

ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *ACINETOBACTER*
BAUMANNII'DE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN GENOTİP VE FENOTİP
KORELASYONU

Ghaith Kareem ABDULHASAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2024

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Ghaith Kareem ABDULHASAN tarafından hazırlanan “**Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii*'de Biyofilm Oluşumunun Genotip ve Fenotip Korelasyonu**” adlı tez çalışması 10/07/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK

Eş Danışman : Prof. Dr. Nawfal H. ALDUJAILI

Jüri Üyeleri :

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi İsim SOYİSİM
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. İsim SOYİSİM
Biyoloji Anabilim Dalı
Yıldız Teknik Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İsim SOYİSİM
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. İsim SOYİSİM
Biyoloji Anabilim Dalı
Yıldız Teknik Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İsim SOYİSİM
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hamit ALYAR

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “**Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii*'de Bıyofilm Oluşumunun Genotip ve Fenotip Korelasyonu**” konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (10/07/2024).

Ghaith Kareem ABDULHASAN

ÖZET

Doktora Tezi

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *ACINETOBACTER BAUMANNII*'DE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN GENOTİP VE FENOTİP KORELASYONU

Ghaith Kareem ABDULHASAN

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Eş Danışman: Prof. Dr. Nawfal H. ALDUJAILI

Acinetobacter baumannii, çeşitli insan hastalıklarından sorumlu olan önemli bir nozokomiyal patojendir. Son zamanlarda, *A. baumannii*'deki antibiyotik direncinin katlanarak artması, halk sağlığı alanında önemli bir endişe kaynağı olarak ortaya çıkmıştır. Biyofilm oluşturma kapasitesi, *Acinetobacter*'in hastane ortamında hayatta kalmasını ve bulaşmasını kolaylaştırmada önemli bir rol oynamaktadır. Bu çalışma, *Acinetobacter baumannii*'yi izole etmek ve teşhis etmek amacıyla Kasım 2021 ile Mayıs 2022 tarihleri arasında Babil / Irak'taki çeşitli hastanelere başvuran, farklı cinsiyet ve yaştaki hastalardan farklı klinik bölgelerden (idrar, kulak iltihabı, boğaz sürüntüsü, kan, cilt lezyonu) 200 örnek alınarak gerçekleştirilmiştir. Bakteriyel izolatların izolasyonu ve tanımlanması MacConkey agar kullanılarak yapılmış ve antibiyotik direnç paterni ve konformasyonel tanımlamaya ek olarak biyokimyasal testler otomatik VITEK-2 sistemi cihazları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bakteri izolatlarının biyofilm oluşturma kapasitesi mikrotitre plak yöntemi kullanılarak belirlenmiş; ayrıca biyofilmle ilişkili genler geleneksel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak tespit edilmiştir. 200 klinik örnekten sadece 59'unda *A. baumannii* için pozitif üreme kültürü elde edilmiştir. Yaşa göre, hastaların minimum yaşı 9 iken maksimum yaşı 78'dir ve yaş ortalaması 35,69±18,05'tir. Kadınların sıklığı 31 (%52,54) olup, erkeklerin sıklığından 28 (%47,46) daha yüksektir. *A. baumannii* izolatları için pozitif 59 örnek arasında, kulak irini örnekleri 19 (%32,20) ile en yüksek sayıya sahipken, bunu sırasıyla 14 kan örneği (%23,78), 10 idrar örneği (%16,95) ve 9 deri lezyonu örneği (%15,25) izlemiş, boğaz sürüntü örnekleri ise 7 numuneyle (%11,86) en düşük sayıya sahip olmuştur. Tüm *A. baumannii* izolat kolonileri orta büyüklükte, mukoid olmayan, pigmentsiz ve MacConkey agarda geç laktoz fermantasyonuna sahiptir. Toplam 59 izolattan; 26'sı (%44,1) güçlü, 17'si orta (%28,8) ve 10'u (%16,9) zayıf olmak üzere 53'ü biyofilm üretme yeteneğine sahiptir. Sadece 6 (%10,2) izolat biyofilm üretimi ile ilişkili değildir. Bakteri izolatları arasında *cruF* geninin sıklığı %76,3 ile en yüksek seviyeye sahipken bunu sırasıyla (%69,5) *bap* bla PER-1 geni ve (%62,7) *bap* geni takip etmiştir, *OmpA* geninin sıklığı ise %44,1 olmuştur. En yüksek antibiyotik direnci trimetoprim-sülfametoksazole (%57,6) karşı iken, bunu gentamisin ve imipenem (%55,9), seftazidim (%52,5), amikasin (%50,8),

streptomisin (%47,5), tigesiklin (%44,1), sefepim (%39), karbenisilin (%37,3) ve piperasilin (%25,4) takip etmiştir.



2024, 86 sayfa

ANAHTAR KELİMELEER: *Acinetobacter baumannii*, Antibiyotik direnci, Biyofilm oluşumu

ABSTRACT

PhD Thesis

GENOTYPE AND PHENOTYPE CORRELATION OF BIOFILM FORMATION AMONG *ACINETOBACTER BAUMANNII* ISOLATED FROM CLINICAL SAMPLES

Ghaith Kareem ABDULHASAN

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

Advisor: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Co-Advisor: Prof. Dr. Nawfal H. ALDUJAILI

Acinetobacter baumannii is an important nosocomial pathogen responsible for various human diseases. Recently, the exponential increase of antibiotic resistance in *A. baumannii* has emerged as a major public health concern. The capacity to form biofilms plays an important role in facilitating the survival and transmission of *Acinetobacter* in the hospital setting. This study was conducted to isolate and diagnose *Acinetobacter baumannii* by collecting 200 samples from different clinical sites (urine, ear infection, throat swab, blood, skin lesion) from patients of different gender and age admitted to various hospitals in Babylon/Iraq between November 2021 and May 2022. Bacterial isolates were isolated and identified using MacConkey agar and biochemical tests in addition to antibiotic resistance pattern and conformational identification were performed using automated VITEK-2 system devices. The biofilm-forming capacity of bacterial isolates was determined using the microtiter plate method; biofilm-associated genes were also detected using conventional polymerase chain reaction (PCR). Only 59 out of 200 clinical samples yielded positive cultures for *A. baumannii*. According to age, the minimum age of the patients was 9 years, and the maximum age was 78 years, with a mean age of 35.69 ± 18.05 years. The frequency of females was 31 (52.54%), which was 28 (47.46%) higher than the frequency of males. Among the 59 samples positive for *A. baumannii* isolates, ear pus samples had the highest number with 19 (32.20%), followed by blood samples with 14 (23.78%), urine samples with 10 (16.95%) and skin lesion samples with 9 (15.25%), while throat swab samples had the lowest number with 7 (11.86%). All *A. baumannii* isolate colonies were medium-sized, non-mucoid, non-pigmented and had late lactose fermentation on MacConkey agar. Of the 59 isolates, 53 were capable of producing biofilms. These were classified as strong 26 (44.1%), moderate 17 (28.8%) and weak 10 (16.9%), with only 6 (10.2%) isolates not associated with biofilm production. Among the bacterial isolates, the frequency of *cruF* gene was the highest with 76.3%, followed by *bap bla PER-1* gene with 69.5% and *bap* gene with 62.7%, while the frequency of *OmpA* gene was 44.1%. The highest antibiotic resistance was to trimethoprim-sulfamethoxazole (57.6%), followed by gentamicin and imipenem (55.9%), ceftazidime (52.5%), amikacin (50.8%), streptomycin (47.5%), tigecycline (44.1%),

cefepime (39%), carbenicillin (37.3%) and piperacillin (25.4%). The lowest level of resistance was determined as ticarcillin (23.7%).



2024, 86 pages

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, Antibiotic resistance, Biofilm formation

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK ve eş danışmanım Prof. Dr. Nawfal H. ALDUJAILI'ye sabırları, rehberlikleri ve anlayışları için teşekkür ederim.

Ghaith Kareem ABDULHASAN

Çankırı, Temmuz 2024



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	5
2.1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	5
2.2 Genel Özellikler	5
2.3 Taksonomi.....	6
2.4 Doğal Yaşam Alanları.....	6
2.5 Epidemiyoloji.....	7
2.5.1 Küresel epidemiyoloji.....	7
2.5.2 Ortadoğu epidemiyolojisi.....	7
2.5.3 Salgınların epidemiyolojisi.....	8
2.6 İletim Modları.....	8
2.6.1 Çevre kirliliği	8
2.6.2 Hava yoluyla bulaşma	8
2.6.3 Eşyalarla bulaşma.....	9
2.7 Risk Faktörleri	9
2.8 Enfeksiyonlar	11
2.8.1 Hastane kaynaklı <i>Acinetobacter</i> pnömonisi.....	12
2.8.2 Toplum kökenli pnömoni	12
2.8.3 Bakteriyemi	12
2.8.4 Travma ve yara enfeksiyonu.....	13
2.8.5 İdrar yolu enfeksiyonu (İYE)	13
2.8.6 Menenjit.....	13

2.8.7 Diğer hastalıklar	14
2.9 Virülans Faktörleri	14
2.9.1 Dış membran proteini A (OmpA)	14
2.9.2 Kapsül, lipoligosakkarit (LOS) ve lipopolisakkarit (LPS).....	15
2.9.3 Fosfolipaz.....	16
2.9.4 Salgı sistemi	17
2.9.5 Dış membran kesecikleri (OMV'ler).....	18
2.9.6 Besin alımı	19
2.9.7 Hareketlilik.....	20
2.10 Antimikrobiyal Direncin Mekanizmaları	20
2.10.1 Enzimatik mekanizmalar	20
2.10.2 Membranın geçirgenliğini azaltılması.....	22
2.10.3 Akış sistemi	22
2.11 Çoklu İlaça Dirençli <i>A. baumannii</i>	23
2.11.1 <i>Acinetobacter</i> spp.'nin direnç genetiği.....	23
2.11.2 Dönüşüm	23
2.11.3 Konjugasyon	24
2.11.4 İletim.....	24
2.11.5 Mobil genetik unsurlar	24
2.12 Biyofilm	25
2.13 Biyofilm Oluşumunda Rol Oynayan Faktörler.....	26
2.13.1 Fizyolojik faktörler	26
2.13.2 Tür ve besin bulunabilirliği.....	27
2.13.3 Büyüme yüzeyi.....	27
2.13.4 Demir konsantrasyonu	27
2.13.5 Gen ifadesi	28
2.13.6 Proteinler	28
2.13.7 Pili'nin şaperon-usher pilus montaj sistemi (Csu Pili).....	29
2.13.8 Hücre dışı polisakkaritler (EPS).....	29
2.13.9 Çekirdek algılama (QS)	30
3. MATERYAL VE METOT	31
3.1 Materyal	31

3.1.1 Aletler ve ekipmanlar	31
3.1.2 Bakteriyolojik protokolün kimyasal reaktifleri.....	32
3.1.3 Kimyasal reaktifler ve moleküler protokolün boyaları	32
3.1.4 Kültür ortamı	32
3.1.5 Astar setleri	33
3.1.6 DNA ekstraksiyon kitinin içeriği.....	33
3.1.7 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gereksinimleri.....	34
3.2 Yöntem	34
3.2.1 Çalışma tasarımı	34
3.2.2 Kültür ortamının hazırlanması	34
3.2.3 Çözelti ve reaktiflerin hazırlanması.....	35
3.2.4 Bakteri izolatlarının tanımlanması	36
3.2.5 Biyofilm oluşumunun değerlendirilmesi	37
3.2.6 Bakteriyel izolatların depolanması	38
3.2.7 DNA ekstraksiyon prosedürü	39
3.2.8 Ekstrakte edilen DNA'nın saflığının ve konsantrasyonunun değerlendirilmesi.....	41
3.2.9 Biyofilmle ilişkili genlerin tespiti.....	42
3.2.10 Agaroz jel elektroforezi	43
3.3 İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	44
4.1 Hastaların Demografik Özellikleri (Yaş ve Cinsiyet Dağılımı).....	44
4.2 Örnek Türlerinin Dağılımı	46
4.3 Bakteri İzolatlarının Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri.....	47
4.4 Biyofilm Oluşumu	49
4.5 Biyofilmle İlişkili Genlerin Yaygınlığı.....	51
4.6 Bakteriyel İzolatlar Arasında Antibiyotik Duyarlılığı Profili.....	53
4.7 Biyofilmle İlişkili Genler ile Biyofilm Oluşumu Arasındaki İlişki	55
4.8 Biyofilm Oluşumu ile Antibiyotik Direnç Modelleri Arasındaki İlişki.....	57
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	60
KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ.....	84

SİMGELER DİZİNİ

°C	Derece santigrat
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
%	Yüzde



KISALTMALAR DİZİNİ

AME's	Aminoglikozid değiştirici enzimler
APC	Antijen sunan hücre
MFS	Başlıca kolaylaştırıcı üst ailesi
QS	Çekirdek algılama
MATE	Çoklu ilaç ve toksin ekstrüzyonu
MDR	Çoklu ilaç direnci
DC	Dendrik hücresi
DNA	Deoksiriboz nükleotid asit
Omp	Dış zar proteini
OmpA	Dış zar proteini A
OmpW	Dış zar proteini W
OMV	Dış membran kesecikleri
NK	Doğal öldürücü
EPS	Hücre dışı polisakkaritler
GPI	Glikosilfosfatidil inositol
GTPaz	Guanosin trifosfat hidrolazlar
HAI	Hastane kaynaklı hastalık
IgG	İmmünoglobulin G
IgM	İmmünoglobulin M
IL	İnterlökin
İYE	İdrar yolu enfeksiyonu
XDR	Kapsamlı ilaç direnci
Kb	Kilobayt
KPC	<i>Klebsiella pneumonia</i> karbapenemleri
LOS	Lipoligosakkaritler
LPS	Lipopolisakkaritler
MAP	Mitojenle aktiveřtirilen protein
NET	Nötrofil hücre dışı tuzağı
NOD	Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon proteini
AYEs	Otomotiv gençlik eğitim sistemi
AHL	Otomatik indükleyici N-asil homoserin lakton
PAMP	Patojenle ilişkili membran modeli
PBP	Penisilin bağlayıcı protein
PDR	Pan-ilac direnci
PilD	Pilli D
ROS	Reaktif oksijen türleri
T2SS	Tip 2 sekresyon sistemi
TISS	Tip I sekresyon sistemi
Th1	T yardımcı 1

Th17	T yardımcı 17
Th2	T yardımcı 2
TLR	Toll benzeri reseptör
TNF	Tümör nekroz faktörü
UDP	Uridin-difosfat glikozu
CU	Uscher refakatçisi
ICUs	Yoğun bakım üniteleri



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Bakteriyel virülans faktörlerinin şeması (Morris <i>et al.</i> 2019)	19
Şekil 2.2 <i>A. baumannii</i> 'nin biyofilm oluşumu adımları (Dolma <i>et al.</i> 2022)	26
Şekil 3.1 DNA ekstraksiyon prosedürü	41
Şekil 4.1 Hastaların cinsiyet dağılımı	45
Şekil 4.2 Örnek türlerinin sıklığı	46
Şekil 4.3 <i>Acinetobacter baumannii</i> izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal özellikleri	48
Şekil 4.4 Mikrotitre plakasındaki biyofilm konsantrasyonu	49
Şekil 4.5 Jel elektroforezinde bap geninin PCR ürünü	51
Şekil 4.6 Jel elektroforezinde bla-PER-1 geninin PCR ürünü	52
Şekil 4.7 Jel elektroforezinde csuF geninin PCR ürünü	52
Şekil 4.8 Jel elektroforezinde ompA geninin PCR ürünü	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Çalışmada kullanılan aletler ve ekipmanlar	31
Çizelge 3.2	Bakteriyolojik çalışma protokolünün kimyasal reaktifleri	32
Çizelge 3.3	Moleküler çalışma protokolünün kimyasal reaktifleri ve boyaları	32
Çizelge 3.4	Çalışmada kullanılan kültür ortamları	33
Çizelge 3.5	Çalışmada kullanılan primer setleri	33
Çizelge 3.6	Genomik DNA ekstraksiyon kitinin içeriği	33
Çizelge 3.7	Çalışmada kullanılan standart PCR içerikleri	34
Çizelge 3.8	Biyofilm konsantrasyonunun optik yoğunluğu (OD) (Abdi-Ali <i>et al.</i> 2014)	38
Çizelge 3.9	PCR karışımının reaktiflerinin hacmi (Khalil <i>et al.</i> 2021)	42
Çizelge 3.10	PCR programı (Khalil <i>et al.</i> 2021)	42
Çizelge 4.1	Bakteri izolatları arasında biyofilm oluşturma kapasitesi	49
Çizelge 4.2	Gen frekansı	51
Çizelge 4.3	Bakteri izolatları arasındaki antibiyotik direnci profili	54
Çizelge 4.4	Bakteriyel izolatlar arasında gen prevalansı ile biyofilm oluşumu arasındaki ilişki	56
Çizelge 4.5	Biyofilm oluşumu ile antibiyotik direnç modelleri arasındaki ilişki	57

1. GİRİŞ

Acinetobacter baumannii, gram-negatif, hareketsiz ve fermantasyon yapmayan, bununla birlikte hastane kaynaklı hastalıklarla (HAI) en çok ilişkili olan bakteri cinsidir (Lin and Lan 2014). Bu bulaşıcı mikrop çeşitli deri, yumuşak doku, dolaşım ve idrar yolu hastalıklarıyla ilişkilidir. *A. baumannii*, Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği tarafından dünya çapında hastanelerde görülen en önemli altı çok ilaca dirençli (MDR) mikroorganizmadan biri olarak sınıflandırılmaktadır (Antunes *et al.* 2014). Deneysel kanıtlar *A. baumannii*'nin β -laktamlara, florokinolonlara, aminoglikozidlere ve kolistine dayanabildiğini göstermektedir. Efluks pompalarının, β -laktamazların, aminoglikozidleri modifiye eden enzimlerin ve hedeflerdeki değişikliklerin varlığı, direnç sürecine katkıda bulunan unsurlardan bazılarıdır (Chakravarty 2020).

Toprak, atık su, insan-hayvan derisi ve daha birçok ortam *Acinetobacter* türlerine ev sahipliği yapmaktadır (Maravić *et al.* 2016). Bireylerde, burun, kulaklar, boğaz, konjonktiva, vajina, el, kasık ve ayak parmakları dahil olmak üzere birçok yerde koloni halinde bulunabilirler (Al Atrouni *et al.* 2016). Hastanelerde ilaç dolapları, şırıngalar, tıbbi ekipman, kapı kolları, su lavaboları ve sebilller gibi çeşitli ortamlarda yaygın olarak bulunurlar (Dexter *et al.* 2015). *Acinetobacter*'in neden olduğu klinik enfeksiyonlar, işlevlerini yerine getirme kabiliyetlerini ciddi şekilde bozan altta yatan rahatsızlıklardan muzdarip hastalarda sıklıkla görülmektedir. Bu enfeksiyonlar sıklıkla ventilatörle ilişkili pnömoni ve kateterle ilişkili idrar yolu enfeksiyonları gibi tıbbi cihazlarla ilişkilendirilmektedir (Jiang *et al.* 2021). Ventilatörle ilişkili pnömoninin en yaygın nedeni *Acinetobacter baumannii*'dir ve hastanede yatarken kapılan tüm enfeksiyonların yaklaşık %15'ini oluşturur. Bu durum, yoğun bakım ünitelerinde %43'e ulaşırken ölüm oranı ise %26 olarak tespit edilmiştir (Demirdal *et al.* 2016).

Yoğun bakım üniteleri (YBÜ) *A. baumannii* enfeksiyonlarının en sık görüldüğü yerlerdir ve dünya genelinde yoğun bakım ünitelerinde meydana gelen tüm enfeksiyonların yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır (Kyriakidis *et al.* 2021). Çoklu ilaç direnci (ÇİD), *A. baumannii* nedeniyle ventilatörle ilişkili pnömoni için yoğun bakım ünitesinde ölüm

oranının %84,3 gibi yüksek bir oranda olduğu bildirilmiştir (Wisplinghoff *et al.* 2012). Yatay gen transferi yoluyla antibiyotik direnci bir türden diğerine aktarılabilir, bu da antibiyotik direncinin oluşmasına yol açan yoğun antibiyotik tüketiminin doğrudan bir sonucudur (Roy *et al.* 2022). Bulaşıcı hastalıkların yaygınlaşması nedeniyle yapılan tahminlere göre, 2050 yılına kadar 300 milyona yakın insan hayatını kaybedecektir (Chokshi *et al.* 2019). Son yıllarda antibiyotiklerin yaygın kullanımı, mikroplarda antibiyotik direnci çok eski olmasına rağmen, çeşitli insan hastalıklarında direnç gelişimini hızlandırmıştır (Larsen *et al.* 2022). Ayrıca, organizmanın kuruma ve şiddetli pH gibi zorlu ortamlarda hayatta kalma kapasitesi, özellikle hastanelerin yanık ve akut bakım ünitelerinde enfeksiyon yönetimini sorunlu hale getirmektedir. Ayrıca, *A. baumannii* toplum kaynaklı enfeksiyonlar (CAI) giderek artmaktadır. Sıcak ve nemli iklim bölgelerinde bu CAI prevalansı artmakta, ayrıca genellikle diyabet hastalarını, akciğer hastalığı olanları, yoğun sigara içenleri veya aşırı alkol tüketenleri etkilemektedir (Dexter *et al.* 2015).

Kolonize bir hastanın *A. baumannii*'nin bir servise bulaşmasının en olası modu olduğu düşünüldüğünde, çeşitli bulaşma modları gösterilmektedir. *A. baumannii*'nin bir servise yayılmasını takiben, patojen kolonize hastadan çevreye ve enfeksiyona karşı savunmasız olan diğer hastalara geçebilir. Kuru yüzeylerde ve ellerde uzun süre kalması, çevrenin kirlenmesi ve hastaların çeşitli bölgelerinde kolonize olması nedeniyle *Acinetobacter*'in çok sayıda kişiye bulaşma olasılığı daha yüksektir; bunların arasında neredeyse tüm antimikrobiyal ilaç türlerine karşı direnç üretme veya kazanma yeteneği de bulunmaktadır. Sağlık hizmetleri bağlamında, kolonize olmuş hastaların varlığı, birçok reçeteli ilaca dirençli *A. baumannii* türlerinin varlığını sürdürmesine katkıda bulunmaktadır (Maragakis and Perl 2008). Hastane hastalıklarını enfekte eden veya kolonize eden organizmaların endojen kaynaklardan ziyade çapraz bulaşma ve difüzyon yoluyla hastane ortamından kaynaklanması daha olasıdır (Kanafani and Kanj 2015).

A. baumannii bakterisinin diğer Gram-negatif bakterilere kıyasla daha düşük derecede patojenite ve virülans faktörlerine sahip olması dikkat çekicidir. Bu durum, *A. baumannii*'nin halk sağlığı üzerindeki önemli yükü düşünüldüğünde özellikle önemlidir. Virülans kodlayan genler çıkarıldığında veya bozulduğunda *A. baumannii* suşlarının

yapışma, kolonizasyon ve istila yeteneklerinin etkilendiği kanıtlanmıştır. Bunun da gösterdiği gibi, bu suşların in vivo patojenitesinin azaldığı görülmektedir (Harding *et al.* 2018). Fırsatçı patojeni oluşturan efluks pompaları, hemolitik faktörler, demir kazanım sistemleri, lipopolisakkaritler ve dış membran proteinleri gibi bileşenlerin her biri, konakta meydana gelen patogeneze katkıda bulunma potansiyeline sahiptir (Ali *et al.* 2017). *Acinetobacter baumannii*'nin son yıllarda birçok antibiyotiğe karşı dirençli hale gelmesindeki şaşırtıcı hız, halk sağlığı için ciddi bir risk oluşturmaktadır. *Acinetobacter*, biyofilm oluşturma kabiliyeti sayesinde sağlık hizmeti ortamlarında gelişebilmekte ve yayılabilmektedir. Bu biyofilmler vasküler kateterler, beyin omurilik sıvısı şantları ve Foley kateterleri de dahil olmak üzere çok çeşitli yüzeylere tutunabilir (Smani *et al.* 2012).

Patojenite açısından *Acinetobacter*'in oldukça zararsız olduğu düşünülmektedir. Dış membran proteinleri (OMP'ler), hücre yüzeylerinin hidrofobikliği, toksik slime polisakkaritler ve verotoksinlerin hepsi potansiyel virülans faktörleridir. *Acinetobacter* spp. hücre yüzeylerinin hidrofobikliğinin bakteriyel yapışmada önemli bir faktör ve fagositoza karşı potansiyel bir savunma mekanizması olduğu gösterilmiştir (Kanafani and Kanj 2015). Çeşitli *Acinetobacter* suşlarında birden fazla OmpA ailesi üyesi tanımlanmıştır. Patogenez, konak hücre adaptasyonu ve antibiyotik direnci, belirli Gram-negatif bakterilerde bulunan OMP'ler tarafından önemli ölçüde etkilenmektedir (Doughari *et al.* 2011). *Acinetobacter baumannii*'nin lipopolisakkaritleri, beyaz kan hücrelerinin enflamasyonu teşvik eden kimyasallar salgılamasını sağlamada çok etkilidir. Nötrofil göçünü ve fagositozu önlemenin yanı sıra, nötrofiller için toksiktirler. *Acinetobacter baumannii* tarafından üretilen birçok patojenik ajandan bazıları hücre dışı enzimler, sitotoksinler ve salgılanan vasküler geçirgenliği içerir; bu faktörler özellikle solunum yolu enfeksiyonu vakalarında konak doku hasarını şiddetlendirir. Bakteriler ayrıca esterazlar, asit fosfataz ve bazı amino-peptidazlar gibi virülansı destekleyen başka enzimler de salgılar. Verotoksinlerin antijenik gruplamaları vtx-1 ve vtx-2'dir. *A. haemolyticus*'un toksini nasıl ürettiği hakkında fazla bir şey bilinmemektedir. RNA N-glikozidazlar, toksinlerin ait olduğu proteinlerin bir alt ailesidir. Hücrelerdeki ribozom mekanizmasını doğrudan hedef alarak protein sentezini sınırlandırır (Kanafani and Kanj 2015).

Bir matris içinde yer alan bakteri toplulukları biyofilm olarak bilinir. Bu biyofilmler içindeki mikroplar, güvenli bir sığınak sağlamak ve çeşitli ilaçlara karşı dirençlerini artırmak için bir konsorsiyum olarak birlikte çalışırlar. Agregasyon materyali, kolajen yapışması, pili ekspresyonu ve demir kazanımı, biyofilm oluşumunun karmaşık sürecine giren birçok bileşenden sadece birkaçıdır (Longo *et al.* 2014). Hücreler arası yapışma, bakteri hücresi birikimi ve biyofilm oluşumuna önemli ölçüde katkıda bulunan çeşitli bileşenlerden biri, *bap* geni tarafından kodlanan biyofilmle ilişkili proteindir (Aliramezani *et al.* 2016). Tıp dergilerinde yayınlanan çalışmalar, *blaPER-1* genini ve ekspresyonunu *Acinetobacter baumannii* klinik izolatlarının solunum epitel hücrelerine bağlanmasına ve biyofilm oluşturmaya neden olan değişkenler olarak tanımlamıştır (Brossard and Campagnari 2012).

Sonuçlar, *Acinetobacter baumannii*'nin *ompA*'sının plastik yüzeylerde sağlam biyofilm oluşumuna katkıda bulunduğunu göstererek önceki araştırmaları genişletmektedir (Loehfelm *et al.* 2008). *Acinetobacter baumannii*'nin pili, biyofilm oluşumu ve yapışma aracı olarak hareket etmede hayati bir işlev sağlar. *A. baumannii*, *csu* operonu adı verilen kümelenmiş gen seti tarafından kodlanan proteinler nedeniyle pilus benzeri bir yapıya sahiptir. Dolayısıyla, *csuE* geni de *A. baumannii* biyofilm oluşumu için aynı şekilde çok önemlidir (Cincarova *et al.* 2016). Bazıları, klinik izolatların çeşitli tedavilere direnç göstermelerine rağmen zorlu ortamlarda hayatta kalabildiklerini, çünkü bakteri ve mantarların oluşturduğu biyofilmlerin ilaçların bu hücrelere nüfuz etmesini sınırladığını düşünmektedir (Reichhardt *et al.* 2016).

Bu bilgiler doğrultusunda, *Acinetobacter baumannii* izolasyonu için çok sayıda klinik sahadan örnek toplanması, *Acinetobacter baumannii* izolatlarının biyokimyasal testlerin yanı sıra kültürlerle tanımlanması ve teşhisi, *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik direnç profilinin belirlenmesi, *Acinetobacter baumannii*'nin biyofilm üretme kapasitesinin belirlenmesi, *Acinetobacter baumannii* izolatları arasında biyofilm-realted genlerin (*bap*, *blaPER-1*, *OmpA* ve *csuE*) saptanma sıklığının tespiti, Antibiyotik direnci ve biyofilm arasındaki ilişkinin ve biyofilm oluşturan izolatlar arasındaki gen dağılımının araştırılması amaçlanmaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii'nin yaklaşık 44°C'lik yüksek ortam sıcaklığı gibi zorlu çevresel koşullarda hayatta kalma kapasitesi, yakın zamanda önde gelen fırsatçı insan patojenlerinden biri olarak teşhis edilmesine ve hastane enfeksiyonuna neden olan bir mikroorganizma olarak önem kazanmasına yol açmıştır (Fleming *et al.* 2017). Ayrıca uzmanlar, aerobik, hareketli olmayan, Gram-negatif ve pleomorfik bir basil olan *Acinetobacter baumannii*'nin, hangi sebeplerle bu kadar hızlı evrimleştiğini ve hangi nedenlerden ötürü antibiyotiklerin çoğuna direnç gösterebildiklerini belirlemek amacıyla bu bakterileri her açıdan incelemektedirler. *A. baumannii* enfeksiyonları, bağışıklık sistemi zayıf olanlarda veya hastanede uzun süre kalanlarda (90 günden fazla) daha yaygındır (Howard *et al.* 2012). Ayrıca, enfekte bireylerin solunum yollarında, orofarinkslerinde ve ciltlerinde kolonize olabilir (Almasaudi 2018). Birçok anti-enfeksiyon ilacına direnç gösterebilmesi, yakın zamanda insan patojenleri için "kırmızı alarm" olarak sınıflandırılmasına yol açmış ve doktorları yüksek alarm durumuna geçirmiştir (Liu *et al.* 2020). Dünya çapında, mevcut tüm antibiyotiklere dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarının endişe verici artışı ışığında hızlı bir tepki gerekmektedir (Landecker 2016). 2004'te Irak'taki çatışma bölgesinden dönen bazı Amerikalı askerlerin ayaklarında enfeksiyona bağlı yaralar tespit edilmiştir. Askerlerin *A. baumannii* ile enfekte olmasının bu iltihaplı yaraların sebebi olduğu anlaşıldığından Irak bakterisi adı verilen bu bakteri yaralı askerlerden sivil hastanelere yayılmıştır (Lee *et al.* 2017).

2.2 Genel Özellikler

Standart sıvı ve katı besiyerleri, *Acinetobacter* spp'nin hızlı ekimi için idealdir. Kanlı agarlardaki koloniler 24 saatlik inkübasyondan sonra düzleşmiş, 1-3 mm çapında beyaz koloniler olarak görünür. Pürüzsüz, sütü veya mukuslu olabilirler (Jung and Park 2015). Alternatif olarak, MacConkey kolonileri, lavanta rengi ve laktoz içermeyen fermentasyon ile karakterize edilir. *Acinetobacter baumannii* 44°C sıcaklığa uygundur, ancak

Acinetobacter türlerinin çoğu için mükemmel büyüme sıcaklığı 37°C'dir (Asif *et al.* 2018). Karbon ve su ihtiyaçları için çoğu *Acinetobacter* türü galaktoz, glukoz, mannoz, ksiloz ve ramnoz kullanabilir. Simon'un sitrat testini geçebilmelerine rağmen, sükroz ve mannitolü aside dönüştüremezler. Ayrıca, bu organizmalar negatif Voges Proskauer, esculin-hidrolizi, indol, nitrat ve H₂S salınımına sebep olurlar (Dahdouh 2016).

2.3 Taksonomi

Bu mikrop grubunun genetik yapısı hakkındaki bilgilerimiz yıllar içinde arttıkça, türlerin isimlerinde önemli taksonomik değişiklikler olmuştur. Bu bakteriler yakın zamanda gama bakterileri olarak yeniden sınıflandırılmıştır; bu sınıflandırma bakteriyel taksonomistler arasında yaygın bir destek bulmuş gibi görünmektedir. Proteobakterilerin *Pseudomonadales* ve *Moraxellaceae* takımlarının üyeleridir. Klinik olarak önemli türler arasında *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter haemolyticus* ve *Acinetobacter calcoaceticus* bulunmaktadır (Jung and Park 2015).

2.4 Doğal Yaşam Alanları

Acinetobacter olarak bilinen çeşitli organizmalar sınıfı genellikle serbestçe yaşayan ve çevreye geniş ölçüde dağılmış olan saprofitlerdir. Toprak, su, kanalizasyon, insanlar, yiyecekler ve hayvanlar da dahil olmak üzere pek çok habitat sıklıkla cinsteki türlerle bağlantılıdır (Jung and Park 2015). Pnömoni, sepsis, yara enfeksiyonları ve diğer birçok lokal ve sistemik hastalığa *Acinetobacter* spp. neden olur. Bunların genellikle insanın solunum salgılarında, derisinde ve mukozalarında bulunan sıradan floranın bir bileşeni olduğuna inanılır (Beggs *et al.* 2006). Bu mikroorganizmalar öncelikle hastanede yatan bireylerin derisinde, orofarinksinde ve sindirim sisteminde yaşar (Jung and Park 2015). Kuşlar, balıklar ve gökkuşağı alabalığı gibi hayvanlarda sıklıkla *Acinetobacter* türleri bulunur. Ayrıca *A. baumannii* türlerinin yiyeceklerdeki mevcudiyeti yapılan çalışmalarla keşfedilmiştir. Çiğ meyveler, sebzeler, süt ve süt ürünleri, bunu içerdiği tespit edilen gıdalardan sadece birkaçıdır. Çünkü *Acinetobacter* spp. Kuru ortamlarda uzun süre hayatta kalabilir. Ventilatorler için tüpler, arteriyel basıncı ölçen cihazlar, nemlendiriciler, lavabolar, plastik pisuarlar ve solunum ölçerler dahil yeniden

kullanılabilir tıbbi ekipmanlar, *Acinetobacter baumannii*'nin izolasyonu için yaygın bir kaynaktır. Ayrıca çeşitli ıslak ortamlardan, vantilatör ekipmanlarından, yataklardan, yastıklardan ve sağlık çalışanlarının derisinden elde edilmiştir (Kanafani and Kanj 2015).

2.5 Epidemiyoloji

2.5.1 Küresel epidemiyoloji

Acinetobacter baumannii sağlık tesislerinin yanı sıra su, toprak ve diğer doğal yaşam alanlarında da her yerde bulunur. Asya, Kuzey ve Güney Amerika ve Avrupa da dahil olmak üzere küresel olarak yürütülen birçok epidemiyolojik çalışma, genellikle sağlık tesislerinde edinilen enfeksiyonlarla ilişkili olan ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının sıklığını kanıtlamıştır (Kanafani and Kanj 2015). Tropikal bölgelerde, özellikle sıcak ve nemli aylarda, toplum kökenli pnömoni vakaları belgelenmiştir (Doughari *et al.* 2011). Çeşitli ilaçlara dirençli *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonları yaygındır ve sıklıkla sağlık kurumlarında edinilen enfeksiyonlarla ilişkilidir. Asya, Kuzey ve Güney Amerika ve Avrupa da dahil olmak üzere dünya çapında gerçekleştirilen çok sayıda epidemiyolojik araştırma bunu kanıtlamıştır (Peleg *et al.* 2008).

2.5.2 Ortadoğu epidemiyolojisi

BAE, Bahreyn, Suudi Arabistan, Filistin ve Lübnan da dahil olmak üzere birçok Arap ülkesindeki hastanelerde çeşitli ilaçlara dirençli *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarına rastlanmıştır (Mugnier *et al.* 2009). Çeşitli ilaçlara dirençli bakterilerin yol açtığı hastalıkların görülme sıklığı, Suudi Arabistan'daki Riyad Askeri Hastanesi'nde yoğun bakımda yatan hastalardan alınan örnekler üzerinde yapılan bir çalışmayla araştırılmıştır. *Acinetobacter baumannii*'nin tüm mikropların %40,9'unu oluşturduğu belirlenmiştir (Saeed *et al.* 2010). Suudi Arabistan'ın Riyad kentindeki üçüncü basamak bir hastanede yetişkinlere yönelik olarak gerçekleştirilen bir başka retrospektif analizde, *Acinetobacter baumannii* en sık izole edilen bakteri olmuştur (Kamolvit *et al.* 2015).

2.5.3 Salgınların epidemiyolojisi

Antimikrobiyal tedavilere dirençli olması ve kuru ortamlarda hayatta kalabilmesi nedeniyle *A. baumannii* salgınlara önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Çoğu kurumsal salgında *Acinetobacter baumannii* izolatlarının büyük kısmı genellikle tek bir klona aittir; bununla birlikte, bazı dirençli klonlar salgınlara büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır; Avrupa'dan üç klon ayrı bölgelere yayılmıştır (Zowawi *et al.* 2015).

2.6 İletim Modları

2.6.1 Çevre kirliliği

Bir hastanın yakın çevresi, kuş tüyü yastıklar, çarşaf, perdeler, karyolalar, komodinler, yatakların arkasındaki gaz muslukları, Kapı kolları, nazogastrik besleme veya ventilatör, lavabolar, bilgisayar klavyeleri ve hatta temizlik ekipmanları dahil olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar tarafından kolonizasyon için birincil hedeflerdir (Karageorgopoulos and Falagas 2008). Hastane kaynaklı *Acinetobacter* enfeksiyonları arasında en yaygın olanları mekanik ventilasyon ekipmanı, emme ve damar içi erişim için gerekli ekipmanlardır. Bununla birlikte, yastıklar ve şilteler de yaygın bir kontaminasyon kaynağıdır (Jung and Park 2015). Ayrıca, Hollanda'da yapılan bir çalışmada kuş tüyü yastıklarda *A. baumannii* ve genomik tür 13 bulunduğu ve bunun da bir pandemiye yol açtığı tespit edilmiştir (Kanafani and Kanj 2015). Ayrıca, bir yanık ünitesinde *A. calcoaceticus* salgını yaşanmış ve enfeksiyonun kaynağının nemli şilteler olduğu keşfedilmiştir (Ebringer and Ebringer 2015).

2.6.2 Hava yoluyla bulaşma

Acinetobacter spp. gibi önemli gram-negatif bakteriyel hastalıkların hava yoluyla yayılabildiğini gösteren araştırmaların giderek artmasına rağmen, bu bulaşma yolunun sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyon epidemiyolojisindeki önemi hakkında çok az şey bilinmektedir.

Araştırmacılar, hastaların yastıklarından *Acinetobacter* spp. türlerinin havaya yayılımını incelemek için çökeltme plakaları kullandıklarında, sentetik yastıkların bu mikrobun havaya yayılımından yoksun olmasına rağmen, kuş tüyü yastıkların buna sahip olduğunu bulmuşlardır (Weernink *et al.* 1995). *Acinetobacter* spp. türlerinin hava yoluyla yayılabileceğine dair ek kanıtlar Hong Kong'da yapılan bir araştırmayla sağlanmıştır (Houang *et al.* 2001). Ayrıca, bir yoğun bakım ünitesinde yürütülen farklı bir çalışmada, *Acinetobacter calcoaceticus* ve *Acinetobacter anitratus*'un havadaki suşlarını toplamak için çökeltme plakaları ve yarık örnekleyici kombinasyonu kullanılmıştır (Townsend *et al.* 2015).

2.6.3 Eşyalarla bulaşma

A. baumannii salgını suşları sağlık çalışanlarının ellerinde kolonize olarak hasta bulaşmasını daha olası hale getirebilir (Karageorgopoulos and Falagas 2008). Sağlık çalışanlarının ellerinde *A. baumannii* kolonizasyonu riski, hasarlı cilde sahip olmaları durumunda daha yüksektir. Sağlık çalışanları arasında el taşıyıcılığının yaygınlığı üzerine yapılan araştırmalar, bunun %3 ile %23 arasında değiştiğini ve cilt yaralanmaları haricinde tipik olarak geçici olduğunu göstermektedir (Townsend *et al.* 2015).

2.7 Risk Faktörleri

Tıpta en önemli *Acinetobacter* türünün genellikle *A. baumannii* olduğu kabul edilir. *Acinetobacter*'in klinik sonucu olarak morbidite veya ölümdaki artış ve ilişkili hastalıklar, kritik hastalardaki ölümlerdeki artıştan sorumludur. Hastanın çok hasta olduğu veya bağışıklık sisteminin hasarlı olduğu durumlar haricinde, düşük virülanslı bir bakteri olarak kabul edilir (Doughari *et al.* 2011). Toplumdan edinilen enfeksiyonlarla karşılaştırıldığında bu organizmalar daha sıklıkla hastanelerde edinilen enfeksiyonlarla ilişkilidir (İslahi *et al.* 2014). Yakın zamanda büyük bir cerrahi prosedür geçirmiş olanlar, kanser veya yanık hastaları, prematüre bebekler, yaşlılar veya uzun süredir hasta olanlar gibi bağışıklık sistemi zayıf olan hastalar, *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonu açısından yüksek risk altındadır. Uzun bir süre mekanik solunuma ihtiyaç duyan hastaların ilaçlara, uzun süreli hastanede kalışa veya yoğun bakım ünitesinde kalışlara

veya hastane ortamındaki kontamine veya kolonize hastalarla daha fazla etkileşime dirençli bakteri türlerine yakalanma olasılıkları daha yüksektir (Kanafani and Kanj 2015).

Konağın *A. baumannii* enfeksiyonundan korunması çoğunlukla nötrofil aktivasyonu yoluyla gerçekleştirilir ve bu özellikle solunum yolu enfeksiyonları vakalarında önemlidir. Enfeksiyondan dört saat sonra enfeksiyon bölgesinde nötrofil toplanması başlar ve enfeksiyondan 24 saat sonra nötrofil infiltrasyonunda bir artış olur. Artan enfeksiyon şiddeti ve mortalite, düşük nötrofil sayısına sahip konakçılarda nötrofil alımı ve aktivasyon faktörlerinin sentezindeki bir gecikmeyle bağlantılıdır (García-Patiño *et al.* 2017). Savunma mekanizmalarının bir parçası olarak nötrofiller, TLR aracılı fagositoz ve kompleman aracılı reseptör bağlanmasıyla tetiklenen nötrofil hücre dışı tuzakları (NET'ler) üretir (Nordenfelt and Tapper 2011). Fagositozun ardından lizozomlar, reaktif oksijen türleri (ROS) ve granüler füzyon, çeşitli antibiyotik bileşikleri, insan defensinleri ve diğer maddeleri serbest bırakarak bakterilerin öldürülmesinden sorumludur (Harding *et al.* 2018). Bakteriyel enfeksiyonun önlenmesiyle bağlantılı olan NET, kromatinler, mieloperoksidaz, IL-37, nötrofil elastaz ve antimikrobiyal proteinler ve peptitlerden oluşur (Kamoshida *et al.* 2016).

Makrofajlar yalnızca nötrofillerin hastalığın bulunduğu bölgeye getirilmesine yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda bakteriyel enfeksiyonlara karşı da bariyer görevi görür. *Acinetobacter baumannii*'nin neden olduğu akciğer enfeksiyonunu önlemek için alveolar makrofajlar, makrofaj inflamatuvar protein-2 dahil olmak üzere bir dizi sitokini aktive eder (Qiu *et al.* 2012). *A. baumannii* enfeksiyonunu önlemedeki işlevleri henüz bilinmemektedir, ancak doğal öldürücü (NK) hücrelerinin, bakteriyel temizleme sürecinin bir parçası olarak nötrofil kemoatraktan ve keratinosit salgıları ürettiği bilinmektedir (Waggoner *et al.* 2016). Benzer şekilde, antijen sunan hücreler olarak görev yapan dendritik hücreler (DC'ler), doğuştan gelen ve edinilmiş bağışıklık sistemlerini (APC) birbirine bağlar. *A. baumannii*'nin OMP ' OmpA'sı, DC'leri MAP kinaz ve NF-kB sinyalini arttırmaya teşvik eder, bu da erken apoptozu ve CD4+ Th1 T hücrelerini indükler (Lee *et al.* 2007). *A. baumannii* istila ettiğinde mast hücreleri, nötrofillerin bölgeye göçünü artıran TNF-a ve IL-8'i serbest bırakır (Kikuchi-Ueda *et al.* 2017).

Benzer şekilde TLR sinyali, konağın *A. baumannii*'ye yanıt olarak patojenleri tanıma yeteneği açısından çok önemlidir (Noto *et al.* 2015). GPI bağlantılı glikoproteinlerin varlığında TLR2 ve TLR4 aktivasyonu, proinflamatuvar sitokinleri serbest bırakan NF- κ B sinyalini artırır (Moffatt *et al.* 2013). NOD1 ve 2 gibi NOD benzeri reseptörlerin MAP kinaz aktivasyonundaki işlevi belirsizdir, ancak bunlar PAMP tanımlamasında ve NF- κ B sinyallemede rol oynarlar (Bist *et al.* 2014).

Benzer şekilde, çeşitli çözünabilir bileşenler, kompleman aracılı ölümden yer alır; bu, bakteriyel hücre lizisini ve ayrıca opsonofagositik gibi diğer kademeli benzeri süreçleri teşvik eder. Bakteriyel hücre yüzeyinde kompleman faktör birikiminin düzenlenmesi bu işlemlerle gerçekleştirilir; ancak alternatif kompleman yolları da insan serumunda *A. baumannii*'nin öldürülmesinde rol oynar (Bruhn *et al.* 2015). Çözünabilir bileşen faktörü H, konakçı hücre sinyallerinin tanımlanmasından sorumludur; farklı tamamlayıcı faktörlerin bakteri hücre yüzeyinde birikmesi bu işlemler tarafından düzenlenir (Ferreira *et al.* 2010).

Çeşitli bakteriyel bileşenlerin oynadığı rolü açıklığa kavuşturan bir dizi araştırmaya rağmen, Th1, Th2 veya Th17'nin adaptif bağışıklık tepkisini tetiklemedeki işlevi belirsizliğini korumaktadır (Pulido *et al.* 2018, Song *et al.* 2018). Bazı çalışmalarda indüklenen antikor IgM, IgG ve sitokin benzeri IL-4, IL-17 seviyelerinin bakteriyel klirensi arttırdığı ve konağın hayatta kalma oranını arttırdığı gözlemlenmiştir (García-Quintanilla *et al.* 2014). *A. baumannii*'nin belirli klinik izolatları tarafından korunan bir hücre içi niş oluşturulabilir ve bu da uzun vadeli büyümeye olanak tanır. *A. baumannii*, bu hücre içi bölme tarafından konakçının bağışıklık tepkilerinden ve tipik bozunma yollarından korunur. Aynı zamanda antibiyotik erişilebilirliğini de engeller. Duyarlı hastalarda bu, *A. baumannii*'nin kalıcılığını ve ölümünü daha da artırır (Rubio *et al.* 2022).

2.8 Enfeksiyonlar

A. baumannii enfeksiyonlarının büyük bir kısmı yüksek sıvı içeriğine sahip organ sistemlerini hedef alır. Bu sistemler idrar ve solunum yollarını, peritonu ve kalıcı cihazlarla ilişkili sistemleri içerir. Bir enfeksiyon ile *A. baumannii* kolonizasyonu

arasında ayırım yapmak zor olabilir. *A. baumannii* hastanede yatan hastalarda %30 civarında bir ölüm oranıyla ilişkilendirildiğinden iyileşmesi ciddi bir hastalığın işareti olarak görülmektedir (Jung and Park 2015).

2.8.1 Hastane kaynaklı *Acinetobacter* pnömonisi

Üst hava yolu kolonizasyonu ile hastanede yatan hastaların solunum yollarının *A. baumannii* enfeksiyonlarının, gerçek pnömoninin birincil kaynağı olması arasında ayırım yapmak zordur. Bu mikroorganizmanın prevalansı bölgeden bölgeye değişmektedir. Tüm Gram-negatif bakteriler bir araya getirildiğinde; etiyolojik ajanlar arasında ikinci en yaygın olanıdır. YBÜ'lerde nozokomiyal pnömoni %3-5 oranında görülür. %30-75 arasında değişen kaba ölüm oranları belgelenmiştir (Doughari *et al.* 2011).

2.8.2 Toplum kökenli pnömoni

Acinetobacter sıklıkla trakeostomi bölgelerini kolonize eder ve hem yetişkinlerde hem de genç, sağlıklı kişilerde bağışıklık sistemi zayıf kişilerde trakeobronşit ve toplum kökenli bronşiolite neden olur, ancak sepsis ve toplum kökenli pnömoniye neden olması nadirdir. Bununla birlikte, Avustralya ve Asya'nın tropikal bölgelerindeki yağmur mevsimi sırasında, daha önce aşırı alkol kullanan veya kronik obstrüktif akciğer hastalığı olanlarda *A. baumannii*'nin neden olduğu toplum kökenli pnömoniye yakalandığı gösterilmiştir (Whitman *et al.* 2008).

2.8.3 Bakteriyemi

A. baumannii'nin neden olduğu bakteriyeminin en yaygın nedenleri solunum yolu ve intravasküler kateterlerdir. İdrar yolu enfeksiyonları, yanıklar ve cerrahi yaralar daha az yaygındır ve endokardite neden olma olasılığı daha düşüktür. Vakaların kabaca %21-70'inde bakteriyeminin nedeni bilinmemektedir (Cisneros and Rodríguez-Baño 2002). Amerika'da yapılan bir araştırmaya göre *A. baumannii*, nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarının %1,3'ünün etken maddesidir (10,000 başvuruda 0,6 kan dolaşımı

enfeksiyonu). Ayrıca yoğun bakım ünitesinde *A. baumannii*, yoğun bakım dışı servislerdeki enfeksiyonlardan daha fazla kan dolaşımı enfeksiyonuna neden olur. *Acinetobacter baumannii*'nin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonlarının neden olduğu ölüm yüzdesi, yoğun bakım ünitesinde %34 ile 43,4 arasında değişmektedir (Garnacho-Montero and Amaya-Villar 2015).

2.8.4 Travma ve yara enfeksiyonu

A. baumannii deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olabilir; Yoğun bakım ünitelerinde meydana gelen cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarının %2,1 oranında bu bakteriden kaynaklandığı görülmüştür. Ayrıca, hem Irak hem de Afganistan'da savaş sırasında açık kaval kemiği kırığı geçiren askerlerde en sık izole edilen *Acinetobacter baumannii* olmuştur (vakaların yüzde 32,5'i) (Falagas *et al.* 2015).

2.8.5 İdrar yolu enfeksiyonu (İYE)

A. baumannii, idrar yolu enfeksiyonunun nadir görülen bir nedenidir. Yoğun bakım ünitesinde edinilen İYE'lerin sadece %1,6'sı bununla ilgilidir. Bu bakteri tipik olarak kolonizasyon veya kateterlerden kaynaklanan enfeksiyonlarla bağlantılıdır. *A. baumannii* nadiren ayakta tedavi gören hastalarda karmaşık bir idrar yolu enfeksiyonuna neden olabilir (Falagas *et al.* 2015).

2.8.6 Menenjit

Birçok ilaca dirençli bir organizma olan *Acinetobacter baumannii*'nin neden olduğu nozokomiyal beyin cerrahisi sonrası menenjitin prevalansı artar. Yetişkinlerdeki akut bakteriyel menenjit vakalarının çoğunda Gram negatif basillerin %10'u ve tüm nozokomiyal menenjitlerin %4'ü *Acinetobacter*'den kaynaklanmıştır. Etiyolojisi çoğu zaman belirsiz olsa da mortalite %70'e kadar çıkabilmektedir (Basri *et al.* 2015).

2.8.7 Diğer hastalıklar

Acinetobacter baumannii'nin neden olduğu endokardit nadir görülen bir hastalıktır. Bu vakaların çoğunda protez kapak kullanımı yaygındır. Göz ameliyatı geçirdikten veya kontakt lens kullandıktan sonra, *A. baumannii*'nin potansiyel komplikasyonları arasında endokardit, peritonit, oftalmit ve keratit yer alır (Peleg *et al.* 2008).

2.9 Virülans Faktörleri

2.9.1 Dış membran proteini A (OmpA)

Dış zar proteini A, *A. baumannii*'de en bol bulunan dış zar proteindir ve en iyi araştırılmış virülans faktörlerinden biridir (OmpA veya Omp38). 103 klinik izolattan 83'ü en az %99 dizi özdeşliğine sahipken, dizi özdeşliği en az olanın benzerlik oranı %80'dir. Dolayısıyla OmpA yüksek oranda korunmuş bir gen olarak kabul edilir (Ansari *et al.* 2018). OmpA sıklıkla aşı üretiminde arzu edilen bir hedef olarak gösterilir. 500 Da'ya kadar olan moleküller OmpA tarafından barındırılabilir. Bu, C-terminali periplazmik küresel uzantısıyla birlikte, dış zarda 2 nm gözenek genişliğine sahip sekiz sarmallı bir β varil üretir (Iyer *et al.* 2018). *A. baumannii* OmpA, diğer ana porinlerden çok daha düşük geçirgenliğe sahiptir ve bu muhtemelen *A. baumannii*'nin dış zar geçirgenliğini genel olarak azaltır (Sugawara and Nikaido 2012). Şimdiye kadar, C-terminal periplazmik alanı ile kristalleşen peptidoglikan arasındaki doğrudan teması gösteren tek yöntem, Asp271 ve Arg286'nın diaminopimelata bağlanmasıdır (Park *et al.* 2012). Bu etkileşim, OMP'lerin dış membran keseciklerine (OMV'ler) paketlenmesini etkileyebilir. Bunun yalnızca bir ompA mutantındaki azalmış membran homeostazisinin sonucu olması mümkündür, ancak bu kanıtlanmamıştır (Moon *et al.* 2012).

OmpA öncelikle hem normal gelişim hem de *in vivo* enfeksiyon boyunca OMV'lerde bulunur (Moon *et al.* 2012). OmpA ökaryotik hücrelerle etkileşime girdiğinde yüzeydeki ölüm reseptörlerine yapışır ve kendisini bağlar, bu da sitotoksositeye neden olur (Ahmad *et al.* 2016). OmpA içselleştirmeden sonra çekirdeğe veya mitokondriye yer değiştirir.

Apoptoz indükleyici faktör olan sitokrom C'nin salınması ve Bcl-2 ailesi proteinlerinin aktivasyonu yoluyla OmpA, mitokondride proapoptotik sinyallere neden olur. Üstelik OmpA'nın nükleer lokalizasyon sinyali kendi kendine kodlanmıştır; diğer *A. baumannii* OMP'leri bu sinyalden yoksundur, bu da OmpA'nın çekirdeğe yer değiştirdiğinde konakçı DNA'ya zarar vermesine izin verir (Rumbo *et al.* 2014). OmpA, sitotoksik özelliklerinin yanı sıra, akciğer epitelyal kolonizasyonunu kolaylaştırmak amacıyla, faktör H bağlanması ve fibronektin gibi hücre dışı matris proteinlerine yapışma yoluyla alternatif kompleman aracılı ölüme karşı direnç dahil olmak üzere ek virülans özelliklerini de düzenler (Smani *et al.* 2012). OmpA'ya benzer şekilde, *A. baumannii*'de büyük ölçüde korunan Omp34, otofajiyi inhibe ederek ve otofagosomdaki bakterilerin ömrünü uzatan kaspaz bağımlı süreçleri indükleyerek ökaryotik hücrelerde ölüme neden olur (Jahangiri *et al.* 2018). Omp34'ün spesifik olarak OMV'lerde zenginleştirilmiş olduğu ve ayrıca fibronektine bağlandığı da gösterilmiştir (Smani *et al.* 2012). Fare modellerinde sistemik patojenite için son derece immünojenik ve gerekli olduğu, enfekte bireylerin serumlarında güçlü antikor tepkileri ortaya çıkardığı belirlenmiştir (Jahangiri *et al.* 2018). OmpW oldukça immünojeniktir ve OMV'lerde bulunur; yine de demir kazanımı ve antibiyotik direncinin fonksiyonel önemiyle bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Catel-Ferreira *et al.* 2016).

2.9.2 Kapsül, lipoligosakkarit (LOS) ve lipopolisakkarit (LPS)

Sitoplazma bunların her birini üretir ve belirli proteinli makineler bunları hücre zarfının dış yaprağına taşır. Buna karşılık, O-antijen yerine genişletilmiş çekirdek oligosakkaritler (LOS) mevcuttur (Powers and Trent 2018). Bir zamanlar tüm Gram-negatif bakterilerin LPS ve LOS'un immünostimülatör bileşeni olan Lipid A'ya ihtiyaç duyduğuna inanılmaktadır. İlk olarak in vitro kolistin tedavisine bir tepki olarak tespit edilen lipid A, *A. baumannii*'yi eksiltmiştir (Moffatt *et al.* 2010). Lipid A'nın TLR 4'ün birincil uyarımı olarak hizmet ettiği göz önüne alındığında, lipid A'dan yoksun suşların TLR4 sinyalini azaltırken TLR2 aktivasyonunu artırması beklenir (Moffatt *et al.* 2013). Dış membranda bulunan lipoproteinlere maruziyetin artmasıyla sebebiyle *A. baumannii*'de lipid değişikliği daha yaygınken, lipopolisakkaritlerin (LPS) eksikliği antibiyotik direncini destekleyen kısım ile aynı değildir (Lopalco *et al.* 2017).

Hücre dışı yüzeyde kapsül, serum ve katyonik antimikrobiyal peptidlere karşı dirence aracılık ederek in vivo hayatta kalmayı artıran bir bariyer oluşturur. *A. baumannii*'de kapsül lokusları önemli ölçüde değişkenlik gösterir ve değişebilir merkez kümesi korunmuş 5' ve 3' genleri tarafından kapatılır (Geisinger and Isberg 2015). Birleştirme ve dışa aktarma makine kompleksi, iç ve dış membranları kapsayan 5' geninde kodlanır ve kapsüller polisakkariti periplazmadan hücre yüzeyine taşır (Sof'ya *et al.* 2015). UDP-bağlı şeker sentazları ve epimerazları kodlayan 3' genleri, galaktoz ve UDP-D-glukoza ve glukuronik asidi sırasıyla dönüştürerek asetil-D-galaktozaminuronik asit veya UDP-N asetil-D-glukozaminuronik asit yapar (Hu *et al.* 2013). Galaktozu UDP-D-glukoza ve glukuronik aside dönüştürerek asetil-D-galaktozaminuronik asit veya UDP-N asetil-D-glukozaminuronik asit üretmek için 3' genleri sırayla UDP-bağlı şeker sentazları ve epimerazları kodlar (Kenyon and Hall 2013). İki parçalı düzenleyici çerçeve, antimikrobiyal dirence ve daha yüksek ekspresyona neden olan bazı ilaçları içeren kapsüllerin oluşturulmasını olumsuz yönde düzenleyerek çevresel ipuçlarına yanıt verir (Geisinger and Isberg 2015). Kapsüllerin varlığını veya yokluğunu *Acinetobacter*'de fenotipik değişimle ilişkilendiren daha fazla kanıt kapsüllerin varlığının veya yokluğunun *Acinetobacter* fenotipik değişimi ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir (Chin *et al.* 2018).

2.9.3 Fosfolipaz

Fosfo kafa grubu (fosfolipaz C) veya fosfatidik asit ve tercih edilen bölünme bölgesinden kaynaklanan farklı kafa grubu, fosfolipaz D'yi ayırt eder (Schmiel and Miller 1999). *A. baumannii*, iki fosfolipaz C ve üç fosfolipaz D enzimini kodlar; bunların her biri, ökaryotik membranların bir elemanı olan fosfatidilkolin için bir substrat tercihinine sahiptir. Dikkat çekici bir şekilde, her iki enzim de insan eritrositlerine karşı hemolitik aktiviteye sahiptir ve demir emilimini destekleyen demir alımı düzenleyicisi tarafından transkripsiyonel olarak kontrol edilir. Bu önemli rolle tutarlı olarak fosfolipaz C, çok sayıda suşta korunur (Fiester *et al.* 2016). Fosfolipaz C, hayati önemiyle tutarlı olarak çeşitli suşlarda korunur (Stahl *et al.* 2015). Üç fosfolipaz D geni arasında da benzer bir ilişki mevcuttur. İki katalitik alanları göz önüne alındığında, iki fosfolipaz D enzimi bir gen çoğalmasının ürünü gibi görünmektedir, oysa sadece bir fosfolipaz D3 vardır.

Benzerliklerine rağmen, fosfolipaz D2'nin istila için diğer ikisinden daha önemli olduğu gösterilmiştir (Stahl *et al.* 2015).

2.9.4 Salgı sistemi

Tip I sekresyon sistemi, proteinleri sitozolden hücre dışı ortama taşıyan üçlü bir sistemdir. Üç parçalı Tip I sekresyon sistemi, proteinleri sitozolden hücre dışı ortama taşır. Aktif bir T1SS'yi kodladığı bilinen ilk *Acinetobacter* suşu, *A. nosocomialis* suşu M2'dir. Aktif bir T1SS'yi kodladığı bulunan ilk *Acinetobacter* suşu, M2'dir (*A. nosocomialis*). Tip VI sekresyon sisteminin bu suştaki T1SS aktivitesinden doğrudan etkilenmesi ilginçtir, bu da bu sistemlerin birbirleriyle iletişim kurabileceğini düşündürmektedir (Harding *et al.* 2017). Tip II salgılama sisteminin iki aşaması vardır; birincisi, salgılanmadan önce substratın Tat veya Sec tarafından periplazmaya translokasyonudur. *A. baumannii*'nin virülansı, lipaz, elastaz, alkalın fosfataz ve fosfolipaz gibi enzimler olan efektör proteinlere bağlıdır (Elhosseiny and Attia 2018). *A. baumannii* patojenitesi için gerekli olan efektör proteinler arasında fosfolipazlar, metalo -endopeptidaz CpaA, lipaz, elastaz ve alkalın fosfataz yer alır. PilD peptidaz, Tip II ve Tip IV sekresyon sistemleri tarafından paylaşılır ve fibrinojen ile faktör V'i parçalar (Weber *et al.* 2017). DNA, plazmidler ve diğer mobil genetik elementler Tip IV salgı sistemi tarafından konjugatif olarak aktarılır. Bu özelliklerin konakçı-patojen etkileşimlerindeki işlevi henüz bilinmemektedir. Bununla birlikte, özellikle antibiyotik direncinin nedenlerini belirlemek amacıyla genetik materyalin aktarımı için gereklidirler (Liu *et al.* 2014).

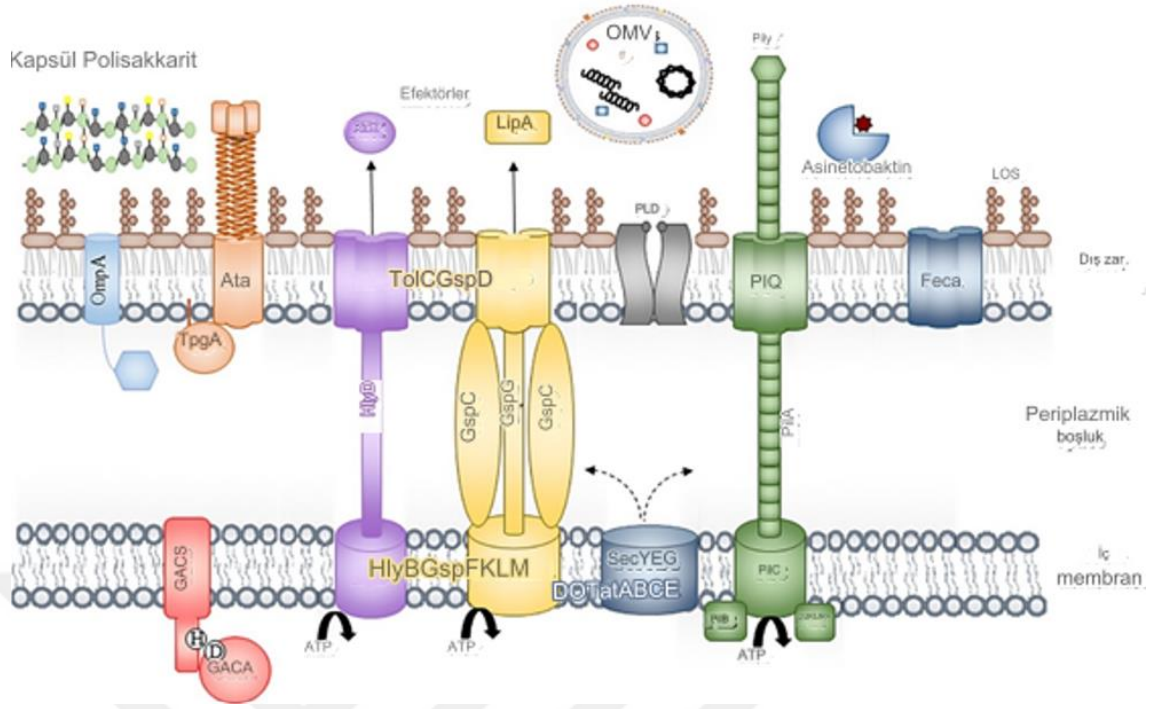
Gram-negatif bakterilerdeki en yaygın ve basit salgılama mekanizması Tip V olarak adlandırılır. Bir çekirdek yolcu alanı, bir N-terminal Sec-bağımlı sinyal peptidi ve bir C-terminal β namlusundan oluşan benzersiz alan tasarımı, onları özel kılar (Henderson *et al.* 2004). Ancak *Acinetobacter*, şu ana kadar bulunan beş Tip Va-Ve alt bölümünden yalnızca ikisini (Tip Vb ve bir Tip Vc) kodlamaktadır (Elhosseiny and Attia 2018). Hem ökaryotik hem de prokaryotik hücreler, tip VI salgılama sistemleri tarafından hedeflenebilir; ancak *Acinetobacter*'de bu sistemler yalnızca diğer bakterileri hedef alır ve çeşitli toksinler salgılar (Fitzsimons *et al.* 2018). Aktif tip VI sekresyon sistemlerine sahip klinik izolatların, bakteriyel rekabetteki işlevlerine rağmen rekabet avantajı

göstergesi olmasına rağmen, belki de bakterisidal etkilerle rakip hastalıkları öldürme yetenekleri nedeniyle immün sistemi baskılanmış bireylerden daha sık izole edilmesi dikkat çekicidir (Repizo 2017).

2.9.5 Dış membran kesecikleri (OMV'ler)

Çeşitli büyüme koşulları altında şimdiye kadar incelenen tüm Gram negatif bakteriler, boyutları 10 ile 300 nm arasında değişen, dış membran kesecikleri olarak bilinen küçük, küresel kesecikler oluşturur ve bu, evrim boyunca korunan bir süreci ortaya çıkarır. Evrim boyunca korunmuş bir süreci düşündürse de, bunların üretiminin ve farklı paketlenmelerinin belirli lipit türlerinin veya OMP'lerin birikimini veya azalmasını tam olarak nasıl etkilediği henüz açık değildir (Roier *et al.* 2016). Bunun spesifik bir mekanizma mı yoksa çeşitli çevresel faktörlere farklı tepki veren genel bir salgı sistemi mi olduğu açık değildir (Cahill *et al.* 2015). Biyogenezleri için artık üç teori vardır: Membran çıkıntısı ve vezikül oluşumu, başlangıçta OM lipoprotein-peptidoglikan bağlarının kırılmasından kaynaklanır. Üçüncüsü, vezikül oluşumu, zenginleşen ve membran eğriliğine neden olan kimyasallar tarafından yönlendirilir; Dördüncüsü, yanlış katlanmış proteinlerin ve peptidoglikan fragmanlarının periplazmik birikimi membranın şişmesine neden olur (Roier *et al.* 2016).

OMV'ler bakteriyel sinyalleme, konakçı-patojen etkileşimi düzenlemesi ve bağışıklıktan kaçınma ile bağlantılı olduğundan, konağın doğuştan gelen bağışıklık sistemine karşı bakterinin savunma hattı olarak hizmet ettikleri uzun zamandır kabul edilmektedir. OmpA ve diğer varsayılan virülans faktörlerinin konakçı hücrelere salınması, OMV'lerin ökaryotik kolesterol mikro alanları *A. baumannii* ile etkileşimleri yoluyla kolaylaştırılır (Jin *et al.* 2011). İn vivo OMV'ler, doğuştan gelen bağışıklık bileşenlerini ayırarak bağışıklıktan kaçmayı değiştirebilir veya Toll benzeri reseptör (TLR) sinyalini aktive ederek immünolojik bir tepki ortaya çıkarabilir (Kaparakis-Liaskos and Ferrero 2015). OMV'ler bakteriyel genetik materyalin topluluklar içinde veya türler arasında yayılması için özel bir rol oynar. *Toxoplasma aspergilli* OMV'lerde bulunan DNA ve RNA'nın, konakçının bağışıklık tepkilerini değiştirdiği Şekil 2.1'de gösterilmiştir (Bitto *et al.* 2017).



Şekil 2.1 Bakteriyel virülans faktörlerinin şeması (Morris *et al.* 2019)

2.9.6 Besin alımı

Demir, insan vücudunda eksikliğine en sık rastlanan elementtir. Bakteriler, demir oranını azaltmak için iki yöntem geliştirmiştir: bunlardan ilki doğrudan emilim için reseptörler ve taşıyıcıları kullanmak, bir diğeri ise yüksek afiniteye sahip demir şelatör proteinleri (sideroforlar) salgılamak (De Léséleuc *et al.* 2014). *Acinetobacter baumannii* çeşitleri beş farklı sideroforu kodlayabilir. Demir temizleme mekanizmaları çok önemli bir rol oynadığından, bu yolların bozulması doğal olarak diğer sistemlerin de düzenlenmesinin bozulmasına ve patojenitenin azalmasına neden olur (Eijkelkamp *et al.* 2011). Fleming *et al.* (2017) çevresel demir içeriğinin artırılmasının, fareler kullanılarak yapılan bir yara enfeksiyonu modelinde *A. baumannii* patogenezi azaltabileceğini, virülans ve demir temizleme mekanizmalarının aktive olmasını önleyebileceğini keşfetmiştir. Doğal olarak oluştuğundan ve çeşitli proteinler için kofaktör olarak işlev gördüğünden çinko gereklidir. "Beslenme bağışıklığı" olarak bilinen bir stratejide, enfeksiyon sırasında şelatör proteini, konağın metalleri depolamasına izin verir. *A. baumannii*'nin hücreler içindeki çinko içeriğini düzenlediği mekanizmalardan bazıları arasında ZnuABC taşıyıcısı ve ZgaA GTPaz bulunur. Zur, transkripsiyonu kontrol eder. Histidini katabolize ederek ve HutH'yi

aktive ederek ZigA, ZnuABC tarafından hücreye getirildiğinde çinko salınımını artırır. Erişilebilirlik ve toksisite arasındaki bu hassas dengenin kanıtı, bir fare pnömonisi modelinde zigA mutasyonlarında hafif bir azalma ve akciğer enfeksiyonları nedeniyle daha az sistemik yayılma ile sağlanmaktadır (Nairn *et al.* 2016).

2.9.7 Hareketlilik

Bakteriyel hareketlilik enfeksiyonu teşvik eder, patojeniteyi artırır ve bakterilerin konakçının hücrelerini kolonileştirmesini kolaylaştırır (Sharma *et al.* 2017). *A. baumannii*'nin hareket etmesini engelleyen flagelladan yoksun olduğu uzun zamandır bilinmektedir (Vijayakumar *et al.* 2016). Ancak çalışmalar, bu bakterinin enfeksiyondan sağ çıkabildiğini ve hastanede hayatta kalma sırasında seğirme hareketi yoluyla yüzeylere yayılabileceğini göstermektedir (Ahmad *et al.* 2020).

2.10 Antimikrobiyal Direncin Mekanizmaları

A. baumannii'de bu bakteriyi hemen hemen tüm antibiyotiklere karşı dirençli hale getirmekten sorumlu olan bir takım mekanizmalar vardır; enzimatik mekanizmalar, akış pompası, membranın geçirgenliğini azaltma ve hedef bölgelerin modifikasyonu. Aşağıda bu mekanizmaların bazıları kısaca açıklanmıştır.

2.10.1 Enzimatik mekanizmalar

- β -laktamazlar

β -laktamazlar, *A. baumannii*'nin antibiyotiklere direnç göstermesinin ana yollarından biridir. Bu enzim, β -laktam halkasını hidrolize etme ve böylece antibakteriyel molekülü etkisizleştirme kapasitesine sahiptir (Munita and Arias 2016). Bu enzim ilk kez Abraham and Chain (1940) tarafından tanımlanmıştır. Beta-laktam antibiyotikler, penisilin bağlayan proteindeki serin bölgesini asetilleyerek yapısını etkiler. Gram-negatif bakterilerin birincil direnç mekanizması, β -laktamaz enziminin sentezidir; oysa Gram-

pozitif bakterilerdeki β -laktam direncinin birincil mekanizması, fizyolojik durumu korurken bu antibiyotiklere yönelik Penisilin Bağlayıcı Protein (PBP) afinitesini değiştirme yeteneğidir. Abraham and Chain (1940) *Bacillus* bakterilerinde ilk β -laktamaz üreten enzimi keşfetmiştir. Bu enzim şu anda *Escherichia coli*'de kromozomal olarak kodlanan sefalosporin olarak tanınmaktadır. Genomlarında β -laktamaz kodlayan birkaç bağırsak bakterisinin tanımlanmasının ardından (Vrancianu *et al.* 2020), β laktamazlar gen homolojisine göre A, B, C ve D olmak üzere dört moleküler kategoriye ayrılır. *A. baumannii* bu türlerin tümüne ev sahipliği yapmaktadır (Jeon *et al.* 2015). β -laktam antibiyotiklere direnç çoğunlukla A sınıfı β -laktamazlardan kaynaklanmaktadır. *A. baumannii*'de bulunan çeşitli (A) grubu β -laktamazlar vardır. Birkaç örnek arasında Uzun Spektrumlu Guyana (GES) yerine *Klebsiella pneumoniae*'de Karbapenemaz (KPC) yer alır. A grubu, β -laktamazların aktif bölgesinde serin bulunurken, B grubu β -laktamazların katalitik bölgesinde çinko veya başka bir ağır metal bulunur (Palzkill 2013). Monobaktamlar haricinde neredeyse tüm β -laktamlar, B grubu β -laktamazlar tarafından hidrolize edilebilir (Jeon *et al.* 2015). Bu β -laktamazlar aktif bölgelerinde metal iyonları içerdiğinden, bu enzim aileleri şelatlayıcı maddeler tarafından kolayca inhibe edilir (Vrancianu *et al.* 2020). Bu β -laktamazlar aktif bölgelerinde metal iyonları içerdiğinden, bu enzim aileleri şelatlayıcı ajanlar tarafından kolayca inhibe edilir. *ampC* geni β -laktamaz grubu C'yi kodlar. Ayrıca sefalosporinlere ve sefamisinlere karşı direnç bu β -laktamaz sınıfı tarafından sağlanabilir (Jeon *et al.* 2015). *ampC* geni β -laktamaz grubu C'yi kodlar. Ayrıca sefalosporinlere ve sefamisinlere karşı direnç bu β -laktamaz sınıfı tarafından sağlanabilir (Sun *et al.* 2016). Grup D β -laktamazlar oksasilini hidrolize etme yeteneğine sahiptir; bu nedenle oksasilinazlar olarak da anılırlar. Grup D, oksasilinazlar olarak da bilinir çünkü grup D β -laktamazlar oksasilini hidrolize edebilir (Nowak and Paluchowska 2016).

- Aminoglikozid değiştirici enzimler

Aminoglikozid, nozokomiyal enfeksiyonlarla ilişkili *Acinetobacter baumannii*'nin tedavisinde kullanılan en önemli antibiyotiklerden biridir (Vrancianu *et al.* 2020). *A. baumannii*'deki ana direnç mekanizması, etki ettiği mekanizmaya, yani aminoglikozid değiştirici enzimlerin (AME'ler) sentezi yoluyla aminoglikozidin enzimatik olarak

değiştirilmesine bağlıdır ve bu enzim, nükleotidil transferazlar, asetiltransferazlar ve fosfotransferazlar olarak sınıflandırılabilir (Tada *et al.* 2012). *A.baumannii*'de çok sayıda (AME) tespit edilmiştir (Wen *et al.* 2014). Kodlamadan sorumlu olan gen (AME'ler), integronların veya konjugasyonun bir parçası olarak aktarılabilir (Garneau-Tsodikova and Labby 2016).

2.10.2 Membranın geçirgenliğini azaltılması

Membran geçirgenliğinin azaltılması antibiyotiklere karşı direnci artırabilir. Moleküllerin hareketi yoluyla dış membran gözenekleri, *A. baumannii*'nin virülansı ve direnci açısından çok önemlidir (Lee *et al.* 2017). *A. baumannii*'nin dış zarındaki gözenek yoğunluğunun geçirgenliğini azaltarak karbapenem direncini arttırdıkları gösterilmiştir (Jin *et al.* 2011). *A. baumannii*'de tanımlanan diğer bir porin OmpA'dır, bu porinin nalidiksik asit, aztreonam ve kloramfenikol'e karşı direncin kanıtlanmasıyla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Smani *et al.* 2014). OmpA'nın akciğer enfeksiyonu virülansını ve mortalitesini artırmadaki rolü, yakın zamanda yapılan bir çalışmayla gösterilmiştir (Espinal *et al.* 2019).

2.10.3 Akış sistemi

Geniş substrat spesifikliğı, periplazmadan hücre dışı boşluğa zararlı olabilecek maddeleri fırlatan üç parçalı, membranı kapsayan bakteriyel akış mekanizmaları tarafından sergilenir. Şu anda bilinen altı bakteriyel akış pompası ailesi vardır; bunlardan biri ana kolaylaştırıcı süper ailesi (MFS), çoklu ilaç ve toksin ekstrüzyonu (MATE), küçük çoklu ilaç direnci ailesi, çoklu ilaç ve toksin ekstrüzyon ailesini temsil eder. Antimikrobiyal bileşiklerin aileleri akış ve direnç-nodülasyon-hücre bölünmesi üst ailesi (RND), diğer Gram-negatif patojenlerdeki peptitlerin, antimikrobiyal yağ asitlerinin ve safra tuzlarının ekstrüzyonunda kritik bir rol oynamanın yanı sıra, akış pompaları aynı zamanda sideroforlar gibi virülans ajanlarını da aktif olarak üretir (Du *et al.* 2018). Akış pompaları AdeABC ve AceI, *Acinetobacter*'in sırasıyla biyositlere ve aminoglikozitlere karşı direncini artırır (Liu *et al.* 2018). AdeABC pompasının in vivo bakteriyel uygunluk

üzerindeki etkisi belirlenmiştir, ancak karakterize edilen çoğu akış pompası yalnızca toksik maddelerin uzaklaştırılmasıyla ilişkilidir (Yoon *et al.* 2016).

2.11 Çoklu İlaça Dirençli *A. baumannii*

Son 30 yılda yeni oluşturulan antimikrobiyal ilaçlara karşı direnç kazanan *A. baumannii* suşları, çoklu ilaca dirençli (MDR) *A. baumannii* suşları olarak anılmaktadır (Kanafani and Kanj 2015). Alternatif isimlendirmede, *Acinetobacter* spp. için antibiyotik direncinin derecesini değerlendirmenin, yaygın ilaç direnci (XDR), pan-ilac direnci (PDR) ve çoklu ilaç direnci (MDR) dahil olmak üzere çeşitli yolları vardır. Üç veya daha fazla antimikrobiyal ilaç sınıfından en az bir ajana dirençli olmak MDR *Acinetobacter* spp olarak adlandırılır (Jung and Park 2015). XDR *Acinetobacter* suşları, tüm antimikrobiyal ilaç sınıflarında ikiden fazla ajana karşı gelişmiş direnç sergileyen MDR izolatlarıdır. XDR *Acinetobacter* spp. Tüm antimikrobiyal ilaç sınıflarındaki tüm ajanlara karşı direnç sergileyen bakterilere PDR *Acinetobacter* spp. adı verilir. "PDR *Acinetobacter* spp." terimi XDR *Acinetobacter* spp.'yi ifade eder ve tüm antimikrobiyal ilaç sınıflarında bulunan tüm bileşiklere karşı direnç sergileyen bir bakteri olara açıklanır (Manchanda *et al.* 2010).

2.11.1 *Acinetobacter* spp.'nin direnç genetiği

"Doğal olarak dönüştürülebilir" olarak bilinen Gram-negatif bakteri sınıfı, genetik değişim için ideal olarak uyarlanmış *Acinetobacter* spp.'yi içerir. Yabancı genetik materyali, özellikle de antibiyotik direnciyle ilişkili genleri elde etme inanılmaz yeteneği nedeniyle mümkündür (Gallagher *et al.* 2015). *A. baumannii* arasında gen aktarımının başlıca yolları şunları içerir:

2.11.2 Dönüşüm

1969'da "*A. calcoaceticus*" olarak adlandırılan yüksek derecede dönüştürülebilir *Acinetobacter* suşunun, parçalanmış bakteri hücrelerinden DNA'yı kendi genomuna

rekombine edebildiği gösterilmiştir (Juni and Janik 1969). Bu çalışma bir adım daha ileri giderek, bu özel türün, hepsi aynı *Acinetobacter* cinsine ait 265 farklı bakteri türünden alınan DNA özütleri kullanılarak değiştirilebileceğini göstermiştir. İlginç bir şekilde, gerçekte bu suşlar sıkı bir genetik akrabalığa sahiptir (Utnes *et al.* 2015).

2.11.3 Konjugasyon

1976'da, konjugasyonla tanımlanan ilk tür *Acinetobacter calcoaceticus*'tur. Yurtdışı konakçı aralığındaki plazmid RP4, çeşitli *A. calcoaceticus* mutasyonları arasındaki kromozomal genleri harekete geçiren konjugasyon vektörüdür. Ek olarak, doğal olarak oluşan *Acinetobacter* plazmidi pAV1 kullanılarak konjugasyon yoluyla kromozomal transfere ilişkin çalışmalar yapılmıştır (Yang *et al.* 2016).

2.11.4 İletim

Belirli *Acinetobacter* suşlarına karşı aktif olan birçok bakteriyofaj tespit edilmiştir. Ilıman bir faj olan P78, fajların çoğu litik olmasına rağmen konak suşunu lizojenizasyona uğratar (Utnes *et al.* 2015).

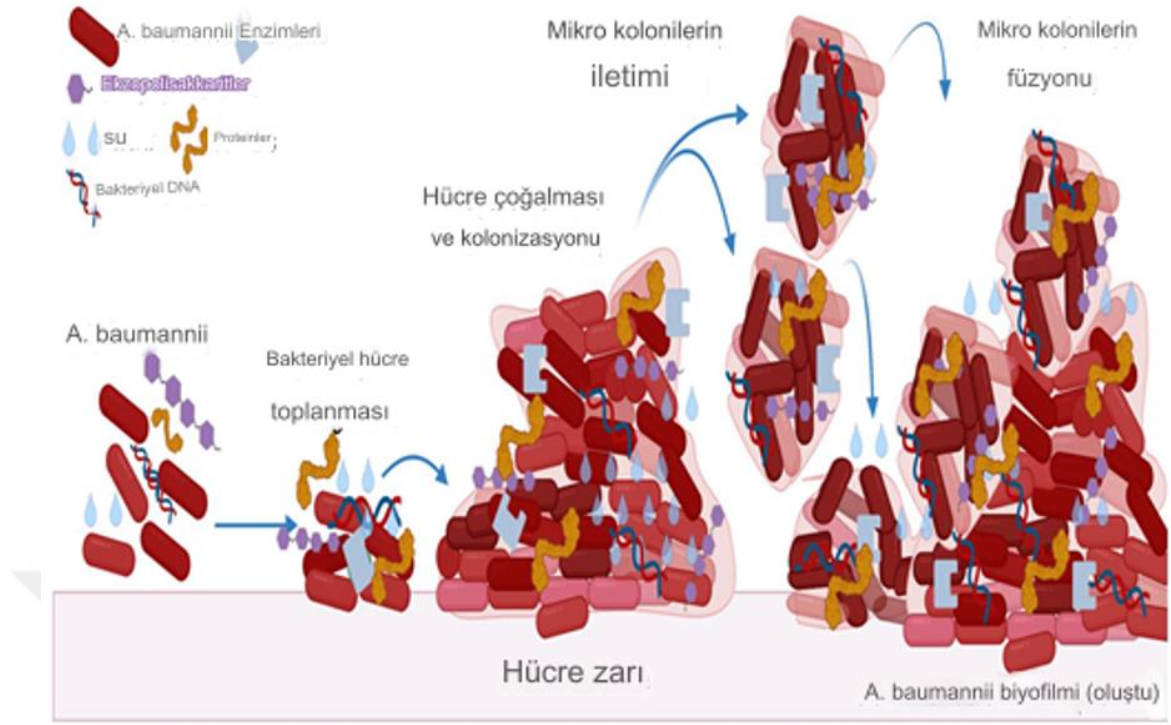
2.11.5 Mobil genetik unsurlar

Acinetobacter cinsine ait bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirme konusunda oldukça hızlı oldukları bilinmektedir. Yeni direnç mekanizmaları geliştirme konusundaki dikkate değer kapasiteleri, yalnızca çok sayıda ilaca karşı doğal dirençleriyle eşleşmektedir. *A. baumannii* plazmidlerinin, transpozonlarının ve integronlarının büyük bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. *A. baumannii*'nin, ister doğada ister hastanelerde olsun, antibiyotiğe dirençli suşları hastadan hastaya aktarabildiğine dair güçlü kanıtlar vardır. *A. baumannii*'nin sınıf I ve sınıf II integronları vardır (Fournier and Richet 2006). Bütünleşmiş plazmitler, *Acinetobacter* klinik izolatlarının önemli bir yüzdesinde bulunur. Antibiyotik direnciyle bağlantılı kasetlerin çoğunluğunun salgın suşlarda mevcut olması muhtemeldir, bu da onların hareketliliğini açıklayabilir. İntegronların antibiyotik direnç

genlerinin yayılmasında önemli bir rol oynadığını gösteren kanıtlar bulunmaktadır. *Acinetobacter baumannii*'deki yerleştirme dizileri (IS) elemanları, b-laktamaz sentezini önemli ölçüde artırır ve daha fazla direnç fenotipinin edinilmesine katkıda bulunur (Gheorghe *et al.* 2015). Fournier and Richet (2006) tarafından, 52 direnç geninden 45'ine sahip olan Otomotiv Gençlik Eğitim Sistemi (AYEs) pandemik çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter baumannii* suşu 86 kb'lik bir direnç adasına sahip olarak karakterize edilmiştir. Aynı bölgede, gümüş diamin florür (SDF) duyarlı *A. baumannii* suşunda herhangi bir direnç geni içermeyen 20 kb'lik bir genomik ada mevcuttur. *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978'in tüm genomu dizilenmiş ve yabancı olduğu düşünülen 38 adadan 16'sında virülansla doğrudan bağlantılı genler bulunmuştur (Gallagher *et al.* 2015).

2.12 Biyofilm

A. baumannii suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesinin artması, endotrakeal tüpler, kalıcı kateterler ve tıbbi açıdan faydalı ekipmanlar gibi yüzeylerde kolonileşmelerini kolaylaştırır (Duarte *et al.* 2016). Mikrobiyal hücreler karmaşık biyotik veya abiyotik yüzeylerde toplandıklarında, otojenik polimerik ekzopolisakkarit matrisiyle kaplanmış biyofilmler oluştururlar. Yapısı, mikrop popülasyonlarını zararlı maddelerden koruyan ve birçok farklı antimikrobiyal türe, konakçının immünolojik savunmasına ve zorlu fizyolojik koşullara karşı daha iyi bir koruma sağlayan karmaşık bir ağ oluşturur. İnsan hastalıklarının yüzde 65 ile 80'i biyofilm geliştiren bakterilerden kaynaklanmaktadır (Gaddy *et al.* 2009). *A. baumannii*'de biyofilm gelişme oranı kabaca % 80-91 iken diğer türlerde yaklaşık %5-24'tür (Abdi-Ali *et al.* 2014). Bu bakteri suşları, biyofilm gelişiminin bir sonucu olarak artık antibiyotiklere ve diğer antimikrobiyal streslere karşı daha güçlü bir savunma mekanizmasına sahiptir. Bu nedenle biyofilm, güçlü virülans faktörlerinden biri olarak kabul edilir (Şekil 2.2) (Bhargava *et al.* 2012).



Şekil 2.2 *A. baumannii*'nin biyofilm oluşumu adımları (Dolma *et al.* 2022)

2.13 Biyofilm Oluşumunda Rol Oynayan Faktörler

2.13.1 Fizyolojik faktörler

Yüzey hidrofobikliği, pH, sıcaklık ve oksijen seviyeleri gibi çok sayıda çevresel faktörün biyofilm oluşumu üzerinde önemli bir etkisi vardır. Bu faktörler değişebilir, ancak değişikliklerinde hücre aracılı yoğunluk gradyanı mekanizması yoluyla hücreden hücreye iletişimin kapısını açar, bu da biyofilm üretimini başlatır. Çok sayıda deney, *Acinetobacter baumannii* suşlarının çok çeşitli habitatlarda biyofilm üretebildiğini göstermiştir. Martí *et al.* (2011) biyofilmlerin bazı *Acinetobacter* türlerinin katı-sıvı ve hava-sıvı fazlarının arayüzeylerindeki kompleksler tarafından üretilebileceğini göstermiştir. Çeşitli araştırma çalışmalarının gösterdiği gibi sıcaklık, bakteri hücrelerinin yapışmaya aracılık etme ve yüzeylerde biyofilm oluşturma kapasitesini büyük ölçüde etkiler. *Acinetobacter* türlerinin biyofilm oluşumu 25 ile 37°C arasında hızlanır (Martí *et al.* 2011). *Acinetobacter baumannii* izolatları, 30°C sıcaklık, 7,0 pH seviyesi ve tuz klorür

ortamını içeren optimal koşullara maruz bırakıldığında biyofilm oluşturmada başarılı olmuştur (Pour *et al.* 2011).

2.13.2 Tür ve besin bulunabilirliği

Biyofilm oluşumu besin varlığına ve konsantrasyonuna çok duyarlıdır. Agregasyon ve biyofilm oluşumu için gerekli olan bakteri türleri arasındaki parçalanma ve rekabet eksikliği, besin konsantrasyonunun yüksek olduğu ortamlarda biyofilm gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir. Sadece eser miktarda besin mevcut olduğunda biyofilm gelişimi hızlanır. Sükroz, kalsiyum ve fosfat biyofilm miktarını sürekli artıran besinler arasındadır. Azalan ekzopolisakkarit sentezi ve biyofilm tükenmesi, diyet takviyelerinin aşırı düzenlenmesinin yaygın sonuçlarıdır (Lebeaux *et al.* 2014).

2.13.3 Büyüme yüzeyi

Büyüme yüzeyi biyofilm gelişimine zemin hazırlayan faktörlerden biridir. Yüzeyin tanecikli yapısı ve kusurları bir bariyer görevi görerek bakterilerin tutunmalarını kaybetmesine neden olacak kesme kuvvetlerini önler ve biyofilm oluşumunu teşvik eder. Çeşitli besin ve maddeler içerdikleri için organik yüzeylere daha fazla bakteri tutunabilir. Yüzey hidrofobikliği ve elektriksel yüzey değişiklikleri, elektroaktif mikroorganizmalarda biyofilm gelişimini etkileyen iki unsurdur (Dong *et al.* 2013).

2.13.4 Demir konsantrasyonu

Demirin varlığı ve erişilebilirliği biyofilm büyümesine karşı çalışır. Demir kıtlığı genellikle Bap ifadesinin (biyofilmlerle ilişkili bir protein) düzenlenmesine neden olur. Sinyal verme veya ilaçların kendileriyle etkileşimler yoluyla demir seviyelerindeki artış bazı seçici antibiyotiklerin etkinliğini azaltabilir. Ortamdaki bakterilerin büyük çoğunluğu, bu elementten yararlanmak için demiri şelatlayan güçlü moleküller olan sideforlar üretir. Yanforlar ve demir arasındaki temas, demir- kenar kombinasyonu ile sonuçlanır. Dış zarın spesifik reseptörleri tarafından ona bağlanma, kimyasalların zardan

geçişini kolaylaştırır. Ancak daha yüksek demir konsantrasyonlarında yanforlar kompleks oluşturamaz veya dış zarda delikler oluşturamaz, dolayısıyla antibiyotikler geçemez (Jacobs *et al.* 2014).

2.13.5 Gen ifadesi

Bir dizi araştırma, kapalı bir sistem içerisinde biyolojik ipuçlarının biyofilm gelişimini tetiklediğini, gen ifadesinin ise biyofilmin düzenlenmesini kontrol ettiğini göstermiştir. CsuC, CsuD, CsuE, OmpA, blaPER-1, abal, epsA, bfin S&R ve blaPER-2 gibi genler genellikle *A. baumannii* suşlarının biyofilm yapışması ve üretimi ile ilişkilidir (Dong *et al.* 2013). *A. baumannii* biyofilmler oluşturduğundan, integron I 1 haberci RNA ekspresyonunda dramatik bir yukarı regülasyon meydana gelir. Gen hareketliliği ve yayılması, biri sınıf I integrona ve diğeri 16S RNA metilaz gen ailesine ait olan iki gen tarafından kolaylaştırılır. Bu da biyofilmlerle ilgili gen dizilerinin yüksek ekspresyonunu artırır. Ribonükleaz protein ailesinin bir üyesi olarak T2, *Acinetobacter baumannii*'nin yapışmasına ve hareketliliğine yardımcı olarak bakterilerin biyofilm oluşturmaya olanak tanır (Jacobs *et al.* 2014).

2.13.6 Proteinler

Biyofilm ilişkili proteinler (Bap) olarak bilinen proteinlerin biyofilm gelişiminde rolü vardır. Çoğu durumda bakterilerin hücre yüzeylerinde Bap adı verilen daha büyük moleküler ağırlıklı bir protein bulunur. Bap geni, biyofilm oluşumu, olgunlaşması, bakımı, hücreler arası hücrelerin yapışması ve bakteriyel hücre toplanması için vazgeçilmez olan bir proteini kodlar (Ghasemi *et al.* 2018). Çekirdek alan, bakterilerin biyofilm oluştururken kullanabileceği tandem tekrarları içerir. Loehfelm *et al.* (2008)'in araştırmasına göre *Acinetobacter* türlerinin hücre yüzeylerinde Bap adı verilen yapışma molekülleri bulunmaktadır. Bu, çeşitli substratlar üzerinde hücresel bağlanma ve biyofilm gelişiminde önemli bir rol oynayan, oldukça korunmuş bir alandır (Bodelón *et al.* 2013). *Acinetobacter* spp.'de Bap proteinlerinin pek çok formu bulunur ve bunların hepsi geniş merkezi tekrar alanlarıyla karakterize edilir. Brossard and Campagnari (2012) tarafından yapılan bir araştırmaya göre, terapötik açıdan önemli nesneler ve konumlar üzerinde sulu

kanalların ve 3 boyutlu kule yapısının oluşturulması için Bap gereklidir; ayrıca bu çalışma, Bap proteininin bakteri hücresinin gelişmiş hidrofobikliğini ve yapışkan özelliklerini nasıl kolaylaştırdığını göstermiştir (Tomaras *et al.* 2003). *A. baumannii*'de olgun biyofilmlerin cam yüzeyler üzerindeki stabilitesini korumak için Bap proteini bunların biyolojik hacmini ve kalınlığını etkiler (Pakharukova *et al.* 2018).

2.13.7 Pili'nin şaperon-usher pilus montaj sistemi (Csu Pili)

Pili biyofilm oluşturma yeteneği sağladığı gibi tutunmayı da kolaylaştırır. *Acinetobacter baumannii*, Csu pili sayesinde cansız yüzeylerde biyofilm üretebilmektedir (Pakharukova *et al.* 2015). *Acinetobacter baumannii*'de Csu operonu adı verilen kümelenmiş gen sistemi, pilusa benzeyen sınırlı yapılar üretir. Antik şaperon-öncü (CU) yolları, Csu pilus'u oluşturan yaklaşık dört protein alt biriminin çalışmasını sağlayan temel yoldur. Şaperon-öncü salgılama mekanizmasının montajı, biyofilm oluşumunun temelini oluşturur ve abiyotik yüzeylere bağlanma, pilusun sentezini gerektirir (Nuccio and Bäuml 2007). Diğer ikame CU aileleriyle birlikte, arkaik CU pili, CU üst ailesinin daha da klasik olmayan bir dalını temsil eder ve toplam CU sistemi içinde büyük bir CU sistemleri kümesi oluştururlar (Dolma *et al.* 2022). Çalışmalar CsuE geninin aktive edilemediğini veya düzenlenemediğini, bunun da pilus ve biyofilm gelişimini engellediğini göstermiştir (Morgan *et al.* 2010).

2.13.8 Hücre dışı polisakkaritler (EPS)

Biyofilmin hem gelişiminde hem de yayılmasında EPS önemli oyuncular. Ekstrapolasyonlu polisakkaritin (EPS) birincil bileşeni, bakterilerin hedeflerine erişimini engelleyerek ve etkinliklerini azaltarak öldüren aljinat ve biyofilmle hareketsizleştirilmiş hidrolitik enzimlerin bir kombinasyonudur (Lewis 2008). EPS esas olarak, zincirin pozitif yüklü kolunu çeken negatif yüklü bir amino asitin kolu olan bir polipeptit zincirine bağlı polisakkaritlerden oluşur. Bu çekici güç, hidrofilik antibiyotiklerin hücre gövdelerine girmesini zorlaştırır, bu da bakteri öldürücü etkinliklerinin çok azaldığı anlamına gelir. EPS'nin çok önemli bir rol oynadığı O-glikosilasyon sistemi ve kapsül oluşumu, çoklu direnci barındıran *A. baumannii* suşunun özellikleridir (Cuccui and Wren 2013).

2.13.9 Çekirdek algılama (QS)

"Çoğunluk algılama" olarak bilinen süreçte bakteriler ve diğer mikroorganizmalar, daha düşük moleküler ağırlığa sahip bir veya daha fazla kimyasal molekülün değiş tokuşunu yaparak, algılayarak, taşıyarak ve salınmasına aracılık ederek çeşitli aktivitelere aktif olarak katılırlar. *Acinetobacter baumannii*'nin otoindükleyici N-asil-homoserin lakton (AHL) molekülleri, biyofilm üretimini kontrol eden QS sistemini yönetir. Bakteriler öncelikle birbirleriyle tek bir bakteri tarafından üretilen AHL molekülleri aracılığıyla iletişim kurar ve benzer bakterilerin büyük bir kümelenmesine olanak tanır. Kritik bir bakteri popülasyonu düzeyinde AHL, polisakkaritlerde çok sayıda hücrelerarası adezin molekülünün üretilmesi nedeniyle etkili bir algılama sinyali haline gelir. Bakteri popülasyonları belirli bir kütleye ulaştıkça mikrokoloniler biyofilmlere gömülür ve AHL'nin etkili sinyal algılama özelliği biyofilm gelişimine yardımcı olur (Bitrian *et al.* 2012). Öte yandan Stacy *et al.* (2012) QS sisteminin bakterilerin kendi davranışlarını birbirleriyle ve türler arasında uyum içinde düzenlemelerine izin verebileceğini buldu; suşlar arasındaki bu tür etkileşimler çok sayıda enfeksiyonla sonuçlanabilir. Liou *et al.* (2014) kinaz BfmS'nin biyofilm oluşumunda rol oynayan ek bir sensör olduğunu tespit etmiştir. Sensör kinaz BfmS yokluğunda biyofilmlerin önemli ölçüde azaldığının gösterilmesiyle biyofilm düzenlemesi için yeni bir teori önerilmiştir. Azalan demir mevcudiyeti, bakteriyel tür yoğunluğuna göre virülans faktörünü kontrol eden QS sistemi gen ekspresyonunu artırır (Kim *et al.* 2013).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Aletler ve ekipmanlar

Çizelge 3.1'de bu çalışma sırasında kullanılan tüm alet ve ekipmanlar sunulmuştur.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan aletler ve ekipmanlar

No	Aletler ve ekipmanlar	Şirket	Ülke
1	Agaroz gücü	Guangzhou	Çin
2	Eppendorf santrifüjü	Bionner	Kore
3	Eppendorf Tüpü	Bionner	Kore
4	Exispin	Bioneer	Kore
5	Dereceli silindirler	MBL	İngiltere
6	Manyetik karıştırıcı sıcak plaka	BandT	İngiltere
7	Kuluçka makinesi	Bioneer	Kore
8	Laminer kabin hava akışı	CHC-LAB	Kore
9	Mikro pipet	odlab	ABD
10	Mikrotitre plakası	AFCO	Çin
11	Gradyan Termal döngü bloğu	Bioneer	Kore
12	Mikrodalga fırın	LG	Kore
13	Nanodrop-spektrofotometre	NAS-99	Tayvan
14	Fırın	Memmert	Almanya
15	Parafilm	Fisher-scientific	ABD
16	Petri kabı	Zahrat-Al-Rawan	Ürdün
17	Tek kullanımlık şırınga	Zahrat-Al-Rawan	Ürdün
18	Bunsen beki	Al-obidi	Irak
19	PCR tüpü		Çin
20	PH ölçer	Hanna	Mauritius
21	Buzdolabı	Ishtar	Irak
22	Hassas denge	Sartorius	Almanya
23	Steril taşıma ortamı swabı	Mainland	Çin
24	Farklı boyutlarda ipuçları	-	Çin
25	UV translüminatör	Witeg labortechnik GmbH	Almanya
26	VITEK-2 kompakt	Biomerieux	İngiltere
27	Su banyosu	Memmert	Almanya
28	ELIZA yıkayıcı	Bio Tec	İngiltere
29	ELIZA okuyucu	Bio Tec	İngiltere
30	Taşıyıcı Döngü	-	Çin

3.1.2 Bakteriyolojik protokolün kimyasal reaktifleri

Çizelge 3.2 bakteriyolojik çalışma protokolünde kullanılan tüm kimyasal reaktifleri göstermektedir.

Çizelge 3.2 Bakteriyolojik çalışma protokolünün kimyasal reaktifleri

No	Reaktifler	Şirket	Ülke
1	Tetrametil-p-fenilendiamin dihidroklorür	BDH	İngiltere
2	Kovacs reaktifi		
3	Gliserol		
4	Hidrojen peroksit	HIMEDIA	Hindistan

3.1.3 Kimyasal reaktifler ve moleküler protokolün boyaları

Çizelge 3.3 moleküler çalışma protokolünde kullanılan tüm kimyasal reaktifleri ve boyaları göstermektedir.

Çizelge 3.3 Moleküler çalışma protokolünün kimyasal reaktifleri ve boyaları

No	Reaktifler ve boyalar	Şirket	Ülke
1	Agaroz	REAGENT-WORLD	ABD
2	DNA ekstraksiyon kiti	Wizprep	Kore
3	Etidyum Bromür boyası	BIO-BASE	Kanada
4	Nükleaz içermeyen su	PROMEGA	ABD
5	TBE 10X		
6	Bromofenol mavisi		
7	DNA merdiveni 100 bp		
8	Mavi-turuncu yükleme kalıbı		
9	TBE tamponu		
10	Fosfat tamponlu salin	HIMEDIA	Hindistan
11	Kristal Menekşe		
12	Metanol		

3.1.4 Kültür ortamı

Çizelge 3.4’te çalışmada kullanılan tüm kültür ortamlarını göstermektedir.

Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan kültür ortamları

No	Kültür medyası	Şirket	Ülke
1	Brain-Heart agar	HIMEDIA	Hindistan
2	Brain-Heart infüzyon broth		
3	MacConky agar		
4	Pepton suyu		
5	Simon sitrat agar		

3.1.5 Astar setleri

Çizelge 3.5’te çalışmada kullanılan primer setlerini göstermektedir.

Çizelge 3.5 Çalışmada kullanılan primer setleri

No	Genler	Primer	Sıralama	Amplikon boyutu	Ref.
1	bap	F	“TGCTGACAGTGACGTAGAACCACA”	184 bp	(Yang <i>et al.</i> 2019)
		R	“TGCAACTAGTGGAATAGCAGCCCA”		
2	blaPER-1	F	“GCAACTGCTGCAATACTCGG”	900 bp	
		R	“ATGTGCGACCACAGTACCAG”		
3	csuE	F	“CATCTTCTATTTCCGGTCCC”	168 bp	
		R	“CGGTCTGAGCATTGGTAA”		
4	ompA	F	“GTTAAAGGCGACGTAGACG”	578 bp	
		R	“CCAGTGTTATCTGTGTGACC”		

3.1.6 DNA ekstraksiyon kitinin içeriği

Çizelge 3.6’da tüm DNA ekstraksiyon içerikleri gösterilmektedir.

Çizelge 3.6 Genomik DNA ekstraksiyon kitinin içeriği

No	Reaktifler	Hacim
1	W (1) Tampon	55 mL
2	W (2) Tampon	16 mL
3	GT (1) Tampon	25 mL
4	GT (2) Tampon	25 mL
5	Proteinaz K	44 mg
6	Elüsyon Tamponu	10 mL
7	DNA döndürme kolonu	100 cs

3.1.7 Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gereksinimleri

Çizelge 3.7 tüm standart PCR içeriklerini göstermektedir.

Çizelge 3.7 Çalışmada kullanılan standart PCR içerikleri

İçerik		Konsantrasyon
dNTP'ler	dATP'ler	400 µM
	dCTP'ler	400 µM
	dGTP'ler	400 µM
	dTTP'ler	400 µM
MgCl ₂		300 mM
Taq DNA polimeraz		50 birim/mL
Tampon		PH 8,5

3.2 Yöntem

3.2.1 Çalışma tasarımı

Bu kesitsel çalışma, Kasım 2021 ile Mayıs 2022 tarihleri arasında Babil/İrak'taki çeşitli hastanelere ve kliniklere başvuran, farklı cinsiyet ve farklı yaşlardaki hastalardan (idrar, kulak iltihabı, boğaz sürüntüsü, kan, cilt lezyonu) 200 numune alınarak, *Acinetobacter baumani*'yi izole etmek ve teşhis etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Etik onay Helsinki İnsan Hakları Bildirgesi'ne uygun olarak gerçekleştirilmiş ve hastalardan sözlü onay da alınmıştır.

3.2.2 Kültür ortamının hazırlanması

- Beyin-kalp infüzyon suyu

Hem hızlı hem de hızlı olmayan bakteriler için sıvı bir kültür ortamıdır. Besiyerinin 37 gramının 1 litre deiyonize suda çözülmesi, tamamen çözülene kadar sık sık çalkalanarak kaynatılması ve ardından 121°C ve 0,15 mpa'da on beş dakika sterilize edilmesiyle hazırlanmıştır.

- Beyin-kalp infüzyon agar

Bakteri izolatlarının büyümesi ve izolasyonu için kullanılan bu besiyerinin hazırlanmasında üretici talimatına uygun şekilde 52 g besiyeri 1 litre distile suda çözülmüştür. Besiyeri otoklavlandıktan sonra 45 ila 50°C arasında soğumaya bırakılmış ve ardından Petri plakalarına yerleştirilmiştir. Katılaştıktan sonra ihtiyaç duyulana kadar 4°C'de soğuk tutulmuştur.

- MacConkey agar

Gram negatif bakterilerin laktozu fermente etme kapasitelerine göre ayrı ayrı büyümeleri için diferansiyel ve ayırt edici bir besiyeridir. Kristal viyole ve safra tuzlarının her ikisi de gram pozitif organizmaların büyümesini engeller. Besiyeri, 51,5 g'nin 1 litre damıtılmış su içinde çözülmesi, tam çözünme elde etmek için kombinasyonun ısıtılması ve ardından karışımın dezenfekte edilmesi için 121°C'de on beş dakika süreyle otoklavlanmasıyla hazırlanmıştır.

3.2.3 Çözelti ve reaktiflerin hazırlanması

A) Çözelti:

Tris-borat-EDTA (TBE): 100 mL 10X TBE tamponu, 1X TPE tamponu oluşturmak üzere 900 mL damıtılmış su içerisinde çözüldürüldü (MacFaddin 2000).

Kovac's reaktifi: İndol testinde bir gösterge olarak hareket etmiş ve doğrudan üretilen bir şirket tarafından eklenmiştir (MacFaddin 2000).

B) Reaktifler:

Oksidaz reaktifi: Bu reaktifi yapmak için 1 g dimetil-p-fenilendiamin hidroklorür 100 mL damıtılmış suda çözülmüştür. Kombinasyon daha sonra karanlık bir kapta tutularak

bakterinin oksidaz üretme kapasitesini kontrol etmek için hemen kullanılmıştır (MacFaddin 2000).

Katalaz reaktifi: Bakteri izolatlarının katalaz enzimi üretilip üretilmediğini belirlemek için kullanılan bu reaktif, ticari olarak temin edilebilen yüzde üçlük bir hidrojen peroksit (H_2O_2) çözeltisinden oluşmaktadır.

3.2.4 Bakteri izolatlarının tanımlanması

Acinetobacter baumannii'nin farklı gram-negatif bakterilerden ayrıştırılması amacıyla aşağıda detayları verilen biyokimyasal testler sonucunda tespit edilen izolatlar VITEK-2 sistemi tarafından %99 hassasiyetle doğrulanmıştır.

A) Biyokimyasal testler:

Oksidaz testi: Steril filtre kağıdı yüzde bir tetrametil fenilenamin içinde ıslatıldıktan sonra, tek bir koloni plastik bir halka kullanılarak filtre kağıdının üzerine yerleştirilmiştir. Eğer sıvı aniden koyu mavi veya mor bir renk alırsa, bu testin pozitif olduğunu gösterir (Brown *et al.* 2005).

Katalaz testi: Katalazın mevcut olduğuna dair kanıt sağlamak amacıyla yapılmıştır. Hidrojen peroksitten oksijen salınımını katalize etmekten sorumlu bir enzimdir. Prosedür, yeni aktive edilmiş bir bakteri kolonisinin, yüzde üç konsantrasyonda hidrojen peroksit ile önceden ıslatılmış bir cam slayt üzerine taşınmasından oluşmaktadır. Gaz kabarcıklarının görülmesi testin pozitif olduğunu gösterir (Benson 2002).

İndol testleri: Yeni bir koloniye, 48 saat boyunca 37°C'de bir inkübatöre yerleştirilmeden önce bir Pepton su ortamı enjekte edilmiştir. İndol testini tamamlamak için 6-8 sekiz damla Kovacs reaktifinin eklenmesi gerekir. Olumlu sonuç tüpün yüzeyinde kırmızı rengin ortaya çıkmasıyla gösterilmiştir (MacFaddin 2000).

Simmon sitrat testi: Simon sitrat eğik ortamına taze bir koloni ekilerek 48 saat boyunca 37°C'ye ısıtılmıştır. Ortamın renginin maviye dönüşmesi pozitif sonuca işaret etmektedir (MacFaddin 2000).

B) VITEK-2 sistemi:

Organizma tanımlaması için VITEK-2 kompakt sistemi florojenik ve duyarlılık testi amacıyla da bulanık metrik bir yaklaşım kullanır. Mevcut test kitleri arasında gram-negatif basil tespiti için ID-GN, gram-pozitif kok tespiti için ID-GP, gram-negatif duyarlılık (AST-GN) ve gram-pozitif duyarlılık (AST-GP) bulunmaktadır. VITEK-2 ID-GN kartı, on saat içinde *Enterobacteriaceae* ailesinin 154 farklı türünün yanı sıra seçilmiş bir grup glikoz fermente etmeyen gram-negatif organizmayı da tanımlayabilmektedir. Tüm bakteri izolatları, bakterilerin doğru bir şekilde tanımlandığından emin olmak için VITEK-2 sistemi kullanılarak doğrulamadan geçirilmiştir.

Prosedür (Nakasone *et al.* 2007);

MacConkey agar, taze aktive edilmiş bakterileri yetiştirmek için kullanılmış ve bunlar daha sonra 14 saatlik bir süre boyunca 37°C'ye ayarlanmış bir inkübatöre yerleştirilmiştir. İnkübasyon süresinin ardından, tek bir bakteri kolonisi plastik bir halka aracılığıyla 3 mililitre normal salin hacmine taşınmıştır. Bakterilerin bulanıklığı 0,5 McFarland'a standardize edildikten sonra, çözeltinin bulanıklığı aparatın bir parçası olarak bulunan McFarland spektrofotometresi kullanılarak ölçülmüştür. Kit her bir tüpün içine konmuş ve ardından aparatın içine yerleştirilmiştir. Numune 18 saat boyunca cihazda inkübe edildikten sonra sonuçlar elde edilmiştir.

3.2.5 Biyofilm oluşumunun değerlendirilmesi

Prosedür;

- Kültürü yapılan bakterilerin 100 µL kadar McFarland ölçeğine göre iki mililitre normal salin içeren bir tüpe aktarılmış ve türbidite seviyesi 0,5'e ulaşana kadar ayarlanmıştır.
- Polistiren mikrotitre plakaları kullanılarak, yüzde bir glikoz içeren beyin kalp suyundan 180 µL uygulanmıştır.
- Mikrotitre plakalarının üç kuyucuğunun her birine belirli bir miktarda yirmi mikrolitre mikrobiyal çözelti verilmiştir. Negatif kontrol, her biri bakteri içermeyen bir et suyu içeren altı kuyudan oluşuyordu.
- Plaka daha sonra 37°C'ye ısıtılmış ve kapağı sıkıca kapatıldıktan sonra herhangi bir hareket olmaksızın bütün bir gün boyunca bekletilmiştir. İşlemi başlatmak için aerobik bir ayar kullanılmıştır. Plaka inkübasyondan sonra üç farklı zamanda PBS ile iyice yıkandı ve ardından kurutuldu.
- Biyofilmler yıkandıktan sonra oda sıcaklığına yakın bir yerde 15 dakika bekletildikten sonra 150 µL metanol ilavesiyle havada kendiliğinden kurumaları sağlanarak elimine edilmiştir.
- Plakalar 250 µL kristal viyole solüsyonu kullanılarak 15 dakika boyunca boyandıktan sonra 37°C'de yaklaşık 15 dakika boyunca durulanmış ve kurutulmuştur.
- Boya 200 µL doksan beş konsantre etanol ile karıştırılmıştır. Çizelge 3.8'de gösterildiği gibi, mikrotitre plakasındaki her bir kuyudan 630 nm dalga boyunda optik yoğunluk ölçümü elde etmek için bir okuyucu kullanılmıştır.

Çizelge 3.8 Biyofilm konsantrasyonunun optik yoğunluğu (OD) (Abdi-Ali *et al.* 2014)

Optik yoğunluk (OD)	Biyofilm yoğunluğu
“OD ≤ OD _c *”	Üretmeyen
“2OD _c > OD > OD _c ”	Zayıf ürün
“4OD _c > OD > 2OD _c ”	Orta düzeyde üretim
“OD > 4 OD _c ”	Güçlü üretim

*”Kesme değeri (OD_c)=negatif kontrolün ortalama OD'si+(3*Standart Sapmalar)”

3.2.6 Bakteriyel izolatların depolanması

Kısa periyot; Bakteri izolatının streak kültürü, yirmi dört saatlik bir süre boyunca inkübatöre yerleştirilmeden önce bir agar plakası üzerinde gerçekleştirilmiştir. Daha

sonra üzeri Parafilm ile kapatılmış ve günlük olarak kullanılmak üzere -40°C sıcaklıktaki buzdolabına yerleştirilmiştir (Kilvington *et al.* 2013).

Ara periyot; Agar eğimine bir bakteri kolonisi eklenmiş ve ardından oda sıcaklığında tutulan daha küçük bir cam şişe beyin kalp infüzyon agarına eklendikten sonra 24 saat boyunca 37°C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra Parafilm'e sarılmış ve üç ay boyunca -40°C'de dondurucuda saklanmıştır (Kilvington *et al.* 2013).

Uzun periyot; 37°C'de 700 mikrolitre beyin kalbi infüzyon suyu hacminde yaklaşık 24 saat inkübasyondan sonra, 300 mikrolitre gliserol hacmi bir Eppendorf tüpüne aktarılmış ve tüp bir vorteks kullanılarak hızla karıştırılmıştır. Daha sonra Eppendorf tüpü Parafilm ile sarılmış ve buzdolabında -20°C sıcaklıkta altı ay süreyle saklanmıştır (Kilvington *et al.* 2013).

3.2.7 DNA ekstraksiyon prosedürü

Birinci adım (Bakteri depolamasının yeniden etkinleştirilmesi);

- Bir bakteri kolonisi 2 mililitre beyin kalp infüzyon besiyerine taşınarak karışım daha sonra 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra karışımın 2 dakika boyunca dakikada 7500 devirde santrifüj edilmesiyle 2 mililitre beyin kalp infüzyon besiyerinden hücreler toplanmıştır. Son olarak süpernatant atılmış ve pelletler 180 µL GT1 tamponu ile yeniden süspanse edilmiştir.

İkinci adım (lisis yöntemi);

- Yukarıda açıklanan örneğe 20 µL proteinaz K olarak 200 µL GT2 tamponu eklenmiş ve karışım on saniye boyunca vortekslenmiştir. Numune, 56°C sıcaklıktaki su

banyosunda on dakika süreyle inkübe edilmiş ve inkübasyon sırasında beş dakikalık düzenli aralıklarla ters çevrilmiştir.

Üçüncü adım (Bağlama);

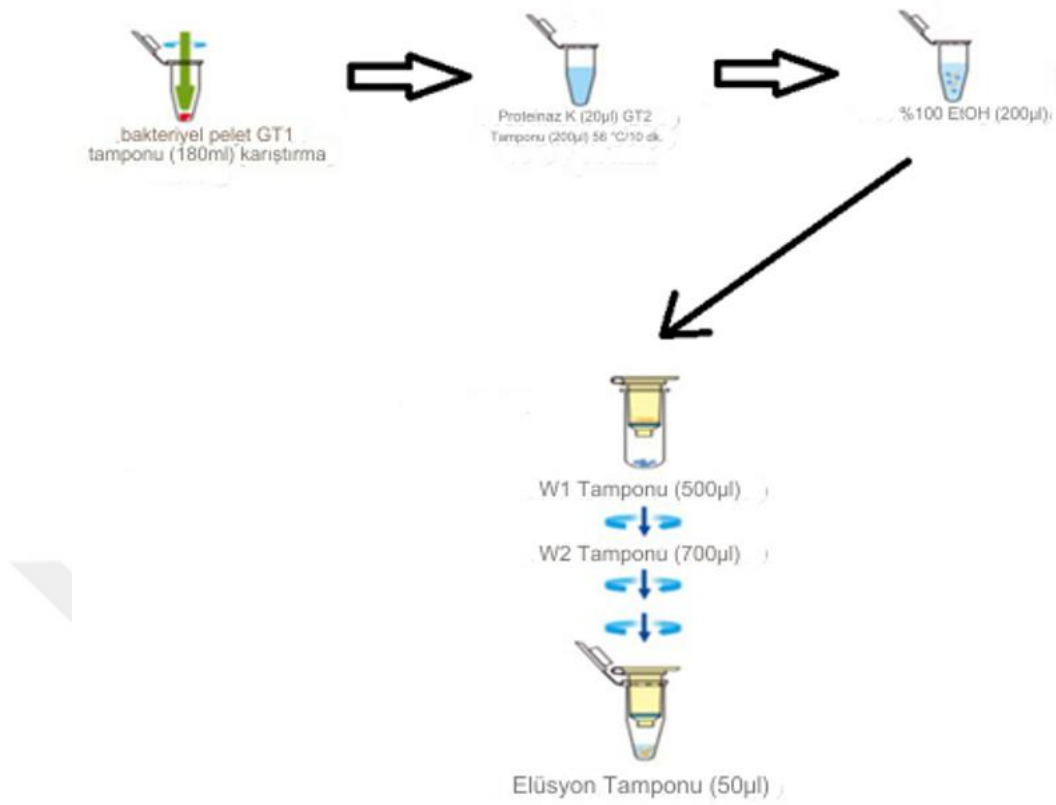
- Beş saniye boyunca bir vorteks ile karıştırıldıktan sonra hazırlanan lizata %100 olan 200 µL etanol dahil edilmiştir. Karışımı döndürme tüpüne uyguladıktan sonra, dakikada 13,000 devir hızında bir dakika süreyle döndürülmüştür. Son olarak Süpernatant çıkarılmış ve çıkarıldıktan sonra bir döndürme kolonuna geri gönderilmiştir.

Dördüncü adım (yıkama);

- 500 µL hacimli W1 tamponu döndürme kolonuna aktarıldıktan sonra karışım, bir mikrosantrifüj aracılığıyla dakikada on üç bin devir hızında bir dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılmış ve ardından döndürme kolonu tekrar bağlantıya getirilmiştir. 750 µL W2 tamponu eklendikten ve dakikada 1300 devirde bir dakika süreyle santrifüj edildikten sonra döndürme kolonu çıkarılmıştır. Bu işlemi takiben süpernatant atılmış ve daha sonra döndürme kolonuna yeniden katılmıştır. Son olarak döndürme kolonu iki dakika boyunca dakikada 13,000 devirlik hızla yeniden santrifüjlenmiştir.

Beşinci adım (elüsyon);

Spin kolonu, değiştirilen Eppendorf tüpüne aktarılmıştır. İnkübasyonun ardından 50 µL hacminde elüsyon tamponu Eppendorf tüpüne aktarılmış ve bir dakika boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu işlemden sonra DNA 13,000 rpm hızda bir dakika santrifüj edilmiş ve ardından -20°C sıcaklıkta buzdolabına yerleştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 DNA ekstraksiyon prosedürü

3.2.8 Ekstrakte edilen DNA'nın saflığının ve konsantrasyonunun değerlendirilmesi

Moleküler biyolojideki çeşitli uygulamalarda DNA konsantrasyonunun ve saflığının değerlendirilmesi gereklidir ve dolayısıyla DNA konsantrasyonunun kesin ölçümü çok büyük öneme sahiptir. DNA kontaminantları, DNA konsantrasyonunun yanlış hesaplanmasına neden olabilir ve bu durum teorik olarak sonraki süreçler için engel teşkil eder. Bu araştırma sırasında, DNA konsantrasyonunun yanı sıra saflık seviyelerini de tespit etmek için NAS-99 Nanodrop spektrofotometresi kullanılmıştır. Konsantrasyonu hesaplamak için gereken DNA miktarı 1 µL'dir. Elüsyon tamponu kullanılarak boş bir çözelti oluşturulmuştur ve sonra Nanodrop'a takılan spektrofotometre okunarak sonuç bilgisayara kaydedilmiştir.

3.2.9 Biyofilmle ilişkili genlerin tespiti

Biyofilmle ilişkili genlerin amplifikasyonu;

Çizelge 3.9 PCR karışımında kullanılan reaktiflerin hacmini açıklamaktadır.

Çizelge 3.9 PCR karışımının reaktiflerinin hacmi (Khalil *et al.* 2021)

Bileşenler	bap	blaPER-1	csuE	ompA
	Hacim (µL)	Hacim (µL)	Hacim (µL)	Hacim (µL)
Go Taq Green Master Mix,	12,5	12,5	12,5	12,5
Yukarı akış primeri	1	1	1	1
Aşağı akış primeri	1	1	1	1
DNA şablonu	5	5	5	5
Nükleaz içermeyen su	5,5	5,5	5,5	5,5
Toplam hacim	25	25	25	25

PCR programı;

Çizelge 3.10 biyofilmle ilişkili genler için PCR amplifikasyon programını açıklamaktadır.

Çizelge 3.10 PCR programı (Khalil *et al.* 2021)

Adımlar	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	94	5 dakika	1
Denatürasyon	94	1 dakika	35
Bap geninin tavlama	55	1 dakika	
blaPER-1 GEN'in tavlama	58	1 dakika	
CsuE geninin tavlama	55	1 dakika	
ompA geninin tavlama	56	1 dakika	
Eklenti	72	45 saniye	
Son uzatma	72	5 dakika	1

3.2.10 Agaroz jel elektroforezi

PCR ürününün tespiti için agarozun hazırlanması;

Doğru miktarda DNA'nın ekstrakte edildiğinden emin olmak için gerçekleştirilmiştir; bu da DNA'nın zarar görmemesini ve kullanılan primerlerin hedef genleri çoğaltmada etkili olmasını sağlamıştır. Tepsi ve taraklar steril deiyonize su ile temizlendikten sonra, taraklar tepsiye dizilmiş ve tepsi düz bir yüzeye yerleştirilmiştir. Hazırlık sürecinin ikinci adımında agaroz, PCR ürünü için 1,5 gram agarozun 100 mililitre 1X-TBE tamponunda çözülmesi ve çözeltinin hafifçe karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Mikrodalgada 100°C'de beş dakika ısıtıldıktan sonra karışım 60°C'ye ulaşana kadar oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Bundan sonra, karışıma 5 mikrolitre etidyum bromür eklenmiş ve beş saniyelik bir süre boyunca iyice karıştırılmıştır. Sıvı tepsiye döküldükten sonra on beş dakika boyunca oda sıcaklığında soğumaya ve sertleşmeye bırakılmıştır. Agaroz katılaştıktan sonra taraklar çıkarılmış akabinde jelin kuyuları 1 µL yükleme tamponu ve 4 µL DNA merdiveni ile doldurulmuştur. Bundan sonra, tepsi tampon tankına yerleştirilmiş ve tank 1X TPE tamponu ile doyurulmuştur. Devamında, PCR ürününü üretmek için elektrik gücü kırk beş dakikalık bir süre boyunca en yüksek voltajlarında açılmıştır. Bunun sonucunda DNA, katodun kutuplarından (-) anodun kutuplarına (+) doğru hareket etmiştir. DNA bandını gözlemlemek için bir UV-transillüminatör kullanılmıştır.

3.3 İstatistiksel Analiz

Bu kesitsel prospektif çalışmanın istatistiksel analizi GraphPad Prism versiyon 7 ve Microsoft Excel 2016 ile gerçekleştirilmiştir. Sayısal veriler ortalama ve standart sapma olarak tanımlanmıştır. Kategorik veriler sayı ve yüzde olarak tanımlanmıştır. Değişkenler arasındaki ilişkiyi tahmin etmek için ki-kare testi kullanılmıştır. İki grup arasındaki karşılaştırma için bağımsız örneklem t-testleri kullanılırken, ikiden fazla grup için varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

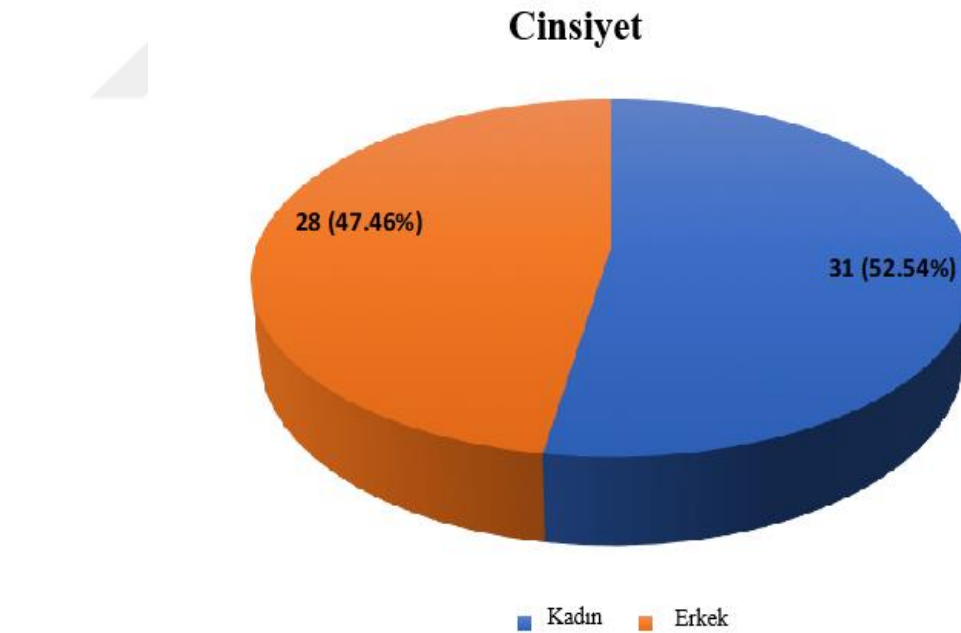
4.1 Hastaların Demografik Özellikleri (Yaş ve Cinsiyet Dağılımı)

Bu çalışma, Kasım 2021 ile Mayıs 2022 tarihleri arasında Babil/İrak'taki çeşitli hastanelere ve kliniklere başvuran, farklı cinsiyet ve farklı yaşlardaki hastalardan (idrar, kulak iltihabı, boğaz sürüntüsü, kan, cilt lezyonu) 200 numune alınarak, *Acinetobacter baumani*'yi izole etmek ve teşhis etmek amacıyla Kasım 2021 ile Mayıs 2022 tarihleri arasında Babil/İrak'taki çeşitli hastanelere başvuran, farklı cinsiyet ve yaştaki hastalardan farklı klinik bölgelerden (idrar, kulak iltihabı, boğaz sürüntüsü, kan, cilt lezyonu) 200 örnek alınarak gerçekleştirilmiştir. Yaşa göre, hastaların minimum yaşı 9 iken maksimum yaşı 78'dir ve yaş ortalaması $35,69 \pm 18,05$ 'tir. *Acinetobacter baumannii*, hastane ortamlarında hem kuru hem de ıslak yüzeylerde varlığını sürdürebilme kapasitesi nedeniyle önemli bir nozokomiyal patojen olarak öne çıkan patojenik bir mikroorganizma olarak tanımlanmıştır. Bu bakteri yakın zamanda küresel ölçekte ortaya çıkmıştır (Tavakol *et al.* 2018). Çalışmam Irak'ın Babil kentindeki hastanelere başvuran hastalar arasında *A. baumannii*'nin yüksek bir prevalansa sahip olduğunu (%29,5) gösterdi. Bu oran, Irak'ta Dohuk şehrinde yatan hastalar arasında *A. baumannii* prevalansının %10,1 olduğunu bildiren başka bir çalışmaya göre daha yüksektir. (Mahmood *et al.* 2023). Kim *et al.* 2018 tarafından yürütülen ve hastanede yatan hastalarda yüksek *A. baumannii* oranı (%73,8) bildiren bir çalışmadan ise daha düşüktür. Sağlık tesislerinde *A. baumannii* enfeksiyonunun görülmesi, yetersiz enfeksiyon kontrol uygulamalarına, antibiyotik maruziyetinin eşlik ettiği uzun hastanede yatış sürelerine, kontamine tıbbi cihazların varlığına, aşırı kalabalığa ve organizmanın farklı yüzeyleri kolonize etme ve biyofilm oluşturma kapasitesine bağlanabilir. Ayrıca, mekanik ventilasyon, cerrahi operasyonlar, kateter kullanımı, ilerleyen yaş ve komorbiditelerin varlığı gibi birçok faktör enfeksiyon riskini artırabilir (İbrahim 2019).

Bu durumdan etkilenenlerin demografik özelliklerine bakıldığında, çalışmam Irak'ta yapılan başka bir çalışma ile karşılaştırıldığında en yüksek izolat görülme sıklığının 51-60 yaş grubunda olduğu bulunmuştur (Mahmood *et al.* 2023). Irak'ın Bağdat kentinde yakın zamanda yapılan bir araştırma, 50 yaş ve üzeri hastalarda izolatların yüksek

prevalansını ortaya çıkardı (Bianchi 2019). Bağdat'ta yapılan ayrı bir araştırma, 40 yaş ve üzeri bireyler arasında *A. baumannii* yaygınlığının yüksek olduğunu buldu (Kanaan and Khashan 2022). Mevcut araştırmanın bulgularıyla tutarlı olarak, Birleşik Krallık'ta yapılan bir araştırma, izolasyonun en yüksek yaygınlığının 35 yaş ve üzeri kişiler arasında olduğunu bildirmiştir (KhalaweTektook 2018). Gözlenen farklılıklar örneğin büyüklüğü, etkilenen bireylerin yaşı ve örneklerin toplandığı coğrafi bölge gibi faktörlere bağlanabilir. Ayrıca ileri yaş, *A. baumannii* enfeksiyonlarının gelişmesiyle ilişkili risk faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Yaşlı bireyler, belirli vücut sistemlerinin yapısal ve işlevsel bütünlüğünün bozulması ve immünolojik duyarlılığın azalması gibi birçok faktör nedeniyle enfeksiyonlara karşı duyarlılığı arttırmıştır (Dexter *et al.* 2015).

Bu çalışmadaki hastaların cinsiyeti açısından bakıldığında, Şekil 4.1'de görüldüğü gibi kadın hastaların sıklığı 31 (%52,54) erkek hastaların sıklığından 28 (%47,46) daha yüksek olarak belirlenmiştir.



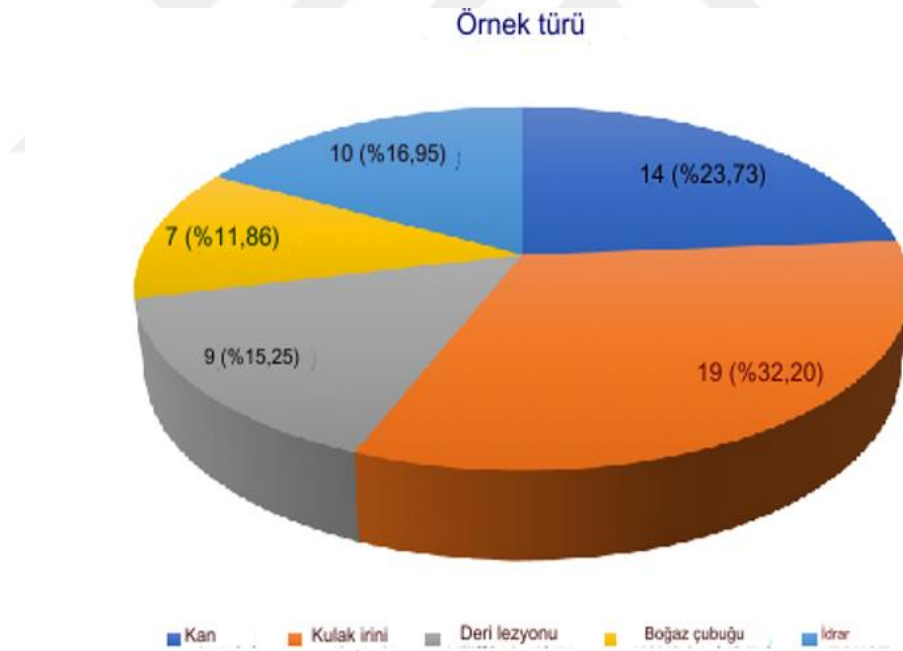
Şekil 4.1 Hastaların cinsiyet dağılımı

Mevcut araştırmanın bulgularıyla tutarlı olarak, Irak'ta yapılan bir araştırma, *A. baumannii* izolatlarının erkeklerde (%68,8) kadınlara (%35,2) kıyasla daha yüksek bir prevalansa sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır (Mahmood *et al.* 2023). Ürdün ve Irak'ta

yapılan araştırmalar, erkeklerde bu durumun yaygınlığının sırasıyla %65,6 ve %61,2 ile kadınlara göre sırasıyla %34,4 ve %38,8 ile daha yüksek olduğunu tutarlı bir şekilde göstermiştir (Al-Tamimi *et al.* 2022, Dexter *et al.* 2015). Fizyolojik ve davranışsal faktörlerdeki farklılıklar ile immünolojik durumdaki farklılıklar, kadınlar arasındaki açıklamalardaki farklılıkları açıklayabilir (Mohammed *et al.* 2022).

4.2 Örnek Türlerinin Dağılımı

Acinetobacter baumannii izolatları için pozitif olan 59 örnek arasında en yüksek sayı 19 (%32,20) ile kulak irin örnekleriyle ilişkilidir; bunu 14 (%23,78) ile kan örnekleri, 10 (%16,95) ile idrar örnekleri ve deri lezyonu örnekleri izlemiştir. Şekil 4.2'de açıklandığı gibi 9 (%15,25) ile boğaz sürüntüsü örnekleri en düşük sayı olan 7 (%11,86) ile ilişkilendirilmiştir.



Şekil 4.2 Örnek türlerinin sıklığı

Benim çalışmamla karşılaştırıldığında Irak'ta yapılan çalışmalardan birinde izolatların en büyük yüzdesinin balgam örneklerinde, ardından yanık, yara ve idrarda, en düşük yüzdenin ise kan örneklerinde olduğu ortaya çıkmıştır (Zidan *et al.* 2022). Başka bir

çalışma, yaraların en yüksek bakteri izolat yüzdelerini ürettiğini, bunu yanık enfeksiyonları, boğaz örnekleri, idrar örnekleri ve kan kültürlerinin izlediğini gösterdi. Buna karşılık en düşük izolat oranı balgam örneklerinden elde edildi (Al-Mousawi *et al.* 2018). Irak'ta yapılan ayrı bir çalışmada izolatların çoğunluğunun trakeal aspirat örneklerinden elde edildiği ve bunu takip eden izolat kaynaklarının balgam ve yanık yaraları olduğu görülmüştür (Hassan and Khider 2020). Amudhan *et al.* (2011) izolatların en büyük oranının solunum salgılarından kaynaklandığını, bunu kan ve yaraların takip ettiğini belirtmiştir. Üstelik Martins *et al.* (2012), baskın izolatların pulmoner sistemden elde edildiğini ve kan ve idrar kültürlerinin de bunu takip ettiğini keşfetmiştir. Irak'ta yürütülen yerel araştırma, *A. baumannii*'nin neden olduğu hastane enfeksiyonlarında değişen izolasyon oranlarının teşhisini ve tanımlanmasını gerçekleştirmiş ve izolatların dağılımı hakkında çeşitli bulgular ortaya çıkarmıştır (Urdan 2001). Üstelik bu bulgular, *A. baumannii* bakterisinin çeşitli klinik kaynaklardan başarılı bir şekilde geri kazanıldığı İran'da yürütülen benzer araştırmalarla da desteklenmiştir (Al-Sehlawi *et al.* 2013, Fallah *et al.* 2017). Farklı çalışmalarda gözlemlenen *A. baumannii* izolasyonunun oranı ve yüzdesindeki farklılıklara katkıda bulunabilecek çeşitli faktörler vardır. Bu faktörler, hastane içerisinde numunelerin toplandığı belirli lokasyonu, çalışmanın yürütüldüğü coğrafi bölgeyi, numunelerin toplandığı zaman dilimini ve her çalışmaya dahil edilen numune sayısındaki değişimi içermektedir (Babapour *et al.* 2016).

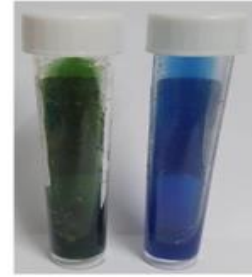
4.3 Bakteri İzolatlarının Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri

Örneklerin tamamı MacConkey agarda kültüre edilmiş olup, *Acinetobacter baumannii* kolonileri orta büyüklükte, mukoid olmayan, pigmentsiz ve geç laktoz fermentasyonuna sahip olup, ayrıca bakteri izolatlarının tamamı katalaz testi, simmon sitrat testi pozitif, simmon sitrat testi ise negatif bulunmuştur (Şekil 4.3). Mevcut araştırma için yalnızca klinik örneklerden saf ve baskın üreme olarak toplanan bakteriyel izolatlar araştırmaya dahil edilmiştir. Bu bakterilerin tanımlanması, kolonyal görünümünün gözlemlenmesi ve biyokimyasal özelliklerinin Bergey'nin belirleyici bakteriyoloji el kitabında ve MacFaddin'de sağlanan standart açıklamalarla karşılaştırılması yoluyla gerçekleştirilmiştir (Holt 1994, MacFaddin 2000). Bununla birlikte izolatların kültür morfolojisi ve biyokimyasal özellikleri, daha ileri biyokimyasal testlere tabi

tutulduklarında *A. baumannii* ile tutarlı tipik davranışlar sergilediklerini göstermektedir. *A. baumannii* izolatları bakteriyolojik prosedürlerin kullanılması, koloni morfolojisinin değerlendirilmesi ve mikroskopik özelliklerin incelenmesi yoluyla fenotipik olarak tanımlanmıştır. İzolatların özellikleri biyokimyasal analizler kullanılarak belirlenmiş ve ardından VITEK-2 sistemi kullanılarak doğrulanmıştır. Bakteriyel izolatların kesin tanımlanması ve sınıflandırılması, özellikle hastane salgınlarında rol oynayan türlerin ayırt edilmesi bağlamında büyük önem taşımaktadır (Lahiri *et al.* 2004). Bu çalışmanın bulguları, Misbah *et al.* (2005) ve diğer bilim adamlarının bu konuyla ilgili olarak yürüttüğü önceki araştırmalarla tutarlıdır.



A) *Acinetobacter baumannii* izolatları MacConkey agar üzerinde



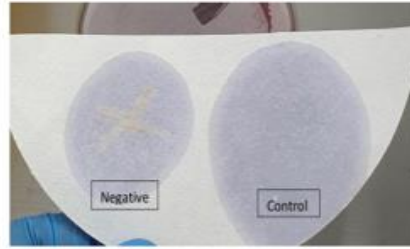
Citrate test positive blue color

B) *Acinetobacter baumannii* izolatları sitrat agar üzerinde



Catalase test positive
Bubbles formation

C) Katalaz testi



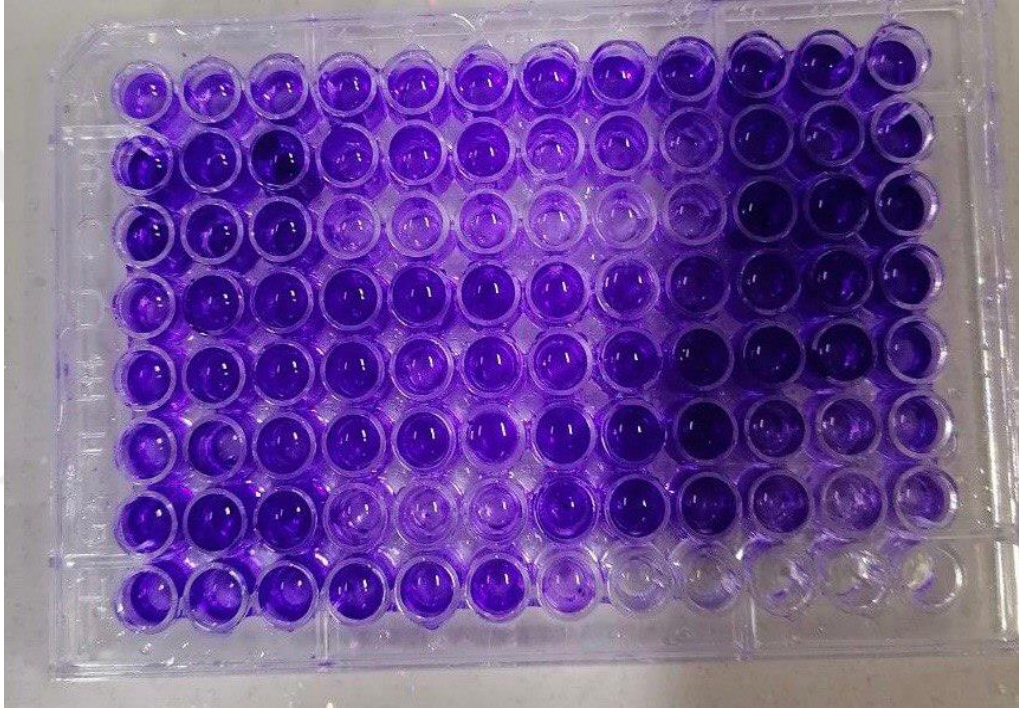
Oxidase test negative

D) Oksidaz testi

Şekil 4.3 *Acinetobacter baumannii* izolatlarının morfolojik ve biyokimyasal özellikleri

4.4 Biyofilm Oluşumu

Çizelge 4.1'de gösterildiği üzere, 59 bakteri izolatu arasında 53 izolat biyofilm üretme kabiliyetine sahip olup, güçlü 26 (%44,1), orta 17 (%28,8) ve zayıf 10 (%16,9) olmak üzere üç gruba ayrılırken, sadece 6 (%10,2) izolat biyofilm üretimiyle ilişkili bulunmamıştır. Kullanılan mikrotitre plakasına göre biyofilm konsantrasyonları Şekil 4.4'te gösterilmektedir.



Şekil 4.4 Mikrotitre plakasındaki biyofilm konsantrasyonu

Çizelge 4.1 Bakteri izolatları arasında biyofilm oluşturma kapasitesi

	Grup	Sayı	Yüzde
Biyofilm oluşumu	Orta	17	%28,8
	Olmayan	6	%10,2
	Güçlü	26	%44,1
	Zayıf	10	%16,9

Biyofilm, hareketsiz hale gelen ve bir yüzeye sıkı bir şekilde bağlanan, sabit bir yapı oluşturan bir mikroorganizma topluluğunu ifade eder. Bu topluluk, bir alt tabakaya geri

dönülemez şekilde bağlanan ve mikroorganizmaların kendileri tarafından oluşturulan hücre dışı polimerik maddelerden (EPS) oluşan bir matris ile çevrelenen hücrelerin varlığıyla ayırt edilir (Lee *et al.* 2008). Süreç, bakterilerin yüzeye ilk yapışmasıyla başlayıp benzersiz bir üç boyutlu yapı sergileyen tam olarak oluşturulmuş bir biyofilmin gelişimiyle sonuçlanan ayrı aşamalara ayrılabilir (De Araujo *et al.* 2010). Bir biyofilm içindeki yüzeye bağlı gelişime uyum sağlama süreci, metabolik aktivitedeki değişikliklerin yanı sıra gen ve protein ifadesindeki dikkate değer değişikliklerle karakterize edilir. Bu adaptasyonlar, biyofilmin antimikrobiyal tedaviye dayanma ve konakçı temizleme süreçlerinden kaçma yeteneğine katkıda bulunur. Hareketlilik, bağlanma, taşınma, strese tepki, metabolik yolların aktivasyonu ve hücre dışı polimerik madde (EPS) oluşumu gibi bakteriyel süreçler her adımda önemlidir ve tipik olarak çekirdek algılama ile kontrol edilir. Bu olayda bakteriler, kemotaktik parçacıklar veya feromonlar aracılığıyla hücreler arası iletişime girerek bakterilerin planktonik fenotipten yüksek hücre yoğunluğu ile karakterize edilen biyofilm fenotipine geçişini kolaylaştırır (Hassan *et al.* 2011, Prashanth *et al.* 2012).

A. baumannii'nin biyofilm üretme yeteneği, patojenitesinin yanı sıra birçok durumda uzun süreli hayatta kalmasına da katkıda bulunur. Türe bakılmaksızın enfekte bireylerde tedavi başarısızlığının birincil nedeni, *A. baumannii* başta olmak üzere biyofilm oluşumuyla birlikte antibiyotik direncinin gelişmesidir (Farshadzadeh *et al.* 2015). Biyofilmin oluşumu pH, sıcaklık, hücre dışı serbest demir içeriği ve ortamdaki tuz konsantrasyonu gibi çeşitli parametrelerden etkilenir (Jachlewski *et al.* 2015). Çeşitli araştırmalar, *A. baumannii* suşlarının hem canlı hem de cansız yüzeylerde biyofilm oluşturma kapasitesinin, yapışma ve biyofilm oluşumuna katkıda bulunan faktörler olarak tanımlanan çeşitli gen ürünlerine dayandığını göstermiştir. Bu genlerin susturulması biyofilm oluşumunun baskılanmasıyla sonuçlanır (Gaddy and Actis 2009, Roy *et al.* 2022). Hassan *et al.* (2011), bakterilerin yaklaşık %49'unun biyofilm üretme kapasitesinin orta veya yüksek olduğunu, diğer bakterilerin ise biyofilm oluşturmadığını veya düşük biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğunu buldu. Dheepa (2011), biyofilm oluşumu üzerine yaptıkları araştırmada gösterildiği gibi, analiz edilen 50 izolatın %60'ının biyofilm oluşturma kapasitesine sahip olduğunu buldu. Benzer şekilde, başka bir

araştırma incelemesi, izolatların %62'sinin biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğunu buldu (Rao *et al.* 2008).

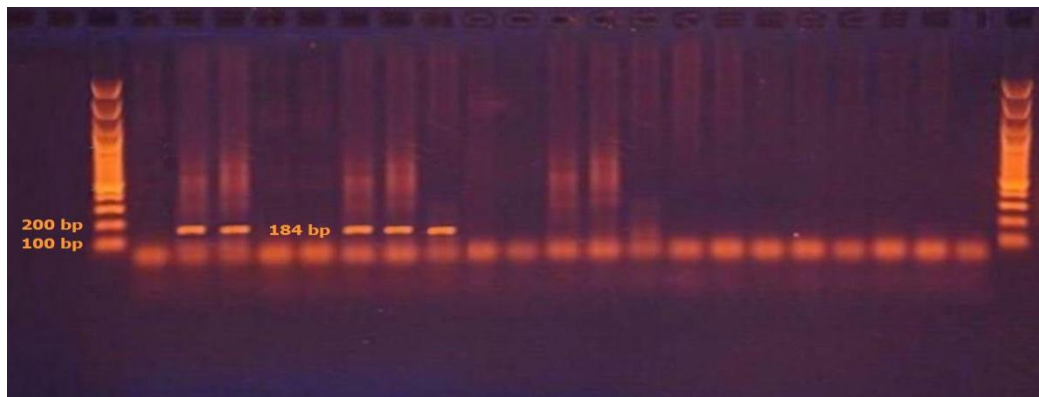
4.5 Biyofilmle İlişkili Genlerin Yaygınlığı

Çalışmam sırasında biyofilmle ilişkili genlerin yaygınlığını araştırmak için PCR teknolojisi kullanıldı. Tabloda görüldüğü gibi CruF geninin sıklığı %76,3 ile en yüksek olurken onu %69,5 ile bap bla PER-1 geni, %62,7 ile bap geni izledi ve son olarak OmpA geninin frekansı %44'e ulaştı (Çizelge 4.2).

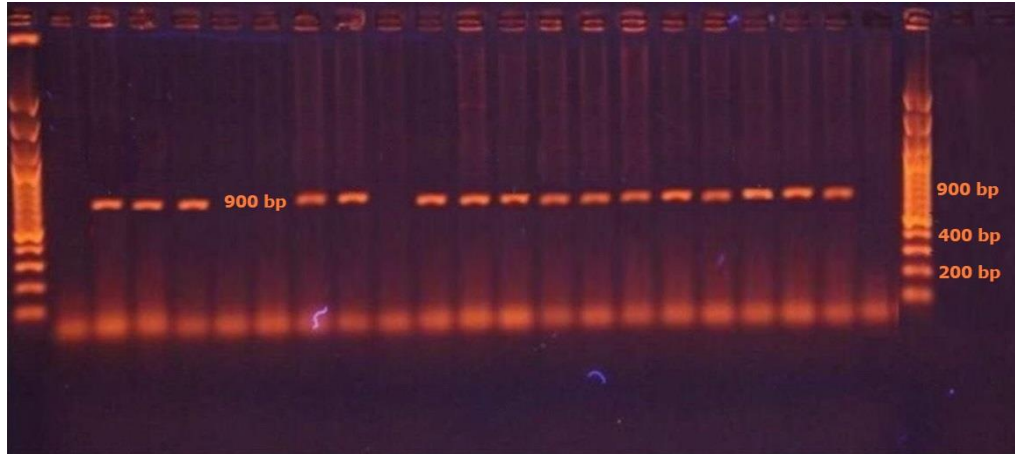
Çizelge 4.2 Gen frekansı

Genler	Yaygınlık	Sayı	%
bap	Olumsuz	22	%37,3
	Pozitif	37	%62,7
bap blaPER-1	Negatif	18	%30,5
	Pozitif	41	%69,5
OmpA	Negatif	33	%55,9
	Pozitif	26	%44,1
csuE	Negatif	14	%23,7
	Pozitif	45	%76,3

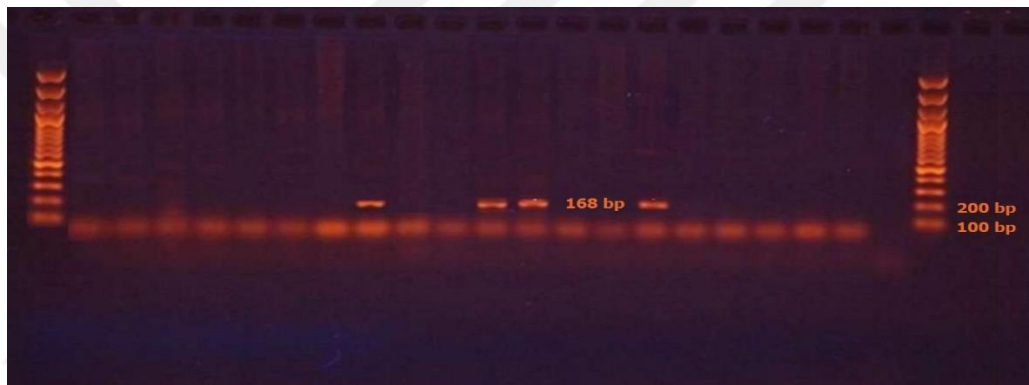
csuF ve ompA genlerinin PCR ürünleri sırasıyla Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de gösterilmektedir.



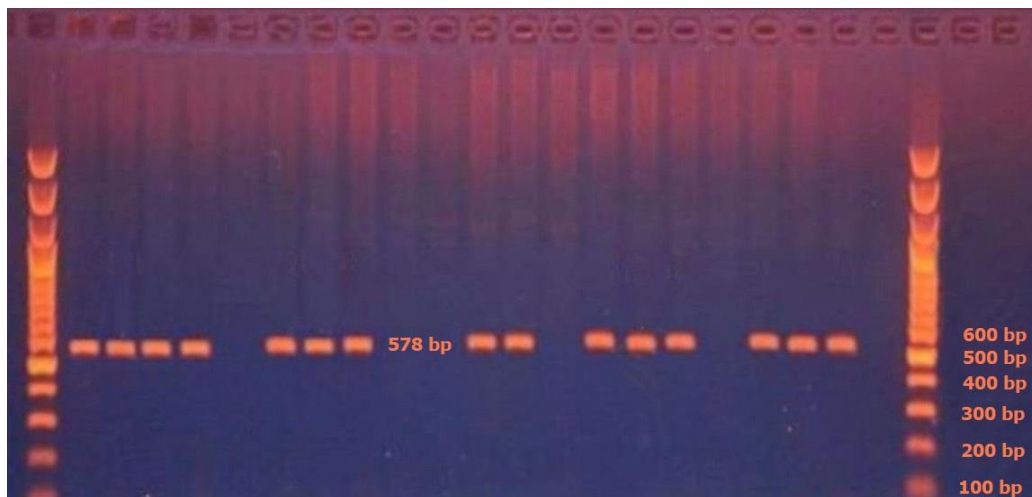
Şekil 4.5 Jel elektroforezinde bap geninin PCR ürünü



Şekil 4.6 Jel elektroforezinde bla-PER-1 geninin PCR ürünü



Şekil 4.7 Jel elektroforezinde csuF geninin PCR ürünü



Şekil 4.8 Jel elektroforezinde ompA geninin PCR ürünü

Biyofilm ile ilişkili proteini (Bap) kodlayan bap geni gibi biyofilm oluşumunda rol oynayan genlerin incelenmesi de dahil olmak üzere fenotipik ile ilgili çeşitli biyolojik yollar araştırılmıştır (Loehfelm *et al.* 2008). Bap proteini, tekrarlanan modüllerden ve değişken bir diziden oluşan oldukça büyük bir genden sentezlenir. Bu protein, hücreler arası yapışmayı kolaylaştırmada ve bakteri hücrelerinin birikimini teşvik etmede çok önemli bir işlev görürken aynı zamanda biyofilm yapılarının korunmasına da katkıda bulunur (Brossard and Campagnari 2012). *Acinetobacter* Bap proteini, önemli bir moleküler ağırlık, modüler bir yapı ve hücre yüzeyinde lokalizasyon dahil olmak üzere diğer Bap proteinleriyle karşılaştırılabilir özelliklere sahiptir (Cucarella *et al.* 2001).

Çoklu ilaç direncine sahip *A. baumannii*'nin klinik izolatları tarafından biyofilmlerin geliştirilmesinde virülans genlerinin (bap, blaPER, ompA ve csuE) katılımı, dağılımlarında açıkça görülmektedir (Longo *et al.* 2014). Araştırmamızda biyofilm oluşumuyla ilişkili genlerin varlığını tespit etmek için bir polimeraz zincir reaksiyonu tekniği kullanılmıştır. Daha önce yapılan araştırmalarda izolatlarda bap, blaPER, ompA ve csuE genlerinin görülme oranları sırasıyla %79,2, %38,3, %91,6 ve %68,8 olarak bulunmuştur (Yang *et al.* 2019). İranin tarafından yürütülen araştırmaya toplam 118 izolat dahil edilmiş ve araştırmanın sonuçları, bap, csuE ve bla-PER1 genlerinin tespit oranlarının sırasıyla %70,3, %93,2 ve %54,2 olduğunu ortaya çıkarmıştır (Monfared *et al.* 2019). Avustralya'da yapılan araştırmalar izole edilen bakterilerin %92'sinde bap geninin bulunduğunu ortaya koymuştur (Goh *et al.* 2013). İran'da yapılan çalışmanın aksine izolatların %66'sının bap genine sahip olduğu belirlenmiştir (Azizi *et al.* 2016). Çalışmalar arasında gözlemlenen farklılıklar, enfeksiyonun spesifik konumu, ilgili bakteri suşlarının genetik çeşitliliği ve patojenik bakterilerin coğrafi kökeni gibi faktörlere bağlanabilir.

4.6 Bakteriyel İzolatlar Arasında Antibiyotik Duyarlılığı Profili

Bakteri izolatları çeşitli antibiyotik türlerine karşı farklı düzeylerde direnç göstermiştir; en yüksek düzey trimetoprim-sülfametoksazole (%57,6) karşı görülürken, bunu gentamisin ve imipenem (%55,9), seftazidim (%52,5) ve amikasin (%50,8), streptomisin (%47,5), tigesiklin (%44,1), sefepim (%39), karbenisilin (%37,3) ve piperasiline (%25,4)

izlemiştir. buna karşın en düşük düzey tikarsiline karşı (%23,7) görülmüştür (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Bakteri izolatları arasındaki antibiyotik direnci profili

Antibiyotik türleri	Direnç modeli	Sayı	%
Tigesiklin	I	3	%5,1
	R	26	%44,1
	S	30	%50,8
Trimetprim -Sülfametoksazol	I	3	%5,1
	R	34	%57,6
	S	22	%37,3
Gentamisin	I	3	%5,1
	R	33	%55,9
	S	23	%39,0
Amikasin	I	4	%6,8
	R	30	%50,8
	S	25	%42,4
Streptomisin	I	7	%11,9
	R	28	%47,5
	S	24	%40,7
Sefepim	I	6	%10,2
	R	23	%39,0
	S	30	%50,8
Seftazidim	I	6	%10,2
	R	31	%52,5
	S	22	%37,3
Imepenem	I	7	%11,9
	R	33	%55,9
	S	19	%32,2
Tikarsilin	I	1	%1,7
	R	14	%23,7
	S	44	%74,6
Piprasilin	I	7	%11,9
	R	15	%25,4
	S	37	%62,7
Karbensilin	I	2	%3,4
	R	22	%37,3
	S	35	%59,3

A. baumannii'de geniş spektrumlu antibakteriyel ilaçlara karşı direncin ortaya çıkması dünya çapında önemli bir endişe haline gelmiştir. Irak'ta yapılan araştırmanın bulguları, *A. baumannii* suşları arasında sefotaksim, amikasin, piperasilin, tobramisin ve gentamisine karşı kayda değer bir direnç prevalansını ortaya çıkarmıştır; bu da bu ilaçların antibakteriyel etkinliğinin azaldığını göstermektedir. Trimetoprim-sülfametoksazol, doksisisiklin ve levofloksasinin izole edilmiş *A. baumannii* izolatlarına

karşı en yüksek düzeyde antibiyotik etkinliği sağladığı gösterilmiştir (Mahmood *et al.* 2023). Ayrıca Irak'ta yapılan bir araştırmanın bulguları, gentamisin direncinin kayda değer bir yaygınlığını ortaya çıkarmış, bunu levofloksasin, siprofloksasin ve tobramisine takip etmiştir (Abbas-Al-Khafaji and Aubais-Aljeleahawy 2021). Ayrıca Irak'ın Erbil şehrinde çeşitli klinik kaynaklar kullanılarak yapılan araştırmalar, siprofloksasin ve piperasilin'e karşı kapsamlı bir direnç ortaya koyarken, gentamisin ve amikasin'e karşı da önemli düzeyde direnç sergilediğini ortaya çıkarmıştır (Hassan and Khider 2020). Ayrıca Türkiye'de yapılan araştırmalarda amikasin, gentamisin ve tobramisine direnç görülme sıklığının azaldığı ancak piperasilin direncinin daha yüksek olduğu, bunu siprofloksasin, levofloksasin ve trimetoprim-sülfametoksazolün takip ettiği ortaya konmuştur (Şimşek and Demir 2020). Avrupa'da yapılan bir araştırma, antimikrobiyal ilaçlara karşı değişen oranlarda direnç ortaya çıkarmıştır; sefotaksim ve gentamisin orta derecede direnç gösterirken amikasin ve siprofloksasin daha düşük direnç gösterdiğini belirlemiştir (Mekonnen *et al.* 2021). Bu sonuçlarda gözlenen farklılıklar, antibiyotiklerin farklı coğrafi bölgelerde aşırı kullanımına atfedilebilir, bu da direnci teşvik eden seçim baskısının ortaya çıkmasına ve duyarlılık testi metodolojilerinde farklılıklara yol açabilir. Direncin gözlemlenen yüksek prevalans oranı, potansiyel olarak, uygun antibiyotiklerin yetersiz seçimi, optimal olmayan dozlama, yetersiz tedavi süresi ve antimikrobiyal kullanımına ilişkin yetersiz kontrol önlemleri gibi faktörler de dahil olmak üzere, antibiyotik izleme programlarının optimal olmayan şekilde uygulanmasına bağlanabilir. Bu faktörlerin tümü dirençli izolatların ortaya çıkmasına ve çoğalmasına katkıda bulunur (Dyar *et al.* 2017).

4.7 Biyofilmle İlişkili Genler ile Biyofilm Oluşumu Arasındaki İlişki

Çizelge 4.4'e göre, *bap*, *bap* bla PER-1, *OmpA* ve *csuF* genleri güçlü ve orta derecede biyofilm oluşturan izolatlar arasında (%62,2 ve %29,7) (%56,1 ve %26,8) (%50 ve %34) ve (%51,1 ve %31,1), zayıf ve biyofilm oluşturmayan izolatların aksine, ayrıca *bap*, *bap* blaPER-1 ve *csuF* genlerinin yaygınlığı ile biyofilm oluşumu arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur (*p*-değeri=sırasıyla <0,001, 0,021 ve 0,003). Buna karşın, *OmpA* geninin yaygınlığı ile biyofilm oluşumu arasında bir ilişki bulunmamıştır (*p*-değeri=0,127).

Çizelge 4.4 Bakteriyel izolatlar arasında gen prevalansı ile biyofilm oluşumu arasındaki ilişki

		Biyofilm oluşumu								p değeri
		Yok		Zayıf		Orta		Güçlü		
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
bap	Negatif	5	%22,70	8	%36,40	6	%27,30	3	%13,60	<0,001
	Pozitif	1	%2,70	2	%5,40	11	%29,70	23	%62,20	
bap blaPER-1	Negatif	3	%16,70	6	%33,30	6	%33,30	3	%16,70	0,021
	Pozitif	3	%7,30	4	%9,80	11	%26,80	23	%56,10	
OmpA	Negatif	6	%18,20	6	%18,20	8	%24,20	13	%39,40	0,127
	Pozitif	0	%0,00	4	%15,40	9	%34,60	13	%50,00	
csuE	Negatif	5	%35,70	3	%21,40	3	%21,40	3	%21,40	0,003
	Pozitif	1	%2,20	7	%15,60	14	%31,10	23	%51,10	

Bu araştırma, biyofilm üretimi ile bap, csuE, ompA ve blaPER-1 gibi belirli genler arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçlamıştır. Biyofilmle ilişkili proteinin ifadesi bakterilerin hücrel membranlarında meydana gelir. *A. baumannii*'deki bap geninin çok sayıda taşıyıcısı hem canlı hem de cansız yüzeylerde biyofilm üretme yeteneğine sahiptir (Aliramezani *et al.* 2016). *Acinetobacter* izolatlarının çoğunluğu bap genine sahiptir. Bu genin izolatlarda görülmesi, biyofilm üretimi ile istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon göstermektedir. Çok sayıda araştırma, bap genini barındıran bakteri izolatları arasında biyofilm geliştirme kapasitesinde bu geni barındırmayanlara kıyasla önemli bir eşitsizlik olduğunu da göstermiştir (Azizi *et al.* 2016, Sung *et al.* 2016). Daha sonraki araştırmalar, bap geninin biyofilm oluşumu sürecine önemli ölçüde dahil olduğunu göstermiştir (Monfared *et al.* 2019). Csue adı verilen bir gen biyofilm oluşumuyla bağlantılıdır ve hücrelerin birbirine yapışmasına ve biyofilm oluşturmaya yardımcı olan usher-chaperone montaj sisteminin bir parçasıdır (El-Shazly *et al.* 2015). Başka bir çalışmada, csuE geni barındıran suşlar ile biyofilm oluşturma kapasitesi arasında ilişki bulunmuştur (Yang *et al.* 2019). Geniş spektrumlu dirençli gen blaPER-1'e sahip *A. baumannii* izolatları, blaPER-1'e sahip olmayanlara kıyasla önemli ölçüde daha fazla biyofilm oluşturma kapasitesi sergilemiştir (Stowe *et al.* 2011). Daha önce yapılan bir araştırma, blaPER-1 geninin varlığı ile biyofilm geliştirme süreci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir (Yang *et al.* 2019). Hamadan'da yapılan bir araştırmanın aksine, bulgularımız biyofilm üretimi ile blaPER-1 geninin varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ortaya koymamıştır (Bardbari *et al.* 2017). Dolayısıyla, *A. baumannii*'nin dikkate değer özelliğinin, gen taşıyan hücrelerde hücrel bağlanmayı artıran, ancak biyofilm gelişimini doğrudan etkilemeyen blaPER-1'in yukarı

regülasyonuna atfedilebileceğini önermek mümkündür. OmpA, *A. baumannii*'deki dış membran proteinleri arasında baskın yüzey proteini olarak tanımlanmıştır. OmpA proteini bir porin olarak işlev görerek ökaryotik hücre yapışmasında önemli bir rol oynarken, serum direnci ve biyofilm gelişiminde de kısmi bir rol oynamaktadır (Gaddy *et al.* 2009). Yürütülen araştırmada, OmpA geninin varlığı ile biyofilm üretimi arasında anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir. Bununla birlikte, mevcut bilgiler OmpA'nın biyofilm gelişiminin indüksiyonundan sorumlu olup olmadığını belirlemek için yetersizdir.

4.8 Biyofilm Oluşumu ile Antibiyotik Direnç Modelleri Arasındaki İlişki

Çalışma sırasında biyofilm oluşumu ile antibiyotik direnç kalıpları arasındaki ilişki araştırılmış, Çizelge 4.5'de gösterildiği gibi antibiyotik direnç kalıpları ile biyofilm oluşumu arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

Çizelge 4.5 Biyofilm oluşumu ile antibiyotik direnç modelleri arasındaki ilişki

Antibiyotik türleri	Dayanıklılık	Biyofilm oluşumu								p değeri
		Yok		Zayıf		Orta		Güçlü		
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Tigesiklin	I	1	%33,30	1	%33,30	0	%0,00	1	%33,30	0,191
	R	4	%15,40	6	%23,10	5	%19,20	11	%42,30	
	S	1	%3,30	3	%10,00	12	%40,00	14	%46,70	
Trimetprim - Sülfametoksazol	I	1	%33,30	1	%33,30	1	%33,30	0	%0,00	0,561
	R	3	%8,80	7	%20,60	9	%26,50	15	%44,10	
	S	2	%9,10	2	%9,10	7	%31,80	11	%50,00	
Gentamisin	I	0	%0,00	1	%33,30	0	%0,00	2	%66,70	0,299
	R	2	%6,10	8	%24,20	9	%27,30	14	%42,40	
	S	4	%17,40	1	%4,30	8	%34,80	10	%43,50	
Amikasin	I	0	%0,00	1	%25,00	1	%25,00	2	%50,00	0,974
	R	4	%13,30	5	%16,70	9	%30,00	12	%40,00	
	S	2	%8,00	4	%16,00	7	%28,00	12	%48,00	
Streptomisin	I	3	%42,90	0	%0,00	1	%14,30	3	%42,90	0,083

	R	1	%3,60	5	%17,90	8	%28,60	14	%50,00	
	S	2	%8,30	5	%20,80	8	%33,30	9	%37,50	
Sefepim	I	2	%33,30	1	%16,70	0	%0,00	3	%50,00	0,277
	R	3	%13,00	4	%17,40	8	%34,80	8	%34,80	
	S	1	%3,30	5	%16,70	9	%30,00	15	%50,00	
Seftazidim	I	0	%0,00	0	%0,00	1	%16,70	5	%83,30	0,511
	R	3	%9,70	7	%22,60	9	%29,00	12	%38,70	
	S	3	%13,60	3	%13,60	7	%31,80	9	%40,90	

Çizelge 4.5 Biyofilm oluşumu ile antibiyotik direnç modelleri arasındaki ilişki (Devam)

Antibiyotik türleri	Dayanıklılık	Biyofilm oluşumu								p değeri
		Yok		Zayıf		Orta		Güçlü		
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Imepenem	I	0	%0,00	1	%14,30	3	%42,90	3	%42,90	0,507
	R	3	%9,10	7	%21,20	11	%33,30	12	%36,40	
	S	3	%15,80	2	%10,50	3	%15,80	11	%57,90	
Tikarasilin	I	0	%0,00	0	%0,00	0	%0,00	1	%100,00	0,500
	R	0	%0,00	1	%7,10	6	%42,90	7	%50,00	
	S	6	%13,60	9	%20,50	11	%25,00	18	%40,90	
Piprasilin	I	1	%14,30	1	%14,30	2	%28,60	3	%42,90	0,790
	R	3	%20,00	3	%20,00	3	%20,00	6	%40,00	
	S	2	%5,40	6	%16,20	12	%32,40	17	%45,90	
Karbensilin	I	0	%0,00	0	%0,00	0	%0,00	2	%100,00	0,574
	R	2	%9,10	2	%9,10	7	%31,80	11	%50,00	
	S	4	%11,40	8	%22,90	10	%28,60	13	%37,10	

Biyofilmler bakteriler için savunma amaçlı bir genişleme ve metabolik sessizlik sağlar ve onlara çeşitli çevresel streslerden, bağışıklık sistemi saldırılarından, dezenfektanlardan ve antimikrobiyal ajanlardan güvenli bir sığınak sağlar (Jamal *et al.* 2018). Biyofilmin iç katmanlarında bulunan bakteriler, öncelikle bu terapötik ajanların biyofilmin daha derin bölgelerine yetersiz nüfuz etmesinden dolayı, antibiyotiklere sınırlı maruz kalma sergiler. Sonuç olarak, bu bakteriler için minimum inhibitör konsantrasyon değerleri, serbestçe asılı planktonik hücreler için gözlemlenenlerden 10 ile 1000 kat daha yüksek şekilde yükselmiştir (Azeredo *et al.* 2017). *A. baumannii*'nin biyofilm üretme yeteneği, hastanelerde ve vasküler kateterler veya implantlar gibi tıbbi ekipmanlarda hayatta kalmasını sağladığı için sağlık bakım ortamlarında bir patojen olarak etkinliğinde önemli bir rol oynar. Önceki çalışmalar *A. baumannii*'nin cansız yüzeylerde 4 ile 5 ay kadar

dayanma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Ek olarak, *A. baumannii*'nin "hipervirulent" varyantlarını yüksek biyofilm oluşumu seviyelerine bağlayan kanıtlar vardır (Pompilio *et al.* 2021). Antimikrobiyal dirençli fenotip ile biyofilm üretme yeteneği arasındaki korelasyon, biyomedikal alandaki araştırmacıların büyük ilgisini çekmiştir. Bunun nedeni, bu iki özelliğin enfeksiyonların ilerlemesi ve şiddeti üzerindeki potansiyel etkisidir (Senobar Tahaei *et al.* 2021). Üstelik bazı araştırmalar, düşük antibiyotik seviyelerinin hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilerde biyofilm gelişimini uyarabildiğini, bu da çevresel streslerle mücadelede ortak bir adaptif tepkiye işaret ettiğini göstermiştir (Avila-Novoa *et al.* 2019). Çalışmamızda, biyofilm üretimi ile antibiyotik direnci arasında herhangi bir ilişki tespit edilememiştir. Başka bir araştırmanın bulguları, güçlü biyofilm üretimi ile ilaca geniş ölçüde dirençli fenotip arasında önemli bir ilişki olduğunu göstermiştir (Zeighami *et al.* 2019). Yapılan araştırmalar, *A. baumannii* izolatları arasında biyofilm oluşumu ile antibiyotik direncinin gelişimi arasında güçlü bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Babapour *et al.* 2016, Qi *et al.* 2016). Gözlenen farklılıklar örneğin büyüklüğü, hastalığın lokasyonu, uygulanan ilaçlar ve bakteri izolatlarının genetik heterojenliği gibi faktörlere bağlanabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, toplam 200 klinik örnekten 59'unda *A. baumannii* izolatlarının varlığına işaret eden pozitif kültürler görülmüştür. Veriler, Irak'ta önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilen *A. baumannii*'nin neden olduğu nozokomiyal enfeksiyonun kayda değer bir yaygınlığına işaret etmektedir. Etkilenen bireylerin yaş dağılımı 9 ile 78 arasında değişmekte olup, bu da tüm yaş gruplarındaki bireylerin *A. baumannii*'nin neden olduğu hastane enfeksiyonlarına duyarlı olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda bakteriyel enfeksiyon sıklığı kadınlarda erkeklerden daha yüksek olarak belirlenmiştir. Bu da her iki cinsiyet arasındaki anatomik farklılıkların, kadınlardaki hormonal değişikliklerin, gebelik durumunun ve bağışıklık yanıtlarının kadınların enfeksiyona erkeklerden daha duyarlı olmasına katkıda bulunduğunu göstermiştir.

Diğer örnek bölgelerine kıyasla kulak ve idrardan daha yüksek bakteri izolatları elde edilmiştir; bu durum da *A. baumannii*'nin orta kulak iltihabı ve idrar yolu enfeksiyonlarında önemli bir rol oynadığının kanıtıdır.

Bakteri izolatlarının önemli bir kısmı (%89,8), bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde zorluklar yaratabilecek ve nozokomiyal *A. baumannii* enfeksiyonlarının oluşumuna önemli ölçüde katkıda bulunabilecek bir özellik olan biyofilm üretme kabiliyeti sergilemiştir. Bakteri izolatları biyofilm oluşumuyla ilişkili genlerin (bap, bap bla PER-1 ve csuF) kayda değer bir bolluğunu sergilemiştir. Ayrıca, bu genlerin varlığı ile biyofilm gelişiminin ortaya çıkması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmüştür. Yukarıda belirtilen veriler, tanımlanan genlerin *A. baumannii* enfeksiyonlarının virülansına ve patogeneze önemli ölçüde katkıda bulunduğunu göstermektedir.

Bakteri izolatları çeşitli antibiyotik ilaçlara karşı önemli düzeyde direnç göstermiştir; bu da *A. baumannii*'nin çoklu ilaca dirençli ve yoğun ilaca dirençli enfeksiyonların gelişiminde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir.

Bu bilgiler doğrultusunda, biyofilm gelişimiyle ilişkili gen ifadesini incelemek ve biyofilmlerin oluşumuyla korelasyonunu belirlemek için ek araştırmalar yapılması, Efluks pompası gen ifadesinin araştırılması ve antibiyotik direnci ve MDR ve XDR'nin ortaya çıkışı ile korelasyonunun değerlendirilmesi, biyofilm-ilişkilendirme genlerinin diziliminin değerlendirilmesi ve filogenetik ağacın analizinin yanı sıra diğer ülkelerin dizilimleriyle karşılaştırılması, özellikle yoğun bakım ünitesindeki hastalarda hastane enfeksiyonlarının gelişiminde önemli rol oynayan bakterilerin yaygınlığının araştırılması ve biyofilm oluşturma yeteneklerini ve antibiyotik ajanlara karşı dirençlerinin değerlendirilmesi önerilmektedir.



KAYNAKLAR

- Abbas-Al-Khafaji, Z. K. and Aubais-Aljelehawy, Q. H. 2021. Evaluation of antibiotic resistance and prevalence of multi-antibiotic resistant genes among *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients admitted to al-yarmouk hospital. *Cellular, Molecular and Biomedical Reports*, 1(2): 60-68.
- Abdi-Ali, A., Hendiani, S., Mohammadi, P. and Gharavi, S. 2014. Assessment of biofilm formation and resistance to Imipenem and Ciprofloxacin among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Tehran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(1): 8606.
- Abraham, E. P. and Chain, E. 1940. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature*, 146(3713): 837-837.
- Ahmad, I., Nygren, E., Khalid, F., Myint, S. L. and Uhlin, B. E. 2020. A Cyclic-di-GMP signalling network regulates biofilm formation and surface associated motility of *Acinetobacter baumannii* 17978. *Scientific Reports*, 10(1): 1991.
- Ahmad, T. A., Tawfik, D. M., Sheweita, S. A., Haroun, M. and El-Sayed, L. H. 2016. Development of immunization trials against *Acinetobacter baumannii*. *Trials in Vaccinology*, 5(1): 53-60.
- Al Atrouni, A., Joly-Guillou, M.-L., Hamze, M. and Kempf, M. 2016. Reservoirs of Non-*baumannii* *Acinetobacter* species. *Frontiers in Microbiology*, 7(1): 49.
- Ali, H. M., Salem, M. Z. M., El-Shikh, M. S., Megeed, A. A., Alogaibi, Y. A. and Talea, I. A. 2017. Investigation of the Virulence Factors and Molecular Characterization of the Clonal Relations of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates. *Journal of AOAC International*, 100(1): 152-158.
- Aliramezani, A., Douraghi, M., Hajihassani, A., Mohammadzadeh, M. and Rahbar, M. 2016. Clonal relatedness and biofilm formation of OXA-23-producing carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from hospital environment. *Microbial Pathogenesis*, 99(7): 204-208.
- Almasaudi, S. B. 2018. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(3): 586-596.
- Al-Mousawi, H. T., Al-Taei, M. I. N. and Al-Hajjar, Q. N. 2018. Evaluation of biofilm formation capacity of *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical samples in

- Baghdad hospitals using phenotypic methods. *Iraqi Journal of Biotechnology*, 17(3): 9-17.
- Al-Sehlawi, Z. S., Almohana, A. M. and Al-Thahab, A. A. 2014. Isolation and identification of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates using novel methods. *Journal of Babylon University/Pure and Applied Sciences*, 22(3): 1041-1050.
- Al-Tamimi, M., Albalawi, H., Alkhawaldeh, M., Alazzam, A., Ramadan, H., Altalalwah, M. and Hijawi, K. 2022. Multidrug-resistant *acinetobacter baumannii* in Jordan. *Microorganisms*, 10(5): 849.
- Amudhan, S. M., Sekar, U., Arunagiri, K. and Sekar, B. 2011. OXA beta-lactamase-mediated carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 29(3): 269-274.
- Ansari, H., Doosti, A., Kargar, M., Bijanzadeh, M. and Jaafarinia, M. 2018. Cloning of *ompA* gene from *Acinetobacter baumannii* into the eukaryotic expression vector pBudCE4.1 as DNA vaccine. *Indian Journal of Microbiology*, 58(2): 174-181.
- Antunes, L. C., Visca, P. and Towner, K. J. 2014. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. *Pathogens and Disease*, 71(3): 292-301.
- Asif, M., Alvi, I. A. and Rehman, S. U. 2018. Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infection and Drug Resistance*, 11(1): 1249-1260.
- Avila-Novoa, M. G., Solís-Velázquez, O. A., Rangel-Lopez, D. E., González-Gómez, J. P., Guerrero-Medina, P. J. and Gutiérrez-Lomelí, M. 2019. Biofilm formation and detection of fluoroquinolone-and carbapenem-resistant genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 19(8): 3454907.
- Azeredo, J., Azevedo, N. F., Briandet, R., Cerca, N., Coenye, T., Costa, A. R. and Sternberg, C. 2017. Critical review on biofilm methods. *Critical Reviews in Microbiology*, 43(3): 313-351.
- Azizi, O., Shahcheraghi, F., Salimizand, H., Modarresi, F., Shakibaie, M. R., Mansouri, S. and Nikbin, V. 2016. Molecular analysis and expression of *bap* gene in biofilm-forming multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Reports of Biochemistry and Molecular Biology*, 5(1): 62.

- Babapour, E., Haddadi, A., Mirnejad, R., Angaji, S. A. and Amirmozafari, N. 2016. Biofilm formation in clinical isolates of nosocomial *Acinetobacter baumannii* and its relationship with multidrug resistance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(6): 528-533.
- Bardbari, A. M., Arabestani, M. R., Karami, M., Keramat, F., Alikhani, M. Y. and Bagheri, K. P. 2017. Correlation between ability of biofilm formation with their responsible genes and MDR patterns in clinical and environmental *Acinetobacter baumannii* isolates. *Microbial Pathogenesis*, 108(2): 122-128.
- Basri, R., Zueter, A. R., Mohamed, Z., Alam, M. K., Norsa'adah, B. K., Hasan, S. A. and Ahmad, F. 2015. Burden of bacterial meningitis: A retrospective review on laboratory parameters and factors associated with death in meningitis, Kelantan Malaysia. *Nagoya Journal of Medical Science*, 77(1): 59.
- Beggs, C. B., Kerr, K. G., Snelling, A. M. and Sleight, P. A. 2006. *Acinetobacter* spp. and the clinical environment. *Indoor and Built Environment*, 15(1): 19-24.
- Benson, H. J. 2002. *Microbiological applications: A laboratory manual in general microbiology*. McGraw-Hill, 478 page, New York.
- Bhargava, N., Sharma, P. and Capalash, N. 2012. N-acyl homoserine lactone mediated interspecies interactions between *A. baumannii* and *P. aeruginosa*. *Biofouling*, 28(8): 813-822.
- Bianchi, V. E. 2019. The Anti-inflammatory effects of testosterone. *Journal of the Endocrine Society*, 3(1): 91-107.
- Bist, P., Dikshit, N., Koh, T. H., Mortellaro, A., Tan, T. T. and Sukumaran, B. 2014. The Nod1, Nod2, and Rip2 axis contributes to host immune defense against intracellular *Acinetobacter baumannii* infection. *Infection and Immunity*, 82(3): 1112-1122.
- Bitrian, M., Solari, C. M., González, R. H. and Nudel, C. B. 2012. Identification of virulence markers in clinically relevant strains of *Acinetobacter* genospecies. *International Microbiology: The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology*, 15(2): 79-88.
- Bitto, N. J., Chapman, R., Pidot, S., Costin, A., Lo, C., Choi, J. and Ferrero, R. L. 2017. Bacterial membrane vesicles transport their DNA cargo into host cells. *Scientific Reports*, 7(1): 1-11.

- Bodelón, G., Palomino, C. and Fernández, L. Á. 2013. Immunoglobulin domains in *Escherichia coli* and other enterobacteria: from pathogenesis to applications in antibody technologies. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(2): 204-250.
- Brossard, K. A. and Campagnari, A. A. 2012. The *Acinetobacter baumannii* biofilm-associated protein plays a role in adherence to human epithelial cells. *Infection and Immunity*, 80(1): 228-233.
- Brown, J. Q., Srivastava, R. and McShane, M. J. 2005. Encapsulation of glucose oxidase and an oxygen-quenched fluorophore in polyelectrolyte-coated calcium alginate microspheres as optical glucose sensor systems. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(1): 212-216.
- Bruhn, K. W., Pantapalangkoor, P., Nielsen, T., Tan, B., Junus, J., Hujer, K. M. and Spellberg, B. 2015. Host fate is rapidly determined by innate effector-microbial interactions during *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *The Journal of Infectious Diseases*, 211(8): 1296-1305.
- Cahill, B. K., Seeley, K. W., Gutel, D. and Ellis, T. N. 2015. *Klebsiella pneumoniae* O antigen loss alters the outer membrane protein composition and the selective packaging of proteins into secreted outer membrane vesicles. *Microbiological Research*, 180(1): 1-10.
- Catel-Ferreira, M., Marti, S., Guillon, L., Jara, L., Coadou, G., Molle, V. and Dé, E. 2016. The outer membrane porin *OmpW* of *Acinetobacter baumannii* is involved in iron uptake and colistin binding. *FEBS Letters*, 590(2): 224-231.
- Chakravarty, B. 2020. Genetic mechanisms of antibiotic resistance and virulence in *Acinetobacter baumannii*: background, challenges and future prospects. *Molecular Biology Reports*, 47(5): 4037–4046.
- Chin, C. Y., Tipton, K. A., Farokhyfar, M., Burd, E. M., Weiss, D. S. and Rather, P. N. 2018. A high-frequency phenotypic switch links bacterial virulence and environmental survival in *Acinetobacter baumannii*. *Nature Microbiology*, 3(5): 563-569.
- Chokshi, A., Sifri, Z., Cennimo, D. and Horng, H. 2019. Global contributors to antibiotic resistance. *Journal of Global Infectious Diseases*, 11(1): 36–42.
- Cincaro, L., Polansky, O., Babak, V., Kulich, P. and Kralik, P. 2016. Changes in the expression of biofilm-associated surface proteins in *Staphylococcus aureus* food-

- environmental isolates subjected to sublethal concentrations of disinfectants. *BioMed Research International*, 16(1): 403-451.
- Cisneros, J. M. and Rodríguez-Baño, J. 2002. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. *The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 8(11): 687–693.
- Cucarella, C., Solano, C., Valle, J., Amorena, B., Lasa, I. and Penadés, J. R. 2001. Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. *Journal of Bacteriology*, 183(9): 2888-2896.
- Cuccui, J. and Wren, B. W. 2013. Bacteria like sharing their sweets. *Molecular Microbiology*, 89(5): 811-815.
- Dahdouh, E. 2016. Epidemiological and molecular analysis of virulence and antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6(8): 163.
- De Araujo, C., Balestrino, D., Roth, L., Charbonnel, N. and Forestier, C. 2010. Quorum sensing affects biofilm formation through lipopolysaccharide synthesis in *Klebsiella pneumoniae*. *Research in Microbiology*, 161(7): 595-603.
- De Léséleuc, L., Harris, G., KuoLee, R., Xu, H. H. and Chen, W. 2014. Serum resistance, gallium nitrate tolerance and extrapulmonary dissemination are linked to heme consumption in a bacteremic strain of *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Medical Microbiology*, 304(4): 360-369.
- Demirdal, T., Sari, U. S. and Nemli, S. A. 2016. Is inhaled colistin beneficial in ventilator associated pneumonia or nosocomial pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii*? *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 15(1): 11-12.
- Dexter, C., Murray, G. L., Paulsen, I. T. and Peleg, A. Y. 2015. Community-acquired *Acinetobacter baumannii*: clinical characteristics, epidemiology and pathogenesis. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 13(5): 567-573.
- Dheepa, M. 2011. Comparison of biofilm production and multiple drug resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a tertiary care hospital in South India. *Research Gate*, 26(4): 333-337.
- Dolma, K. G., Khati, R., Paul, A. K., Rahmatullah, M., de Lourdes Pereira, M., Wilairatana, P. and Nissapatorn, V. 2022. Virulence characteristics and emerging

- therapies for biofilm-forming *Acinetobacter baumannii*: A review. *Biology*, 11(9): 1343.
- Dong, R., Guan, C., Hu, D., Xin, T. T. and Qu, Y. 2013. The correlation study on antimicrobial resistance and biofilm related genes in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Europe PMC*, 25(8): 493-494.
- Doughari, H. J., Ndakidemi, P. A., Human, I. S. and Benade, S. 2011. The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: an overview. *Microbes and Environments*, 26(2): 101-112.
- Du, D., Wang-Kan, X., Neuberger, A., Van Veen, H. W., Pos, K. M., Piddock, L. J. and Luisi, B. F. 2018. Multidrug efflux pumps: Structure, function and regulation. *Nature Reviews Microbiology*, 16(9): 523-539.
- Duarte, A., Ferreira, S., Almeida, S. and Domingues, F. C. 2016. Clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a Portuguese hospital: PFGE characterization, antibiotic susceptibility and biofilm-forming ability. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 45(8): 29-33.
- Dyar, O. J., Huttner, B., Schouten, J., Pulcini, C. and ESGAP. 2017. What is antimicrobial stewardship? *Clinical Microbiology and Infection : The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 23(11): 793-798.
- Ebringer, A. and Ebringer, A. 2015. An ante-mortem test for bovine spongiform encephalopathy involving “myelin-acinetobacter-neurofilaments”(MAN) tested in 12 strains of *Acinetobacter* bacteria. *Multiple Sclerosis, Mad Cow Disease and Acinetobacter*, 15(1): 67-78.
- Eijkelkamp, B. A., Hassan, K. A., Paulsen, I. T. and Brown, M. H. 2011. Investigation of the human pathogen *Acinetobacter baumannii* under iron limiting conditions. *BMC Genomics*, 12(3): 126.
- Elhosseiny, N. M. and Attia, A. S. 2018. *Acinetobacter*: an emerging pathogen with a versatile secretome. *Emerging Microbes and Infections*, 7(1): 33-35.
- El-Shazly, S., Dashti, A., Vali, L., Bolaris, M. and Ibrahim, A. S. 2015. Molecular epidemiology and characterization of multiple drug-resistant (MDR) clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Infectious Diseases*, 41(1): 42-49.

- Espinal, P., Pantel, A., Rolo, D., Marti, S., López-Rojas, R., Smani, Y. and Lavigne, J. P. 2019. Relationship between different resistance mechanisms and virulence in *Acinetobacter baumannii*. *Microbial Drug Resistance*, 25(5): 752-760.
- Falagas, M. E., Vardakas, K. Z., Kapaskelis, A., Triarides, N. A. and Roussos, N. S. 2015. Tetracyclines for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 45(5): 455-460.
- Fallah, A., Rezaee, M. A., Hasani, A., Barhaghi, M. H. S. and Kafil, H. S. 2017. Frequency of *bap* and *cpaA* virulence genes in drug resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and their role in biofilm formation. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 20(8): 849.
- Farshadzadeh, Z., Hashemi, F. B., Rahimi, S., Pourakbari, B., Esmaeili, D., Haghighi, M. A. and Bahador, A. 2015. Wide distribution of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* in burns patients in Iran. *Frontiers in Microbiology*, 6(1): 1146.
- Ferreira, V. P., Pangburn, M. K. and Cortés, C. 2010. Complement control protein factor H: the good, the bad, and the inadequate. *Molecular Immunology*, 47(13): 2187-2197.
- Fiester, S. E., Arivett, B. A., Schmidt, R. E., Beckett, A. C., Ticak, T., Carrier, M. V. and Actis, L. A. 2016. Iron-regulated phospholipase C activity contributes to the cytolytic activity and virulence of *Acinetobacter baumannii*. *PloS One*, 11(11): 167068.
- Fitzsimons, T. C., Lewis, J. M., Wright, A., Kleifeld, O., Schittenhelm, R. B., Powell, D., Harper, M. and Boyce, J. D. 2018. Identification of Novel *Acinetobacter baumannii* type VI secretion system Antibacterial effector and immunity pairs. *Infection and Immunity*, 86(8): 1-9.
- Fleming, I. D., Krezalek, M. A., Belogortseva, N., Zaborin, A., Defazio, J., Chandrasekar, L., Actis, L. A., Zaborina, O. and Alverdy, J. C. 2017. Modeling *Acinetobacter baumannii* wound infections: The critical role of iron. *The Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 82(3): 557-565.
- Fournier, P. E. and Richet, H. 2006. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clinical Infectious Diseases*, 42(5): 692-699.
- Gaddy, J. A. and Actis, L. A. 2009. Regulation of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Future Medicine*, 4(3): 95-99.

- Gaddy, J. A., Tomaras, A. P. and Actis, L. A. 2009. The *Acinetobacter baumannii* 19606 OmpA protein plays a role in biofilm formation on abiotic surfaces and in the interaction of this pathogen with eukaryotic cells. *Infection and Immunity*, 77(8): 3150-3160.
- Gallagher, L. A., Ramage, E., Weiss, E. J., Radey, M., Hayden, H. S., Held, K. G. and Manoil, C. 2015. Resources for genetic and genomic analysis of emerging pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Bacteriology*, 197(12): 2027-2035.
- García-Patiño, M. G., García-Contreras, R. and Licona-Limón, P. 2017. The Immune response against *Acinetobacter baumannii*, an emerging pathogen in nosocomial infections. *Frontiers in Immunology*, 8(7): 441.
- García-Quintanilla, M., Pulido, M. R., Pachón, J. and McConnell, M. J. 2014. Immunization with lipopolysaccharide-deficient whole cells provides protective immunity in an experimental mouse model of *Acinetobacter baumannii* infection. *PloS One*, 9(12): 114410.
- Garnacho-Montero, J. and Amaya-Villar, R. 2015. Optimum treatment strategies for carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 13(1): 769-777.
- Garneau-Tsodikova, S. and Labby, K. J. 2016. Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: Overview and perspectives. *MedChemComm*, 7(1): 11-27.
- Geisinger, E. and Isberg, R. R. 2015. Antibiotic modulation of capsular exopolysaccharide and virulence in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Pathogens*, 11(2): 1004691.
- Ghasemi, E., Ghalavand, Z., Goudarzi, H., Yeganeh, F., Hashemi, A., Dabiri, H. and Foroumand, M. 2018. Phenotypic and genotypic investigation of biofilm formation in clinical and environmental isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Archives of Clinical Infectious Diseases*, 13(4): 8-17.
- Gheorghe, I., Novais, Â., Grosso, F., Rodrigues, C., Chifiriuc, M. C., Lazar, V. and Peixe, L. 2015. Snapshot on carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in Bucharest hospitals reveals unusual clones and novel genetic surroundings for bla OXA-23. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(4): 1016-1020.

- Goh, H. S., Beatson, S. A., Totsika, M., Moriel, D. G., Phan, M. D., Szubert, J. and Schembri, M. A. 2013. Molecular analysis of the *Acinetobacter baumannii* biofilm-associated protein. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(21): 6535-6543.
- Harding, C. M., Hennon, S. W. and Feldman, M. F. 2018. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nature Reviews. Microbiology*, 16(2): 91-102.
- Harding, C. M., Pulido, M. R., Di Venzio, G., Kinsella, R. L., Webb, A. I., Scott, N. E. and Feldman, M. F. 2017. Pathogenic *Acinetobacter* species have a functional type I secretion system and contact-dependent inhibition systems. *Journal of Biological Chemistry*, 292(22): 9075-9087.
- Hassan, A., Usman, J., Kaleem, F., Omair, M., Khalid, A. and Iqbal, M. 2011. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases : An Official Publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*, 15(4): 305-311.
- Hassan, P. A. and Khider, A. K. 2020. Correlation of biofilm formation and antibiotic resistance among clinical and soil isolates of *Acinetobacter baumannii* in Iraq. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 67(3): 161-170.
- Henderson, I. R., Navarro-Garcia, F., Desvaux, M., Fernandez, R. C. and Ala'Aldeen, D. 2004. Type V protein secretion pathway: the autotransporter story. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(4): 692-744.
- Holt, J. G. 1994. *Bergey's manual of determinate bacteriology*. Williams & Wilkins, 787 page, Philadelphia.
- Houang, E. T., Chu, Y. W., Leung, C. M., Chu, K. Y., Berlau, J., Ng, K. C. and Cheng, A. F. 2001. Epidemiology and infection control implications of *Acinetobacter* spp. in Hong Kong. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(1): 228-234.
- Howard, A., O'Donoghue, M., Feeney, A. and Sleator, R. D. 2012. *Acinetobacter baumannii*: An emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, 3(3): 243-250.
- Hu, D., Liu, B., Dijkshoorn, L., Wang, L. and Reeves, P. R. 2013. Diversity in the major polysaccharide antigen of *Acinetobacter baumannii* assessed by DNA sequencing, and development of a molecular serotyping scheme. *PloS One*, 8(7): e70329.

- Ibrahim, M. E. 2019. Prevalence of *Acinetobacter baumannii* in Saudi Arabia: risk factors, antimicrobial resistance patterns and mechanisms of carbapenem resistance. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 18(1): 1.
- Islahi, S., Ahmad, F., Khare, V., Yaqoob, S., Shukla, P. and Singh, Y. I. 2014. Incidence and risk factors associated with *Acinetobacter* species infection in hospitalised patients in a tertiary care hospital in North-India. *CABI*, 46(1): 10-12.
- Iyer, R., Moussa, S. H., Durand-Réville, T. F., Tommasi, R. and Miller, A. 2018. *Acinetobacter baumannii* OmpA is a selective antibiotic permeant porin. *ACS Infectious Diseases*, 4(3): 373-381.
- Jachlewski, S., Jachlewski, W. D., Linne, U., Bräsen, C., Wingender, J. and Siebers, B. 2015. Isolation of extracellular polymeric substances from biofilms of the thermoacidophilic archaeon *Sulfolobus acidocaldarius*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 3(1): 123.
- Jacobs, A. C., Blanchard, C. E., Catherman, S. C., Dunman, P. M. and Murata, Y. 2014. An ribonuclease T2 family protein modulates *Acinetobacter baumannii* abiotic surface colonization. *PloS One*, 9(1): 85729.
- Jahangiri, A., Rasooli, I., Owlia, P., Imani Fooladi, A. A. and Salimian, J. 2018. Highly conserved exposed immunogenic peptides of Omp34 against *Acinetobacter baumannii*: An innovative approach. *Journal of Microbiological Methods*, 144(1): 79-85.
- Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M. A. and Kamil, M. A. 2018. Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(1): 7-11.
- Jeon, J. H., Lee, J. H., Lee, J. J., Park, K. S., Karim, A. M., Lee, C. R. and Lee, S. H. 2015. Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(5): 9654-9692.
- Jiang, M., Chen, X., Liu, S., Zhang, Z., Li, N., Dong, C., Zhang, L., Wu, H. and Zhao, S. 2021. Epidemiological Analysis of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates in a Tertiary Hospital Over a 12-Year Period in China. *Frontiers in Public Health*, 9(7): 707435.

- Jin, J. S., Kwon, S.-O., Moon, D. C., Gurung, M., Lee, J. H., Kim, S. and Lee, J. C. 2011. *Acinetobacter baumannii* secretes cytotoxic outer membrane protein A via outer membrane vesicles. *PloS One*, 6(2): 17027.
- Jung, J. and Park, W. 2015. *Acinetobacter* species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(6): 2533-2548.
- Juni, E. and Janik, A. 1969. Transformation of *Acinetobacter calco-aceticus* (*Bacterium anitratum*). *Journal of Bacteriology*, 98(1): 281-288.
- Khalil, M. A. F., Ahmed, F. A., Elkhateeb, A. F., Mahmoud, E. E., Ahmed, M. I., Ahmed, R. I., Hosni, A., Alghamdi, S., Kabrah, A., Dablool, A. S., Hetta, H. F., Moawad, S. S., & Hefzy, E. M. 2021. Virulence Characteristics of Biofilm-Forming *Acinetobacter baumannii* in Clinical Isolates Using a *Galleria mellonella* Model. *Microorganisms*, 9(11): 1903.
- Kamolvit, W., Sidjabat, H. E. and Paterson, D. L. 2015. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance of *Acinetobacter* spp. in Asia and Oceania. *Microbial Drug Resistance*, 21(4): 424-434.
- Kamoshida, G., Tansho-Nagakawa, S., Kikuchi-Ueda, T., Nakano, R., Hikosaka, K., Nishida, S., Ubagai, T., Higashi, S. and Ono, Y. 2016. A novel bacterial transport mechanism of *Acinetobacter baumannii* via activated human neutrophils through interleukin-8. *Journal of Leukocyte Biology*, 100(6): 1405-1412.
- Kanaan, M. H. G. and Khashan, H. T. 2022. Molecular typing, virulence traits and risk factors of pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* spread in intensive care unit centers of Baghdad city, Iraq. *Reviews and Research in Medical Microbiology*, 33(1): 51-55.
- Kanafani, Z. and Kanj, S. 2015. *Acinetobacter* infection: Treatment and prevention. *UpToDate*, 24(2): 9956.
- Kaparakis-Liaskos, M. and Ferrero, R. L. 2015. Immune modulation by bacterial outer membrane vesicles. *Nature Reviews. Immunology*, 15(6): 375-387.
- Karageorgopoulos, D. E. and Falagas, M. E. 2008. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *The Lancet. Infectious Diseases*, 8(12): 751-762.

- Kenyon, J. J. and Hall, R. M. 2013. Variation in the complex carbohydrate biosynthesis loci of *Acinetobacter baumannii* genomes. *PloS One*, 8(4): 621-660.
- KhalaweTektook, N. 2018. Study the virulence factors and patterns of antibiotics resistance in *acinetobacter baumannii* isolated from hospitalized patients in Baghdad City. *Pakistan Journal of Biotechnology*, 15(1): 19-23.
- Kikuchi-Ueda, T., Kamoshida, G., Ubagai, T., Nakano, R., Nakano, A., Akuta, T., Hikosaka, K., Tansho-Nagakawa, S., Kikuchi, H. and Ono, Y. 2017. The TNF- α of mast cells induces pro-inflammatory responses during infection with *Acinetobacter baumannii*. *Immunobiology*, 222(11): 1025-1034.
- Kilvington, S., Shovlin, J. and Nikolic, M. 2013. Identification and susceptibility to multipurpose disinfectant solutions of bacteria isolated from contact lens storage cases of patients with corneal infiltrative events. *Contact Lens and Anterior Eye*, 36(6): 294-298.
- Kim, I. H., Wen, Y., Son, J. S., Lee, K.H. and Kim, K. S. 2013. The fur-iron complex modulates expression of the quorum-sensing master regulator, SmcR, to control expression of virulence factors in *Vibrio vulnificus*. *Infection and Immunity*, 81(8): 2888-2898.
- Kim, Y. A., Kim, J. J., Won, D. J. and Lee, K. 2018. Seasonal and temperature-associated increase in community-onset *Acinetobacter baumannii* complex colonization or infection. *Annals of Laboratory Medicine*, 38(3): 266-270.
- Kyriakidis, I., Vasileiou, E., Pana, Z. D. and Tragiannidis, A. 2021. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*, 10(3): 1-12.
- Lahiri, K. K., Mani, N. S. and Purai, S. S. 2004. *Acinetobacter* spp as nosocomial pathogen : Clinical significance and antimicrobial sensitivity. *Medical Journal Armed Forces India*, 60(1): 7-10.
- Landecker, H. 2016. Antibiotic resistance and the biology of history. *Body and Society*, 22(4): 19-52.
- Larsen, J., Raisen, C. L., Ba, X., Sadgrove, N. J., Padilla-González, G. F., Simmonds, M. S. and Larsen, A. R. 2022. Emergence of methicillin resistance predates the clinical use of antibiotics. *Nature*, 602(7895): 135-141.

- Lebeaux, D., Ghigo, J. M. and Beloin, C. 2014. Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 78(3): 510-543.
- Lee, C.-R., Lee, J. H., Park, M., Park, K. S., Bae, I. K., Kim, Y. B., Cha, C.-J., Jeong, B. C. and Lee, S. H. 2017. Biology of *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(1): 55.
- Lee, H. W., Koh, Y. M., Kim, J., Lee, J. C., Lee, Y. C., Seol, S. Y., Cho, D. T. and Kim, J. 2008. Capacity of multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 14(1): 49-54.
- Lee, J. S., Lee, J. C., Lee, C. M., Jung, I. D., Jeong, Y. I., Seong, E. Y. and Park, Y. M. 2007. Outer membrane protein A of *Acinetobacter baumannii* induces differentiation of CD4⁺ T cells toward a Th1 polarizing phenotype through the activation of dendritic cells. *Biochemical Pharmacology*, 74(1): 86-97.
- Lewis, K. 2008. Multidrug tolerance of biofilms and persister cells. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 322(21): 107-131.
- Lin, M. F. and Lan, C. Y. 2014. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside. *World Journal of Clinical Cases*, 2(12): 787–814.
- Liou, M. L., Soo, P. C., Ling, S. R., Kuo, H. Y., Tang, C. Y. and Chang, K. C. 2014. The sensor kinase BfmS mediates virulence in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection*, 47(4): 275-281.
- Liu, C. C., Kuo, H. Y., Tang, C. Y., Chang, K. C. and Liou, M. L. 2014. Prevalence and mapping of a plasmid encoding a type IV secretion system in *Acinetobacter baumannii*. *Genomics*, 104(3): 215-223.
- Liu, Q., Hassan, K. A., Ashwood, H. E., Gamage, H. K., Li, L., Mabbutt, B. C. and Paulsen, I. T. 2018. Regulation of the *aceI* multidrug efflux pump gene in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(6): 1492-1500.

- Liu, X., Wu, X., Tang, J., Zhang, L. and Jia, X. 2020. Trends and development in the antibiotic-resistance of *Acinetobacter baumannii*: A scientometric research study (1991-2019). *Infection and Drug Resistance*, 13(1): 3195-3208.
- Loehfelm, T. W., Luke, N. R. and Campagnari, A. A. 2008. Identification and characterization of an *Acinetobacter baumannii* biofilm-associated protein. *Journal of Bacteriology*, 190(3): 1036-1044.
- Longo, F., Vuotto, C. and Donelli, G. 2014. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. *The New Microbiologica*, 37(2): 119-127.
- Lopalco, P., Stahl, J., Annese, C., Averhoff, B. and Corcelli, A. 2017. Identification of unique cardiolipin and monolysocardiolipin species in *Acinetobacter baumannii*. *Scientific Reports*, 7(1): 2972.
- MacFaddin, M. J. 2000. Biochemical test for identification of medical bacteria. Publisher: Lippincott Williams and Wilkins, 912 page, Philadelphia.
- Mahmood, N., Mohammed, A. and Al-Brefkani, A. 2023. Detection and characterization of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from different clinical specimens in Duhok Province-Iraq. *International Journal of Microbiology*, 9(1): 783-794.
- Manchanda, V., Sanchaita, S. and Singh, N. 2010. Multidrug resistant acinetobacter. *Journal of Global Infectious Diseases*, 2(3): 291-304.
- Maragakis, L. L. and Perl, T. M. 2008. *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 46(8): 1254-1263.
- Maravić, A., Skočibušić, M., Fredotović, Ž., Šamanić, I., Cvjetan, S., Knezović, M. and Puizina, J. 2016. Urban riverine environment is a source of multidrug-resistant and ESBL-producing clinically important *Acinetobacter* spp. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23(4): 3525–3535.
- Martí, S., Rodríguez-Baño, J., Catel-Ferreira, M., Jouenne, T., Vila, J., Seifert, H. and Dé, E. 2011. Biofilm formation at the solid-liquid and air-liquid interfaces by *Acinetobacter* species. *BMC Research Notes*, 4(1): 5-8.
- Martins, A. F., Kuchenbecker, R. S., Pilger, K. O., Pagano, M., Barth, A. L. and CMCIES-PMPA/SMS Task Force. 2012. High endemic levels of multidrug-resistant

- Acinetobacter baumannii* among hospitals in southern Brazil. *American Journal of Infection Control*, 40(2): 108-112.
- Mekonnen, H., Seid, A., Molla Fenta, G. and Gebrecherkos, T. 2021. Antimicrobial resistance profiles and associated factors of *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial infection among patients admitted at Dessie comprehensive specialized Hospital, North-East Ethiopia. A cross-sectional study. *PloS One*, 16(11): 257-272.
- Misbah, S., Hassan, H., Yusof, M. Y., Hanifah, Y. A. and AbuBakar, S. 2005. Genomic species identification of *Acinetobacter* of clinical isolates by 16S rDNA sequencing. *Singapore Medical Journal*, 46(9): 461-464.
- Moffatt, J. H., Harper, M., Harrison, P., Hale, J. D., Vinogradov, E., Seemann, T. and Boyce, J. D. 2010. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(12): 4971-4977.
- Moffatt, J. H., Harper, M., Mansell, A., Crane, B., Fitzsimons, T. C., Nation, R. L., Li, J., Adler, B. and Boyce, J. D. 2013. Lipopolysaccharide-deficient *Acinetobacter baumannii* shows altered signaling through host Toll-like receptors and increased susceptibility to the host antimicrobial peptide LL-37. *Infection and Immunity*, 81(3): 684-689.
- Mohammed, S. H., Ahmed, M. M., Abd Alameer Abd Alredaa, N., Haider Abd Alabbas, H., Mohammad Ali, Z. D., Abed Al-Wahab, Z. Z. and Yahya Abid Zaid, N. 2022. Prevalence of *Acinetobacter* species isolated from clinical samples referred to Al-Kafeel Hospital, Iraq and their antibiotic susceptibility patterns from 2017-2021. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, 16(1): 76-82.
- Monfared, A. M., Rezaei, A., Poursina, F. and Faghri, J. 2019. Detection of genes involved in biofilm formation in MDR and XDR *Acinetobacter baumannii* isolated from human clinical specimens in Isfahan, Iran. *Archives of Clinical Infectious Diseases*, 14(2): 6.
- Moon, D. C., Choi, C. H., Lee, J. H., Choi, C.-W., Kim, H.-Y., Park, J. S., Kim, S. Il. and Lee, J. C. 2012. *Acinetobacter baumannii* outer membrane protein A modulates the biogenesis of outer membrane vesicles. *Journal of Microbiology*, 50(1): 155-160.

- Morgan, D. J., Liang, S. Y., Smith, C. L., Johnson, J. K., Harris, A. D., Furuno, J. P. and Perencevich, E. N. 2010. Frequent multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* contamination of gloves, gowns, and hands of healthcare workers. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 31(7): 716-721.
- Morris, F. C., Dexter, C., Kostoulas, X., Uddin, M. I. and Peleg, A. Y. 2019. The mechanisms of disease caused by *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology*, 10(7): 1601.
- Mugnier, P. D., Bindayna, K. M., Poirel, L. and Nordmann, P. 2009. Diversity of plasmid-mediated carbapenem-hydrolysing oxacillinases among carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Kingdom of Bahrain. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63(5): 1071-1073.
- Munita, J. M. and Arias, C. A. 2016. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2): 2-7.
- Nairn, B. L., Lonergan, Z. R., Wang, J., Braymer, J. J., Zhang, Y., Calcutt, M. W. and Skaar, E. P. 2016. The response of *Acinetobacter baumannii* to zinc starvation. *Cell Host and Microbe*, 19(6): 826-836.
- Nakasone, I., Kinjo, T., Yamane, N., Kisanuki, K., & Shiohira, C. M. 2007. Laboratory-based evaluation of the colorimetric VITEK-2 Compact system for species identification and of the Advanced Expert System for detection of antimicrobial resistances: VITEK-2 Compact system identification and antimicrobial susceptibility testing. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 58(2), 191–198.
- Nordenfelt, P. and Tapper, H. 2011. Phagosome dynamics during phagocytosis by neutrophils. *Journal of Leukocyte Biology*, 90(2): 271-284.
- Noto, M. J., Boyd, K. L., Burns, W. J., Varga, M. G., Peek, R. M. and Skaar, E. P. 2015. Toll-like receptor 9 contributes to defense against *Acinetobacter baumannii* infection. *Infection and Immunity*, 83(10): 4134-4141.
- Nowak, P. and Paluchowska, P. 2016. *Acinetobacter baumannii*: Biology and drug resistance - role of carbapenemases. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 54(2): 61-74.

- Nuccio, S. P. and Bäumlér, A. J. 2007. Evolution of the chaperone/usher assembly pathway: fimbrial classification goes Greek. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(4): 551-575.
- Pakharukova, N., Garnett, J. A., Tuittila, M., Paavilainen, S., Diallo, M., Xu, Y. and Zavialov, A. V. 2015. Structural insight into archaic and alternative chaperone-usher pathways reveals a novel mechanism of pilus biogenesis. *PLoS Pathogens*, 11(11): 1005269.
- Pakharukova, N., Tuittila, M., Paavilainen, S., Malmi, H., Parilova, O., Teneberg, S., Knight, S. D. and Zavialov, A. V. 2018. Structural basis for *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(21): 5558-5563.
- Palzkill, T. 2013. Metallo- β -lactamase structure and function. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1277(298): 91-104.
- Park, J. S., Lee, W. C., Yeo, K. J., Ryu, K. S., Kumarasiri, M., Hesek, D. and Kim, H. Y. 2012. Mechanism of anchoring of OmpA protein to the cell wall peptidoglycan of the gram-negative bacterial outer membrane. *The FASEB Journal*, 26(1): 219.
- Peleg, A. Y., Seifert, H. and Paterson, D. L. 2008. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(3): 538-582.
- Pompilio, A., Scribano, D., Sarshar, M., Di Bonaventura, G., Palamara, A. T. and Ambrosi, C. 2021. Gram-negative bacteria holding together in a biofilm: The *Acinetobacter baumannii* way. *Microorganisms*, 9(7): 2-8.
- Pour, N. K., Dusane, D. H., Dhakephalkar, P. K., Zamin, F. R., Zinjarde, S. S. and Chopade, B. A. 2011. Biofilm formation by *Acinetobacter baumannii* strains isolated from urinary tract infection and urinary catheters. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 62(3): 328-338.
- Powers, M. J. and Trent, M. S. 2018. Expanding the paradigm for the outer membrane: *Acinetobacter baumannii* in the absence of endotoxin. *Molecular Microbiology*, 107(1): 47-56.
- Prashanth, K., Vasanth, T., Saranathan, R. and Pagal, S. 2012. Antibiotic resistance, biofilms and quorum sensing in *Acinetobacter* species. *Antibiotic Resistant Bacteria: A Continuous Challenge in the New Millennium*, 12(1): 179-212.

- Pulido, M. R., García-Quintanilla, M., Pachón, J. and McConnell, M. J. 2018. Immunization with lipopolysaccharide-free outer membrane complexes protects against *Acinetobacter baumannii* infection. *Vaccine*, 36(29): 4153-4156.
- Qi, L., Li, H., Zhang, C., Liang, B., Li, J., Wang, L. and Song, H. 2016. Relationship between antibiotic resistance, biofilm formation, and biofilm-specific resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology*, 7(2): 483.
- Qiu, H., KuoLee, R., Harris, G., Van Rooijen, N., Patel, G. B. and Chen, W. 2012. Role of macrophages in early host resistance to respiratory *Acinetobacter baumannii* infection. *PloS One*, 7(6): 40019.
- Rao, R. S., Karthika, R. U., Singh, S. P., Shashikala, P., Kanungo, R., Jayachandran, S. and Prashanth, K. 2008. Correlation between biofilm production and multiple drug resistance in imipenem resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 26(4): 333-337.
- Reichhardt, C., Stevens, D. A. and Cegelski, L. 2016. Fungal biofilm composition and opportunities in drug discovery. *Future Medicinal Chemistry*, 8(12): 1455-1468.
- Repizo, G. D. 2017. Prevalence of *Acinetobacter baumannii* strains expressing the Type 6 secretion system in patients with bacteremia. *Virulence*, 8(7): 1099-1101.
- Roier, S., Zingl, F. G., Cakar, F., Durakovic, S., Kohl, P., Eichmann, T. O. and Schild, S. 2016. A novel mechanism for the biogenesis of outer membrane vesicles in Gram-negative bacteria. *Nature Communications*, 7(1): 10515.
- Roy, S., Chowdhury, G., Mukhopadhyay, A. K., Dutta, S. and Basu, S. 2022. Convergence of Biofilm Formation and Antibiotic Resistance in *Acinetobacter baumannii* Infection. *Frontiers in Medicine*, 9(1): 793615.
- Rubio, T., Gagné, S., Debruyne, C., Dias, C., Cluzel, C., Mongellaz, D., Rousselle, P., Göttig, S., Seifert, H., Higgins, P. G. and Salcedo, S. P. 2022. Incidence of an Intracellular Multiplication Niche among *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. *MSystems*, 7(1): 48821.
- Rumbo, C., Tomás, M., Fernandez Moreira, E., Soares, N. C., Carvajal, M., Santillana, E. and Bou, G. 2014. The *Acinetobacter baumannii* Omp33-36 porin is a virulence factor that induces apoptosis and modulates autophagy in human cells. *Infection and Immunity*, 82(11): 4666-4680.

- Saeed, N. K., Kambal, A. M. and El-Khizzi, N. A. 2010. Antimicrobial-resistant bacteria in a general intensive care unit in Saudi Arabia. *Saudi Medical Journal*, 31(12): 1341-1349.
- Schmiel, D. H. and Miller, V. L. 1999. Bacterial phospholipases and pathogenesis. *Microbes and Infection*, 1(13): 1103-1112.
- Senobar Tahaei, S. A., Stájer, A., Barrak, I., Ostorházi, E., Szabó, D. and Gajdács, M. 2021. Correlation between biofilm-formation and the antibiotic resistant phenotype in *Staphylococcus aureus* isolates: a laboratory-based study in Hungary and a review of the literature. *Infection and Drug Resistance*, 21(7): 1155-1168.
- Sharma, A. K., Dhasmana, N., Dubey, N., Kumar, N., Gangwal, A., Gupta, M. and Singh, Y. 2017. Bacterial virulence factors: Secreted for survival. *Indian Journal of Microbiology*, 57(1): 1-10.
- Smani, Y., Fàbrega, A., Roca, I., Sánchez-Encinales, V., Vila, J. and Pachón, J. 2014. Role of OmpA in the multidrug resistance phenotype of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(3): 1806-1808.
- Smani, Y., McConnell, M. J. and Pachón, J. 2012. Role of fibronectin in the adhesion of *Acinetobacter baumannii* to host cells. *PloS One*, 7(4): 330-373.
- Sofya, N. S., Shashkov, A. S., Popova, A. V., Shneider, M. M., Arbatsky, N. P., Miroshnikov, K. A. and Knirel, Y. A. 2015. Structure elucidation of the capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* AB5075 having the KL25 capsule biosynthesis locus. *Carbohydrate Research*, 408(2): 8-11.
- Song, X., Zhang, H., Zhang, D. and Zhao, G. 2018. Bioinformatics analysis and epitope screening of a potential vaccine antigen TolB from *Acinetobacter baumannii* outer membrane protein. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 62(42): 73-79.
- Stacy, D. M., Welsh, M. A., Rather, P. N. and Blackwell, H. E. 2012. Attenuation of quorum sensing in the pathogen *Acinetobacter baumannii* using non-native N-Acyl homoserine lactones. *ACS Chemical Biology*, 7(10): 1719-1728.
- Stahl, J., Bergmann, H., Göttig, S., Ebersberger, I. and Averhoff, B. 2015. *Acinetobacter baumannii* virulence is mediated by the concerted action of three phospholipases D. *PloS One*, 10(9): 138360.

- Stowe, S. D., Richards, J. J., Tucker, A. T., Thompson, R., Melander, C. and Cavanagh, J. 2011. Anti-biofilm compounds derived from marine sponges. *Marine Drugs*, 9(10): 2010-2035.
- Sugawara, E. and Nikaido, H. 2012. OmpA is the principal nonspecific slow porin of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Bacteriology*, 194(15): 4089-4096.
- Sun, X., Liu, B., Chen, Y., Huang, H., Wang, G., Li, F. and Ni, Z. 2016. Molecular characterization of Ambler class A to D β -lactamases, ISAbal, and integrons reveals multidrug-resistant *Acinetobacter* spp. isolates in northeastern China. *Journal of Chemotherapy*, 28(6): 469-475.
- Sung, J. Y., Koo, S. H., Kim, S. and Kwon, G. C. 2016. Persistence of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates harboring blaOXA-23 and bap for 5 years. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(8): 1481-1489.
- Şimşek, M. and Demir, C. 2020. Determination of colistin and tigecycline resistance profile of *Acinetobacter baumannii* strains from different clinical samples in a territory hospital in Turkey. *Journal of Health Science and Medical Research*, 20(7): 1-11.
- Tada, T., Miyoshi-Akiyama, T., Kato, Y., Ohmagari, N., Takeshita, N., Hung, N. V. and Kirikae, T. 2013. Emergence of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in hospitals in Vietnam. *BMC Infectious Diseases*, 13(1): 1-6.
- Tavakol, M., Momtaz, H., Mohajeri, P., Shokoohizadeh, L. and Tajbakhsh, E. 2018. Genotyping and distribution of putative virulence factors and antibiotic resistance genes of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from raw meat. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 7(1): 120.
- Tomaras, A. P., Dorsey, C. W., Edelmann, R. E. and Actis, L. A. 2003. Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: Involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. *Microbiology*, 149(12): 3473-3484.
- Townsend, J., Park, A. N., Gander, R., Orr, K., Arocha, D., Zhang, S. and Greenberg, D. E. 2015. *Acinetobacter* infections and outcomes at an academic medical center: a disease of long-term care. *Open Forum Infectious Diseases*, 2(1): 23.
- Urdan, T. C. 2001. *Statistics in plain English*. Psychology Press, 286 page, New York.

- Utnes, A. L., Sørum, V., Hülter, N., Primicerio, R., Hegstad, J., Kloos, J. and Johnsen, P. J. 2015. Growth phase-specific evolutionary benefits of natural transformation in *Acinetobacter baylyi*. *The ISME Journal*, 9(10): 2221-2231.
- Vijayakumar, S., Rajenderan, S., Laishram, S., Anandan, S., Balaji, V. and Biswas, I. 2016. Biofilm formation and motility depend on the nature of the *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Frontiers in Public Health*, 4(3): 105.
- Vrancianu, C. O., Gheorghe, I., Czobor, I. B. and Chifiriuc, M. C. 2020. Antibiotic Resistance Profiles, Molecular Mechanisms and Innovative Treatment Strategies of *Acinetobacter baumannii*. *Microorganisms*, 8(6): 34-39.
- Waggoner, S. N., Reighard, S. D., Gyurova, I. E., Cranert, S. A., Mahl, S. E., Karmele, E. P. and Rydyznski, C. E. 2016. Roles of natural killer cells in antiviral immunity. *Current Opinion in Virology*, 16(1): 15-23.
- Weber, B. S., Kinsella, R. L., Harding, C. M. and Feldman, M. F. 2017. The secrets of *Acinetobacter* secretion. *Trends in Microbiology*, 25(7): 532-545.
- Weernink, A., Severin, W. P., Tjernberg, I. and Dijkshoorn, L. 1995. Pillows, an unexpected source of *Acinetobacter*. *The Journal of Hospital Infection*, 29(3): 189-199.
- Wen, J. T., Zhou, Y., Yang, L. and Xu, Y. 2014. Multidrug-resistant genes of aminoglycoside-modifying enzymes and 16S rRNA methylases in *Acinetobacter baumannii* strains. *Genetics and Molecular Research*, 13(2): 3842-3849.
- Whitman, T. J., Qasba, S. S., Timpone, J. G., Babel, B. S., Kasper, M. R., English, J. F. and Bonomo, R. A. 2008. Occupational transmission of *Acinetobacter baumannii* from a United States serviceman wounded in Iraq to a health care worker. *Clinical Infectious Diseases*, 47(4): 439-443.
- Wisplinghoff, H., Paulus, T., Lugenheim, M., Stefanik, D., Higgins, P. G., Edmond, M. B., Wenzel, R. P. and Seifert, H. 2012. Nosocomial bloodstream infections due to *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii* and *Acinetobacter nosocomialis* in the United States. *The Journal of Infection*, 64(3): 282-290.
- Yang, C. H., Su, P. W. and Chuang, L. Y. 2019. Biofilm formation in *Acinetobacter Baumannii*: genotype-phenotype correlation. *Molecules*, 24(10): 1849.

- Yang, H., Hu, L., Liu, Y., Ye, Y. and Li, J. 2016. Detection of the plasmid-mediated quinolone resistance determinants in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in China. *Journal of Chemotherapy*, 28(5): 443-445.
- Yoon, E. J., Balloy, V., Fiette, L., Chignard, M., Courvalin, P. and Grillot-Courvalin, C. 2016. Contribution of the Ade resistance-nodulation-cell division-type efflux pumps to fitness and pathogenesis of *Acinetobacter baumannii*. *MBio*, 7(3): 10-28.
- Zeighami, H., Valadkhani, F., Shapouri, R., Samadi, E. and Haghi, F. 2019. Virulence characteristics of multidrug resistant biofilm forming *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit patients. *BMC Infectious Diseases*, 19(1): 629.
- Zidan, M. E., Samanje, J. and Nasir, H. M. 2022. Identification of antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii* in Iraqi patients. *Journal of Techniques*, 4(33): 28-32.
- Zowawi, H. M., Sartor, A. L., Sidjabat, H. E., Balkhy, H. H., Walsh, T. R., Al Johani, S. M. and Paterson, D. L. 2015. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in the Gulf Cooperation Council States: dominance of OXA-23-type producers. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(3): 896-903.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Ghaith Kareem ABDULHASAN

Eğitim

Doktora	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2022-2024
Yüksek Lisans	Acharya Nagarjuna Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2016-2018
Lisans	Kufa Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2012-2016