

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**



**ACINETOBACTER İZOLATLARINDA PLAZMİD ARACILI
KİNOLON DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Nqobile MZULWINI

Danışman

Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1904.22.011 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Nqobile MZULWINI tarafından, Doç. Dr. Yeliz Tanrıverdi ÇAYCI danışmanlığında hazırlanan “ACINETOBACTER İZOLATLARINDA PLAZMİD ARACILI KİNOLOD DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 18.08.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç Dr Yeliz Tanrıverdi ÇAYCI Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Hacer Özlem KALAYCI Ordu Üniversite Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar 'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☒ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☐

20 /06 / 2023
Nqobile MZULWINI

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: *ACINETOBACTER* İZOLATLARINDA PLAZMİD ARACILI
KİNOLON DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 20/06/2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 9

Tek kaynak oranı : % 5 çıkmıştır.

20/06/2023
Doç. Dr. Yeliz Tanrıverdi ÇAYCI

ÖZET

ACINETOBACTER İZOLATLARINDA PLAZMİD ARACILI KİNOLON DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Nqobile MZULWINI
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Haziran/2023
Danışman: Doç. Dr. Yeliz Tanrıverdi ÇAYCI

Amaç: *Acinetobacter* izolatları hastane ortamında yaygın olarak bulunan fırsatçı nozokomiyal patojenlerdir. Bu patojenler çoğunlukla yoğun bakım hastalarından izole edilirler. Hastalar, bir kişiden diğerine hastalığın bulaşmasında birincil kaynak olmakla birlikte, tıbbi ekipman ve hastane personeli de enfeksiyonun yayılmasından sorumludur. Bu tez çalışmasında, klinik örneklerden elde edilen *Acinetobacter* suşları üzerinde PZR yöntemini uygulayarak plazmit aracılı kinolon direnç genleri araştırılmış ve böylece bu genlerin varlığının ve yaygınlığının belirlenmesiyle birlikte ve *Acinetobacter* türlerinin kinolon direncinde plazmitlerin rolünün daha iyi anlaşılması beklenmektedir.

Materyal ve Metot: Ocak 2021 - Temmuz 2021 tarihleri arasında Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında rutin tanı amacıyla gönderilen klinik örneklerden 175 *Acinetobacter* izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. Daha sonra, *Acinetobacter* izolatlarından DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve ardından multipleks PZR yöntemi kullanılarak kinolon direnç genlerinin varlığı araştırılmıştır.

Bulgular: Bu araştırmanın birincil amacı, *acinetobacter* türlerine karşı kinolon ilaç etkinliğini önleyen direnç genlerinin varlığını belirlemektir. Klinik laboratuvar rutininden elde edilen toplam 175 örneği *Acinetobacter* türlerinde gen direncini belirlemek için kullanılmıştır. Bulgularımıza göre qnr-S geninin diğer genlere göre daha baskın olduğu gözlenmiştir. qnr A, qnrB, qnrC, qnrS, oqxAB, oqxA ve qepA genlerinin direnç oranı sırasıyla %0.57, %0.57, %0.57, %5.71, %2.8, %4, %0 şeklinde olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada qnrA, qnrB, qnrC, qnrS, oqxAB, qepA genlerin *Acinetobacter* suşlarında bulunması, çoklu ilaç dirençinde önemli rol aldıkları bir çok çalışma ile gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Acinetobacter baumannii*, Plazmitler, Quinolones, Direnç, Multiplex PZR

ABSTRACT

INVESTIGATION OF PLASMID-MEDIATED QUINOLONE RESISTANCE GENES IN *ACINETOBACTER* ISOLATES

Nqobile MZULWINI

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Medical Microbiology

Master, June/2023

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Yeliz Tanrıverdi ÇAYCI

Objective: *Acinetobacter* isolates are opportunistic nosocomial infections routinely identified in hospitals. These pathogens are mostly isolated from patients in intensive care units. While patients are the primary source of illness transmission from one person to another, medical equipment and hospital personnel are also highly responsible for infection spread.

In this thesis study, plasmid-mediated quinolone resistance genes were investigated using the PCR method on *Acinetobacter* strains obtained from clinical samples, and it is expected that the role of plasmids in quinolone resistance of *Acinetobacter* species, as well as the presence and prevalence of these genes, will be better understood.

Materials and Methods: Between January 2021 and July 2021, clinical samples supplied by the Medical Microbiology Laboratory for standard testing contained 175 *Acinetobacter* isolates. Following DNA extraction from the *Acinetobacter* isolates, multiplex PCR was used to test for the presence of quinolone resistance genes.

Results: The main goal of our research was to identify the existence of resistance genes that inhibit the activity of quinolone drugs against *acinetobacter* species. Gene resistance was identified in *Acinetobacter* species using a total of 175 samples from regular clinical laboratory routines. According to our findings, it was observed that the qnr-S gene was more dominant than other genes. The resistance rates of the genes qnr A, qnrB, qnrC, qnrS, oqxAB, oqxA, and qepA were found to be 0.57, %0.57%, 0.57%, 5.7 %, 2.8%, 4%, and 0%, respectively.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, Plasmids, Quinolones, Resistance, Multiplex PCR

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına bağlı Mikrobiyoloji Laboratuvarında yaptığı ; ‘*Acinetobacter* izolatlarında plazmid aracılı kinolon direnç genlerinin araştırılması’ konulu tez çalışması her aşamasında bilgi ve görüşleriyle yardımlarım benden esirgemeyen değerli hocam ve danışmanım Sayın Doç. Dr. Yeliz Tanrıverdi ÇAYCI’ya , çalışmama göstermiş oldukları ilgi ve desteklerinden dolayı değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ, Sayın Doç. Dr. Kemal Bilgi, Sayın Dr. Öğre. Üyesi Demet GÜR VURAL’a, çalışmama başladığım günden beri destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli Ondokuz Mayıs Üniversitesi asistanları Araştırma görev Sayın İlknur BİYİK, Sayın Kübra ve arkadaşlarım Sayın Sinem EVLİ, Sindiswa Sokhulu, Shenaz Mludi’e, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına, yüksek lisans başladığım ilk günden desteklerini esirgemeyen herkese teşekkür ederim.

Nqobile MZULWINI

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. <i>Acinetobacter</i> Cimsi Bakteriler.....	2
2.1.1. Taksonomi ve Tarihçe.....	2
2.1.2. Mikrobiyolojik ve Metabolik Özellikler	2
2.1.3. Patogenez ve Virülans Faktörleri	4
2.1.4. Epidemiyoloji.....	6
2.1.5. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonları.....	6
2.1.6. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarının Tedavisi	7
2.1.7. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotikler.....	8
2.1.8. <i>Acinetobacter</i> Türlerinde Antibiyotik Direnç Mekanizmaları	15
2.2. Kinolonlar	17
2.2.1. Kimyasal yapı	17
2.2.2. Etki mekanizması.....	19
2.2.3. Antimikrobiyal Aktivite	19
2.2.4. Farmokokinetik	20
2.2.5. Qnr genleri	23
2.2.6. QepA	25
2.2.7. OqxAB	25
2.3. Plazmitler	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Bakterilerin tanımlanması	27
3.2. Bakterilerin antimikrobiyal direncinin belirlenmesi	27
3.2.1. Vitek2 Compact Otomatize sistemi	27
3.3. Moleküler Yöntemler	27
3.3.1. <i>Acinetobacter</i> spp bakterisinden DNA ekstraksiyonu.....	27
3.3.2. Kinolonlara karşı direnç mekanizmaları	21
3.3.3. Qnr genlerinin Multipleks PZR yöntemi ile araştırılması	28
3.3.4. QepA bölgesinin amplifikasyonu:.....	29
3.3.4 OqxAB bölgelerinin amplifikasyonu	30
3.4. DNA elektroforezi.....	31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	32
4.1. <i>Acinetobacter</i> spp. Enfeksiyonu Yayılımı ve Servis Dağıtımı	32
4.2. Genlerin transferi ve kinolon direnci	34
4.3. <i>Acinetobacter</i> türleri alternatif etkili tedavi	38
4.4. Bulgularımızın değerlendirme sonuçları.....	40
5. SONUÇ.....	42
KAYNAKLAR	43
ÖZ GEÇMİŞ.....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
MDR	: Multiple Drug Resistance
DNA	: DeoksiriboNükleik Asit
EDP	: Energy-Depent Phase
tRNA	: tranfer RiboNükleik Asit
MRSA	: Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus
QS	: Quorum Sensing
OmpA	: Dış Zar ProteinA
LPS	: Lipopolisakkaridler
CDC	: Center for Disease Control
Spp	: Species pluralis
PMQR	: plasmid mediated quinolone resistance
EMB	: Eosin Methylene Blue

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.Kinolonların kimyasal yapısı.....	18
Şekil 3.1. Qnr PZR amplifikasyon programı	29
Şekil 3.2. QepA PZR amplifikasyon programı	30
Şekil 3.3. oqxAB PZR amplifikasyon programı	31
Şekil 4.1. Hastalarda gönderilen materyallerin dağılımı.....	33
Şekil 4.2. Gönderilen materyallerin servisler göre dağılımı	34
Şekil 4.3. oqxA geni için elektroforez görüntüsünün sonucu	41



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Kinolonların sınıflandırılması.....	18
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan primer çiftleri	28
Tablo 3.2. Qnr PZR reaksiyon karışımı	29
Tablo 3.3. QepA PZR reaksiyon karışımı.....	29
Tablo 3.4. QepA geni primer dizisi.....	30
Tablo 3.5. OqxA geni primer dizisi	30
Tablo 3.6. OqxB geni primer dizisi.....	30
Tablo 3.7. Ana karışım PZR reaksiyonunun hazırlanması	31
Tablo 4.1. Çalışmaya dâhil edilen suşların tür dağılımı.....	33
Tablo 4.3. Acinetobacter spp PZR sonuçları	40



1. GİRİŞ

Acinetobacter; nonfermentatif, gram negatif kokobasil ve aerob olup doğada ve hastane ortamlarında sıklıkla karşılaşılan bir bakteridir. Sağlıklı yetişkinlerin çeşitli vücut bölgelerinden normal flora üyesi olarak izole edilebilir. *Acinetobacter baumannii*, insanlardan en yaygın şekilde izole edilen türdür. (Murray et al., 2007).

Çeşitli yüzeylerde canlı kalabilmesi ve antimikrobiyal çoğul direnç kazanma yeteneği nedeniyle *A. baumannii*, hastane enfeksiyonlarının en önemli kaynağını oluşturur (Murray et al., 2003). Ek olarak, çoklu ilaca dirençli suşlar, enfeksiyonların tedavisini güçleştirmektedir. *A. baumannii* kaynaklı hastane enfeksiyonları sonucu ölüm oranı %34 iken, yoğun bakım hastalarında bu oran %43 olarak bildirilmiştir (Karageorgopoulos et al., 2008; Can vd., 2008).

Acinetobacter türleri, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılması ile antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirmiştir (Murray et al., 2003). Mikroorganizmalardaki direnç oranındaki bu artış, farklı tedavi yöntemlerinin geliştirilmesini ve uygulanmasını kaçınılmaz kılmaktadır. Bu enfeksiyonların tedavisinde son seçenek olarak değerlendirilen kolistin gibi eski antibiyotikler ya da kombinasyon tedavisi gibi yöntemler yeniden dikkatleri çekmeye başlamıştır (Saltoğlu , 2007).

Bu çalışmanın amacı, klinik örneklerden izole edilen *A. baumannii* izolatlarında izolatlarında plazmit aracılı kinolon direnç genlerinin varlığının araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Acinetobacter* Cinsi Bakteriler

2.1.1. Taksonomi ve Tarihçe

Beijerinck 1911'de topraktan izole ettiği ve *Micrococcus calco-aceticus* adını verdiği *Acinetobacter* türlerini keşfetti. Daha sonra DeBord 1939'da, üretral örnekten gram negatif kokobasilin izolasyonunu gerçekleştirdi ve tanımladı (Munoz-Price and Weinstein, 2008; Murray et al., 2003, Bahar ve Esen, 2008). *Acinetobacter* türleri, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacterium anitratum*, *B5W*, *Micrococcus calcoaceticus*, *Herellea Vaginicola/Mima polymorpha*, *Moraxella lwoffii* ve *Moraxella glucidolytica* gibi 15'ten fazla farklı jenerik isimle adlandırılmıştır. Taksonomik çalışmalar sonucu, günümüzde *Acinetobacter* cinsinin *Moraxellaceae* ailesi içinde *Moraxella*, *Psychrobacter* ve ilgili diğer cinslerle birlikte sınıflandırıldığı belirtilmiştir (Berezin and Towner, 1996).

Deoksiribonükleik asit (DNA) benzerliklerine dayanarak gerçekleştirilen çalışmalar ile *Acinetobacter* cinsi içinde 19'dan fazla tür belirlenmiştir ve bu türler arasında *Acinetobacter calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. radiorezistens*, *A. lwoffii*, *A. haemolyticus*, *A. schindleri*, *A. junii*, *A. johnsonii*, *A. ursingii* yer almaktadır. Bu yedi türden dördünün birbirlerine olan benzerliklerinden dolayı *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleksi olarak da yaygın bir şekilde kabul edilirler. DNA gruplarının fenotip anazlilerle ayrımı zor olan *Acinetobacter* türleri, sakkarolitik ve asakkarolitik olarak sınıflandırılır. Hemolitik olanlar *A. haemolyticus* olarak adlandırılırken, hemoliz yapmayan glukozu okside eden türlerin çoğu *A. baumannii*, glukoz negatif hemolitik olmayanlar ise *A. lwoffii* olarak adlandırılmıştır. Klinikte en sık bildirilen *Acinetobacter* türleri *A.baumannii*, *A.calcoaceticus* ve *A.lwoffii*'dir (Munoz-Price and Weinstein, 2008). Bu türler arasında en yaygın şekilde gerçekleştirilen klinik incelemeler *A. baumannii* üzerinde yapılmaktadır.(Bergogone-Berezin and Towner, 1996).

2.1.2. Mikrobiyolojik ve Metabolik Özellikler

Acinetobacter cinsi mikroorganizmalar, oksidaz negatif, fermentasyon yapmayan, gram negatif, nitratları indirgemeyen, katalaz pozitif, hareketsiz, indol negatif, 35-37°C'de ve aerobik olarak çoğalan bakterilerdir (Bahar ve Esen, 2008). Flajellaları bulunmaz ancak fimbriaları vardır. Oksidatif fermentatif besiyerinde ve

üç şeker-demir besiyerinde (TSI) asit üretmezler (Bergogone-Berezin and Towner, 1996; Bartual, 2005; Towner, 1998). Bu mikroorganizmalar, 1-1,5 x 1,5-2,5 µm boyutlarındadır ve dekolorizasyona karşı direnç gösterirler, genellikle çiftler şeklinde bulunurlar. *Acinetobacter* izolatları kimi zaman kan kültürü boyamalarında hazırlanan direkt sürüntülerde Gram pozitif kok şeklinde olabilmektedir. *Coccobacillus* tipi predominans, seçici olmayan agar besiyerinde ve durağan üreme fazı döneminde sıklıkla gözlenirken, üremenin erken döneminde sıvı besiyerinde veya hücre duvarlarında, aktif antimikrobiyal ajanlar içeren plaklarda *Bacillus* tipi daha sık gözlenir.

Acinetobacter kolonileri, şeffaf olmayan, düzgün ve *Enterobacteriaceae* ailesinin üyelerinden daha küçük boyutlarda oluşur. Birçok suş MacConkey agarda renksiz veya soluk pembe koloniler meydana getirirken kimi suşlar, kanlı agar plakalarında ortası delik koloniler üretir ve sıvı besiyerinde üreme gösteremezler (Murray et al., 2003).

Bu bakteriler, *Enterobacteriaceae* kolonilerinden, anaerobik koşullarda ürememe ve nitratları indirgeyememe gibi özelliklerle ayrılırlar.

Karbohidrat, bromkrezol moru ve safra tuzları içeren Holton's agar, Herelea agar, Leeds *Acinetobacter* Medium gibi selektif/ayırt edici besiyerleri klinik örneklerden izolasyonları için geliştirilmiştir. Kontamine örneklerden, örneğin dışkıdan bakterilerin izolasyonu, pH 5.5-6.0 sıvı mineral besiyerinde bakterilerin kültürlenmesi ile sağlanır (Berezin and Towner, 1996; Jawad, 1994).

Acinetobacter türleri, Amerikan Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention (CDC)) tarafından yapılan sınıflandırmada oksidaz negatif grubuna aittir ve fermentatif olmayan gram negatif basillerden CDC Grup EO-5 ve CDC Grup NO-1 ile birlikte *Bordetella* türleriyle birlikte aynı kategoride yer alır (Murray et al., 2003).

Glukoz, hemoliz ve 44°C'de üreyebilme üzerindeki oksidatif etkiler genellikle tür düzeyinde ayırım için yeterli değildir. Hemolitik olmaması, glukoz oksitleyici olması ve 44°C sıcaklıkta üreyebilme potansiyeli ile *A. baumannii*, diğerlerinden kolayca ayrımı yapılır. Glukoz negatif suşları hemolize etmeyen *A. lwoffii*, hemolitik *A. haemolyticus* olarak isimlendirilmektedir. *A. johnsonii* 37°C sıcaklıkta üreyememesi ile diğer türlerden ayrılmaktadır (Bahar ve Esen, 2008; Berezin and Towner, 1996; Weaver and Actis, 1994).

Geleneksel yöntemlerin yanı sıra *Acinetobacter* tür tayini otomatik sistemler kullanılarak da yapılabilmektedir. Yine de moleküler yöntemler belirgin şekilde olan en duyarlı yöntemlerdir. Bakteriyosin ve faj tipleme, protein profillemesi, serotipleme, multilokus enzim elektroforez ile tipleme, PCR, ribotipleme ve pulse-field jel elektroforezi de kullanılabilir (Berezin and Towner, 1996).

2.1.3. Patogenez ve Virülans Faktörleri

Sunulan son araştırmalar, *A. baumannii*'nin daha dirençli ve öldürücü hale geldiğini ve nozokomiyal enfeksiyonlar için bir risk yarattığını bildirmiştir. Bakterinin uzun süreler boyunca hastane ortamında yaşamını sürdürebilmesi ve yaygın antibiyotik direnci geliştirmesi bulaşıcı hastalıkların önlenmesi ve tedavi edilmesini güçleştirmektedir. İnsan sağlığı üzerindeki önemli etkisinden dolayı *A. baumannii* tarafından eksprese edilen patojenik mekanizmaların iyi bir şekilde kavranması çok önemlidir. Potansiyel patojenik faktörleri aşağıda belirtilmiştir.

- a) Hücre Yüzey Özellikleri: *Acinetobacter* cinsinde, yapısındaki tekrar eden deoksiamino şeker ve şeker birimleri arasındaki yapısal dallanmalar sebebiyle hidrofobik özellik gösteren lipopolisakkarid O antijeni bulunur. Bu sebeple bakterinin hücrelere hidrofobik yüzey etkileşimleri ile bağlanmaktadır. Bu bağlanma sırasında ince fimbria ve polisakkarid kapsül benzeri yapılar görevde bulunmaktadır. Yeni sunulan araştırmalar, önemli patojenik faktörleri arasında K1 kapsül yapısının da bulunduğunu belirtmiştir (Aşık, 2011).
- b) Litik/Toksik Bileşiklerin Üretimi: *A.baumannii* izolatlarının çoğu çeşitli lipopolisakkaridler (LPS) üretirler ve bu LPS'lerin yapısal ve antijenik özellikleri oldukça detaylı bir şekilde çalışılmıştır. Bu yapıların, serum toleransı, endotoksinlere konakçının bağışıklık cevabı ve klinik belirtilerle bağlantılı patojenik faktörleri olduğu düşünülmektedir. Virülansın başka bir özelliği lipolize sebep olan ekstraselüler enzimleri üretebilmesidir. Ayrıca önemli diğer bir virülans faktörü ise *A. baumannii*'nin salgıladığı dış zar veziküllerinin konak hücrelere karşı sitotoksik aktivite gösteren bir proteinini (dış zar proteini A; OmpA) içermesidir (Aşık, 2011).
- c) Dokulara Yapışma ve Hasar Oluşturma: İntraselüler bölgede bulunan fimbriaların mannoza dirençli, ince ve uzun polisakkarid yapıları sayesinde bakteriler dokulara tutunup yapışabilmektedirler. Otuz sekiz

kDa moleküler ağırlığındaki yüzey proteini *A.baumannii* OmpA (AbOmpA) küçük moleküllerinden geçişini sağlayarak *A.baumannii*'nin epitelyal hücrelere yapışması ile birlikte invazyonunu da gerçekleştirir (Aşık, 2011).

- d) Biyofilm Oluşumu: Sağlık merkezlerinde ve buralarda kullanılan enstrümanların yüzeyinde uzun süre canlılığını koruyabilen *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturmaya, özellikle kateter kaynaklı enfeksiyonlarda etkili bir patojen faktörüdür. Biyofilm oluşturma kapasitesi sayesinde bakterinin hastane ortamlarında uzun zaman boyunca canlı olmasını sağlamakla kalmayıp aynı zamanda onu çeşitli antibakteriyel ajanlardan da koruduğu bilinmektedir. Bakterinin yüzeye tutunmasında bakteri yüzeyinde bulunan pili ve flajella gibi uzantıların görev aldığı ve ekzopolimerik yapıların oluşturulması, tutunma özelliklerinin incelendiği diğer bakteri çalışmalarında bildirilmiştir (Can vd., 2006).
- e) Demir Geri Alım Mekanizmaları: Mikroorganizmalar etki ettikleri konakta varlıklarını sürdürebilmek için öncü demir moleküllerini kullanabilmeleri gerekir. Bu, yüksek afiniteli bir demir geri kazanım sisteminin ekspresyonu ile elde edilir. *A. baumannii* izolatları, çeşitli demir kaynaklarını kullanma yeteneğine ve konağın kolonizasyonuna izin veren bağımsız bir demir geri kazanım sistemine sahiptir. Bu bakteriler, farklı demir alım kapasitelerine bağlı olarak, siderofor aracılı ve/veya hemin edinme özelliklerini ifade etmektedirler (Aşık, 2011).
- f) “Quorum Sensing” (QS); Bakteriyel patojenez için bakterinin yeni çevrelere adaptasyonu ve dış koşullardan gelen uyarıyı algılayıp ardından cevap geliştirmesi hızlı olmalıdır. “Minimum popülasyon birimini algılama” olarak tanımlanan QS mekanizması, çevredeki popülasyon yoğunluğunu bakterinin algılamasını sağlayan sistemdir. Bakterinin birçok genin regülasyonunu kontrol edebilmesi bu bilgi ile gerçekleşir. Quorum Sensing ile besin kaynakları için adaptasyon geliştiren bakteri, aynı besin için rekabet eden diğer bakterilerle savaşılabılır ve enfeksiyon sırasında patojen faktörlerini modüle ederek konakçının bağışıklık yanıtlarından kaçabilmektedir (Aşık, 2011).

2.1.4.Epidemiyoloji

Bakteriyel bir patojenin besin açısından sınırlı koşullar altında ve nemsiz yüzeylerde hayatta kalma becerisi hastane cihaz ve ekipmanlarındaki kolonizasyonunun uzun süre hayatta kalmasına neden olmakta ve salgınların artması riski ile sonuçlanmaktadır. *Acinetobacter* türleri diğer bakterilere kıyasla kuruluk, farklı sıcaklık ve pH derecelerine dayanıklı olmaları sayesinde çeşitli yüzeylerde günler boyu canlı kalırlarken doğada da su, besinler ve toprakta saprofit olarak var olmaktadır (Berezin and Towner, 1996). Hastanede yatan hastaların %25'inin *Acinetobacter* türleri taşıyıcı olması, insan dersinin doğal konakçısı olmasından kaynaklanmaktadır. Bu durumun öncelikle hastane çalışanlarının derilerindeki kalıcı taşıyıcılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir (Bahar ve Esen, 2008; Hooper et al., 2005). *A.baumannii*, hastanedeki tüm ekipmanlar, kumaşlar ve eldivenler gibi abiyotik yüzeylerde haftalar boyu yaşayabilmektedir (Towner, 2009).

Solunum yolu enfeksiyonlarının ve salgının, yoğun bakım ünitelerinde özellikle ventilasyon uygulanan hastalar arasında yüksek oranda arttığı bildirilmiştir. Özellikle yoğun bakım hastalarının dışkılarından çoklu ilaca karşı savunma mekanizması geliştirmiş *Acinetobacter* türleri izole edilmiş ve trakeostomi hastalarının %45 gibi bir oranında kolonizasyon gösterilmiştir (Bahar ve Esen, 2008; Murray et al., 2003). Bu durumda başta yoğun bakım ünitelerinde çeşitli risk faktörleri iş başındadır. Antibiyotik ile tedavi, yabancı cisim uygulaması, mekanik ventilasyon, uzun süreli yoğun bakım ünitesinde kalma, cerrahi prosedürler ve bakteri kolonizasyonu risk faktörlerinden birkaçıdır (Murray et al., 2003). Son yirmi yılda, özellikle ılıman iklimler olmak üzere *Acinetobacter* enfeksiyonları yaygın bir hastane sorunu haline geldi (Munoz-Price and Weinstein, 2008).

2.1.5.*Acinetobacter* Enfeksiyonları

Acinetobacter türleri toplum kökenli enfeksiyonlarda nadir görülürken, genellikle nozokomiyal fırsatçı enfeksiyonlara neden olurlar ve *Acinetobacter* türleri arasında *A. baumannii* yaygın olarak en şiddetli klinik sonuçların kaynağıdır. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde pnömoni, menenjit, bakteriyemi, idrar yolu, sepsis ve yumuşak doku enfeksiyonlarının sebebidir (Hooper, 2000).

Acinetobacter kaynaklı enfeksiyonlarının en önemlisi olan bakteriyeminin en yaygın nedeni intravasküler ve solunum kateterleridir. Birincil bakteriyemi,

tanımlanamayan vasküler kateter enfeksiyonuna ikincil olabilir veya bağırsak kaynaklı bakteriyel translokasyona bağlı olabilir. Genel olarak, bakteriyemi daha yüksek bir ölüm oranına sahiptir ve *A. baumannii* bakteriyemisinin prognozu daha şiddetlidir. *Acinetobacter* enfeksiyonlarının en önemli ikinci nedeni olan pnömoni, oldukça şiddetlidir ve mortaliteyi ve hastaneye yatışlarını artırır (Saltoğlu, 2007).

2.1.6. *Acinetobacter* Enfeksiyonlarının Tedavisi

A. baumannii'nin antimikrobiyal direnç gösterim hızı oldukça yüksektir ve bu durum tedavi için oldukça önemli sorunlar ile sonuçlanır. Yoğun bakım ünitelerinde hasta sirkülasyonunun sayısına ve antimikrobiyal kullanımının yoğunluğuna bağlı olarak daha ciddi bir sorun haline gelmektedir (Saltoğlu, 2007).

Karbapenemler, β -laktam-laktamaz inhibitör kombinasyonları, 3. ve 4 kuşak sefalosporinler, rifampisin, doksisisiklin tek başına veya kombinasyon formunda aminoglikozidler, kinolonlar, rifampisin, kloramfenikol, kolistin ve trimetoprim-sülfametoksazol gibi etkili antimikrobiyal ajanlar *Acinetobacter* tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Berezin and Towner, 1996; Murray et al., 2003).

Yine de *Acinetobacter*'lerin direnç geliştirme gücü ve hızı tedavi seçeneklerini sınırlamaktadır. *Acinetobacter* enfeksiyonlarında gelişen yüksek direnç, kolistin kullanımına olan dikkati artırmıştır. Karbapenemler, kolistin, tigesiklinler ve sulbaktam en etkili antibiyotikler olarak bilinmektedirler. Kolistin kullanımı ile ilgili başarılı sonuçlar rapor edilmesine rağmen yine de klinik denemeler sınırlıdır. Kolistinle beraber tüm mikrobiyal ajanlara direnç gösteren bakteri suşları, pandirençler olarak adlandırılmıştır (Saltoğlu, 2007).

Tedavi sırasında bakterilerin hızla direnç geliştirebilme olasılığının olması ve tedavide başarı sağlanamaması ihtimalini aza indirmek için kombinasyon tedavileri önerilmektedir. Düşük direnç oranları ve in vitro sinerji nedeniyle en çok tercih edilen kombinasyon aminoglikozid + seftazidim, aminoglikozid + imipenem veya florokinolon, sulbaktam + sefoperozon, imipenem + siprofloksasin kombinasyonlarıdır (Marques et al., 1997)

Birden fazla ilaca karşı direnç gösteren *A. baumannii*'nin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde kolistin + imipenem veya polimiksin B veya rifampin veya azitromisin; polimiksin veya kolistin + imipenem + rifampin; sulbaktam + rifambin; azitromisin + rifambin veya kinolon veya azitromisin kombinasyonlarının antimikrobiyal etkiyi regüle ettiği bildirilmiştir (Rahal, 2006; Appleman et al., 2000).

Çoklu ilaç direnci bulunan *A. baumannii*'nin izolatlarını in vitro ve klinik olarak etkileyen yeni bir antimikrobiyal ajan olan tigesikline karşı da son zamanlarda direnç geliştirildiği bildirilmiştir (Munoz-Price and Weinstein, 2008).

2.1.7. *Acinetobacter* Enfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotikler

2.1.7.1. Beta-laktamaz (β -laktamaz) inhibitörleri ile kombine antibiyotikler

Beta-laktamazlar, PBP'lere benzer şekilde β -laktam antibiyotikleri hidrolize ederek inaktive ederler ve kullanımda olanlar tazobaktam, sulbaktam ve klavulanik asittir. Beta-laktam molekülleri zayıf antimikrobiyel etki gösterirler ve geri dönüşümsüz β -laktamaz inhibisyonundaki mekanizmaları benzerdir. Yalnızca plazmid kaynaklı enzimleri inhibe ederken, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Morganella morganii* ve *Acinetobacter* suşlarındaki kormozal β -laktamazların inhibisyonunu gerçekleştirmez. Sulbaktam, *Acinetobacter* türleri üzerinde antimikrobiyel etki gösterir ve kombinasyonlarına duyarlılığı yüksektir. Sulbaktam-amplisin ve sulbaktam-sefoperazon ile yapılan denemeler sonucu *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde başarılı bir şekilde uygulanıp olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Vahaboğlu, 2008).

a) Ampisilin-sulbaktam: 2:1 oranında ampisilin ve bir β -laktamaz inhibitörü olan sulbaktam içeren bir kombinasyon olup bakteri hücre duvarı sentezini engelleyerek etkisini gösterir. Hücre duvarı sentezinde görev yapan disakkarit peptitlerin C-terminaline yapısal benzerliklerinden dolayı penisilini bağlayan proteinlere bağlanarak hücre duvarı sentezini inhibe ederler. Bu kombinasyonun kullanılması ile ampisiline karşı direnç gösteren gram negatif, gram pozitif ve anaerobik bakteriler üzerindeki etkinlik artırılır (Leblebicioğlu, 2004).

Sulbaktamın yapısı ve farmokinetik özellikleri ampisiline benzerdir ve 1-1 dideoksi penisilanik asit-sülfon yapısının yarı ömrü 1.1-1.3 saattir (Vahaboğlu, 2003). Penisilin ve sefalasporinlerle kombinasyonları, etkinliğini gram negatif bakterilerdeki PNP2'ye bağlanıp inhibe ederek gösterirler. Aminopenisilin grubundan bir β -laktam antibiyotik olan ampisilin oral olarak uygulanmasından sonra %30-55 oranında emilimi gerçekleşir. Yarılanma ömrü 1-2 saattir ve yetişkinlerde uygulanma dozu her 6 saatte bir olarak belirlenmiştir. Damar içi uygulamadan sonraki saatte serum derişimi 12-29 mg/L olarak ölçülmüştür. β -laktamaz salgılayan gram negatif bakteriler üzerinde etkinliği gözlemlenmemiştir ve

bu sebeple bir β -laktamaz inhibitörü ile kombinasyonu ticari olarak bu tür enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (Dökmetaş, 2003).

b) Sefaperazon-sulbaktam: Üçüncü kuşak bir sefalosporin olan sefaperazon diğer kuşaklardan farklı olarak etkisini antipsödomonal olarak gösterir. β -laktamaz salgısı olmyan enterik gram negatifler ve *P.aeruginosa* üzerindeki etkisi yüksektir. Ülkemizdeki Sefaperazon-sulbaktam kombinasyonu 1:1 şeklinde mevcuttur ve bu kombinasyon birçok β -laktamaz üreten mikroorganizmaya karşı etkilidir (Akova, 2006).

Türk Antibiyotik Direnç Grubu altında 9 merkezin yürüttüğü ortak çalışmalar sonucu 716 bakteri ile E-test yöntemi kullanılarak in vitro sefaperazon-sulbaktam toksisitelele belirlenmiştir. *Acinetobacter* izolatları üzerinde en etkili antimikrobiyel ajanların sefaperazon-sulbaktam ve imipenem olduğu rapor edilmiştir. Aygün vd., tarafından yapılan çalışmada, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi yoğun bakım ünitelerinden izole edilmiş 50 *A.baumannii* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiş ve sefaperazon-sulbaktam (%80), netilmisinden sonra en efektif anktibiyotik olarak ikinci sırada yer aldığı belirlenmiştir. (Pfaller et al., 1999. Aygün vd., 2002)

Sefaperazon-sulbaktam yalnızca parenteral olarak uygulanır ve bu kombinasyonun bireylerde kullanılmasında farklı farmokinetik özellikler göstermediği saptanmıştır. Dokulardaki dağılımı iyi olan sefaperazon-sulbaktam kombinasyonu safra yoluyla atılır ve beyin omurilik sıvısında bulunmaz. Genellikle 12 saat aralıklarla 2 g olarak alınan sefoperazona eşdeğerdir ve enfeksiyonların ağır olduğu durumlarda miktar 2 katına çıkarılabilmektedir(Akova, 2006).

2.1.7.2. Antipsödomonal Penisinler:

Bu grup karboksipenisilinler (tikarsilin ve karbenisilin) ve üreidopenisinler (piperasilin, mezlosilin ve azlosilin) olmak üzere iki gruba ayrılır. Gram negatif basiller üzerindeki etkileri, aminopenisinlere göre daha yüksektir. Bakteriyel hücre sentezinin son basamağında göre alarak inhibisyon gerçekleştirirler ve aralarından piperasilin ve tikarsilin ile β -laktam inhibitörlerinin kombinasyonları, *Acinetobacter* izolatlarına karşı aktiviteye sahiptir.

Bir β -laktamaz inhibitörü olan tazobaktam ve piperasilinin 8:1 oranındaki kombinasyonu oldukça yaygındır. Tikarsilinin etkinliği ise klavulanik asitle 15:1 oranında kombine edilmesiyle artırılır ve karbenisiline benzer etkisi ile daha düşük dozlarda uygulanması mümkündür (Dökmece, 1992).

2.1.7.3. Sefalosporinler

Sefalosporinler, sefem çekirdeği olarak isimlendirilen ve laktamazlara karşı daha stabil altı üyeli dihidrotiazin halka yapısıyla, beş üyeli tiazolidon halka yapısındaki penisilinlerden farklılaşırlar. Yapıdaki yedinci pozisyonundaki farklılıklar antibakteriyel olarak, üçüncü pozisyonundaki farklılıklar ise farmakokinetik ve metabolik etkilerde görevlidir (Leblebicioğlu, 2008).

Bakterisidal etkilerini penisilinler gibi PBP'lere bağlanarak ve hücre duvarı sentezini engelleyerek gösterirler. Antimikrobiyal etkileri ve yapı özellikleri baz alınarak dört gruba ayrılırlar: Birinci kuşak, ikinci kuşak, üçüncü kuşak ve dördüncü kuşak. Kuşak sayısı arttıkça gram-negatif etki artar. Dördüncü kuşak sefalosporinler gram-pozitif yönde faaliyet gösterirken, ikinci dönem sefalosporinler kadar etkinlikleri yüksektir (Leblebicioğlu, 2008).

Üçüncü kuşak sefaperazonun sulbaktamli kombinasyonu, dördüncü kuşak sefepim ve seftadizim *Acinetobacter* için antimikrobiyal özellik gösterirler (Çakır, 2004). Seftazidim; tüm vücut sıvılarında iyi dağılım gösteren ve antipsödomonal etkinliği yüksek, duyarlı *Acinetobacter* enfeksiyonlarında etkili ve yarı sentetik aminotiazolil grubu olan bir üçüncü kuşak sefalosporindir. Ancak literatürde, son zamanlarda yüksek direnç oranları rapor edilmiştir (Çakır, 2004; Aygün, 2002). Sefepim; paranteral olarak kullanılabilen ve gram negatif etkinlik ve beta-laktamazlara direnç sağlayan çift iyonik aminotiazolil grubu bulunan bir sefalosporindir. Gram-pozitif koklar üzerindeki etkisi üçüncü kuşak sefalosporinlerden yüksek, ikinci kuşak sefalosporinlerden düşük olmakla beraber; *Pseudomonas* izolatları başta olmak üzere tüm gram pozitif koklar, gram negatif çomaklar ve anaeroplarda etkinliği bulunur. Gram negatif enterik basiller üzerindeki etkisi üçüncü kuşak sefalosporinlerden daha fazladır çünkü Tip 1 kromozomal β -laktamazlardan daha az etkilenmektedir. Diğer sefalosporinlerde de olduğu gibi enterokoklar ve MRSA izolatlarına karşı etkinliği yoktur ve bu yüzden özellikle gram negatif mikroorganizmaların neden olduğu polimikrobiyal nozokomiyal enfeksiyonlar için tercih edilir (Çakır, 2004). Plazma yarı ömrü 2-2,3 saat olup, beyin omurilik sıvısı dahil tüm vücut sıvı ve dokularında dağılımı yüksektir ve üriner sistem ile vücuttan atılır (Leblebicioğlu, 2008).

2.1.7.4. Karbapenemler

Gram pozitif koklar, enterik ve nonenterik gram negatif çomak ve koklar, anaerob bakteriler üzerine etkinliği olan en geniş spektrumlu beta-laktam grubu antibiyotiklerdir. Yarı sentetik betalaktam türevi olup ortak bir karbapenem molekülü ihtiva ederler ve 6-transhidroksimetil grubu birçok beta-laktamaz türüne karşı direnç sağlar. C1 atomundaki kükürte bağlı bir tiazolidin halkası ile yapıca penisilinlerden ayrılırlar. C2 ve C3 atomları arasında pi bağı bulunmaktadır. Karbapenemler başta PBP2 olmak üzere, PBP1A, PBP1B, PBP3, PBP4 ve PBP5'e bağlanarak hücre duvarı sentezini bloke ederler (Çakır, 2008).

Geniş spektrumlu AmpC ek olarak, genişletilmiş spektrumlu ve β -laktamaz enzimlerine karşı dirençleri ve uyarılmış bakteri topluluklarında AmpC mutantlarının seçim eksikliği, karbapenemlere karşı üstünlüklerini sağlar. İmipenem ve meropenemin ardından ertapenem, doripenem ve faropenem olmak üzere üç yeni üye klinik kullanım için onaylanmıştır.

İmipenemin plazma yarılanma ömrü yaklaşık 1 saattir. Serum proteinlerine %10-20 oranlarında bağlanır ve vücut sıvılarında iyi bir şekilde dağılır. Klinik tedavide, imipenem/silastatin 500 mg'ı intravenöz infüzyon şeklinde 6 saatte bir şeklinde uygulanır. Plazmada dolaşan imipenemin %50-70 arasındaki miktarı, moleküler değişiklikler olmadan böbrekler tarafından vücuttan atılır. Bu sebeple de böbrek yetmezliği durumunda dozları değiştirilmelidir (Usluer ve Ünal, 2004).

Meropenem normalde 1 g'ı her 8 saatte bir verilir. İmipenem gibi meropenem de genellikle böbrekler tarafından değişime uğramadan atılır. Bu nedenle, böbrek yetmezliği durumunda doz değiştirilmelidir. Karbapenemler, kromozomal β -laktamazlar güçlü indükleyici etkilere sahip olup, birçok plazmit türevi β -laktamazlara karşı dirençlidir. Çinko metalloenzimlere duyarlılıkları zengindir. TEM ve SVH türü β -laktamazlar (Richmond Sykes tip 3) ve Richmond Sykes tip 1 enzimlerine karbapenemler tesir etmezler (Çakır, 2008).

2.1.7.5. Kinolonlar

Kinolonlar, derişimle değişen bakterisidal etki gösteren antibiyotiklerdir. Bakterilerde DNA sentezini, DNA replikasyonu prosesinde görevli DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimleriyle etkileşerek DNA sentezini durdururlar. DNA giraz, *gyrA* ve *gyrB* genlerinden eksprese dilen iki GyrA ve iki GyrB alt ünitesi bulunan tetramerik bir enzim proteinidir. Topoizomeraz IV ise ParC ve ParE alt üniteli

yapıdadır. Florokinolonlar, gram pozitif ve gram negatif bakterilerde farklı enzimleri hedef almaktadır. DNA giraz, gram negatif bakteriler için birincil hedef iken, topoizomera IV ise gram pozitif bakterileri hedef alır (Hooper, 2000).

Kinolonlar, dört kuşak olarak düşünülmektedir ve bu kuşaklar kimyasal yapı-aktivite arasındaki bağlantıya göre sınıflandırılır. Tümü *Enterobacteriaceae* türleri üzerinde oldukça yüksek aktiviteye sahiptir. Siprofloksasinler *P. aeruginosa*'ya karşı en yüksek aktiviteyi gösterirken diğer *Pseudomonas* türleri üzerinde aktivite göstermezler. Ayrıca anaeroplara karşı iyi aktivite gösteren grup ise moksifloksasindir (Arda ve Ulusoy, 2008).

Enterik bakterilerden ayrıca ofloksasin ve siprofloksasinin *Acinetobacter* spp. türlerine karşı aktivitesi yüksektir bu yüzden özellikle siprofloksasin dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonlarının kombine tedavisi için oldukça sık bir şekilde uygulanan bir ajandır. *Acinetobacter* türlerine karşı florokinolonlar 1988'e kadar hayli önemli bir ajanken, şimdilerde direnç problemi açığa çıkmıştır (Gür, 2008; Ruiz, 2003).

2.1.7.6. Aminoglikozidler

Streptomyces ve *Micromonospora*'dan türetilen doğal veya yarı sentetik antibiyotik olan aminoglikozidler bakterisidal etkilidirler. mRNA'nın kodonlarının okuşunu üzerinde etki göstererek veya ribozomlarda protein sentezi sırasında tRNA antikodonlarındaki bilginin yanlış okunmasını sağlayarak etkilerini gösterirler. Böylece proteinlerin sentezinin engellenmesi sağlanır. Aminoglikozidler ribozomların her iki alt ünitesine bağlanarak etkilerini gerçekleştirirler. Diğer bir yandan streptomisinler yalnızca 30S ribozomal alt üniteye bağlanmaktadır. Bakterilere ait dış membrandaki porin kanallarından geçen aminoglikozidler periplazmik aralığa difüze olurlar ancak bakterinin sitoplazmik membranından difüzyonla geçebilmeleri için enerji ve oksijene aktif transport mekanizması gerçekleşmelidir. Bahsedilen mekanizma için Energy-Depent Phase 1 (EDP) ve EDP 2 olmak üzere iki fazın gerçekleşmesi gerekmektedir. Bakteriyostatik etki gösteren diğer antibiyotikler protein sentezi üzerinde inhibe edici etki gösterirken, aminoglikozidlerin bakteriyostatik etkisi hücre membranında porlar oluşması ve bakteri hücre duvarının geçirgenliğinin bozulması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Aminoglikozidler, özellikle *P. Aeruginosa* gibi gram negatif aerob bakteriler üzerinde etki gösterirken *Listeria* türleri ve diğer gram pozitif bakteriler üzerindeki etkinliği zayıftır.

Metisiline duyarlı stafilokoklar üzerindeki etkisi güçlüyken; piyogen streptokoklar üzerindeki etkileri zayıftır. Dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonları için kombine kullanımlarında etkileri yüksektir (Willke, 2008).

2.1.7.7. Tigesiklin

Tigesiklin (GAR 936), glisiklin grubunun ilk üyesi olan ve minosiklinin semisentetik olarak sentezlenmesiyle elde edilen bir antibiyotiktir. Tetrasiklinlerin temel çekirdeğinde bulunan 9. Pozisyondaki N-alkil-glisilamido modifikasyonu, tigesiklinin çok geniş bir spektrumda etkiye sahip olmasını sağlar ve tetrasikline direnç mekanizmalarına karşı dayanıklılığını artırır (Esen, 2008).

Tetrasiklinlere benzer şekilde tigesiklinler, bakteriyel ribozomların 30S alt ünitlerine bağlanır ve uzama sırasında protein sentezini inhibe eder. Bağlanılan bölge tetrasiklinden değişik olduğundan dolayı Tet(M) proteininden etkilenmez ve tigesiklinler tetrasikline kıyasla 5 kat daha güçlü bağlanma gösterir (Pankey, 2005; Çalık ve Akova, 2007).

Tigesiklin, aerobik gram-negatif, gram-pozitif ve anaerob patojenlere etkili bir antibiyotiktir. Tigesiklin, tetrasiklinlere ribozomal bağlanma ünitesinde değişiklik yoluyla veya efluks pompası ile direnç geliştirmiş olan tüm mikroorganizmalara etkilidir. Bu gruptan sadece *Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.* ve *Morganella spp.* dirençli kalmıştır. Bunun yanı sıra, tigesiklin, karbapenemaz üreten *Acinetobacter* izolatlarına karşı da etkili bir antibiyotiktir (Çalık ve Akova, 2007).

2.1.7.8. Polimiksinler

Polimiksinler, polipeptid antibiyotikler olup kimyasal olarak polimiksin A-E olmak üzere 5 farklı bileşiği içerirler. Klinik uygulamada ise sadece polimiksin B ve kolistin (polimiksin E) kullanılmaktadır (Akalin, 2007).

Polimiksin B, kolistinden farklı bir amino asit içerir. Gram pozitif bakterilere karşı etkisiz olmakla birlikte, Gram negatif bakterilere karşı farklı seviyelerde etki gösterir. Etki spektrumu kolistine benzerdir. MDR *P. aeruginosa* ve MDR *Acinetobacter* izolatları gibi diğer tüm antibiyotik gruplarına dirençli olan suşlar polimiksin B'ye doğal olarak duyarlıdır (Zavascki et al., 2007).

Kolistin, *Bacillus polymyxa* subspecies *colistinus* koyama tarafından ribozom dışı sentezlenir. 1940'larda keşfedilmesine rağmen, yüksek toksisitesi nedeniyle kullanımdan kalkmıştır. Ancak, 1993'te yalnızca kolistine duyarlı Gram negatif

suşların rapor edilmesi, bu ilaca olan ilgiyi yeniden gündeme getirmiştir (Saltoğlu, 2007).

Kolistin, ticari olarak kolistin sülfat ve kolistimetat sodyum formlarında mevcuttur. Kolistimetat sodyum, kolistin sülfata göre etkinliği daha az olup ve daha az toksisite gösterir. Kolistin sülfat, bağırsak dekontaminasyonu, oral yoldan ve bakteriyel cilt enfeksiyonları için topikal olarak kullanılır (Akalin, 2007).

Katyonik bir peptid olan kolistin bakteri hücrelerinin zarını hedef alarak ve gram-negatif bakteriler dış membranındaki anyonik LPS moleküller yoluyla elektrostatik etkileşime girer. Bu, bakteri hücre zarında düzensizliğe neden olur ve sonuç olarak bakterinin ölümüne neden olan bir permeabilite bozukluğuna yol açar. Dış zarın bozulması, kolistinin, magnezyum ve kalsiyum gibi stabilizasyon sağlayan iyonların yerini değiştirmesiyle gerçekleşir. Ayrıca kolistinin güçlü antibakteriyel etkisi, endotoksin aktivitesi göstermesiyle ortaya çıkar.

Ancak, kolistin kullanımı nefrotoksisite, nörotoksisite ve nöromusküler blokaj gibi ciddi yan etkilere neden olabileceğinden, sorunlu bir antimikrobiyal olarak kabul edilir. Öncelikle, enfeksiyonlara karşı direnç gelişmiş olan *Acinetobacter*'lere karşı tedavi edici amaçlı olarak yara yerine topikal bir şekilde uygulanmıştır. Dirençli enfeksiyonların tedavisinde, günlük 2.55 milyon ünite/kg (en fazla 300 mg) dozajda intravenöz yolla verilerek iki veya üç doza bölünmesi önerilmektedir. Böbrek fonksiyonları azalmış olan hastalarda dozaj azaltılması gerekli olabilir. Hastaların %58'inde başarılı klinik sonuçlar elde edilmiştir. Kolistin, diğer tedavi yöntemleri yetersiz kaldığında yakın takip altında kullanılabilecek bir seçenektir. Tüm ilaçlara karşı dirençli suşlar panrezistan olarak adlandırılırken, kolistine de dirençli suşlar mevcuttur (Saltoğlu, 2007).

Kolistin, birçok farklı bakteri türüne karşı etki gösteren bir antibiyotiktir. Bu bakteriler arasında *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Morganella morganii* ve *Haemophilus influenzae* bulunur. Ancak, gram negatif bakterilerde bazı durumlarda mutasyon veya adaptasyon yolu ile direnç gelişebilir (Falagas, 2005).

Kolistin son zamanlarda, dirençli olan *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde tekrar önem kazanmıştır. Kolistin, çok ilaca dirençli bu bakterilerin neden olduğu hastane kaynaklı pnömoni gibi enfeksiyonlarda kullanılmaktadır ve klinik yanıt %25-73.3 arasında değişebilir (Akalin, 2007).

2.1.8. *Acinetobacter* Türlerinde Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Antimikrobiyal ajanlara karşı artan direnç, *A. baumannii* izolatlarına bağlı enfeksiyonların tedavisinde uluslararası ve ülkemizde çözülmesi nihai olan bir sağlık problemi niteliğini taşır (Demirtürk ve Demirdal, 2004). Geniş spektrumlu antibiyotiklerin, aminoglikozidler, üreidopenisilinler, florokinolonlar, üçüncü kuşak sefalosporinlerin yaygın kullanımı, *Acinetobacter* türlerinin antibiyotiklere dirençli hale gelmesine neden olmuştur. Literatürde, üçüncü kuşak sefalosporinlerin yaygın kullanımı ile birlikte karbapenemlere dirençli suşların oluştuğu bildirilmiştir (Manikal, 2000). *A. baumannii*, diğer türlere kıyasla daha dirençlidir ve yoğun bakım ünitelerindeki ölümlerin %19-25'inden sorumlu olduğu belirtilmektedir (Tatman, 2003).

Hastane kaynaklı enfeksiyonlarda *Acinetobacter* türlerinin direnç mekanizması arasında eflüks pompası, β -laktamaz üretimi ve hücre duvar kanallarındaki (porinler) değişiklikler yaygın olarak görülmektedir (Ardıç, 2004). Ayrıca *A. baumannii* izolatlarındaki antibiyotik direnç mekanizması oldukça çeşitlidir.

β -laktamaz enzimleri tarafından antibiyotiklerin hidrolize edilmesi, β -laktamın hücre içine girişinin inhibe edilmesi ve PBP'deki farklılıklar yüzünden *A. baumannii* izolatları, beta-laktam antibiyotiklere karşı daha sık dirençlidir (Murray et al., 2003; Livermore, 1995). Bu enzimler plazmid, kromozom veya transpozon kontrolünde sentezlenir (Livermore, 1995).

Çoğu gram negatif bakteri, kromozomal beta-laktamazlar olan AmpC veya Bush-Jacoby-Mederios Grup 1'i üretir. *Acinetobacter* türlerindeki kromozomal enzimlerin çoğu ACE-1, ACE-2, ACE-3, ACE-4 enzimlerinin bulunduğu Ambler sınıf C'de bulunur ve sefalosporinaz aktivitesi gösterir. Sunulan araştırmalar, *A. baumannii* izolatlarının %98'inde sefalosporinaz aktivitesi olduğunu ortaya koymaktadır (Thomson, 2005; Livermore, 1995). ACE-1 klavulonik aside dirençli en geniş spektrumlu enzim olup sefuroksime üzerindeki etkisi oldukça zayıftır (Speller, 1998; Livermore, 1995).

Yeni keşfedilen bir grup enzim, *Acinetobacter* kaynaklı sefalosporinazlar olarak bilinir ve sınıf C enzimleri olarak adlandırılır. Yapılan son araştırmalarda, yedi AmpC geni ADC olarak tanımlanmıştır (Hujer, 2005). AmpC β -laktamazların karbapenemler üzerindeki etkisi oldukça düşüktür, ancak aşırı üretimleri dış

membrandaki porin değişiklikleri gibi diğer mekanizmalarla birleştiginde karbapeneme karşı direnç gösterebilirler (Thomson, 2005).

Kromozomal OXA-24 enzimi, karbapenemleri hidrolize eden ve Ambler sınıfı D'ye dahil olan bir enzimdir ve tamamen değiştirilmiş *A. baumannii* suşlarında bulunur (Hujer et al., 2005).

Acinetobacter türlerinde β -laktam direncinden sorumlu olan plazmidler tarafından kodlanan enzimler, sınıf A, B ve D beta-laktamazları içerir. Ambler sınıfı A'da bulunan TEM-1 ve TEM-2 beta-laktamazları, beta-laktam direncinin büyük bir kısmından sorumludur (Jeong, 2005; Vahaboglu, 1997).

1996 yılında ilke kez Türkiye'de keşfedilen PER-1 enzimi, Ambler sınıf A'da bulunur ve bu enzimi taşıyan kökenlerle enfekte olan hastaların prognozunun kötüleştiği bildirilmiştir. PER-1 bir geniş spektruma sahip β -laktamazdır (GSBL) ve geniş spektruma sahip sefalosporinler ve gentamisinlere karşı oldukça fazla direnç gösterirken, amikasinlere karşı düşük düzeyde direnç gösterir. Karbapenemlere ise etkisiz veya orta derecede etki gösterir. (Vahaboglu, 1997).

Beta-laktamazlar tarafından çoğu zaman etkilenmeyen karbapenemler ve yeni kuşak sefalosporinler *Acinetobacter* türlerinde metallo- β -laktamazlar (IMP, VIM) tarafından hidrolize edilebilirler. Sınıf B β -laktamazları grubunda olan bu enzimler plazmidler aracılığıyla kodlanırlar. (Lee et al., 2003; Walsh et al., 2005).

A. baumannii'nin porin kanalları konusunda yeterli karakterizasyon yapılmamasına rağmen, porin proteinlerinin sentezindeki azalma ya da mutasyonlar, β -laktam antibiyotiklerinin periplazmik kısma geçişini önleyerek antibiyotik direnç meydana getirebilir (Munoz-Price and Weinstein, 2008).

Acinetobacter'deki AmpC β -laktamazları veya karbapenemazların aşırı ekspresyonu, bakteriyel efluks pompalarının aşırı çalışmasıyla bağlantılı olarak klinik direnç oluşturabilir. Efluks pompaları, β -laktamları uzaklaştırmakla beraber kinolonları, kloramfenikölü, tetrasiklinleri, tigesiklini ve dezenfektanları da etkin bir şekilde dışarı atabilirler (Peleg et al., 2007).

Koistin direncinde *A. baumannii*'nin lipopolisakkaritindeki modifikasyon önemli bir rol oynamaktadır (Perez, 2007; Loooveren, 2004). Gram negatif bakterilerde kolistine direnç, adaptasyon ve mutasyon mekanizmaları aracılığıyla ortaya çıkabilir. Adaptasyon, mutasyon gibi düşük düzeyli ve antibiyotiğin sürekli varlığına bağlı olarak kalıtsal bir mekanizma olarak gelişmez. Çapraz direnç, kolistin ve polimiksin arasında da gerçekleşir (Falagas, 2005).

2.2. Kinolonlar

Kinolonlar tıp ve veterinerlik alanlarında en sık kullanılan antibakteriyel ilaçlardan biridir (Cattoir et al., 2009). Bu ilaç grubunun ilk üyesi olan nalidiksik asit, 1962 yılında piyasaya sürülmüştür ve 1,8-naphthyridine yapısına sahiptir (Hooper, 2005). Nalidiksik asit, klorokin sentez ve saflaştırma işlemleri sırasında antimalaryal bir ajan olarak keşfedilmiştir (Ruiz, 2003). 1970'lerde, oksolinik asit ve sinoksasin kullanılmaya başlanmıştır (Hooper, 2005). Ancak bu ilaçların etkinlikleri, sadece gram-negatif enterik basillerin neden olduğu idrar yolu enfeksiyonlarında sınırlı olduğu için kullanımları kısıtlanmıştır (Arda, 2008; Hooper, 2005). Bununla birlikte, 1980'lerde flor ve piperazinil türevli kinolonların piyasaya sürülmesiyle birlikte etki spektrumu genişlemiş ve kullanımları hızla yayılmıştır (Hooper, 2005). İyi bir şekilde oral yoldan emilimleri ve iyi tolere edilebilirlikleri nedeniyle bu kinolonlar, klinik uygulamalarda tercih edilen ajanlar haline gelmiştir (Appelbaum and Hunter, 2000).

2.2.1. Kimyasal yapı

Kinolonlar antibiyotik değil, tamamen sentetik saf kimyasal maddelerdir ve klinikte kullanılan tüm kinolonlar iki halkadan oluşur. İlk halkada, birinci pozisyonda nitrojen, dördüncü pozisyonda karbonil ve üçüncü pozisyonda karbon atomunda bir karboksil grubu bulunur. Kinolonların çok sayıda farklı olan iki halkalı yapısı vardır, ancak en başarılı olanlar ikinci halkada sekizinci pozisyonda karbon atomu ve sekizinci pozisyonda nitrojen atomu içerenlerdir (Wolfson and Hooper, 1989).

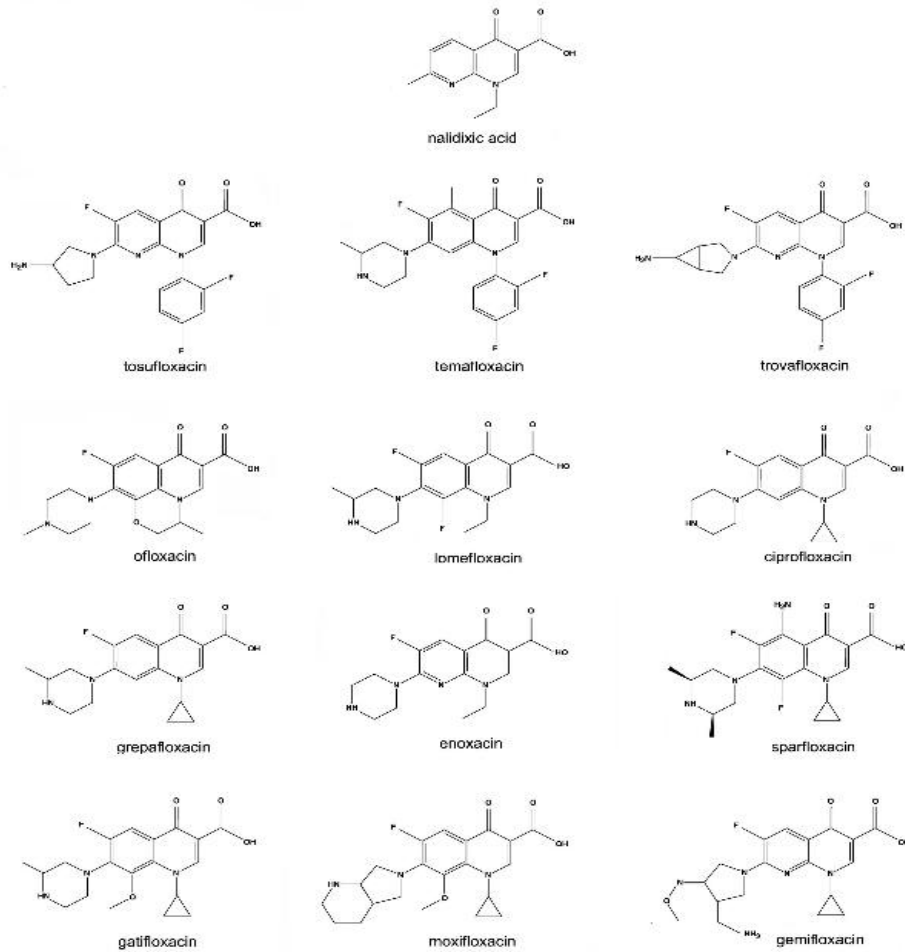
Antimikrobiyal aktivite ve farmakokinetik özelliklerdeki ilerlemeler, kinolon çekirdeğindeki değişikliklerle elde edilmiştir. Flor atomunun altıncı pozisyona eklenmesi, potensi artırmıştır. Ayrıca, yedinci pozisyondaki karbon atomuna piperazinil, metil-piperazinil veya dimetilpiperazinil eklenmesi, gram-negatif aktiviteyi artırmıştır (Hooper, 2005; Arda, 2008).

Gram pozitif bakterilere karşı etkinliği artırmak için yedinci pozisyondaki karbon atomuna pirolidinil (tosufloksasin, klinafloksasin, gemifloksasin) veya başka atomların substitue edilmesiyle (trovafloksasin, moksifloksasin, sitafloksasin) gelişmeler sağlanmıştır. Sekizinci pozisyondaki karbon atomuna ikinci flor atomunun eklenmesiyle birlikte emilim, eliminasyon yarı ömrü ve fototoksikite riski artmıştır (Hooper, 2005; Arda, 2008; Appelbaum and Hunter, 2000).

Kinolonlar, kimyasal yapı, antimikrobiyal aktivite ve klinik kullanım özelliklerine göre farklı şekillerde sınıflandırılabilirler. Kinolon sınıflandırmasına Tablo 2.1'de yer verilmiştir. Şekil 2.1'de ise kinolonların kimyasal yapıları verilmiştir.

Tablo 2.1. Kinolonların sınıflandırılması

1. Kuşak	2. Kuşak	3. Kuşak	4. Kuşak
Nalidiksik asit	Siprofloksasin	Grepafloksasin	Klinofloksasin
Sinoksasin	Enoksasin	Levofloksasin	Gemifloksasin
Oksolinik asit	Floroksasin	Pozufloksasin	Moksifloksasin
Pipemidik asit	Nadifloksasin	Sparfloksasin	Gatifloksasin
Rosoksosin	Ofloksasin	Temafloksasin	Sitofloksasin
	Norfloksasin	Tosufloksasin	Travofloksasin
	Pefloksasin		Basifloksasin
	Rufloksasin		



Şekil 2.1.Kinolonların kimyasal yapısı

2.2.2.Etki mekanizması

Kinolonlar, DNA giraz (topoizomeraz II) ve DNA topoizomeraz IV olarak adlandırılan Tip II topoizomerazları hedefler ve bakteriyel DNA sentezini hızlı bir şekilde inhibisyonunu gerçekleştirerek bakteri hücrelerinin hızlı bir şekilde ölmesine neden olurlar. Tip II topoizomerazlar, DNA düğümlerini ve süper sarmalları düzenlemek için DNA sarmalının her iki sarmalını aynı anda kesen ve araya başka bir DNA segmenti ekleyerek onarım yapan topoizomerazlardır. Tüm bunları DNA giraz, DNA süper sarmalları meydana gelirken ya da süper sarmallar açılarak DNA ipliklerinin birbirinden ayrılması sırasında gerçekleştirir. Topoizomeraz IV ise DNA replikasyonun gerçekleştiği anda birbirine geçmiş haldeki ipliklerin birbirinden ayrılmasını ve hücre bölünmesi sırasında dağılımın eşit bir şekilde olmasını sağlamaktadır (Wolfson and Hooper, 1989; Drlica and Zhao, 1997).

DNA girazın gyrA ve gyrB genleri tarafından sentezlenen iki A ve iki B olmak üzere iki tane alt ünitesi bulunan tetramerik bir enzimdir. DNA giraz ile % 40 oranlarında homolojisi bulunan Topoizomeraz IV ise iki A alt birimi (parC) ve iki B alt biriminden (parE) meydana gelir (Cattoir et al., 2009; Drlica and Zhao, 1997; Hooper, 2005).

Kinolonlar, DNA replikasyon sürecinde etkili olan topoizomerizasyonu engelleyerek hücre ölümüne yol açan bir dizi olayın başlangıcıdır. Bu etki, ilaç-enzim-DNA kompleksinin oluşması ile replikasyon çatalı, RNA polimeraz ve DNA helikazın çalışmasına engel olması ile gerçekleşir. Daha önce bildirilen çalışmalar, DNA girazın daha çok gram-negatif bakterilerde direnç gelişimine neden olduğunu, topoizomeraz IV'ün ise gram-pozitif bakterilerde direnç gelişiminden sorumlu olduğunu göstermektedir (Andriole, 2005; Hooper, 2000).

2.2.3.Antimikrobiyal Aktivite

Nalidiksik asit, gram negatif enterik basillerin neden olduğu üriner sistem enfeksiyonlarında etkili olan ilk kinolondur. Florokinolonlar ise bu etki spektrumunun yanı sıra gram pozitif koklar, atipik pnömoni etkenleri, *P. aeruginosa* ve diğer bazı patojenlere karşı da etkilidir (Andriole, 2005; Wolfson and Hooper, 1989).

Klinafloksasin, gemifloksasin ve sitafloksasin, toplum köken pnömoninin en yaygın nedeni olan *Streptococcus pneumoniae*'ya karşı en etkili kinolonlardır. Aynı zamanda gram pozitif kok olan *S. pyogenes*'e karşı da gemifloksasin ve sitafloksasin

en etkili seçeneklerdir. Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) ve *S. epidermidis*'e karşı siprofloksasin ve ofloksasin orta derecede etkili olsa da, klinafloksasin, gatifloksasin, gemifloksasin, moksifloksasin, sitafloksasin ve travofloksasin daha etkilidir (Appelbaum and Hunter, 2000). Atipik pnömoni etkenleri olan *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* ve *Chlamydia pneumoniae* ve genital patojenler olan *C. trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* ve *M. hominis*'e karşı siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin, gatifloksasin, moksifloksasin ve gemifloksasin etkisi en yüksek kinolon seçenekleridir (Hooper, 2005).

Siprofloksasin *P. aeruginosa* uygulamalarında en güçlü kinolon iken, diğerleri arasında gatifloksasin, gemifloksasin, moksifloksasin ve travofloksasin de benzer etkilere sahiptirler. *Acinetobacter* spp., *Alcaligenes* spp., *Burkholderia* spp. ve *Stenotrophomonas* spp. türleri için en etkili olanlar ise siprofloksasin, levofloksasin ve ofloksasindir (Appelbaum and Hunter, 2000).

Hemen hemen tüm florokinolonlar, *Haemophilus* spp, *Moraxella catarrhalis* ve *Neisseria* türlerine karşı etkilidir ancak yine de en etkili ajanlar siprofloksasin ve ofloksasin olarak bilinir.

İlk florokinolonlar anaerob antibakteriyel etkinliklerinde azalma gösterse de, gatifloksasin, moksifloksasin, sitafloksasin ve travofloksasin en etkili olanlardır (Appelbaum and Hunter, 2000; Wolfson and Hooper, 1989; Hooper, 2005).

Kinolonlar, mikobakterilere karşı da etkili bir tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır. *Mycobacterium tuberculosis*, *Myobacterium fortuitum*, *Myobacterium kansasii* ve *Mycobacterium chelonae* gibi mikobakteri türlerine karşı, siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin, gatifloksasin ve moksifloksasin gibi kinolonlar etkili olabilirler. Ayrıca, hayvan modellerinde sunulan çalışmalar, ofloksasin ve pefloksasinin *M. leprae*'ye karşı da etkili olduğunu göstermiştir (Hooper, 2005).

2.2.4. Farmokokinetik

Kinolonlar doza bağımlı bir şekilde etki gösterirler. Sindirim sistemi tarafından iyi emilirler ve doz alımından yaklaşık 1-3 saat sonra derişimlerdeki en üst pike ulaşırlar. Serum proteinlerine bağlanma oranları yüksek değildir ve %20 ile %50 arasında bir değerdedir. Yüksek derişimleri akciğer, prostat, safra, idrar, makrofaj ve nötrofillerde bulunurken, tükürük, kemik ve inflamasyon durumlarında bile beyin

omurilik sıvısına geçişi sınırlıdır. Kinolonlar genellikle idrarla atılır, ancak sparfloksasin, moksifloksasin ve travofloksasin karaciğer tarafından metabolize edilir ve atılır (Turnidge, 1999; Andriole, 2005).

2.2.5. Kinolonlara karşı direnç mekanizmaları

Kinolon türevleri, geniş spektrumlu antibakteriyel etkileri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Bir araştırma, siprofloksasinin dünya çapında en çok kullanılan antibakteriyel ajan olduğunu belirtmiştir (Acar ve Goldstein, 1997).

Kinolonlara karşı direnç geliştirilmesi üç temel mekanizmaya bağlıdır:

- i) Kinolonların hedeflerindeki kromozomal değişiklikler,
- ii) Azalmış membran geçirgenliği ve/veya efüks pompası sistemlerinin aşırı çalışması nedeniyle azalan birikim,
- iii) Plazmit bağımlı direnç (Ruiz, 2003).

2.2.5.1. Hedefte meydana gelen değişiklik

Kinolonlar, tip II topoizomerazlar olan DNA giraz ve topoizomeraz IV'nin işlevlerini engelleyerek etki gösterdiğinden bölüm 2.2.2.'de bahsedildi. Kinolonların, gram pozitif bakterilerde hedefleri Topoizomeraz IV iken, gram negatif bakterilerde ise DNA giraz'dır (Ruiz, 2003). Ancak, bazı araştırmalar sparfloksasin ve nadifloksasin için etkinin gram pozitif bakterilerde DNA giraz üzerinden de gerçekleşebileceğini göstermiştir (Pan and Fisher, 1996; Takei et al., 2001). QRDR (kinolon direnç belirleyici bölge) olarak adlandırılan bölge, kinolon direncinde önemli bir rol oynar ve en sık mutasyonlar gryA geninin 67-106 kodonları arasında oluşur. GryB geninde dirence neden olan mutasyonlar ise daha azdır. Topoizomeraz IV'de mutasyonlar genellikle parC bölgesinde ortaya çıkmaktadır. Gram negatif bakterilerde en sık mutasyonlar 80 ve 84 kodonlarında görülürken, gram pozitif bakterilerde 79 ve 116 kodonlarında görülür. Gram negatif bakterilerde parE geniyle ilişkili olarak sadece 445. kodonda mutasyon saptanmıştır ve bu mutasyon sadece gryA bölgesindeki mutasyonlarla bir araya geldiğinde kinolon direncine neden olur. Gram pozitif bakterilerde parE bölgesindeki mutasyonların kinolon direncine katkıda bulunmadığı rapor edilmişti (Oram and Fisher, 1991; Ruiz, 2003; Yoshida et al., 1991; Yoshida et al., 1990).

2.2.5.2. Azalmış birikim

Kinolonların etkili olabilmesi için, gram pozitif bakterilerde hücre zarı ve hücre duvarının, gram negatif bakterilerde ise dış zara ek olarak bulunan porin proteinlerinin oluşturduğu kanallar vasıtasıyla zar geçirgenliği düzenlenmesi gerekmektedir. Bununla birlikte, bazı bakterilerde dış membran yapısı nedeniyle kinolonların hücre içine girişi mümkün olmamaktadır. *P. aeruginosa* gibi bazı bakterilerde dört farklı efluks pompa sistemi belirlenmiştir; MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN ve MexXY-OprM. Ayrıca, diğer gram negatif bakterilerde de kinolon direncine neden olan efluks pompa sistemleri mevcuttur. Örneğin, *E. coli*'de AcrAB, AcrEF, EmrAB, MdfA ve Ydhe; *Stenotrophomonas maltophilia*'da SmeDEF ve *A. baumannii*'de AdeABC efluks pompa sistemleri yer almaktadır. Kinolonların birikiminde azalmaya neden olabilecek olan iki mekanizma ise bakteriyel geçirgenlikte azalma ve aşırı efluks pompalarının üretimidir (Nikado, 1996; Poole et al., 1996; Ruiz, 2003; Vila et al., 1995; Yoshimura and Nikado, 1982).

Efluk pompaları, gram pozitif bakterilerde de kinolon direnci oluşmasına neden olabilir. NorA, *S. pneumoniae*'da PmrA, *Bacillus subtilis*'te Blt, BmrA, Bmr3 gibi efluks pompa sistemleri tanımlanmıştır ve bu sistemler direnç mekanizmasına katkıda bulunabilirler. (Hooper, 2005; Jacoby, 2005; Ruiz, 2003).

2.2.5.3. Plazmite bağlı kinolon direnci

İlk kez 1987'de *Shigella dysenteriae* klinik örneğinde rapor edilen nalidiksik asit direncinin plazmide bağlı olduğu düşünülmüş ancak daha sonra kromozomal mutasyonlardan kaynaklandığı doğrulanmıştır (Courvalin, 1990; Li et al., 2005; Munshi et al., 1987). Ancak 1998'de ABD'de, *Klebsiella pneumoniae* klinik örneğinden elde edilen bir plazmit ile aktarılan kinolon direnci (PMQR - plazmid aracılı kinolon direnci) rapor edilmiştir (Martinez et al., 1998). Plazmitte yer alan gen bölgesi "Qnr" olarak isimlendirilmiş ve daha sonra qnrA1 olarak adlandırılmıştır çünkü daha farklı qnr genleri keşfedilmiştir. Son yıllarda, qnrB, qnrS, qnrC, qnrD gibi farklı genler keşfedilmiştir ve ayrıca plazma aracılı efüzyon pompası aktivasyonuna neden olan qepA ve aminoglikozit asetiltransferazının bir formu olan ve siprofloksasin aktivitesini azaltan aac(6')-Ib-cr genleri de tanımlanmıştır (Jacoby, 2005; Strahilevitz et al., 2009; Yamane et al., 2007).

2.2.6. Qnr genleri

PMQR belirleyicisi olan qnr, kinolonlara ek olarak betalaktamlara, aminoglikozitlere, sulfonamitlere, trimetoprim ve kloramfenikole karşı da direnç sağlayan 56-kb'lık plazmit pMG252 tarafından kodlanır (Cattoir et al., 2009; Jacoby, 2005; Strahilevitz et al., 2009). QnrA1, 218 amino asitten oluşan ve ökaryot ve prokaryotlarda yaygın olarak bulunan bir tekrarlayan pentapeptit ailesine ait bir protein olup 500'den fazla üyesi olduğu bilinmektedir. Bu proteinlerin tam biyokimyasal işlevi hala belirsizdir (Jacoby, 2005; Strahilevitz et al., 2009).

Sonradan Çin'de qnrA1'den dört amino asit farklı qnrA2, *Shewenella algae* izolatında qnrA3, qnrA4, qnrA5 ve *Proteus mirabilis* izolatında qnrA6 genleri de belirlenmiştir (Jacoby, 2005; Strahilevitz et al., 2009).

QnrA gen bölgesi araştırmalarında Hindistan kökenli *K. pneumoniae* izolatlarında düşük seviyede kinolon direncine neden olan bir suş tespit edilmiş ve qnrA içermediği görülmüştür. Bu suшта saptanan yeni bir gen, 214-226 amino asitlik bir protein oluşturmakta ve qnrB1 olarak adlandırılmaktadır. QnrA ile qnrB1 arasında %43 aminoasit benzerliği tespit edilmiştir. Daha sonraları, birçok farklı merkezden Enterobacteriaceae ailesine ait bakterilerde qnrB1'in birçok farklı formu belirlenmiştir. Şu an itibariyle qnrB'nin 27 farklı varyantı bilinmektedir (Jacoby, 2005; Jacoby et al., 2006; Strahilevitz et al., 2009).

S. flexneri 2b klonunun neden olduğu besin zehirlenmesi vakasında, Japonya'da sekiz farklı suшта siprofloksasin direnci tespit edildi. Bu suşların qnrA1 genine %59 benzerlik gösteren 218 amino asitlik qnrS geni de saptandı (Hata vd., 2005). Günümüzde tanımlanmış dört farklı qnrS alt tipi mevcuttur (Jacoby et al., 2008; Topdahl et al., 2009).

Çin'in Shanghai bölgesinden izole edilen bir *P. mirabilis* klinik izolatında, düşük seviyede kinolon direncine sebebiyet veren bir protein keşfedildi. Bu suшта, diğer qnr genlerini taşımayan 221 amino asitlik bir protein saptandı ve qnrC adı verildi. QnrC, qnrA ile %64 amino asit benzerliği gösterir (Wang et al, 2008).

Dört farklı *Salmonella enterica* izolatında, azalmış siprofloksasin duyarlılığına neden olan 214 amino asitlik bir protein keşfedildi ve qnrD olarak adlandırıldı. QnrD, qnrA ile %48 benzerlik gösterir (Cavaco et al, 2009).

Qnr genleriyle benzerlik gösteren tekrarlayan pentapeptit protein genleri bazı gram pozitif bakterilerde de bulunur. Örneğin, *Enterococcus faecalis* suşlarında keşfedilen 211 amino asitlik Efsqnr proteininin, qnrA ile %40 benzerliği vardır (Arsene and Leclercq, 2007). Ayrıca, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* ve *Bacillus cereus* gibi gram pozitif bakterilerde de kromozomal qnr genleri keşfedilmiştir (Rodriguez-Martinez et al, 2008).

Doğada birçok farklı qnr geni varlığı, bu genlerin ilk kez 1998 yılında tespit edilene kadar var olduklarını düşündürmektedir. 48 gram negatif bakterinin sekans analizinde, *Shewanella algae* kromozomunda qnrA varyantları (qnrA3-qnrA5) belirlenmiştir. Bu geni taşımayan *S. putrefaciens*'ten *Shewanella algae* kinolon MİK değerlerinin, dört ila sekiz kat daha yüksek olduğu saptanmıştır. Deniz suyu örneklerinde, qnrB5 ve qnrB19 genleri mikrobiyal popülasyonda tespit edilmiştir (Poirel et al., 2005). Seine nehrinden izole edilen *Aeromonas punctata* subsp. *punctata* ve *Aeromonas media* suşlarında qnrS2 geni saptanmıştır (Cattoir et al., 2008). Bu bulgular, qnr genlerinin su kaynaklarındaki mikroorganizmaların kromozomlarında bulunduğu kanıtıdır. İnsanlar ve hayvanlar tarafından metabolize edilmeyen kinolonların atık sulara yayılması ve fotodegradasyon nedeniyle aktif olarak kalabilmesi, akuatik mikroorganizmalarda qnr genlerinin bulunmasının olası mekanizmalarıdır (Stratilevitz et al., 2009).

Qnr proteini, hücre içindeki kinolon birikimi veya dış membran proteinlerinde değişikliklere yol açmadığı bilinir. Qnr proteini benzeri iki birim tekrarlayan pentapeptit proteini olan McbG ve MfbA, qnr proteini mekanizmasının anlaşılması için araştırılmıştır. McbG, kinolonlara benzer şekilde MicrocinB17'nin etkisinden kaynaklanan DNA girazı inhibe inhibisyonunu engeller ve qnrA ile %19.6 oranında amino asit benzerliği bulunmaktadır. *E. coli*J53 hücrelerindeki plazmide bağlı McbG, sparfloksasin MİK değerlerinde artmaya neden olurken, siprofloksasin ve nalidiksik asit duyarlılığında herhangi bir değişiklik meydana getirmez. MfbA, *Mycobacterium smegmatis* kromozomunda bulunan bir gen olup, qnrA ile %18.9 amino asit benzerliği bulunur. Yapılan çalışmalarda MfbA'nın DNA yerine DNA giraza bağlanarak ve bu yolla kinolon-giraz-DNA kompleksinin meydana gelmesini engelleyerek kinolon-giraz-DNA kompleksinin oluşmasını engellediği saptanmıştır (Hedge et al., 2005; Stratilevitz et al., 2009). Qnr proteinleri, DNA giraz ve topoizomeraz IV'ü kinolonların etkisinden korur. QnrA1, DNA girazının iki alt

ünitesine (gryA ve gryB) ve topoizomerez IV'ün alt ünitelerine (parC ve parE) kinolon-giraz-DNA kompleksine gerek olmadan bağlanabilir (Tran and Jacoby, 2005). Qnr proteinlerinin, DNA ile yarışarak giraza bağlanmak için giraz aktivitesini *in vitro* olarak inhibe etmediği düşünülmektedir.

2.2.7. QepA

Kromozom kaynaklı efluks pompaları sıkça rastlanan bir durumdur. Ancak, Japonya'da idrar örneğinden izole edilen bir *E. coli* suşunda, ilk kez plazmid yoluyla aktarılan qepA geni (quinolone efflux pump) ile karşılaşmıştır (Yamane vd., 2007). Bu gen, 511 amino asitlik bir protein kodlar ve major facilitator superfamily (MFS) içinde yer alan 14 transmembran segmenti (14-TMS) ile benzerlik gösterir (Perichon et al., 2007; Yamane vd., 2007). QepA geni, kinolonlar, aminoglikozitler ve beta-laktam grubu antimikrobiyallere karşı direnç geliştirme potansiyeline sahiptir. Kinolon duyarlılığında belirgin bir azalmaya neden olur ve özellikle hidrofilik kinolonlar, siprofloksasin ve norfloksasin gibi, vahşi tip suşlarla karşılaştırıldığında 8 ila 12 kat daha fazla minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerlerine sahiptir (Yamane vd., 2007). Efluks pompası inhibitörleri, 1-naphtylmethyl-piperazine (NMP) ve phenylalanine-arginine- β -naphthyl-amide (PA β N), hidrofilik kinolonların direnç düzeylerinde önemli bir miktarda azalmaya neden olur (Cattoir et al., 2009). QepA geninin doğal kaynağı bilinmemektedir ancak, *Actinomycetales* ailesinin membran taşıyıcılarıyla benzerlik göstermesi ve %72 oranındaki guanin sitozin içeriği, muhtemel kaynakların bu bakteriler olabileceğine işaret etmektedir (Perichon et al., 2007; Yamane vd., 2007).

2.2.8. OqxAB

Tarımsal yemlerde kullanılan kinoksalin türevi olan olaquindoks, *E. coli* suşunda antibiyotiğe dirençli plazmit pOLA52'ten izole edilmiştir (Sorensen et al., 2003). Bu direnç, RND (resistance nodulation cell division superfamily) ailesinde bulunan bir efluks pompası olan OqxAB ile ilişkilendirilmiştir (Ma et al., 2009). Son zamanlarda, *E. coli* izolatlarında ve aynı zamanda *Klebsiella pneumoniae*'de de tespit edilmiştir. Zrp'nin, nalidiksik asit ve tetrasyklin dahil olmak üzere çeşitli antibiyotiklere karşı dirence neden olduğu gösterilmiştir (Kim et al., 2009). AcrA

geni içermeyen *E. coli* suşunda pOLA52 plazmitinin nalidiksik asit ve siprofloksasin MİK değerlerinde 8-16 kat artışa neden olduğu saptanmıştır (Hansen vd., 2007).

2.3. Plazmitler

Kromozom dışı genetik elementler olan plazmitler, çift sarmallı DNA içerirler, halka formunda ve 4-400 kb boyutlarındadırlar. Bakterilerin antibiyotik direnci, virulans ve metabolik özelliklerini etkileyebilen işlevler kazandırabilirler (Thompson, 1986). Kendini diğer hücrelere aktarabilenlere "konjugatif plazmitler" denirken, non-konjugatif plazmitler genellikle daha küçüktür. Bazı non-konjugatif plazmitler, konjugatif olanların yardımıyla "mobilize" olarak diğer hücrelere aktarılabilir. Plazmitlerdeki direnç genleri, integron ve transpozon gibi mobil genetik elementlere yerleşerek, başka direnç genleriyle bağlantılı kromozomlara veya plazmit geçebilir. Bu nedenle, birçok farklı ilaca karşı eş zamanlı direnç gelişebilir (Bilgehan, 1997).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bakterilerin tanımlanması

Klinik örnekler, laboratuvara getirildikten sonra %5 koyun kanlı besiyerine agar ve Eozin Metilen Blue (EMB) besiyerine ekim yapıldı. İnkübasyon süresi 35°C'de 20-22 saat olarak belirlendi ve bu süre sonunda üreyen kolonilerin değerlendirilmesi yapıldı. *Acinetobacter spp* tanısında, üreyen kolonilerin özelliklerini değerlendirmek için EMB besiyerinde üreyen laktoz negatif kolonilerinin hareket, koloni morfolojisi, pigment oluşturma, oksidaz aktivitesi ve kanlı besiyerinde hemoliz oluşturma özellikleri dikkate alındı. Tür düzeyinde tanımlamayı doğrulamak için suşlar, Vitek MS (Biomeriux, Fransa) otomatize sisteminde kullandı.

3.2. Bakterilerin antimikrobiyal direncinin belirlenmesi

Çalışmaya dahil edilen suşların kinolon direnci Vitek2 Compact (Biomeriux, Fransa) otomatize sisteminde belirlendi.

3.2.1. Vitek2 Compact Otomatize sistemi

Antibiyotik duyarlılığı, AST N90 kartlarının kullanımıyla üretici firmanın referansları dikkat alınarak gerçekleştirildi. İzolatlar, %5 koyun kanlı agar üzerinde ürediğinde, bakteri süspansiyonu hazırlanarak 0,5-0,6 McFarland standart bulanıklığına getirildi. Ardından, kartlar ve süspansiyonlar cihaza yerleştirildi. Süspansiyonların kartlara ekilmesi, otomatik olarak okunması, değerlendirilmesi ve raporlanması sağlandı.

3.3. Moleküler Yöntemler

3.3.1. *Acinetobacter spp* bakterisinden DNA ekstraksiyonu

Acinetobacter spp bakterisinden DNA'nın ekstraksiyonu kaynatma ile gerçekleştirildi.

1. Mueller-Hinton agar besiyeri üzerinde pasajlanmış olan bakterilerin inkübasyonu 35°C etüvde 20-22 saat gerçekleştirildi.
2. Üreyen saf bakteri kolonilerinden bir öze dolusu örnek alınarak, steril distile su (500 µl) bulunan mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı.
3. Vortekslenerek homojenleştirme yapıldı.

4. Süspansiyon homojen olduktan sonra, mikrosantrifüj tüplerinde kuru bloğa yerleştirilerek 100°C'de 15 dakika süreyle ısıtıldı.
5. Isıtma işleminden sonra, mikrosantrifüj tüpleri soğutma özelliğine sahip mikrosantrifüj cihazı ile 15000x *g* hızında ve 4°C'de 20 dakika santrifüj edildi.
6. Santrifüj işlemi sonrasında süpernatant, DNaz ve RNAaz içermeyen steril mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve PZR işlemi için template DNA olarak kullanılmak için -20°C'de depo edildi.

3.3.2. Qnr genlerinin Multipleks PZR yöntemi ile araştırılması

Aynı PZR işleminde QnrA, qnrB, qnrC ve qnrS gen bölgeleri multipleks olarak çalışıldı.

3.3.2.1. Kullanılan Primerler

Bu tez çalışmasında, Kim vd.,'nın tanımladığı primerler kullanılmıştır ve bu primer çiftleri Tablo 3.1'de gösterildi.

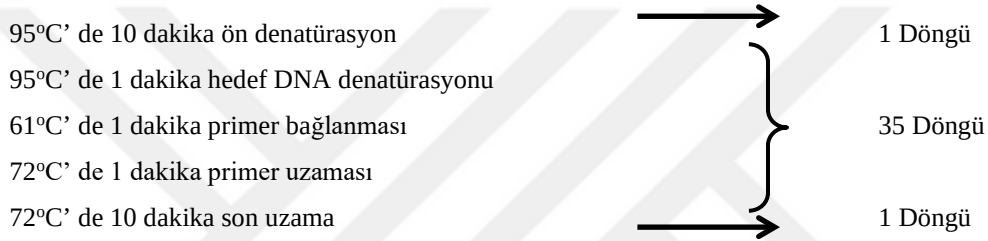
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan primer çiftleri

Gen	Primer adı	Primer dizisi
<i>nrA</i>	Qnra-F	ATTTCTCACGCCAGGATTTG
	QbrA-R	GATCGGCAAAGGTTAGGTCA
<i>qnrB</i>	QnrB-F	GATCGTGAAAGCCAGAAAGG
	QnrB-R	ATGAGCAACGATGCCTGGTA
<i>qnrC</i>	QnrC-F	GGGTTGTACATTTATTGAATCG
	QnrC-R	CACCTACCCATTTATTTTCA
<i>qnrS</i>	QnrS-F	GCAAGTTCATTGAACAGGGT
	QnrS-R	TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG

A. baumannii suşlarından elde edilen DNA kalıpları, qnrA, qnrB, qnrC ve qnrS genlerini eş zamanlı olarak multipleks PZR yöntemiyle çoğaltmak için ilgili özel primerlerle kullanıldı. Uygulamada kullanılan reaksiyon karışımı Tablo 3.2'de verildi. Amplifikasyon programı olarak Cattoir vd., tarafından kullanılan program referans alındı (Cattoir et al., 2007). Kullanılan amplifikasyon programı, Şekil 3.1'de verildi.

Tablo 3.2. Qnr PZR reaksiyon karışımı

10X PZR tamponu	5 µl
25 mM MgCl ₂	4 µl
dNTP karışımı (10 mM)	1 µl
Taq DNA polimeraz (5U/µl)	1 µl
Qnr A- F primeri (20 pmol)	1 µl
Qnr A- R primeri (20 pmol)	1 µl
Qnr B- F primeri (20 pmol)	1 µl
Qnr R- F primeri (20 pmol)	1 µl
Qnr C- F primeri (20 pmol)	1 µl
Qnr C- R primeri (20 pmol)	1 µl
Qnr S- F primeri (20 pmol)	1 µl
Qnr S- R primeri (20 pmol)	1 µl
Kalıp DNA	2 µl
Saf su	29 µl
Toplam	50 µl



Şekil 3.1. Qnr PZR amplifikasyon programı

3.3.3. QepA bölgesinin amplifikasyonu:

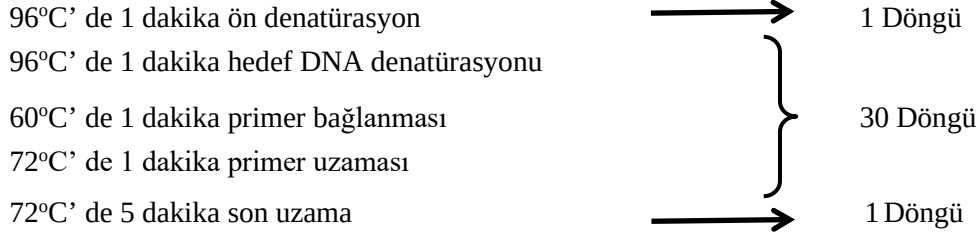
QepA geninin belirlenebilmesi için QepA-F ve QepA-R primerleri (Tablo 3.4) ile amplifikasyon programı oluşturuldu. PZR işleminde kullanılacak reaksiyon karışımı belirtildi. Tablo 3.3'de verilirken, amplifikasyon programı da Şekil 3.2'de belirtildi.

Tablo 3.3. QepA PZR reaksiyon karışımı

10X PZR tamponu	5 µl
25 mM MgCl ₂	4 µl
dNTP karışımı (10 mM)	1 µl
Taq DNA polimeraz (5U/µl)	1 µl
QepA-F primeri (10 pmol)	1 µl
QepA- R primeri (10pmol)	1 µl
Kalıp DNA	2 µl
Saf su	35 µl
Toplam	50 µl

Tablo 3.4. QepA geni primer dizisi

Gen	Primer adı	Primer dizisi
QepA	QepA-Forward	GCAGGTCCAGCAGCGGGTAG
	QepA-Reverse	CTTCCTGCCCCGAGTATCGTG



Şekil 3.2. QepA PZR amplifikasyon programı

3.3.4 OqxAB bölgelerinin amplifikasyonu

OqxAB geninin belirlenebilmesi için oqxA-F ve oqxA-R primerleri ve oqxB-F ve oqxB-R primerlerini (Tablo 3.5 ve Tablo 3.6) ile amplifikasyon programı oluşturuldu. PZR işlemlerinde kullanılan reaksiyon karışımı Tablo 3.7'de, amplifikasyon programı da Şekil 3.3'de belirtildi.

Tablo 3.5. OqxA geni primer dizisi

Gen	Primer adı	Primer dizisi
OqxA	OqxA -Forward	CTCGGCGCGATGATGCT
	OqxA -Reverse	CCACTCTTCACGGGAGACGA

Tablo 3.6. OqxB geni primer dizisi

Gen	Primer adı	Primer dizisi
OqxB	OqxB -Forward	TTCTCCCCCGGCGGGAAGTAC
	OqxB -Reverse	CTCGGCCATTTTGCGCGTA

Tablo 3.7. Ana karışım PZR reaksiyonunun hazırlanması

10XPZR tamponu	5 µl
25 mM MgCl ₂	4 µl
dNTP karışımı (10 mM)	1 µl
Taq DNA polimeraz (5U/µl)	1 µl
OqxA-F primeri (10 pmol)	1 µl
OqxA-R primeri (10 pmol)	1 µl
OqxB-F primeri (10 pmol)	1 µl
OqxB-R primeri (10 pmol)	1 µl
Kalıp DNA	2 µl
Saf su	35 µl
Toplam	50 µl

96°C' de 1 dakika ön denatürasyon	→	1 Döngü
96°C' de 1 dakika hedef DNA denatürasyonu	→	
58°C' de 1 dakika primer bağlanması	→	30 Döngü
70°C' de 1 dakika primer uzaması	→	
72°C' de 5 dakika son uzama	→	1 Döngü

Şekil 3.3. oqxAB PZR amplifikasyon programı

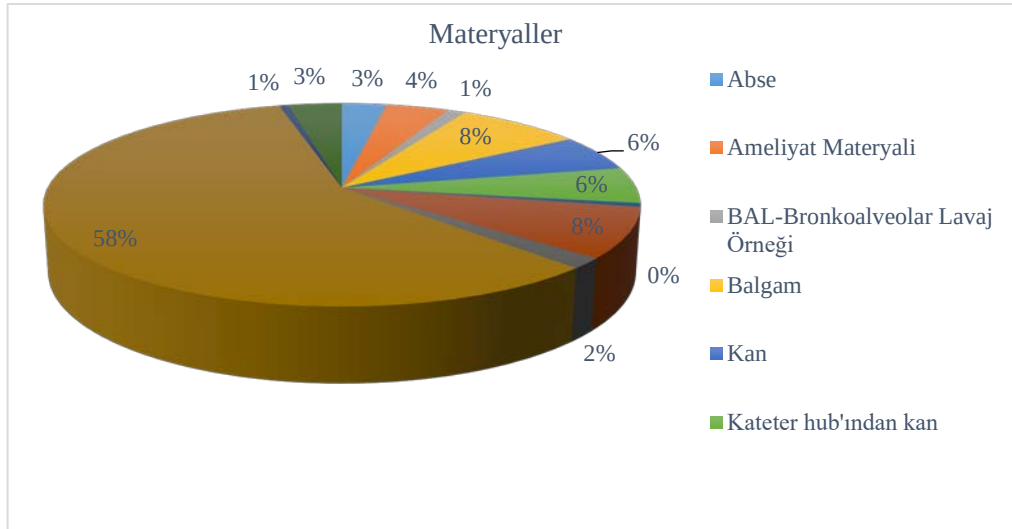
3.4. DNA elektroforezi

PZR ürünü DNA'larda ki belirlenen bant bölgelerinin incelenmesi ve boyutlarının belirlenmesi için %2'lik 1X TBE tamponu kullanılarak jel hazırlandı. Agaroz mikrodalga fırında eritilerek, yatay elektroforez jel kabına döküldü ve soğumaya bırakıldı. Agaroz jelde ki kuyucuklara 10 µl amplifikasyon ürünü, 2 µl 6X yükleme tamponu ile karıştırılarak uygulandı. Elektroforez cihazında 1 saat, 120 V elektrik akımında DNA bantları ayrışmaya başladı. Sonra jeli etidyum bromidli (0.5 µg/ml) distile suda 20 dakika boyatılarak örneklerde bulunan DNA bantlarının "GeneRuler 100 bp DNA Ladder Plus" belirteçleriyle karşılaştırılarak oluşan bantlar görüntüleme cihazında incelenerek sonuçlar kaydedildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. *Acinetobacter* spp. Enfeksiyonu Yayılımı ve Servis Dağıtımı

Acinetobacter türleri, doğada, toprakta ve sularda yaygın olarak bulunan patojenlerdir ve bu türler hastane ekipmanlarına yerleşebilirler. Bu sebeple personel veya hastalar arasındaki yaygın bulaşıcılığı ciddi hastane enfeksiyonlarına neden olabilir. *A. baumannii*, hastalar ve hastane çevresinde en sık izole edilen *Acinetobacter* türü olduğu rapor edilmiştir. Son yayınlanan çalışmalar *A. baumannii* suşlarının birçok antimikrobiyal maddeye karşı oldukça dirençli hale geldiğini göstermiştir. Ne yazık ki, bu çoklu ilaca dirençli suşlar, hastane ortamında yaygın bir problem haline gelmiş ve sonuç olarak, yüksek enfeksiyon oranına sahip hastaların hastanede kalış süreleri uzamıştır. Direncin büyük çoğunluğu, konjugatif plazmidler, transpozon elemanları ve integrin sistemleri gibi gen transfer sistemleri aracılığıyla gerçekleşmektedir, bu sistemler genleri bir DNA sisteminden diğerine ve bir bakteriyel hücreden diğerine taşır. Hastane birimlerine ve örnek türüne bağlı olarak, izolatların çoğu yoğun bakım ünitesinden alınan örneklerden (%33) ve trakeal aspiratlardan (%58) elde edilmiştir. Çalışma sonuçları, her bir birimden elde edilen izolatlarda yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı yüksek düzeyde direnç (%100) gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, Türkiye, İran, Kenya ve Güney Afrika'daki diğer çalışmalarla uyumludur. (Wilson, 2019).

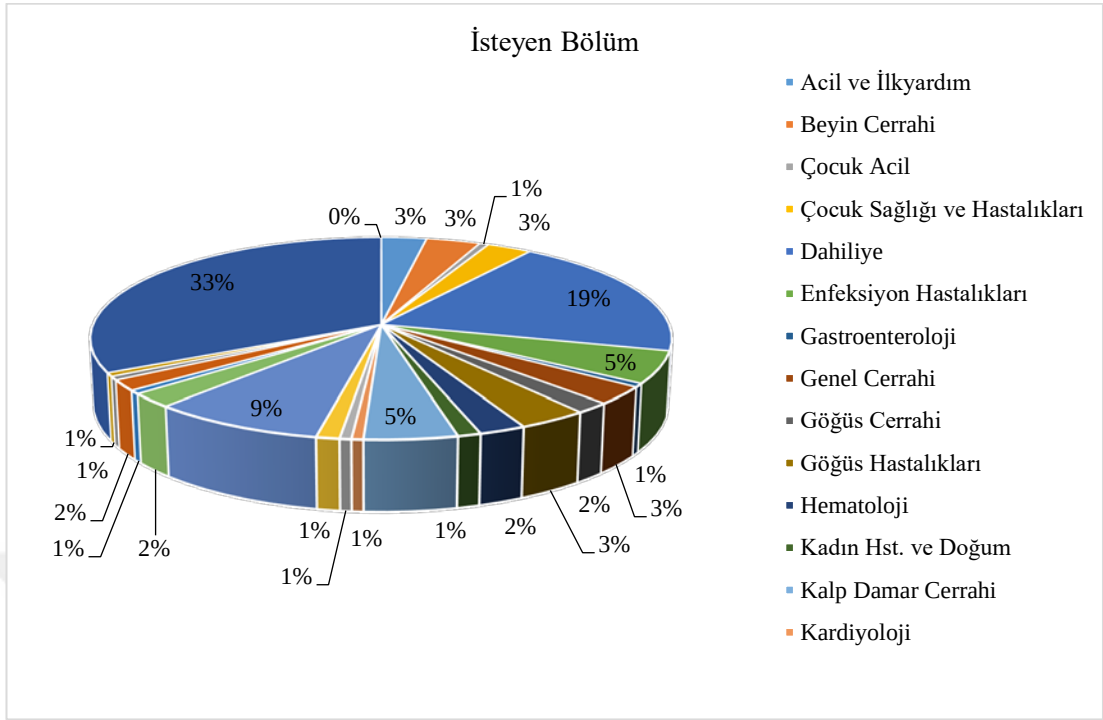


Şekil 4.1. Hastalarda gönderilen materyallerin dağılımı

Çalışmamızda 175 *acinetobacter baumannii* klinik örnekler elde edilmiştir. Bu izolatların 104 tanesi trakeal aspirat örneklerinden (%58), 14 tanesi balgam (%8), 14 Ortak Akım idrar örneklerden (%8), 10 tanesi kan (%6), 10 tanesi kateter hub'ından kan (%6), 7 tanesi ameliyat materyali (%4), 6 tanesi yara sürüntüsü (3%), 5 tanesi abse (%3), 3 tanesi periferik venden kan (%2), 2 tanesi Bal-bronkoalveolar lavaj (%1), 1 tanesi kateter ucu (%1) ve 1 tanesi vücut sıvısı (%1) şeklinde sıralanmıştır. Laboratuvarımızda gönderilen izolatları materyalleri Şekil 4.1 ve Tablo 4.1'de gösterildiği gibi dağıtılmaktadır.

Tablo 4.1. Çalışmaya dâhil edilen suşların tür dağılımı

Klinik örnek	Sayısı	%
Abse	5	3%
Ameliyat Materyali	7	4%
BAL-Bronkoalveolar Lavaj Örneği	2	1%
Balgam	14	8%
Kan	10	6%
Kateter hub'ından kan	10	6%
Kateter ucu	1	1%
Orta Akım İdrar Örneği	14	8%
Periferik venden kan	3	2%
Trakeal Aspirat Örneği	102	58%
Vücut sıvısı	1	1%
Yara Sürüntüsü	6	2%
Toplam Sayısı	175	



Şekil 4.2. Gönderilen materyallerin servisler göre dağılımı

Nosokomiyal enfeksiyonlar yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar arasında yaygındır ve ayrıca yoğun bakım ünitesine kabul edilmeyen ancak bağışıklık sistemi zayıf olan hastalar arasında da görülür. Bu tür *A.baumannii* suşlarıyla ilişkili enfeksiyonlar, yara enfeksiyonu, idrar yolu enfeksiyonu, pnömoni ve travma sonrası idrar sondası, mekanik ventilatörler ve santral venöz giriş kateterleri kullanımına bağlı olarak ortaya çıkar ve bu çalışmada örnekler'deki bölümlerden alınmıştır. (Moolchandani et al., 2017).

4.2. Genlerin transferi ve kinolon direnci

Birçok çalışma, *Acinetobacter* türlerinin antimikrobiyal direnç mekanizmalarını incelenmesinde plazmit aracılı direncin önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Plazmitler, ek genetik materyal taşıyabilen küçük dairesel DNA molekülleridir. Bu plazmitler, mikroorganizmalar arasında hızla yayılabilme ve direnç genlerinin transferini sağlayabilme özellikleriyle dikkat çekmektedir. Özellikle kinolon direnci gibi önemli bir direnç türünün plazmit aracılı olduğu belirlenmiştir.

Levofloksasin ve siprofloksasin, florokinolon sınıfına ait antibiyotiklerdir. *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar da dahil olmak üzere çeşitli

bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılırlar. Bununla birlikte, *Acinetobacter* suşlarının bu antibiyotiklere duyarlılığının coğrafik olarak ve zaman içinde değişebileceğini belirtmek oldukça önemlidir. Levofloksasin ve siprofloksasin, bakteriyel DNA replikasyonu ve onarımı için gerekli olan DNA giraz adı verilen enzimin aktivitesini inhibe ederek çalışır. Bu süreci bozarak, bu antibiyotikler duyarlı bakterilerin büyümesini etkili bir şekilde öldürebilir veya engelleyebilir.

Bununla birlikte, çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter* suşlarının artan prevalansı nedeniyle, levofloksasin ve siprofloksasinin bu bakterilere karşı etkinliği sınırlı olabilir. Bazı durumlarda, *Acinetobacter* suşları, bu antibiyotiklerin etkisinden kaçınmak için hedef bölgeleri değiştirmek veya ilaç akış pompalarını artırmak gibi spesifik mekanizmalar geliştirmiştir. (Jordi , 2002)

Klinik uygulamada, *Acinetobacter* enfeksiyonlarını tedavi etmek için antibiyotik seçimi, yerel direnç modelleri ve bireysel hasta özellikleri dahil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlıdır. Bir *Acinetobacter* suşu levofloksasin ve siprofloksasine dirençliyse, etkili bir tedavi elde etmek için alternatif antibiyotikler veya kombinasyon tedavileri gerekli olabilir. (Bader et al., 2010).

Bu bağlamda, çalışmamızın amacı, multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemini kullanarak plazmit aracılı kinolon direnç genlerinin varlığını araştırmaktır. PCR yöntemi, aynı zamanda birden fazla hedef gende eşzamanlı olarak amplifikasyon yapabilme özelliğiyle tanınan bir moleküler biyoloji tekniğidir. Bu yöntem, belirlenen hedef gen bölgelerini belirlemek ve kinolon direnci ile ilişkili olan spesifik genleri tanımlamak için kullanılmaktadır.

Klinisyenlerin güncel antibiyotik tedavilerinde karşılaştıkları önemli bir sorun, *Acinetobacter* türlerinin giderek artan antimikrobiyal direncidir. Bu direnç, genetik mekanizmalarla ilişkilendirilmiştir ve kinolon direnci, bu direnç mekanizmalarının önemli bir bileşenidir. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı, kinolon direnç genlerinin varlığını belirlemek ve bu genlerin *Acinetobacter* suşları üzerindeki yaygınlığını değerlendirmektir. Çalışmada, qnrA, qnrB, qnrC, qnrS, qepA ve oqxAB genlerinin varlığı incelenmiştir. Bu genler, kinolon direncinin gelişimi ve yayılımında önemli bir rol oynayan genetik bileşenlerdir. Bu amaçla, klinik örnekler öncelikle %5 koyun kanlı besiyeri ve Eozin Metilen Blue (EMB) besiyerine ekilerek inkübasyon sürecine alınmış ve inkübe edilen koloniler değerlendirilmiştir. Suşların tür düzeyinde tanımlanması için Vitek MS (Biomeriux, Fransa) otomatize sistem kullanılmıştır.

Kinolon direnci analizi ise Vitek2 Compact (Biomeriux, Fransa) otomatize sistem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Qnr genleri, bakterinin hedeflenen kinolon antibiyotiğin etkisini azaltarak veya ortadan kaldırarak direnç oluşturmaya neden olabilir.

Elde edilen sonuçlara göre, *Acinetobacter* türlerinde kinolon direncinde qnrS geninin önemli bir faktör olduğunu göstermektedir ve diğer bir deyişle qnrS geninin diğer genlere göre daha yaygın olduğu gözlenmiştir. Bu durum, qnrS geninin sıklığına ve etkisine yönelik daha fazla araştırmanın yapılmasını gerektirmektedir. Öte yandan, qnrA, qnrB, oqxAB, oqxA ve qepA genlerinin de direnç oranlarının düşük olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, bu genlerin varlığı, gelecekte direnç oranlarının artabileceği veya farklı antibiyotiklere karşı direnç gelişimiyle ilişkilendirilebileceği konularında dikkate alınması gereken noktalaradır.

Ayenew vd., 2014'ten 2018'e kadar ulusal bir referans laboratuvarına sevk edilen klinik örneklerden elde edilen *Acinetobacter* türlerine ilişkin geriye dönük verileri analiz etmişler ve izolatların çoğu irin, kan, idrar ve vücut sıvısı örneklerinden gelen toplam 102 suşu analiz etmişlerdir. Elde edilen bulgulara göre meropenem, seftazidim, siprofloksasin, seftriakson, sefepim ve piperasilin-tazobaktam için antimikrobiyal dirençte önemli bir artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, *Acinetobacter* türlerinin % 56.7'sinin karbapenemlere duyarlı olmadığını ve % 71.6'sının çoklu ilaç direnci gösterdiğini rapor etmişlerdir. Siprofloksasin için antimikrobiyal direncin önemli ölçüde artan eğilimleri gösterilmiştir (% 59.4 ila % 74.4). Yapılan bu tez çalışmasındaki veriler (her iki kinolin türevi ilacın direncine göre (% 100 direnç), refere edilen bu ve benzeri diğer çalışmalardaki direnç oranları ile uyumludur. Çalışmamızda siprofloksasin ve levofloksasinin *Acinetobacter* türlerine karşı % 100 direnç gösterdiğinin gözlemlenmesi, bu bakteri suşlarında antibiyotik direncinin ortaya çıkma potansiyeline dikkat çeken önemli bir bulgudur. (Ayenew, 2021)

İran'da yapılan bir çalışmada araştırmacılar, iki eğitim hastanesindeki klinik örneklerden 124 izolat toplamış ve PCR yöntemini kullanarak antibiyotik direnç genlerinin varlığını belirlemişlerdir. Dirençle ilişkili genlerin dağılımı ile ilgili olarak, tetA geninin izolatların % 93.5'inde bulunduğunu ve bunu % 69.2'sinde tetB'nin izlediğini rapor etmişlerdir. İzolatların % 52.6'sında qnrA geni bulunurken, qnrB ve qnrS saptanmamıştır. Bu çalışma, öncelikle siprofloksasin direncini ve tetrasiklin direnciyle ilişkili tetA ve tetB genlerinin varlığını incelerken, bu tez

çalışması *Acinetobacter* türlerinin siprofloksasin ve levofloksasine direncini, her iki çalışmadaki qnrA genine özel bir vurgu yaparak incelemektedir. Ancak tez çalışmamızda incelenen genlerin plazmit aracılı genlerdir ve genellikle bakteriler arasında genetik materyalin transferinde yer alan küçük, kendi kendini kopyalayan DNA molekülleri olan plazmitler üzerinde bulunmaktadır. Yine de her iki çalışmadaki ortak bulgular, *Acinetobacter* türlerinin bir florokinolon antibiyotik olan siprofloksasine direncini vurgulamaktadır. *Acinetobacter* türlerinde siprofloksasin ve levofloksasine karşı % 100 direnç bildirerek bu gözlemi genişletmiş bulunmaktayız. Kısacası, farklı direnç mekanizmaları söz konusu olsa da, her iki çalışma da *Acinetobacter* türlerinde antibiyotik direnci sağlayan genlerin varlığını vurgulamaktadır. Ayrıca refere edilen çalışmada, tetA ve tetB genlerinin artan sıklığının, artan tetrasiklin kullanımı nedeniyle *A. baumannii*'nin artan direncine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız ise dirençteki artışı doğrudan araştırmasa da, *Acinetobacter* türlerinde qnrA geninin varlığının kinolonlara karşı büyüyen bir direnci göstermesi olasıdır. Bu eğilim, antibiyotik direncini izlemenin ve bununla mücadele etmek için etkili stratejiler kullanmanın önemini vurgulamaktadır. *A. baumannii* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılık modelini kolistine özel bir vurgu yaparak araştırdıkları çalışmada, çoklu ilaca dirençli *A. baumannii* enfeksiyonları için kolistinin test edilen izolatlar üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu bildirmektedir. Dünya çapında kolistine dirençli izolatlar bildirilmiş olmasına rağmen, çalışmalarındaki izolatların yalnızca küçük bir yüzdesinin (% 0.8) bu antimikrobiyal ajana direnç gösterdiği vurgulanmaktadır. Kolistine karşı bildirilen direnç oranı %1.8 ile biraz daha yüksektir. (Fallah et al., 2014).

4.3. *Acinetobacter* türleri alternatif etkili tedavi

Çalışmamızla kıyaslandığında bu bulgular, farklı antibiyotiklerin *Acinetobacter* suşlarına karşı etkinliklerinin farklılık gösterebileceğini öne sürmekte ve dirençle karşılaşıldığında alternatif tedavi seçeneklerini değerlendirmenin önemini vurgulamaktadır. Kolistin *A. baumannii* izolatlarına karşı etkili gibi görünse de, tez çalışmamızdaki sonuçlar kinolonlara karşı tam bir direnç göstererek alternatif tedavi seçeneklerine duyulan ihtiyacı vurgulamaktadır. Ek olarak, qnr genlerine odaklanmamız, kinolon direncinin spesifik mekanizmaları hakkında değerli bilgiler sağlar. Çalışmada bildirilen % 0.8'lik direnç oranı, analiz edilen izolatlar arasında nispeten düşük bir kolistin direnci oluşumuna işaret etmektedir. Bununla birlikte, sonuç çıkarmadan önce direncin temel yaygınlığını göz önünde bulundurmak çok önemlidir. Kolistin gibi temel direnç oranı düşükse, dirençteki küçük bir artışın bile tedavi seçenekleri ve hasta sonuçları üzerinde önemli etkileri olabilir. Ayrıca, çalışmanın bulguları çeşitli faktörlere bağlı olarak kolistin direncinin gerçek prevalansını yakalayamayabilir ve analize dahil edilen izolatları temsil eder ve daha geniş popülasyondaki direnç oranlarını yansıtmayabilir. Kolistine direnç gelişimi özellikle endişevericidir, çünkü diğer antibiyotikler başarısız olduğunda genellikle son çare olarak kullanılır. Bakteri suşları kolistine dirençli hale geldiğinde, tedavi seçeneklerini ciddi şekilde sınırlar ve tedavi başarısızlığı ve kötü klinik sonuçlar riskini artırır. Ek olarak, kolistin direncinden sorumlu genler bazen bakteriler arasında aktarılabilir ve bu da direncin yayılmasını daha da şiddetlendirir. Sonuç olarak, kolistin için bildirilen % 0.8'lik direnç oranı düşük görünse de, küresel yaygınlık ve direncin potansiyel sonuçları bağlamında değerlendirilmelidir. Kolistin direnci, antimikrobiyal dirençle mücadele etmek için devam eden bilimsel araştırma, gözetim ve etkili stratejilere duyulan ihtiyacı vurgulayan önemli bir endişe olmaya devam etmektedir. (Moolchandani, 2017).

Acinetobacter türlerinde çoklu ilaç direncinin (MDR) ortaya çıkışı ve yayılması, önemli bir küresel sağlık sorunu olarak kabul edilen bir çalışma (Musyoki 2019) tarafından sunulmuştur ve bu çalışmada *A. baumannii* izolatlarının yüksek prevalansı (% 85), bu sorunun ciddiyetini daha da vurgulamaktadır. Özellikle siprofloksasine karşı özellikle zayıf duyarlılık göstermiştir (% 69-76). *Acinetobacter* türlerinde kinolonlara direnç çeşitli faktörlere bağlanabilir. Anahtar mekanizmalardan biri, DNA replikasyonu ve transkripsiyon süreçlerinde yer alan

gyrA ve parC gibi hedef genlerdeki akış pompalarını ve mutasyonları kodlayan genetik elementlerin edinilmesidir. Bu genetik değişiklikler, kinolonların bağlanma afinitesini değiştirerek bakterileri etkilerine karşı dirençli hale getirebilir. Araştırmacılar florokinolonlarda, *A. baumannii*'de yüksek düzeyde siprofloksasin direncini (% 69-76), Türkiye (%90), Hindistan (%86), İran (%80-82) ve Sudan'da (%91) farklı sevk hastanelerinde yapılan çalışmaların bulgularına benzer şekilde gözlemlemişlerdir. (Musyoki 2019)

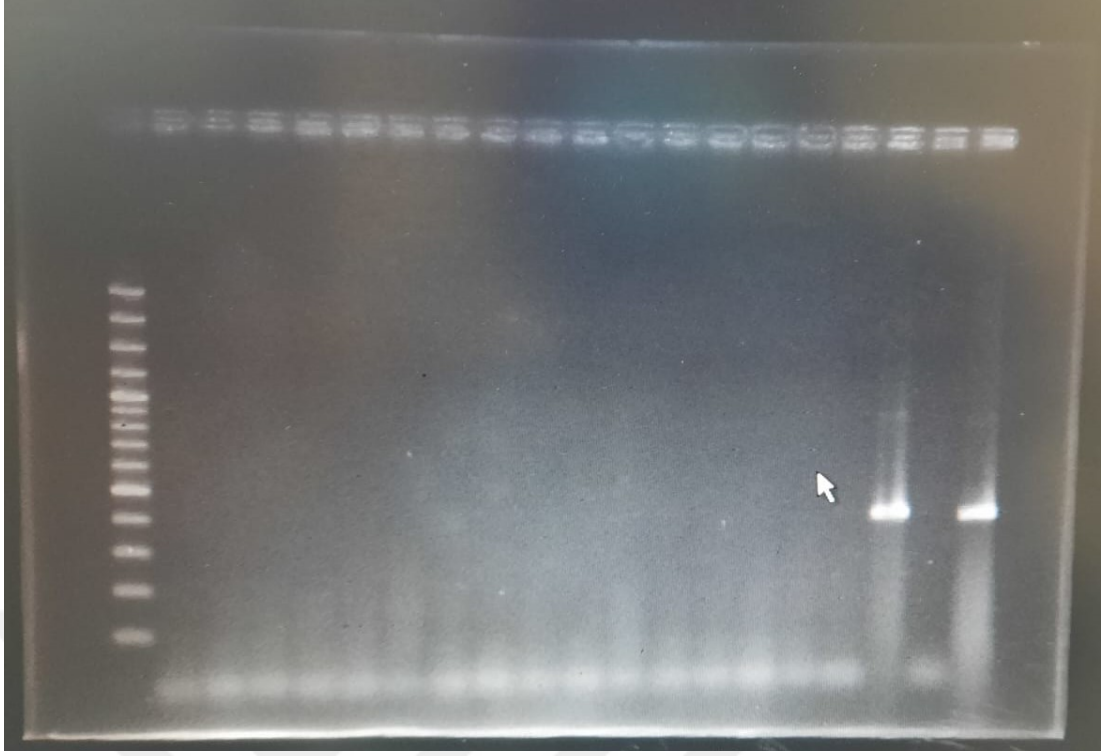
Sonuç olarak, *Acinetobacter* türlerinde kinolon direnci ile ilişkili qnr genlerinin yaygınlığını ve direnç oranlarını belirlemeye yönelik önemli bulgular sunmaktayız. Plazmid aracılı kinolon direnci (PMQR) genleri olarak bilinen bu genler, ilk kez ortaya çıktıkları 1998'den beri büyük ilgi konusu olmuştur. Literatürde, qnrA, qnrB, qnrC, qnrS, qepA ve oqxAB dahil olmak üzere izole edilmiş *Acinetobacter* suşlarında birkaç plazmid aracılı kinolon direnci (PMQR) geninin varlığını tanımlamıştır. Bu genler daha önce kinolonlara direnç kazandırmayla ilişkilendirilmiştir. Qnr gen ailesi, kinolonlar, DNA giraz ve topoizomeras IV'ün hedeflerine karşı koruma sağlayan ve böylece antibiyotikleri etkisiz hale getiren proteinleri kodlamaktadır (Osińska and Harnisz 2016). Ek olarak, qepA ve oqxAB genleri, bakteri hücrelerinden florokinolonları aktif olarak uzaklaştıran ve bu antibiyotiklere duyarlılıklarını daha da azaltan aktif akış pompalarından sorumludur. Siprofloksasin ve levofloksasine karşı gözlenen yüksek direncin PMQR genlerinin varlığıyla birlikte kombinasyonu, *Acinetobacter* türlerinde kinolon direnciyle mücadelede önemli bir zorluğun altını çizmektedir. Şimdiye kadar üç ana aktarılabılır kinolon direnç mekanizması tanımlanmıştır. İlk mekanizma, qnrA, qnrB, qnrS, qnrC, qnrVC ve qnrD'yi içeren qnr gen ailelerini içerir. Bu genler, kinolonların hedefleri olan DNA giraz ve topoizomeras IV'ü bu antibiyotiklerin etkilerinden koruyan proteinleri kodlar. Bunu yaparak, kinolonlara karşı direnç sağlarlar. İkinci mekanizma, aminoglikozit asetiltransferaz enzimini kodlayan aac(6)-Ib-cr genini içerir. Bu enzim, siprofloksasin ve norfloksasin gibi bir piperazinil sübstitüenti içeren florokinolonları asetilleyerek antimikrobiyal maddeler olarak etkinliklerini azaltır. Üçüncü mekanizma, çoklu ilaç akış pompaları olarak bilinen aktif akış pompalarından sorumlu olan qepA ve oqxAB genleri ile ilişkilidir. Bu pompalar, florokinolonları bakteri hücrelerinden aktif olarak uzaklaştırarak bu antibiyotiklere duyarlılıklarını azaltır. (Osińska and Harnisz, 2016)

4.4. Bulgularımızın değerlendirme sonuçları

PZR alışma sonuçlarımız Tablo 4.3 ve şekil 4.3’de gösterilmektedir. Çalışmamızda 175 klinik örnek elde edilmiş ve bunların tümü test edilerek kinolonlara direnç kazandıran ve çoklu ilaç direncine neden olan genler tespit edilmiştir. Multipleks PZR kullanarak acinetobacter baumanii genlerini belirleyebilmiştir. qnr A, qnrB, qnrC, qnrS, oqxAB, oqxA ve qepA genlerinin direnç oranları sırasıyla %0.57, %0.57, %0.57, %5.71, %2.8, %4 ve %0 olarak belirlendi.

Tablo 4.2. *Acinetobacter spp.* PZR sonuçları

	Qnr- A	Qnr-B	Qnr- C	Qnr-S	Oqx-AB	Oqx-A	QepA
Pozitif	1 (0.57%)	1 (0.57%)	1 (0.57%)	10 (5.71%)	4 (2.8%)	7 (4%)	0 (0%)
Negatif	174 (99.4%)	174 (99.4%)	175 (99.4%)	165 (94.3%)	171 (97.7%)	168 (96%)	175 (100%)



Şekil 4.3. oqxA geni için elektroforez görüntüsünün sonucu

5. SONUÇ

Multipleks PZR yöntemi sonucunda çalışmamızda *Acinetobacter baumannii* izolatlarında qnr A, qnrB, qnrC, qnrS, oqxAB, oqxA ve qepA genleri araştırıldı

Bakteriyoloji laboratuvarı bölümünden temin edilen 175 izolattan 18'inde kinolonlara dirençli asinetobakter genleri saptanabilmiştir. Çalışma sırasında qepA genine rastlanmadı. İzolatların en çok izole edildiği örnekler: 104'ü trakeal aspirat örneklerinden (%58), 14'ü balgamdan (%8) ve 14'ü idrar örneklerinden (%8) *A. baumannii* izolatları en sık (%33) yoğun bakım ünitesi örneklerinden elde edildi.

Bu çalışmanın sonuçları, antimikrobiyal dirençle mücadelede klinik kararların ve tedavi stratejilerinin belirlenmesinde değerli bir katkı sağlayabilir. Gelecekte, bu alandaki araştırmaların devam etmesi ve kinolon direncinin önlenmesi için etkili önlemlerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Daha ileri çalışmalar, PMQR genlerinin aktarılabilirliği ve kalıcılığının altında yatan genetik mekanizmaları aydınlatmaya odaklanmalıdır. Bu mekanizmaları anlamak, kinolon direncinin yayılmasını sınırlayabilen ve etkili tedavi stratejilerinin tasarımı bilgilendirebilen müdahalelerin geliştirilmesi için çok önemlidir.

Elde edilen veriler, klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* suşlarının kinolon direnci profilini ve direnç genlerinin varlığını ortaya koymaktadır. OqxAB genleri, Türkiye'deki *Acinetobacter* izolatlarında ilk kez bildirilmiştir. OqxAB genlerinin varlığı, Türkiye'deki *Acinetobacter* suşlarında kinolon direncinin gelişimi ve yayılımı açısından dikkate alınması gereken bir faktördür. Bu bulgu, Türkiye'de antimikrobiyal direnç sorununun anlaşılması ve yönetilmesi için önemli bir adımdır.

KAYNAKÇA

- Acar, J.F., Goldstein, F.W. (1997). Trends in bacterial resistance to fluoroquinolones. *Clin Infect Dis*, 24, pp: (67-73)
- Akalın, H., (2007). Çoklu ilaç direncinde tedavi yaklaşımı ve ilaç politikaları. *Ankem Derg* ;21 (Ek2):186-191
- Akova, M., (2006). Sulbaktam-Sefoperazon: In Vitro Çalışmalar ve Klinik Kullanımında Yeni Veriler. *Flora* ;11(Ek 2)
- Andriole, V.T., (2005). The quinolones: past, present and future. *Clin Infect Dis*, 41, pp: (113-119)
- Appelbaum, P.C., Hunter P.A. (2000). The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. *Int J Antimicrob Agents*, 16 ,pp: (5-15)
- Appleman, M.D., Belzberg, H, Citron, D.M., et al, (2000). In vitro activities of nontraditional antimicrobials against multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated in an intensive care unit outbreak. *Antimicrob Agents Chemother*, 44: 1035-40.
- Arda, B., Ulusoy, S., Leblebicioğlu, H., Usluer, G., Ulusoy, S.,(2008) .Güncel Bilgiler Işığında altın Antibiyotikler. Ankara: *Bilimsel Tıp Yayınevi* (497-512)
- Ardıç, N., Özyurt, M., İlga, U., Erdemoğlu, A., Haznedaroğlu, T. (2004) Yatan Hastalardan İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* Suşlarının Karbapenemlere ve Bazı Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Ankem Dergisi*. 18(3), 145-148.
- Arsene, S., Leclercq, R. (2007). Role of a qnr-like gene in the resistance of *Enterococcus faecalis* to fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother*, 51, pp: (3254-3258).
- Assanta, M.A. (2000). The war against invasive bacteria that stick to surfaces. (<http://www.frd.gov.ca>.)
- Aşık, G. (2011). *Acinetobacter baumannii* virülansında güncel yaklaşımlar. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 45(2), ppt: (371- 380).
- Ayenew, Z., Tigabu, E., Syoum, E., Ebrahim, S., Assefa, D., & Tsige, E. (2021). Multidrug resistance pattern of *Acinetobacter species* isolated from clinical specimens referred to the Ethiopian Public Health Institute: 2014 to 2018 trend analysis. *PloS one*, 16(4), e0250896.
- Aygün, G., Dikmen, Y., Mete, B., Utku, T., Murtezaoğlu, A., Demirkıran, O., vd. (2002). Yoğun bakım ünitesinde hastane infeksiyonu etkeni olarak belirlenen *Acinetobacter baumannii* kökenlerinin antibiotik duyarlılığı. *Ankem Derg*;16: pp: 85-8.
- Bader, M. S., Hawboldt, J., & Brooks, A. (2010). Management of complicated urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance. *Postgraduate medicine*, 122(6), 7-15.
- Bartual, S. G., Seifert, H., Hippler, C., Luzon, M. A. D., Wisplinghoff, H., & Rodríguez-Valera, F. (2005). Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of clinical microbiology*; 43(9), 4382-4390.

- Bahar, İ.H., Esen, N. (2008). *Acinetobacter* türleri ve diğer gram negatif nonfermentatif basiller. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2195-2201.
- Bergogne-Berezin, E., & Towner, K. J. (1996). *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clinical microbiology reviews*, 9(2), 148-165.
- Bilgehan, H. (2000). Non fermentatif gram olumsuz basiller. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Barış yayınları, Fakülteler Kitabevi, İzmir, 10. Basım; pp. 175-197.
- Can, F., Azap, Ö., vd. (2006) Kan kültürlerinden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında biyofilm oluşumu. *İnfeksiyon dergisi*; 20(3): 159-163.
- Cattior, V., Poirel, L., Aubert, C., Soussy, C.J, Nordmann, P. (2008). Unexpected occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in environmental *Aeromonas* spp. *Emerg Infect Dis*, 14, pp. 231- 237.
- Cattoir, V., Nordmann, P. (2009). Plasmid-mediated quinolone resistance in gram negative bacterial species: An update. *Curr Med Chem*, 16, pp.1028-1046.
- Cattoir, V., Nordmann, P. (2009). Plasmid-mediated quinolone resistance in gram negative bacterial species: An update. *Curr Med Chem*, 16, pp.1109- 1117.
- Cavaco, L.M., Hasman, H., Xia, S., Aarestine, F.M. (2009). qnr D, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovars Kentucky and Bovismorbificans of human origin. *Antimicrob Agents Chemother*, 53, pp. 603-608.
- Courvalin, P. (1990). Plasmid- mediated 4-quinolone resistance: a real or apparent absence? *Antimicrob Agents Chemother*, 34, pp. 681-684.
- Çakır, N. (2004). Gram negatif etkili antibakteriyel ajanlar ve klinik kullanımları (antipsödomonal penisilinler). Önemli ve sorunlu gram negatif bakteri enfeksiyonları. 1. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; s.399-408.
- Çakır, N. (2004). Gram negatif etkili antibakteriyel ajanlar ve klinik kullanımları (sefalosporinler). Önemli ve sorunlu gram negatif bakteri enfeksiyonları. 1. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; s. 410-28.
- Çalık, N, Akova M. (2004) Tigesiklin. *Ankem Derg*; 21(Ek 2):29-33.
- Demirtürk, N., Demirdal, T. (2004) Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. *Kocatepe Tıp Dergisi*; 5(2):17-21.
- Dökmeci, İ. (1992). Farmakoloji ilaç uygulamalarında temel kavramlar'ında. İstanbul. Nobel Tıp Kitapevleri; s.705–86.
- Dökmetaş, İ. (2003) Güncel bilgiler ışığında antibiyotikler. 1. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; s.239-48.
- Drlica, K., Zhao, X. (1997). DNA gyrase, topoisomerase IV and the 4- Quinolones. *Microb Mole Bio Rev*, 61, pp.377-392.
- Esen, Ş. (2008). Güncel bilgiler ışığında antibiyotikler. 1. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; s.275-86.
- Falagas, M.E., Kasiakou, S.K. (2005). Colistin: The revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram negative bacterial infections. *Clin Infect Dis*; 40: 1333-41.
- Fallah, F., Noori, M., Hashemi, A., Goudarzi, H., Karimi, A., Erfanimesh, S., & Alimehr, S. (2014). Prevalence of bla NDM, bla PER, bla VEB, bla IMP, and bla VIM Genes

- among *Acinetobacter baumannii* isolated from two hospitals of Tehran, Iran. *Scientifica*, 2014.
- Gür, D. (2008) Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları. Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Ankara: *Bilimsel Tıp Yayınevi*, 3; 9-52.
- Hansen, L.H., Jensen, L.B., Sorensen, J.H. (2007). Substrate specificity of the OqxAB-multidrug-resistance pump in *Escherichia coli* and selected enteric bacteria. *J Antimicrob Chemother*, 60, pp. 145-147.
- Hansen, L.H., Johannesen, E., Burmolle, M., Sorensen, A.H., Sorensen, J.H. (2004). Plasmid-encoded multidrug efflux pump conferring resistance to olaquinox in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 48, pp. 3332-3337.
- Hata, M., Suzuki, M., Matsumoto, M., Takahashi, M., Sato, K., Ibe, S., Sakae, K. (2005). Cloning of novel gene for plasmid in *Shigella flexneri* 2b. *Antimicrob Agents Chemother*, 49, pp: 801-803.
- Hedge, S.S., Vetting, M.W., Rederick, S.L., Mitcherall, L.A., Maxwell, A., Takiff, H.E., Blanchard, J.S. (2009). A fluoroquinolone resistance protein from *Mycobacterium tuberculosis* that mimics DNA. *Science*, 308, pp. 1480-1483.
- Hernández, A., Sánchez, M. B., & Martínez, J. L. (2011). Quinolone resistance: much more than predicted. *Frontiers in microbiology*, 2, 22.
- Hooper, D. (2005). Quinolones: Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th ed., Churchill Livingstone, Elsevier.
- Hooper, D. (2000). Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones. *Clin Infect Dis*, 31, pp.24-28.
- Hujer, K.M., Hamza, N.S., Hujer, A.M., Perez, F., Helfand, M.S., Bethel, C.R., et al. (2005). Identification of a new variant of the *Acinetobacter baumannii* cephalosporinase, ADC-7 beta-lactamase: characterizing a new family of Class C enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*; 49, 2941-2948.
- Jacoby, G.A., Cattoir, V., Hooper, D., Martinez-Martinez, L., Nordmann, P. et al. (2008). Qnr gene nomenclature. *Antimicrob Agents Chemother*, 52, pp: 2297-2298.
- Jacoby, G.A., Chow, N., Woites, K.B. (2003). Prevalence of plasmid-mediated quinolone-resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 47, pp.559-562.
- Jacoby, G.A., Wolsh KE., Mills, D.M., Waller, V.J., Robiscek, A., Hooper, D. (2006). Qnr B another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 49, pp. 2522-2524.
- Jacoby, G.A. (2005). Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin Infect Dis*, 41, pp. 120-126.
- Jawad, A., Hawkey, P. M., Heritage, J., & Snelling, A. M. (1994). Description of Leeds *Acinetobacter* Medium, a new selective and differential medium for isolation of clinically important *Acinetobacter* spp., and comparison with Herellea agar and Holton's agar. *Journal of clinical microbiology*, 32(10), 2353-2358.
- Jeong, S. H., Bae, I. K., Kwon, S. B., Lee, K., Yong, D., Woo, G. J., ... & Lee, S. H. (2005). Investigation of a nosocomial outbreak of *Acinetobacter baumannii* producing PER-1 extended-spectrum β -lactamase in an intensive care unit. *Journal of Hospital Infection*, 59(3), 242-248.
- Karageorgopoulos, D. E., & Falagas, M. E. (2008). Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *The Lancet infectious diseases*, 8(12), 751-762.

- Kim, H.B., Wang, M., Park, C.H., Kim, E.C., Jacoby, G.A., et al. (2009). OqxAB encoding a multidrug efflux pump in human clinical isolates of *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 53, pp. 3582-3584.
- Leblebicioğlu H. (2008). Parenteral Sefalosporinler Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Ankara: *Bilimsel Tıp Yayınevi*; 285-298.
- Leblebicioğlu, H. (2004) Polimikrobiyal Enfeksiyonlarda Tedavi ve Ampisilin-sulbaktam Kullanımı. *Flora* ;9(Ek 2).
- Lee K, Lee WG, Uh Y, Ha GY, Cho J, Chong Y. VIM and IMP-type metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean hospitals. *Emerg Infect Dis* 2003;9:868-871.
- Li, X.Z. (2005). Quinolone resistance in bacteria. Emphasis on plasmid-mediated mechanisms. *Int J Antimicrob Agents*, 25, pp. 453-463.
- Livermore, D. M., Winstanley, T. G., & Shannon, K. P. (2001). Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(suppl_1), 87-102. Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microb Rev* 1995;8:557–84.
- Looveren, M., Goossens, H., & ARPAC Steering Group. (2004). Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. *Clinical microbiology and infection*, 10(8), 684-704.
- Manikal, V. M., Landman, D., Saurina, G., Oydna, E., Lal, H., & Quale, J. (2000). Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. *Clinical infectious diseases*, 31(1), 101-106.
- Martinez- Martinez, L., Pascual, A., Jacoby, G.A. (1998). Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet*, 14, pp.797-799.
- Marques, M. B., Brookings, E. S., Moser, S. A., Sonke, P. B., & Waites, K. B. (1997). Comparative in vitro antimicrobial susceptibilities of nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* and synergistic activities of nine antimicrobial combinations. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 41(5), 881-885.
- Miller, G.H, Sabotelli, F.J., Hare, R.S. (1997). The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms-changes with time and geographic area: a reflection of aminoglycoside usage patterns? Aminoglycoside Resistance Study Groups. *Clin Infect Dis*, 24, pp.46-62.
- Moolchandani, K., Sastry, A. S., Deepashree, R., Sistla, S., Harish, B. N., & Mandal, J. (2017). Antimicrobial resistance surveillance among intensive care units of a tertiary care hospital in Southern India. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 11(2), DC01.
- Munoz-Price, L.S., Weinstein, R.A. (2008). *Acinetobacter* Infection. *N Engl J Med*; 358 (12):1271-1281
- Murray, P., Rosenthal, K.S., Pfaller, M.A., (2008). Medical Microbiology. *Elsevier-Mosby* 7th Ed. pp. 358-367. Plasmid-mediated
- Murshi, M.H., Haider, K., Rahaman, M.M., Sack, D.A., Ahmed, Z.U, Maershed, M.G. (1987). Plasmid-mediated resistance to nalidixic acid in *Shigella dysenteriae* type 1. *Lancet*, ii, pp.854
- Musyoki, V. M., Masika, M. M., Mutai, W., Wilfred, G., Kuria, A., & Muthini, F. (2019). Antimicrobial susceptibility pattern of *Acinetobacter* isolates from patients in Kenyatta National Hospital, Nairobi, Kenya. *The Pan African Medical Journal*, 33, 855.

- Nichols, W.W., Dorrington, S.M., Slack, M.P., Walmsley, H.L. (1988). Inhibition of tobramycin diffusion by binding to alginate. *Antimicrob Agents Chemother*, 32, pp. 518-523.
- Nikado, H. (1996). Multidrug efflux pumps of gram-negative bacteria. *J Bact*, 178, pp. 5833-5839.
- Oram, M., Fisher, L.M. (1991). 4-Quinolone resistance mutations in the DNA gyrase of *Escherichia coli* clinical isolates identified by using polymerase chain reaction. *Antimicrob Agents Chemo*, 35, pp. 387-389.
- Osińska, A., Harnisz, M., & Korzeniewska, E. (2016). Prevalence of plasmid-mediated multidrug resistance determinants in fluoroquinolone-resistant bacteria isolated from sewage and surface water. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 10818–10831.
- Pfaller, M. A., Korten, V., Jones, R. N., Doern, G. V., & Turkish Antimicrobial Resistance Study Group. (1999). Multicenter evaluation of the antimicrobial activity for seven broad-spectrum β -lactams in Turkey using the Etest method. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 35(1), 65-73.
- Pan, X.S., Fisher, L.M. (1996). Targeting of DNA gyrase in *Streptococcus pneumoniae* by sparfloxacin: selective targeting of gyrase or topoisomerase IV by quinolones. *Antimicrob Agents Chemother*, 41, pp. 471-474.
- Pankey, G.A. (2005). Tigecycline. *J Antimicrob Chemother*; 56(3): 470-80
- Paton, J.H., Reeves, D.S., (1988). Fluoroquinolone antibiotics. Microbiology, pharmacokinetics and clinical use. *Drugs*, 36, pp. 193- 228.
- Peleg, A.Y., Adams, J., Peterson, D.L. (2007) Tigecycline efflux as a mechanism for nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 51, 2065-2069.
- Perez, F., Hujer, A. M., Hujer, K. M., Decker, B. K., Rather, P. N., & Bonomo, R. A. (2007). Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(10), 3471-3484.
- Perichon, B., Courvalin, M. (2007). Transferable resistance to aminoglycoside by methylation of 61405 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by qepA- mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 51, pp. 2464-2469.
- Poirel, L., Rodriguez-Martinez, J.M., Hammeri, H., Liard, A., Nordmann, P. (2005). Orgine of plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnrA. *Antimicrob Agents Chemother*, 49, pp. 3091-3094.
- Poole, K., Tetra, K., Zhao, Q., Neshat, S. (1996). Expression of the multidrug resistance operon MexA- Mex B operon expression. *Antimicrob Agents Chemother*, 40, pp. 2021-2028.
- Rahal, J. J. (2006). Novel antibiotic combinations against infections with almost completely resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clinical infectious diseases*, 43(Supplement_2), S95-S99.
- Robiscek, A., Strahilevitz, J., Jacoby, G.A., Macirelog, M., Abbanot, D., Hooper, D. (2006). Fluoroquinolone modifying enzyme: a new adaptation of common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat Med*, 12, 83- 88.
- Rodriguez-Martinez, J.M., Velasco, C., Briaes, A., Garcia, I., Conejom, C., et al. (2008). Qnr-like pentapeptide repeat proteins in gram-positive bacteria. *J Antimicrob Chemother*, 61, pp. 1240-1243.

- Ruiz, J. (2003). Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation, and DNA gyrase protection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(5), 1109-1117.
- Saltoğlu, N. (2007). *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonları ve tedavisi. In. XIII. Türk Klimik Kongresi. *Kongre Kitabı. İstanbul*: 2007;20 s. 204-207.
- Sorensen, A.H., Hansen, L.H., Johannesen, E., Sorensen, J.H. (2003). Conjugative plasmid conferring resistance to olaquinox. *Antimicrob Agents Chemother*, 47, pp. 798-799.
- Speller, D.C.E., Humphreys, H. (1998) Hospital-acquired infection. Topley&Wilson's Microbiology and microbial infections. 9th ed. London: Arnold; p.187-229.
- Strahilevitz, J., Jacoby, G.A., Hooper, D., Robiscek, A. (2009). Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin Microb Rev*, 22, pp. 664-689.
- Tatman-Otkun, M., Gürcan, Ş., Özer, B., Türe, M. (2003) Nosokomiyal *Acinetobacter baumannii* kökenlerinde 1994'den 2000'e yıllık antibiyotik direnç değişimi. *Ankem*. s;17:1-6.
- Thomson, J. M., & Bonomo, R. A. (2005). The threat of antibiotic resistance in Gram-negative pathogenic bacteria: β -lactams in peril!. *Current opinion in microbiology*, 8(5), 518-524.
- Topdahl, M., Hammerum, A.M., Zachariassen, C., Nielsen, E.M. (2009). Detection of qnr genes in *salmonella* isolated from humans in Denmark. *J Antimicrob Chemother*, 63, pp. 406-408.
- Tran, J.H., Jacoby, G.A., Hooper, D. (2005). Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein Qnr with *Escherichia coli* DNA gyrase. *Antimicrob Agents Chemother*, 49, 118-125.
- Turnidge, J. (1999). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of fluoroquinolones. *Drugs*, 58, pp.29-36.
- Towner, K.J. (2009). *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *J Hosp Infect*; 73(4): 355-63.
- Towner KJ. *Acinetobacter*. (1998) Microbiology and Microbial Infections. 9 th ed. London:1229-1239.
- Usluer, G., Ünal S. (2004). İmipenem. *Flora*;9(Ek7):3-16.
- Vahaboglu, H., Oztürk, R., Aygün, G., Coşkun, F., Yaman, A., Kaygusuz, A., ... & Otkun, M. (1997). Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 41(10), 2265-2269.
- Vahapoğlu, H. (2008) *Acinetobacter* enfeksiyonları. *Ankem Derg*;22:44-45.
- Vila, J., Ribera, A., Marco, F., Ruiz, J., Mensa, J., Chaves, J., ... & Jimenez De Anta, M. T. (2002). Activity of cinafloxacin, compared with six other quinolones, against *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(3), 471-477.
- Vila, J., Ruiz, J., Goni, P., Angeles, M. (1995). Mutation in the gyrA gene of quinolone-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 39, pp.1201-1203.
- Walsh, T.R., Toleman, M.A., Poirel L., Nordmann, P. (2005) Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm. *Clin Microbiol Rev*;18:306-325.

- Weaver R, Actis LA. Identification of *Acinetobacter* species. *J Clin Microbiol* 1994;32 (7): 1833-1838.
- Wang, M, Guo, Q., Xu, X., Wang, X., Hooper, D. (2009). A new plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC1, was found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 53, pp. 1892-1897.
- Wilson, J. (2019). Infection control in clinical practice updated edition. *Elsevier Health Sciences*.
- Willke, A.(2003) Aminoglikozidler. Güncel bilgiler ışığında antibiotikler. 1. Baskı. Ankara: *Bilimsel Tıp Yayınevi*;s.313-24.
- Wolfson, J.S., Hooper, D. (1989). Fluoroquinolone antimicrobial agents. *Clin Microb Rev*,2, pp. 378-424.
- Yamane, K., Wochino, J., Suzuki, S., Kimura, K., Shibato, N., et al. (2007). A new plasmid-mediated quinolone efflux pump, QepA, was found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Chemother*, 51, pp. 3354-3360.
- Yoshida, H., Bagaki, M., Nakamura, M., Nakamura, S. (1990). Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase gyrA gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*,34,pp.1271-1273.
- Yoshido, H., Bagaki, M., Nakamura, M. (1991). Quinolone resistance- determining region in the DNA gyrase gyrB gene of *E. coli*. *Antimicrob Agents Chemother*,35,pp. 1647-1650.
- Zavascki, A. P., Goldani, L. Z., Li, J., & Nation, R. L. (2007). Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 60(6), 1206-1215.

ÖZ GEÇMİŞ

Nqobile Mzulwini Zwelibanzi lisesini bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji bölümünden 30.06.2019 tarihinde mezun olmuştur. 2020 yılında OMU Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına başvuru yapmış ve kazanmıştır. Ana dili İngilizce olup, aynı zamanda Türkçe ve Fransızca orta seviyede bilmektedir (31.07.2023).

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0009-0007-0112-8152.

Yayınlar:

1. PS-44 Mzulwini, N., Tanrıverdi Çaycı, Y., Birinci, A. (2021). Solunum yollarından izole edilen *Acinetobacter* izolatlarının yıllara göre kınolon direnç değişiminin incelenmesi. 6. ULUSAL KLİNİK MİKROBİYOLOJİ HİBRİD KONGRESİ. 202