine AdeABC'nin katkısını göstermiştir (Machado ve ark 2018).

AdeABC'nin ekspresyonundaki artış durumu, *A. baumannii* bakteri topluluğunda yer alan bakterilerin biyofilm oluşturma kapasitesi ve membran bileşimi üzerine etkilerinin olabileceği düşünülmektedir (Eze ve ark 2018).

AdeA, AdeB ve AdeC genleri, zıt yönde kopyalanan ve sırasıyla iki bileşenli sistemlerin sensörlerine ve düzenleyicilerine homolog proteinleri belirten AdeS ve AdeR'ye bitişiktir. AdeABC pompası, AdeRS iki bileşenli sistem tarafından kontrole edilmektedir (Magnet ve ark 2001).

AdeRS, AdeABC ifadesini düzenler

AdeR ve AdeS adlı iki bileşen, AdeABC'nin ifade sisteminin düzenlenmesinden sorumludur (Dal ve ark 2013).

AdeRS yukarı regülasyon bölgesinde yer alan AdeABC arasında 133 bp'lik bir intercistronic aralayıcı ile ayrılmış operonlar ve ters sentezleme yönünde işlenen ve sırasıyla iki bileşenli sistemlerin sensörlerine ve düzenleyicilerine homolog proteinleri

belirten AdeS ve AdeR yanında yer almaktadır AdeRS, çevresel sinyalleri alan ve otofosforilasyona neden olan ve ardından fosforik asidi çıkış yanıtlayıcı adeR'ye aktaran histidin kinazdan oluşur (Marchand ve ark 2004).

AdeR, bir tanıma yanıt faktörü olarak kabul edilmiştir ve bir transkripsiyonel aktivatör olarak işlev görür (West ve Stock 2001). Bunlara protein kinazlar da denir ve adeABC'nin her iki tarafında farklı yörüngelerde bulunurlar. AdeRS, adeABC'nin direncinin artmasında belirleyici rol oynar. Bazı sonuçlar, AdeR ve/veya AdeS işlev bozukluğunun tigesiklin, kloramfenikol, minosiklin, eritromisin, sefotaksim, tetrasiklin, florokinolonlar ve trimetoprim direncini artıracağını göstermektedir; ayrıca *A. baumannii* izolatının amino-glikozitlerinin duyarlılığını arttırır (Chin ve ark 2015, Dreier ve Ruggerone 2015).

-AdeIJK

RND ailesinin AdeIJK'sının ikinci en büyük pompa gen ailesidir ve pompa akış yapısını oluşturan AdeI, AdeJ, AdeK genlerinden oluşur (Blair ve ark 2015).

Duyarlı ve dirençli suşlarda AdeIJK genleri tespit edilmiştir. AdeIJK yapılan çalışmalarda içsel direnç gelişmesine neden olduğu gözlemlenmiştir. AdeIJK β -laktamlar, kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, linamidler, florokinolonlar, fusidik asit, neonatal asit, rifampisin, trimetoprim, akridin (boyalar), kok (boyalar) ve sodyum dodesil sülfata dayanıklıdır. AdeJ'nin ortalama ekspresyon seviyesi nispeten düşük olmasına rağmen, ekspresyonu olduğu sürece AdeIJK plazmit tarafından taşındığında, kloksasilin, oksasilin, nitrotramin ve etidyum bromürün MİK düzeylerini önemli ölçüde artırabilir. Bu temelde, adeIJK akış pompasının fizyolojik etkisinin, AdeABC ve AdeIJK özelliklerinin yanı sıra AdeABC'ninkinden daha güçlü olabileceği tahmin edilmektedir (Damier-Piolle ve ark 2008).

AdeJ geni en sık karşılaşılan gen olarak seçilimi, kloramfenikol, makrolidler, linkozamidler, tetrasiklinler ve kinolonlar ve β -laktamların duyarlılığında bir amplifikasyona yol açacaktır (Abbott ve ark 2013)

-AdeFGH

AdeFGH dışı atım pompasının azalmış regülasyonu durumu oluştuğunda, *A. baumannii* izolatlarında biyofilm oluşum yoğunluğunun azaldığı görülmektedir.

Pompa sistemlerinin bakteride biyofilm oluşumu aşamasında sentezlenen otoindükleyicilerle etkileşim halinde olduğunun göstergesidir (Chen ve ark 2017).

A. baumannii' nin klinik izolatları tarafından biyofilm oluşumunun AdeFGH akış pompasının aşırı ekspresyonu ile ilişkili olduğunu saptanmıştır. Ayrıca en büyük biyofilm indüksiyonu, abal ve AdeG'nin tutarlı yukarı regülasyonu ile belirlenmiştir. AdeFGH'nin biyofilm oluşumu için gerekli substratların akışındaki rolü henüz araştırılmamış olmasına rağmen, AdeFGH akış pompasının aşırı ekspresyonunun muhtemelen biyofilm oluşumu sırasında AHL'lerin akışını hızlandığını vurgulanmıştır. Başka bir çalışma, AdeABC, AdeFGH ve AdeIJK akış pompalarını aşırı ifade eden mutantların, *Acinetobacter* spp. suşu ile karşılaştırıldığında biyofilm oluşumunda önemli bir azalma gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca dışa akım genleri olan AdeG, AdeJ ve AdeB'nin silinmeside biyofilm aşamalarında belirgin eksikliklerin varlığı saptanmıştır. Bu, *A. baumannii*' deki biyofilm oluşumunu başlatmak ve sürdürmek için akış pompalarının belirli bir ekspresyon profilini gerektirdiğini ve bazı akış pompalarının bu açıdan diğerlerinden daha kritik olduğunu vurgulamaktadır (Yoon ve ark 2015).

ABC (ATP Binding Cassette)

ABC (ATP binding cassette) tipi pompa türünün yapısı çeşitli ilaçlar, endojen bileşikler ve ksenobiyotiklerin membranlardan taşınmasını sağlayan proteinlerden oluşur. ABC proteinleri substratlarını membranlardan pompalama işlevini ATP'ye bağımlı olarak yapmaktadır. Primer aktif taşıyıcı özellikleri ile ön plandadırlar (Dean ve ark 2001). P-gp (P-glikoprotein), ABC ailesinin önemli bir üye olmakla birlikte meme kanseri direnç proteini (BCRP) ile çoklu ilaç direncine bağlı proteinler (MRP) ve ilaçların bağırsaklardan dışarı atımında görev almaktadır. ABC transporterları ilaç metabolitlerinin ve ilaç farmokinetiğindeki detoksifikasyonunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bilinen bu ABC protein çeşitleri sağlıklı dokularda eksprese olabildikleri gibi birçok tümör dokularında da eksprese olabilmektedirler. Bu transporterlar; antineoplastik ilaçları tümör hücrelerinde de atılmasını sağlayarak ilacın tümör dokusunda toplanıp birikmesinin engelleyerek uygulanan kemoterapi tedavi yönteminin başarısız olmasını sağlamaktadır. Karşılaşılan bu durum MDR olarak ortaya çıkmaktadır. Kanser tedavisi veya antibiyotik tedavisi için önemli bir halk sağlığı sorunu etkeni olmaktadır. ABC transporterları ile taşınan ilaçların

toksisiteleri ve etkinliklerinde uygulama zamanlarına bağılı olarak farklılıklar gözlemlenmiştir (Stefkova ve ark 2004, Stavrovskaya ve Stromskaya 2008).

MFS

Ana kolaylaştırıcı süper ailesi (MFS), bakterilerden insanlara taşınan benzersiz büyük ikincil aktif taşıyıcılar grubudur (Radestock ve Forrest 2011). MFS proteinleri biyolojik membranlardan çok çeşitli substratları taşır ve çoklu fizyolojik süreçlerde çok önemli bir rol gösterir (Yan 2015). MFS taşıyıcıları, dizi benzerliği temelinde 70'den fazla aileye kategorize edilebilir (Reddy ve ark 2012).

MATE Dışkı Pompaları

MATE ailesi, çift enerji deposu PMF (protonun itici gücü) ve sodyum iyonu gradyanı Na⁺ tarafından desteklenmektedir (Nie ve ark 2016).

Bilinmeyen mekanizmalara ve ilaca dirençli dışı akış pompası genlerine sahip genler bulunuyor; bu genlerin belirli ilaçlara dirençle ilişkili olduğu görülmektedir. Örneğin, MATE ailesi tarafından AbeM ile ilgili bir çalışmada, aminoglikozidlere ve kinolonlara karşı direnç oluşturabileceği ortaya konmuştur (Su ve ark 2005).

SMR Akış Pompaları

SMR protein ailesi bakteriyel çoklu ilaç taşıyıcı ailesinin en son üyesidir. SMR proteinleri yaklaşık olarak 100-140 aminoasit uzunluğundaki dört transmembran alfa salmalından oluşmaktadır. SMR akış pompalarının işlevini engellemek için iki yaklaşım düşünülebilir: ya doğrudan bağlanma bölgesini engellemek ya da protein dimerizasyonunu bozmak. Bununla birlikte SMR bağlanma bölgesi, kimyasal bileşim, boyut, uzaysal yönelim ve yük bakımından farklılık gösteren çok çeşitli substratları barındırır. RND, MFS ve MATE ailelerine göre daha küçük boyutlardadır. En iyi tanımlanmış olan SMR pompası *E. coli*'de bulunan ve EtBr (Etidyum Bromür) ve Metil Viologen'e karşı dirence katkıda bulunan, EmrE'dir (Chung ve Saier 2001, Bellmann-Sickert ve ark 2015).

2.5.13. Quorum Sensing

Quorum sensing (QS) yapısı ilk defa Gram negatif bakterilerde keşfedilmiştir. QS aynı zamanda Gram pozitif bakteriler ve bazı funguslarda kullanılmakta olan mikrobiyal iletişim ağı sistemidir. Mikroorganizmalar arasında kullanılan quorum sensing sistemi, çevreyi algılama veya çoğunluğu algılama ya da diğer bir ifadeyle bakteriyel iletişim sistemi, antimikrobiyal tedavide umut vadeden ve konağa zararın minimum düzeyde olduğu bir sistem olarak dikkatleri çekmektedir. Bu iletişim sistemi aynı ortam içindeki türlerin popülasyonundaki artış doğrultusunda, türlerin bu artışı algılaması ve bunun sonucunda tüm bireylerin koordineli biçimde özel genlerin ekspresyonunu düzenlemesi gibi davranış değişikliklerini göstermesi olarak tanımlanabilmektedir (Fuqua ve ark 1994, Shaw ve ark 1997, Yin ve ark 2012).

QS mekanizma yapısı ilk olarak bu iki bakteri olan *Vibrio harveyi* ve *Vibrio fischeri*'de biyoluminesans oluşumunun araştırılmasıyla keşfedilmiştir. Günümüzde QS mekanizmasının Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde bununla birlikte diğer 88 mikroorganizmaları içeren geniş bir alanda gözlemlendiği belirtilmektedir (DeLisa ve Bentley 2002).

Acinetobacter spp.'deki QS sistemi *V. fischeri*'den LuxR reseptörü (AbaR) ve LuxI sentaz (AbaI) sistemine homolog olarak tarif edilmiştir. Ancak filogenetik çalışmalar, QS genlerinin (*abaI* ve *abaR*) *Halothiobacillus neapolitanus*'tan yatay olarak kazanıldığını gözlemlenmiştir (Bhargava ve ark 2014).

QS birçok bakteri türünde virülans faktörlerinin üretimini kontrol eder ve bakteriyel patojenite ile mücadele için çekici bir hedef olarak kabul edilmektedir (Mukherjee ve ark 2018). Patojenik suşların kalıcı enfeksiyonlar oluşturma, kolonizasyon sağlamada başarısını sağlayan en önemli özellik, büyümeyi, virülansı, ayrıca bakteriyosinler ve antibiyotik üretimini koordine etmek için kullanılan gruba özgü veya değiştirilebilir sinyal moleküllerini içeren karmaşık iletişim sistemleridir (Jayaraman ve Wood 2008).

QS mekanizması mikroorganizmalar arasında iletişim ağıyla mikroorganizmaların belirli bir çoğunluğa ulaşp ulaşamadıklarını kontrol etmelerine ve yeterli çoğunlukta

olduğunda ise bakteri yaşamı için gerekli olan virülans faktörleri, antibiyotik direnç gibi kritik gen ekspresyonlarını tetiklemektedir (YENİÇERİ 2018).

Quorum sensing olarak tanımlanan çevreyi algılama mekanizmasının işleyişi sinyal molekülünün sentezlenmesi, sinyal moleküllerinin besi ortamına salınması ve sinyal moleküllerinin algılanmasıyla üç aşamada gerçekleşir. Sentezlenen bu sinyal molekülleri hücre zarındaki moleküle özgü sistemler aracılığıyla ortama salınır. Sinyal moleküllerinin modifikasyonu ve ortama salgılanması protein yapısındaki özel moleküller aracılığıyla gerçekleşir (de Kievit ve Iglewski 2000). Algılama sinyal molekülünün hücre içine alınmasıyla ya da sinyal molekülünün hücre içine alınmadan, hücre zarında bulunan bir reseptör ile etkileşimi yoluyla gerçekleşir (Schauder ve ark 2001).

QS sistemi yoluyla patojenite ve virülans oluşumu beş adımla oluşur:

1. QS sinyal moleküllerini sentezler;
2. Sinyal moleküllerinin çevreye salınması;
3. Yüksek hücre yoğunluğundaki sinyal moleküllerinin algılanması ve membran reseptörlerine bağlanması;
4. Hücreden reseptör-sinyal kompleksinin alınması ve bunun promotör bölgeye bağlanması ve
5. Patojenite ile ilgili genlerin transkripsiyonu (Duran ve ark 2016)

QS sisteminde ilk olarak oligopeptid yapısındaki sinyal molekülü öncü peptid olarak sentezlenir ve hücre içinde modifiye edilerek olgun oligopeptid otoindükleyici molekül haline getirilir. Otoindükleyici sinyal molekülleri ATP-Binding Casette (ABC) taşıyıcı kompleksinin yardımı ile çevre ortamına salınır. Hücre sayısındaki artışla birlikte dışarıdaki oligopeptid sinyal molekül miktarı artarak kritik eşik değere ulaşması sonucunda, sinyal molekülü algılama mekanizmasındaki bileşenleri/molekülleri tanımlar (YENİÇERİ 2018).

Bu bileşenlerin ilki protein yapısında hücre zarına yerleşmiş reseptör görevinde olan histidinkinazlar iken ikincisi histidinkinazın aktive ettiği transkripsiyon faktörü denilen protein yapılardır. Sinyal molekülleriyle etkileşim halindeki histidinkinazlar hücre içine doğru fosforile olarak, fosforillenmiş histidinkinazlar bağlantılı oldukları sinyal molekülünü fosfatlayarak aktive ederler. Aktive olan bu sinyal molekülleri ilgili

bakteri genlerini aktive edip ekspresyonlarını sağlarlar. Böylece her bir bakteri türüne özgü olan quorum sensing davranışları oluşmaktadır. Böylelikle bakteri toplulukları koloni olarak göstermeleri gereken iletişimi bir hücreden diğerine sinyal molekülleri ile iletilebilmektedir. Kullanılan her bir bakteri türüne göre değişiklik gösteren biyo-sinyallerin yapısına bağlı olarak, hücrelere giriş için farklı yollarının kullanıldığı bilinmektedir. Bu otoindükleyiciler, transkripsiyonel düzenleyici proteinlere bağlanır ve organizmada gen ekspresyonunu aktive eder veya düzenler (Bhargava ve ark 2010).

QS, otoindükleyiciler (AI'ler) olarak adlandırılan hücre dışı sinyal moleküllerinin üretimine, salınmasına ve grup çapında saptanmasına ve bunlara yanıt oluşturmasıyla tanınmaktadır. Tanımlanan QS sinyalizasyon sistemlerinin çoğu, iki bileşenli sistemler (TCS), yani AI (QS molekülü) ve hedef genlerin transkripsiyonunu etkileyen yanıt düzenleyici (RR) olarak da bilinen reseptör içerir (Papenfort ve Bassler 2016).

Gram-pozitif bakteriler, ağırlıklı olarak, membrana bağlı iki bileşenli sensör histidin kinazlar tarafından saptanan AI'lar olarak oligopeptitleri kullanır ve bilgi, aynı kökenli sitoplazmik yanıt düzenleyicilere iletilir (Novick ve Geisinger 2008). Bakteriyel QS, hücre yoğunluğu hakkında bilgi paylaşmak ve buna göre gen ekspresyonunu düzenlemek için otoindükleyici (AI) sinyallerinin üretimine, salgılanmasına ve saptanmasına dayanan hücreden hücreye algılanan bir iletişim ağı sistemidir (Rutherford ve Bassler 2012).

Açıl homoserin laktonları (AHL), Gram negatif bakteriler tarafından virülans faktörleri ve biyofilm gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonları düzenlemek için kullanılan ana oto-indükleyici sinyaller sınıfıdır (Stevens ve ark 2012). *A. baumannii* ve ilgili patojenik *Acinetobacter* spp. bir AHL sentazından (AbaI) ve bir AHL bağlanmasıyla aktive olan bir transkripsiyonel düzenleyiciden (AbaR) oluşan bir LuxR/LuxI QS sistemine sahiptir. AHL'ler genellikle LuxI tipi sentazlar tarafından üretilir ve LuxR tipi sitoplazmik reseptör-transkripsiyon faktörleri tarafından tespit edilir (Kumari ve ark 2006).

Gram negatif bakterilerin tipik AHL sistemi, LuxI ve LuxR protein aileleri tarafından düzenlenir. Raporlara göre, LuxI-LuxR tipi düzenleyici sistem, lux-box adı verilen ve QS hedef genlerinin ekspresyonunu düzenleyen spesifik bir promotör

dizisine bağlanır (Egland ve Greenberg 2001, Bhargava ve ark 2010). AbaI promotörü henüz tanımlanmamıştır. *A. baumannii* için varsayılan bir AbaI bölgesi ATG başlangıcının 67 bp yukarı akışında yer aldığı ve AbaR'nin bağlanma bölgesini temsil edebileceği *liiks* kutusunun varlığı (CTGTAAATTTCTTACAG) bildirilmiştir (Niu ve ark 2008).

AHL'ı da içeren bu hormon benzeri moleküller motilite, biyofilm oluşumu gibi birçok karakteristik faktörü düzenler. Biyofilm oluşumunun düzenlenmesinde kurulan QS döngüsünde indükleyici olarak AbaI ve reseptör olarak AbaR rol oynar (Saipriya ve ark 2020).

Acinetobacter suşlarının %63'ünün birden fazla AHL ürettiğine dair kanıtlar vardır, ancak cinsin belirli türlerine özel olarak hiçbir AHL sinyali oluşturulamaz, bu da *Acinetobacter*'deki çekirdek sensörlerinin türler arasında homojen bir şekilde dağılmadığını gösterir ancak belirli bir AHL, ACB kompleksinin çoğu suşunda spesifik olarak var olduğu gözlemlenmiştir (Gonzalez ve ark 2009).

Acinetobacter spp. N- (3hidroksidodekanoil) -l- homoserin lakton (OHC12) en yaygın olarak karşılaşılan 10 ila 12 karbon uzunluğunda asil yan zincirleri olan AHL'ler üretir (Schauder ve ark 2001). *A. baumannii*, farklı zincir uzunluklarına sahip AHL sinyal molekülleri üretebilir (Erdoğan ve ark 2017). Aynı zamanda diğer *Acinetobacter* suşlarında farklı AHL'leri üretebilmektedirler. Farklı üretilen AHL'ler, R-grubu yan zincirinin uzunluğuna göre farklılık gösterir. N-(3-hidroksidodekanoil)-1-homoserin lakton (3-hidroksi-C12-HSL), bu bakteride tanımlanan tek QS molekülüdür, ancak kütle spektrometrisi diğer AHL moleküllerinin de önemli ölçüde daha düşük miktarlarda mevcut olabileceğini düşündürmüştür. Bununla birlikte, çekirdek sensörlerinin cinsteki genel patojenik potansiyele katkısı şu anda bilinmemektedir (Schauder ve ark 2001).

Aynı tür arasında homojen iletişim olmadığı gibi farklı iki tür arasında da homojen iletişim olmayabilir. *A. baumannii* ve *P.aeruginosa* arasında AHL'ye bağlı çapraz konuşma meydana gelebilir, çünkü her iki türden de AHL, karışık bir enfeksiyonda heterolog promotörü indükleyebilir (Kumari ve ark 2006).

Tablo 3. Acinetobacter türlerine göre AHL tipleri (Garner ve ark 2012, Lade ve ark 2014)

Açıl Zincirinin Uzuluğu	AHL Adı	Türler
C4	C4-HSL	<i>Acinetobacter johnsonii</i>
C6	C6-HSL	<i>Acinetobacter junii</i> , <i>A. johnsonii</i>
C8	C8-HSL	<i>Acinetobacter junii</i> , <i>A. johnsonii</i>
C8	3-oxo-C8-HSL	<i>Acinetobacter junii</i> , <i>A. johnsonii</i>
C10	C10-HSL	<i>Acinetobacter baumannii</i>
C12	C12-HSL	<i>Acinetobacter baumannii</i>
C12	3-HydroxyC12-HSL	<i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>A. noscomialis</i> , <i>A. calcoaceticus</i> , <i>A. haemolyticus</i> , <i>A. radioresistens</i> , <i>A. schindlerii</i> , <i>A. venetianus</i> , <i>A. beijerinckii</i>
C13	3-oxo-C13-HSL	<i>Acinetobacter baumannii</i>
C14	C14-HSL	<i>Acinetobacter baumannii</i>
C16	C16-HSL	<i>Acinetobacter baumannii</i>

QS sinyal molekülleri demiri şelatlayabilir ve stres yanıtının oluşumunu indükleyebilir. *A.baumannii*'nin demir eksikliği olan ortamlarda ısrarlı biyofilm oluşumunu bu mekanizma açıklayabilir. Sideroforlar demir, çinko, bakır ve diğer metalleri şelatlayabilir, böylece oksidatif stresi modüle ederken antibiyotiklerin ve konak moleküllerin aktivitesine müdahale eder (Minandri ve ark 2016).

QS araştırmalarının temel amacı mikrobiyel olarak çoğunluk algılanma mekanizmasının işleyişini belirlemektir. Mikroorganizmalar arasındaki iletişimi engelleyerek ya da mekanizmanın işleyişini bozulmasını sağlayarak mikroorganizma topluluklarının kontrol altında tutulması amaçlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda yapılan çalışmalarda hücreler arası iletişimin engellenmesi ile ilgili mekanizmalar da “Quorum Quenching” (QQ) olarak adlandırılmaktadır. QQ mekanizması ile QS mekanizması birbirinin antagonistidir. Patojenite ve biyofilm oluşturan mikroorganizmaların faaliyetlerinin önlenmek için kullanılan birçok enzim ve inhibitör vardır. Klinik ortamlar, gıda fabrikaları olmak üzere diğer sektörlerde biyofilm oluşumunun engellenebilmesi amacı ile yeni bir yaklaşım olan QQ ile QS moleküllerinin üretiminin durdurulması, inhibisyonu ya da bu moleküllerin parçalanması gibi araştırma konuları ortaya çıkmıştır (Ulrich 2004).

Acinetobacter'in farklı türlerinde yüzeyle ilişkili hareketlilik ve biyofilm oluşumu da olmak üzere virülans faktörlerinin kontrolünde QS'nin anahtar rolü, bu

türlerde olası bir antimikrobiyal strateji olarak QQ enzimlerinin kullanımına işaret etmektedir (Mayer ve ark 2020).

QS'ler genellikle antibiyotiklerle sinerjik bir antibiyofilm aktivitesi sergiler (Algburi ve ark 2017). Antibiyotiklerin alt inhibitör konsantrasyonları, yüksek konsantrasyonlarda gözlemlenen bakterisidal etkilerin aksine QS mekanizmasını modüle eder (Remy ve ark 2018). Alt inhibitör konsantrasyonlarda kullanılan bazı antibiyotiklerden streptomisin, gentamisin ve miyomisin *A. baumannii*'de QS sinyalini engellediği keşfedilmiştir. Streptomisin içinde AbaR ve inhibe QS bir antagonisti olarak hareket edebilir. *A. baumannii* aşağı regüle ile AbaI Al sentazını kodlayan gen, 3-okso-C12-HSL üretiminde karşılık gelen düşüşe neden olur (Saroj ve Rather 2013).

Patojenik QS sinyal moleküllerinin konakçı mikrobiyotasını değiştirebilmektedir. Konakçı hücre sinyal yollarında müdahale edebileceği gözlemlenmiştir (Vogt ve ark 2015).

2.6. Antibiyotik Temelli Tedavi Yaklaşımları

Acinetobacter spp. en önemli savunma mekanizması hızlı genetik mutasyonlar, yeniden düzenlemeleri kolaylaştıran genetik plastisitesi ve mobil genetik elemanlar tarafından taşınan yabancı maddeleri belirleyen entegrasyonudur. Bunlar ile birlikte bakteri genomlarındaki yerleştirme dizilerinin kombinasyon yerdeğişimi evrimi şekillendiren anahtar güçlerden biri olarak kabul edilir (Vrancianu ve ark 2020).

Monobaktamlar hariç hemen hemen tüm beta-laktamları hidrolize edebilen metallobetalaktamaz enzimleri, en yaygın karbapenem direnç mekanizmalarından biridir. Ayrıca integronlara yerleştirilen Metallo- β -laktamazları kodlayan genler, plazmitler aracılığıyla bir bakteriden diğerine kolaylıkla aktarılabilir (Brown ve ark 2011).

Hedef bölgelerin modifikasyonları, geçirgenlik dereceleri, çoklu ilaç akış pompaları ve enzimatik ilaç bozunması, örneğin β -laktamazlar ve aminoglikozit değiştirici enzimlerin tümü *A. baumannii* direnç mekanizmalarıyla bağlantılıdır (Gordon ve Wareham 2009, Kim ve ark 2012)

Kapsamlı ilaca dirençli (XDR) *A. baumannii* üç veya daha fazla antimikrobiyal sınıfına (penisilinler ve sefalosporinler inhibitör kombinasyonları,

florokinolonlar ve aminoglikozitler dahil, çoğu durumda karbapenemlere dirençli) dirençli bir izolat olarak adlandırılırken, pandrug dirençli (PDR) *A. baumannii*, antimikrobiyallere dirençli bir XDR izolatı olarak adlandırılır. Son zamanlarda, büyük ölçüde ilaca dirençli izolatlar, yeni antimikrobiyallerin keşfedilmesine ve yeni tedavi yaklaşımlarının getirilmesine yol açmıştır (Mulani ve ark 2019, Karakostas ve ark 2020).

Karbapenem dirençli *A. baumannii* (CRAB), 2018 yılında WHO tarafından antibiyotik araştırma ve geliştirme için bir numaralı öncelik olarak sıralanmıştır. Bir belirteç olarak karbapenem seçilmiştir, çünkü karbapenem direnci genellikle diğer antibiyotik sınıflarına karşı geniş bir ko-direnç yelpazesi ile ilişkilidir (Tacconelli ve ark 2018). Karbapenemler, şiddetli enfeksiyonlar için tercih edilen tedavi olarak düşünülmüştür (Bialvaei ve ark 2016). Karbapenemler, çok ilaca dirençli (MDR) *A. baumannii* enfeksiyonlarının tercih edilen tedavisiydi, ancak bunların önceki kullanımları, son yıllarda karbapenem direnci insidansının artmasına neden oldu (Nordmann ve Poirel 2019).

Acinetobacter spp. karbapenem direnci genellikle karbapenemaz üretimine bağlı olarak artan effluks pompa aktivitesi, porin proteinlerinde oluşan modifikasyon ve penisilin bağlayan protein (PBP) yapısındaki değişimler gibi diğer faktörlere veya bunların kombinasyonuna bağlı olarak da gelişebilir (Clark ve ark 2016).

Küresel olarak karbapenem dirençli *Acinetobacter* izolatı artarak rapor edilmiştir. Son otuz yıldır kolistin kullanımı, toksisitesi ve yeni antibiyotiklerin geliştirilmiş yaygınlaşması nedeniyle kısıtlanmıştır. Yeni antimikrobiyal ajanların eksikliğine ek olarak çoklu ilaca dirençli *A. baumannii*'nin artan ortaya çıkışı, bu organizmaya karşı değerli aktivitesine ilişkin olarak kolistinin kullanımında dikkati yeniden canlandırmıştır (Katrakou ve Roilides 2005). Polimiksinler, başlangıçta sistemik toksisiteler (nefrotoksiste ve nörotoksiste) nedeniyle kaçınılsa da, MDR *A. baumannii* enfeksiyonları için tercih edilen antibiyotikler olarak şimdi yaygın olarak kullanılmaktadır (Piperaki ve ark 2019).

A. baumannii' de farklı bir antibiyotik sınıfına direnç kazandıran ana mekanizmalar aminoglikozid, β -laktamazlar, modifiye edici enzimler, geçirgenlik kusurları, hedef bölgelerin değiştirilmesi ve çoklu ilaç akış pompalarını içerir. Hücreden

salınan antibiyotikler, ilaç birikiminde azalmaya ve minimum inhibitör konsantrasyonlarda (MİK) artışa neden olur. Bu bağlamda, akış pompaları, ilaç birikimini azaltan ve MİK'i artıran hücre akışından antibiyotik salınımına yol açar (Abdi ve ark 2020). Beta-laktam antibiyotiklere direnç, hidroliz yoluyla inaktivasyon, akışın artması, akışın azalması ve antibiyotik hedefinin korunması gibi mekanizmalar yoluyla sağlanabilir (Green 2002, Dijkshoorn ve ark 2007).

Antibiyotik direnci mekanizmaları üç gruba ayrılabilir. İlk olarak, direnç membran geçirgenliğini azaltarak veya antibiyotiğin akışını artırarak böylelikle hedefe erişimi engelleyerek elde edilebilir. İkincisi, bakteriler genetik mutasyon veya translasyon sonrası modifikasyon yoluyla antibiyotik hedefini koruyabilir. Üçüncü olarak, antibiyotikler hidroliz veya modifikasyon yoluyla doğrudan inaktive edilebilir (Blair ve ark 2015).

Akış Pompası Aracılı Oluşan Direnç

Gram-negatif bakterilerde bulunan dış zar hücreye giren antimikrobiyallerin oranını sınırlar. Çoklu ilaç akış pompaları, bakterilerden çok sayıda yapısal olarak farklı antimikrobiyal sınıflarını aktifleştirir. Akış taşıyıcıları tüm canlı hücrelerde bulunarak canlıları organik kimyasalların toksik etkilerinden korur. Bakteriyel çoklu ilaç direnci genellikle bu taşıyıcıların aşırı ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Hücre dışına atılan antimikrobiyallerin tekrar girebilmeleri için düşük geçirgen olan dış zardan geçmeleri gerekir; bu nedenle akış pompaları, dış zarın düşük geçirgenliği ile sinerjik olarak çalışır (Poole 2002).

Effluks pompa inhibisyonu dirençle mücadelede oldukça etkili bir yol olduğu gibi mevcut antibiyotik tedavide fayda sağlayacağı düşünülmektedir. 1-(1-naftilmetil) piperazin (NMP) ve fenil-arjinin beta-naftilamid (PAβN) özellikle gram negatif bakterilerde yaygın olan RND tipi dışa atım pompaları üzerinde inhibitör etkisi gözlenen moleküller olmakla birlikte antibiyotiklerle sinerjik kullanımlar ilgilili araştırmalar sürdürülmektedir. Siyanid3-klorofenilhidrazon (CCCP), kolistin duyarlı ve dirençli suşlarda MİK değerlerinde azalma sağladığı belirlenmiş olan bir başka effluks pompa inhibitörüdür (Park ve Ko 2015).

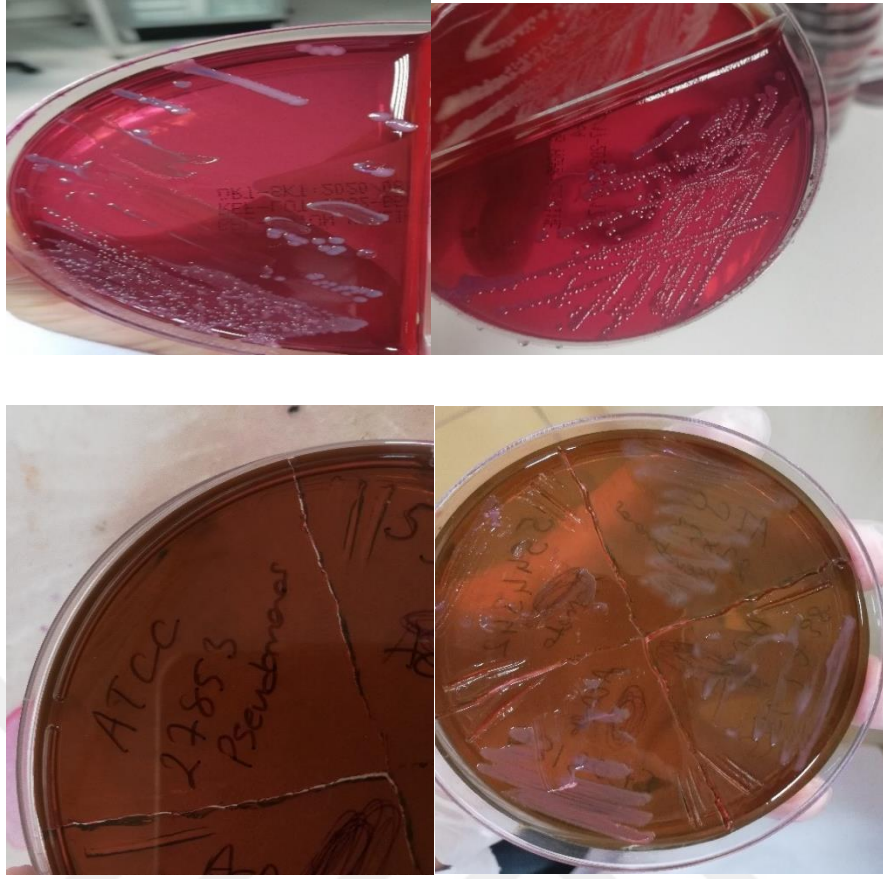
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Toplanması

2019-2021 yılları arasında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda kan kültürlerinden izole edilen 53 kültür çalışmaya alınmıştır. -80 °C'de boncuklu sıvı besiyerinde saklanan şuşlar, tekrar üretilmek amacıyla pasajlama işleminden geçirilmiştir. Laboratuvarında rutin olarak kullanılan koyun kanlı agarda 53 hastanın ekimi bunzen aleviyle steril koşullarda özeyle ekim yapılarak, *Acinetobacter baumannii* olarak üreme gerçekleşmiştir.

3.2. Örneklerin İncelenmesi ve Ekimi

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi farklı servislerden gönderilen kan kültür numuneleri rutin olarak işleme alındı. Yapılan mikroskopik incelemeler ve gram boyama sonucunda, 37°C'de koyun kanlı besiyerine tek koloni düşecek şekilde ekim yapılarak 24 saat inkübasyon için etüvde bekletildi. İnkübasyon sonrasında koyun kanlı agarda 0,5-2 mm çapında, parlak pembemsi renkte kabarık kolonilerden Gram boyama ve oksidaz testi yapıldı (Şekil 4). Bakteri tanımlanması konvansiyonel yöntemler (Gram boyama, oksidaz testi, fermentasyon özelliği) ve VITEK 2 (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, France) otomatize sistemi kullanılarak yapılmıştır. Mikroskopik inceleme sonucu Gram negatif kokobasil şeklinde görülen kolonilerden VITEK 2 otomatize sistemi ile tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testi çalışılmıştır. Bakterilerin antibiyotik duyarlılık testi European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önerileri dikkate alınarak VITEK 2 otomatize sistem ve sıvı mikrodilüsyon testi ile belirlenmiştir. *A. baumannii* olarak tanımlanan şuşlar moleküler çalışmalar yapılana kadar -80 °C'de boncuklu bakteri saklama tüplerinde dondurularak saklanmıştır. Tüm çalışmalarda kontrol suşu olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır.



Şekil 4. *A. baumannii*'nin Kanlı Agar Besiyerinde Oluşan Koloni Görüntüsü

3.3. İzolasyon ve İdentifikasyon İçin Kullanılan Besiyeri ve Ayıraçlar

3.3.1. Besiyeri

Genel olarak hastanelerde kültürü ekilen *Acinetobacter* spp, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutinde kullanılan katı besiyerleri olan koyun kanlı agarda 37°C inkübasyon sıcaklığında iyi üremektedir. 24 saatlik kültürlerde düzgün, bazen mukoid, grimsi-beyaz, 1.5-3 mm çaplı *A.calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks kolonileri, Enterobacteriaceae kolonilerine benzerken diğer türlerden *A.calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks dışındaki bazı türler daha saydam, küçük koloniler yaparlar ve McConkey agarda üremeyebilirler.

“Eosine Methylene Blue” (EMB) agarda mavi renkli, gri merkezli koloniler oluşur. *Acinetobacter haemolyticus* izolatları ve 6, 13BJ, 14BJ, 15BJ, 16 ve 17 gibi diğer henüz yeterli bilgi tanımlanamamış olan *Acinetobacter* genomik türleri, koyun kanlı agarda beta hemoliz yapabilir ancak *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks izolatları bu özelliği asla göstermez. *Acinetobacter* türlerini çevreden ve klinik

örneklerden izole edebilmek için, asetat ve nitrat içeren zenginleştirici sıvı mineral besiyeri kullanılabilir (Baumann 1968).

Karışık bakteriyel popülasyonu izole etmek için seçici-ayırıcı besiyerleri geliştirilmiştir ve en sık Herellea agar (Difco) ve Leeds Acinetobacter besiyeri kullanılmaktadır (Jawad ve ark 1994).

3.3.2. Ayıraçlar

Gram Boyama

Gram boyama tekniği, mikrobiyolojide sık kullanılan bir boyama yöntemidir ve mikroorganizmaların sınıflandırılmasında, tanımlanmasında kullanılır. Gram boyama ile bakteriler gram pozitif ve gram negatif olarak ikiye ayrılır.

En sık uygulanan gram boyama yönteminde aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulanır:

- Preparat hazırlanır (yayma, kurutma, tespit).
- Preparatın üzerine kristal viyole boya çözeltisi eklenerek kaplanır ve 1 dakika beklenir.
- Preparat bol distile suyla yıkanır.
- Preparatın üzerine lugol çözeltisi eklenerek kaplanır ve 1 dakika beklenir.
- Preparat distile suyla yıkanır.
- Preparatın üzerine %95'lik etanol veya asit-alkol karışımı eklenerek 10-15 saniye beklenir
- Preparat distile suyla yıkanır.
- Preparatın üzerine sulu fuksin veya safranin boya çözeltisi eklenerek kaplanır ve 30 saniye beklenir.
- Preparat bol distile suyla yıkanır.
- Preparat havada veya kurutma kâğıdı ile kurutulur.
- Mikroskopta incelenir. Mor renkte görülen mikroorganizmalar gram (+), pembe-kırmızı renkte görülenler ise gram (-) olarak değerlendirilir.

Gram (+) ve gram (-) mikroorganizmaların tamamı kristal viyole boyası ile mor renge boyanır. Preparata eklenen lugol solüsyonu ile gram (+) bakterilerin oluşturdukları yapı, daha sonra ortama eklenen alkol ile yıkanmaz yani boya hücre

duvarında kalır iken gram (-) bakterilerin oluşturduğu yapı alkol ile yıkanır. Bir başka deyişle, boya, bakteri hücresinden dışarıya salınır (dekolorizasyon). Gram (-) bakterilerin renkleri alkolle gittiğinden ortama daha sonra eklenen sulu fuksin ile boyanır. Böylece gram (+) bakteriler mor renkte (kristal viyole rengi), gram (-) bakteriler pembe-kırmızı renkte (sulu fuksin rengi) boyanır.

Gram boyama özelliği bakteri hücre duvarının (çeperi) yapısı ile ilgilidir. Hücre duvar yapıları arasındaki farklar:

- ✓ Gram (+) bakterilerde bulunan hücre çeperi, gram (-) bakterilere göre daha kalın peptidoglikan tabakası mevcuttur.
- ✓ Gram (+) bakterilerin hücre çeperinde karbonhidratlar daha fazla iken gram (-) bakterilerin hücre çeperinde lipidler fazladır.

Karbonhidratlar alkolle dekolorizasyon esnasında dehidratasyona (su molekülünün açığa çıkması) uğrar. Porlar iyice büzülür, daralır ve boya dışarı çıkamaz. Lipitler de ise alkol çözücüdür ve hücre çeperinde olan porlar daha çok açılarak genişler.

- ✓ Gram (+) bakterilerin hücre çeperinde teikoik asit bulunurken gram (-) bakterilerde teikoik asit bulunmaz.

Katalaz Testi

%3'lük hidrojen peroksit konsantrasyonu 1/10 oranında seyreltilip distile su ile sulandırılarak hazırlandı. Steril cam şişe içerisinde oda ısısında muhafaza edildi. Test aşamasındayken lam üzerine iki damla hidrojen peroksit damlatıldı ve şüpheli koloni önceden steril edilmiş öze ile alınarak karıştırıldı. Geçen zaman aralığında hava kabarcığı oluşumu pozitif olarak, bir veya iki kabarcık gözlenmiş ise zayıf reaksiyon olarak değerlendirildi. Hava kabarcığı oluşmayan veya 20 saniyeden sonra oluşan örnekler ise negatif reaksiyon olarak değerlendirildi.

Laboratuvar ortamındaki işlemler sonucu *A. baumannii* katalaz pozitif olarak reaksiyon vermiştir.

Antimikrobiyal duyarlılık testi (AST)

Yukarıdaki suşların AST'si, üreticinin talimatına göre VITEK 2 sistemi (Biomerieux, Fransa) aracılığıyla otomatik bir broth mikrodilüsyon yöntemiyle

(Gram-negatif duyarlılık kartları) belirlendi ve duyarlılık yorumu, Klinik ve Laboratuvar'dan alınan klinik sınır değerlere dayanıyordu.

3.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemiyle identifikasyon

DNA izolasyonu

DNA izolasyonu taze üretilmiş kolonilerden ticari DNA mini kit protokolüne göre yapıldı.

Protokol;

1. 25mg'dan az olmayan örneği 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne yerleştirin. 180 ml Buffer ATL ve 20 ml Proteinase K karıştırın ve 560C'de (1-3 saat) inkübe edin.
2. 200 ml Buffer AL ilave edin v 15 saniye karıştırın.
3. 70 °C'de 10 dakika inkübe edin, daha sonra biraz santrifüj edin.
4. 200 ml etanol ilave edin ve 15 saniye vorteksleyin.
5. Alınan karışımı pipet yardımı ile mini spin column'a damlatın (2 ml'lik toplama tüpünde) 6000x g (8000rpm) 1 dakika santrifüj edin.
6. Sonra yeniden mini spin column 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirin ve üzerine 500 ml Buffer AW1 karışımı ekleyin 6000x g (8000rpm) 1 dakika santrifüj edin.
7. Mini spin column toplama tüpüne yerleştirin ve üzerine 500 ml Buffer AW2 karışımı ekleyin. 20000x g (14000 rpm) 3 dakika santrifüj edin
8. 2 ml toplama tüpüne mini spin column yerleştirin,son ayarda 1 dakika santrifüj edin. Bu işlem AW2'den kalan kontaminasyonu azaltır.
9. 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpü içerisine mini spin column yerleştirin ve üzerine 200 ml Buffer AE veya distille edilmiş su ekleyin. Oda ısısında 1 dakika inkübe edin sonra DNA'nı çıkarmak için 1 dakika santrifüj edin.

Tablo 4. PCR Bileşenleri

PCR Bileşenleri	Miktar (µl)
Master mix	12
Primer F	1,5
Primer R	1,5
H2O	7
DNA	3
TOPLAM	25

*Master Mix ve Üretici Firma, WizPure HS-PCR 2X

Primerler

Çalışmada kullanılan liyofilize haldeki primerlere, üretici firma tarafından önerilen miktarda (90 µM su- 10 µM primer) steril distile su eklenerek 100 µM'lık stok çözeltiler elde edildi.

Biyofilmle İlgili Genin PCR Tespiti

Tüm izolatlar bap genini saptamak için PCR testlerine tabi tutuldu. Bu çalışmada kullanılan primerler Tablo 5'de listelenmiştir. PCR, bir termocycler içinde gerçekleştirildi (Şekil 3.) Tek bir reaksiyon karışımı şunları içermektedir: 3 µL (3 ng) genomik DNA, her bir primerden 1.5 µL (15 pmol) ve 12 µL PCR Master Mix. Reaksiyon tamponundaki karışımın toplam hacmi 25 µL olup PCR işleminde prosedür adımlarını takip eden basamaklar uygulandı. İlk denatürasyonu (2 dakika boyunca 95°C) 30 döngü amplifikasyon izledi. Her döngü 1 dakika için 94°C, 45 saniye için farklı genler için çeşitli tavlama sıcaklığından (Tablo 6) ve 45 saniye için 72°C'den oluşuyordu. Son bir uzatma aşaması (10 dakika için 72°C) amplifikasyonu tamamladı. Amplifiye edilen ürünler, %1.5 agaroz jel (Sigma, ABD) üzerinde elektroforeze tabi tutuldu ve etidyum bromür boyaması (Sigma, ABD) ile görselleştirildi.

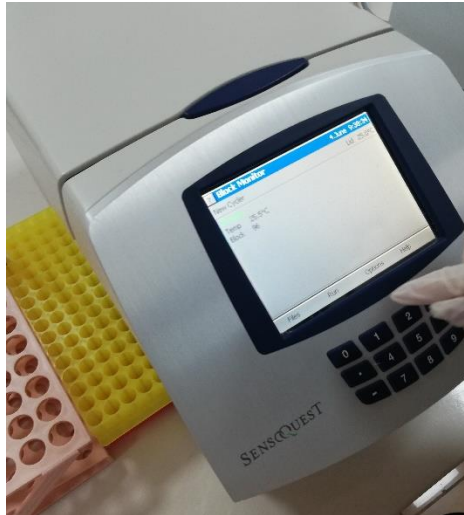
Tablo 5. *Acinetobacter baumannii* izolatlarının virölans faktörlerinin saptanması için kullanılan primerler (Modarresi ve ark 2015)

Gen	Hedef genin özelliği	Primer Sekansı (5'→3')	Amplikon büyüklüğü (bp)	Referans
LuxI	QS İşlevsel proteini	F:GGTTGGGAGTTGAACTGTCC R:AAACGTTCTACTCCAAGAGG	370	(Bitrian ve ark 2012)
LuxR	QS Düzenleyici protein	F:TCGGATTTGATTATTGCGCTTATG R:ACAGCTCGAATAGCTGCTG	603	(Bitrian ve ark 2012)
Ade A	Efflux pompası	F:ATCGCTAACAAAGGCTTGAA R:CGCCCCCTCAGCTATAGAA	159	(Marchand ve ark 2004)
Ade B	Efflux pompası	F:CTTGCAATTTACGTGTGGTGT R:GCTTTTCTACTGCACCCAAA	168	(Marchand ve ark 2004)
Ade C	Efflux pompası	F:TACACATGCGCATATTGGTG R:CGTAAAATAACTATCCACTCC	117	(Marchand ve ark 2004)
Ade I	Efflux pompası	F:CAAATGCAAATGTAGATCTTGG R:AAACTGCCTTTACTTAGTTG	210	(Manchanda ve ark 2010)
Ade J	Efflux pompası	F:GGTCATTAATATCTTTGGC R:GGTACGAATACCGCTGTCA	221	(Marchand ve ark 2004)
Ade K	Efflux pompası	F:TTGATAGTTACTTGACTGTTC R:GGTTGGTGAACCACTGTATC	162	(Manchanda ve ark 2010)
Ade R	Efflux pompası	F:ATGCTTAATACACTGACTTTAGCC GGTGG R:TCTAGCAGAGAGGTCGC	1429	(Marchand ve ark 2004)
Bap	Biyofilm	F:ATGCCTGAGATACAAATTAT R:GTCAATCGTAAAGGTAACG	1449	Genbank numarası KR080550..

*Primer F ve R Üretici Firma, Oligomer

Tablo 6. *Acinetobacter baumannii* izolatlarının virölans faktörlerinin saptanması genleri için PCR ısıt döngü ve süre diyagramı (Modarresi ve ark 2015)

Primer	İlk denatürasyon	Denatürasyon	Yapışma	Uzama	Son uzama	Döngü sayısı
LuxI	95°C'de 2 dk	95°C'de 1 dk	58°C'de 45 sn	72°C'de 1dk	72°C'de 10 dk	30
LuxR	95°C'de 2 dk	95°C'de 1 dk	58°C'de 45 sn	72°C'de 1dk	72°C'de 10 dk	30
Ade A	95°C'de 2 dk	95°C'de 1 dk	51°C'de 45 sn	72°C'de 1dk	72°C'de 10 dk	30
Ade B	95°C'de 2 dk	95°C'de 1 dk	54°C'de 45 sn	72°C'de 1dk	72°C'de 10 dk	30
Ade C	95°C'de 2 dk	95°C'de 1 dk	52°C'de 45 sn	72°C'de 1dk	72°C'de 10 dk	30
Ade I	95°C'de 2 dk	95°C'de 1 dk	57°C'de 45 sn	72°C'de 1dk	72°C'de 10 dk	30
Ade J	95°C'de 2 dk	95°C'de 1 dk	55°C'de 45 sn	72°C'de 1dk	72°C'de 10 dk	30
Ade K	95°C'de 2 dk	95°C'de 1 dk	51°C'de 45 sn	72°C'de 1dk	72°C'de 10 dk	30
Ade R	95°C'de 2 dk	95°C'de 1 dk	57°C'de 45 sn	72°C'de 1dk	72°C'de 10 dk	30
Bap	95°C'de 2 dk	95°C'de 1 dk	55°C'de 45 sn	72°C'de 1dk	72°C'de 10 dk	30



Şekil 5. Kullanılan PCR Cihazı (SensQuest Labcycler)

3.3.4. Agaroz jel elektroforezi

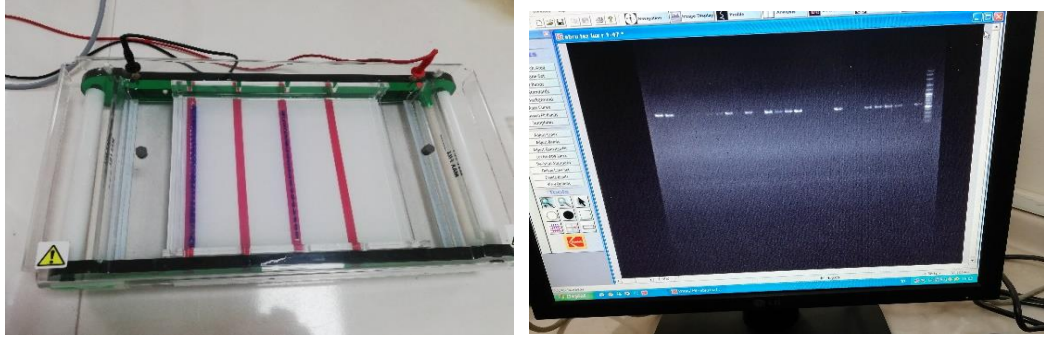
Elektroforezde tampon çözeltisi olarak Tris-Borik Asit-EDTA (TBE) kullanılmıştır. TBE karışımı 10,8 g trizma Base, 5,5 gr borik asit ve 0,744 gr EDTA konularak karışım distile su ile 2000 ml'ye tamamlanarak, 0,5X konsantrasyonda hazırlandı. Çalışmada 2 g moleküler agaroz 200 ml 0,5X TBE tamponu ile mikrodalga fırında ısıtıldı. Toz halde bulunan agaroz çözelti beherglas içinde şeffaf bir hale gelene kadar ısıtılarak ve ara ara karıştırıldı. Karışımın sıcaklığı 50°C'ye soğutulduktan sonra içerisine 8 µl etidyum bromür ilave edildi. Hazırlanan çözelti daha önceden steril edilen jel tepsisine baloncuk oluşmayacak şekilde homojen dağıtım yapılarak döküldü. Dökülen çözeltiye belli mesafede DNA yüklenebilmesi için gerekli kuyucukları oluşturması amacıyla tarak yerleştirildi. Soğutulan jelde baloncuk oluşmadığı tespit edilerek oda sıcaklığında katılaşıncaya kadar bekletilmiştir. Jel katı saydam haline olduktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı. Elektroforez tankının içine yeterli miktarda 0.5X TBE tampon çözeltisi eklendi. Daha sonra jel tepsisi tanka yerleştirilerek ve 2 - 3 saat DNA'ların yürümesi için bekletilmiştir.



Şekil 6. Araştırmada Kullanılan Malzemeler

3.3.5. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi

3µl PCR ürünü 3µlDNA jel yükleme boyası (Cleaver, DSI-Mdna 500 Bph DNA Loading Buffer) ile boyadıktan sonra oluşan 6µl'lik karışım agaroz jel içerisindeki kuyucuklara yüklenmiştir. İşlemi sonunda görüntülenecek olan bantların bp'ni saptamak için ilk ve son kuyucuğa 100 bp aralıklarla bant veren DNA marker yüklenmiş ve 120 V da 2-3 saat elektroforezde yürütülmüştür. Elde edilen spesifik DNA bantları jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir.



Şekil 7. Araştırmada Kullanılan Malzemeler 2

Kullanılan Cihaz, Ekipman ve Diğer Sarf Malzemeler

- ❖ Laminar akım kabini
- ❖ -80 °C derin dondurucu
- ❖ Hassas terazi
- ❖ Mikrodalga
- ❖ Isıtıcı manyetik karıştırıcı
- ❖ Thermal cycler
- ❖ Mikrosantrifüj (max 13.000 rpm / IEC)
- ❖ Isıtıcı blog
- ❖ Agaroz jel tepsi ve tarakları
- ❖ Elektroforez tankı
- ❖ Güç kaynağı (50-150 V)
- ❖ UV Transilluminator (Vilber Lourmat)
- ❖ Jel görüntüleme cihazı
- ❖ Tek kullanımlık filtreli uçlar (aralık; 0,5-10 µL; 2-20 µL; 100-1000 µL)
- ❖ Mikropipetler (aralık: 0,1-10 µL; 20-200 µL, 200-1000 µL)
- ❖ Tek kullanımlık steril özeler
- ❖ Tek kullanımlık steril petriler
- ❖ Ependorf tüpler (2 ml, 0,1 ml), mezür (1L, 500 ml), beher (250 ml, 500 ml)
- ❖ Otoklavlanabilir kapaklı cam şişeler (Schott şişe 1L, 500 ml)
- ❖ Etidyum Bromür
- ❖ DNA Jel Yükleme Boyası 6X
- ❖ DNA Moleküler Ağırlık Markırı (500bp)

4. BULGULAR

4.1. Hastalara Ait Özellikler

Selçuk Üniversite Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji labortuarından elde edilen 53 kan kültürü örneklerinin %62,26 (33) erkek, %37,73 (20)'i kadın hastalardan toplanmıştır. Bakteri en sık 60-75 (%35,86) yaş grubundaki hastalardan gönderilen kan kültürlerinden izole edilmiştir.

Tablo 7. Hastaların Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

Yaş	Kadın	Erkek	Toplam	Yüzde
0-6	3	3	6	11,32
18-45	2	9	11	20,75
46-59	1	2	3	5,66
60-75	7	12	19	35,86
>75	7	7	14	26,41
Toplam	20	33	53	100

Tablo 8. Hastaların Kliniklere Göre Dağılımı

Klinik	Sayı	%
Anestezi ve Reanimasyon	32	60,37
İç Hastalıkları Yoğun Bakım Servisi	6	11,32
Yenidoğan Yoğun Bakım Servisi	4	7,54
Genel Cerrahi Yoğun Bakım Servisi	3	5,66
Beyin ve Sinir Cerrahisi Yoğun Bakım Servisi	2	3,77
Çocuk Acil Polikliniği	1	1,89
Göğüs Hastalıkları Servisi	1	1,89
Kardiyoloji Yoğun Bakım Servisi	1	1,89
Tıbbi Onkoloji Servisi	1	1,89
Palyatif Bakım Merkezi	1	1,89
Nöroloji Yoğun Bakım Servisi	1	1,89
Toplam	53	100

Antibiyotik MİK Değerlerinin Değerlendirilmesi

Antibiyotikler hastane sisteminde alınıp, minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) hastalarda VITEK 2 sistemi (Biomérieux, Fransa) ile çalışıldı ve EUCAST tavsiyelerine göre yorumlandı.

Tablo 9. Antibiyotikler ve Hastaların Antibiyotiklere Karşı Gösterdiği Direnç/ Duyarlılık EUCAST 'e Göre Yorumlamaları

Hasta	AK MIC	CN MIC	IPM MIC	CT MIC	LEV MIC	MEM MIC	NET MIC	PRL MIC	TPZ MIC	CAZ MIC	SPX MIC	TGC MIC	TOB MIC	SXT MIC
H1	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 I	>=128 R	>=64 R	>=4 R	4 I	>=16 R	>=320 R
H2	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 I	>=128 I		>=4 R	4 S	>=16 R	>=320 R
H3	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 I	>=128 R	>=64 R	>=4 R	4 I	>=16 R	>=320 R
H4	<=2 S	<=1 S	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=8 R	<=1 S	>=128 R	>=128 R	32 R	>=4 R	1 S	<=1 S	<=20 S
H5	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=8 R	>=32 R	>=128 I	>=128 R	>=64 R	>=64 R	1 S	>=16 R	80 S
H6	<=2 S	<=1 S	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	<=1 S	>=128 I	>=128 R		>=4 R	<=0,5 S	<=1 S	<=20 S
H7	<=2 S	<=1 S	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	<=1 S	>=128 I	>=128 R	32 R	>=4 R	1 S	<=1 S	<=20 S
H8	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 R	>=128 R	32 R	>=4 R	4 I	>=16 R	>=320 R
H9	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	4 R	>=16 R	8 R	>=128 R	>=128 R	32 R	>=4 R	1 S	>=16 R	160 R
H10	<=2 S	<=1 S	<=0,25 S	2 S	0,25 S	<=0,25 S	<=1 S	16 I	<=4 S	8 S	0,5 I	<=0,5 S	<=1 S	<=20 S
H11	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 I	>=128 R	>=64 R	>=4 R	2 S	>=16 R	>=320 R
H12	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 I	>=128 R	>=64 R	>=4 R	4 I	>=16 R	>=320 R
H13	>=64 R	>=16 R	>=16 R	>=16 R	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 R	>=128 R	>=64 R	>=4 R	4 I	>=16 R	>=320 R
H14	<=2 S	<=1 S	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	<=1 S	>=128 R	>=128 R	32 R	>=4 R	2 S	<=1 S	<=20 S
H15	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 I	>=128 R	>=64 R	>=4 LLR	4 I	>=16 R	>=320 R
H16	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 I	>=128 R	>=64 R	>=4 R	4 I	>=16 R	>=320 R
H17	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 I	>=128 R	>=64 R	>=4 R	4 I	>=16 R	>=320 R
H18	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 I	>=128 R	>=64 R	>=4 R	4 I	>=16 R	>=320 R
H19	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	4 R	>=16 R	8 R	>=128 R	>=128 R	>=64 R	>=4 R	2 S	>=16 R	160 R
H20	<=2 S	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	8 R	>=128 R	>=128 R	>=64 R	>=4 R	4 I	<=1 S	>=320 R
H21	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 R	>=128 R	>=64 R	>=4 R	4 I	>=16 R	>=320 R
H22	>=8 S	<=2 S		<1 S	>2 R	>8 R					>1 R			
H23		<=2 S	>8 R	<=1 S	>2 R						>1 R			>16/4 R
H24	<=8 S	<=2 S	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			<=2/38 S

H25	>32 R	>8 R	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			>8/152 R
H26	>32 R	>8 R	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			>8/152 R
H27	<=8 S	<=2 S	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			<=2/38 S
H28	<=8 S	4 S	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			4/76 I
H29	<=8 S	<=2 S	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			<=2/38 S
H30	<=8 S	8 R	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			<=2/38 S
H31	<8 S	8 R	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			>8/152 R
H32	<=2 S	<=1 S	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	<=1 S		>=128 R	32 R	>=4 R	1 S	<=1 S	<=20 S
H33	<=8 S	4 S	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			<=2/38 S
H34	<=8 S	4 S	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			<=2/38 S
H35	16 R	>8 R	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			4/76 I
H36	<=8 S	<=2 S	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			<=2/38 S
H37	>32 R	>8 R	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			>8/152 R
H38	>32 R	>8 R	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			>8/152 R
H39	<=8 S	4 S	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			>8/152 R
H40	>32 R	>8 R	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			>8/152 R
H41	>32 R	>8 R	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			>8/152 R
H42	>32 R	>8 R	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			>8/152 R
H43	<=8 S	4 S	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			<=2/38 S
H44	<=8 S	<=2 S	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			<=2/38 S
H45	R	R	R	<=1 S	R	R					R			R
H46	>32 R	>8 R	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			>8/152 R
H47	S	S	>8 R		>2 R	>8 R					>1 R			R
H48	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 R	>=128 R	32 R	>=4 R	<=0,5 S	>=16 R	320 R
H49	>=64 R	>=16 R	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 I	>=128 I		>=4 R	4 I	>=16 R	320 R
H50	<=2 S	<=1 S	>=16 R	<=0,5 S	>=8 R	>=16 R	<=1 S	>=128 I	>=128 I		>=4 R	>=0,5 S	<=1 S	<=20 S
H51	>=64 R	>=16 R	>=16 R	>=16 R	>=8 R	>=16 R	>=32 R	>=128 I	>=128 I		>=4 R	4 I	>=16 R	320 R
H52	<=8 S	<=2 S	<=0,25 S	<=1 S	<=0,5 S	<=0,125 S					>0,06 S			<=2/38 S
H53	>32 R	>8 R	>8 R	<=1 S	>2 R	>8 R					>1 R			>8/152 R

*AK (Amikasin), CN (Gentamisin), IPM (Imipenem), CT (Kolistin), LEV (Levofloksasin), MEM (Meropenem), NET (Netilmisin), PRL (Pierasilin), TPZ (Tazobaktam / Pierasilin), CAZ (Seftazıdım), SPX (SiproFloKsasin),TGC (Tigesiklin), TOB (Tobramisin), SXT (Trimetoprim/Sülfametaksazol)

Tablo 10. Kullanılan Antibiyotiklerin 53 Hastada Oluşturduğu Direnç Yüzdeleri

Antibiyotikler	Hasta Sayısı, Dirençli (R) %Yüzde	Hasta Sayısı, Duyarlı (S) %Yüzde
İmipenem	50, (%94,33)	2, (%3,77)
Meropenem	50, (%94,33)	2, (%3,77)
Seftazidim	20, (%37,73)	1, (%1,86)
Gentamisin	32, (%60,37)	21, (%39,62)
Tobramisin	18, (%33,96)	8, (%15,09)
Siprofloksasin	52, (%98,11)	1, (%1,89)
Levofloksasin	51, (%96,22)	2, (%3,77)
Amikasin	29, (%54,71)	23, (%43,39)
Tigesiklin	13, (%24,53)	13, (%24,53)
Kolistin	2, (%3,77)	50, (%94,33)
Netilmisin	19, (%35,84)	7, (%13,20)
Piperprimasilin	25, (%47,16)	-
Piperasilin/Tazobaktam	25, (%47,16)	1, (%1,89)
Trimetoprim/Sülfametaksazol	34, (%64,14)	18, (%33,96)

*I (Orta duyarlı), R(Dirençli) olarak değerlendirilmiştir.

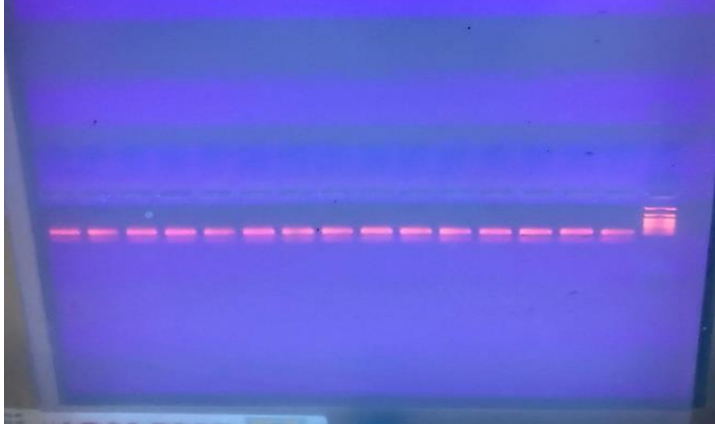
4.2. Moleküler Yöntemlerle Elde Edilen İdentifikasyon Bulguları

4.2.1. PCR Sonuçları

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nın kültür-besiyeri ekim yapıldığı çalışma alanında koyun kanlı agarda izole edilen bakteriler fenotipik ve biyokimyasal özelliklerine bakılarak yapılan DNA izolasyonu ile *A. baumannii* olarak tanımlanan 53 suş PCR yöntemi ile çalışıldı. Çalışmada bap geninin %1,89 oranı ile en düşük bulunan gen olurken, effluks gen bölgelerinden olan AdeA geni 53 hastanın hepsinde %100 oranında bulunmuştur. Diğer effluks genlerinin dağılımı şu şekildedir: AdeB %96,22, AdeC %45,28, AdeI geni %86,79, AdeJ %67,92, AdeK %98,11 ve AdeR %98,11. Quorum sensing genleri LuxI %41,51 oranında görülürken LuxR geni %47,17 oranında bulunmuştur.

Tablo 11. Virülans genlerinin dağılımı

Gen	53 hastada bulunan gen sayısı	%
Bap	1	1,89
LuxI	22	41,51
LuxR	25	47,17
AdeA	53	100
AdeB	51	96,22
AdeC	24	45,28
AdeI	46	86,79
AdeJ	36	67,92
AdeK	52	98,11
AdeR	52	98,11



Şekil 8. AdeA Geninin Elektroforez Jeline Pozitif Görünümü Fotoğrafi



5. TARTIŞMA

Son yıllarda, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.* yani kısaca ESKAPE olarak kısaltılan bu patojen bakteri türleri önemli nozokomiyal enfeksiyonlarının etkenidir. ESKAPE bakterilerinin yapılan kültürlerde görülme sıklığı artmakla beraber çoklu antibiyotik direnci oluşturarak enfeksiyonlardan korunmada, tedavi ve eradikasyonda ciddi zorluklara sebep oluşturmaktadır (Lee ve ark 2017).

A. baumannii'de çoklu ilaç direncinin hızla yayılması halk sağlığı için ciddi bir tehdit olmaktadır. *A. baumannii*'nin canlı (biyotik) ve cansız (abiyotik) yüzeylerde kolonize olma ve biyofilm oluşturma yeteneği, bakterinin hastada kronik ve kalıcı enfeksiyonlara, antibiyotik direncine, ayrıca hastane ortamlarında hayatta kalma ve hastane çalışanları ile birlikte diğer hastalara bakterinin taşınma, bulaşma transferinde katkıda bulunduğu saptanmıştır (Yang ve ark 2019).

Acinetobacter türleri düşük virülanslı patojenler olduğundan bağışıklık sistemi normal olan bireylerde enfeksiyon oluşturma olasılığı oldukça azdır. *A. baumannii* ile ilişkili birçok virülans faktörü tanımlanmıştır. Bu virülans faktörleri porinler, lipopolisakkaritler (LPS) , kapsüler polisakkaritler, fosfolipazlar(PL), protein sekresyon sistemleri, dış membran vezikülü (OMV), demir kazanımı mekanizmaları, penilisine bağlayıcı protein 7/8 (PBP7/8), pili/hareket yeteneği, hemolitik aktivite, biyofilm oluşturma, eflüks pompaları ve quorum sensing (QS) gibi kritik mekanizmalara etki ederek enfeksiyon patogeneğinde önemli rol oynamakta ve bakterinin olumsuz koşullarda hayatta kalmasını sağlamaktadır (Skariyachan ve ark 2019).

Bakteri biyofilm oluşturduğunda, mikroorganizma antibiyotiklere ve dezenfektanlara karşı çok daha dirençli hale gelmektedir. Antimikrobiyal direnç; sağlık harcamalarında ciddi artışa neden olmaktadır. *A. baumannii* enfeksiyonlarına bağlı olarak morbidite ve mortalite oranları da hızla yükselmekle birlikte endişe verici boyutlarda küresel bir tehdit oluşturmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde *Acinetobacter spp.* enfeksiyonlarının yıllık sayısı yaklaşık 45000 iken Dünya'da ise yaklaşık bir milyon vaka olduğu tahmin edilmektedir. Asya ve bazı Latin Amerika

lkelerinde, *A. baumannii*, nozokomiyal pnömoni ve bakteriyemiye neden olan ilk üç etkeninden birisidir (Wong ve ark 2017)

Gen varlığının diğer çevresel etmenlerden etkilendiğini gösteren çalışmalarda vardır. N -asil homoserin lakton (AHL), siderofor ve katekol üzerindeki demir-III sınırlamasının *A. baumannii* biyofilm oluşturan klinik suşlarının virülans faktörleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Düşük konsantrasyonlarda demir-III (20 µM) varlığında daha yüksek miktarda AHL (%70) tespit edilmiştir. Ayrıca, *luxI* ve *luxR* genlerinin izolatlarda yüksek AHL aktivitesi için her iki genin varlığının gerekli olduğunu göstermiştir. Hem AHL retimi hem de biyofilm oluşumunun doza bağlı bir şekilde demir konsantrasyonu tarafından düzenlendiği bulunmuştur. Gerçek zamanlı ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) ile *bap* ekspresyonunun analizi, test edilen bazı *A. baumannii* izolatlarının düşük demir konsantrasyonu (20 µM) varlığında dört kat *bap* aşırı ekspresyonuna sahip olduğunu gösterdi. Çalışmada *A. baumannii*'de biyofilm üretimini için tek faktörün demir olmadığı da vurgulanmış ama demirin biyofilm oluşumunda büyüme ortamı ve suş kimliğinden etkilendiğini araştırma sonucunda belirtilmiştir. qRT-PCR analizi, bazı izolatlarda, hem AdeABC hem de *luxI/R* ekspresyonunun, düşük demir (20 µM) varlığında dört kattan fazla arttığını göstererek, demirin hem akış pompası hem de QS sistemi üzerindeki ek düzenleyici rolünü ortaya koymuştur. Bulunan sonuçlarda %66 (*bap*), %92 (*AdeA*), %61,5 (*AdeB*), %84,6 (*AdeC*), %80 (*luxI*), %61 (*luxR*) olarak RND akış pompası, QS ve *bap* genlerinin varlığı tespit edilmiştir (Gentile ve ark 2014, Modarresi ve ark 2015).

Akış pompası inhibitörleri (EPI'ler), akış pompalarının enerji kaynağını önleyerek ve çeşitli parçaların etkileşimlerini önleyerek yaygın ilaçlara direnci artırabilen ajanlardır (Deng ve ark 2014). MDR izolatlarında karbonil siyanür m-klorofenil hidrazon (CCCP) etkisiyle siprofloksasin hücre dışına atılamamakta ve konsantrasyonunu artırmaktadır. CCCP'nin kinolon direncine katkısı, diğer sonuçlarla tutarlı olan CCCP eklendikten sonra tüm MDR izolatlarında siprofloksasin için MİK'nin azalmasının gözlemlenmesiyle kanıtlamıştır (Srinivasan ve ark 2009). Yapılan çalışmadaki izolatların %88'i CCCP'ye tepki göstermiş ve izolatların %12'si CCCP'ye ihmal edilebilir tepki göstermiştir, bu da taşıma sistemlerinin yukarı regülasyonunu göstererek ve ek direnç yollarının taşıma sistemleri aktivitesinin

kaybını telafi ettiği bulunmuştur. Bu sebeple izolatların siprofloksasine duyarlılığı hala düşük olarak gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmaya aynı zamanda EPI eklendiğinde %62 için MIC'nin iki ila dört kat önemli ölçüde azaldığını görölmüştür. CCCP'nin *A. baumannii* suşlarında MİK'yi iki ila dört kat azalttığı gösterilmiştir (Lin ve ark 2009, Ardebili ve ark 2014). Bir başka çalışmada, CCCP, tigesikline dirençli *A. baumannii* izolatlarında duyarlılığı gözlemlenmiştir (Deng ve ark 2014). Yapılan çalışmalara bakıldığında ve daha önce bildirilenler çalışmaları arasında bildirilen değerlerdeki farklılıklar, antibiyotik seçimlerindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Kullanılan antibiyotik dışında antibiyotik inhibitörleri ile sinerjik etki yapan maddeler de bu farklılıklara neden olabilmektedir. Bunların dışında çeşitli ölkelerdeki ilaç rejiminin farklılığından, izolatların sayısının farklılığı, tarama için kullanılan çeşitli antibiyotikler ve bu çalışmalarda kullanılan akış pompalarındaki genlerin aynı bakteride farklı suşlarda saptanmasından da kaynaklanabilmektedir.

A. baumannii bap (bap_{Ab}), biyofilm oluşumuyla ilişkili bir hücre yüzeyi proteindir. Bap'in tüm bu organizmalardaki ortak özellikleri, büyük boyutu, çoklu ardışık tekrarların varlığı, hücre yüzeyi konumu ve biyofilm oluşumundaki rolünü içermektedir. *A. baumannii*'nin sekanslanmış suşlarının çoğu bap geni taşımasına rağmen, birçok suşun bap kodlama sekanslarının yüksek oranda tekrarlayan genetik elemanlarında ortak olan rekombinasyon olaylarında oluşan sekans hizalama hataları veya kesilmiş bap sekanslarına sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bap geni oldukça karmaşık bir proteindir. MS1968 vaka suşunda kısmi bap dizilimi, bap'ın yaklaşık 16 kb büyüklüğünde büyük ve oldukça tekrarlayan bir gen dizilimleri olduğu bulunmuştur. Tam dizili açık okuma çerçevesi 25.863 bp ve tahmini kütlesi 854 kDa olan bir proteindir. Filogenetik analiz kullanılarak, MS1968 soyundan gelen bap'ınklonal kompleks 2 (CC2) suşları ACICU, TCDC-AB0715 ve 1656-2'den alınan bap sekansları, CC1 suşlarında bap geninin farklı olduğunu gözlemlenmiştir. Bap, pozitif suşun hücre yüzeyinde eksprese edilmektedir ve bunun biyofilm oluşumu ile ilişkili olduğunu kanıtlanmıştır ayrıca afinite ile saflaştırılmış antikörlerle inhibe edilebilmektedir. Bap her *A.baumannii* suşunda farklı olduğu, genetik diziliminin biyofilmin kalınlığı ve hacmini etkilediği bu çalışma sonucunda bulunmuştur. (Goh ve ark 2013).

154 *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturma yeteneği, antibiyotik direnci ve biyofilm ile ilişkili genlerinin korelasyonunu Tayvan'daki bir eğitim hastanesinden toplanan izolatlarda araştırılmıştır. Virölans genlerinin dağılımı (*bap*, *bla*_{PER-1}, *omp A* ve *csu E*), çoklu ilaca dirençli klinik *A. baumannii* izolatlarının biyofilm oluşumunda rol oynar. Araştırmada 154 izolattan klinik izolatların %15,6'sının zayıf biyofilm üreticisiyken, %32,5 orta ve %45,4'ünün güçlü biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğu keşfedilmiştir. *bap*, *bla*_{PER-1}, *csu E* ve *omp A* genlerin izole edilen suşların biyofilm oluşum oranı sırasıyla %79,2, %38,3, %91,6 ve %68,8 olarak araştırma sonuçlarında yer almıştır. *bap*, *bla*_{PER-1}, *omp A* ve *csu E* genlerini taşıyan suşlar, bu genleri olmayan izolatlardan daha güçlü biyofilm oluşturduğu sonucuna varılmıştır (Yang ve ark 2019).

Bir çalışmada ise 108 *Acinetobacter* türünden 86'sında (%79,7) *A.calcoaceticus-A. baumannii* (ACB) kompleksi görüldü. İzolatların 78'i (%72) çoklu ilaca dirençli, izolatların 34'ü (%31) genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz üreticisi ve izolatların sadece 10'u (%9,3) biyofilm üremiştir (Sharma ve ark 2019).

2016 yılında yayınlanmış olan Lihua Qi ve ark. tarafından Çin'de yapılan antibiyotik direnci ve biyofilm oluşumu arasındaki ilişkinin incelendiği çalışmada 272 klinik izolattan 249'unda biyofilm oluşumu gözlenmiş, duyarlı olan suşların, çok ilaca dirençli ve ekstrem ilaç dirençli suşlara oranla daha güçlü biyofilm oluşturdukları tespit edilmiştir (Qi ve ark 2016).

Acinetobacter türleri özellikle *A. baumannii*, pan ilaca dirençli (PDR), kapsamlı ilaca dirençli (XDR) ve çoklu ilaca dirençli (MDR) suşların artan sıklığı nedeniyle klinik olarak önemli bir nozokomiyal patojeni haline gelmiştir (Nowak ve ark 2016). Yapılan birçok çalışmalarda sefotaksim, sefepim, siprofloksasin, piperasilin-tazobaktam, seftazidim, imipenem ve meropenem karşı diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında benzer şekilde maksimum direnç görülmüştür (Owlia ve ark 2012, Cortivo ve ark 2015).

Tanımlanan ilk pompa olan AdeABC, aminoglikozidler, tetrasiklinler, florokinolonlar, kloramfenikol ve trimetoprim'e direnç sağlar (Magnet ve ark 2001) ve tigesikline duyarlılığı azaltır (Peleg ve ark 2007, Ruzin ve ark 2007). AdeFGH sisteminde substrat olarak kloramfenikol, klindamisin, florokinolonlar, trimetoprim,

tetrasiklinler, tigesiklin ve sülfonamid bulunur (Coyne ve ark 2010). AdeIJK, β -laktamlar, kloramfenikol, tetrasiklinler, eritromisin, florokinolonlar, fusidik asit, novobiyosin ve trimetoprim dışarı akar (Damier-Piolle ve ark 2008).

AdeABC, β -laktamlar, florokinolonlar, tetrasiklin (tigesiklin), makrolid (linamidler) ve kloramfenikol olmak üzere çeşitli substratlara sahiptir; aminoglikozitlerin klinik direncini verir. Bunlar arasında netilmisin ve gentamisin, dışa akış pompası AdeABC için en iyi substratlardır (Magnet ve ark 2001). AdeABC gibi efluks pompaları, ilaçları hedef alım bölgesinden uzağa atarak tigesiklinin direnç mekanizmalarında önemli bir rol oynar (Manchanda ve ark 2010, Singh ve ark 2013). Çalışmalar ayrıca AdeABC pompasının ilaç direnci üzerinde karbapenemler ve aminoglikozidazlarla sinerjik bir etkide olduğu gözlemlenmiştir (Yoon ve ark 2015). Çin'de yapılan bir çalışma, AdeABC dışa akış pompası genlerinin aşırı ekspresyonu ile düzenleyici genlerinde mutasyon olmaksızın *A. baumannii*'deki karbapenem (meropenem) direnci arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermiştir (Dou ve ark 2017). Meropenem, β -laktam antibiyotik ailesine aittir, sefoperazon-sulbaktam ise üçüncü kuşak sefalosporin ve β -laktamaz inhibitörünün bir türüdür. Meropenem, sefoperazon-sulbaktam ile birleştirildiğinde, bakterisidal etkilerini gerçekleştirerek farklı tipte penisilin bağlayıcı proteinlere bağlanabilirler. Aynı zamanda, sulbaktam β -laktamaz aktivitesini geri dönüşümsüz olarak inhibe edebilir. Bu, gözlemlenen sinerji için en olası açıklama olabilir. Hem Int1 hem de 16S ribozomal RNA metilazlarının mevcudiyetinin aminoglikozitlere direnç sağladığı kaydedilmiştir (Chen ve ark 2018).

AdeFGH akış pompasının aşırı ekspresyonu, biyofilm oluşumu sırasında QS moleküllerinin sentezi ve taşınmasında potansiyel bir role sahiptir. He ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada otoindükleyici sentaz geni (*abaI*), akış pompası kodlayan genler (*AdeB* , *AdeG* ve *AdeJ*) ve dış zar proteini kodlayan genlerin (*carO* ve *ompA*) etkisi araştırılmıştır. Bu genler arasında, *abaI* , *AdeG* , *AdeJ* ve *ompA*'nın tüm suşlarda mevcut olduğu belirlenirken, *AdeB* ve *carO*'nun sadece A-II ve A-IV tipi suşlarda bulunduğu belirlenmiştir. Sonuçlar, *abaI* geninin ve planktonik hücrelerden biyofilm hücrelerine geçiş sırasında biyofilm oluşumunun artması, *A. baumannii*'da QS ile biyofilm oluşumu arasında bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir. Bu çalışmada, A-IV-tipi *A.*

baumannii'de biyofilm oluşumuyla AdeB ve AdeG yukarı regülasyonu arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermektedir ve A-III-tipi şuşta oluşan biyofilmlerde AdeG'nin regülasyonu arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Özellikle, en kapsamlı biyofilm indüksiyonu, *A. baumannii* şuşlarında abaI ve AdeG'nin tutarlı yukarı regülasyonu ile kombinasyon halinde gözlemlenmiştir. Dolayısıyla *A. baumannii* AdeFGH ve abaI'nin birleşik yukarı regülasyonunun *A. baumannii* tarafından biyofilmlerin gelişimi üzerinde potansiyel bir etkisi olduğunu çalışma sonuçlarında bulunmuştur. Muhtemelen, AdeFGH'nin aşırı ekspresyonu, biyofilm oluşumu sırasında asillenmiş homoserin laktonların (AHL'ler) sentezini ve taşınmasını hızlandırır (He ve ark 2015). Kvist ve ark. yapmış olduğu bir başka çalışmada çoklu ilaç akış pompalarının ilaç direncinde, hücre bölünmesinde, patojenitede ve yakın tarihli bir raporda QS sinyal salgılanmasında merkezi bir rolü olduğu bildirilerek bu görüş desteklenmiştir (Kvist ve ark 2008).

İnsanlardan izole edilen *A. baumannii*'de AdeF, AdeG ve AdeH ilaç akış pompaları genlerinin çok yaygın olduğu belirten araştırmalar bulunmaktadır (Sun ve ark 2014). *A. baumannii* izolatlarının yaklaşık %90'ı, mevcut çalışmaya benzer şekilde AdeFGH operonuna sahiptir (Coyne ve ark 2010). Birkaç antimikrobiyal ajana direnç, kısmen AdeFGH operonu ile ilişkili olabilmektedir. Florokinolonlara ve tigesikline direnç, muhtemelen AdeFGH'nin *A. baumannii*'de yukarı regülasyonuna neden olmaktadır (Coyne ve ark 2010). Önceden yapılmış olan bir çalışmada toplanan 50 dirençli izolattan % 77,27'si AdeG ekspresyonunun arttığını görülmüştür. *A. baumannii*'nin 14 ÇİD klinik izolatının % 57.14'ünün AdeG ekspresyonunda artış olduğu gözlemlenmiştir. AdeG'nin aşırı ekspresyonunun *A. baumannii*'nin patojenitesi ile ilişkili olduğu Yoon ve ark. yapmış olduğu çalışmada vurgulanmıştır (Yoon ve ark 2013). Bir başka çalışmada, florokinolon *A. baumannii* şuşlarının % 77.77'si AdeF'nin aşırı ekspresyonunu göstermiştir (Costello ve ark 2016). Genel olarak çalışmalara bakıldığında AdeF'nin gen ifade oranı, AdeA ve AdeI genleri ile karşılaştırıldığında, tüm XDR *A. baumannii* izolatlarında çok daha düşük ve hiçbir izolat AdeF genini aşırı ifade etmedi bulunmuştur (Sun ve ark 2014).

Acinetobacter baumannii AdeABC akış pompası içinde, dirençle ilişkili en önemli gen AdeB 'dir (Yoon ve ark 2016). Yapılan çalışmalarda PCR amplifikasyonu, AdeB saptama oranının klinik izolatlarda en yüksek olduğunu göstermiştir. Zarrili ve

ark. yapmış olduğu çalışmada AdeB, *A. baumannii* suşları üzerinde en büyük temsile sahipken (%80), AdeA ve AdeC sırasıyla %42 ve %40 oranında bulunmuştur (Zarrilli ve ark 2013). Yapılan diğerk çalışmalarda AdeB geni klinik olarak izole edilen tüm suşlarda bulunurken, benzer çalışmalarda bu oran sadece %70 ila %75 olarak gözlemlenmiştir (Wieczorek ve ark 2013). Bu araştırmalara rağmen, AdeA'nın klinik olarak izole edilmiş suşlarda en yüksek oranlarda görüldüğü rapor eden araştırmalarda vardır. Yapılan tüm çalışmalarda AdeC saptama oranı en düşük bulunmuştur (Modarresi ve ark 2015).Yapılan çalışmalara bakıldığında AdeC pozitif şuşların ve AdeC negatif suşların karşılaştırıldığında, AdeC pozitif olan grubun çalışmada altı antibiyotiğe de daha fazla suş direncine sahip olduğuda belirtilmiştir (Wieczorek ve ark 2013).

İran, 2016 yılında Tahran'daki iki hastaneden 79 *A. baumannii* suşu izole edilmiştir. AdeABC genlerinin sıklığını ve eritromisin, trimetoprim, meropenem ve imipenem'e karşı antibiyotik direncini araştırmak amacıyla bu çalışma yapılmıştır. *A. baumannii* izolatları arasında en yüksek ve en düşük direnç sırasıyla trimetoprim (%93) ve eritromisin (%53) olarak ölçülmüştür. AdeA, AdeB ve AdeC genlerinin sıklığı sırasıyla %96,2, %96,2 ve %91,1 olarak bulunmuştur. İmipenem direnci ile efluks pompası genlerinin varlığı arasında anlamlı bir ilişki vardı ($P < 0.05$) (Ranjbar ve ark 2020)

Selçuk Üniveristesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2011 yılında yapılan bir araştırmada, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2008-2009 yıllarında kan kültürlerinde üreyen 224 *A. baumannii* izolatu çalışmaya alınmıştır. Suşlarda kolistine direnç saptanmamış, amikasin % 59, tetrasikline % 67, imipenem, sefoperazon-sulbaktam ve siprofloksasine % 75, gentamisine % 79, seftazidime % 80, piperasilin-tazobaktam % 81, sefepime % 86 ve sefotaksime % 96 oranında direnç saptanmıştır. Kolistin ve amikasinin diğerk antibiyotiklere göre daha etkili olduğu belirlenmiştir (Türk Dagi ve ark 2011). Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2011 yılında yapılan araştırma ile şimdiki yapılan çalışmanın antibiyotik oranları karşılaştırıldığında antibiyotik direnci arttığı özellikle kolistin direncinin artışı dikkat çekmektedir. 224 hastada kolistin direnci 2008-2009 yıllarında kan kültürlerinde antibiyotik direnci hiç gözlemlenmemişken, 2019-2021 yılları arasında 53 hastanın

%3,77'sinde direnç gözlemlenmiştir. Ayrıca 2008-2009 yılında amikasin 224 hastada %59 iken 2019-2021 yılında 53 hastada %54,71 olması, gentamisin 224 hastada %79 iken 53 hastada %60,57 görülmesi genel olarak aminoglikozid antibiyotiklere direncin artması kanıtlamaktadır. Artan antibiyotik direnç oranlarıyla birlikte PCR da gözlenen efflux pompa akış genlerinin yüksek oranda çıkması yapılan birçok araştırmadaki anlamlılığını da vurgulamaktadır.

Tablo 12. Konya İlinde Kan Kültürlerinden İzole Edilen *A. baumannii*'nin Yıllara Oranla Antibiyotik Direnç Yüzdeleri

2008-2009 Yıllarında 224 Hastada Antibiyotik Direnci ve Yüzdesi		2019-2021 Yıllarında 53 Hastada Antibiyotik Direnci ve Yüzdesi	
Amikasin	% 59	Amikasin	%54,71
İmipenem	% 75	İmipenem	%94,33
Siprofloksasine	% 75	Siprofloksasine	%98,11
Gentamisine	% 79	Gentamisine	% 60,37
Seftazidime	% 80	Seftazidime	% 37,73
Piperasilin-Tazobaktama	% 81	Piperasilin-Tazobaktama	% 47,16
Kolistin	-	Kolistin	%3,57

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın yapmış olduğu çalışmada 388 izolatın % 46,4'ü solunum yolu, % 26,8'i kan kültürü, % 11,8'i idrar, % 9,5'i yara örneklerinden *A. baumannii* izole edilerek üretilmiştir. Örneklerin % 78'i yoğun bakımlardan, % 15'i servislerden % 9,4 dahili servis, % 5,6 cerrahi servis, % 7'si yanık ünitesinden izole edilmiştir. *A. baumannii* suşlarında duyarlılığa ilişkin 2006 yılında yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar ile 2018 yılındaki çalışma sonuçları karşılaştırıldığında aminoglikozid grubu antibiyotiklerden amikasin direncinin % 59'dan % 83'e; karbapenem grubu antibiyotiklerden imipenem direncinin % 24'ten % 95'e, meropenem direncinin % 25'ten % 93'e; kinolon grubu antibiyotiklerden siprofloksasin direncinin ise % 82'den % 84'e çıktığı görülmektedir. Özellikle karbapenem grubuna zaman içindeki direnç artışı dikkat çekmektedir. İki farklı zamanda yapılan bu iki çalışmada ortak antibiyotikler karşılaştırılırken suşların duyarlı/ dirençli olduğu antibiyotiklerin uluslararası standartları kendi yıllarına göre referans alınarak yorumlanmıştır. Amikasin, gentamisin, imipenem ve meropenem direnç oranlarındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Uzuner ve ark 2020).

Tablo 13. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın 2006 Ve 2018 Yıllarında İzole Edilen *A. baumannii* Suşlarının Direnç Oranlarının Karşılaştırılması [N (%)] (Uzuner ve ark 2020)

	2006	2018
Antibiyotikler	Dirençli ve(%)	Dirençli ve(%)
Amikasin	40 (59)	323 (83,2)
Gentamisin	59 (87)	318 (81,9)
Siprofloksasin	56 (82)	365 (94,5)
İmipenem	16 (24)	368 (95)
Meropenem	17 (25)	361 (93,5)
Trimetoprim/sülfametoksazol	53 (78)	249 (64,3)

Türkiye' de yıllara göre yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, 2019-2021 yılında 53 hastadaki çalışmamızda aminoglikozid grubu antibiyotiklerden amikasine %54,71 ve gentamisine % 60,37 oranında direnç tespit edilmiştir. 2011 yılında 224 hastada amikasine %59 ve gentamisine %75 (Turk Dagi ve ark 2011); 2014'te 385 hastada amikasine % 44 ve gentamisine % 84 (Sargin Altunok ve Koc 2014); 2017'de MDR dirençli 40 hastada amikasine % 75 ve gentamisine % 85 (Alada ve ark 2017) ve 2018'de 104 hastada amikasine % 75 ve gentamisine % 80,8 (Şay Coşkun 2018) direnç oranları tespit edilmiştir. Çalışmalardaki sonuçlara bakıldığında ülkemiz genelinde görüldüğü gibi yıllar içerisindeki aminoglikozid grubu antibiyotiklerdeki direnç artışı dikkat çekmektedir.

Yapılan birçok çalışmaya bakıldığında hem ülkemizde hem yurtdışında *A.baumannii* için artan anitibiyotik direnç oranı ile effluks pompa genlerinin artması paralel gözlemlenmektedir. Bu nedenle genlerin antibiyotik direnciyle artması effluks pompa akış kanallarının işlevi ve önemi üzerindeki etkisini vurgulamaktadır. Artan antibiyotik direnç ile bakterinin savunma akış pompa sistemi mekanizması, bakterinin hayatta kalma stratejisinde kullandığı virülans faktörlerinin etkisi vurgulayarak, genetik kazanımları, bakteri topluluğu olarak biyofilm oluşturarak ve her bir bakteri arasında iletişimi sağlayarak çalışmamızda araştırılan virülans faktörlerinin bakterinin patojenik başarısından tek başına sorumlu olmadığı gözlemlenmiştir. Bu durum bize *A. baumannii*'nin virulansında multifaktöryel ve kombine bir stratejinin rol oynadığını göstermektedir. *A. baumannii* farklı ortamlara uyum sağlama yeteneği ile donatılan virülans faktörlerinin zenginliği ve kullanım alanının geniş olması iyi bir strateji

özelliğini vurgulamaktadır. Bakteri insan konağına adaptasyon sağlamak için muhtemelen virulans ve direnç faktörlerinin farklı kombinasyonları kullanmaktadır. Hastane ve beşeri kaynaklarında etkisinin olduğu düşünülse de biyofilm oluşum mekanizmasının altında yer alan birçok gen varlığı ve çevresel etmenlerin oluşturduğu kombine durum bap geninin 53 hastamızda bir tanesinde çıkması durumunu düşündürmektedir. Biyofilm gen sayısının az bulunmasındaki ana nedenlerden biri virülans faktörlerinin birbiri ile etkileşimidir. Biyofilm oluşum durumunun ve genetik diğer genler ile çevresel etmenlerin ülkemiz ve küresel anlamda araştırılması gereken önemli konulardan biri olacaktır. Antibiyotik direnç konusunda yapılan birçok araştırmada görüldüğü gibi, hastanede kullanılan antibiyotikler effluks pompa sisteminde kullanılan substratlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu da effluks direnç genleri ile antibiyotik direnç oranlarındaki artışı anlamlandırmaktadır.

Selçuk Üniveristesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yaptığımız 53 hastada yapılan araştırma sonuçlarına bakıldığında PCR 'da yapılan genetik bölgelerin varlığı bugüne kadar yapılmış literatürler ile karşılaştırıldığında oranların anlamlı olduğu görülmektedir. Araştırma sonucunda 53 hastanın sadece birinde biyofilm varlığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen verilerin; hastanemizde yer alan hastaların kan kültüründe rastlanılan *Acinetobacter baumannii* biyofilmle ilgili bap geninin %1,89 oranı ile en düşük bulunan gen olurken, effluks gen bölgelerinden olan AdeA geni 53 hastanın hepsinde %100 oranında bulunmuştur. Diğer effluks genlerinin dağılımı şu şekildedir: AdeB %96.22, AdeC %45.28, AdeI geni %86.79, AdeJ %67.92, AdeK %98.11 ve AdeR %98.11. Quorum sensing genleri LuxI %41,51 oranında görülürken LuxR geni %47,17 oranında bulunmuştur. Antibiyotik direnç oranları da şu şekildedir; İmipenem %94,33, Seftazidim %37,73, Gentamisin %60,37, Siprofloksasin %98,11, Amikasin%54,71, Kolistin%3,77 ve Piperasilin/Tazobaktam %47,16 bulunmuştur. Tablo 14. de bugüne kadar yapılan hem ülkemizdeki hem yurtdışındaki sonuçların karşılaştırılmasına bakıldığında artan gen prevelansı ile artan antibiyotik direnç oranının yapılan birçok çalışmada benzer gen-direnç oranlarına paralellikte artan değerler olduğu görülmektedir.

Tablo14. 2019-2021 Yıllarında Yaptığımız Çalışma Antibiyotik Ve Direnç Genlerinin Yüzdelik Olarak Oranlarının Karşılaştırılması

Genler	53 Hastada Bulunan %Oranlar	Antibiyotik	53 Hastada Bulununan % Oranlar
AdeA	100	Amikasin	%54,71
AdeB	96,22	İmipenem	%94,33
AdeC	45,28	Siprofloksasin	%98,11
AdeI	86,79	Gentamisine	% 60,37
AdeJ	67,92	Seftazidime	% 37,73
AdeK	98,11	Piperasilin- Tazobaktama	% 47,16
AdeR	98,11	Kolistin	%3,57

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Selçuk Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 2019-2021 yılları aralığında gelen kan kültüründen izole edilerek DNA hidrilizasyonu yapılan 53 hastada bulunan *A.baumannii*'de virülans faktörleri olan effluks genlerinin (AdeA, AdeB, AdeC, AdeI, AdeJ, AdeK ve AdeR), quorum sensing (QS) genlerinin (LuxI ve LuxR) ve biyofilm (bap) gen bölgeleri araştırılmıştır. Bu çalışmada çeşitli kliniklerden gönderilen kan kültüründen elde edilen örneklerden izole edilen *Acinetobacter* spp. suşlarının sıklığı genotipik olarak araştırılmıştır. Hastanenin farklı klinik, farklı yaş gruplarından oluşan 53 hastada *Acinetobacter baumannii* bakterisinin quorum sensing (QS), biyofilm ve effluks genlerin var olduğu gen sekansları belli olan ticari kitler ile PCR ile tanımlaması yapılmıştır. Çalışma sonucunda *Acinetobacter* spp. orta yaş üstündeki bireylerde daha sık görüldüğü tespit edilmiştir. Kan kültürlerinde *Acinetobacter baumannii*'nin görülme oranı diğer mikroorganizmalara göre daha az görülmektedir. Çalışmamızda analiz edilen genlerinin prevalans oranları Türkiye ve yurt dışında yapılan çalışmaların sonuçlarına bakıldığında genel olarak yakın sonuçlar elde edilmiştir fakat biyofilm bap geninin prevalansının düşük olduğu görülmüştür. Bu durum, gelen hastaların farklı zaman dilimlerinde ve hastanenin farklı kliniklerinde yer alması nedeniyle hastalar arası temas oranının düşük olmasıyla genetik alışverişin olmaması, biyofilm oluşmasına neden olan olumsuz ortamın olmaması, hastane personellerin bilinçli olması, hastanenin gerekli steril ve hijyenik koşullara sahip olması önemli bir etken olmakla beraber bakterinin biyofilm oluşumu için gerekli genetik, çevresel ve bakteriyel iletişim ağı olan QS haberleşme etmenlerin yeterli düzeyde olmaması da nedenleri arasında gösterilebilmektedir.

Ülkemizde *Acinetobacter*'in effluks pompası ve quorum sensing faktörlerinin araştırılması ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. İlerde yapılacak olan çalışmalarda virülans faktörleri ve virülans faktörlerini etkileyen genlerin dağılımı, bu genler ile diğer genlerin olup olmaması ayrıca olan genlerin genetik dizilimlerinin her şuşta aynı yapıda olup olmaması, bakteri üremesi ve gelişmesini etkileyen mikroelementlerin konsantrasyon varlığının önemini kapsayan bu gibi bir çok etkenli geniş spektrumlu çalışmalar *Acinetobacter baumannii*'nin daha da ayrıntılı araştırılmasında katkıda bulunacaktır. *A.baumannii* 'nin bu kadar geniş spektrumlu virülans faktörlerinin olması ve bu faktörlerin çevreyle, konakla etkileşimlerinin

sonucunda savunma mekanizmasını çözmek, her geçen gün Dünya literatürünün değişmesi, kullanılan tedavilerin değişmesi, ülkelerin bilinçli sosyoekonomik durumlarının değişmesi gibi birçok etkene bağlı olması da araştırmalarda sorun olmaktadır. Bilimsel olarak yapılan ve yapılacak olan her çalışmanın yeni bilgiler eşliğinde çözümler sunmasıyla hastane kökenli bağışıklığı düşük insanlarda ölümcül etkisi olan bu bakterinin virülans faktörlerini daha da ayrıntılı bilgiler ile ölüm oranlarında azalmalar olacağını, tedavide farklı yollar oluşacağına umut olmaktadır. Yaptığımız bu çalışma sonucunda bulunan verilerin *Acinetobacter* spp. ile gelişen enfeksiyonların epidemiyolojisi ve patogeneze yönelik yapılacak olan diğer çalışmalara katkıda bulunacaktır.

Virülans kontrol edilebilirse konak immün sistemi antimikrobiyal ajanlara gerek kalmadan enfeksiyonun üstesinden gelebilecektir. Bunun mümkün olmadığı durumlarda ise anti-virülans tedaviler geleneksel antimikrobiyal ajanlarla birlikte kullanılarak sinerjistik etki oluşturulacak ve antibiyotiklerin kullanımı azaltılarak, bu ajanlara karşı direnç gelişimi de önlenmiş olacaktır. *A. baumannii*'nin önemli bir insan patojeni haline gelmesine yol açan bu evrimsel süreci tam olarak anlayabilmek için, virülans faktörlerinin rolleri daha fazla çalışmalar yapılarak aydınlatılmalıdır. *A. baumannii*'nin genomu göz önüne alarak yapılan etkileşim içinde olduğu her bir stratejik yollar daha da çok incelenerek ve araştırmalar yapılarak gerek ülkemiz gerek global anlamda insan sağlığı başta olmak üzere toplumsal kaynaklı enfeksiyonların önüne geçilebilir. Direnç mekanizmalarının iyi bilinmesi yeni üretilecek olan antibiyotik ya da tedavi seçeneklerinin daha iyi uygulanması ve araştırılmasında rehberlik edecektir. Bu bakterinin sebep olduğu ölüm oranlarının en aza indirilmesinde toplum sağlığı ve refahı için diğer bir önemli etkidir. Bu gibi çalışmaların daha fazla olması hem ülke literatürüne katkı sağlayacak hem de *Acinetobacter* türlerinin dirençli olmasında katkı sağlayan genlerin daha iyi anlaşılmasını sağlayarak uygulanacak olan tedavi etkili seçilmesine ve daha az maliyet ile ekonomik olan sorunun giderildiği gibi, küresel bir etkiye sahip olan direncin azalmasına olanak sağlayabilir.

7. KAYNAKÇA

- Abbott I, Cerqueira GM, Bhuiyan S, Peleg AY, 2013. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: laboratory challenges, mechanistic insights and therapeutic strategies. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 11, 4, 395-409.
- Abdi SN, Ghotaslou R, Ganbarov K, Mobed A, Tanomand A, Yousefi M, Asgharzadeh M, Kafil HS, 2020. *Acinetobacter baumannii* Efflux Pumps and Antibiotic Resistance. *Infect Drug Resist*, 13, 423-34.
- Acinetobacter* Go, 2021.
- Aires JR, Nikaido H, 2005. Aminoglycosides are captured from both periplasm and cytoplasm by the AcrD multidrug efflux transporter of *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 187, 6, 1923-9.
- Al Atrouni A, Joly-Guillou ML, Hamze M, Kempf M, 2016. Reservoirs of Non-*baumannii* *Acinetobacter* Species. *Front Microbiol*, 7, 49.
- Alada DM, Altoparlak Ü, Coşkun MV, 2017. Investigation of in vitro Effects of Various Antibiotic Combinations Against *Acinetobacter* Species. *Ankem Dergisi*.
- Alav I, Sutton JM, Rahman KM, 2018. Role of bacterial efflux pumps in biofilm formation. *J Antimicrob Chemother*, 73, 8, 2003-20.
- Algburi A, Comito N, Kashtanov D, Dicks LMT, Chikindas ML, 2017. Control of Biofilm Formation: Antibiotics and Beyond. *Appl Environ Microbiol*, 83, 3.
- Aljindan R, Alsamman K, Elhadi N, 2018. ERIC-PCR Genotyping of *Acinetobacter baumannii* Isolated from Different Clinical Specimens. *Saudi J Med Med Sci*, 6, 1, 13-7.
- Allen HK, Donato J, Wang HH, Cloud-Hansen KA, Davies J, Handelsman J, 2010. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nat Rev Microbiol*, 8, 4, 251-9.
- Almasaudi SB, 2018. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. *Saudi J Biol Sci*, 25, 3, 586-96.
- Altinok O, Boral B, Ergin A, Eser OK, 2020. [Existence of Biofilm and Biofilm-Associated Virulence Genes in Multi-Drug Resistant Invasive *Acinetobacter baumannii* Isolates]. *Mikrobiyol Bul*, 54, 1, 40-9.
- An S, Wu J, Zhang LH, 2010. Modulation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm dispersal by a cyclic-Di-GMP phosphodiesterase with a putative hypoxia-sensing domain. *Appl Environ Microbiol*, 76, 24, 8160-73.
- Antunes LC, Imperi F, Carattoli A, Visca P, 2011. Deciphering the multifactorial nature of *Acinetobacter baumannii* pathogenicity. *PLoS One*, 6, 8, e22674.
- Ardebili A, Talebi M, Azimi L, Rastegar Lari A, 2014. Effect of Efflux Pump Inhibitor Carbonyl Cyanide 3-Chlorophenylhydrazone on the Minimum Inhibitory Concentration of Ciprofloxacin in *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. *Jundishapur J Microbiol*, 7, 1, e8691.
- Asik G, 2011. [Current approaches to explain the virulence of *Acinetobacter baumannii*]. *Mikrobiyol Bul*, 45, 2, 371-80.
- Bahar İH EN, 2008. *Acinetobacter* türleri ve diğer gram negatif nonfermentatif basiller, istanbul, Nobel Tıp Kitabevi, p. 2195-2201.
- Bardbari AM, Arabestani MR, Karami M, Keramat F, Alikhani MY, Bagheri KP, 2017. Correlation between ability of biofilm formation with their responsible genes and

- MDR patterns in clinical and environmental *Acinetobacter baumannii* isolates. *Microb Pathog*, 108, 122-8.
- Barker J, Maxted H, 1975. Observations on the growth and movement of *Acinetobacter* on semi-solid media. *J Med Microbiol*, 8, 3, 443-6.
- Bartual SG, Seifert H, Hippler C, Luzon MA, Wisplinghoff H, Rodriguez-Valera F, 2005. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*, 43, 9, 4382-90.
- Baumann P, 1968. Isolation of *Acinetobacter* from soil and water. *J Bacteriol*, 96, 1, 39-42.
- Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY, 1968. A study of the *Moraxella* group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*). *J Bacteriol*, 95, 5, 1520-41.
- Bellmann-Sickert K, Stone TA, Poulsen BE, Deber CM, 2015. Efflux by small multidrug resistance proteins is inhibited by membrane-interactive helix-stapled peptides. *J Biol Chem*, 290, 3, 1752-9.
- Bergogne-Berezin E, Towner KJ, 1996. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev*, 9, 2, 148-65.
- Berne C, Ducret A, Hardy GG, Brun YV, 2015. Adhesins Involved in Attachment to Abiotic Surfaces by Gram-Negative Bacteria. *Microbiol Spectr*, 3, 4.
- Berrin ESEN AG, 2020. ACINETOBACTER CALCOACETICUS- ACINETOBACTER BAUMANNII COMPLEX (ABC) VE YENİ TÜRLERİ. *Kocatepe Tıp Dergisi*
Kocatepe Medical Journal
21:211-216 / Nisan/ 2020
- Bhargava N, Sharma P, Capalash N, 2010. Quorum sensing in *Acinetobacter*: an emerging pathogen. *Crit Rev Microbiol*, 36, 4, 349-60.
- Bhargava N, Sharma P, Capalash N, 2014. Pyocyanin stimulates quorum sensing-mediated tolerance to oxidative stress and increases persister cell populations in *Acinetobacter baumannii*. *Infect Immun*, 82, 8, 3417-25.
- Bialvaei AZ, Kafil HS, Asgharzadeh M, Yousef Memar M, Yousefi M, 2016. Current methods for the identification of carbapenemases. *J Chemother*, 28, 1, 1-19.
- Bitrian M, Solari CM, Gonzalez RH, Nudel CB, 2012. Identification of virulence markers in clinically relevant strains of *Acinetobacter* genospecies. *Int Microbiol*, 15, 2, 79-88.
- Bjarnsholt T, Alhede M, Alhede M, Eickhardt-Sorensen SR, Moser C, Kuhl M, Jensen PO, Hoiby N, 2013. The in vivo biofilm. *Trends Microbiol*, 21, 9, 466-74.
- Blair JM, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJ, 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol*, 13, 1, 42-51.
- Blanchard C, Barnett P, Perlmutter J, Dunman PM, 2014. Identification of *Acinetobacter baumannii* serum-associated antibiotic efflux pump inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother*, 58, 11, 6360-70.
- Blanco N, Harris AD, Rock C, Johnson JK, Pineles L, Bonomo RA, Srinivasan A, Pettigrew MM, Thom KA, the CDCEP, 2018. Risk Factors and Outcomes Associated with Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* upon Intensive Care Unit Admission. *Antimicrob Agents Chemother*, 62, 1.
- Boll JM, Tucker AT, Klein DR, Beltran AM, Brodbelt JS, Davies BW, Trent MS, 2015. Reinforcing Lipid A Acylation on the Cell Surface of *Acinetobacter baumannii*

- Promotes Cationic Antimicrobial Peptide Resistance and Desiccation Survival. *mBio*, 6, 3, e00478-15.
- Bonnichsen L, Bygvraa Svenningsen N, Rybtke M, de Bruijn I, Raaijmakers JM, Tolker-Nielsen T, Nybroe O, 2015. Lipopeptide biosurfactant viscosin enhances dispersal of *Pseudomonas fluorescens* SBW25 biofilms. *Microbiology (Reading)*, 161, 12, 2289-97.
- Bouvet PJ, Grimont PA, 1987. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Ann Inst Pasteur Microbiol*, 138, 5, 569-78.
- Bouvet PJ, Jeanjean S, 1989. Delineation of new proteolytic genomic species in the genus *Acinetobacter*. *Res Microbiol*, 140, 4-5, 291-9.
- Brisou J, Prevot AR, 1954. [Studies on bacterial taxonomy. X. The revision of species under *Acromobacter* group]. *Ann Inst Pasteur (Paris)*, 86, 6, 722-8.
- Brown NG, Horton LB, Huang W, Vongpunsawad S, Palzkill T, 2011. Analysis of the functional contributions of Asn233 in metallo-beta-lactamase IMP-1. *Antimicrob Agents Chemother*, 55, 12, 5696-702.
- Butaye P, Cloeckaert A, Schwarz S, 2003. Mobile genes coding for efflux-mediated antimicrobial resistance in Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents*, 22, 3, 205-10.
- Campos M, Cisneros DA, Nivaskumar M, Francetic O, 2013. The type II secretion system - a dynamic fiber assembly nanomachine. *Res Microbiol*, 164, 6, 545-55.
- Carruthers MD, Nicholson PA, Tracy EN, Munson RS, Jr., 2013. *Acinetobacter baumannii* utilizes a type VI secretion system for bacterial competition. *PLoS One*, 8, 3, e59388.
- Chapartegui-Gonzalez I, Lazaro-Diez M, Bravo Z, Navas J, Icardo JM, Ramos-Vivas J, 2018. *Acinetobacter baumannii* maintains its virulence after long-time starvation. *PLoS One*, 13, 8, e0201961.
- Chastre J, 2003. Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU. *Semin Respir Crit Care Med*, 24, 1, 69-78.
- Chen F, Wang L, Wang M, Xie Y, Xia X, Li X, Liu Y, Cao W, Zhang T, Li P, Yang M, 2018. Genetic characterization and in vitro activity of antimicrobial combinations of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* from a general hospital in China. *Oncol Lett*, 15, 2, 2305-15.
- Chen H, Cao J, Zhou C, Liu H, Zhang X, Zhou T, 2017. Biofilm Formation Restrained by Subinhibitory Concentrations of Tigecyclin in *Acinetobacter baumannii* Is Associated with Downregulation of Efflux Pumps. *Chemotherapy*, 62, 2, 128-33.
- Chin CY, Gregg KA, Napier BA, Ernst RK, Weiss DS, 2015. A PmrB-Regulated Deacetylase Required for Lipid A Modification and Polymyxin Resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 59, 12, 7911-4.
- Choi AH, Slamti L, Avci FY, Pier GB, Maira-Litran T, 2009. The pgaABCD locus of *Acinetobacter baumannii* encodes the production of poly-beta-1-6-N-acetylglucosamine, which is critical for biofilm formation. *J Bacteriol*, 191, 19, 5953-63.
- Choi CH, Lee EY, Lee YC, Park TI, Kim HJ, Hyun SH, Kim SA, Lee SK, Lee JC, 2005. Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. *Cell Microbiol*, 7, 8, 1127-38.
- Choi CH, Lee JS, Lee YC, Park TI, Lee JC, 2008. *Acinetobacter baumannii* invades epithelial cells and outer membrane protein A mediates interactions with epithelial cells. *BMC Microbiol*, 8, 216.

- Chung YJ, Saier MH, Jr., 2001. SMR-type multidrug resistance pumps. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 4, 2, 237-45.
- Chusri S, Chongsuvivatwong V, Rivera JJ, Silpapojakul K, Singkhamanan K, McNeil E, Doi Y, 2014. Clinical outcomes of hospital-acquired infection with *Acinetobacter nosocomialis* and *Acinetobacter pittii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 58, 7, 4172-9.
- Clark NM, Zhanel GG, Lynch JP, 3rd, 2016. Emergence of antimicrobial resistance among *Acinetobacter* species: a global threat. *Curr Opin Crit Care*, 22, 5, 491-9.
- Clemmer KM, Bonomo RA, Rather PN, 2011. Genetic analysis of surface motility in *Acinetobacter baumannii*. *Microbiology (Reading)*, 157, Pt 9, 2534-44.
- Cordes LG, Brink EW, Checko PJ, Lentnek A, Lyons RW, Hayes PS, Wu TC, Tharr DG, Fraser DW, 1981. A cluster of *Acinetobacter* Pneumonia in foundry workers. *Ann Intern Med*, 95, 6, 688-93.
- Cortivo GD, Gutberlet A, Ferreira JA, Ferreira LE, Deglmann RC, Westphal GA, Franca PH, 2015. Antimicrobial resistance profiles and oxacillinase genes in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from hospitalized patients in Santa Catarina, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*, 48, 6, 699-705.
- Costello SE, Gales AC, Morfin-Otero R, Jones RN, Castanheira M, 2016. Mechanisms of Resistance, Clonal Expansion, and Increasing Prevalence of *Acinetobacter baumannii* Strains Displaying Elevated Tigecycline MIC Values in Latin America. *Microb Drug Resist*, 22, 4, 253-8.
- Coyne S, Courvalin P, Perichon B, 2011. Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother*, 55, 3, 947-53.
- Coyne S, Rosenfeld N, Lambert T, Courvalin P, Perichon B, 2010. Overexpression of resistance-nodulation-cell division pump AdeFGH confers multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 54, 10, 4389-93.
- Dahdouh E, Gomez-Gil R, Pachó S, Mingorance J, Daoud Z, Suarez M, 2017. Clonality, virulence determinants, and profiles of resistance of clinical *Acinetobacter baumannii* isolates obtained from a Spanish hospital. *PLoS One*, 12, 4, e0176824.
- Dal T, Aksu B, Pages JM, Over-Hasdemir U, 2013. Expression of the *adeB* gene and responsiveness to 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine and phenylalanyl-arginyl-beta-naphthylamide in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, 68, 5, 1200-2.
- Damier-Piolle L, Magnet S, Bremont S, Lambert T, Courvalin P, 2008. AdeIJK, a resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 52, 2, 557-62.
- de Kievit TR, Iglewski BH, 2000. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infect Immun*, 68, 9, 4839-49.
- Dean M, Rzhetsky A, Allikmets R, 2001. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Res*, 11, 7, 1156-66.
- DeLisa MP, Bentley WE, 2002. Bacterial autoinduction: looking outside the cell for new metabolic engineering targets. *Microb Cell Fact*, 1, 1, 5.
- Deng M, Zhu MH, Li JJ, Bi S, Sheng ZK, Hu FS, Zhang JJ, Chen W, Xue XW, Sheng JF, Li LJ, 2014. Molecular epidemiology and mechanisms of tigecycline resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a Chinese university hospital. *Antimicrob Agents Chemother*, 58, 1, 297-303.
- Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H, 2007. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol*, 5, 12, 939-51.

- Dorsey CW, Tomaras AP, Actis LA, 2002. Genetic and phenotypic analysis of *Acinetobacter baumannii* insertion derivatives generated with a transposome system. *Appl Environ Microbiol*, 68, 12, 6353-60.
- Dou Q, Zou M, Li J, Wang H, Hu Y, Liu W, 2017. [AdeABC efflux pump and resistance of *Acinetobacter baumannii* against carbapenem]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 42, 4, 426-33.
- Doughari HJ, Ndakidemi PA, Human IS, Benade S, 2011. The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: an overview. *Microbes Environ*, 26, 2, 101-12.
- Dreier J, Ruggerone P, 2015. Interaction of antibacterial compounds with RND efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol*, 6, 660.
- Du D, Wang-Kan X, Neuberger A, van Veen HW, Pos KM, Piddock LJV, Luisi BF, 2018. Multidrug efflux pumps: structure, function and regulation. *Nat Rev Microbiol*, 16, 9, 523-39.
- Duran N, Justo GZ, Duran M, Brocchi M, Cordi L, Tasic L, Castro GR, Nakazato G, 2016. Advances in *Chromobacterium violaceum* and properties of violacein-Its main secondary metabolite: A review. *Biotechnol Adv*, 34, 5, 1030-45.
- Dy ME, Nord JA, LaBombardi VJ, Kislak JW, 1999. The emergence of resistant strains of *Acinetobacter baumannii*: clinical and infection control implications. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 20, 8, 565-7.
- Egland KA, Greenberg EP, 2001. Quorum sensing in *Vibrio fischeri*: analysis of the LuxR DNA binding region by alanine-scanning mutagenesis. *J Bacteriol*, 183, 1, 382-6.
- Eijkelkamp BA, Stroehrer UH, Hassan KA, Papadimitriou MS, Paulsen IT, Brown MH, 2011. Adherence and motility characteristics of clinical *Acinetobacter baumannii* isolates. *FEMS Microbiol Lett*, 323, 1, 44-51.
- Elhosseiny NM, Attia AS, 2018. *Acinetobacter*: an emerging pathogen with a versatile secretome. *Emerg Microbes Infect*, 7, 1, 33.
- Erdonmez D, Rad AY, Aksoz N, 2017. Quorum sensing molecules production by nosocomial and soil isolates *Acinetobacter baumannii*. *Arch Microbiol*, 199, 10, 1325-34.
- Eze EC, Chenia HY, El Zowalaty ME, 2018. *Acinetobacter baumannii* biofilms: effects of physicochemical factors, virulence, antibiotic resistance determinants, gene regulation, and future antimicrobial treatments. *Infect Drug Resist*, 11, 2277-99.
- Fiester SE, Arivett BA, Schmidt RE, Beckett AC, Ticak T, Carrier MV, Ghosh R, Ohneck EJ, Metz ML, Sellin Jeffries MK, Actis LA, 2016. Iron-Regulated Phospholipase C Activity Contributes to the Cytolytic Activity and Virulence of *Acinetobacter baumannii*. *PLoS One*, 11, 11, e0167068.
- Fishbain J, Peleg AY, 2010. Treatment of *Acinetobacter* infections. *Clin Infect Dis*, 51, 1, 79-84.
- Flores-Diaz M, Monturiol-Gross L, Naylor C, Alape-Giron A, Flieger A, 2016. Bacterial Sphingomyelinases and Phospholipases as Virulence Factors. *Microbiol Mol Biol Rev*, 80, 3, 597-628.
- Fournier PE, Richet H, 2006. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis*, 42, 5, 692-9.
- French GL PI, 1999. *Hospital Epidemiology and Infection Control*, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, p. 1243-1264.
- Fridkin SK, Welbel SF, Weinstein RA, 1997. Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit. *Infect Dis Clin North Am*, 11, 2, 479-96.

- Fuqua WC, Winans SC, Greenberg EP, 1994. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *J Bacteriol*, 176, 2, 269-75.
- Gaddy JA, Actis LA, 2009. Regulation of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Future Microbiol*, 4, 3, 273-8.
- Gaddy JA, Arivett BA, McConnell MJ, Lopez-Rojas R, Pachon J, Actis LA, 2012. Role of acinetobactin-mediated iron acquisition functions in the interaction of *Acinetobacter baumannii* strain ATCC 19606T with human lung epithelial cells, *Galleria mellonella* caterpillars, and mice. *Infect Immun*, 80, 3, 1015-24.
- Garner AL, Kim SK, Zhu J, Struss AK, Watkins R, Feske BD, Kaufmann GF, Janda KD, 2012. Stereochemical insignificance discovered in *Acinetobacter baumannii* quorum sensing. *PLoS One*, 7, 5, e37102.
- Geisinger E, Isberg RR, 2015. Antibiotic modulation of capsular exopolysaccharide and virulence in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Pathog*, 11, 2, e1004691.
- Gentile V, Frangipani E, Bonchi C, Minandri F, Runci F, Visca P, 2014. Iron and *Acinetobacter baumannii* Biofilm Formation. *Pathogens*, 3, 3, 704-19.
- Giannouli M, Antunes LC, Marchetti V, Triassi M, Visca P, Zarrilli R, 2013. Virulence-related traits of epidemic *Acinetobacter baumannii* strains belonging to the international clonal lineages I-III and to the emerging genotypes ST25 and ST78. *BMC Infect Dis*, 13, 282.
- Glick R, Gilmour C, Tremblay J, Satanower S, Avidan O, Deziel E, Greenberg EP, Poole K, Banin E, 2010. Increase in rhamnolipid synthesis under iron-limiting conditions influences surface motility and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*, 192, 12, 2973-80.
- Goh HM, Beatson SA, Totsika M, Moriel DG, Phan MD, Szubert J, Runnegar N, Sidjabat HE, Paterson DL, Nimmo GR, Lipman J, Schembri MA, 2013. Molecular analysis of the *Acinetobacter baumannii* biofilm-associated protein. *Appl Environ Microbiol*, 79, 21, 6535-43.
- Golia S, K TS, C LV, 2013. Microbial profile of early and late onset ventilator associated pneumonia in the intensive care unit of a tertiary care hospital in bangalore, India. *J Clin Diagn Res*, 7, 11, 2462-6.
- Gonzalez RH, Dijkshoorn L, Van den Barselaar M, Nudel C, 2009. Quorum sensing signal profile of *Acinetobacter* strains from nosocomial and environmental sources. *Rev Argent Microbiol*, 41, 2, 73-8.
- Gordon NC, Wareham DW, 2009. A review of clinical and microbiological outcomes following treatment of infections involving multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* with tigecycline. *J Antimicrob Chemother*, 63, 4, 775-80.
- Goudarzi H, Mirsamadi ES, Ghalavand Z, Hakemi Vala M, Mirjalali H, Hashemi A, 2019. Rapid detection and molecular survey of blaVIM, blaIMP and blaNDM genes among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* using new multiplex real-time PCR and melting curve analysis. *BMC Microbiol*, 19, 1, 122.
- Green DW, 2002. The bacterial cell wall as a source of antibacterial targets. *Expert Opin Ther Targets*, 6, 1, 1-19.
- Greene C, Vadlamudi G, Newton D, Foxman B, Xi C, 2016. The influence of biofilm formation and multidrug resistance on environmental survival of clinical and environmental isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Am J Infect Control*, 44, 5, e65-71.

- Gribun A, Katcoff DJ, HersHKovits G, Pechatnikov I, Nitzan Y, 2004. Cloning and characterization of the gene encoding for OMP-PD porin: the major *Photobacterium damsela* outer membrane protein. *Curr Microbiol*, 48, 3, 167-74.
- Gribun A, Nitzan Y, Pechatnikov I, HersHKovits G, Katcoff DJ, 2003. Molecular and structural characterization of the HMP-AB gene encoding a pore-forming protein from a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. *Curr Microbiol*, 47, 5, 434-43.
- Guilhen C, Forestier C, Balestrino D, 2017. Biofilm dispersal: multiple elaborate strategies for dissemination of bacteria with unique properties. *Mol Microbiol*, 105, 2, 188-210.
- Gunn JS, Bakaletz LO, Wozniak DJ, 2016. What's on the Outside Matters: The Role of the Extracellular Polymeric Substance of Gram-negative Biofilms in Evading Host Immunity and as a Target for Therapeutic Intervention. *J Biol Chem*, 291, 24, 12538-46.
- Gupta N, Gandham N, Jadhav S, Mishra RN, 2015. Isolation and identification of *Acinetobacter* species with special reference to antibiotic resistance. *J Nat Sci Biol Med*, 6, 1, 159-62.
- Hall CW, Mah TF, 2017. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev*, 41, 3, 276-301.
- Hannan S, Ready D, Jasni AS, Rogers M, Pratten J, Roberts AP, 2010. Transfer of antibiotic resistance by transformation with eDNA within oral biofilms. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 59, 3, 345-9.
- Harding CM, Kinsella RL, Palmer LD, Skaar EP, Feldman MF, 2016. Medically Relevant *Acinetobacter* Species Require a Type II Secretion System and Specific Membrane-Associated Chaperones for the Export of Multiple Substrates and Full Virulence. *PLoS Pathog*, 12, 1, e1005391.
- Harding CM, Pulido MR, Di Venanzio G, Kinsella RL, Webb AI, Scott NE, Pachon J, Feldman MF, 2017. Pathogenic *Acinetobacter* species have a functional type I secretion system and contact-dependent inhibition systems. *J Biol Chem*, 292, 22, 9075-87.
- Harding CM, Tracy EN, Carruthers MD, Rather PN, Actis LA, Munson RS, Jr., 2013. *Acinetobacter baumannii* strain M2 produces type IV pili which play a role in natural transformation and twitching motility but not surface-associated motility. *mBio*, 4, 4.
- Hassan KA, Jackson SM, Penesyan A, Patching SG, Tetu SG, Eijkelkamp BA, Brown MH, Henderson PJ, Paulsen IT, 2013. Transcriptomic and biochemical analyses identify a family of chlorhexidine efflux proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110, 50, 20254-9.
- Haurat MF, Elhenawy W, Feldman MF, 2015. Prokaryotic membrane vesicles: new insights on biogenesis and biological roles. *Biol Chem*, 396, 2, 95-109.
- He X, Lu F, Yuan F, Jiang D, Zhao P, Zhu J, Cheng H, Cao J, Lu G, 2015. Biofilm Formation Caused by Clinical *Acinetobacter baumannii* Isolates Is Associated with Overexpression of the AdeFGH Efflux Pump. *Antimicrob Agents Chemother*, 59, 8, 4817-25.
- Henderson PJ, Hoyle CK, Ward A, 2000. Expression, purification and properties of multidrug efflux proteins. *Biochem Soc Trans*, 28, 4, 513-7.
- Hoiby N, Ciofu O, Johansen HK, Song ZJ, Moser C, Jensen PO, Molin S, Givskov M, Tolker-Nielsen T, Bjarnsholt T, 2011. The clinical impact of bacterial biofilms. *Int J Oral Sci*, 3, 2, 55-65.
- Jacobs AC, Hood I, Boyd KL, Olson PD, Morrison JM, Carson S, Sayood K, Iwen PC, Skaar EP, Dunman PM, 2010. Inactivation of phospholipase D diminishes *Acinetobacter baumannii* pathogenesis. *Infect Immun*, 78, 5, 1952-62.

- Jamal M, Ahmad W, Andleeb S, Jalil F, Imran M, Nawaz MA, Hussain T, Ali M, Rafiq M, Kamil MA, 2018. Bacterial biofilm and associated infections. *J Chin Med Assoc*, 81, 1, 7-11.
- Jawad A, Hawkey PM, Heritage J, Snelling AM, 1994. Description of Leeds *Acinetobacter* Medium, a new selective and differential medium for isolation of clinically important *Acinetobacter* spp., and comparison with Herellea agar and Holton's agar. *J Clin Microbiol*, 32, 10, 2353-8.
- Jayaraman A, Wood TK, 2008. Bacterial quorum sensing: signals, circuits, and implications for biofilms and disease. *Annu Rev Biomed Eng*, 10, 145-67.
- Jin JS, Kwon SO, Moon DC, Gurung M, Lee JH, Kim SI, Lee JC, 2011. *Acinetobacter baumannii* secretes cytotoxic outer membrane protein A via outer membrane vesicles. *PLoS One*, 6, 2, e17027.
- Karageorgopoulos DE, Falagas ME, 2008. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Lancet Infect Dis*, 8, 12, 751-62.
- Karakonstantis S, Kritsotakis EI, Gikas A, 2020. Treatment options for *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii* co-resistant to carbapenems, aminoglycosides, polymyxins and tigecycline: an approach based on the mechanisms of resistance to carbapenems. *Infection*, 48, 6, 835-51.
- Katragkou A, Roilides E, 2005. Successful treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* central nervous system infections with colistin. *J Clin Microbiol*, 43, 9, 4916-7.
- Kearns DB, 2010. A field guide to bacterial swarming motility. *Nat Rev Microbiol*, 8, 9, 634-44.
- Kim YJ, Kim SI, Kim YR, Hong KW, Wie SH, Park YJ, Jeong H, Kang MW, 2012. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: diversity of resistant mechanisms and risk factors for infection. *Epidemiol Infect*, 140, 1, 137-45.
- Korotkov KV, Sandkvist M, Hol WG, 2012. The type II secretion system: biogenesis, molecular architecture and mechanism. *Nat Rev Microbiol*, 10, 5, 336-51.
- Kumari A, Pasini P, Deo SK, Flomenhoft D, Shashidhar H, Daunert S, 2006. Biosensing systems for the detection of bacterial quorum signaling molecules. *Anal Chem*, 78, 22, 7603-9.
- Kvist M, Hancock V, Klemm P, 2008. Inactivation of efflux pumps abolishes bacterial biofilm formation. *Appl Environ Microbiol*, 74, 23, 7376-82.
- Kwon SO, Gho YS, Lee JC, Kim SI, 2009. Proteome analysis of outer membrane vesicles from a clinical *Acinetobacter baumannii* isolate. *FEMS Microbiol Lett*, 297, 2, 150-6.
- Lade H, Paul D, Kweon JH, 2014. N-acyl homoserine lactone-mediated quorum sensing with special reference to use of quorum quenching bacteria in membrane biofouling control. *Biomed Res Int*, 2014, 162584.
- Landini P, 2009. Cross-talk mechanisms in biofilm formation and responses to environmental and physiological stress in *Escherichia coli*. *Res Microbiol*, 160, 4, 259-66.
- Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AK, Wertheim HF, Sumpradit N, Vlieghe E, Hara GL, Gould IM, Goossens H, Greko C, So AD, Bigdeli M, Tomson G, Woodhouse W, Ombaka E, Peralta AQ, Qamar FN, Mir F, Kariuki S, Bhutta ZA, Coates A, Bergstrom R, Wright GD, Brown ED, Cars O, 2013. Antibiotic resistance-the need for global solutions. *Lancet Infect Dis*, 13, 12, 1057-98.
- Lee CR, Lee JH, Jeong BC, Lee SH, 2013. Lipid a biosynthesis of multidrug-resistant pathogens - a novel drug target. *Curr Pharm Des*, 19, 36, 6534-50.

- Lee CR, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, Cha CJ, Jeong BC, Lee SH, 2017. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Front Cell Infect Microbiol*, 7, 55.
- Li XZ, Nikaido H, 2009. Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update. *Drugs*, 69, 12, 1555-623.
- Li Y, Heine S, Entian M, Sauer K, Frankenberg-Dinkel N, 2013. NO-induced biofilm dispersion in *Pseudomonas aeruginosa* is mediated by an MHYT domain-coupled phosphodiesterase. *J Bacteriol*, 195, 16, 3531-42.
- Lim SM, Webb SA, 2005. Nosocomial bacterial infections in Intensive Care Units. I: Organisms and mechanisms of antibiotic resistance. *Anaesthesia*, 60, 9, 887-902.
- Lin L, Ling BD, Li XZ, 2009. Distribution of the multidrug efflux pump genes, *adeABC*, *adeDE* and *adeIJK*, and class 1 integron genes in multiple-antimicrobial-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* complex. *Int J Antimicrob Agents*, 33, 1, 27-32.
- Lin L, Tan B, Pantapalangkoor P, Ho T, Baquir B, Tomaras A, Montgomery JI, Reilly U, Barbacci EG, Hujer K, Bonomo RA, Fernandez L, Hancock RE, Adams MD, French SW, Buslon VS, Spellberg B, 2012. Inhibition of LpxC protects mice from resistant *Acinetobacter baumannii* by modulating inflammation and enhancing phagocytosis. *mBio*, 3, 5.
- Lin MF, Lan CY, 2014. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside. *World J Clin Cases*, 2, 12, 787-814.
- Liou ML, Soo PC, Ling SR, Kuo HY, Tang CY, Chang KC, 2014. The sensor kinase BfmS mediates virulence in *Acinetobacter baumannii*. *J Microbiol Immunol Infect*, 47, 4, 275-81.
- Liu C, Chang Y, Xu Y, Luo Y, Wu L, Mei Z, Li S, Wang R, Jia X, 2018. Distribution of virulence-associated genes and antimicrobial susceptibility in clinical *Acinetobacter baumannii* isolates. *Oncotarget*, 9, 31, 21663-73.
- Loehfelm TW, Luke NR, Campagnari AA, 2008. Identification and characterization of an *Acinetobacter baumannii* biofilm-associated protein. *J Bacteriol*, 190, 3, 1036-44.
- Londero A, Costa M, Sucari A, Leotta G, 2019. Comparison of three molecular subtyping techniques for *Listeria monocytogenes*. *Rev Argent Microbiol*, 51, 4, 359-62.
- Lopalco P, Stahl J, Annese C, Averbhoff B, Corcelli A, 2017. Identification of unique cardiolipin and monolysocardiolipin species in *Acinetobacter baumannii*. *Sci Rep*, 7, 1, 2972.
- Luke NR, Sauberman SL, Russo TA, Beanan JM, Olson R, Loehfelm TW, Cox AD, St Michael F, Vinogradov EV, Campagnari AA, 2010. Identification and characterization of a glycosyltransferase involved in *Acinetobacter baumannii* lipopolysaccharide core biosynthesis. *Infect Immun*, 78, 5, 2017-23.
- Luo TL, Rickard AH, Srinivasan U, Kaye KS, Foxman B, 2015. Association of blaOXA-23 and *bap* with the persistence of *Acinetobacter baumannii* within a major healthcare system. *Front Microbiol*, 6, 182.
- Machado D, Antunes J, Simoes A, Perdigo J, Couto I, McCusker M, Martins M, Portugal I, Pacheco T, Batista J, Toscano C, Viveiros M, 2018. Contribution of efflux to colistin heteroresistance in a multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolate. *J Med Microbiol*, 67, 6, 740-9.
- Macheboeuf P, Contreras-Martel C, Job V, Dideberg O, Dessen A, 2006. Penicillin binding proteins: key players in bacterial cell cycle and drug resistance processes. *FEMS Microbiol Rev*, 30, 5, 673-91.

- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL, 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*, 18, 3, 268-81.
- Magnet S, Courvalin P, Lambert T, 2001. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. *Antimicrob Agents Chemother*, 45, 12, 3375-80.
- Manchanda V, Sanchaita S, Singh N, 2010. Multidrug resistant acinetobacter. *J Glob Infect Dis*, 2, 3, 291-304.
- Maragakis LL, Perl TM, 2008. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clin Infect Dis*, 46, 8, 1254-63.
- Marchand I, Damier-Piolle L, Courvalin P, Lambert T, 2004. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the AdeRS two-component system. *Antimicrob Agents Chemother*, 48, 9, 3298-304.
- Marger MD, Saier MH, Jr., 1993. A major superfamily of transmembrane facilitators that catalyze uniport, symport and antiport. *Trends Biochem Sci*, 18, 1, 13-20.
- Marks LR, Davidson BA, Knight PR, Hakansson AP, 2013. Interkingdom signaling induces *Streptococcus pneumoniae* biofilm dispersion and transition from asymptomatic colonization to disease. *mBio*, 4, 4.
- Marti S, Sanchez-Cespedes J, Oliveira E, Bellido D, Giralt E, Vila J, 2006. Proteomic analysis of a fraction enriched in cell envelope proteins of *Acinetobacter baumannii*. *Proteomics*, 6 Suppl 1, S82-7.
- Mayer C, Muras A, Parga A, Romero M, Rumbo-Feal S, Poza M, Ramos-Vivas J, Otero A, 2020. Quorum Sensing as a Target for Controlling Surface Associated Motility and Biofilm Formation in *Acinetobacter baumannii* ATCC((R)) 17978(TM). *Front Microbiol*, 11, 565548.
- McConnell MJ, Rumbo C, Bou G, Pachon J, 2011. Outer membrane vesicles as an acellular vaccine against *Acinetobacter baumannii*. *Vaccine*, 29, 34, 5705-10.
- McQueary CN, Kirkup BC, Si Y, Barlow M, Actis LA, Craft DW, Zurawski DV, 2012. Extracellular stress and lipopolysaccharide modulate *Acinetobacter baumannii* surface-associated motility. *J Microbiol*, 50, 3, 434-43.
- Metan G, Sariguzel F, Sumerkan B, 2009. Factors influencing survival in patients with multi-drug-resistant *Acinetobacter* bacteraemia. *Eur J Intern Med*, 20, 5, 540-4.
- Mihara K, Tanabe T, Yamakawa Y, Funahashi T, Nakao H, Narimatsu S, Yamamoto S, 2004. Identification and transcriptional organization of a gene cluster involved in biosynthesis and transport of acinetobactin, a siderophore produced by *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606T. *Microbiology (Reading)*, 150, Pt 8, 2587-97.
- Minandri F, Imperi F, Frangipani E, Bonchi C, Visaggio D, Facchini M, Pasquali P, Bragonzi A, Visca P, 2016. Role of Iron Uptake Systems in *Pseudomonas aeruginosa* Virulence and Airway Infection. *Infect Immun*, 84, 8, 2324-35.
- Modarresi F, Azizi O, Shakibaie MR, Motamedifar M, Mosadegh E, Mansouri S, 2015. Iron limitation enhances acyl homoserine lactone (AHL) production and biofilm formation in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Virulence*, 6, 2, 152-61.
- Modarresi F, Azizi O, Shakibaie MR, Motamedifar M, Valibeigi B, Mansouri S, 2015. Effect of iron on expression of efflux pump (adeABC) and quorum sensing (luxI, luxR) genes in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *APMIS*, 123, 11, 959-68.

- Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JD, Vinogradov E, Seemann T, Henry R, Crane B, St Michael F, Cox AD, Adler B, Nation RL, Li J, Boyce JD, 2010. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother*, 54, 12, 4971-7.
- Moosavian M, Emam N, 2019. The first report of emerging mobilized colistin-resistance (*mcr*) genes and ERIC-PCR typing in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in southwest Iran. *Infect Drug Resist*, 12, 1001-10.
- Mukherjee S, Moustafa DA, Stergioula V, Smith CD, Goldberg JB, Bassler BL, 2018. The PqsE and RhlR proteins are an autoinducer synthase-receptor pair that control virulence and biofilm development in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 115, 40, E9411-E8.
- Mulani MS, Kamble EE, Kumkar SN, Tawre MS, Pardesi KR, 2019. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Front Microbiol*, 10, 539.
- Munoz-Price LS, Weinstein RA, 2008. *Acinetobacter* infection. *N Engl J Med*, 358, 12, 1271-81.
- Musk DJ, Banko DA, Hergenrother PJ, 2005. Iron salts perturb biofilm formation and disrupt existing biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Chem Biol*, 12, 7, 789-96.
- Mussi MA, Gaddy JA, Cabruja M, Arivett BA, Viale AM, Rasia R, Actis LA, 2010. The opportunistic human pathogen *Acinetobacter baumannii* senses and responds to light. *J Bacteriol*, 192, 24, 6336-45.
- Na IY, Chung ES, Jung CY, Kim DH, Shin J, Kang K, Kim ST, Ko KS, 2016. Comparison of the Virulence-Associated Phenotypes of Five Species of *Acinetobacter baumannii* Complex. *J Microbiol Biotechnol*, 26, 1, 171-9.
- Nemec A, Krizova L, Maixnerova M, van der Reijden TJ, Deschaght P, Passet V, Vaneechoutte M, Brisse S, Dijkshoorn L, 2011. Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 13TU). *Res Microbiol*, 162, 4, 393-404.
- Nie L, Grell E, Malviya VN, Xie H, Wang J, Michel H, 2016. Identification of the High-affinity Substrate-binding Site of the Multidrug and Toxic Compound Extrusion (MATE) Family Transporter from *Pseudomonas stutzeri*. *J Biol Chem*, 291, 30, 15503-14.
- Nikaido H, 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev*, 67, 4, 593-656.
- Nitzan Y, Pechatnikov I, Bar-El D, Wexler H, 1999. Isolation and characterization of heat-modifiable proteins from the outer membrane of *Porphyromonas asaccharolytica* and *Acinetobacter baumannii*. *Anaerobe*, 5, 1, 43-50.
- Niu C, Clemmer KM, Bonomo RA, Rather PN, 2008. Isolation and characterization of an autoinducer synthase from *Acinetobacter baumannii*. *J Bacteriol*, 190, 9, 3386-92.
- Nordmann P, Poirel L, 2019. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clin Infect Dis*, 69, Suppl 7, S521-S8.
- Novick RP, Geisinger E, 2008. Quorum sensing in staphylococci. *Annu Rev Genet*, 42, 541-64.
- Nowak J, Schneiders T, Seifert H, Higgins PG, 2016. The Asp20-to-Asn Substitution in the Response Regulator AdeR Leads to Enhanced Efflux Activity of AdeB in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 60, 2, 1085-90.

- Nwodo UU, Okoh AI, 2013. Characterization and flocculation properties of biopolymeric flocculant (glycosaminoglycan) produced by *Cellulomonas* sp. Okoh. *J Appl Microbiol*, 114, 5, 1325-37.
- Olaitan AO, Morand S, Rolain JM, 2014. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol*, 5, 643.
- Owlia P, Azimi L, Gholami A, Asghari B, Lari AR, 2012. ESBL- and MBL-mediated resistance in *Acinetobacter baumannii*: a global threat to burn patients. *Infez Med*, 20, 3, 182-7.
- Ozdem B, Gurelik FC, Celikbilek N, Balikci H, Acikgoz ZC, 2011. [Antibiotic resistance profiles of *Acinetobacter* species isolated from several clinical samples between 2007-2010]. *Mikrobiyol Bul*, 45, 3, 526-34.
- Papenfort K, Bassler BL, 2016. Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria. *Nat Rev Microbiol*, 14, 9, 576-88.
- Park YK, Ko KS, 2015. Effect of carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone (CCCP) on killing *Acinetobacter baumannii* by colistin. *J Microbiol*, 53, 1, 53-9.
- Parsek MR, Singh PK, 2003. Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Annu Rev Microbiol*, 57, 677-701.
- Peleg AY, Adams J, Paterson DL, 2007. Tigecycline Efflux as a Mechanism for Nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 51, 6, 2065-9.
- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL, 2008. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev*, 21, 3, 538-82.
- Periasamy S, Joo HS, Duong AC, Bach TH, Tan VY, Chatterjee SS, Cheung GY, Otto M, 2012. How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109, 4, 1281-6.
- Petrova OE, Cherny KE, Sauer K, 2014. The *Pseudomonas aeruginosa* diguanylate cyclase GcbA, a homolog of *P. fluorescens* GcbA, promotes initial attachment to surfaces, but not biofilm formation, via regulation of motility. *J Bacteriol*, 196, 15, 2827-41.
- Piperaki ET, Tzouveleakis LS, Miriagou V, Daikos GL, 2019. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: in pursuit of an effective treatment. *Clin Microbiol Infect*, 25, 8, 951-7.
- Pompilio A, Scribano D, Sarshar M, Di Bonaventura G, Palamara AT, Ambrosi C, 2021. Gram-Negative Bacteria Holding Together in a Biofilm: The *Acinetobacter baumannii* Way. *Microorganisms*, 9, 7.
- Poole K, 2002. Outer membranes and efflux: the path to multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Curr Pharm Biotechnol*, 3, 2, 77-98.
- Poole K, 2005. Efflux-mediated antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother*, 56, 1, 20-51.
- Pour NK, Dusane DH, Dhakephalkar PK, Zamin FR, Zinjarde SS, Chopade BA, 2011. Biofilm formation by *Acinetobacter baumannii* strains isolated from urinary tract infection and urinary catheters. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 62, 3, 328-38.
- Qi L, Li H, Zhang C, Liang B, Li J, Wang L, Du X, Liu X, Qiu S, Song H, 2016. Relationship between Antibiotic Resistance, Biofilm Formation, and Biofilm-Specific Resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol*, 7, 483.
- Radestock S, Forrest LR, 2011. The alternating-access mechanism of MFS transporters arises from inverted-topology repeats. *J Mol Biol*, 407, 5, 698-715.

- Ranjbar R, Zayeri S, Afshar D, 2020. High Frequency of AdeA, AdeB and AdeC Genes among *Acinetobacter baumannii* Isolates. *Iran J Public Health*, 49, 8, 1539-45.
- Rao RS, Karthika RU, Singh SP, Shashikala P, Kanungo R, Jayachandran S, Prashanth K, 2008. Correlation between biofilm production and multiple drug resistance in imipenem resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Indian J Med Microbiol*, 26, 4, 333-7.
- Reddy VS, Shlykov MA, Castillo R, Sun EI, Saier MH, Jr., 2012. The major facilitator superfamily (MFS) revisited. *FEBS J*, 279, 11, 2022-35.
- Remy B, Mion S, Plener L, Elias M, Chabriere E, Daude D, 2018. Interference in Bacterial Quorum Sensing: A Biopharmaceutical Perspective. *Front Pharmacol*, 9, 203.
- Ribera A, Ruiz J, Jimenez de Anta MT, Vila J, 2002. Effect of an efflux pump inhibitor on the MIC of nalidixic acid for *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother*, 49, 4, 697-8.
- Richards AM, Abu Kwaik Y, Lamont RJ, 2015. Code blue: *Acinetobacter baumannii*, a nosocomial pathogen with a role in the oral cavity. *Mol Oral Microbiol*, 30, 1, 2-15.
- Richmond GE, Evans LP, Anderson MJ, Wand ME, Bonney LC, Ivens A, Chua KL, Webber MA, Sutton JM, Peterson ML, Piddock LJ, 2016. The *Acinetobacter baumannii* Two-Component System AdeRS Regulates Genes Required for Multidrug Efflux, Biofilm Formation, and Virulence in a Strain-Specific Manner. *mBio*, 7, 2, e00430-16.
- Rodriguez-Bano J, Cisneros JM, Fernandez-Cuenca F, Ribera A, Vila J, Pascual A, Martinez-Martinez L, Bou G, Pachon J, Grupo de Estudio de Infeccion H, 2004. Clinical features and epidemiology of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection in Spanish hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 25, 10, 819-24.
- Rossi E, Longo F, Barbagallo M, Peano C, Consolandi C, Pietrelli A, Jaillon S, Garlanda C, Landini P, 2016. Glucose availability enhances lipopolysaccharide production and immunogenicity in the opportunistic pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Future Microbiol*, 11, 3, 335-49.
- Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V, 2018. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence*, 9, 1, 522-54.
- Rumbo C, Tomas M, Fernandez Moreira E, Soares NC, Carvajal M, Santillana E, Beceiro A, Romero A, Bou G, 2014. The *Acinetobacter baumannii* Omp33-36 porin is a virulence factor that induces apoptosis and modulates autophagy in human cells. *Infect Immun*, 82, 11, 4666-80.
- Russo TA, Luke NR, Beanan JM, Olson R, Sauberman SL, MacDonald U, Schultz LW, Umland TC, Campagnari AA, 2010. The K1 capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* strain 307-0294 is a major virulence factor. *Infect Immun*, 78, 9, 3993-4000.
- Russo TA, MacDonald U, Beanan JM, Olson R, MacDonald IJ, Sauberman SL, Luke NR, Schultz LW, Umland TC, 2009. Penicillin-binding protein 7/8 contributes to the survival of *Acinetobacter baumannii* in vitro and in vivo. *J Infect Dis*, 199, 4, 513-21.
- Rutherford ST, Bassler BL, 2012. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2, 11.
- Ruzin A, Keeney D, Bradford PA, 2007. AdeABC multidrug efflux pump is associated with decreased susceptibility to tigecycline in *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *J Antimicrob Chemother*, 59, 5, 1001-4.
- Sahl JW, Gillece JD, Schupp JM, Waddell VG, Driebe EM, Engelthaler DM, Keim P, 2013. Evolution of a pathogen: a comparative genomics analysis identifies a genetic pathway to pathogenesis in *Acinetobacter*. *PLoS One*, 8, 1, e54287.

- Saipriya K, Swathi CH, Ratnakar KS, Sritharan V, 2020. Quorum-sensing system in *Acinetobacter baumannii*: a potential target for new drug development. *J Appl Microbiol*, 128, 1, 15-27.
- Sanchez LM, Cheng AT, Warner CJ, Townsley L, Peach KC, Navarro G, Shikuma NJ, Bray WM, Riener RM, Yildiz FH, Linington RG, 2016. Biofilm Formation and Detachment in Gram-Negative Pathogens Is Modulated by Select Bile Acids. *PLoS One*, 11, 3, e0149603.
- Sargin Altunok E, Koc MM, 2014. Comparison of Antibiotic Resistance Rates in *Acinetobacter* Strains Isolated from Intensive Care Units by Year. *ANKEM Dergisi*, 28, 1, 1-7.
- Saroj SD, Rather PN, 2013. Streptomycin inhibits quorum sensing in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 57, 4, 1926-9.
- Sato Y, Unno Y, Kawakami S, Ubagai T, Ono Y, 2017. Virulence characteristics of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates vary with the expression levels of omps. *J Med Microbiol*, 66, 2, 203-12.
- Savari M, Ekrami A, Shoja S, Bahador A, 2017. Plasmid borne Carbapenem-Hydrolyzing Class D beta-Lactamases (CHDLs) and AdeABC efflux pump conferring carbapenem-tigecycline resistance among *Acinetobacter baumannii* isolates harboring TnAbaRs. *Microb Pathog*, 104, 310-7.
- Schauder S, Shokat K, Surette MG, Bassler BL, 2001. The LuxS family of bacterial autoinducers: biosynthesis of a novel quorum-sensing signal molecule. *Mol Microbiol*, 41, 2, 463-76.
- Schreckenberger PC DM, Weyant RS, Hollis DG., 2007. Washington, Manuel of Clinical Microbiology p. 770- 802.
- Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G, 1993. The distribution of *Acinetobacter* species in clinical culture materials. *Zentralbl Bakteri*, 279, 4, 544-52.
- Shahed-Al-Mahmud M, Roy R, Sugiocto FG, Islam MN, Lin MD, Lin LC, Lin NT, 2021. Phage phiAB6-Borne Depolymerase Combats *Acinetobacter baumannii* Biofilm Formation and Infection. *Antibiotics (Basel)*, 10, 3.
- Sharma M, Sapkota J, Jha B, Mishra B, Bhatt CP, 2019. Biofilm Formation and Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producer among *Acinetobacter* Species Isolated in a Tertiary Care Hospital: A Descriptive Cross-sectional Study. *JNMA J Nepal Med Assoc*, 57, 220, 424-8.
- Shaw PD, Ping G, Daly SL, Cha C, Cronan JE, Jr., Rinehart KL, Farrand SK, 1997. Detecting and characterizing N-acyl-homoserine lactone signal molecules by thin-layer chromatography. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94, 12, 6036-41.
- Shunmugaperumal T, 2010. Microbial colonization of medical devices and novel preventive strategies. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 4, 2, 153-73.
- Sievert DM, Ricks P, Edwards JR, Schneider A, Patel J, Srinivasan A, Kallen A, Limbago B, Fridkin S, National Healthcare Safety Network T, Participating NF, 2013. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 34, 1, 1-14.
- Silbert S, Pfaller MA, Hollis RJ, Barth AL, Sader HS, 2004. Evaluation of three molecular typing techniques for nonfermentative Gram-negative bacilli. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 25, 10, 847-51.

- Singh H, Thangaraj P, Chakrabarti A, 2013. *Acinetobacter baumannii*: A Brief Account of Mechanisms of Multidrug Resistance and Current and Future Therapeutic Management. *J Clin Diagn Res*, 7, 11, 2602-5.
- Skariyachan S, Taskeen N, Ganta M, Venkata Krishna B, 2019. Recent perspectives on the virulent factors and treatment options for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Crit Rev Microbiol*, 45, 3, 315-33.
- Smani Y, Fabrega A, Roca I, Sanchez-Encinales V, Vila J, Pachon J, 2014. Role of OmpA in the multidrug resistance phenotype of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 58, 3, 1806-8.
- Smith MG, Gianoulis TA, Pukatzki S, Mekalanos JJ, Ornston LN, Gerstein M, Snyder M, 2007. New insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenesis revealed by high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis. *Genes Dev*, 21, 5, 601-14.
- Song JY, Cheong HJ, Noh JY, Kim WJ, 2015. In vitro Comparison of Anti-Biofilm Effects against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Imipenem, Colistin, Tigecycline, Rifampicin and Combinations. *Infect Chemother*, 47, 1, 27-32.
- Srinivasan VB, Rajamohan G, Pancholi P, Stevenson K, Tadesse D, Patchanee P, Marcon M, Gebreyes WA, 2009. Genetic relatedness and molecular characterization of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in central Ohio, USA. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 8, 21.
- Stahl J, Bergmann H, Gottig S, Ebersberger I, Averhoff B, 2015. *Acinetobacter baumannii* Virulence Is Mediated by the Concerted Action of Three Phospholipases D. *PLoS One*, 10, 9, e0138360.
- Stavrovskaya AA, Stromskaya TP, 2008. Transport proteins of the ABC family and multidrug resistance of tumor cells. *Biochemistry (Mosc)*, 73, 5, 592-604.
- Stefkova J, Poledne R, Hubacek JA, 2004. ATP-binding cassette (ABC) transporters in human metabolism and diseases. *Physiol Res*, 53, 3, 235-43.
- Stevens AM, Schuster M, Rumbaugh KP, 2012. Working together for the common good: cell-cell communication in bacteria. *J Bacteriol*, 194, 9, 2131-41.
- Stewart PS, Franklin MJ, 2008. Physiological heterogeneity in biofilms. *Nat Rev Microbiol*, 6, 3, 199-210.
- Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW, 2002. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol*, 56, 187-209.
- Su XZ, Chen J, Mizushima T, Kuroda T, Tsuchiya T, 2005. AbeM, an H⁺-coupled *Acinetobacter baumannii* multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters. *Antimicrob Agents Chemother*, 49, 10, 4362-4.
- Subhadra B, Surendran S, Kim DH, Woo K, Oh MH, Choi CH, 2019. The transcription factor NemR is an electrophile-sensing regulator important for the detoxification of reactive electrophiles in *Acinetobacter nosocomialis*. *Res Microbiol*, 170, 3, 123-30.
- Sun J, Deng Z, Yan A, 2014. Bacterial multidrug efflux pumps: mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. *Biochem Biophys Res Commun*, 453, 2, 254-67.
- Sun JR, Perng CL, Lin JC, Yang YS, Chan MC, Chang TY, Lin FM, Chiueh TS, 2014. AdeRS combination codes differentiate the response to efflux pump inhibitors in tigecycline-resistant isolates of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 33, 12, 2141-7.
- Şay Coşkun US, 2018. Investigation of antibiotic resistance in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. *Ankem Dergisi*.

- Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, Pulcini C, Kahlmeter G, Kluytmans J, Carmeli Y, Ouellette M, Outterson K, Patel J, Cavaleri M, Cox EM, Houchens CR, Grayson ML, Hansen P, Singh N, Theuretzbacher U, Magrini N, Group WHOPPLW, 2018. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis*, 18, 3, 318-27.
- Taitt CR, Leski TA, Stockelman MG, Craft DW, Zurawski DV, Kirkup BC, Vora GJ, 2014. Antimicrobial resistance determinants in *Acinetobacter baumannii* isolates taken from military treatment facilities. *Antimicrob Agents Chemother*, 58, 2, 767-81.
- Tauschek M, Gorrell RJ, Strugnell RA, Robins-Browne RM, 2002. Identification of a protein secretory pathway for the secretion of heat-labile enterotoxin by an enterotoxigenic strain of *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99, 10, 7066-71.
- Thummeepak R, Kongthai P, Leungtongkam U, Sitthisak S, 2016. Distribution of virulence genes involved in biofilm formation in multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Int Microbiol*, 19, 2, 121-9.
- Tjernberg I, Ursing J, 1989. Clinical strains of *Acinetobacter* classified by DNA-DNA hybridization. *APMIS*, 97, 7, 595-605.
- Tomaras AP, Dorsey CW, Edelmann RE, Actis LA, 2003. Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. *Microbiology (Reading)*, 149, Pt 12, 3473-84.
- Tomaras AP, Flagler MJ, Dorsey CW, Gaddy JA, Actis LA, 2008. Characterization of a two-component regulatory system from *Acinetobacter baumannii* that controls biofilm formation and cellular morphology. *Microbiology (Reading)*, 154, Pt 11, 3398-409.
- Toyofuku M, Inaba T, Kiyokawa T, Obana N, Yawata Y, Nomura N, 2016. Environmental factors that shape biofilm formation. *Biosci Biotechnol Biochem*, 80, 1, 7-12.
- Turk Dagi H, Arslan U, Tuncer I, 2011. Antibiotic Resistance of *Acinetobacter baumannii* Strains Isolated from Blood Cultures. *ANKEM Dergisi*, 25, 1, 22-6.
- Ueda A, Wood TK, 2009. Connecting quorum sensing, c-di-GMP, pel polysaccharide, and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* through tyrosine phosphatase TpbA (PA3885). *PLoS Pathog*, 5, 6, e1000483.
- Ulrich RL, 2004. Quorum quenching: enzymatic disruption of N-acylhomoserine lactone-mediated bacterial communication in *Burkholderia thailandensis*. *Appl Environ Microbiol*, 70, 10, 6173-80.
- Uppuluri P, Chaturvedi AK, Srinivasan A, Banerjee M, Ramasubramaniam AK, Kohler JR, Kadosh D, Lopez-Ribot JL, 2010. Dispersion as an important step in the *Candida albicans* biofilm developmental cycle. *PLoS Pathog*, 6, 3, e1000828.
- Uzuner N, Atmaca S, Çelik M, Kangül H, 2020. Resistance Rates of *Acinetobacter baumannii* Against Some Antibiotics: Comparison of 2018 and 2006 Results. *Ankem Dergisi*.
- Van Bambeke F, Balzi E, Tulkens PM, 2000. Antibiotic efflux pumps. *Biochem Pharmacol*, 60, 4, 457-70.
- Van Looveren M, Goossens H, Group AS, 2004. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. *Clin Microbiol Infect*, 10, 8, 684-704.
- Vestby LK, Gronseth T, Simm R, Nesse LL, 2020. Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics (Basel)*, 9, 2.
- Vila J, Marti S, Sanchez-Cespedes J, 2007. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, 59, 6, 1210-5.

- Vogt SL, Pena-Diaz J, Finlay BB, 2015. Chemical communication in the gut: Effects of microbiota-generated metabolites on gastrointestinal bacterial pathogens. *Anaerobe*, 34, 106-15.
- Vollmer W, Joris B, Charlier P, Foster S, 2008. Bacterial peptidoglycan (murein) hydrolases. *FEMS Microbiol Rev*, 32, 2, 259-86.
- Vrancianu CO, Gheorghe I, Czobor IB, Chifiriuc MC, 2020. Antibiotic Resistance Profiles, Molecular Mechanisms and Innovative Treatment Strategies of *Acinetobacter baumannii*. *Microorganisms*, 8, 6.
- Vrancianu CO, Popa LI, Bleotu C, Chifiriuc MC, 2020. Targeting Plasmids to Limit Acquisition and Transmission of Antimicrobial Resistance. *Front Microbiol*, 11, 761.
- Wang JT, McDonald LC, Chang SC, Ho M, 2002. Community-acquired *Acinetobacter baumannii* bacteremia in adult patients in Taiwan. *J Clin Microbiol*, 40, 4, 1526-9.
- Wang Z, de la Fuente-Nunez C, Shen Y, Haapasalo M, Hancock RE, 2015. Treatment of Oral Multispecies Biofilms by an Anti-Biofilm Peptide. *PLoS One*, 10, 7, e0132512.
- Wareham DW, Gordon NC, 2011. Modifications to CHROMagar *Acinetobacter* for improved selective growth of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Pathol*, 64, 2, 164-7.
- Weber BS, Harding CM, Feldman MF, 2015. Pathogenic *Acinetobacter*: from the Cell Surface to Infinity and Beyond. *J Bacteriol*, 198, 6, 880-7.
- Weber BS, Kinsella RL, Harding CM, Feldman MF, 2017. The Secrets of *Acinetobacter* Secretion. *Trends Microbiol*, 25, 7, 532-45.
- Weber BS, Miyata ST, Iwashkiw JA, Mortensen BL, Skaar EP, Pukatzki S, Feldman MF, 2013. Genomic and functional analysis of the type VI secretion system in *Acinetobacter*. *PLoS One*, 8, 1, e55142.
- Weist K, Diaz Hogberg L, 2014. ECDC publishes 2013 surveillance data on antimicrobial resistance and antimicrobial consumption in Europe. *Euro Surveill*, 19, 46.
- West AH, Stock AM, 2001. Histidine kinases and response regulator proteins in two-component signaling systems. *Trends Biochem Sci*, 26, 6, 369-76.
- Wieczorek P, Sacha P, Czaban S, Hauschild T, Ojdana D, Kowalczyk O, Milewski R, Poniatowski B, Niklinski J, Tryniszewska E, 2013. Distribution of AdeABC efflux system genes in genotypically diverse strains of clinical *Acinetobacter baumannii*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 77, 2, 106-9.
- Wieczorek P, Sacha P, Hauschild T, Zorawski M, Krawczyk M, Tryniszewska E, 2008. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*--the role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics. *Folia Histochem Cytobiol*, 46, 3, 257-67.
- Wingender J, Flemming HC, 2011. Biofilms in drinking water and their role as reservoir for pathogens. *Int J Hyg Environ Health*, 214, 6, 417-23.
- Winn J SA, William J, Elmer K, Gary P, Schreckenberger P. Gail Woods, 2006. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Washington, p. 353-355.
- Winn WJ, Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P. and, Woods G, 2006. Koneman's Color Atlas And Textbook of Diagnostic Microbiology. . The Enterobacteriaceae. (6th edition). , 353-5.
- Wisplinghoff H, Paulus T, Lugenheim M, Stefanik D, Higgins PG, Edmond MB, Wenzel RP, Seifert H, 2012. Nosocomial bloodstream infections due to *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii* and *Acinetobacter nosocomialis* in the United States. *J Infect*, 64, 3, 282-90.

- Wong D, Nielsen TB, Bonomo RA, Pantapalangkoor P, Luna B, Spellberg B, 2017. Clinical and Pathophysiological Overview of Acinetobacter Infections: a Century of Challenges. Clin Microbiol Rev, 30, 1, 409-47.
- Wright MS, Iovleva A, Jacobs MR, Bonomo RA, Adams MD, 2016. Genome dynamics of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii during infection and treatment. Genome Med, 8, 1, 26.
- Wright MS, Jacobs MR, Bonomo RA, Adams MD, 2017. Transcriptome Remodeling of Acinetobacter baumannii during Infection and Treatment. mBio, 8, 2.
- Xu C, Bilya SR, Xu W, 2019. adeABC efflux gene in Acinetobacter baumannii. New Microbes New Infect, 30, 100549.
- Yan N, 2015. Structural Biology of the Major Facilitator Superfamily Transporters. Annu Rev Biophys, 44, 257-83.
- Yang CH, Su PW, Moi SH, Chuang LY, 2019. Biofilm Formation in Acinetobacter Baumannii: Genotype-Phenotype Correlation. Molecules, 24, 10.
- Yang S, Lopez CR, Zechiedrich EL, 2006. Quorum sensing and multidrug transporters in Escherichia coli. Proc Natl Acad Sci U S A, 103, 7, 2386-91.
- YENİÇERİ M, 2018. Bakterilerde Quorum Sensing ve Antimikrobiyal Direnç Olan Etkisi. Cumhuriyet Üniv. Sağ. Bil. Enst. Derg. .
- Yin WF, Purmal K, Chin S, Chan XY, Chan KG, 2012. Long chain N-acyl homoserine lactone production by Enterobacter sp. isolated from human tongue surfaces. Sensors (Basel), 12, 11, 14307-14.
- Yoon EJ, Balloy V, Fiette L, Chignard M, Courvalin P, 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.
- Yoon EJ, Chabane YN, Goussard S, Sniesrud E, Courvalin P, De E, Grillot-Courvalin C, 2015. Contribution of resistance-nodulation-cell division efflux systems to antibiotic resistance and biofilm formation in Acinetobacter baumannii. mBio, 6, 2.
- Yoon EJ, Courvalin P, Grillot-Courvalin C, 2013. RND-type efflux pumps in multidrug-resistant clinical isolates of Acinetobacter baumannii: major role for AdeABC overexpression and AdeRS mutations. Antimicrob Agents Chemother, 57, 7, 2989-95.
- Zahin M, Hasan S, Aqil F, Khan MS, Husain FM, Ahmad I, 2010. Screening of certain medicinal plants from India for their anti-quorum sensing activity. Indian J Exp Biol, 48, 12, 1219-24.
- Zarrilli R, Giannouli M, Tomasone F, Triassi M, Tsakris A, 2009. Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. J Infect Dev Ctries, 3, 5, 335-41.
- Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A, 2013. Global evolution of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii clonal lineages. Int J Antimicrob Agents, 41, 1, 11-9.
- Zimble DL, Park TM, Arivett BA, Penwell WF, Greer SM, Woodruff TM, Tierney DL, Actis LA, 2012. Stress response and virulence functions of the Acinetobacter baumannii NfuA Fe-S scaffold protein. J Bacteriol, 194, 11, 2884-93.

EKLER

Ek-A: Etik Kurul Kararı



ACINETOBACTER BAUMANNİİ İZOLATLARINDA EFFLUX POMPASI VE QUORUM SENSİNG GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yazar Ebru Karadağ

Gönderim Tarihi: 01-Ağu-2022 11:06AM (UTC+0300)

Gönderim Numarası: 1877629337

Dosya adı: A_EFFLUX_POMPASI_VE_QUORUM_SENS_NG_GENLER_N_N_ARA_TIRILMASI.docx (1.49M)

Kelime sayısı: 20119

Karakter sayısı: 135743

ACİNETOBACTER BAUMANNII İZOLATLARINDA EFFLUX POMPASI VE QUORUM SENSİNG GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLIK RAPORU

% 19	% 18	% 6	% 4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr	% 4
İnternet Kaynağı		
2	earsiv.kastamonu.edu.tr:8080	% 2
İnternet Kaynağı		
3	dspace.kocaeli.edu.tr:8080	% 1
İnternet Kaynağı		
4	dspace.gazi.edu.tr	% 1
İnternet Kaynağı		
5	docplayer.biz.tr	% 1
İnternet Kaynağı		
6	9lib.net	% 1
İnternet Kaynağı		
7	www.acarindex.com	% 1
İnternet Kaynağı		
8	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080	% 1
İnternet Kaynağı		
9	www.mikrobiyolbul.org	% 1
İnternet Kaynağı		