

**T.C.**  
**RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KOLİSTİN DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII* SUŞLARINDA  
PMRA GEN POLİMORFİZMİ ve MUTASYONU**

**DR. NURAY ARSLAN**

**TEZ DANIŞMANI**  
**DR. ÖĞRT. ÜYESİ İLKAY BAHÇECİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**  
**RİZE-2022**

## TEŞEKKÜR

Öncelikle bana her zaman inanan ve kararlarımı destekleyen, bugünlere gelmemi sağlayan aileme; Tıbbi Mikrobiyoloji tıpta uzmanlık tezi olarak sunduğum bu çalışmayı bilgi ve katkılarıyla yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük katkısı olan ve emeği geçen değerli danışman hocam Dr. Öğrt. Üyesi İlkay Bahçeci' ye özel teşekkürlerimi sunuyorum.

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini aynı zamanda desteklerini esirgemeyen tüm hocalarıma , tezimle ilgili bilgi ve emeklerini esirgemeyen değerli çalışma arkadaşım Dr. Ömer Faruk Duran' a , birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan hekim arkadaşlarıma, klinik laboratuvarımızda her daim uyum içinde çalıştığımız çok değerli teknisyen arkadaşlarıma ve mesai arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Bu Tıpta Uzmanlık Tezi Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimi tarafından TTU-2020-1102 numaralı bilimsel araştırma projesi olarak desteklenmiştir.

Dr. Nuray ARSLAN

## ÖZET

### **Kolistin Dirençli *Acinetobacter Baumannii* Suşlarında *PmrA* Gen Polimorfizmi ve Mutasyonu**

*Acinetobacter baumannii*, son yıllarda dünya çapında yaygın yüksek morbidite ve mortalite oranları ile ilişkili nozokomiyal salgınların majör nedeni olarak tanımlanmaktadır. Yoğun bakım üniteleri(YBÜ)başta olmak üzere hastane enfeksiyonlarında en sık izole edilen etkenlerin başında gelmektedir.Çoklu ilaca dirençli (ÇİD) *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılacak antibiyotiklerin sayısının sınırlı olması ciddi klinik problemlere neden olmaktadır. Son yıllarda izlenen ÇİD Gram negatif bakteriler ile oluşan enfeksiyonların sıklığında artış ve tedavilerinde yaşanan sorunlar kolitsinin üyesi olduğu polimiksinler gibi eski antibiyotiklerin yeniden kullanımını zorunlu kılmıştır.Tedavide kullanılmaya başlanmasını takip eden süreçte kolistine dirençli *A. baumannii* suşları rapor edilmiştir. *A. baumannii*'deki kolistin direncinin esas mekanizması, lipopolisakkarit (LPS) tabakaya *PmrAB* gen bölgesindeki mutasyona bağlı katyonik grup eklenmesidir. Çalışmamızda kolistin tedavisi alan hastalardan gönderilen çeşitli klinik örnekler arasından etken olarak izole edilen kolistine dirençli *A. baumannii* izolatlarında *PmrA* gen polimorfizminin ve mutasyonunun belirlenmesi , *PmrA* genleri arasındaki filogenetik ilişkinin anlaşılması amaçlanmıştır.Çalışmamızda Haziran 2019-Haziran 2020 tarihleri arasında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na yoğun bakım ünitelerinde ve servislerde takip edilen hastalardan gönderilen çeşitli klinik örneklerde üreyen 29 *A.baumannii* suşu dâhil edilerek dizi analizi yapıldı. *A. baumannii* strain AB030 referans suşu kullanılarak , Clustal 2.1 Multiple Sequence Alignment'te filogenetik analizi yapıldı. PCR sonrası *PmrA* pozitif olan suşların PCR ürünlerinin sekans sonuçlarının filogenetik analizinde amplifiye edilen bölgenin tamamına yayılan nokta mutasyonlar (SNPs) görülmekle birlikte nokta mutasyonların ilk 60 bp'lik kısımda nispeten daha fazla olduğu görüldü. İçerdiği daha fazla sayıda SNPs ile referans suştan farklılık gösteren 6 suş olduğu tespit edildi.Çalışmamız filogenetik ilişki açısından değerlendirildiğinde örneklerde oluşan mutasyonlar birbirleriyle yakın ilişki içindeydi.*PmrA* geninin 175bp'lik bölgesinde saptanan mutasyonlarla kolistin direncini ilişkili bulmamız bu bölgedeki mutasyonların kolistin direnci ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. *PmrA* gen bölgesinin dizi analizinin yapılması ve ortaya çıkan değişikliklerin belirlenmesi; bu alanda ülkemizde yapılan ilk çalışmalardandır. Bu çalışmanın, bu alanda yeni yapılacak çalışmalara zemin hazırlayacağını düşünmekteyiz. ÇİDA. *baumannii*

izolatlarında kolistin direnç mekanizmasının tam anlamıyla ortaya çıkarılması için yeni nesil genom teknolojileri çok iyi bir seçenektir. Bununla birlikte maliyeti yüksek teknolojiler olduğu için bu konuda referans merkezler oluşturulmalı ve ülkede tanımlanan dirençli suşlar burada ileri araştırılmaya tabii tutulmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** *Acinetobacter baumannii*, kolistin, mutasyon, *PmrA*, polimorfizm



## ABSTRACT

### ***PmrA* Gene Polymorphism and Mutation in Colistine Resistant *Acinetobacter Baumannii* Strains**

*Acinetobacter baumannii* has been identified as the major cause of nosocomial outbreaks associated with high morbidity and mortality worldwide in recent years. It is one of the most frequently isolated agents in nosocomial infections, especially in intensive care units. The limited number of antibiotics that can be used in the treatment of multiple drug resistant (MDR) *A. baumannii* infections causes serious clinical problems. The decreasing number of antibiotic options combined with the increase in the frequency of infections with Gram negative bacteria with MDR and the problems experienced in their treatment have necessitated the reuse of older antibiotics such as colistin and other polymyxins. Colistin resistant *A. baumannii* strains have been reported following its use in treatment. The main mechanism of colistin resistance in *A. baumannii* is the addition of a cationic group to the lipopolysaccharide (LPS) layer due to mutation in the *PmrAB* gene region. In our study, we aimed to determine the *PmrA* gene polymorphism and mutation in colistin-resistant *A. baumannii* isolates obtained from clinical samples and to understand the phylogenetic relationship between *PmrA* genes. A total of 29 *A. baumannii* strains isolated between June 2019 and June 2020 from patients who received colistin treatment and were followed in intensive care units and services of the Research and Training Hospital of RTE University were used to perform sequence analysis. Phylogenetic analysis was performed in Clustal 2.1 Multiple Sequence Alignment using the reference strain AB030 of the *A. baumannii*. Sequencing of the PCR products of the strains that were *PmrA* positive revealed, point mutations (SNP) spread to the entire amplified region, which were relatively higher in the first 60 bp. It was determined that there were 6 strains that differed from the reference strain with the higher number of SNPs they contained. When our study was evaluated in terms of phylogenetic relationship, the mutations that occurred in the samples were closely related to each other. Our finding that mutations detected in the 175 bp region of the *PmrA* gene are related to the resistance of the colistin, suggests that mutations in this region may be related to the resistance of the colistin. Sequence analysis of the *PmrA* gene region and determination of the resulting changes; it is one of the first studies in this field in our country. We think that this study will pave the way for new studies to be carried out in this field. New generation genome technologies are a very good option for fully revealing the resistance

mechanism of colistin in MDR *A. baumannii* isolates. However, because of the high cost of technologies, reference centers should be established on this subject and resistant strains identified in the country should be further investigated here.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*, colistin, mutation, *PmrA*, polymorphism

