



T.C.
KIRSEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

**KİNOLON DİRENÇLİ *Acinetobacter baumannii*
İZOLATLARINDA PLAZMİT ARACILI KİNOLON
DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Duha Nagim Abdallh ABDALLH

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRSEHİR- OCAK/2024



T.C.
KIRSEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

**KİNOLON DİRENÇLİ *Acinetobacter baumannii*
İZOLATLARINDA PLAZMİT ARACILI KİNOLON
DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Duha Nagim Abdallh ABDALLH

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Asst. Prof. Dr.Cihat ÖZTÜRK

KIRSEHİR- OCAK/2024

Bu çalışma, 15.01.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Tıp Anabilim Dalı,
Organik Kimya Programında Yüksek Lisans tezi/Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Elif SEVİM
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Dr. Öğr. Üyesi Cihat ÖZTÜRK
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Doç. Dr. Fikriye Milletli SEZGİN
Amasya Üniversitesi
Tıp Fakültesi

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Duha Nagim Abdallh ABDALLH

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Sağlık Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans tez çalışması olarak sunmuş olduğum bu çalışmanın danışmanlığını üstlenen çok kıymetli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Cihat ÖZTÜRK'e, tez çalışmamın laboratuvar kısmında bilgi ve birikimlerinden çokca istifade ettiğim KırşehirAhi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Elif SEVİM'e, Yüksek Lisans öğrenimimde bana destek olan ve tecrübelerini benimle paylaşan Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Fatma Filiz ARI hocama ve çalışmada kullanılan bakteri suşlarının temininde destek olan Uzm. Dr. Rukiye AKYOL'a teşekkürü bir borç biliyorum.

Tezimi, benim her zorluğumda yanımda olan canım aileme ithaf ederim.

Duha Nagim Abdallh ABDALLH

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
KISALTMALAR	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Mikrobiyolojik özellikler	5
2.2. Epidemiyoloji	5
2.2.1. Hastane Kaynaklı Pnömoni	6
2.3. <i>A. baumannii</i> 'nin Patojenitesi.....	7
2.4. Klinik Özellikler.....	10
2.5. Teşhis	13
2.6. Antibiyotik direnci	13
2.6.1. <i>A. baumannii</i> 'de Antibiyotik Direnç Mekanizmaları.....	13
2.7. Kinolonlar	16
2.7.1. Bakteriyel Tip II Topoizomerazlar	19
2.7.2. Kinolon Etki Mekanizmaları	21
2.7.3. Kinolon Direncinin Standardı.....	22
2.7.4. Kinolon Direnci	23
2.7.5. Plazmid Aracılı Kinolon Direnci (PMQR)	25
3. GEREÇ-YÖNTEM	28
3.1. Gereç	28
3.1.1. Araştırmada Kullanılan Bakteri İzolatları ve Standart Suşlar	28
3.1.2. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar	28
3.1.3. Araştırmada Kullanılan Alet ve Ekipmanlar	29
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Primerler	29
3.2. Yöntem	30

3.2.1. <i>A. baumannii</i> İzolatlarının Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi	30
3.2.2. Total DNA İzolasyonu.....	31
3.2.3. <i>A. baumannii</i> İzolatlarında Kinolon ve Aminoglikozid Direnç Genlerinin Tespiti	31
3.2.4. <i>A. baumannii</i> İzolatlarında Direncin Aktarılabirliği	33
3.2.5. Etik Kurul Onayı.....	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. İzolatların Tanımlanması ve Antibiyotik Direnç Profilleri	34
4.2. <i>A. baumannii</i> İzolatlarının Plazmid Aracılı Kinolon Direnç Genleri Tespiti 35	
4.2.1. <i>A. baumannii</i> izolatlarında qnr Genlerinin Tespiti	35
4.2.2. <i>A. baumannii</i> İzolatlarında Efflux Pompa Sistemini Kodlayan Genlerin Tespiti	35
4.2.3. <i>A. baumannii</i> İzolatlarında Modifiye Aminoglikozid Asetiltransferaz Geni aac(6')-Ib-cr Tespiti	35
4.3. <i>A. baumannii</i> izolatlarında aktarılabir direnç genlerinin Tespiti	37
5. TARTIŞMA-SONUÇ.....	39
KAYNAKLAR.....	46
EKLER	53
ÖZGEÇMİŞ	55

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. <i>A. baumannii</i> 'de direnç mekanizmalarının şematik gösterimi.	16
Şekil 2.2. Kinolon yapıları	17
Şekil 2.3. Topoizomeraz tip II alan yapıları.	20
Şekil 2.4. Kinolon direnç mekanizmaları.	24
Şekil 4.1. PCR ile pozitif kinolon direnç genlerinin elektroforez görüntüsü	35
Şekil 4.2. <i>qnrB</i> geninin görüntüsü	37
Şekil 4.3. Konjugasyonda kullanılan <i>E. coli</i> J53 izolatının kinolon duyarlılığının disk difüzyon yöntemiyle belirlenmesi	38
Şekil 4.4. Konjugasyonda sonrası <i>E. coli</i> J53 izolatının kinolon direncinin disk difüzyon yöntemiyle belirlenmesi.	38

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: Acinetobacter türlerinin tedavisinde kullanılan antibiyotikler.....	15
Tablo 2.2: Kinolon antimikrobiyallerin sınıflandırılması.....	18
Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan cihazlar	29
Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan primerler primer dizileri.	30
Tablo 3.3: Çalışmada kullanılan PCR karışımları	32
Tablo 3.4: Çalışmada kullanılan PCR döngüleri	32
Tablo 4.1: Çalışmada kullanılan <i>A. baumannii</i> izolatlarının izole edildiği klinik örneklerin dağılımı	34
Tablo 4.2: Çalışmada kullanılan izolatların hastane Karmed sisteminde antimikrobiyal duyarlılık sonuçları.....	34
Tablo 4.3: Kinolon dirençli <i>A. baumannii</i> izolatlarından PCR ile tespit edilen plazmid aracılı direnç genlerinin dağılımı.....	36
Tablo 4.4: Donör bakteri hücrelerinin kinolonlara duyarlılıkları	37

KISALTMALAR

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü (TheWorld Health Organisation)
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
PMQR	: Plasmid Mediated Quinolone Resistance
bp	: Baz çifti (base pair)
dNTP	: DeoksiNükleotit Üç Fosfat
Taq	: Thermus aquaticus
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİNOLON DİRENÇLİ *Acinetobacter baumannii* İZOLATLARINDA PLAZMİD ARACILI KİNOLON DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

Duha Nagim Abdallh ABDALLH

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Cihat ÖZTÜRK

Antibiyotikler, hastane veya toplum kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaçlardır. Antibiyotiklerin yaygın ve akılcı olmayan kullanımına bağlı olarak meydana gelen direnç, günümüzde özellikle nazokomiyal enfeksiyonlarda morbidite ve mortalitenin artmasına neden olmaktadır. *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) ülkemizde ve dünyada birçok antibiyotiğe hızlı direnç geliştirmesi dolayısıyla en önemli nazokomiyal etkenlerden biridir. Bu çalışmada, Kırşehir Eğitim-Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında çeşitli klinik izolatlardan izole edilen ve Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda stoklanan kinolonlara dirençli *A. baumannii* izolatlarında plazmit aracılı kinolon direnç genlerinin varlığı araştırıldı. İzolatların tamamı siprofloksasin, gentamisin, levofloksasin, gentamisin, amikasin dirençli iken kolistin duyarlı olarak tespit edildi. Çalışmada, *A. baumannii* izolatlarında plazmid aracılığı ile aktarılabilen kinolon (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS*, *qepA*, *oqxA*, *oqxB*) ve aminoglikozid (*aac(6)-Ib*) direnç genleri konvansiyonel PCR yöntemiyle incelendi. Kinolon ve aminoglikozid dirençli *A. baumannii* İzolatlarının 24 (%82,8)'ünde *qnrB*, 3 (%10,3)'ünde *qnrS*, 16 (%55,2)'sında *oqxA*, 3 (%10,3)'ünde *oqxB* ve 15 (%51,7)'inde *aac(6)-Ib* geni tespit edilirken, plazmid aracılı diğer (*qnrA*, *qnrC*, *qnrD* ve *qepA*) genlerinin hiçbiri belirlenmedi. PCR sonrası yapılan konjugasyon deneyinde *qnrB* genine sahip bir

izolatın konjugatif plazmide sahip olduğu saptandı. Sonuç olarak yapılan bu çalışmada, izolatların büyük çoğunluğunun (%97), incelenen plazmid aracılı direnç genlerinden en az biri bakımından pozitif bulunması ve bir izolatta *qnrB* geninin konjugatif bir plazmid üzerinde bulunduğu saptanmıştır. Bu durumun, plazmid aracılı kinolon direncinin, nazokomiyal etkenlerde potansiyel olarak kinolon direncinde artışa neden olabileceği ve dolayısıyla daha fazla örneklem ile yeni çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Ocak 2024, 70 Sayfa

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii* , konjugasyon , plazmid, kinolon direnç geni.

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION of PLASMID MEDIATED QUINOLONE RESISTANCE GENES in QUINOLONE-RESISTANT *Acinetobacter baumannii* ISOLATES

KIRŞEHİR AHI EVRAN UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

DEPARTMENT OF MOLECULAR MEDICINE

Duha Nagim Abdallh ABDALLH

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Cihat ÖZTÜRK

Antibiotics are drugs often used in the treatment of hospital or community-acquired infections. Resistance that occurs due to the widespread and irrational use of antibiotics causes serious health problems today. *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) is one of the most important nosocomial agents due to the rapid development of resistance to many antibiotics in our country and in the world. In this study, the presence of plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) genes was investigated in 29 *A. baumannii* isolates resistant to quinolones, isolated from various clinical isolates and stored in the culture collection of Kırşehir Ahi Evran University Medical Microbiology Laboratory. All isolates resistant to ciprofloxacin, gentamicin, levofloxacin, gentamicin, amikacin, except for colistin. In the study, quinolone (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS*, *qepA*, *oqxA*, *oqxB*) and aminoglycoside (*aac(6')-Ib*) resistance genes that can be transferred via plasmid in *A. baumannii* isolates were examined by conventional PCR method. In the quinolone and aminoglycoside resistant *A. baumannii* isolates, *qnrB*, *qnrS*, *oqxA*, *oqxB*, *aac(6')-Ib* genes were detected as 24 (82,8%), 3 (10,3%), 16 (55,2%), 3 (10,3%), 15 (51,7%) , respectively, While none of the other plasmid-mediated (*qnrA*, *qnrC*, *qnrD* and *qepA*) genes were detected. In the conjugation experiment performed after PCR, an isolate with the *qnrB* gene was found to have a conjugative plasmid. In conclusion; In this study, it was concluded that the majority

of the isolates (97%) were found to have at least one of the resistance genes examined and that *qnrB*, which is transferred by a conjugative plasmid, could potentially lead to an increase in the development of antibiotic resistance in bacteria in nosocomial agents in Kırşehir, therefore, new studies should be conducted with more samples.

January 2024, 70 Pages

Keywords: *Acinetobacter baumannii* , conjugation , plasmid, quinolone resistance gene

1. GİRİŞ

Nozokomiyal enfeksiyonlar (NI), hastaneye başvuran hastalarda enfeksiyona neden olan farklı toksinler veya enfeksiyöz ajanlarla ilişkilidir. Bu enfeksiyonların hastanın hastanede kaldığı süre boyunca hastane sınırlarına yayılması muhtemeldir. Hastane enfeksiyonlarının (HE) yüzde 80'i nozokomiyal pnömoni enfeksiyonu, nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonu, nozokomiyal idrar yolu enfeksiyonları ve nozokomiyal cerrahi alan enfeksiyonları şeklindedir. NI'lerin görülme oranı, zaman farklılıklarının yanı sıra bir bölgeden diğerine değişmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) verdiği bilgilere göre her 100 hastadan 7'si gelişmiş ülkelerde, 10'u gelişmekte olan bölgelerde hastane enfeksiyonu şüphesi taşımaktadır [1].

Antimikrobiyal veya antibiyotik direnci, dünya çapında sağlık sistemlerine artan maliyetler getiren büyük ve heyecan verici bir olgu olarak ortaya çıkmıştır. Son yıllarda bu durum, hastanede yatış ve tedavi sürelerinin uzaması nedeniyle ciddi morbidite ve mortaliteye ve artan maliyete neden olmuştur. Geçmiş yıllardaki çok merkezli çalışmalardan elde edilen veriler, primer veya sekonder immün yetmezliği olan yaşlı hastaların sayısının artmasıyla birlikte toplum ~~dan~~ ve hastane kaynaklı antimikrobiyal direncin de arttığını göstermiştir. Her yıl hastane enfeksiyonları yaklaşık 1,4 milyon enfeksiyona neden olur ve çok sayıda çalışma, *Acinetobacter* enfeksiyonlarını hastane enfeksiyonlarının önde gelen nedeni olarak tanımlamıştır [2, 3].

Fermentatif olmayan gram negatif basiller *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* ciddi bir endişe kaynağı olarak ortaya çıkmıştır. Bunlar, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Enterobacter spp.* ile birlikte belgelenen en yaygın ve ciddi çoklu ilaç direnci (Multiple Drug Resistance = MDR) patojenleri arasındadır [4]. MDR organizmalarının neden olduğu hastane enfeksiyonları önemli küresel sağlık sorunlarıdır. Tedavisi çok zordur ve kötü klinik sonuçların, morbiditenin, mortalitenin, uzun süreli hastanede kalış süresinin ve yüksek sağlık bakım maliyetlerinin ana nedenleridir [4].

A. baumannii, ağırlıklı olarak hastane enfeksiyonlarına neden olan Moraxellaceae familyasına aittir. Bu enfeksiyonlar çok çeşitlidir ve hastane kaynaklı ve ventilatörle ilişkili pnömoni (HAP, VAP), idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, bakteriyemi ve gastrointestinal ve deri/yara enfeksiyonlarını içerebilmektedir [4]. *A. baumannii*, ortaya çıkan ve sürekli artan direnç nedeniyle insan sağlığına yönelik küresel bir tehdit ve tedavi sorunu oluşturan ESKAPE organizmalarından (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter spp.*) biridir[4].

Karbapenemler, çoklu ilaca dirençli (MDR) *A. baumannii* enfeksiyonlarının tercih edilen tedavisiydi, ancak bunların yaygın ve kontrolsüz kullanılması, son yıllarda karbapenem direncinin görülme sıklığının artmasına neden olmuştur. Karbapenem dirençli *A. baumannii* (CRAB), 2018 yılında WHO tarafından antibiyotik araştırma ve geliştirmesinde bir numaralı öncelik olarak sıralanmıştır. Karbapenem bir belirteç olarak seçildi çünkü karbapenem direnci genellikle diğer antibiyotik sınıflarına karşı geniş bir ortak direnç aralığıyla ilişkilidir. Başlangıçta sistemik toksisiteler (nefrotoksisite ve nörotoksisite) nedeniyle bunlardan kaçınılmasına rağmen, polimiksinler artık MDR *A. baumannii* enfeksiyonları için tercih edilen antibiyotik olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Kapsamlı ilaca dirençli (Extensively Drug Resistant = XDR) *A. baumannii*, üç veya daha fazla antimikrobiyal sınıfına (penisilinler ve sefalosporinler; inhibitör kombinasyonları, florokinolonlar ve aminoglikozidler dahil, çoğu durumda karbapenemlere dirençli) dirençli bir izolat olarak adlandırılmaktadır. *A. baumannii* hızla hastane ortamına yayılabilir [4]. *A. baumannii*; amoksisilin, ampisilin, ve birinci kuşak sefalosporinlere karşı doğal direnç mevcuttur. Enterobacteriaceae familyasında kinolon direncinin, kinolon direnci belirleme bölgesindeki DNA giraz ve topoizomeraz IV genlerindeki nokta mutasyonların yanı sıra akış pompası ve plazmidlerdeki değişikliklerden kaynaklandığı rapor edilmiştir [4].

Bakterilerdeki plazmidler ile kazanılan kinolon direnci, kinolonlar DNA giraz ve topoizomeraz IV'ü koruyan pentapeptid tekrar ailesi proteinlerini kodlayan *qnr* genleri tarafından kontrol edilir. *Qnr* genlerinin, akuatik bakterilerin kromozomal genlerinde, sıklıkla plazmidlerde bulunan mobilize ve transpozal elementler yoluyla ve sıklıkla sul1 tipi integronlarda olduğu gösterilmiştir [5, 6]. *QnrA*, *qnrB* ve *qnrS*, *qnrC* ve *qnrD*'nin plazmid aracılı kinolon direncinde önemli rollere sahip olduğu rapor edilmiştir [7]. Bakterilerde *qnr* genleri dışındaki plazmitler tarafından taşınan ikinci bir direnç mekanizması, aminoglikozid asetiltransferaz *aac(6)-Ib* asetilat enziminin kodlanmasıyla bakteride enzimatik

inaktivasyon meydana getirerek direnç geliştirebilir. Bakterilerde plazmit aracılı direnç gelişimini sağlayan üçüncü mekanizma ise akış pompasıdır. Bu mekanizmanın *A. baumannii*'ye plazmit üzerinde yer alan *qepAB* ve *oqxAB* genleri aracılığıyla aktarıldığı rapor edilmiştir [8].

Bu çalışmada, Kırşehir'deki hastaların klinik örneklerinden izole edilen kinolon dirençli 29 *A. baumannii* izolatında plazmit aracılı kinolon genlerinin (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS*, *qepA*, *oqxA*, *oqxB*, *aac(6')-Ib*) tanımlanması ve bu genleri içeren plazmidlerin transfer edilebilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır[8].

2. GENEL BİLGİLER

Hollandalı mikrobiyolog Beijerinck, 1911 yılında *Acinetobacter* spp. cinsini topraktan bir organizmayı izole ettikten sonra bu bakteri cinsinin ilk tanımını yayınlamıştır [9, 10]. Topraktan tanımlanan bakterilerin isimleri *Micrococcus calcoaceticus*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacterium anitratum*, *Moraxella glucidolytica*, *Neisseria winogradsky*, *Alcaligenes haemolysans*, *Mima polymorpha* ve *Moraxella woffii* olarak isimlendirilmiştir. 1954 yılında Brisou ve Prevot tarafından önerildikten sonra, mevcut cins adı olan *Acinetobacter* (Yunancada hareketsiz anlamına gelen *akinetos* kelimesinden türetilmiştir) 1968 yılında onaylanmıştır. Sonunda bu sınıflandırma 1974 yılında Bergey'nin Sistematik Bakteriyoloji El Kitabı'na dahil edildi. 1986'da Bouvet ve Grimont, *Acinetobacter* cinsini ve türünü tanımlamak için fenotipik testlerin kullanılma biçiminde değişiklikler olduğunu fark ettiler. Bu cinsin her bir üyesinin çeşitli substratlara uyum sağlamasını sağlayan benzersiz bir katabolik yola sahip olması nedeniyle bu farklılıklar ortaya çıkmıştır. Çeşitli türleri tanımlamak için DNA hibridizasyon deneylerinin başlatılmasının ardından, %70'ten fazla DNA-DNA ilişkisi sergileyen homoloji gruplamalarına yeni genomik türler olarak adlandırılmıştır. Şu an itibariyle *Acinetobacter*'de 32 genotür tespit edilmiştir. *A. calcoaceticus-baumannii* kompleksi dört genotür içerir: genotür 1, *A. calcoaceticus*; genotür 2, *A. baumannii*; genotür 3, *A. pittii*; ve genotür 13TU, *A. nosocomialis*. Bunlar arasında *A. baumannii*, hastane enfeksiyonlarında en sık izole edilen bakteri türü olması dolayısıyla klinik ortamda en önemli tür olarak tanımlanmaktadır [11]. *Acinetobacter* türleri son birkaç on yılda idrar yolu enfeksiyonları, nozokomiyal pnömoni, bakteriyemi, sekonder menenjit ve yanık kurbanlarında süperenfeksiyonlar dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. *Acinetobacter* türleri, temel antibiyotik sınıflarına karşı çeşitli direnç mekanizmaları geliştirme yetenekleri açısından dikkate değerdir. Bu onların en belirgin özelliklerinden biridir. Geniş spektrumlu β -laktamlar olan üçüncü kuşak sefalosporinlere, karboksipenisilinlere ve karbapenemlere karşı güçlü bir direnç geliştirmişlerdir. Bakterilerin çoğunluğu florokinolonlara dirençlidir ve aminoglikozitleri etkisiz hale getiren çok çeşitli enzimler üretirler. *Acinetobacter*'in yoğun bakım doktorları için önemli bir sorun olan nozokomiyal enfeksiyonlarda önemli bir rol

oynadığı artık iyi bilinmektedir. Bu, enfeksiyonların ciddiyeti ve bu organizmaların ana antibiyotik sınıflarına karşı çoklu ilaç direnci geliştirmesi ile ilişkilidir [12].

2.1. Mikrobiyolojik özellikler

Acinetobacter türleri zorunlu aerob, Gram-negatif, kokobasil, -hareketsiz, nitrati nitrite indirgeyemeyen, DNA G+C içeriği %39-47 mol olan bir türdür. Onu diğer Gram negatif basillerden (katalaz pozitif, oksidaz negatif ve indol negatif) ayırmak için çeşitli biyokimyasal testler kullanılır [13]. Genel besiyerlerinde iyi ürerler ve asetat, yağ asitleri ve bazen hidrokarbonlar dahil olmak üzere tek bir karbon kaynağına sahip basit mineral ortamda büyüebilirler. Acinetobacter izolasyonunda yaygın olarak kanlı agar, Macconkey agars ve eozin-meitlen blue agar besiyerleri kullanılmaktadır. Acinetobacter kokobasil, diplokok veya basil şekilde görünebilmektedir [13]. Hızlı büyüme aşamasında Acinetobacter türleri kısa, geniş Gram negatif basillere benzer, ancak durağan aşamada daha kokobasil formuna bürünürler. Acinetobacter 30'dan fazla farklı tür içeren bir cinistir [14]. Bu türlerin çoğunluğu çevresel mikroorganizmalar olup hiçbiri insan hastalıklarıyla ilişkilendirilmemiştir [15]. Klinik literatürde en sık görülen türler *A. baumannii*, *A. calcoaceticus* ve *A. lwoffii*'dir. Yalnızca fenotipik özelliklere dayanarak Acinetobacter türlerini ayırt etmek zor olabilir, bundan dolayı *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleksi (ACB) adı verilmiştir [16].

Genotür 1 (*A. calcoaceticus*), Genotür 2 (*A. baumannii*), Genotür 3 ve Genotür 13TU, ACB'nin kurucu parçalarıdır [16]. ACB kompleksinin ikinci cinsi olan *A. baumannii* antibiyotiklere en dirençli ve aynı zamanda klinik önemi en yüksek olan türdür [17]. *A. calcoaceticus*, *A. iwoffii* ve *A. johnsonii* hastalıklarla ilişkilendirilen diğer türlerdir. *A. junii* son zamanlarda fırsatçı bir patojen olarak rapor edilmiştir [18].

2.2. Epidemiyoloji

Acinetobacter enfeksiyonları, ılıman iklimlerdeki hastanelerdeki salgınları, doğal afetler ve savaşla bağlantılı enfeksiyonları ve tropikal ortamlarla bağlantılı enfeksiyonları içeren çok çeşitli bir epidemiyolojiye sahiptir [19]. Su ve topraktaki doğal yaşam alanlarına ek olarak evcil hayvanlar, eklembacaklılar ve yiyecek hayvanları da potansiyel rezervuarlardır [20]. Acinetobacter insanlarda solunum ve gastrointestinal sistemlere, cilde, yaralara ve cilde sızabilir [21]. Alt solunum sistemine aspirasyon durumunda oral

biyofilmlerde de bulunarak pnömoniye yol açabilir [22, 23]. Kuru çevrede haftalarca dayanabilme yeteneklerinden dolayı, bazı Acinetobacter suşlarının hastanedeki fomit kontaminasyonu yoluyla yayılma olasılıkları daha yüksektir [24].

Acinetobacter 1970'lerden beri ılıman bölgelerde hastane kaynaklı enfeksiyonların sıklığı artmıştır [25]. Hayatta kalma yetenekleri ve temel antibiyotik sınıflarına karşı hızlı bir şekilde direnç geliştirmeleri dolayısıyla dikkat çekmektedir [26]. Nozokomiyal Acinetobacter enfeksiyonlarının yılın diğer zamanlarına göre yaz aylarında daha sık rastlandığı görülmektedir. 1987 ve 1996 yılları arasında ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezlerine (CDC) bildirilen 3447 Acinetobacter enfeksiyonunun incelenmesine göre, enfeksiyon oranları Temmuz'dan Ekim'e kadar yılın diğer zamanlarına göre kabaca %50 daha yüksekti [26]. Sağlık hizmeti ortamlarıyla bağlantılı enfeksiyonlara neden olan en yaygın mikroorganizmalar ile ilgili, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Ulusal Sağlık Güvenliği Ağı'nın (NHSN) 2016 tarihli bir raporuna göre; ventilatörle ilişkili pnömoni izolatlarının %12,8'inin, sistemik enfeksiyon izolatlarının %8,8'inin, kataterle ilişkili UT enfeksiyon izolatlarının %1,3'ünün ve cerrahi bölge izolatlarının %1,3'ünün Acinetobacter türlerini içerdiği görülmektedir. Acinetobacter enfeksiyonları genellikle uzun süreli bakım ortamlarındaki yaşlı hastaları ve yoğun bakım ünitelerindeki (YBÜ) hasta çocukları ve yetişkinleri etkilemektedir [27]. Acinetobacter enfeksiyonu olan hastaların yoğun bakımda daha fazla zaman geçirdiği ve organ yetmezliği oranının daha yüksek olduğu görülmüştür. Yoğun bakım ünitesinde kalış, kadın cinsiyet, ileri yaş, pnömoni, diyabet ve septik şok, Acinetobacter enfeksiyonlu hastalarda mortalite için risk faktörleridir [27].

2.2.1. Hastane kaynaklı pnömoni

Acinetobacter kaynaklı pnömoni tipik olarak, mekanik ventilasyona ihtiyaç duyan yoğun bakım ünitesi (YBÜ) hastalarını etkileyen, geç başlangıçlı bir durumdur. Nozokomiyal Acinetobacter pnömonisi vakalarının çoğunluğu, halihazırda enfeksiyon geçirmiş kişileri içermektedir. Mekanik ventilasyondaki hastalarda hava yolu kolonizasyonu gerçek Acinetobacter kaynaklı pnömoniden ayrılmalıdır. Dokuz farklı Avrupa ülkesindeki 27 yoğun bakım ünitesinde yapılan prospektif gözlemsel analiz, *A. baumannii*'nin nozokomiyal pnömoniye neden olan en yaygın organizmalar arasında olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu ülkeler arasında Yunanistan ve Türkiye de bulunmaktadır [28].

Acinetobacter ile ilişkili nozokomiyal pnömoni, çoklu ilaca dirençli izolatlarla ve % 35 ila 70'lik ölüm oranlarıyla bağlantılıdır; ancak hastaların çoğunda yaşamı tehdit eden başka hastalıkların da olması nedeniyle kesin ölüm nedenini belirlemek zor olabilir [29]. Acinetobacter kaynaklı enfeksiyonlar, altta yatan hastalıklar dikkate alındığında diğer hastane enfeksiyonlarından öne çıkan bir özelliği de çoklu ilaca dirençli olması dolayısıyla, Acinetobacter kaynaklı bir enfeksiyonu olan hastaların hastanede ve yoğun bakımda kalış sürelerinin daha uzun olmasına neden olmaktadır. Bir çalışma, çoklu ilaca dirençli Acinetobacter'in neden olduğu enfeksiyonlara sahip hastaların ölüm oranlarının, duyarlı Acinetobacter türlerinin neden olduğu enfeksiyonlara sahip hastalara veya enfekte olmamış hastalara göre daha yüksek olduğunu bulmuştur. Genel olarak sepsis semptomları ve pozitif kan kültürleri tipik olarak kötü prognoza işaret etmektedir [30, 31]. Örneğin nozokomiyal *A. baumannii/calcoaceticus* kompleks pnömonisi olan hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada, şiddetli sepsis ve septik şok, 30 günlük mortalitenin bağımsız belirleyicileriydi. Ek olarak, diğer gram-negatif basillerin neden olduğu pnömoni hastaları veya sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında, Acinetobacter'in neden olduğu pnömoni hastaları, pozitif kültürlerin keşfedilmesinden önce yoğun bakım ünitesinde daha uzun süre ventilatör günü yatışına sahip olduğu bildirilmiştir [31].

2.3. *A. baumannii*'nin Patojenitesi

Acinetobacter türleri, genellikle düşük virülans potansiyeline sahip patojenler olarak kabul edilir ve sağlıklı bağışıklık sistemine sahip bireylerde enfeksiyon oluşturma riski oldukça düşüktür [32]. Ancak, *A. baumannii*'nin, özellikle yoğun bakım ünitelerinde, sağlık hizmeti ile ilişkili hastalıkların yayılmasında önemli bir rol oynadığı belirlenmiştir. Bu patojenin nozokomiyal salgınları, hastane ortamlarında kalıcı kontaminasyon kapasitesi ile ilişkilendirilmektedir. *A. baumannii* kaynaklı sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlar, genel servislerde yaklaşık %26 olan ölüm oranını, yoğun bakım ünitelerinde %43 seviyesine yükseltmektedir. Bu organizmanın patojenitesini artıran beş ana mekanizma tanımlanmıştır: biyofilm oluşturma, ompA, kapsül oluşumu, siderofor üretimi gibi özellikler bu mekanizmalar arasında yer almakta ve *A. baumannii*'nin hastanelerde yayılmasını ve enfeksiyonlara yol açmasını kolaylaştırmaktadır. Bu bilgiler ışığında, *A. baumannii*'nin sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda oynadığı rolün detaylı bir şekilde incelenmesi ve bu enfeksiyonların kontrol altına alınması için etkili yöntemlerin geliştirilmesi gerekmektedir [33].

Acinetobacter türleri, hem abiyotik (cansız) hem de biyotik (canlı) yüzeyler üzerinde kolonize olarak biyofilmler oluşturma yeteneğine sahiptir. Bu biyofilmler, bakteriyel kolonizasyon, mikrokoloniler ve ekzopolisakkaritlerin birikimi sonucu meydana gelmektedir. Biyofilm oluşumu, bakterilerin ev sahibi organizmanın bağışıklık sisteminden kaçınmasına ve antimikrobiyal tedavilere direnç göstermesine olanak tanır. Bu süreç, özellikle çekirdek algılama ve iki bileşenli düzenleyici sistemler gibi moleküler mekanizmalar tarafından düzenlenir. Biyofilm yapısının önemli bileşenleri arasında hücre dışı polisakkaritler, pili (bakteriyel çıkıntılar), Bap (biyofilm bağlayıcı protein) ve dış zar proteinleri yer alır. Özellikle Staphylococcus aureus'ta bulunan Bap proteinine benzer biyofilm ilişkili proteinlerin (BapAb) oluşumu, Acinetobacter baumannii'nin stres koşullarına adaptasyonu ve çevresel streslere yanıt verme kapasitesinin bir göstergesi olduğu bildirilmiştir [34].

Acinetobacter türlerinin patojenezinde, özellikle de biyofilm oluşumu ve epitel hücrelerine adhezyon süreçlerinde, OmpA proteininin kritik bir öneme sahip olduğu belirtilmektedir. OmpA'nın, Acinetobacter türlerinin sağlam bir biyofilmin oluşmasını sağlayarak ve epitel hücrelerine etkili bir şekilde yapışarak, mikroorganizmanın ev sahibi hücrelere karşı direncini artırdığı gösterilmiştir. Bu mekanizma, OmpA'nın sitokrom c ve apoptozu indükleyen faktörlerin salınımını tetikleyerek hücre apoptozuna yol açmasını içermektedir. Ayrıca, OmpA'nın ikinci kompleman yolunun bir antagonisti olan Faktör H'nin bağlanmasına yardımcı olması, mikroorganizmanın ev sahibi immün sistemine karşı olan direncini daha da pekiştirmektedir. Bu bulgular, Acinetobacter baumannii'nin patojenesinde ve antimikrobiyal direnç mekanizmalarında OmpA proteininin merkezi bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Bu çalışmalar, enfeksiyonların tedavisi ve yönetimi konusunda yeni stratejilerin geliştirilmesinde önemli bir temel teşkil etmektedir [35].

Acinetobacter baumannii izolatlarının, fagositozu engelleyen bir mekanizma olarak işlev gören antifagositik özelliklere sahip polisakkarit kapsüller taşıyabildikleri belirlenmiştir. Bu polisakkarit kapsüller, bakteriyi insan bağışıklık sisteminin birincil savunma mekanizmalarından biri olan fagositozdan koruyarak, mikroorganizmanın ev sahibi organizma içerisinde hayatta kalmasını ve çoğalmasını sağlar. Bu özellik, A. baumannii'nin nozokomiyal enfeksiyonlarda yaygın olarak rastlanan bir patojen olmasının altında yatan önemli faktörlerden biridir. Polisakkarit kapsül, bakterinin antijenik yapısını maskeleyerek immün sistem tarafından tanınmasını zorlaştırır ve dolayısıyla enfeksiyonun

tedavisini karmaşıklaştırabilir. *A. baumannii*'nin virülansını artıran kapsül, aynı zamanda antimikrobiyal tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde de dikkate alınması gereken bir mekanizmayı ortaya koymaktadır [36].

Acinetobacter izolatlarının demir eksikliği koşullarında uzun süre hayatta kalabilme yeteneği, konakçıdan demiri etkili bir şekilde bağlayabilen ve tutabilen bir katekol türü siderofor olan "acinetobactin"e bağlıdır. Acinetobactin'in, *Acinetobacter* türlerinin demir ihtiyacını karşılamada kritik bir rol oynadığını ve bu sayede mikroorganizmanın demir kısıtlı ortamlarda bile gelişebilme kabiliyetini desteklediğini ortaya koymaktadır. Acinetobactin, mikroorganizmanın konakçıdan demir elde etmesini kolaylaştırarak, *Acinetobacter*'in virülansını ve hayatta kalma oranlarını artırmaktadır. Bu bilgiler, *Acinetobacter* izolatlarının demir eksikliği koşullarında uzun süre hayatta kalma yeteneğinin moleküler temellerini anlamamıza yardımcı olur ve potansiyel olarak bu patojenlere karşı mücadelede yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak tanır [37].

Fimbrialar, mikroorganizmaların çevresel yüzeylere ve biyotik yüzeylere, örneğin bronşiyal epitel hücrelerine tutunmasında ve kolonizasyonunda önemli bir role sahiptirler. tarafından yapılan çalışmalar, fimbriaların, bakterilerin ev sahibi dokulara yapışmasını ve bu yüzeylerde etkili bir şekilde kolonize olmasını sağlayan kritik yapısal elemanlar olduğunu vurgulamaktadır. Bu yapışma ve kolonizasyon süreci, bakteriyel patojenlerin ev sahibi organizmada enfeksiyon oluşturma kabiliyetinin temelini oluşturur. Fimbrialar, bakteriyel hücrenin dış membranından çıkan ince, iplikçi yapılar olup, doğrudan bakteriyel virülans ve hastalık oluşturma kapasitesi ile ilişkilidir. Bronşiyal epitel hücreleri gibi spesifik hücrelere yapışma yetenekleri, fimbriaların bakteriyel patojenlerin solunum yolu enfeksiyonlarında önemli bir faktör olmasını sağlar. Bu nedenle, fimbriaların yapısı ve işlevi üzerine yapılan araştırmalar, enfeksiyon mekanizmalarının daha iyi anlaşılması ve potansiyel olarak yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır [38].

2.4. Klinik Özellikler

Acinetobacter türlerinin enfeksiyonları, özellikle kan dolaşımı enfeksiyonları ve ventilatörle ilişkili pnömoni olmak üzere, klinik pratikte sıkça karşılaşılan durumları temsil etmektedir [38]. Bu mikroorganizma, insan derisi, yaralar, solunum ve gastrointestinal sistemler gibi çeşitli biyolojik nişlerde kolonize olabilme yeteneğine sahiptir. Enfeksiyonların çoğunun bir tür kolonizasyonla başladığı ve bu nedenle kolonizasyon ile

aktif enfeksiyon arasındaki ayrımın yapılmasının zor olabileceği vurgulanmıştır. Bu durum, *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tanı ve yönetiminde önemli zorluklar oluşturmaktadır. Enfeksiyon kontrol stratejileri, mikroorganizmanın yayılmasını engellemek ve risk altındaki hastaları korumak için bu kolonizasyon dinamiklerini anlamayı ve yönetmeyi gerektirir. *Acinetobacter*'in çeşitli vücut sistemlerinde kolonizasyon yeteneği, özellikle zayıflamış bağışıklık sistemi olan bireylerde veya invaziv tıbbi işlemlere maruz kalan hastalarda ciddi enfeksiyon riskini artırabildiği bildirilmektedir [39].

Nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonları arasında *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu vakaların oranı %1,5 ila %2,4 arasında değişmektedir [40]. Bu enfeksiyonların en yaygın kaynakları arasında vasküler kateterler ve solunum yolları yer alırken, idrar yolları ve yaralar gibi diğer potansiyel enfeksiyon kaynakları daha az sıklıkla rapor edilmiştir. *Acinetobacter* kan dolaşımı enfeksiyonu vakalarının yaklaşık %36'sının polimikrobiyal olduğu ve cilt florasını içerdiği, bu durumun bazı kan izolatlarının cilt veya çevresel kontaminasyon sonucu oluşmuş olabileceğini gösterdiği belirtilmiştir [40].

Acinetobacter kan dolaşımı enfeksiyonları için belirlenen risk faktörleri arasında yoğun bakım ünitesinde kalış, mekanik ventilasyon, önceki cerrahi müdahaleler, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, immünsüpresyon, travma, yanıklar, malignite, santral venöz kateter kullanımı, invaziv prosedürler ve uzun süreli hastanede yatış bulunmaktadır [41]. *Acinetobacter* bakteriyemisi olan hastaların üçte birinde septik şok gelişebilir ve bu durumlar %20 ile %60 arasında değişen ölüm oranlarıyla ilişkilendirilir. Ancak, bu ölüm oranlarını diğer komorbiditelerden tam olarak ayırt etmek zordur [42].

Acinetobacter pnömonisi kaynaklı bakteriyeminin, kateter kaynaklı bakteriyemilere kıyasla daha yüksek ölüm oranına sahip olduğu belirtilmiştir (%39'a karşın %4) [42]. Ayrıca, *A. baumannii* bakteriyemisi ile ilişkili 30 günlük mortalite oranı, çoklu ilaç direnci ve mekanik ventilasyon kullanımı ile de ilişkilendirilmiştir. *Acinetobacter* kan dolaşımı enfeksiyonlarının ek klinik belirtileri, genel olarak gram-negatif basillerin neden olduğu bakteriyemi ile benzerlik gösterir [42].

Acinetobacter spp., hem doğal hem de yapay kalp kapaklarında enfektif endokarditin sporadik bir nedeni olarak tanımlanmıştır. Bu durum, Tilley ve Roberts (1994) ile Guo ve diğerleri (2016) tarafından rapor edilmiştir. Valero ve diğerleri (1999) tarafından gerçekleştirilen ve 171 hasta üzerinde yapılan bir araştırmada, nozokomiyal bakteriyeminin

neden olduğu iki protez kalp kapak endokarditi vakasının *Acinetobacter* ile ilişkilendirildiği bulunmuştur. Bu bulgular, *Acinetobacter*'in, özellikle hastane ortamlarında, ciddi ve potansiyel olarak yaşamı tehdit eden enfeksiyonların nedeni olduğunu göstermektedir. *Acinetobacter* endokarditinin klinik özellikleri arasında akut başlangıç ve agresif seyir öne çıkar. Doğal kapak endokarditinin, protez kapak endokarditine göre daha yüksek bir ölüm oranına neden olduğu gözlemlenmiştir, bu durum büyük olasılıkla enfeksiyonun varlığına yönelik düşük şüphe indeksi nedeniyle tedavinin gecikmesinden kaynaklanmaktadır [43].

Nozokomiyal menenjit vakalarında *Acinetobacter* spp. bazen etken ajan olarak ortaya çıkar. Özellikle, kraniyotomi işlemlerini takiben meydana gelen menenjit vakalarında *Acinetobacter*'in rolü kayda değerdir. Rizos ve diğerleri (2007) gibi kaynaklarda bu tür vakaların incelenmesi, *Acinetobacter*'in menenjit vakalarında önemli bir patojen olabileceğini göstermektedir. Örneğin, bir çalışmada kraniyotomileri takip eden 95 menenjit vakasının ikisinde *Acinetobacter* spp. etken olarak bulunmuştur, bu durum *Acinetobacter*'in bu tür enfeksiyonlarda rol oynayabileceğine dair somut bir örnek sunar. Risk faktörleri arasında beyin kanaması, geçmiş antibiyotik tedavisi, beyin omurilik sıvısı (BOS) sızıntıları ve beyin cerrahisi prosedürleri sayılabilir [44]. *Acinetobacter* menenjitinin nozokomiyal salgınları, bazen beyin cerrahisi ünitelerinde kullanılan kontamine aspirasyon ekipmanı [45] ve bozuk metotreksatin intratekal uygulanması [46] gibi spesifik kaynaklarla ilişkilendirilmiştir. Bu enfeksiyonlar ciddi sonuçlar doğurabilir; ölüm oranları %20 ila %30 arasında değişir ve hayatta kalan hastalarda ciddi nörolojik bozukluklar görülebilir [47]. *Acinetobacter* menenjitinin daha nadir bir formu, ilaca dirençli olmayan ve toplum kökenli vakalardır. Bu tür enfeksiyonlar, çoğunlukla sıcak iklimlerde önceden sağlıklı bireyleri etkileyebilen nadir durumlar olarak rapor edilmiştir [48]. *Acinetobacter* menenjiti olan hastalarda en sık görülen semptomlar arasında meningeal belirtiler, ateş ve/veya nöbetler bulunur. BOS analizinde genellikle yüksek protein konsantrasyonu, düşük CSF-serum glikoz oranı ve nötrofilik dominans ile karakterize bir pleositoz gözlenir [48]. *Acinetobacter*'in BOS kültürlerinde sıklıkla bulunması, bazen klinik olarak önemsiz olarak değerlendirilse de, çok sayıda BOS örneğindeki varlığı, gerçek bir enfeksiyonun varlığına işaret edebileceği vurgulanmıştır [48].

Acinetobacter spp. cerrahi ve travmatik yaralarda kontaminasyona yol açabilme kapasitesi ile tanınır, bu durum ciddi yumuşak doku enfeksiyonlarına ve potansiyel olarak osteomyelite ilerleyebilecek enfeksiyonlara neden olabilir. Özellikle, cerrahi yara

enfeksiyonlarında Acinetobacter'in etken olduğu vakalar sıklıkla protez materyal gibi yabancı cisimlerin varlığı ile ilişkilendirilir ve bu durumlar genellikle geniş çaplı debridman işlemleri gerektirir. Bu mikroorganizma aynı zamanda nadiren selülit, folikülit, cilt apseleri ve nekrotizan fasiit gibi hem hastane hem de toplum kaynaklı cilt enfeksiyonlarıyla ilişkilendirilir, bu durum Acinetobacter'in geniş bir enfeksiyon spektrumuna sahip olduğunu gösterir [48].

Savaş yaralanmalarından sonra görülen çoklu ilaca dirençli Acinetobacter kompleksi ile ilişkili travmatik yara enfeksiyonları, özellikle sahra hastanelerindeki çevresel kontaminasyonun bu enfeksiyonların yayılmasında önemli bir faktör olduğunu ortaya koymaktadır. Acinetobacter ile ilişkili cilt enfeksiyonları genellikle cilt bütünlüğünün bozulması ile başlar ve selülit vakaları açık turuncu renk, net sınırlar, eritem ve ödem ile karakterize edilir. Bu lezyonlar zamanla zımpara kağıdı benzeri bir yüzey ve kesecikler geliştirebilir ve nihayetinde hemorajik büller oluşabilir [48].

Acinetobacter, özellikle kalıcı üriner kateterler mevcut olduğunda üriner sistemde kolayca kolonize olabilir; yine de enfeksiyonlar nadirdir [49]. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki tıbbi yoğun bakım ünitelerinde incelenen 5000 idrar yolu enfeksiyonunun %1,6'sının nedeninin Acinetobacter olduğu gösterilirken bu enfeksiyonların %95'i idrar sondalarıyla bağlantılı olduğu saptanmıştır [50]. Nadir olmasına rağmen toplum kaynaklı İYE'ler meydana gelebilir. Acinetobacter izolasyonu, enfeksiyonla ilişkili başka semptom veya belirtilerin yokluğunda kolonizasyona bağlanabilir [51].

Acinetobacter gözü enfekte edebilir veya gözde kolonize olabilir. Kontakt lens kullanıcılarının kolonileştiği gösterilmiştir [52]. Penetran travmayı takip eden enfeksiyonlar, endoftalmi, periorbital selülit ve kornea ülserleri oküler enfeksiyonların birkaç örneğidir [53]. Acinetobacter, 750 hastadan oluşan bir seride kornea ülserlerinin en sık görülen üçüncü nedeniydi ve vakaların %7'sini oluşturuyordu [54]. Enfeksiyonların çoğunluğu ameliyattan sonra, sıklıkla da katarakt ameliyatı gibi göz ameliyatlarından sonra meydana gelmiştir. Yoğun bakım ünitesine başvuran hastalarda Acinetobacter nozokomiyal sinüzite neden olabilir; mekanik ventilasyon ana risk faktörüdür [54]. Pnömoni, Acinetobacter sinüzitinin başlangıcıyla ilişkilendirilmiştir çünkü enfekte sinüsler, enfeksiyonun alt solunum yoluna yayılması için rezervuar görevi görür [54]. Periton diyalizi alan hastalarda Acinetobacter peritoniti geliştiği rapor edilmiştir . En tipik semptomlar diyalizattaki bulanıklık ve mide rahatsızlığıdır [55].

2.5. Teşhis

Klinik semptomlar, hasta materyalinde (balgam, kan veya beyin omurilik sıvısı gibi) *Acinetobacter* üremesinin yanı sıra o bölgede bir enfeksiyona işaret ettiğinde, *Acinetobacter* enfeksiyonu tanısı konur. *Acinetobacter* kolonizasyonunun yaygın olması, tedavinin zor olması ve ciddi zararlarla bağlantılı olabilmesi nedeniyle, tedavinin gerçek enfeksiyonlara ayrılmasıyla kolonizasyon ve enfeksiyon arasındaki ayırım çok önemlidir. Örneğin, ateş, lökositoz, artan solunum sekresyonları, daha fazla solunum desteği gerekliliği veya göğüs görüntülemesinde yeni bir anormallik olmadığında, ventile edilen bir hastanın balgamından izole edilen *Acinetobacter*'in enfeksiyondan ziyade kolonizasyonu göstermesi daha olasıdır. Pnömoni hastalarından alınan balgam örnekleri, enfeksiyon ve kolonizasyon arasında ayırım yapılmasına yardımcı olmak için kantitatif veya yarı kantitatif kültürlerde kullanılabilir [56].

2.6. Antibiyotik direnci

2.6.1. *A. baumannii*'de Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

A. baumannii giderek artan bir antibiyotik direnci geliştirmiştir ve piyasadaki hemen hemen her ilaca dirençli izolatları bulunmaktadır [57]. *A. baumannii*, aminopenisilinler ve birinci ve ikinci kuşak sefalosporinler de dahil olmak üzere yaygın olarak kullanılan birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençlidir, ve aynı zamanda geniş bir yelpazedeki ek ilaçlara karşı direnç geliştirme konusunda dikkate değer bir kapasite sergileyerek, biyolojik değişikliklere hızla tepki vermektedir [58]. Direnç yönündeki bu tür bir eğilim, *A. baumannii*'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisine yönelik mevcut kılavuzlar [58]. üzerinde önemli bir etkiye sahiptir ve kemoterapötik alternatifleri ciddi şekilde sınırlamaktadır [58]. Duyarlı organizmalar için birinci basamak tedavi, imipenem-silastatin, meropenem veya doripenem gibi bir karbapenem kullanımını gerektirir [59] burada imipenemin daha önce bu durumun neden olduğu VİP'in tedavisi için en iyi ilaç olduğu düşünülüyordu [59]. *A. baumannii*'nin neden olduğu ventilatörle ilişkili pnömoni (VİP) tedavisinde imipenem kullanımı, klinik iyileşme oranları açısından %57 ile %83 arasında bir başarı sunmaktadır. Ancak, her bir *A. baumannii* izolatının imipenem ve diğer karbapenemlere olan duyarlılığının klinik kullanımdan önce dikkatlice değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu değerlendirme, imipeneme duyarlı izolatların meropeneme karşı direnç gösterebileceği veya tam tersi durumun geçerli olabileceği gerçeğinden kaynaklanmaktadır [60]. *A. baumannii* izolatlarında karbapenemlere karşı direnç oranlarının dünya çapında artış gösterdiği

gözlemlenmektedir. Bu artış, mevcut antibiyotik seçeneklerinin azalmasına ve klinik uygulamada alternatif tedavi yöntemlerine yönelmesine neden olmaktadır

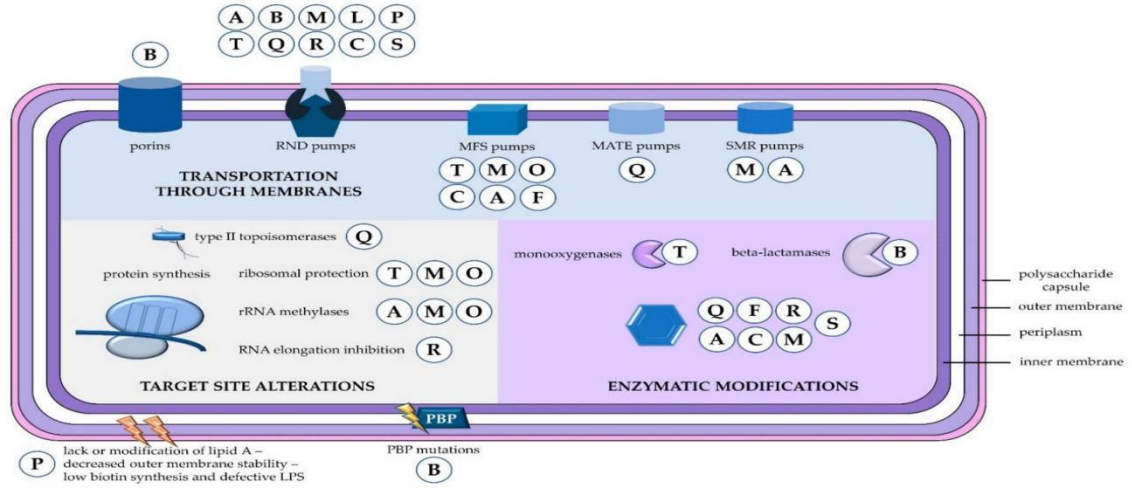
Kolistin (polimiksin E) ve polimiksin B, sırasıyla menenjit, bakteriyemi ve *A. baumannii* VİP'i tedavi etmek için kullanılmaktadır [60]. Yüksek oranda nefrotoksisite ve nörotoksisitenin yanı sıra akciğer dokusuna yetersiz nüfuz etmesi kolistinin önemli dezavantajlarıdır [61]. Alternatif ilaç olan minosiklin kullanıldığında, *A. baumannii* VİP'i ve ayrıca deri ve yumuşak doku enfeksiyonları olan bireylerde olumlu bir klinik ve mikrobiyolojik sonuç rapor edilmiştir [62]. Tigesiklin, değişen derecelerde başarı ile *A. baumannii* MRD ve XDR için alternatif bir antibiyotik olarak denenmiştir [63]. *A. baumannii* VİP ve bakteriyemi ile ilgili klinik çalışmalarda tigesiklin ile hasta sonuçları diğer ilaçlarla elde edilen sonuçların gerisinde kalmıştır [63]. *A. baumannii* penisilin bağlayıcı proteinlere olan doğal afinitesi yoluyla *A. baumannii*'ye karşı doğrudan antibakteriyel aktivite gösteren laktamaz inhibitörü sulbaktam, hem tetrasiklinler, minosiklin hem de tigesiklin için ilgi çekici bir ikame olabilir [64]. Direncin artmasına ek olarak, sulbaktam'ın ana dezavantajı, Amerika Birleşik Devletleri'nde yalnızca ampisilin ile kombinasyon halinde sunulmasıdır ve bu ilacın klinik etkinliği konusunda daha fazla araştırma yapılmasını gerektirmektedir [65]. *A. baumannii* enfeksiyonlarında kombinasyon tedavisi, ilaç duyarlılık testinin sonuçları öğrenilmeden önce antibiyotik kapsamını artırmak, direnç olasılığını azaltmak ve hasta sonuçlarını iyileştirmek için yaygın olarak kullanılan bir taktiktir. İnsan denemelerinden elde edilen sonuçlar azdır ve bunların bu hedeflere yönelik kullanımını destekleyecek kesin klinik veriler yoktur. Örneğin, polimiksin B monoterapisi, başka bir ilaçla (imipenem, meropenem, rifampin, ampisilin-sulbaktam veya diğer ilaçlar) kombinasyon halinde polimiksin B terapisinden daha yüksek bir ölüm oranıyla ilişkilendirilmiştir [65]. XDR *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisi için kolistin ve rifampini tek başına kolistin ile karşılaştıran randomize, çok merkezli bir çalışmanın kombinasyon koluna ayrılan hastalarda mikrobiyolojik yok etme iyileşmesi görüldü, ancak mortalitede bir fark yoktu [66]. Diğer kombinasyon rejimlerine göre sulbaktam, sefepim, meropenem, imipenem, amikasin veya rifampin ile birlikte kullanıldığında enfeksiyonun tedavisinde daha etkili olabilmektedir [66]. Kolistin-tigesiklin ve kolistin-karbapenem tedavisi iki alternatif kombinasyondur ; ikincisi tartışmasız en iyi desteklenendir ve çok sayıda denemede önerilmiştir [67]. Yakın zamanda yapılan bir çalışma aynı zamanda kolistin ve vankomisin arasında inanılmaz bir sinerjistik etkileşimi de ortaya çıkarmıştır [67]. Daha kapsamlı klinik araştırmaların yokluğunda, dirençli *A. baumannii* enfeksiyonları için ideal kombinasyon tedavisine ilişkin

net bir fikir birliğine henüz varılamamıştır. *A.baumannii*, modern tedaviler kullanıma sunulana ve kapsamlı bilimsel araştırmaya konu olan yeni antimikrobiyal ajanlar, bakteriyofajlar veya antimikrobiyal peptidler oluşturulana kadar direncini geliştirmeye devam edecektir [67].

Üç ana tip antibiyotik direnç mekanizması vardır. Birincisi, membran geçirgenliğini azaltarak direnç geliştirilebilir, ikincisi antibiyotiğin dışa atımını artırarak hedefe ulaşma yeteneğini engelleyebilir. Son olarak antibiyotikler hidroliz veya başka değişikliklerle etkisiz hale getirilebilir. Bakteriler aynı zamanda antibiyotik hedefini genetik mutasyon veya translasyon sonrası modifikasyon yoluyla da savunabilir. Bu cümle anlaşılmıyor. Şekil 1.1, bu sınıflandırmaya dayanarak *A. baumannii*'deki antibiyotik direncinin yollarını özetlemektedir [67].

Tablo 2.1: Acinetobacter türlerinin tedavisinde kullanılan antibiyotikler.

Antibiyotik kategorisi	Antibiyotikler
Aminoglikozidler	Gentamisin Tobramisin Amikasin Netilmisin
Karbapenemler	İmipenem Meropenem Doripenem
Florokinolonlar	Siprofloksasin Levofloksasin
Antipsödomonal penisilinler + b-lactamaz inhibitörleri	Piperasilin-azobaktam Tikarsilin-Klavulanik asit
Antibiyotik kategorisi	Antibiyotikler
Sefalosporinler	Sefotaksim Seftriakson Seftaksidim Sefepim
Folat yolu inhibitörleri	Trimetoprim-Sülfametoksazol
Penisilinler + b-laktamaz İnhibitörler	Ampisilin-sulbaktam
Polimiksinler	Kolistin Polimiksin B
Tetrasiklinler	Tetrasiklin Doksisiklin Minosiklin



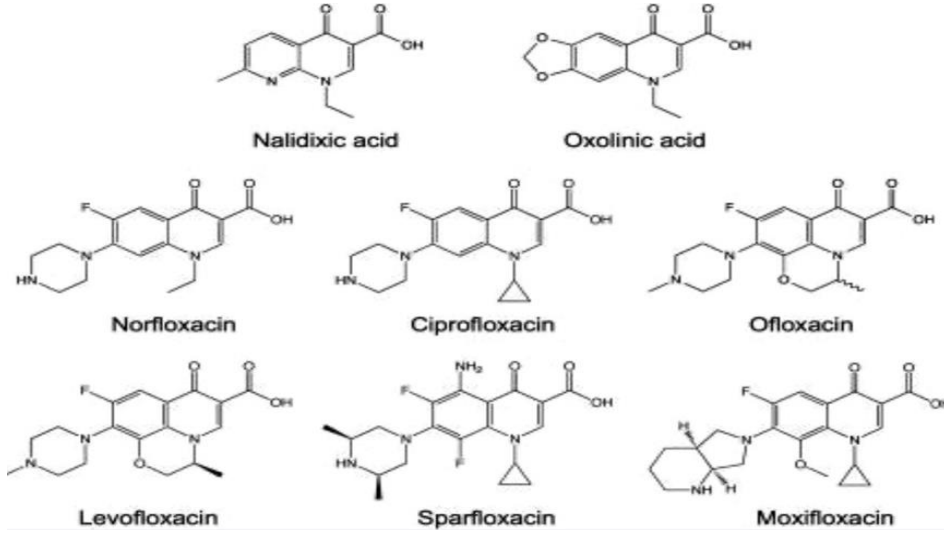
Şekil 2.1. *A. baumannii*'de direnç mekanizmalarının şematik gösterimi. Üç temel mekanizma antibiyotik direncinin gelişmesine yol açabilir. **1) Antibiyotik hedeflerinin modifikasyonu, 2) Antibiyotiklerin enzimatik inaktivasyonu 3) Membranlar aracılığıyla ilaç taşınmasının düzenlenmesi.** A: Aminoglikozidler, B: beta-laktamlar, C: kloramfenikol, P: fosfomisin, L: linkozamidler, M: makrolidler ve MATE veya çoklu ilaç ve toksik bileşik ekstrüzyonu, O = oksazolidinonlar, P = polimiksinler, PBP = penisilin bağlayıcı protein, Q = florokinolonlar, R = rifamisinler, MFS = ana kolaylaştırıcı süper ailesi ve RND, direnç-nodülasyon-bölünmesi anlamına gelir. S, küçük çoklu ilaç direnci ailesini temsil eder. T tetrasiklinleri temsil eder.

2.7. Kinolonlar

Kinolonlar, 1962 yılında George Lesher ve meslektaşları tarafından klorokin üretiminin bir yan ürünü olarak keşfedilen bir antibiyotik sınıfıdır. Bu keşif, antibakteriyel tedavide önemli bir dönüm noktası olarak kabul edilir ve kinolonların geniş bir antibakteriyel aktivite spektrumuna sahip olmaları nedeniyle, özellikle gram-negatif bakterilere karşı etkili oldukları bilinmektedir. Kinolonlar, bakteriyel DNA giraz ve topoisomerez IV enzimlerini inhibe ederek bakteriyel DNA replikasyonunu ve hücre bölünmesini engellerler, bu da onların hızlı antibakteriyel etkilerini açıklar [68].

1960'larda, nalidiksik asit, enterik bakterilerin neden olduğu basit idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde ilk kez tıbbi ortamlarda kullanılmıştır. Bu kullanım, kinolonların klinik öneminin ilk göstergelerinden biriydi [69]. 1970'li yıllara gelindiğinde, oksolinik asit gibi birkaç birinci nesil kinolon yaratıldı ve piyasaya sürüldü, bu ilaçlar özellikle gram-negatif bakterilere karşı etkiliydi ve antibakteriyel tedavide yeni bir dönem başlattı [69]. 1980'lerin başına kadar kinolonlar genel olarak yaygın kullanılan bir ilaç sınıfı değildi. Ancak, bu dönemde ikinci nesil kinolonların geliştirilmesi ile birlikte, norfloksasin, siprofloksasin ve ofloksasin gibi ilaçlar piyasaya sürüldü. Bu yeni ilaçlar, önceki nesillere göre DNA giraz enzimine karşı çok daha iyi aktiviteleri, Gram-pozitif organizmalara artan

penetrasyonu ve gelişmiş farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri ile öne çıktılar. Bu özellikler, kinolonların klinik uygulamada daha geniş bir kullanım alanı bulmasını sağladı ve bu sınıfa ait ilaçların bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde önemli bir yer edinmesine yol açtı [69].



Şekil 2.2. Kinolon yapıları.

Levofloksasin (ofloksasinin levorotary izomeri), sparfloksasin ve moksifloksasin, kinolon antibiyotik sınıfının gelişmiş üyeleri olarak, son yıllarda yapılan araştırmalarda geniş spektrumlu antibakteriyel aktivite ve iyileştirilmiş farmakokinetik özellikler sergilemişlerdir. Bu yeni nesil kinolonlar, antibiyotik direnciyle mücadelede önemli rol oynarlar. C6 pozisyonuna eklenen bir flor atomu ve C7 pozisyonuna eklenen piperazin veya metil-piperazin gibi yapısal modifikasyonlar, bu ilaçların etkinliğini artırmış ve "florokinolonlar" olarak anılmalarına yol açmıştır [70]. Nalidiksik asit ile kıyaslandığında, norfloksasin, geniş spektrumlu antibakteriyel etkinliği sayesinde, ilk geniş spektrumlu kinolon olarak kabul edilir ve klinik uygulamada yaygın olarak tercih edilir. Ancak, norfloksasinin kullanımı, düşük serum seviyeleri ve zayıf doku penetrasyonu gibi sınırlamalara sahiptir, bu da kullanımını özellikle ciddi hastane kaynaklı enfeksiyonlar (HCAI) ve idrar yolu enfeksiyonları ile sınırlı tutar [71].

Levofloksasin, sparfloksasin ve moksifloksasin gibi yeni nesil kinolonlar, norfloksasinin karşılaştığı sınırlamaları aşarak, daha geniş bir antibakteriyel spektrum ve iyileştirilmiş farmakokinetik özellikler sunar. Bu ilaçlar, gram-pozitif bakterilere karşı artan etkinlik, daha iyi doku penetrasyonu ve genişletilmiş tedavi seçenekleri sunarak, antibiyotik direnciyle mücadelede kritik önem taşır [71].

Üriner sistem dışında kayda değer aktivite sergileyen ilk kinolon siprofloksasindir. Siprofloksasin klinik ortamlarda 20 yılı aşkın süredir kullanılmaktadır ve halen en sık reçete edilen antibakteriyel ilaçlardan biridir. Siprofloksasinin klinik başarısı, özellikle Gram-pozitif organizmalara karşı daha da geniş aktivite spektrumu gösteren çok sayıda yeni nesil kinolonların geliştirilmesine yol açmıştır [72]. Gram pozitif solunum yolu enfeksiyonlarını tedavi etmek için en etkili antibiyotikler levofloksasin, moksifloksasin ve sparfloksasindir (Şekil 1.2). Levofloksasinin farmakokinetiği de kendi sınıfındaki diğer ilaçlardan daha iyidir ve tedavi için günde yalnızca bir hap yeterlidir. Kinolonlar şu anda piyelonefrit ve idrar yolu enfeksiyonları dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır; CYBE, prostatit; cilt ve doku enfeksiyonları, kronik bronşit; nozokomiyal ve toplum kökenli pnömoni; ve pelvik ve karın içi enfeksiyonlar. Kinolonlar aynı zamanda her yıl 1 milyonun üzerinde ölüme sonuçlanan dünyanın en ölümcül bulaşıcı hastalığı olan tüberkülozun tedavisinde de kullanılmaktadır [73].

Tablo 2.2: Kinolon antimikrobialerin sınıflandırılması.

	1. Kuşak	2. Kuşak	3. Kuşak	4. Kuşak
Antibiyotikler	Nalidixic acid Oxolinic acid Sinoxacin Pyromidic acid Rosoxacin Pipemidic acid Flumekin	Ciprofloxacin Ofloxacin Pefloxacin Norfloxacin Enoxacin Fleroxacin Lomefloxacin	Levofloxacin Grepafloxacin Sparfloxacin Temafoxacin	Moxifloxacin Gatifloxacin Gemifloxacin Citafoxacin Clinafloxacin Travofloxacil
Bakteriyel Etken	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>P. Aeruginos</i>	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>P. Aeruginos</i>	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>P. Aeruginos</i>

Kinolonlar ve özellikle flor içeren türevleri olan florokinolonlar veya 4-kinolonlar, antibiyotik tedavilerinde önemli bir yere sahiptir. Bu moleküller, 1980'lerden itibaren birçok enfeksiyonun tedavisinde etkin bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Yapısal olarak, C6 pozisyonuna eklenen bir flor atomu ve C7 pozisyonuna eklenen piperazin veya metil-piperazin gibi halka ikame edicileri içeren bu türevler, nalidiksik aside kıyasla daha geniş bir etki spektrumuna, güçlü in vitro etkinliğe ve üstün farmakokinetik özelliklere sahiptir. Bu yapısal modifikasyonlar, kinolonların hücrelere girişini kolaylaştırırken, aynı zamanda mikroorganizmalar üzerindeki antibakteriyel etkinliklerini artırır [73]. Kinolonların temel etki mekanizması, bakteriyel DNA replikasyonunu engelleyerek hücre büyümesini durdurmalarıdır. Bu, DNA giraz ve topoisomerez IV enzimlerini hedef alarak gerçekleşir. DNA giraz, bakteriyel DNA'nın süperkoil yapısını düzenleyerek replikasyon ve transkripsiyon için gerekli olan yapısal düzenlemeleri sağlar. Kinolonlar, bu enzimlerin

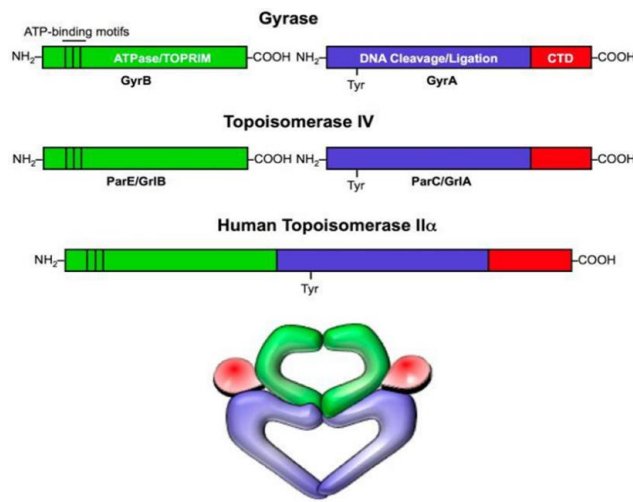
aktivitesini inhibe ederek DNA replikasyonunu ve dolayısıyla bakteri büyümesini durdurur. Bu etki mekanizması, kinolonların geniş bir bakteriyel yelpazedeki etkinliğini açıklar ve bunları gram-pozitif, gram-negatif ve atipik bakterilere karşı etkili kılar. Kinolonların farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri, kimyasal yapısındaki farklılıklardan kaynaklanır. Bu, ilaçların emilim, dağılım, metabolizma ve atılımı gibi farmakokinetik parametrelerini etkiler. Ayrıca, kinolonların yan etkileri ve antibakteriyel etkinliklerindeki farklılıklar da bu kimyasal yapının bir sonucudur. Örneğin, bazı florokinolonlar daha iyi oral biyoyararlanıma sahipken, diğerleri daha uzun yarı ömür veya daha iyi doku penetrasyonu özelliklerine sahiptir. Bu, tedavi seçiminde ve klinik uygulamada önemli faktörlerdir [74].

2.7.1. Bakteriyel Tip II Topoizomerazlar

Bakteri türlerinin büyük bir çoğunluğu, DNA'nın topolojik durumunu düzenleyen ve nükleik asit işlemlerinin çoğu için gerekliliği olan giraz ve topoizomeraz IV adı verilen iki benzersiz ancak benzer tip II topoizomerazı kodlar. Bu enzimler, DNA'nın düşük ve aşırı sarmal seviyelerinin kontrol edilmesinde kritik roller oynarlar ve bakteriyel kromozom içerisindeki düğümlerin ve superkoillerin çözülmesine yardımcı olurlar. Giraz ve topoizomeraz IV, DNA'nın topolojik durumunu değiştirmek için, kırılmamış bir çift sarmalı, geçici bir çift sarmal kırılmasından başka bir DNA parçasına geçirerek çalışır. Bu katalitik döngü, ATP'nin hidrolizi ve bağlanması ile ilerler ve DNA ligasyonu ile kırılmasını içeren enzim fonksiyonlarının önemli yönleri, kanonik olmayan iki metal iyon mekanizması tarafından desteklenir. DNA omurgasının, giraz ve topoizomeraz IV ile işlem görmesi sonucu, DNA 4 baz çifti aralıklarla zıt sarmalı, kademeli bölümlere ayrılır ve bu işlem sırasında 5' uçta bir çıkıntı bırakılır. Bu detaylı mekanizma, DNA replikasyonu, transkripsiyonu ve tamiri gibi temel biyolojik süreçlerde enzimlerin rolünün ne kadar hayati olduğunu gösterir [75].

Genomik bütünlüğün korunmasında, giraz ve topoizomeraz IV gibi enzimler, yeni oluşan 5'-DNA terminalleri ile enzimlerin aktif bölgesindeki tirozin kalıntıları arasında kovalent bağlar oluşturarak önemli bir rol oynarlar. Bu süreçte oluşan kovalent olarak bağlanmış DNA kompleksleri, "bölünme kompleksleri" olarak adlandırılır ve DNA'nın topolojik durumunun düzenlenmesinde kritik öneme sahiptir [75]. Giraz, DNA'ya negatif süpersarmallar ekleyerek, replikasyon ve transkripsiyon süreçlerinde oluşan süperhelikal gerilimleri azaltır. Bu, replikasyon çatallarının ve transkripsiyon komplekslerinin önünde biriken burulma gerilimlerinin çözülmesine yardımcı olur. Topoizomeraz IV, özellikle

replikasyon sonrasında yavru kromozomların ayrıştırılması (dekatensasyon) ve kromozomal düğümlerin çözülmesi gibi işlemlere odaklanır. Hem giraz hem de topoizomeraz IV, A2B2 heterotetramer yapıda işlev gören ve her biri iki farklı fonksiyonel alt birime sahip enzimlerdir. Giraz için bu alt birimler GyrA ve GyrB olarak adlandırılırken, topoizomeraz IV için Gram-negatif türlerde ParC ve ParE, Gram-pozitif türlerde ise GrlA ve GrlB olarak adlandırılır. Bu enzimlerin aktif bölgelerinde yer alan tirozin kalıntısı, DNA'nın kırılması ve sonrasında ligasyonu sırasında kritik bir rol oynar ve bu süreç, iki değerlikli metal iyonlarının bağlanması ile gerçekleşir, ki bu iyonlar da DNA'nın kırılması ve ligasyonu için gereklidir [75].



Şekil 2.3. Topoizomeraz tip II alan yapıları. Bölünme reaksiyonu sırasında DNA'nın yeni oluşan 5'-terminallerine kovalent olarak bağlanan topoizomeraz IV'ün aktif bölgesindeki tirozin kalıntısı, A alt birimlerinde (mavi ve kırmızı; girazda GyrA ve Gram-'da ParC ve GrlA) bulunur. negatif ve Gram-pozitif topoizomeraz IV). A alt birimlerinin çeşitli C-terminal alanları (CTD'ler; kırmızı), girazın DNA'ya negatif süper bobinler eklemesini sağlamaktadır. B alt birimleri (yeşil; girazdaki GyrB ve Gram-negatif ve Gram-pozitif topoizomeraz IV'teki ParE ve GrlB, sırasıyla), enzim fonksiyonu için gerekli katalitik iki değerli metal iyonları için gerekli olan TOPRIM alanını ve ATPase alanını içerir. Tip II bakteri enzimleri insan topoizomeraz II'ye homologtur. Ancak zamanla A ve B alt birimleri birleşerek tek bir polipeptit zinciri oluşturmaktadır.

İnsanlar, bakteriyel giraz ve topoizomeraz IV'ye benzer, ancak fonksiyonel ve yapısal özelliklerde önemli farklılıklar gösteren tip II enzimleri olan topoizomeraz II alfa ve topoizomeraz II beta (sıklıkla sadece topoizomeraz II ve II'yi olarak ifade edilir) gibi enzimleri de eksprese ederler. Bu iki insan enzimi, bakteriyel karşılıklarının amino asit dizileriyle çarpıcı bir biçimde benzerlik gösterir, ancak önemli bir fark vardır: İnsanlarda, A ve B alt birim genleri zamanla kaynaşarak tek bir polipeptit zinciri oluşturmuş ve bu nedenle insan tip II enzimleri homodimer olarak işlev görür [75]. Bu yapısal farklılıklar, kinolonların ve benzeri antibiyotiklerin, insan ve bakteriyel tip II topoizomerazları arasında ayırım

yapabilmesine olanak tanır. Spesifik amino asit modifikasyonları, bu antibiyotiklerin bakteriyel enzimleri hedef alırken, insan topoizomerazlarını büyük ölçüde etkilememesini sağlar. Bu, kinolonların ve diğer antibiyotiklerin geliştirilmesinde önemli bir husustur, çünkü bu ilaçların etkinliği ve güvenliği, hedeflenen ve hedeflenmeyen enzimler arasındaki ayırım yapabilme kapasitelerine bağlıdır. Ancak, insan ve bakteriyel tip II topoizomerazlar arasındaki yapısal benzerlikler, antibakteriyel ilaçların geliştirilmesinde zorluklar yaratır. Bu benzerlikler, ilaç geliştirme sürecinde, bakteriyel dirence karşı etkili olacak, ancak insan topoizomerazları üzerinde toksik olmayacak moleküllerin tasarlanmasını zorlaştırır. Bu durum, yeni antibakteriyel ajanların keşfi ve geliştirilmesinde önemli bir zorluk olarak kabul edilir [75].

2.7.2. Kinolon Etki Mekanizmaları

Kinolonlar, iki önemli bakteriyel tip II topoizomeraz olan DNA giraz ve topoizomeraz IV'ün aktivitesini önleyerek çalışmaktadır. Bu enzimler, DNA sentezi, transkripsiyon ve hücre bölünmesi için gerekli olan kromozomal süper sargıyı kontrol etmektedir. Bu enzimler, farklı bir segmentte geçici 4-bp'lik kademeli çift sarmallı bir kırılma meydana getirerek ve bunun üzerinden kesintisiz bir çift sarmal geçirerek DNA topolojisini değiştirmektedir [76]. DNA giraz ve topoizomeraz IV, aktif bölge tirozin kalıntıları ile DNA kırılmasındaki 5'-çıkıntılar arasında kovalent bağlantılar oluşturarak bu işlem sırasında genomik bütünlüğü koruyan, enzimle parçalanmış DNA kompleksleri olan bölünme kompleksleri oluşturmaktadır. Kinolonlar, DNA zincirinin yeniden bağlanmasını fiziksel olarak engelleyerek ve bölünme-ligasyon aktif bölgesindeki enzim-DNA arayüzünde bu bölünme komplekslerine geri dönüşümlü olarak bağlanarak bu önemli süreci bozmaktadır. Bu, bölünme komplekslerinin kararlı durum konsantrasyonunun artmasına neden olur. Katalitik olmayan bir Mg²⁺ iyonu, dört su molekülüyle birleştiğinde, kinolon ile serin ve enzime dayanak noktaları görevi gören asidik kalıntılar arasında hidrojen bağı için bir köprü oluşturur; bu da kinolon-topoizomeraz bağlanmasının bu mekanizma aracılığıyla gerçekleştiğini göstermektedir.

Sırasıyla DNA giraz ve topoizomeraz IV'ü oluşturan iki çift özdeş alt birim olan GyrA2GyrB2 ve ParC2ParE2 (veya GrlA2GrlB2), A2B2 heterotetramer enzimleridir [77].

DNA giraz ve topoizomeraz IV birçok yapısal ve fonksiyonel özelliği paylaşırsa da farklı fizyolojik amaçlara hizmet ederler.

- i. kromozom yoğunlaşmasına izin veren süper sarmal yoğunluğu ayarlamak.
- ii. replikasyon çatalları ve transkripsiyon komplekslerinin önünde oluşan burulma gerilimini azaltmak.
- iii. RNA polimeraz tarafından transkript başlatılması için lokal erimeyi teşvik eder, DNA giraz aktif olarak DNA'ya negatif süpersarmallar sokar.

Topoizomeraz IV, yalnızca pozitif süper sarmalları gevşetebildiği ve daha fazla negatif süper sarmal ekleyemediği için DNA giraza göre daha az ölçüde olmasına rağmen, benzer şekilde kromozomal süper sarmal yoğunluğunun korunmasına ve burulma stresinin azaltılmasına katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte, Topoizomeraz IV'ün birincil rolü, replikasyonun tamamlanmasından sonra dolaşmış yavru kromozomların dekatasyonudur. Çeşitli bakteri türlerinde kinolonların farklı derecelerde etkinlikle DNA giraz ve topoizomeraz IV'ü hedef aldığı bilinmektedir [77].

2.7.3. Kinolon direncinin standardı

Kinolon direncinin gelişimi, bakteriyel hücrelerde üç temel mekanizma aracılığıyla gerçekleşebilir. Bu mekanizmaların her biri, antibiyotiklerin bakteri üzerindeki etkisini azaltarak direnç gelişimine yol açar:

i. Hedef Enzim Modifikasyonları: Kinolonlar, DNA giraz ve topoizomeraz IV gibi hedef enzimlere bağlanarak çalışır. Kromozomal mutasyonlar, bu hedef enzimlerin yapılarında değişikliklere neden olabilir ve ilaçların bağlanma afinitelerini düşürebilir. Bu durum, ilaçların hedeflerine etkili bir şekilde bağlanmasını engelleyerek direnç oluşturur [77].

ii. İlaç Alımı ve Dışarı Akışı Değişiklikleri: Bakterilerde ilaç alımını azaltan veya ilaç dışarı akışını artıran kromozomal mutasyonlar, ilaç birikiminin azalmasına neden olabilir. Bu durum, hücre içindeki ilaç konsantrasyonunun etkili düzeylerin altına düşmesine ve böylece bakterinin ilaca direnç kazanmasına yol açar [77].

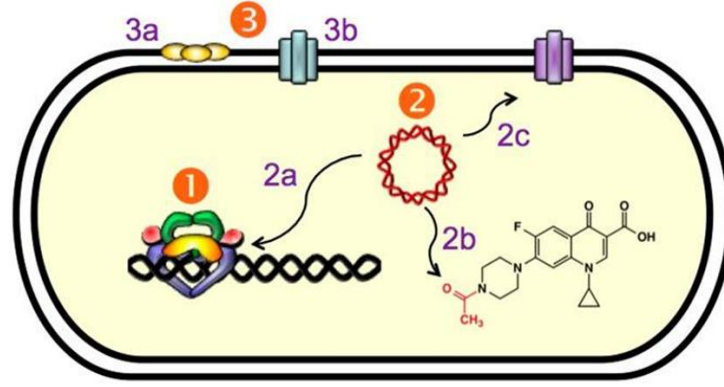
iii. İlaç Atılımını Artıran Mutasyonlar: İlaç atılımını artıran kromozomal mutasyonlar, ilacın hücre dışına daha etkin bir şekilde atılmasını sağlayarak, hücre içindeki etkili ilaç konsantrasyonunun azalmasına yol açar. Bu da kinolonlara karşı direnç gelişimine katkıda bulunabilir.

Ek olarak, plazmidlerden edinilen direnç genleri de kinolon direncine katkıda bulunabilir. Bu genler, ilaçları parçalayan enzimler, ilaç dışarı akış pompaları veya hedef koruma proteinleri gibi mekanizmaları kodlayabilir. Bu ek direnç mekanizmaları, bakterilerin kinolonlara karşı direnç geliştirmesinde önemli bir rol oynar.

Her bir direnç mekanizması, diğer mekanizmaları dışlamaz ve birlikte çalışarak önemli düzeyde kinolon direnci üretebilir [77]. Bu, kinolonlara karşı geliştirilen direncin, çok yönlü ve karmaşık bir süreç olduğunu gösterir ve bu dirence karşı mücadelede çeşitli stratejilerin geliştirilmesinin önemini vurgular [77].

2.7.4. Kinolon direnci

Direnç mekanizmaları aşağıda tartışılan üç ayrı kategoriye ayrılmıştır (Şekil 1.6). Her mekanizmayla ilişkili hücrel değişiklikler birbirini dışlamaz ve çok yüksek seviyelerde kinolon direnci sergileyen suşlar oluşturacak şekilde birikebilir. Hedef aracılı kinolon direnci çoğunlukla giraz ve/veya topoizomerez IV'teki spesifik mutasyonlarla ilişkilidir (Şekil 1.6). Genel olarak bir tip II enzimin mutasyonu 10 kat ilaç direnci sağlar. Daha yüksek direnç seviyeleri (10100 kat) için yapılan seçim, genellikle her iki enzimde de mutasyona sahip suşlar üretmektedir [78]. Her ne kadar kinolon dirençli suşlarda giraz ve topoizomerez IV'ün A ve B alt birimlerinde mutasyonlar haritalanmış olsa da, en sık mutasyona uğrayan amino asitler su-metal iyon köprüsünü sabitleyen serin ve asidik kalıntılardır [78]. Muhtemelen su-metal iyon köprüsünün bozulması, gözlemlenen kinolon direncine neden olur. Diğer mutasyonların büyük kısmını oluşturan asidik kalıntı. Genel olarak mutant giraz ve topoizomerez IV, ilaçların yokluğunda vahşi tip doğal DNA bölünme aktivitesini korur. Bununla birlikte kinolonlar, klinik olarak ilgili konsantrasyonlarda enzim aracılı DNA bölünmesi düzeylerini artırma konusunda çok az yetenek sergiler. Ayrıca, ilaç-enzim bağlanması önemli ölçüde azalır ve kinolonlar, DNA ligasyonunu engelleme veya stabil üçlü enzim-DNA-ilaç kompleksleri oluşturma yeteneklerinin çoğunu kaybetmektedir. Giraz ve topoizomerez IV'teki serin kalıntısındaki direnç mutasyonlarının, ilaçların yokluğunda katalitik aktiviteyi olumsuz yönde etkilediği görülmektedir. Bunun tersine, asidik kalıntısındaki mutasyonlar genel katalitik aktiviteyi azaltmaktadır [78].



Şekil 2.4. Kinolon direnç mekanizmaları. Kinolon-enzim etkileşimleri giraz ve topoizomeraz IV'teki mutasyonlar nedeniyle zayıflamaktadır (2) Direnç plazmidler aracılığıyla sağlanır. (2a) Qnr proteinleri (sarı), topoizomerazın DNA'ya bağlanmasını azaltır ve enzim-DNA komplekslerini kinolonlardan korur. (2b) Aminoglikozit asetiltransferaz Aac(6')-Ib-cr, antibiyotikler siprofloksasin ve norfloksasinin C7 halkasındaki serbest nitrojeni asetile ederek bunların potansiyelini azaltır. (2c) Hücredeki kinolon seviyeleri, plazmidler tarafından eksprese edilen akış pompaları tarafından azaltılır. (3) Direnç kromozomlar aracılığıyla sağlanır. (3a) Gram-negatif bakterilerdeki porinler az eksprese edilir, bu da ilaç Emilimini azaltır. (3b) Kromozom tarafından kodlanan akış pompaları aşırı eksprese edilir, bu da ilacın hücrede tutulmasını azaltır [78].

Bu, serin mutasyonunun neden çok daha sık bulunduğunu en azından kısmen açıklayabilir. Serin kalıntısı bakteri türlerinde yüksek oranda korunur (Şekil 1.6). Bu, giraz ve topoizomeraz IV'teki bir amino asit kalıntısının, bir sentetik antibakteriyel sınıfa duyarlılık sağlamaktan başka görünür bir işlevi olmayan, neden bakteri krallığında bu kadar tutarlı bir şekilde muhafaza edildiği sorusunu gündeme getirmektedir. İlginç bir olasılık, *Streptomyces* spp. tarafından üretilen bir antibiyotik olan neomisin üzerine yapılan bir çalışmadan gelmektedir. Bu bileşik, vahşi tip giraz ifade eden *S. aureus* suşlarına karşı çok az aktivite gösterir. Bununla birlikte neomisin, Ser-Leu kinolon dirençli GyrA'yı eksprese eden suşlara karşı aktiftir. Dolayısıyla korunmuş serin kalıntısı, doğal olarak oluşan antibiyotiklere karşı koruma sağlayan bir "direnç mutasyonunu" temsil edebilir [78].

2.7.5. Plazmid aracılı kinolon direnci (PMQR)

PMQR'yi içeren mekanizmalar ilk olarak 1990'ların sonlarında tanımlanmış ve son on yılda kapsamlı bir şekilde gözden geçirilmiştir [78]. İlk PMQR geni, *qnrA*, 1998 yılında siprofloksasine dirençli bir *K. pneumoniae* klinik izolatının geniş konakçı aralığındaki konjugatif plazmidinde tanımlanmıştır [79] ve bugüne kadar yaklaşık 100 Qnr varyantı tanımlandı. Altı farklı aileye ayrılır: *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC*, *qnrD* ve *qnrVC*. Qnr proteinleri, pentapeptid tekrarlı protein ailesine aittir ve DNA girazı ve topoizomeraz IV'ü kinolon inhibisyonundan fiziksel olarak koruyarak kinolon direnci kazandırmaktadır.

PMQR için ikinci bir mekanizma daha sonra 2006 yılında keşfedildi ve iki spesifik amino asit ikamesi olan Trp102Arg ve Asp179Tyr'yi barındıran bir aminoglikozid değiştirici asetiltransferazın iki işlevli bir varyantı olan AAC(6)-Ib-cr'den oluşuyordu. Bu varyant, siprofloksasin gibi kinolonlarda bulunan C7 piperazin halkasının ikame edilmemiş nitrojenini asetile edebilir, böylece ilacın aktivitesini azaltarak kinolon direnci kazandırabilir. Kısa bir süre sonra, plazmit kodlu akış pompaları QepA ve OqxAB'nin keşfiyle PMQR için üçüncü bir mekanizma eklenmiştir [79].

Kinolon direncinin gelişimine katkıda bulunan plazmid aracılı kinolon direnci (PMQR) belirleyicileri, çeşitli mekanizmalar aracılığıyla düşük düzeyde direnci sağlamaktadır. Bu mekanizmalar arasında QepA ve OqxAB gibi farklı ailelere ait efflux pompaları bulunur:

i. **QepA**, Hidrofilik florokinolonlara karşı direnci sağlayan Major Facilitator Superfamily (MFS) ailesine ait bir efflux pompasıdır. Özellikle siprofloksasin, norfloksasin ve enrofloksasine karşı duyarlılığın azalmasına yol açar.

ii. **OqxAB**, Resistance-Nodulation-Division (RND) ailesine aittir ve kinolonlar siprofloksasin, norfloksasin, nalidiksik asit, olaquinox ve flumekin'in ötesinde, tetrasiklin, kloramfenikol ve trimetoprim antibiyotiklerinin yanı sıra benzalkonyum klorür veya triklosan gibi biyositlere karşı geniş bir substrat spesifikliğine sahiptir.

PMQR belirleyicileri genellikle tek başlarına klinik sınır değerini aşacak düzeyde direnci sağlamazlar ancak kinolonların terapötik seviyelerinin varlığında, ek direnci mekanizmalarının seçimi ve yüksek seviyelerde kinolon direncinin ortaya çıkması için uygun bir arka plan sağlarlar [79].

PMQR genleri, çoklu ilaç dirençli (MDR) plazmitlerde sıklıkla diğer direnci belirleyicileriyle birlikte bulunur ve çeşitli bakteri türlerinde geniş bir coğrafi dağılıma sahiptir. PMQR mekanizmalarının fenotipik tespiti zorluklar içerse de, genetik analizler bu belirleyicilerin gerçek prevalansını ortaya koymaktadır. PMQR belirleyicilerinin, kinolonların hem klinik hem de klinik dışı ortamlarda daha dikkatli kullanılması ihtiyacını vurgulayan, kolay yatay yayılım potansiyeli ve birden fazla direnci mekanizması ile birlikte seçilme eğilimleri nedeniyle, ciddi bir klinik sorun teşkil ettiği belirtilmektedir [80].

Konjugasyon, genlerin bir bakteriden diğere yatay olarak transfer edilmesinde ana yöntemdir ve antibiyotik direnç genleri dahil olmak üzere, bakteri genomlarının esnekliği, evrimi ve adaptasyonu üzerinde önemli bir etkiye sahiptir [81]. Bu süreç sırasında, DNA, konjugatif plazmitler aracılığıyla fiziksel olarak hücreden hücreye aktarılır. Her konjugatif plazmit, hücredeki replikasyon, korunma ve diğere hücelere transferi sağlayan temel genler ve bileşenler içeren bir çekirdek veya omurga sahiptir. Genomik veritabanları, 3000'den fazla dizili *Acinetobacter* plazmidini içermekte ve bu sayı sürekli olarak artmaktadır [81]. *Acinetobacter* cinsi, tek bir suşta birden fazla plazmid bulundurabilmesiyle dikkat çeker. Bu plazmidlerin çoğu, potansiyel olarak aktive edilebilir bir gevşeme geni (*mobA*) içerir, bu da konjugatif transfer yeteneklerine işaret eder[81].

Klinik olarak önemli antibiyotik dirençli *Acinetobacter* suşları genellikle büyük konjugatif plazmitler içerir, ancak bunların sadece birkaçı detaylı olarak incelenmiştir. *Acinetobacter*'de, üç grup konjugatif plazmidin bir suştan diğere transfer yeteneği deneysel olarak gösterilmiştir [81]. İlk grup, pACICU2 (64.366 bp) (NC 010606.1) ile yakından ilişkili plazmit koleksiyonundan oluşur ve *A. baumannii* plazmidlerinin LN 1 soyuna ait olarak sınıflandırılır. Bu plazmitlerin çoğunluğu, potansiyel olarak harekete geçirilebilir gevşeme geni (*mobA*) içerir. İkinci gruptan daha az yaygın olan konjugatif plazmitler, çeşitli *Acinetobacter* cinslerinden suşlarda keşfedilmiştir ve tipik olarak antibiyotik direnci genleri içerirler. Bu plazmitlerde tam bir konjugasyonla ilgili gen seti ve replikasyonu başlatan bir proteini kodlayan bir gen bulunur. Rahatlatıcı gen, MOBP ailesinin bir üyesidir ve bu plazmit koleksiyonu Mindlin ve arkadaşlarının çalışmasında III-1a olarak bilinir. Üçüncü grup konjugatif mega plazmitlerden prototip pA297-3, ne gevşeme geni ne de replikasyon başlatıcı proteini kodlayan gen içermez, ancak çeşitli suşlar arasında aktif olarak seyahat edebildiği gösterilmiştir[81].

Bu geniş plazmit çeşitliliği, *Acinetobacter* suşları arasındaki gen aktarımının karmaşıklığını ve antibiyotik direnç genlerinin yayılımında konjugasyonun rolünü vurgular, bu da antibiyotik direncinin anlaşılması ve kontrol altına alınması için önemli zorluklar sunmaktadır. Bu, antibiyotik direnciyle mücadelede konjugatif plazmitlerin rolünün daha iyi anlaşılmasını gerektirir.

Bu çalışmanın amacı, Kırşehir Eğitim-Araştırma Hastanesinden izole edilen Kinolon dirençli *A. baumannii* izolatları arasında plazmid aracılı kinolon direnç (PMQR) genlerinin yayılımını, çeşitliliğini araştırmak ve PMQR genlerinin konjugatif transfer

mekanizmalarını inceleyerek antibiyotik direncinin önlenmesi için yapılacak ulusal ve uluslararası çalışmalara katkı sağlamaktır [81].

3. GEREÇ-YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Araştırmada Kullanılan Bakteri İzolatları ve Standart Suşlar

Bu çalışmada kullanılan kinolon dirençli 29 *A. baumannii* izolatı Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarı stok kültürlerinden temin edildi. İzolatlar Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarı tarafından 2021 Eylül-2022 Aralık ayları arasında rutin teşhiste izole edilmiş ve kültür koleksiyonunda saklanmıştır.

Araştırmada, rifampisin dirençli *E. coli* J53-2 suşu (F–met pro Rif^R) konjugasyon deneylerinde alıcı hücre olarak kullanıldı. *E. coli* ATTC 25922 suşu antibiyogram çalışmalarında kontrol olarak kullanılmıştır.

3.1.2. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar

Araştırmada, bakterilerin üretilmesi ve DNA izolasyonu yapmak amacıyla EMB (Eosine Methylen Blue) Agar, Mueller Hinton Agar (MHA), Mueller Hinton Broth (MHB), Bakteriyojik Agar, Luria-Bertani (LB) Broth ve LB Agar besiyerleri Merck (Almanya) firmasında temin edildi. Moleküler çalışmalarda kullanılan Taq DNA polimeraz (5U/µl), dNTPmix (10 mM), 50X TAE Buffer, DNA Loading Dye (6X) ve Etidyum bromür (10 mg/ml) ThermoFisher Scientific (USA) firmasından, Taq DNA Polimeraz Master Mix RED (2X) enzimi Ampliqon (Denmark) firmasından, Agarose CondaLab (İspanya), 100 bp+ DNA ladder TransGen Biotechnology (Çin) firmasından, antibiyotik diskler ise Bioanalyses (Türkiye) firmasından temin edildi. Araştırmada kullanılan sodyum klorür (NaCl), disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄), potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄), amonyum klorür (NH₄Cl), D(+) glukoz monohidrat ve ampicillin sodium salt kimyasalları Merck (Almanya) firmasından temin edilirken, konjugasyon çalışmalarında kullanılan rifampisin Sanofi (Fransa) firmasından temin edilmiştir.

3.1.3. Araştırmada Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

Bu alışma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Tıbbi Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarlarında bulunan alet ve ekipmanlar kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan cihazlar Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan cihazlar.

Makina/tehzizat adı	Markası	Model
Otoklav	JSR	JSAC 60
Çalkalamalı Distile Su Cihazı	Su Banyosu GFL	Memmert WNB22 2001/4
İnkübatör	Memmert	Model 55
Vorteks	Scilogex	MX-S
Magnetik Karıştırıcı	Scilogex	MS-H-S
Analitik Terazı	Ohaus AV 264C	
pH metre	Hanna	HI2211-02
Blok Isıtıcı	Boeco	DBI
Thermocycler	BioRad	T-100
Horizontal Mini Jel Elektroforez ve Güç kaynağı	Techne	Tecne B2
UV translimnatr	Daihan	WUV-L50
No-Frost Buzdolabı	Vestel P	NF620
Derin Dondurucu	Vestel W	DDP-S1101
Mikrodalga Fırın	Vestel	MW 20-MV
Mikrosantrifüj	Sigma	Sigma 1-14
Sınıf-2 Steril Kabin	Arma	-

3.1.4. Çalışmada Kullanılan Primerler

Araştırmada kinolon dirençli 29 *A. baumannii* izolatının plazmid aracılı antibiyotik direnç genlerinin belirlenmesinde PCR tekniği kullanıldı. Çalışmada çalışmada kullanılan primerler Sentebiolab (Ankara, Türkiye) firmasından temin edildi. Kullanılan primer çiftleri ve zellikleri Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan primerler primer dizileri.

Gen adı	Primer	5'-3' Primer Sekans	Baz çifti (bp)	Referans
<i>qnrA</i>	F	AGAGGATTTCTCACGCCAGG	347	Yang ve diğerleri, (2013)
	R	TGCCAGGCACAGATCTTGAC		
<i>qnrB</i>	F	TGGCGAAAAAATTGAACAGAA	594	Chen ve diğerleri, (2012)
	R	GAGCAACGATCGCCTGGTAG		
<i>qnrC</i>	F	GGGTTGTACATTTATTGAATC	255	Wang ve diğerleri, (2009)
	R	TCCACTTTACGAGGTCT		
<i>qnrD</i>	F	CGAGATCAATTTACGGGGAATA	582	Pribul, ve diğerleri, 2006
	R	AACAAGCTGAAGCGCCTG		
<i>qnrS</i>	F	TCGGCACCACAACCTTTTCAC	255	Hamedve diğerleri, (2018)
	R	TCACACGCACGGAACCTCTAT		
<i>qepA</i>	F	CTGCAGGTACTGCGTCATG	403	Goudarzi ve diğerleri, (2015)
	R	CGTGTTGCTGGAGTTCTTC		
<i>oqxA</i>	F	GACAGCGTCGCACAGAATG	339	Chen ve diğerleri (2012)
	R	GGAGACGAGGTTGGTATGGA		
<i>oqxB</i>	F	CGAAGAAAGACCTCCCTACCC	240	
	R	CGCCGCCAATGAGATACA		
<i>aac-6</i>	F	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	482	Park, (2006)
	R	CTCGAATGCCTGGCGTGTTT		

3.2. Yöntem

3.2.1. *A. baumannii* İzolatlarının Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Bu çalışmada kullanılan kinolon dirençli 29 *A. baumannii* izolatı Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı stoklarından temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan bu izolatlar Kırşehir Eğitim-Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarı tarafından çeşitli klinik örneklerden saf kültürleri izole edildikten sonra VITEK® 2 otomatik sistem (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) ile *A. baumannii* olarak tanımlanmıştır. İzolatların antibiyotik duyarlılık profilleri Hastane KARMED Bilgi işlem sisteminden temin edilmiştir. Soğuk zincirde aseptik şartlarda

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilen izolatlar 2 µg/ml siprofloksasin eklenmiş LB agar besiyerine ekimi yapılmış, izolatların hepsinin kinolona dirençli oldukları belirlendikten sonra çalışmada kullanılmıştır.

3.2.2. Total DNA İzolasyonu

A. baumannii izolatlarından total DNA izolasyonu Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapıldı. Bu amaçla içerisinde 10 µg/ml siprofloksasin eklenen LB Agar besiyerinde 37°C’de bir gece inkübasyona bırakıldı. İzolatlardan DNA izolasyonu kaynatma yöntemi ve kit ile olmak üzere iki metot ile gerçekleştiril-

Kaynatma Yöntemi ile DNA İzolasyonu: Araştırmada kullanılan *A. baumannii* izolatlarının total DNA izolasyonu Ausubel ve diğerleri (1995) tarafından bildirilen kaynatma DNA metodu ile yapıldı. LB agarda bir gecelik inkübasyon sonrasında kültürde üreyen izolatlardan bir öze dolusu alınıp, 500 µl steril distile su içeren ependorflara aktarıldı. Tüpler vorteksenerek homojen bir süspansiyon elde edildi ve 10 dk. boyunca 100°C’ye ayarlı su banyosunda inkübe edildi. Daha sonra 14.800 rpm de 5 dk santrifüj edilen eppendorf tüplerden süpernatant steril bir tüpe aktarıldı ve tez çalışması boyunca total DNA olarak kullanıldı. Elde edilen total DNA’lar kullanılıncaya kadar -20°C’de saklandı .

Kit ile DNA İzolasyonu: Bu çalışma süresince DNA dizin analizi yapılan genlerin çoğaltılmasında kullanılan DNA örneklerinin izolasyonu PureLink Mini DNA İzolasyon Kiti (İnvitrogen, USA) üretici firmanın önerileri doğrultusunda.

3.2.3. *A. baumannii* İzolatlarında Kinolon ve Aminoglikozid Direnç Genlerinin Tespiti

Kinolon dirençli *A. baumannii* izolatlarında plazmid aracılı kinolon direnç genleri (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*, *qnrD*, *qepA*, *oqxA*, *oqxB*) ve aminoglikozid direnç geni (*aac-6-1b-cr*) PCR yöntemi ile araştırıldı. Genlerin amplifikasyonu için tablo 3.2’de verilen primer çiftleri kullanıldı. PCR reaksiyonlarında *qnrA*, *qnrC*, *qnrS*, *qnrD*, *qepA*, *oqxA*, *oqxB* genlerinin amplifikasyonu için son hacim 25 µl olacak şekilde tablo 3.3’de her bir gen için verilen miktarlarda 10XTaq buffer, MgCl₂, dNTPmix, primer (F, R), Taq DNA polimeraz, steril distile su (dH₂O) ve total DNA ilve edilerek hazırlandı. *qnrB* ve *aac-6-1b-cr* geni için ise tablo 3.3’de verilen 2x ticari mastermix, primer (F,R) ve total DNA karışıma eklendi ve PCR reaksiyonunun son hacmi 25 µl olacak steril distile su ile tamamlandı *miştir*.

Thermalcycler cihazında yapılan PCR işleminde her bir genin çoğaltılması için reaksiyon tüpleri 95 °C’de ön denatürasyonda 5 dk bekletildi. Daha sonra uygulanan 35 siklusta, 95 °C’de 45 sn denatürasyon, Tablo 3.4’de verilen her bir gen için bağlanma sıcaklığında (Tm) 45 sn, Tablo 3.4’de verilen her bir genin büyüklüğüne göre 72 °C’de uzama süreleri belirlenen zamanlarda gerçekleştirildi. Son olarak yapılan son uzama basamağında 72 °C’de 5 dk. bekletilerek thermalcycler’da PCR döngüsü tamamlandı.

Tablo 3.3: Çalışmada kullanılan PCR karışımları.

PCR reaksiyon karışımları									
Genler	10xTaq buffer	MgCl ₂ (µl)	dNTPmix (µl)	Primer F (µl)	Primer R (µl)	Taq DNA polimeraz	ddH ₂ O (µl)	Total DNA	Toplan Hacim
<i>qnrA</i>	2,5	1,5	1	0,5	0,5	0,4	14,6	4	25
<i>qnrC</i>	2,5	1	1	0,5	0,5	0,4	14,1	5	25
<i>qnrS</i>	2,5	1,5	1	0,5	0,5	0,4	14,6	5	25
<i>qnrD</i>	2,5	1	1	0,5	0,5	0,3	15,2	4	25
<i>qepA</i>	2,5	1,5	1	0,5	0,5	0,4	13,6	5	25
<i>oqxA</i>	2,5	1	1	0,4	0,4	0,4	14,3	5	25
<i>oqxB</i>	2,5	1,5	1	0,5	0,5	0,4	13,6	5	25
Genler	2x Master Mix		Primer F	Primer R (µl)	ddH ₂ O	Total	Toplam		
<i>qnrB</i>	12,5		0,5	0,5	6,5	5	25		
<i>aac-6-Ib-cr</i>	12,5		0,4	0,4	7,7	4	25		

Tablo 3.4: Çalışmada kullanılan PCR döngüleri.

Genler	Ön Denatürasyon (°C)/Süre	PCR Döngüsü (35 döngü)			Son Uzama (°C)/Süre
		Denatürasyon (°C)/Süre	Primer Bağlanma (°C)/Süre	Uzama (°C)/Süre	
<i>qnrA</i>	94 °C/5 dk	94 °C/45 sn	60 °C/45sn	72 °C/45 sn	72 °C/5 dk
<i>qnrB</i>	95°C/5 dk	95 °C/45 sn	58 °C/45sn	72 °C/45 sn	72 °C/5 dk
<i>qnrC</i>	94 °C/5 dk	95 °C/45 sn	57 °C/45sn	72 °C/45 sn	72 °C/5 dk
<i>qnrD</i>	94 °C/5 dk	95 °C/45 sn	58 °C/45sn	72 °C/58 sn	72 °C/5 dk
<i>qnrS</i>	94 °C/5 dk	94 °C/45 sn	60 °C/45sn	72 °C/45 sn	72 °C/5 dk
<i>qepA</i>	94 °C/5 dk	95 °C/45 sn	58 °C/45sn	72 °C/50 sn	72 °C/5 dk
<i>oqxA</i>	94 °C/5 dk	95 °C/45 sn	59 °C/45sn	72 °C/50 sn	72 °C/5 dk
<i>oqxB</i>	94 °C/5 dk	95 °C/45 sn	60 °C/45sn	72 °C/45 sn	72 °C/5 dk
<i>aaac-6-</i>	94 °C/5 dk	95 °C/45 sn	61 °C/45sn	72 °C/30 sn	72 °C/5 dk

3.2.4. *A. baumannii* İzolatlarında Direncin Aktarılabirliği

A. baumannii izolatlarında tespit edilen antibiyotik direnç genlerinin konjugatif plazmitler üzerinde yer alıp almadığı Broth Mating metodu kullanılarak konjugasyon testleri ile araştırıldı. Konjugasyon deneyinde alıcı hücre olarak rifampisin dirençli *E. coli* J53AziR suşu, donör olarak plazmit aracılı kinolon direnç geni taşıyan *A. baumannii* izolatları kullanıldı. Hem donör hem de alıcı hücreler, gece boyunca LB broth içinde bir gece inkübe edildi. Daha sonra bakteri kültürleri 1:1 oranında alıcı *E. coli* J53 hücresi ile karıştırıldıktan sonra 18 saat çalkalamasız inkübatörde 37°C’de inkübe edildi. Transkonjugantlar, rifampisin (150 µg/ml) ve ampisilin (50 µg/ml) içeren LB Agar plakaları üzerinde seçildi.

Transkonjugant hücrelerin antibiyotik duyarlılık paternleri Kirby-Bauer disk difüzyon testi ile belirlendi. Transkonjugant hücreler rifampisin (150 ug/ml) ve ampisilin (50 µg/ml) içeren 3 ml LB broth besiyerlerinde çalkalamalı ortamda 37°C’de bir gece inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda hücreler santrifüj ile toplandı ve plazmit izolasyonları GeneJet Plasmid Miniprep Kit (Thermo Fisher Scientific, USA) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. Transkonjugantlardaki kinolon direnç genleri Tablo 3.2’de verilen primerler ve transkonjugant hücrelere ait izole edilen plazmitler kalıp DNA olarak kullanılarak gerçekleştirilen PCR reaksiyonları ile tespit edilmiştir.

3.2.5. Etik Kurul Onayı

Bu araştırma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 2023-08/65 nolu kararı ile onay alınarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. İzolatların Tanımlanması ve Antibiyotik Direnç Profilleri

Çalışmada kullanılan kinolon dirençli 29 *A. baumannii* izolatı Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen çeşitli klinik örneklerden izole edilmiştir. İzolatlar Vitek 2 otomatize bakteri identifikasyon cihazında tanımlanmış ve antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiştir. Buna göre kan, yara, idrar, dalak, katater kültürü ve diğer (kan, yara veya idrar) örneklerden elde edilen *A. baumannii* izolatlarının sayısı 6 (%20,7), 7 (%24,1), 2 (%6,9), 7 (%24,1), 1 (%3,5), 6 (%20,7) olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1). *A. baumannii* izolatlarının tümünün gentamisin, siprofloksasin, levofloksasin ve amikasin dirençli olduğu; ancak tigesiklin ve kolistin duyarlı olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.1: Çalışmada kullanılan *A. baumannii* izolatlarının izole edildiği klinik örneklerin dağılımı.

Klinik Örnek	<i>A. baumannii</i> sayısı n(%)
Kan	6 (20,7)
Yara	7 (24,1)
İdrar	2 (6,9)
Dalak	7 (24,1)
Katater Kültürü	1 (3,5)
Diğer örnekler	6 (20,7)
Toplam	29 (100)

Tablo 4.2: Çalışmada kullanılan izolatların hastane Karmed sisteminde antimikrobiyal duyarlılık sonuçları.

Antibiyotik	<i>A.baumannii</i> İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları	
	R n(%)	S n(%)
Gentamisin	29 (100)	0
Siprofloksasin	29 (100)	0
Levofloksasin	29 (100)	0
Amikasin	29 (100)	0
Tigesiklin	0	29 (100)

4.2. *A. baumannii* İzolatlarının Plazmid Aracılı Kinolon Direnç Genleri Tespiti

Araştırmada kullanılan kinolon dirençli 29 *A. baumannii* izolatlarında plazmid aracılı antibiyotik direnç genleri tablo 3.2’de verilen gen spesifik primerler kullanılarak yapılan PCR yöntemi ile belirlenmiştir.

4.2.1. *A. baumannii* izolatlarında *qnr* Genlerinin Tespiti

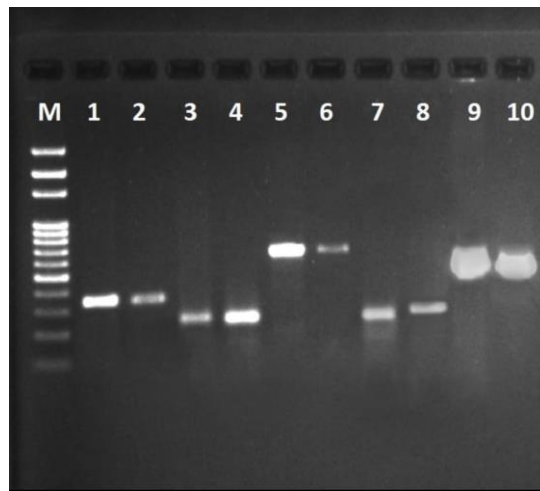
Yapılan bu çalışmada kinolon dirençli 29 *A. baumannii* izolatlarında *qnrA*, *qnrC* ve *qnrD* genleri tespit edilmemişken, 24 izolatta *qnrB*, 3 izolatta da *qnrS* genlerinin olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.3; Şekil 4.1).

4.2.2. *A. baumannii* İzolatlarında Efflux Pompa Sistemini Kodlayan Genlerin Tespiti

Kinolon dirençli 29 *A. baumannii* izolatının hiçbirinde kinolonların hücreden atılmasını sağlayan efflux pompa sistemini kodlayan *qepA* geni tespit edilmemiştir. Efflux pompa sistemini kodlayan diğer genlerinden *oqxA* geni 16 izolatta, *oqxB* geni ise 3 izolatta belirlenmiştir (Tablo 4.3; Şekil 4.1).

4.2.3. *A. baumannii* İzolatlarında Modifiye Aminoglikozid Asetiltransferaz Geni *aac(6’)-Ib-cr* Tespiti

Çalışmada plazmid aracılığıyla kinolon dirençli izolatlarda aktarılabilen genlerden modifiye aminoglikozid asetiltransferaz enzimini kodlayan *aac (6’)-Ib-cr* geni 29 *A. baumannii* izolatından 15’inde tespit edilmiştir (Tablo 4.3; Şekil 4.1).



Şekil 4.1. PCR ile pozitif kinolon direnç genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. 1,2: *oqxA* (339 bp); 3,4: *oqxB* (240 bp); 5,6: *qnrB* (594 bp); 7,8: *qnrS* (255 bp); 9, 10: *aac-6’-Ib-cr* (482 bp).

Tablo 4.3: Kinolon dirençli *A. baumannii* izolatlarından PCR ile tespit edilen plazmid aracılı direnç genlerinin dağılımı.

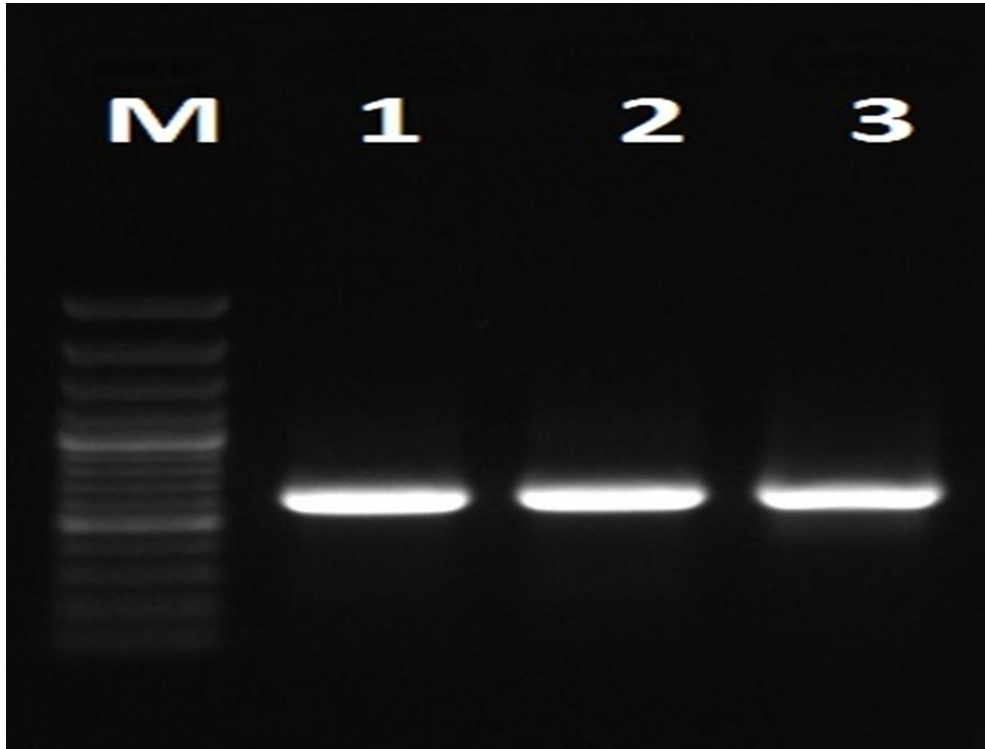
Örnek No	<i>qnrA</i>	<i>qnrB</i>	<i>qnrC</i>	<i>qnrS</i>	<i>qnrD</i>	<i>qepA</i>	<i>oqxA</i>	<i>oqxB</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>
AB1	-	+	-	-	-	-	+	-	-
AB2	-	-	-	+	-	-	+	-	-
AB3	-	+	-	+	-	-	+	-	-
AB4	-	+	-	-	-	-	+	-	+
AB5	-	+	-	-	-	-	+	-	-
AB6	-	+	-	-	-	-	+	-	+
AB7	-	-	-	-	-	-	+	-	+
AB8	-	+	-	-	-	-	+	-	+
AB9	-	+	-	-	-	-	+	+	+
AB10	-	+	-	-	-	-	+	-	-
AB11	-	+	-	+	-	-	+	-	+
AB12	-	+	-	-	-	-	-	-	+
AB13	-	+	-	-	-	-	+	-	+
AB14	-	-	-	-	-	-	+	+	+
AB15	-	+	-	-	-	-	-	-	-
AB16	-	-	-	-	-	-	+	-	-
AB17	-	+	-	-	-	-	+	-	-
AB18	-	+	-	-	-	-	-	-	+
AB19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AB20	-	+	-	-	-	-	-	-	-
AB21	-	+	-	-	-	-	-	-	-
AB22	-	+	-	-	-	-	-	-	+
AB23	-	+	-	-	-	-	-	-	+
AB24	-	+	-	-	-	-	-	-	-
AB25	-	+	-	-	-	-	-	-	-
AB26	-	+	-	-	-	-	+	+	+
AB27	-	+	-	-	-	-	-	-	+
AB28	-	+	-	-	-	-	-	-	+
AB29	-	+	-	-	-	-	-	-	-

4.3. *A. baumannii* izolatlarında aktarılabılır direnç genlerinin Tespiti

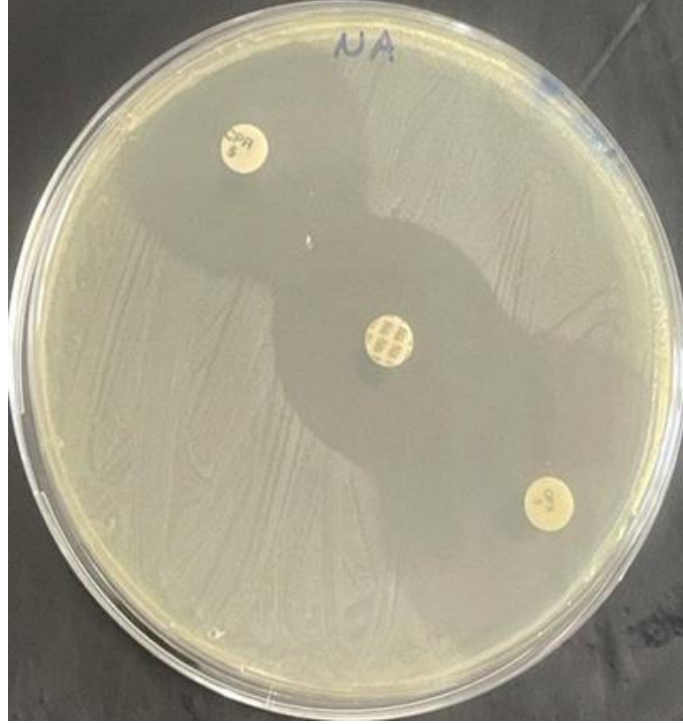
A.baumannii izolatlarında aktarılabılır antibiyotik direnç genlerinin tespiti için gerçekleştirilen konjugasyon deneyleri sonucunda *A. baumannii* AB24 nolu izolatın konjugatif bir plazmide sahip olduğu ve üzerinde *qnrB* genini taşıdığı tespit edildi (Tablo 4.4 ve Şekil 4.2).

Tablo 4.4: Donör bakteri hücresinin kinolonlara duyarlılıkları.

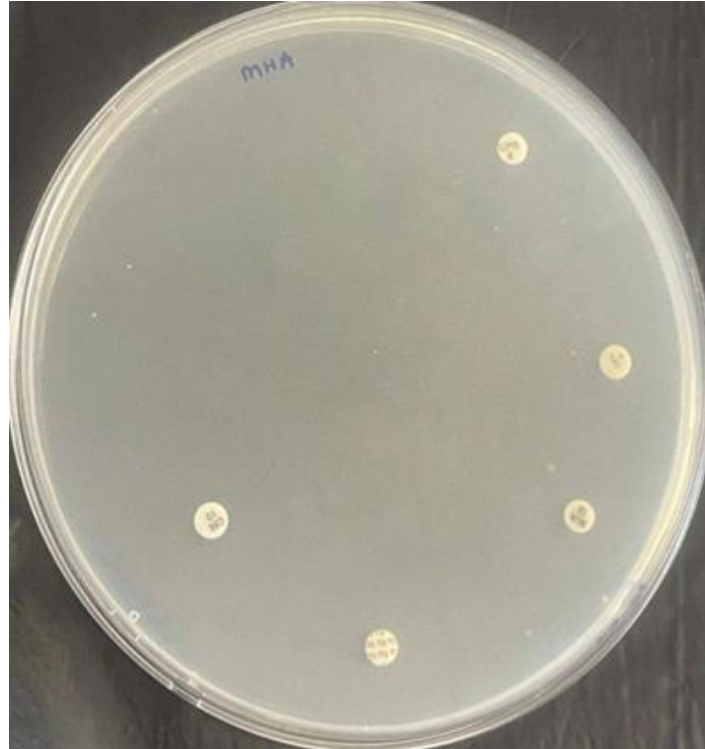
Antibiyotik	Tc24 izolatının antibiyotik duyarlılığı
Norfloksasin	Dirençli
Ofloksasin	Dirençli
Siprofloksasin	Dirençli
Gentamisin	Dirençli



Şekil 4.2. *qnrB* geninin görüntüsü (M: Marker; 1: AB24 nolu izolat; 2: Transkonjugant hücre; 3: Pozitif kontrol).



Şekil 4.3. Konjugasyonda kullanılan *E. coli* J53 izolatının kinolon duyarlılığının disk difüzyon yöntemiyle belirlenmesi



Şekil 4.4. Konjugasyonda sonrası *E. coli* J53 izolatının kinolon direncinin disk difüzyon yöntemiyle belirlenmesi.

5. TARTIŞMA-SONUÇ

Geçen yüzyılda antibiyotiklerin keşfi, tıp bilimi alanında bir dönüm noktası olarak durmaktadır ve bakteriyel enfeksiyonlara bağlı morbidite ve mortalite oranlarını büyük ölçüde azaltmaktadır. Bu önemli ilerleme, bulaşıcı hastalıkların tedavisine yönelik yaklaşımı dönüştürerek halk sağlığı ve tıbbi tedavi metodolojilerinde önemli bir sıçramaya işaret etti. Antibiyotikler, sağlık hizmeti sağlayıcılarının bir zamanlar tedavi edilemez veya ölümcül olduğu düşünülen enfeksiyonlarla etkili bir şekilde mücadele etmelerini sağladı, böylece sayısız hayat kurtardı ve dünya çapında sağlık hizmetlerinin kalitesini artırdı. Antibiyotiklerin aşırı ve yanlış kullanımındaki küresel artış, ampirik antibiyotik tedavilerinin başlamasıyla birlikte yaygın bir endişe haline gelmiştir. Bu gelişigüzel uygulama, bulaşıcı patojenlerin bu ilaçlara karşı direnç geliştirme sürecini hızlandırmıştır. Sonuç olarak, antibiyotikler klinik ortamlarda giderek daha az etkili hale gelmekte ve bir zamanlar başarılı bir şekilde tedavi edebildikleri enfeksiyonlara karşı etkinliklerini azaltmaktadır. Bu eğilim sadece hasta bakımını tehlikeye atmakla kalmıyor, aynı zamanda halk sağlığı için de önemli bir zorluk teşkil ediyor ve antibiyotik direncinin yükselişini engellemek için acil ve koordineli çabalar gerektiriyor. Küresel olarak, hastanelerde, farklı bölgelerde ve ulusal ölçekte düzenli izleme yoluyla antibiyotik direncinin gelişimiyle mücadele etmek için ortak bir çaba vardır. Bu gözetim, direncin yayılmasını ve evrimini yönetmek için çok önemlidir. Epidemiyolojik araştırma ve sistematik raporlama yoluyla antibiyotik direnç profillerinin izlenmesi uygulaması, direnç mekanizmalarının dinamiklerini anlamak ve bu acil sorunu hafifletmeyi amaçlayan halk sağlığı stratejilerini bilgilendirmek için gereklidir. Bu tür çabalar, bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde antibiyotiklerin etkinliğinin devam etmesini sağlamak için kritik öneme sahiptir ve antibiyotik direncine koordineli ve bilinçli bir yaklaşımın önemini vurgulamaktadır [82].

A. baumannii, son on yılda, küresel ölçekte zorlu bir nozokomiyal patojen olarak ortaya çıktı ve bugün bilinen en usta çoklu ilaca dirençli (MDR) organizmalardan biri olarak ün kazandı. Direnç geliştirmedeki yeterliliği, mevcut antibiyotik tedavilerinin saldırısına karşı hayatta kalmasını önemli ölçüde artıran bir mekanizma olan yatay gen transferi yoluyla mevcut direnç genlerini yukarı regüle etme veya yenilerini edinme yeteneğine atfedilir.

Organizmanın esnekliği ve uyarlanabilirliği, onu modern tıp için önemli bir zorluk teşkil eden başarılı MDR patojenlerinin mükemmel bir örneği olarak konumlandırıyor [83].

A. baumannii enfeksiyonları ile ilişkili klinik belirtiler çeşitlidir ve hastane ortamındaki çeşitli nişlerden yararlanma yeteneğini yansıtan çok çeşitli koşulları kapsar. Yıllar geçtikçe, yanık hastalarında sekonder menenjit, idrar yolu enfeksiyonları, nozokomiyal pnömoni, bakteriyemi ve ciddi süperenfeksiyonlara neden olduğu gösterilmiştir. Bu enfeksiyonlar sadece patojenin hastalığa neden olmadaki çok yönlülüğünü göstermekle kalmaz, aynı zamanda özellikle bağışıklığı baskılanmış ve kritik hastalarda enfeksiyonlarıyla ilişkili kritik sonuçların altını çizer. *A. baumannii* enfeksiyonlarının yaygın doğası, hem uluslararası hem de ulusal bağlamda, hem toplum hem de hastane kaynaklı enfeksiyonlarda en sık izole edilen patojen olarak prevalansının altını çizmektedir. Bu yaygın yaygınlık, *A. baumannii*'nin ortaya çıkardığı önemli halk sağlığı sorununun bir göstergesidir ve gelişmiş sürveyans, sıkı enfeksiyon kontrol önlemleri ve etkisini azaltmak için yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesini gerektirmektedir. Organizmanın hastane ortamlarında gelişme ve birden fazla antibiyotik sınıfına direnme kapasitesi, direnç mekanizmalarını, epidemiyolojisini ve yeni tedaviler tarafından hedeflenebilecek potansiyel güvenlik açıklarını anlamayı amaçlayan kapsamlı araştırma çabalarını katalize etmiştir [83]. *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarıyla, özellikle çoklu ilaçlara dirençli olanlarla mücadele alanında, çeşitli antibiyotiklerin etkinlikleri değerlendirilmiştir. Bunlar arasında, gentamisin ve amikasin gibi aminoglikozitler, *A. baumannii*'ye karşı *in vitro* aktivite göstermiş ve bu da onları bakteriyemi olmadan idrar yolu enfeksiyonlarını (İYE) ele almak için güçlü seçenekler haline getirmiştir. Bu antibiyotikler, başarılı tedavi sonuçları için önemli bir faktör olan idrarda yüksek konsantrasyonlara ulaşma yetenekleri nedeniyle İYE'ler için ilk tercih monoterapi olarak tercih edilir (84). Levofloksasin ve siprofloksasin dahil olmak üzere florokinolonlar, izole edilmiş *A. baumannii* suşlarına karşı etkinlik gösterebilen başka bir antibiyotik sınıfını temsil eder. Hem parenteral hem de oral formlarda ikili kullanılabilirlikleri, hassas izolatların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde önemli bir avantaj sağlar. *A. baumannii* enfeksiyonlarına karşı spesifik uygulamaları hakkında sınırlı bilgiye rağmen, florokinolonlar klinik ortamlarda, özellikle İYE'leri tedavi etmek için sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle, levofloksasinin yan etkiler ve hastalık nüks oranları açısından siprofloksasinden daha iyi performans gösterdiği gözlemlenmiştir, ancak klinik kullanımda göreceli faydalarının kesin bir karşılaştırması yapılmamıştır [84]. Çoklu ilaca dirençli (MDR) ve yaygın ilaca dirençli (XDR) patojenler karşısında, kolistin gibi eski

ajanlar, *A. baumannii*'nin neden olduğu pnömoni gibi belirli durumlar için birinci basamak tedaviler olarak önerilmeye devam etmektedir. Hem kolistin hem de tigesiklin, MDR ve XDR patojenlerine karşı uygulanabilir terapötik seçenekler olarak kabul edilir. Buna rağmen, literatür, çeşitli enfeksiyonlarda kolistin ile tigesiklin arasındaki etkinliği doğrudan karşılaştıran kapsamlı nicel analizlerden yoksundur [85]. Bu boşluk, *A. baumannii* suşlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde bu antibiyotiklerin optimal kullanımını aydınlatmak için daha fazla araştırmaya duyulan ihtiyacın altını çizmektedir. *Acinetobacter baumannii* direnç paternlerinin kapsamlı bir analizinde, çeşitli araştırmalar bu zorlu patojenin yarattığı küresel zorluğu aydınlatmıştır. [86] Sudan'daki, 275 *A. baumannii* arasında yüksek bir direnç prevalansı bildirdiler. *A. baumannii* isolates, with 91% resistance to ciprofloxacin, 92% to gentamicin, 81% to amikacin, and 37% to colistin. Benzer şekilde, [87] kolistine %1.7, amikasin %52 ve siprofloksasine %87 direnç oranları ortaya koyan 441 kopya olmayan klinik izolatu incelemiştir. Buna karşılık, [88] İran'ın güneybatısındaki Ahvaz'dan, 80 *A. baumannii* suşundan 75'inin çoklu ilaç direncine odaklanarak, tigesiklin ve kolistine karşı sırasıyla %56.25 ve %97.5 oranlarında önemli duyarlılık kaydetti, vakaların %90'ında amikasin ve gentamisine eşzamanlı direnç gösterdi ve izolatların %70'inden fazlası hem amikasin hem de siprofloksasine direnç gösterdi.

Çalışmamız, İran'daki Mortazavi ve Sudan'daki Omar'ın bulgularıyla uyumludur, ancak Uwingabiye tarafından bildirilenlerden farklıdır. Siprofloksasine dirençli 29 *A. baumannii* izolatını analiz ettik, direnç profillerini önceki araştırmalarla karşılaştırdık ve yaygın olarak önerilen antibiyotiklere duyarlılıklarını değerlendirdik. Dikkat çekici bir şekilde, tüm izolatlar sadece siprofloksasine değil, aynı zamanda gentamisin, levofloksasin ve amikasine de direnç gösterdi. Buna karşılık, tigesiklin ve kolistine eşit derecede duyarlıydılar. Bu izolatlar, idrar, kan, yaralar, dalak ve kateter kültürleri dahil olmak üzere çeşitli klinik örneklerden elde edildi ve patojenin yaygın direncinin altını çizdi. Farklı çalışmalarda gözlenen direnç oranlarındaki tutarsızlık, coğrafi farklılıklara, antibiyotik reçeteleme uygulamalarındaki farklılıklara ve antibiyotik reçeteleri için uyumlu ve etkili bir şekilde yönetilen bir izleme sisteminin olmamasına bağlanabilir. Bulgularımız, *A. baumannii* direncine ilişkin artan kanıtlara katkıda bulunarak, direncin yayılmasını azaltmak ve tigesiklin ve kolistin gibi kritik antibiyotiklerin etkinliğini korumak için sağlam sürveyans ve yönetim programlarına duyulan ihtiyacı vurgulamaktadır.

Son yıllarda, *Acinetobacter baumannii*, kinolonlara direnç gösteren önemli sayıda izolat ile antibiyotik direnci tartışmasında önemli bir figür haline gelmiştir. Bu direnç, bu suşları yaygın olarak ilaca dirençli (XDR) veya pan-ilaca dirençli (PDR) olarak sınıflandırır ve *A. baumannii*'nin neden olduğu enfeksiyonların yönetiminde büyük bir zorluğu vurgular [89]. Sentetik antibakteriyel ilaçlar olan kinolonlar, geniş bir aktivite spektrumuna sahiptir ve hem gram pozitif hem de gram negatif bakteri türlerinin çeşitli dizilerine karşı etkili olmuştur. Bununla birlikte, son birkaç yılda florokinolonların yaygın kullanımı, dünya genelinde direncin artmasına neden olmuştur. Florokinolon direncinin ortaya çıkması, büyük ölçüde, bakteriyel DNA replikasyonu için kritik enzimler olan giraz ve topoizomerazı kodlayan genlerin kinolon direncini belirleyen bölgelerindeki (QRDR'ler) mutasyonlara atfedilir. Bu mutasyonlar, florokinolonlara karşı önemli bir direnç mekanizması sağlar. Ek olarak, ya akış pompalarının aktivasyonu ya da dış membran porin ekspresyonunun aşağı regülasyonu yoluyla elde edilen hücre içi ilaç birikiminin azaltılması, florokinolon direncinin bir başka köklü mekanizmasını temsil eder [90].

1998'den beri, plazmid aracılı kinolon direnci (PMQR) fenomeni kabul edilmiştir ve bu tür direnç elemanları yatay olarak aktarılabilir. QNR (DNA giraz ve topoizomeraz IV'ü florokinolon etkisinden koruyan pentapeptid tekrar ailesi proteinlerini kodlayan), aac(6')-Ib-cr (aktivitelerini azaltmak için belirli florokinolonları modifiye eden iki işlevli bir aminoglikozit asetiltransferaz) ve akış pompası genleri oqxAB ve qepA dahil olmak üzere PMQR genleri bu direnç profiline katkıda bulunur [91].

qnr genleri, yani qnrA, qnrB ve qnrS, bakteri enzimlerini florokinolonlardan koruyan proteinleri kodlar ve böylece bakterilerin ilaçların etkilerinden kaçmasını sağlar. Aac (6') - Ib-cr geni, norfloksasin ve siprofloksasin gibi florokinolonları asetilasyon yoluyla değiştirir ve antibakteriyel aktivitelerini azaltır, ancak ikame edilmemiş bir piperazinil nitrojen içermeyen florokinolonları etkilemez. Birincil kolaylaştırıcı süper ailesinin bir parçası olan qepA ve direnç-nodülasyon-bölünme (RND) ailesine ait oqxAB gibi akış pompaları, ilaçları bakteri hücrelerinden aktif olarak uzaklaştırarak bakterilerin siprofloksasin dahil hidrofilik florokinolonlara duyarlılığını azaltır. *A. baumannii* izolatları arasında PMQR'nin artan prevalansı, devam eden sürveyans, yeni terapötik seçeneklerin araştırılması ve kinolon direncinin yayılmasını yönetmek ve azaltmak için antibiyotiklerin akıllıca kullanılması gerekliliğinin altını çizmektedir. Genellikle plazmitler üzerinde bulunan antibiyotik direnç genleri, bu genlerin ilk keşfedilmesinden bu yana çeşitli antibakteriyel ajanlara karşı direncin

hızlı küresel yayılmasına önemli ölçüde katkıda bulunan bir süreç olan konjugasyon yoluyla bakteriler arasında aktarılabilir. Plazmid aracılı kinolon direncinin (PMQR) yayılması, çeşitli PMQR genleri dizisini tanımlayan araştırmalarla özellikle ilgilidir. Bu fenomen, bakteriyel enfeksiyonlara karşı antimikrobiyal cephaneliğin önemli bir bileşeni olan kinolon antibiyotiklerin etkinliğine meydan okuduğu için bizimki de dahil olmak üzere sağlık kurumları için kritik klinik etkilere sahiptir. [91, 92, 93].

Yapılan bu tez çalışmasında amacımız, hastanemizde toplanan çeşitli klinik örneklerden plazmid aracılı tespit yoluyla siprofloksasine dirençli 29 *A. baumannii* izolatını tanımlamak ve korumaktır. Kinolon direncinin en sık karşılaşılan belirleyicileri *qnrA*, B, C, D, S, *qepA*, *oqxA*, B ve *aac(6')-ib-cr* genleridir. [94] tarafından yapılan çalışmada siprofloksasine dirençli 86 izolat analiz edilerek 57 izolatta (%66,27) *qnrA*, 61 izolatta (%70,93) *qnrS* ve 45 izolatta (%52,32) *aac(6')-Ib* varlığı ortaya konmuştur. Ayrıca incelenen izolatlarda 63 izolatın (%73.25) *oqxA*, 34 izolatın (%39.53) *oqxB* taşıdığı, *qepA* ve *qnrB*'nin ise bulunmadığı tespit edildi. [95], Çin'de yaptıkları araştırmada, 39 vakada *A. baumannii*'deki *qnrB* ve *qnrS* genlerini tanımladılar. Bunlar arasında *qnrB* geni 3 izolatta (%7.7) ve *qnrS* geni sadece 1 izolatta (%2.6) bulundu ve kohortta diğer QNR genleri tespit edilmedi. Ayrıca, [96] tarafından Şubat ve Ağustos 2009 arasında toplanan izolatları inceleyen 2017 tarihli bir çalışmada, 265 *Escherichia coli*, 33 *Klebsiella pneumoniae* ve 2 *Klebsiella oxytoca* izolatında nalidiksik aside direnç veya ara duyarlılık araştırılmıştır. PCR yönteminde *E. coli* izolatlarının 99'unda (%37.4) *qnr* (*qnrA*, *qnrB* ve *qnrS*) genlerinin yokluğu saptanırken, bu genler *K. pneumoniae* izolatlarında bulundu. *aac(6')-Ib* geni 4 izolatta (%12.1) mevcuttu. *Aac(6')-Ib* pozitif *E. coli* izolatları arasında *aac(6')-Ib-cr* varyantları üzerine yapılan bir araştırma, *BtsCI* kısıtlama enzimi kullanılarak, *aac(6')-Ib-cr* varyantını taşıyan 97 izolatın (%98) *aac(6')-Ib-cr* varyantını taşıdığını tespit etti. Çalışma, izolatlarda spesifik genlerin varlığını ve aktarılabilirliğini değerlendirmeye odaklandı. PCR analizi, *qnrB*'nin 29 izolatın 24'ünde mevcut olduğunu ve %82.8'ini oluşturduğunu ve yüksek bir prevalansa işaret ettiğini ortaya koydu. Ek olarak, *qnrS* ve *oqxB*, her biri 29 izolattan 3'ünde bulundu ve %10.3'ü temsil etti. *OqxA* geni, numune havuzunun yaklaşık% 55.2'si olan 29 izolattan 16'sında tespit edildi ve 29 izolattan 15'inde veya% 51.7'sinde *aac(6')-Ib* tanımlandı. Tersine, izolatların hiçbiri *qnrA*, *qnrC*, *qnrD* veya *qepA* genleri için pozitif test edilmedi ve incelenen izolatlar arasında belirli bir gen varlığı ve yokluğu modelini vurguladı. Konjugasyon deneyleri yoluyla bu genin aktarılabilirliğini daha da araştırdık. 29 *A. baumannii* izolatından 1'inin (%3.44) konjugatif plazmit içerdiği saptandı. Bu plazmid

başarılı bir şekilde *E. coli* J53-2'ye aktarıldı ve elde edilen transkonjugan hücrelerin antibiyotik duyarlılık paternleri disk difüzyonu kullanılarak belirlendi. Her transkonjugant hücre fenotipik olarak orijinal tipindeki bir *A. baumannii* izolatu ile eşleşti. *qnrB* geninin amplifikasyonu PCR ile doğrulandı, bu da genin gerçekten de çeşitli antibiyotik direnç faktörleri taşıdığı bilinen konjugatif plazmitler yoluyla bulaşabilir olduğunu gösterdi. Konjugasyon deneylerinden elde ettiğimiz sonuçlar, kinolon direnci ile ilişkili *qnrB* geninin hastane klinik izolatlarında yaygın olduğunu ve yatay olarak aktarılabildiğini göstermektedir. Bu bulgu, bakteri popülasyonları arasında direnç mekanizmalarının yayılma potansiyelinin altını çizmektedir. Bulgularımıza dayanarak, sonuçlarımızın Çin'de Yang tarafından bildirilenlerle tutarlı olduğu sonucuna varabiliriz ve *qnrB*'yi PMQR'de kinolon direncini kodlamaktan sorumlu baskın gen olarak vurgulayabiliriz. Bu, hem Muhammed hem de Pazarlı'nın bulgularıyla çelişiyor ve farklı çalışmalar ve coğrafi konumlarda PMQR genlerinin prevalansındaki değişkenliği daha da vurguluyor. Bulgularımız, Çin'de *K. pneumoniae*'nin 410 klinik izolatını analiz eden [97] tarafından yürütülen araştırma ile uyumludur. Çalışmalarında, iki *qnrA* pozitif, beş *qnrB* pozitif ve on yedi *qnrS* pozitiften oluşan yirmi dört *qnr*-pozitif izolat üzerinde yapılan konjugasyon deneyleri, iki *qnrB* pozitif ve on *qnrS* pozitif izolat dahil olmak üzere on iki benzersiz *qnr* içeren izolatla sonuçlandı ve tüm donörlerin ve sonuçta ortaya çıkan mutantların aynı geni paylaştığını gösterdi. Bununla birlikte, sonuçlarımız [98], 85 *P. aeruginosa* ve 45 *A. baumannii* izolatını inceledi. Konjugasyon deneylerinde tüm konjugatların *aac(6)-Ib* genini barındırdığı ve *P. aeruginosa* PMQR determinantlarının %14.1'inin (12/85) başarılı bir şekilde aktarıldığı, *A. baumannii* izolatlarında ise aktarılabılır gen gözlenmediği bulunmuştur. Bu tutarsızlık, farklı bakteri türleri arasında PMQR gen aktarılabilirliğindeki değişkenliği vurgulamakta ve küresel olarak ve özellikle bu tür araştırmaların yetersiz olduğu Türkiye'de PMQR genleri hakkında daha kapsamlı çalışmalara duyulan ihtiyacın altını çizmektedir. Araştırmamız, *Acinetobacter baumannii* suşlarında plazmid aracılı kinolon direnç genlerinin varlığını ortaya çıkarmış ve sağlık hizmeti ortamımızda tedavi protokolleri ve enfeksiyon kontrol önlemleri için önemli zorluklar ortaya koymuştur. Bu keşif, ampirik veriler ve Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIC) değerleri ile kanıtlandığı gibi, kinolon bazlı antibiyotiklerin kullanımıyla ilişkili doğal risklerin altını çizmektedir. Plazmid aracılı direnci tespit edememeleri nedeniyle standart moleküler analizler yoluyla direnç mekanizmalarını tanımlamanın karmaşıklığı, kinolon direncinin gelişiminin ayrıntılı bir şekilde anlaşılmasına yönelik önemli ihtiyacı vurgulamaktadır. Hem ulusal hem de uluslararası kapsamlı

sürveyansın uygulanması, plazmid aracılı kinolon direncinin prevalansını doğru bir şekilde değerlendirmek için esastır. Bu tür çabalar sadece bu sorunun büyüklüğünü aydınlatmakla kalmayacak, aynı zamanda etkili sınırlama stratejilerinin geliştirilmesini sağlayarak sağlık kurumlarına ve topluma da fayda sağlayacaktır. Bu araştırma, direncin hızla yayılmasını önlemek için önlemler tasarlamak için bir temel görevi görür.

Sonuç olarak, *A. baumannii* suşlarının çoğunluğunun çoklu ilaca dirençli olduğu, siprofloksasin, levofloksasin, amikasin ve gentamisin gibi antibiyotiklere direnç gösterdiği bulundu. Çoklu ilaç direnci bulunan izolatlarda tedavide kolistin veya tigesiklin kullanımını içermesi önerilir. Çok ilaç dirençli *A. baumannii*'nin önemli bir zorluk olarak ortaya çıkması, hastane ortamlarında sıkı kontrol önlemlerine, ihtiyatlı antibiyotik kullanımına ve titiz el hijyeni uygulamalarına duyulan ihtiyacın altını çizmektedir. *A. baumannii*'nin çok çeşitli klinik örneklerden izole edilebileceği göz önüne alındığında, mikrobiyoloji laboratuvarlarına gönderilen örneklerin titiz bir şekilde incelenmesi zorunludur. Ayrıca, çalışmamız, konjugatif plazmitlerin, kinolona dirençli *A. baumannii* izolatları arasında kinolon dirençli genlerin iletiminde rol oynadığını göstermektedir. Aktarılabılır direnç genleri ile ilgili devam eden araştırmaların ve Gram-negatif basillerdeki fenotipik direncin hastane gözetim sistemleri tarafından sürekli izlenmesinin gerekliliğini göstermektedir. Bu önlemler, patojenler arasında kinolon direncinin yayılmasını azaltmak için kritik öneme sahiptir.

KAYNAKLAR

1. Nimer Nabil A. Nosocomial infection and antibiotic-resistant threat in the Middle East. *Infection and drug resistance*, 2022, 631-639.
2. Al-Taliby SA; Al-Daraghi WAH. Study of Antibiotic Resistance of *Acinetobacter baumannii* in Intensive Care Units (IC Us) and Burn Patients. *Iraqi journal of biotechnology*, 2019, 18.1.
3. Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*, 2021, 10.3: 373.
4. Motbainor H, Bereded F, Mulu W. Multi-drug resistance of blood stream, urinary tract and surgical site nosocomial infections of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* among patients hospitalized at Felegehiwot referral hospital, Northwest Ethiopia: a cross-sectional study. *BMC infectious diseases*, 2020, 20: 1-11.
5. Sørensen AH, Hansen LH, Johannesen E, Sørensen SJ. Conjugative plasmid conferring resistance to olaquinox. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2003, 47.2: 798-9.
6. Robicsek A, Jacoby GA; Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *The Lancet infectious diseases*, 2006, 6.10: 629-640.
7. Bernards AT, Harinck HI, Dijkshoorn L, van der Reijden TJ, van den Broek PJ. Persistent *Acinetobacter baumannii*? Look inside your medical equipment. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 2004, 25.11: 1002-1004.
8. Cattoir V; Nordmann P. Plasmid-mediated quinolone resistance in gram-negative bacterial species: an update. *Current medicinal chemistry*, 2009, 16.8: 1028-1046.
9. Blackwell G. Antibiotic resistance in global clone 2 *Acinetobacter baumannii* from Singapore. 2017. PhD Thesis.
10. Beijerinck MW. Pigmenten als oxydatie-producen door bacterien gevormd. *Koninklijke Akademie Wetenschappente Amsterdam*, 1911, 13: 1066-1177.
11. Gonzalez-Villoria AM, Valverde-Garduno V. Antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii* increasing success remains a challenge as a nosocomial pathogen. *Journal of pathogens*, 2016, 2016.
12. Bergogne-berezin E. Importance of *Acinetobacter* spp. *Acinetobacter Biology and Pathogenesis*, 2008, 1-18.
13. Juni E. Genetics and physiology of *Acinetobacter*. *Annual Reviews in Microbiology*, 1978, 32.1: 349-371.
14. Ingram M, Shewan JM. Introductory reflections on the *Pseudomonas-Achromobacter* group. *Journal of Applied Bacteriology*, 1960, 23.3: 373-378.
15. Dijkshoorn L, van der Toorn J. *Acinetobacter* species: which do we mean?. *Clinical infectious diseases*, 1992, 15.4: 748-749.

16. Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *International journal of antimicrobial agents*, 2010, 35.3: 219-226.
17. Gerner-Smidt P, Tjernberg I, Ursing J. Reliability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. *Journal of clinical microbiology*, 1991, 29.2: 277-282.
18. Chuang YC, Sheng WH, Li SY, Lin YC, Wang JT, Chen YC, Chang SC. Influence of genospecies of *Acinetobacter baumannii* complex on clinical outcomes of patients with acinetobacter bacteremia. 2011.
19. Leung WS, Chu CM, Tsang KY, Lo FH, Lo KF, Ho PL. Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. *Chest*, 2006, 129.1: 102-109.
20. McDonald LC, Banerjee SN, Jarvis WR. Seasonal variation of *Acinetobacter* infections: 1987–1996. *Clinical infectious diseases*, 1999, 29.5: 1133-1137.
21. Valero C, Fariñas MC, García Palomo D, Mazarrasa JC, González Macías J. Endocarditis due to *Acinetobacter lwoffii* on native mitral valve. *International journal of cardiology*, 1999, 69.1: 97-99.
22. Richards AM, Abu Kwaik Y, Lamont RJ. Code blue: A *Acinetobacter baumannii*, a nosocomial pathogen with a role in the oral cavity. *Molecular oral microbiology*, 2015, 30.1: 2-15.
23. Rodríguez-Martínez JM, Cano ME, Velasco C, Martínez-Martínez L, Pascual A. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2011, 17: 149-182.
24. Wendt C, Dietze B, Dietz E, Rüden H. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *Journal of clinical microbiology*, 1997, 35.6: 1394-1397.
25. Towner KJ. *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *Journal of Hospital Infection*, 2009, 73.4: 355-363.
26. Towner KJ. Clinical importance and antibiotic resistance of *Acinetobacter* spp: Proceedings of a symposium held on 4-5 November 1996 at Eilat, Israel. *Journal of Medical Microbiology*, 1997, 46.9: 721-746.
27. Munoz-Price LS, Arheart K, Nordmann P, Boulanger AE, Cleary T, Alvarez R, Pizano L, et al. Eighteen years of experience with *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital. *Critical care medicine*, 2013, 41.12: 2733-2742.
28. Greene C, Vadlamudi G, Newton D, Foxman B, Xi C. The influence of biofilm formation and multidrug resistance on environmental survival of clinical and environmental isolates of *Acinetobacter baumannii*. *American journal of infection control*, 2016, 44.5: e65-e71.
29. Appaneal HJ, O'Neill E, Lopes VV, LaPlante KL, Caffrey AR. National trends in hospital, long-term care and outpatient *Acinetobacter baumannii* resistance rates. *Journal of Medical Microbiology*, 2021, 70.12: 001473.
30. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Jiménez-Jiménez FJ, Barrero-Almodóvar AE, García-Garmendia JL, Bernabeu-Wittel I M, Gallego-Lara SL, et al. Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous

- colistin: a comparison with imipenem-susceptible VAP. *Clinical Infectious Diseases*, 2003, 36.9: 1111-1118.
31. Sunenshine RH, Wright MO, Maragakis LL, Harris AD, Song X, Hebden J, Cosgrove SE, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter* infection mortality rate and length of hospitalization. *Emerg Infect Dis*. 2007 Jan;13(1):97-103.
 32. Yanat B.; Rodriguez-martinez, JM; Touati A. Plasmid-mediated quinolone resistance in Enterobacteriaceae: a systematic review with a focus on Mediterranean countries. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2017, 36: 421-435.
 33. Eveillard M, Kempf M, Belmonte O, Pailhoriès H, Joly-Guillou ML. Reservoirs of *Acinetobacter baumannii* outside the hospital and potential involvement in emerging human community-acquired infections. *Int J Infect Dis*. 2013; 17(10): 802-5.
 34. Akrami F; Namvar AE. *Acinetobacter baumannii* as nosocomial pathogenic bacteria. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2019, 34: 84-96.
 35. Rizos I, Tsiodras S, Papatheanasiou S, Rigopoulos A, Barbetseas J, Stefanadis C. Prosthetic valve endocarditis due to *Acinetobacter* spp: a rare case and literature review. *Am J Med Sci*. 2007; 333(3): 197-9.
 36. Jacoby GA. Mechanisms of resistance to quinolones. *Clinical infectious diseases*, 2005, 41.Supplement_2: S120-S126.
 37. Hung YT, Lee YT, Huang LJ, Chen TL, Yu KW, Fung CP, Cho WL, Liu CY. Clinical characteristics of patients with *Acinetobacter junii* infection. *J Microbiol Immunol Infect*. 2009; 42(1): 47-53.
 38. Corrigan KM, Harmis NY, Willcox MD. Association of acinetobacter species with contact lens-induced adverse responses. *Cornea*. 2001; 20(5): 463-6.
 39. Eberle BM, Schnüriger B, Putty B, Barmparas G, Kobayashi L, Inaba K, Belzberg H, et al. The impact of *Acinetobacter baumannii* infections on outcome in trauma patients: a matched cohort study. *Critical care medicine*, 2010, 38.11: 2133-38.
 40. Brotfain E, Borer A, Koyfman L, Saidel-Odes L, Frenkel A, Gruenbaum SE, Rosenzweig V. et. al. Multidrug Resistance *Acinetobacter* Bacteremia Secondary to Ventilator-Associated Pneumonia: Risk Factors and Outcome. *J Intensive Care Med*. 2017 Oct;32(9):528-534.
 41. Cisneros JM, Rodríguez-Baño J. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. *Clin Microbiol Infect*. 2002; 8(11): 687-93.
 42. Gómez J, Simarro E, Baños V, Requena L, Ruiz J, García F, Canteras M, et al. Six-year prospective study of risk and prognostic factors in patients with nosocomial sepsis caused by *Acinetobacter baumannii*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 1999, 18: 358-361.
 43. Grupper M, Sprecher H, Mashiach T, Finkelstein R. Attributable mortality of nosocomial *Acinetobacter* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2007; 28(3): 293-8.
 44. Korinek AM, Baugnon T, Golmard JL, van Effenterre R, Coriat P, Puybasset L. Risk factors for adult nosocomial meningitis after craniotomy: role of antibiotic prophylaxis. *Neurosurgery*. 2008 ; 62 Suppl 2: 532-9.

45. Chen HP, Lai CH, Chan YJ, Chen TL, Liu CY, Fung CP, Liu CY. Clinical significance of *Acinetobacter* species isolated from cerebrospinal fluid. *Scand J Infect Dis*. 2005; 37(9): 669-75.
46. Rodríguez Guardado A, Maradona JA, Asensi V, Cartón JA, Pérez F, Blanco A, Arribas JM. Meningitis postquirúrgica por *Acinetobacter baumannii*: estudio de 22 casos y revisión de la literatura [Postsurgical meningitis caused by *Acinetobacter baumannii*: study of 22 cases and review of the literature]. *Rev Clin Esp*. 2001; 201(9): 497-500.
47. Siegman-Igra Y, Bar-Yosef S, Gorea A, Avram J. Nosocomial acinetobacter meningitis secondary to invasive procedures: report of 25 cases and review. *Clin Infect Dis*. 1993; 17(5): 843-9.
48. Kelkar R, Gordon SM, Giri N, Rao K, Ramakrishnan G, Saikia T, Nair CN, et al. Epidemic iatrogenic *Acinetobacter* spp. meningitis following administration of intrathecal methotrexate. *Journal of Hospital Infection*, 1989, 14.3: 233-243.
49. Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *J Infect Dis*. 2008.; 197(8): 1079-81.
50. Weiner LM, Webb AK, Limbago B, Dudeck MA, Patel J, Kallen AJ, Edwards JR. et al. 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, 2011–2014. *infection control & hospital epidemiology*, 2016, 37.11: 1288-1301.
51. Sinha N, Niazi M, Lvovsky D. A fatal case of multidrug resistant acinetobacter necrotizing fasciitis: the changing scary face of nosocomial infection. *Case Rep Infect Dis*. 2014; 2014: 705279.
52. Stephenson S, Brown PD, Holness A, Wilks M. The emergence of qnr-mediated quinolone resistance among Enterobacteriaceae in Jamaica. *West Indian Med J*. 2010; 59(3): 241-4.
53. Lau SM, Peng MY, Chang FY. Resistance rates to commonly used antimicrobials among pathogens of both bacteremic and non-bacteremic community-acquired urinary tract infection. *J Microbiol Immunol Infect*. 2004; 37(3): 185-91.
54. Correia S, Poeta P, Hébraud M, Capelo JL, Igrejas G. Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand? *J Med Microbiol*. 2017; 66(5): 551-9.
55. Pneumatikos I, Konstantonis D, Tsagaris I, Theodorou V, Vretzakis G, Danielides V, Bouros D. Prevention of nosocomial maxillary sinusitis in the ICU: the effects of topically applied alpha-adrenergic agonists and corticosteroids. *Intensive Care Med*. 2006; 32(4): 532-7.
56. Kanafani Z; Kanj S. *Acinetobacter* infection: Epidemiology, microbiology, pathogenesis, clinical features, and diagnosis. *Wolters Kluwer*, 2013, 2: 21-33.
57. Fournier PE, Vallenet D, Barbe V, Audic S, Ogata H, Poirel L, Richet H, Robert C, Mangenot S, Abergel C, Nordmann P, Weissenbach J, Raoult D, Claverie JM. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Genet*. 2006; 2(1):e7.
58. Jacoby GA, Strahilevitz J, Hooper DC. Plasmid-mediated quinolone resistance. *Plasmids: Biology and Impact in Biotechnology and Discovery*, 2015, 475-503.

59. Hawley JS, Murray CK, Griffith ME, McElmeel ML, Fulcher LC, Hospenthal DR, Jorgensen JH. Susceptibility of acinetobacter strains isolated from deployed U.S. military personnel. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007 Jan;51(1):376-8.
60. Sheppard FR, Keiser P, Craft DW, Gage F, Robson M, Brown TS, Petersen K ve diğerleri. The majority of US combat casualty soft-tissue wounds are not infected or colonized upon arrival or during treatment at a continental US military medical facility. *Am J Surg.* 2010 Oct;200(4):489-95.
61. Griffith ME, Lazarus DR, Mann PB, Boger JA, Hospenthal DR, Murray CK. Acinetobacter skin carriage among US army soldiers deployed in Iraq. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2007; 28(6): 720-2.
62. Hujer KM, Hujer AM, Hulten EA, Bajaksouzian S, Adams JM, Donskey CJ, et. all.. Analysis of antibiotic resistance genes in multidrug-resistant Acinetobacter sp. isolates from military and civilian patients treated at the Walter Reed Army Medical Center. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50(12): 4114-23.
63. Maegele M, Gregor S, Steinhausen E, Bouillon B, Heiss MM, Perbix W, Wappler F ve diğerleri. The long-distance tertiary air transfer and care of tsunami victims: injury pattern and microbiological and psychological aspects. *Crit Care Med.* 2005; 33(5):1136-40.
64. Kim ES, Hooper DC. Clinical importance and epidemiology of quinolone resistance. *Infect Chemother.* 2014; 46(4): 226-38.
65. Brisou J, Prevot AR. Studies on bacterial taxonomy. X. The revision of species under Acromobacter group. In: *Annales de l'Institut Pasteur.* 1954. p. 722-728.
66. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. *Nat Rev Microbiol.* 2007; 5(12): 939-51.
67. Mammeri H, Van De Loo M, Poirel L, Martinez-Martinez L, Nordmann P. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in Escherichia coli in Europe. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49(1):71-6.
68. Brovedan M, Repizo GD, Marchiaro P, Viale AM, Limansky A. Characterization of the diverse plasmid pool harbored by the blaNDM-1-containing Acinetobacter bereziniae HPC229 clinical strain. *PLoS One.* 2019 Nov 19;14(11):e0220584.
69. Albornoz E, Tijet N, De Belder D, Gomez S, Martino F, Corso A, Melano RG, Petroni A. *qnrE1*, a Member of a New Family of Plasmid-Located Quinolone Resistance Genes, Originated from the Chromosome of Enterobacter Species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017. 24;61(5): 2555-16.
70. Hansen LH, Johannesen E, Burmølle M, Sørensen AH, Sørensen SJ. Plasmid-encoded multidrug efflux pump conferring resistance to olaquinox in Escherichia coli. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004. 48(9): 3332-7.
71. Clark, Nina M.; Zhanel, George G.; Lynch III, Joseph P. Emergence of antimicrobial resistance among Acinetobacter species: a global threat. *Current opinion in critical care,* 2016, 22.5: 491-499.
72. Poirel L, Rodriguez-Martinez JM, Mammeri H, Liard A, Nordmann P. Origin of plasmid-mediated quinolone resistance determinant QnrA. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005, 49.8: 3523-3525.

73. Hamed SM, Aboshanab KMA, El-Mahallawy HA, Helmy MM, Ashour MS, Elkhatib WF. Plasmid-Mediated Quinolone Resistance in Gram-Negative Pathogens Isolated from Cancer Patients in Egypt. *Microb Drug Resist*. 2018, 24.9: 1316-1325.
74. Guo N, Xue W, Tang D, Ding J, Zhao B. Risk factors and outcomes of hospitalized patients with blood infections caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* complex in a hospital of Northern China. *Am J Infect Control*. 2016; 1; 44 (4)
75. Leblebicioglu, H. Yeni Kinolonlarda Mikrobiyolojik ve Klinik Etkinlik. *Ankem Derg*, 2002, 16.3: 226-232.
76. Redgrave LS, Sutton SB, Webber MA, Piddock LJ. Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends Microbiol*. 2014 Aug;22(8):438-45.
77. Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA, Macielag M, Abbanat D, Hye Park C, Hooper DC. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nature medicine*, 2006, 12.1: 83-88.
78. Wroblewska MM, Dijkshoorn L, Marchel H, Van den Barselaar M, Swoboda-Kopec E, Van Den Broek PJ, Luczak M. Outbreak of nosocomial meningitis caused by *Acinetobacter baumannii* in neurosurgical patients. *Journal of Hospital Infection*, 2004, 57.4: 300-307.
79. Rusu A, Lungu IA, Moldovan OL, Tanase C, Hancu G. Structural characterization of the millennial antibacterial (fluoro) quinolones-shaping the fifth generation. *Pharmaceutics*, 2021, 13.8: 1289.
80. Fonseca EL, Dos Santos Freitas F, Vieira VV, Vicente AC. New qnr gene cassettes associated with superintegron repeats in *Vibrio cholerae* O1. *Emerging infectious diseases*, 2008, 14.7: 1129.
81. Xie R, Zhang XD, Zhao Q, Peng B, Zheng J. Analysis of global prevalence of antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* infections disclosed a faster increase in OECD countries. *Emerging microbes & infections*, 2018, 7.1: 1-10.
82. Curtis, L. T. Prevention of hospital-acquired infections: review of non-pharmacological interventions. *Journal of Hospital Infection*, 2008, 69.3: 204-219.
83. French MA, Cerra FB, Plaut ME, Schentag JJ. Amikacin and gentamicin accumulation pharmacokinetics and nephrotoxicity in critically ill patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1981, 19.1: 147-152.
84. Sato Y, Ubagai T, Tansho-Nagakawa S, Yoshino Y, Ono Y. Effects of colistin and tigecycline on multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* biofilms: Advantages and disadvantages of their combination. *Scientific Reports*, 2021, 11.1: 11700.
85. Omer MI, Gumaa SA, Hassan AA, Idris KH, Ali OA, Osman MM, Saleh MS, et al. Prevalence and resistance profile of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from a private hospital in Khartoum, Sudan. *Am J Microbiol Res*, 2015, 3.2: 76-9.
86. Uwingabiye J, Frikh M, Lemnouer A, Bssaibis F, Belefquih B, Maleb A, Dahraoui S, et al. *Acinetobacter* infections prevalence and frequency of the antibiotics resistance: comparative study of intensive care units versus other hospital units. *Pan African Medical Journal*, 2016, 23.1.
87. Mortazavi SM, Farshadzadeh Z, Janabadi S, Musavi M, Shahi F, Moradi M, Khoshnood S. Evaluating the frequency of carbapenem and aminoglycoside resistance genes

- among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from Ahvaz, south-west Iran. *New Microbes and New Infections*, 2020, 38: 100779.
88. Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Kimura K, Shibata N, Kato H, Shibayama K, et al. New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2007, 51.9: 3354-3360.
89. Lode H, Borner K, Koeppe P. Pharmacodynamics of fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases*, 1998, 27.1: 33-39.
90. Sahar AMA, Reem MMH, Sahar MK, Amira MAS. Plasmid-mediated quinolone resistance genes *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS* and *aac* (6)-Ib in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Microbiol Res J Int*, 2018, 1-12.
91. Martinez- Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *The Lancet*, 1998, 351.9105: 797-799.
92. Nordmann P, Poirel L. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2005, 56.3: 463-469.
93. Mohammed MA, Salim MTA, Anwer BE, Aboshanab KM, Aboulwafa MM. Impact of target site mutations and plasmid associated resistance genes acquisition on resistance of *Acinetobacter baumannii* to fluoroquinolones. *Sci Rep*. 2021 Oct 11;11(1):20136.
94. Yang H, Hu L, Liu Y, Ye Y, Li J. Detection of the plasmid-mediated quinolone resistance determinants in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in China. *J Chemother*. 2016 Oct;28(5):443-5.
95. Gavressea T, Kalogeras KT, Koliou GA, Zagouri F, Lazaridis G, Gogas H, Tsigaridas K, et al. The prognostic value of the immunohistochemical expression of phosphorylated RB and p16 proteins in association with cyclin D1 and the p53 pathway in a large cohort of patients with breast cancer treated with taxane-based adjuvant chemotherapy. *Anticancer Research*, 2017, 37.6: 2947-2957.
96. Wang A, Yang Y, Lu Q, Wang Y, Chen Y, Deng L, Ding H, et al. Occurrence of *qnr*-positive clinical isolates in *Klebsiella pneumoniae* producing ESBL or AmpC-type β -lactamase from five pediatric hospitals in China. *FEMS microbiology letters*, 2008, 283.1: 112-116.
97. Venkataramana GP, Lalitha AKV, Mariappan S, Sekar U. Plasmid-Mediated Fluoroquinolone Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Laboratory Physicians*, 2022, 14.03: 271-277.
98. Scannapieco FA; Bush RB; Paju S. Associations between periodontal disease and risk for nosocomial bacterial pneumonia and chronic obstructive pulmonary disease. A systematic review. *Annals of periodontology*, 2003, 8.1: 54-69.

EKLER

Ek1: Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 2023-08/65 çalışma izin kararı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Kinolon Dirençli Acinetobacter Baumannii İzolatlarında Plazmid Aracılı Kinolon Direnç Genlerinin Araştırılması"	
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		
ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Bağbaşı Yerleşkesi Merkez/KIRŞEHİR
	TELEFON	0386 280 3924
	FAKS	0386 280 5007
	E-POSTA	tipetikkurul@ahievran.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr. Öğr. Üyesi Cihat ÖZTÜRK			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Mikrobiyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Kırşehir			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 4	<input type="checkbox"/>		
		Gözlemsel ilaç çalışması	<input type="checkbox"/>		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	<input type="checkbox"/>		
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz: Girişimsel Olmayan Klinik Araştırma					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	“Kinolon Dirençli Acinetobacter Baumannii İzolatlarında Plazmid Aracılı Kinolon Direnç Genlerinin Araştırılması”
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	18.04.2023	2	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU	18.04.2023	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>					
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>					
	İLAN	<input type="checkbox"/>					
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>					
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>					
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2023-08/65	Tarih: 25/04/2023					
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmancının/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmancının/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, toplantıya katılan Etik Kurul üye tamsayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.						

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Doç. Dr. Recai DAĞLI

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Duha Nagim Abdallh ABDALLH
Doğum Yeri	Bağdat / Irak
Uyruğu	<input type="checkbox"/> Diğer: Irak

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Bağdat Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoteknoloji
Mezuniyet Yılı	2019

Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü Adı	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Moleküler Tıp Anabilim Dalı
Programı	Moleküler Tıp Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	2024

Makale ve Bildiriler
1 . Duha Nagim ABDALLH, Cihat ÖZTÜRK, Elif SEVİM, Rukiye AKYOL. Kongresi (IGSCONG'23) 14-17 Haziran 2023 tarihinde gerçekleştirilmiş ve <i>Acinetobacter baumannii</i> İzolatlarında Kinolon Direnç Genlerinin Araştırılması (Online-Sözlü Sunum). başlıklı bir sunum yapılmıştır.