

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



SIÇANLARDA ACİNETOBACTER BAUMANNİİ
PNÖMONİSİNİN AKCİĞER SÜRFİKTAN PROTEİNLERİ
SP-A, SP-B, SP-C VE SP-D ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

TALAT OĞULCAN ÖZARSLAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. FATMA SIRMATEL

BOLU, ARALIK - 2021

KABUL VE ONAY SAYFASI

Talat Oğulcan ÖZARSLAN tarafından hazırlanan “Sıçanlarda *Acinetobacter baumannii* Pnömonisinin Akciğer Sürfaktan Proteinleri SP-A, SP-B, SP-C ve SP-D Üzerine Etkisi” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir. 10/12/2021

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Fatma SIRMATEL
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Hayrettin AKDENİZ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Ömer BOZDOĞAN
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Doç. Dr. Nevin İNCE
Düzce Üniversitesi

.....

Üye
Doç. Dr. Yunus GÜRBÜZ
Sağlık Bilimleri Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin 31/12/2021 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %5 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 2017/53 sayısı ile etik izin alınmıştır.

.....
Talat Oğulcan ÖZARSLAN

ÖZET

SIÇANLARDA *ACINETOBACTER BAUMANNII* PNÖMONİSİNİN AKCİĞER SÜRFAKTAN PROTEİNLERİ SP-A, SP-B, SP-C VE SP-D ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ
TALAT OĞULCAN ÖZARSLAN
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
HASTANE ENFEKSİYONLARINI ÖNLEME PROGRAMI
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. FATMA SIRMATEL)

BOLU, ARALIK - 2021

XV + 114 sayfa

Acinetobacter baumannii başta pnömoni olmak üzere nozokomiyal enfeksiyonlara sebep olan fırsatçı bir patojendir ve yüksek mortaliteye sebep olur. Akciğer sürfaktan proteinleri (SP) akciğer fonksiyonları için elzemdir. Sürfaktan A, B, C ve D proteinlerinin seviyeleri enfeksiyon varlığında değişebilmektedir, ancak *A. baumannii* pnömonisinde nasıl etkilendikleri bilinmemektedir. Çalışmanın amacı sıçanlarda oluşturulan *A. baumannii* pnömonisinin sürfaktan proteinleri üzerindeki etkisini araştırmaktır. 6-7 aylık 54 adet erkek Sprague-Dawley sıçan 2 ana gruba ayrıldı; Sham (SH) ve *A. baumannii* (AB). Her ana grup altında 3., 24. ve 48. saat grupları oluşturuldu. SH gruplarına 100 µl steril serum fizyolojik, AB gruplarına 100 µl 0.5 McFarland *A. baumannii* intratrakeal yolla inokule edildi. İnokülasyonun ardından 3., 24. ve 48. saatlerde akciğer dokuları alınarak bronkoalveolar lavaj sıvıları (BALS) toplandı. Akciğerlerde histopatolojik incelemeler gerçekleştirildi ve BALS'de SP-A, SP-B, SP-C, ve SP-D seviyeleri ELISA ile ölçüldü. SH ve AB grupları arasında polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, bronş çevresi lenfosit, hemoraji, konjesyon, bronkoalveolar proliferasyon ve makrofaj kümelenmesi değerlerinde istatistiksel anlamlı fark görüldü. AB grubundaki BALS konsantrasyonlarının SH grubuna göre karşılaştırılmasında, SP-A seviyesi her saatte, SP-B seviyesi 24. saatte ve SP-D seviyesi 3. ve 24. saatlerde yüksek, SP-C seviyesi ise 3. ve 24. saatlerde daha düşük bulundu. SP-A ve SP-B arasında orta, pozitif, SP-A ve SP-D arasında güçlü, pozitif, SP-B ve SP-C arasında orta, negatif, SP-B ile SP-D arasında orta, pozitif yönlü korelasyon bulundu. Bu çalışmada ilk kez sıçanlardaki *A. baumannii* pnömonisinin sürfaktan proteini A, B ve D seviyesini arttırdığı, C seviyesini düşürdüğü görülmüş ve sürfaktan proteinleri arasındaki korelasyon gösterilmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: *A. baumannii*, Pnömoni, Akciğer Sürfaktanı, Sürfaktan Proteinleri

ABSTRACT

THE EFFECT OF ACINETOBACTER BAUMANNII PNEUMONIA ON LUNG SURFACTANT PROTEINS SP-A, SP-B, SP-C, AND SP-D ON RATS

PHD THESIS
TALAT OĞULCAN ÖZARSLAN
BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY
INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES
DEPARTMENT OF INFECTIOUS DISEASES
PREVENTION OF NOSOCOMIAL INFECTIONS PROGRAM
(SUPERVISOR: PROF. DR. FATMA SIRMATEL)

BOLU, DECEMBER 2021

XV + 114 pages

Acinetobacter baumannii is an opportunistic pathogen which causes nosocomial infections, mainly pneumonia, and it causes high mortality. Lung surfactant proteins (SP) are crucial for lung functions. The level of surfactant proteins A, B, C, and D changes in the presence of infection, however how they are affected in *A. baumannii* pneumonia is not known. The aim of the study is to investigate the effect of *A. baumannii* pneumonia on surfactant proteins. 54 6-7 months old Sprague-Dawley rats were divided into two main groups: Sham (SH) and *A. baumannii* (AB). 3rd, 24th and 48th hour groups were added in both main groups. Rats in SH were administered 100 µl sterile saline, whereas rats in AB received 100 µl 0.5 McFarland *A. baumannii* intratracheally. After the inoculation, lungs and bronchoalveolar lavage fluids (BALF) were collected on 3rd, 24th, and 48th hour. Lungs were examined histopathologically, and SP-A, SP-B, SP-C, and SP-D levels were measured in BALF with ELISA. Statistically significant differences were found between SH and AB groups in polymorphonuclear leukocyte infiltration, lymphocyte around bronchi, hemorrhage, congestion, bronchoalveolar proliferation, and macrophage accumulation. BALF concentrations; SP-A levels on every hour, SP-B on 24th, and SP-D on 3rd and 24th hours were higher, and SP-C on 24th hour was lower in AB group compared to SH group. A strong, positive correlation between SP-A and SP-D, and a moderate, negative correlation between SP-B and SP-C were found. This is the first study to demonstrate that the *A. baumannii* pneumonia on rats increases SP-A, SP-B, SP-D while decreasing SP-C levels, and there are correlations between surfactant proteins.

KEYWORDS: *A. baumannii*, Pneumonia, Lung Surfactant, Surfactant Proteins

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ	x
FOTOĞRAF LİSTESİ	xi
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xii
TEŞEKKÜR	xv
1. GİRİŞ.....	1
1.1 <i>Acinetobacter baumannii</i>	1
1.1.1 Tarih ve Sınıflandırma	1
1.1.2 Mikrobiyolojik Özellikler	2
1.1.3 Doğal Yaşam Alanı	4
1.1.4 Virülans Faktörleri ve Patogenez	4
1.1.4.1 Kapsül, Biyofilm ve Pilus	4
1.1.4.2 Dış Membran Proteinleri.....	6
1.1.4.3 Fosfolipazlar.....	11
1.1.4.4 Sekresyon Sistemleri.....	12
1.1.4.5 Penisilin Bağlayan Proteinler	15
1.1.4.6 Metal Alım Sistemleri.....	15
1.1.5 Antibiyotik Direnci ve Direnç Mekanizmaları	18
1.1.5.1 Efflux Pompaları	18
1.1.5.2 β -laktamazlar.....	18
1.1.5.3 Porin ve Penisilin Bağlayan Proteinler	19
1.1.5.4 Aminoglikozit-değiştirici Enzimler	19
1.1.6 Enfeksiyon ve Bulaş Yolları.....	20
1.1.6.1 <i>Acinetobacter baumannii</i> Kaynaklı Pnömoni	21
1.2 Akciğer Sürfaktanı.....	22
1.2.1 Sürfaktan Proteinleri.....	24
1.2.1.1 Hidrofilik Sürfaktan Proteinleri	25
1.2.1.2 Hidrofobik Sürfaktan Proteinleri.....	27
1.2.2 Sürfaktan Proteinleri ve Enfeksiyon İlişkisi.....	29
1.3 Çalışmanın Amacı	31
2. GEREÇ VE YÖNTEM	32
2.1 Deney Hayvanları ve Gruplar	32
2.2 <i>Acinetobacter baumannii</i> , İnokulum ve Testler	33
2.3 Besiyerleri.....	34

2.4 İntratrakeal İnstilasyon	34
2.5 Akciğer Dokuları	36
2.6 Bronkoalveolar Lavaj	37
2.7 Mikrobiyolojik İnceleme	38
2.8 Histopatolojik İnceleme	39
2.9 Biyokimyasal İnceleme	40
2.10 İstatistiksel Analiz	41
3. BULGULAR	42
3.1 Deney Hayvanları, Ağırlıklar ve Mortalite	42
3.1 Bakteriyel Üreme	44
3.2 Histopatolojik Bulgular	46
3.3 Biyokimyasal Bulgular	62
3.3.1 BALS SP-A Konsantrasyonu	62
3.3.2 BALS SP-B Konsantrasyonu	63
3.3.3 BALS SP-C Konsantrasyonu	64
3.3.4 BALS SP-D Konsantrasyonu	65
3.3.5 Sürfaktan Proteinleri Arasındaki Korelasyon	67
4. TARTIŞMA	71
4.1 Deney Hayvanları, Mortalite ve Vücut Ağırlığı	71
4.2 Bakteriyel Üreme	72
4.3 Histopatolojik Bulgular	74
4.4 Sürfaktan Proteinleri	77
4.4.1 Hidrofilik Sürfaktan Proteinleri	77
4.4.2 Hidrofobik Sürfaktan Proteinleri	81
4.4.3 Sürfaktan Proteinleri Arasındaki Korelasyon	84
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	86
6. KAYNAKLAR	89

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. Lamellar cismin alveolar tip II epitel hücrelerinden sentezlenmesi ve sıvı- hava ara yüzeyine salgılanması	23
Şekil 1.2. Hidrofilik sürfaktan proteinlerinin yapısı	26
Şekil 1.3. Hidrofobik sürfaktan proteinlerinin yapısı	28
Şekil 2.1. Kanülün trakeye yerleştirilmesi	34
Şekil 2.2. Hazırlanan sıvının akciğere enjekte edilmesi	35
Şekil 2.3. Histopatolojik inceleme için ayrılan akciğer örnekleri.....	37
Şekil 2.4. Bronkoalveolar lavaj prosedürü.....	38
Şekil 3.1. Saatlere göre BALS SP-A konsantrasyonundaki değişim.....	63
Şekil 3.2. Saatlere göre BALS SP-B konsantrasyonundaki değişim.....	64
Şekil 3.3. Saatlere göre BALS SP-C konsantrasyonundaki değişim.....	65
Şekil 3.4. Saatlere göre BALS SP-D konsantrasyonundaki değişim.....	66
Şekil 3.5. SP-A ve SP-B arasındaki korelasyon	68
Şekil 3.6. SP-A ve SP-C arasındaki korelasyon	68
Şekil 3.7. SP-A ve SP-D arasındaki korelasyon	69
Şekil 3.8. SP-B ve SP-C arasındaki korelasyon.....	69
Şekil 3.9. SP-B ve SP-D arasındaki korelasyon	70
Şekil 3.10. SP-C ve SP-D arasındaki korelasyon	70
Şekil 4.1. Gruplara göre histopatolojik ve biyokimyasal sonuçlar.	76

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1. Sürfaktan proteinlerinin etkilediği veya maruziyetinde etkilendiği mikroorganizmalar	31
Tablo 2.1. Deney grupları ve sıçanlara uygulanan işlemler	32
Tablo 2.2. Histopatolojik skorlama	39
Tablo 2.3. Korelasyon katsayısı değerlendirmesi.....	41
Tablo 3.1. Deney hayvanlarının eksitus oranları	43
Tablo 3.2. Deney hayvanlarının ilk ve son ağırlık ölçümleri	43
Tablo 3.3. BALS örneklerinden yapılan ekim sonucu üreyen koloni sayısı	45
Tablo 3.4. Histopatolojik bulguların Sham ve <i>A. baumannii</i> grupları arasında karşılaştırılması	50
Tablo 3.5. Histopatolojik bulguların Sham grubunun saatleri arasında karşılaştırılması	54
Tablo 3.6. Histopatolojik bulguların <i>A. baumannii</i> grubunun saatleri arasında karşılaştırılması	55
Tablo 3.7. Histopatolojik bulguların <i>A. baumannii</i> grubu içindeki saatler arasındaki karşılaştırması.....	59
Tablo 3.8. BALS SP-A konsantrasyonundaki değişim	62
Tablo 3.9. BALS SP-B konsantrasyonundaki değişim	64
Tablo 3.10. BALS SP-C konsantrasyonundaki değişim	65
Tablo 3.11. BALS SP-D konsantrasyonu.....	66
Tablo 3.12. Sürfaktan proteinleri arasındaki korelasyon değerleri	67

FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 2.1. Dil ve alt çene pens ile sabitlendikten sonra aydınlatılan farinks ve glotisin görünümü	35
Fotoğraf 2.2. BALS sırasında akciğerin görünümü	38
Fotoğraf 3.1. 24 saatlik enkübasyonun ardından <i>A. baumannii</i> 'nin besiyerindeki görüntüsü	44
Fotoğraf 3.2. Gram boyanmış ATCC 19606 <i>Acinetobacter baumannii</i> 'nin ışık mikroskobu altındaki görüntüsü	45
Fotoğraf 3.3. Akciğer kesitlerinden alınan örneklerin ekimi sonrası üreme....	46
Fotoğraf 3.4. HE boyanan akciğer görüntüsü, SH-3 - AB-3	48
Fotoğraf 3.5: HE boyanan akciğer görüntüsü, SH-3 - AB-3	49
Fotoğraf 3.6: HE boyanan akciğer görüntüsü, SH-24 - AB-24	52
Fotoğraf 3.7. HE boyanan akciğer görüntüsü, SH-24 - AB-24	53
Fotoğraf 3.8. HE boyanan akciğer görüntüsü, SH-48 – AB-48	57
Fotoğraf 3.9. HE boyanan akciğer görüntüsü, SH-48 – AB-48	58
Fotoğraf 3.10. HE boyanan akciğer görüntüsü, AB-3 – AB-48	60
Fotoğraf 3.11. HE boyanan akciğer görüntüsü, AB-24 – AB-48	61

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

AB	: <i>Acinetobacter baumannii</i>
AB-24	: <i>Acinetobacter baumannii</i> 24. saat
AB-3	: <i>Acinetobacter baumannii</i> 3. Saat
AB-48	: <i>Acinetobacter baumannii</i> 48. saat
ABC	: Adenozin trifosfat bağlayıcı kaset
AFLP	: Çoğaltılan parça uzunluğu farklılığı
AME	: Aminoglikozit-değiştirici enzimler
APACHE	: Akut fizyoloji ve kronik sağlık değerlendirme skoru
ARDRA	: Çoğaltılmış rDNA geni restriksiyon analizi
ARDS	: Akut respiratuar distress sendromu
Ata	: <i>Acinetobacter</i> trimerik ototransporter
ATCC	: Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
ATII	: Alveolar tip II epitel hücresi
ATP	: Adenozin trifosfat
BALS	: Bronkoalveolar lavaj sıvısı
Bap	: Biyofilm ilişkili protein
BCG	: <i>Bacillus Calmette-Guérin</i>
CAMP	: Katyonik antimikrobiyal peptid
cfu	: Koloni oluşturan birim
CRAB	: Karbapenem dirençli <i>Acinetobacter baumannii</i>
CRP	: Karbonhidrat bağlayıcı protein
CSAB	: Karbapenem duyarlı <i>Acinetobacter baumannii</i>
Csu	: Chaperon-usher
dk	: Dakika
DM	: Dış membran
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPC	: Dipalmitoilfosfatidilkolin
Drp1	: Dinamin ilişkili protein-1
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMB	: Eosin methylene blue
ER	: Endoplazmik retikulum
g	: Gram

ga	: Gauge
HE	: Hematoksilen ve eozin
HIV	: İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü
HKP	: Hastane kökenli pnömoni
IFN-γ	: İnterferon gama
IgG	: İmmünoglobülin G
IL-1β	: İnterlökin 1 beta
IL-33	: İnterlökin 33
IL-6	: İnterlökin 6
İM	: İç membran
kDa	: Kilodalton
kg	: Kilogram
LOS	: Lipooligosakkarit
LPS	: Lipopolisakkarit
MATE	: Çoklu ilaç ve toksik bileşik atımı
MDR	: Çoklu ilaç direnci
MF	: Majör fasilitatör süperfamilya
mg	: Miligram
mg/kg	: Kilogram başına miligram
ml	: Mililitre
mRNA	: Mesajcı rübonükleik asit
MRSA	: Metisilin dirençli Staphylococcus aureus
n	: Örneklem
NaCl	: Sodyum klorür
NRAMP	: Doğal bağışıklık ilişkili makrofaj proteini
OMP	: Dış membran proteini
Omp33-36	: 33-36-kDa dış membran proteini
OmpA	: Dış membran proteini A
OMV	: Dış membran vezikülü
PBP	: Penisilin bağlayıcı protein
PC	: Fosfatidilkolin
PDR	: Panrezistans
PLA	: Fosfolipaz A
PLC	: Fosfalipaz C

PLD	: Fosfolipaz D
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
RDS	: Respiratuar distres sendromu
RNA	: Ribonükleik asit
RND	: Direnç nodülasyon bölümü
rOmpA	: Rekombinant dış membran proteini A
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Dakikadaki devir
RSV	: Respiratuar sinsityal virüs
SAPLIP	: Sapozin-like protein ailesi
SAPS II	: Basitleştirilmiş akut fizyoloji skoru
SH	: Sham
SH-24	: Sham 24. saat
SH-3	: Sham 3. saat
SH-48	: Sham 48. saat
SMR	: Küçük çoklu ilaç direnci
SOFA	: Ardışık organ yetmezliği değerlendirmesi skoru
SP	: Sürfaktan protein
SP-A	: Sürfaktan protein A
SP-B	: Sürfaktan protein B
SP-C	: Sürfaktan protein C
SP-D	: Sürfaktan protein D
SP-G	: Sürfaktan protein G
SP-H	: Sürfaktan protein H
T2SS	: Tip II sekresyon sistemi
T6SS	: Tip VI sekresyon sistemi
TKP	: Toplum kökenli pnömoni
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa
VİP	: Ventilator ilişkili pnömoni
XDR	: Yaygın ilaç direnci
°C	: Santigrat derece
μl	: Mikrolitre

TEŞEKKÜR

Doktora eğitim ve araştırmalarım sırasında benimle bilgi, görüş, tecrübe ve tavsiyelerini paylaşan ve yol gösteren değerli danışmanım Prof. Dr. Fatma SIRMATEL'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşıp, histopatolojik ve biyokimyasal analizlerde desteklerini esirgemeyen Dr. Şeyda KARABÖRK, Dr. Öğr. Üyesi Selma ERDOĞAN DÜZCÜ ve Doç. Dr. Hesna Müzeyyen ASTARCI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her anında yanımda olan, tüm kararlarımda beni destekleyen ve her zaman sevgisini hissettiğim aileme ve Özge SARIALIOĞLU'na en içten ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2018.08.26.1389 proje numarası ile desteklenmiştir.

Bu araştırma Türkiye Cumhuriyeti Yükseköğretim Kurulu'nun YÖK 100/2000 Doktora Bursu programı kapsamında desteklenmiştir.

1. GİRİŞ

1.1 *Acinetobacter baumannii*

1.1.1 Tarih ve Sınıflandırma

Acinetobacter cinsi mikroorganizma ilk olarak 1911 yılında izole edilmiş ve *Micrococcus calco-aceticus* olarak adlandırılmıştır (1). Bu ismin 1954 yılında Yunanca hareketsiz anlamına gelen “akinetos” kelimesinden yola çıkılarak *Acinetobacter* olarak değiştirilmesi önerilmiş (2), ancak cins adının *Acinetobacter* olarak değiştirilmesi 1971 yılında Baumann’ın daha önce yayınlamış olduğu çalışmaya (3) dayanarak gerçekleşmiştir (4). 2021 yılı itibarıyla *Acinetobacter* cinsi altında geçerli olarak yayınlanan 70 tür, geçici isimlendirmede 25 tür bulunmaktadır (5). *Acinetobacter* türlerinin ayırımında altın standart DNA-DNA hibridizasyonu (DDH) olarak kabul edilmiştir (6), ancak uygulama zorluğu ve ayırt etmedeki yetersizlikten dolayı ribotipleme (7), çoğaltılmış rDNA geni restriksiyon analizi (ARDRA) (8), çoğaltılan parça uzunluğu farklılığı (AFLP) (9), 16S-23S rRNA analizleri (10,11), RNA polimeraz β -alt birim sekansı (12), çekirdek genom filogenetik analizi (13) ve ortalama nükleotid kimlik analizi (13) gibi metotlar önerilmektedir ve bunlar arasından ARDRA ve AFLP en yaygın kullanılan metotlardır (14).

A. baumannii, *A. calcoaceticus*, genomik tür 3 ve 13TU genotipik ve fenotipik olarak çok benzer olmalarından ve kolay ayırt edilememelerinden dolayı *A. calcoaceticus* - *A. baumannii* kompleksi olarak adlandırılırlar (15). *A. baumannii*, genomik tür 3 ve TU13 klinik olarak en önemli *Acinetobacter* türleri olduklarından ve *A. calcoaceticus*’un çevresel, klinik olarak önemli olmayan bir tür olmasından dolayı bu isimlendirme klinik açıdan pek anlamlı değildir (16). *A. baumannii*, genomik tür 3 ve 13TU’nun birçok laboratuvarında kesin olarak ayırt edilmesi mümkün olmadığından bu türler *A. baumannii* olarak adlandırılırlar (16). *Acinetobacter* türlerinin tanımlanmasında ve özellikle bu üç türün ayırt edilmesinde çekirdek genom filogenetik analizi ve ortalama nükleotid kimlik analizinin kombinasyonunun kullanılması önerilmiştir (13). Chan ve ark. bu kombinasyonu kullandıkları çalışmalarında *Acinetobacter* genomik tür 3’ün *A. pittii* ve genomik tür 13’ün ise *A. nosocomialis* olduğunu doğrulamıştır (13).

2003 yılında Irak'a giden Amerikan askerlerinde meydana gelen yumuşak doku enfeksiyonlarının %4.1'inin *A. baumannii* kaynaklı olduğu görülmüş, yaralı askerlerde sıklıkla *A. baumannii* kaynaklı kan yolu enfeksiyonlarına rastlanmış, bu yüzden *Iraqibacter* olarak adlandırılmıştır (17). *A. baumannii* düşük dereceli patojen olarak kabul edilmesine karşın, fırsatçı bir patojendir, dolayısıyla immün sistemin zayıfladığı hastalarda kolaylıkla enfeksiyona sebep olabilmektedir (18).

1.1.2 Mikrobiyolojik Özellikler

Acinetobacter cinsi altındaki bakteriler Gram-negatif, non-fermantatif, katalaz pozitif, oksidaz negatif, zorunlu aerobik, hareketli kokobasildir ve %39 G, %47 C DNA içeriğine sahiptir (14). 37°C'deki inkübasyonda büyüme gösteren kolonilerin boyu 1,5-3 mm boyutlarındadır ve şeffaf veya opak, mukoid, grimsi-beyaz görünümlüdürler (14). *A. baumannii* koloni faz değişimi sayesinde hem koloni ve hücre morfolojisini hem de hareketlilik, biyofilm üretimi, antibiyotik direnci ve virülansını değiştirebilmektedir (19,20). Şeffaf *A. baumannii* kolonileri daha yoğun biyofilm üretirken aynı zamanda daha fazla dış membran vezikülü salgılamaktadırlar (20). *A. haemolyticus* gibi birkaç tür dışında koyun kanlı agarda hemoliz göstermezler (14). *A. baumannii*'nin hücre duvarı tipik gram negatif hücre duvarı özelliğinde olmasına rağmen kristal viyole'yi tutmaya yatkın olduğundan boyadan arındırmak zordur (21). Bu yüzden boyama sonrası gram pozitif kok olarak yanlış sınıflandırılabilir (21).

Acinetobacter türleri için 3 gruptan oluşan bir gruplandırma önerilmiştir; (1) çoklu ilaç direncine sahip, çoğunlukla salgın sırasında hastanelerde bulunan izolatlar, (2) antibiyotiğe duyarlı, insanların ve hayvanların deri florasının normal üyesi olan veya yiyeceklerde bulunabilen izolatlar, (3) antibiyotiğe duyarlı, çevre, toprak ve atık sularda bulunabilen izolatlar. Birinci grupta yer alan mikroorganizmalar *A. baumannii* ve onun yakın akrabalarından, ikinci gruptaki mikroorganizmalar çoğunlukla *A. johnsonii*, *A. lwoffii* ve *A. radioresistens*'ten ve üçüncü gruptaki mikroorganizmalar ise çoğunlukla *A. calcoaceticus* ve *A. johnsonii*'den oluşmaktadır (22).

Acinetobacter gibi gram negatif bakterileri çevreleyen dış iskelet dış membran (DM), peptidoglikan hücre duvarı ve iç membrandan (İM) oluşur (23). DM'in dış bölümü yapısında endotoksin lipid A, çekirdek oligosakkarit ve O

antijen bulunan lipopolisakkaritten (LPS) veya lipooligosakkaritten (LOS) oluşur (23). LPS'nin biyosentezi çekirdek oligosakkaritin lipid A üzerine inşası ve ardından ayrıca sentezlenmiş olan O antijenin WaaL ligaz enzimi ile bu yapıya bağlanmasıyla gerçekleşir (24). WaaL ligaz enzimi O antijeni ve dolayısıyla LPS sentezi için kritik önem arz etmektedir (24). O antijeni *Escherichia coli* ve *Salmonella* gibi gram negatif bakterilerin yapısal bütünlüğünde, hayatta kalmasında, direnç mekanizmalarında ve kolonizasyonunda rol almaktadır (25–27). DM yapısında O antijeni eksikliği LPS yerine LOS senteziyle sonuçlanır. WaaL ligaz enziminden yoksun ve O antijeni sentezlemeyen *Neisseria* ve *Campylobacter* LPS yerine LOS sentezler (28). İçlerinde 19606 suşunun da bulunduğu bir çok *A. baumannii*'nin O antijeni sentezlediği ve DM'de LPS bulundurduğuna dair çalışmalar mevcuttur (29–34). Buna karşılık *A. baumannii* suşlarında DM yapısında O antijeni yerine kapsüler polisakkaritlerin bulunduğu (35), mikroorganizmada bulunan waaL-like genin O antijen ligaz aktivitesi olmayan PglL enzimini kodladığı (36), PglL ve WaaL enzimi kodlayan iki waaL-like gene sahip *Acinetobacter* spp.'de ise bu enzimlerin sadece O-linked glikozilasyonda görevli olduğu ve O-antijen biyosentezinde rol almadığı görülmüştür (37,38). Ek olarak *Acinetobacter baumannii*'nin yüzey glikolipidlerinin gümüş boyama ve Western Blot analizlerinde yapısında tipik LPS görünümü göstermediği (39) ve bu nedenlerle *Acinetobacter* türlerinin DM yapısında LPS yerine LOS bulunduğu düşünülmektedir (24,35,40,41).

Çoğu gram negatif bakterinin dış membranında bulunan lipid A altı asil (hexa-acyl) grubu bulundurur ve DM yapısındaki lipid A'yı hedef alan ve hücrenin lizisine sebep olan katyonik antimikrobiyal peptidlere karşı asiltransferaz PagP üretimi ile asil gurubunu 7'ye (hepta-acyl) çıkartarak direnç oluşturur (42,43). Ancak *A. baumannii*'de PagP kodlayan bir gen ve PagP enzimi bulunmamaktadır ve *A. baumannii*'de hepta-acyl ağırlıklı lipid A yapısına sahiptir (41,42,44,45). Hepta-acyl bulunduran lipid A (42) yapısıyla birlikte oluşturabildiği biyofilm ve kapsül (46), *A. baumannii*'nin kuru ortamlarda hayatta kalma yetisine katkı sağlamakta ve mikroorganizmaya dezenfektanlara karşı direnç kazandırmaktadır (47).

1.1.3 Doğal Yaşam Alanı

Acinetobacter türleri toprak, su, tortu, atık suları, sebze, hayvan ve insanlar olmak üzere bir çok örnekten izole edilebilirler (48). *A. lwoffii*, *A. johnsonii*, *A. radioresistens*, genomik tür 3, *A. junii* ve *A. haemolyticus* ve nadir de olsa *A. baumannii* sağlıklı insan derisinde kolonize olabilmektedir (49,50). Yatan hastalarda *Acinetobacter spp.* kolonizasyonunun daha yüksek olduğu (%75) görülmüştür (49). Sağlıklı insan derisinde çok nadir bulunsa da *A. baumannii* insanlardaki pirelerde %21 oranında izole edilmiştir (51).

A. baumannii'nin her yerde bulunan, toprak, su ve hayvanlardan kolaylıkla izole edilebilen ve insan florasında sıklıkla rastlanan bir mikroorganizma olduğuna dair yanlış bir kanı vardır (22,52). Bu kanı birçok *Acinetobacter* türü için geçerli olsa da *A. baumannii* için yanlıştır. *A. baumannii* daha önce toprak ve sebze örneklerinden izole edilmiş olsa da çevrede bulunma sıklığı yüksek değildir. *A. baumannii* salgınlar sırasında hastane ortamından ve hastalardan izole edilebilmekteyken salgın olmayan durumlarda hastane ortamından izole edilmesi oldukça nadirdir (22). Klinik olarak önem arz eden *A. baumannii*'nin toprak, su ve diğer çevresel örneklerden izolasyonu oldukça nadirdir ve doğal habitatı henüz kesin olarak tanımlanamamıştır (14,22).

1.1.4 Virülans Faktörleri ve Patogenezi

1.1.4.1 Kapsül, Biyofilm ve Pilus

Birçok bakteri gibi *A. baumannii* kapsül, biyofilm ve pilus üretmektedir. *A. baumannii*'nin dış membranı sıkıca paketlenmiş oligosakkarit alt birimlerinden oluşan kapsüller polisakkaritler ile çevrilidir (53). *A. baumannii*'nin önemli virülans faktörlerinden birisi olan kapsülün yapısında bulunan hidrofilik ve negatif yüklü polisakkaritler kendisi gibi negatif yüklü olan fagositik hücrelere karşı bir itiş gücü oluşturur ve böylece kompleman aracılı ölümden kaçınmayı (54), antibiyotiklere ve dezenfektanlara karşı direnç sağlar (53,55). Kapsül bakterinin konağın doğuştan gelen bağışıklık tepkisinden kaçınmasının önemli bir parçasıdır. Kapsül üretiminde görevli genlerdeki bozukluklar virülansın yok olmasına sebep olabilmekte (24,53), inhibitör dozun altındaki antibiyotik uygulamaları *A. baumannii*'nin kapsül

kalınlığını arttırmasına, böylece hem virölansını hem de doğuştan gelen bağışıklık tepkisine direncini arttırmasına sebep olmaktadır (56). Bakteri kapsülünün polisakkarit yapısındaki farklılık *A. baumannii*'nin farklı suşları arasında virölans farkına sebep olmakta, kompleman birikimini engelleyen kapsüler yapı fagositozu ve bakteri temizlenmesini engellemektedir (57). *A. baumannii*'nin kapsüler polisakkarit üretimi sıcaklık, osmotik basınç ve iyon kullanılabilirliği gibi parametrelerden etkilemektedir (55). *A. baumannii*'nin kapsüler polisakkarit üretimi iki bileşenli düzenleyici sistem olan BfmRS (56,58) ve OmpR-EnvZ (59) tarafından düzenlenmektedir. Kapsüler polisakkarit *A. baumannii* virölansının önemli bir parçasını oluşturduğu gibi aşılama ve tedavi çalışmaları için de önemli bir hedeftir. Kapsüler polisakkarit kullanılarak pasif bağışıklama ve *A. baumannii*'nin kapsüler polisakkaritini hedef alan bakteriyofaj kullanılarak tedavi çalışmaları yürütülmektedir (55).

A. baumannii suşlarının bir çoğu ekstraselüler matriks ile çevrili bakteri topluluğu olan biofilm oluşturur (47). *A. baumannii* hem biyotik hem de abiyotik yüzeylere tutunabilir ve biyofilm oluşturabilir (60). Biyofilm üretimi *A. baumannii* suşlarında diğer *Acinetobacter* türlerine göre en az üç kat daha fazladır (61). Bakterilerde yüzey kolonizasyonu katı-sıvı veya hava-sıvı ara yüzeyinde gerçekleşir. *A. baumannii* katı-sıvı ara yüzeyde daha sık olmakla birlikte hava-sıvı ara yüzeyinde de biofilm oluşturabilmektedir (61). *A. baumannii* endotrakeal tüp ve kateter gibi abiyotik medikal aletlerin ve hastane ekipmanlarının yüzeylerinde biyofilm oluşturarak nozokomiyal enfeksiyonlara sebep olabilmektedir (60). Endotrakeal tüp kullanan hastalardaki incelemeye göre 75 hastanın 73'ünde (%97) tüp içinde biyofilm oluşumu gözlenirken, izole edilen bakteriler arasında en yaygın olanı %28 ile *A. baumannii* iken ardından %23 ile *Pseudomonas aeruginosa*'nın geldiği ve geç başlangıçlı ventilatör ilişkili pnömoni gelişen hastaların %54'ünde ilişkili mikroorganizmanın *A. baumannii* olduğu görülmüştür (62). *A. baumannii* abiyotik yüzeyler haricinde epitel hücrelerde ve yaralar üzerinde biyofilm oluşturmakta ve yara iyileşmesini olumsuz etkilemektedir (63,64). *A. pittii* ve *A. nosocomialis* gibi *A. baumannii* ATCC 19606 da insan derisinde hızlıca çoğalabilmekte ve derinin stratum corneum tabakası üzerinde biyofilm oluşturabilmektedir (65). *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturabilme yetisi dış membran proteini A (OmpA, outer membrane protein A) ve biyofilm ilişkili protein

(Bap, biofilm-associated protein) gibi proteinleri, O-linked protein glikozilasyonu, O-pentasakkarit ve ply- β -1,6-N-asetilglikozamin sekresyonuyla ilişkilidir (60).

Bakteri hareketliliği *A. baumannii* virölansı için önemli etkenlerden birisidir. Farklı *A. baumannii* izolatlarının farklı hareketlilik yetileri bulunmakta ve hareketliliğin artışı bakterinin virölansını doğrudan etkilemektedir (66). 19606 dahil olmak üzere birçok *A. baumannii* suşunun yapısında piluslar görülmektedir (24,67). Bakterinin yapısında tip IV ve chaperon-usher (Csu) olmak üzere farklı rolleri bulunan pilus bulunmaktadır (41). Csu pilus biofilm oluşturma ve muhafaza etmede görevli iken (67) tip IV pilus biofilm oluşturma, twitching (seğirme) hareketinde ve ıslak yüzeylerdeki hareketlilikte görevlidir (68). Tip IV pilus *A. baumannii*'nin tüm izolatlarında bulunmaktadır, ancak pilin proteinleri arasındaki yüksek uyumsuzluk tip IV pilusu muhtemel bir antimikrobiyal ajan hedefi olmaktan uzaklaştırır (41). *A. baumannii*'nin epitel hücrelere pilus aracılığıyla aderansı kolonizasyonun ilk adımı olarak görülmektedir (60), ancak tip IV pilusun *A. baumannii* virölansında nasıl rol aldığına dair kesin kanıt yoktur. Buna rağmen, tip IV pilusun biofilm oluşumunda rol aldığı ve böylece virölansa etki ettiği düşünülmektedir (41). Csu pilusun bronşiyal epitel hücrelere veya eritrositlere aderansta etkili olmadığı görülmüş, bu yüzden de pilusun biofilm oluşumunda bir rol üstlendiği düşünülmektedir (69). Csu pilusun ekspresyonu 25-37°C arasında değişmekte, 37°C'de hem ekspresyon hem de biofilm oluşumu artış göstermektedir (70). Bu da Csu pilusun biofilm oluşumundaki rol aldığına dair görüşleri desteklemektedir. Csu pilusun regülasyonu CsuA/BABCDE operonu tarafından sağlanmakta, bu yüzden Csu pilusa CsuA/BABCDE-mediated pilus da denmektedir (67). *A. baumannii*'nin abiyotik yüzeyler üzerine biofilm oluşturma yetisi pilus bulundurma ile ilişkili iken biyotik yüzeylere tutunma ve biofilm oluşturma yetisi pilustan bağımsızdır ve dış membran proteinlerinin katkılarıyla gerçekleşir (52).

1.1.4.2 Dış Membran Proteinleri

Gram negatif bakterilerin dış iskeleti DM, İM ve peptidoglikan hücre duvarından oluşmaktadır. Dış membran, fosfolipidden oluşan iç bölüm ve lipopolisakkarit veya lipooligosakkaritten oluşan dış bölüm, lipoproteinler ve dış membran proteinlerinden (OMP, outer membrane protein) oluşur. Dış membran

proteinleri sitoplazmada sentezlendikten sonra chaperonlar (refakatçi) ve membrana gömülü sistemler aracılığıyla DM'deki bölgelerine transfer edilerek bu bölgelere yerleştirilirler (71). OMP'ler periplazmik alandaki bölümü kısa, ekstraselüler alandaki bölümü ise uzun döngülerden oluşan, eşit sayıda β -iplik bulunduran β -barrel yapısındadırlar (71,72). OMP'ler adezyon, besin alımı, protein sekresyonu ve oksidatif stres direnci gibi bakteri için kritik selüler fonksiyonlar üstlenirken konak hücreler üzerinde apoptotik etki gösterirler (73–77). *A. baumannii* ve *A. nosocomialis* patogenezinde rol alan Oma87 (78), OmpA (79), BamA (80) ve FliF (81) gibi OMP'lere karşı konakta oluşan yüksek antikor cevabı, OMP'leri, *A. baumannii* gibi antibiyotiklere dirençli ve nozokomiyal enfeksiyonlara sebep olan bakterilere karşı aşılama çalışmalarında odak noktası haline getirmiştir.

A. baumannii'nin en iyi bilinen ve yüzeyinde çokça bulunan OMP'lerinden birisi, Omp38 olarak da bilinen OmpA, bir β -barrel porindir. *A. baumannii*'de 52 farklı alel tarafından kodlanan 23 farklı proteinin bulunduğu 5 ana OmpA varyantı (V1 ila V5) bulunmaktadır (82). OmpA *A. baumannii* için önemli bir virülans faktördür. OmpA biyofilm oluşumu, aderans, apoptozun tetiklenmesi, antibiyotik direnci gibi patogenezin önemli bölümlerinde rol alır. *A. baumannii*'nin abiyotik yüzeylerle olan ilişkisi piluslar aracılığıyla olsa da biyotik yüzeylerle olan ilişki pilus etkileşiminden bağımsızdır ve bu yüzeylere karşı olan aderans OmpA'nın biyofilm oluşturmada oynadığı role dayanmaktadır (83). OmpA sayesinde *A. baumannii* alveolar epitel hücrelere tutunabilmekte ve konak hücre apoptozunu tetiklemektedir (83). OmpA epitel, fibroblast ve makrofaj gibi birçok hücreye doğrudan bağlanabilmekte ve translokasyon ile nukleusa (84) ve mitokondriye (85) ulaşarak konak hücrenin apoptozuna sebep olmaktadır. *A. baumannii*'nin akciğer epitel hücresine adezyonu, OmpA'nın ekstraselüler matriks proteini fibronektinle olan etkileşimine bağlıdır (86). *A. baumannii* tarafından salgılanan dış membran vezikülü (OMV, outer membrane vesicle) içerisinde bulunan OmpA, konak hücre tarafından hücre içerisine alınır. OmpA mitokondride lokalize olduktan sonra sitokrom c ve apoptoz indükleyici faktör salınımına ve böylece hücrenin apoptozuyla sonuçlanan kaspaz-9 aktivasyonunu tetiklemektedir (85). OMV içerisinde bulunan OmpA konak hücre içerisine alınmasının ardından mitokondri-bağımlı hücre ölümünde görevli (87) dinamin ilişkili protein-1'in (Drp1) aktivasyonuna sebep olur (88). Drp1 aktivasyonu mitokondri fragmentasyonuna,

reaktif oksijen türlerinde (reactive oxygen species, ROS) artışa ve hücre ölümüne sebep olur (88). Canlı *A. baumannii* gibi saflaştırılmış OmpA da tek başına kaspaz-9 bağımlı apoptozu etkilemektedir (85). Bu da OmpA'nın *A. baumannii* patogeneğinde önemli bir rol oynadığını ve bakterinin apoptotik etkisinin OmpA bağımlı olduğunu göstermektedir. OmpA'dan yoksun OMV'ler konakta enflamatuvar yanıt oluşturmaya devam eder ancak OmpA yoksunluğunda bu yanıt daha düşüktür (89). OmpA⁻ mutant enfeksiyonunda *A. baumannii*'nin epitel hücrelere aderansı, akciğer içinde kolonizasyonu (88) ve bakterinin kana yayılımı büyük ölçüde düşmekte (90) ve OmpA eksikliği insan serumunda bakterinin hayatta kalma yetisi önemli ölçüde düşürmektedir (91). Normal koşullarda patojenin aktive ettiği kompleman sistemi insan serumundaki bakterinin öldürülmesini sağlar. Ancak kompleman kontrol proteini olan Faktör-H, OmpA'ya bağlanarak *A. baumannii*'ye seruma karşı direnç kazandırır (91). OmpA *A. baumannii*'de olduğu gibi *A. nosocomialis*'te de biyofilm oluşumunda, epitel hücrelere tutunmada ve sitotoksitede rol alır (79). OmpA *A. baumannii*'nin antibiyotik direncinde de rol almaktadır. OmpA efflux pompalarıyla birlikte çalışarak antibiyotiklerin periplazmik alandan dışarıya atılmasını sağlamakta ve böylece *A. baumannii*'ye kloramfenikol, aztreonam, nalidiksik asit, kolistin, imipenem, gentamisin ve trimetoprim gibi antibiyotik ajanlara karşı direnç kazandırmaktadır (92,93). OmpA'nın *A. baumannii* virülansında aldığı roller ve enflamatuvar yanıt oluşturabilme yetisi onu potansiyel *A. baumannii* aşısı için önemli bir hedef haline getirmektedir. OmpA ile bağışıklanan farelerde hayatta kalma oranı artarken (94), rekombinant OmpA (rOmpA) ile bağışıklanan farelerde doz bağımlı sitokin üretimine (95), diyabetik farelerde ise yüksek anti-OmpA titresi oluşmakta, bakteriyel yük azalmakta ve farenin hayatta kalma oranı artmaktadır (96).

A. baumannii'nin dış membranında bulunan bir diğer porin 33-36-kDa Omp proteinidir (Omp33-36). Omp33-36 da OmpA gibi bir β -barrel proteindir (97). Filogenetik analizlere göre *A. baumannii* suşlarında 4 farklı *A. baumannii* Omp33-36 varyantı görülmektedir (1 ila 4) (98). Omp33-36 porinlerindeki bu farklı varyantlar *A. baumannii*'nin karbapenem dirençli suşları arasında görülmektedir (98). Varyant 2 ve 3 14 β -iplik ve 7 dış döngü bulundururken, varyant 1 ve 4 12 ve 11 β -iplik ve sırasıyla 6 ve 5 dış döngü bulundurur (98). Omp33-36 su transferi, aderans, sitotoksitede, antibiyotik direnci ve konak apoptozu gibi süreçlerde görev

almaktadır. OmpA'da olduğu gibi Omp33-36'nın da transferinde OMV'ler görev almaktadır (99). OmpA ve Omp33-36 benzer görevler üstlenseler de OmpA nükleer lokalizasyon ile sitotoksositeye sebep olurken Omp33-36'da bu durum görünmez (99). Konak hücre ile temasın ardından Omp33-36 ekspresyonu ve sentezi artmakta bu da enfeksiyon başlangıcında Omp33-36'nın rol oynadığını göstermektedir (98). Hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarda Omp33-36 yoksunu suşların büyüme sorunları gösterdiği görülmüştür (100). Omp33-36 yokluğunda, enfeksiyon sırasında bakteri yayılımı, akciğer ve dalakta bakteri konsantrasyonu ve bakterinin mortalitesi azalmaktadır (100). Omp33-36'ya maruz kalan konak hücrelerde DNA fragmentasyonu ve kaspaz aktivasyonu görülmektedir (99). OMV aracılığıyla *A. baumannii*'den salınan Omp33-36 konak hücrede prokaspaz 3 ve 9 seviyesinde azalmaya ve bu enzimlerin aktif formu olan kaspaz 3 ve 9 seviyesinde artışa sebep olur (99). Omp33-36 hem apoptoza, hem de apoptozun engellendiği durumlarda otofajiyi tetikler; Omp33-36 kaspaz 8 ve otofaji göstergeleri olan p62 ve LC3B-II artışına sebep olmaktadır (99). Makrofajların saf Omp33-36 ile maruziyeti ROS üretiminin artmasına sebep olur (99). Omp33-36 barındıran *A. baumannii* suşları makrofaj içerisinde persiste kalarak sitotoksositeye sebep olur (99). Omp33-36 *A. baumannii*'nin karbapenem direncinde önemli rol oynar. Düşük konsantrasyonlardaki karbapenem maruziyeti Omp33-36 mRNA seviyesini düşürmekte, azalan Omp33-36 hücre içine karbapenem girişini limitlemektedir, bu yüzden de düşük konsantrasyonda kullanılan karbapenemin *A. baumannii*'nin karbapenem direnci geliştirmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (97,98). Omp33-36 bu etkileri sebebiyle *A. baumannii* için önemli bir virülans faktördür.

OmpA haricinde Omp22, OmpK, Omp34kDa, OprC, OprB-like ve OXA-23 proteinleri de *A. baumannii* enfeksiyonlarına karşı potansiyel birer aşı hedefi olarak gösterilmektedirler (101–105). Omp22 *A. baumannii*'nin diğer bir dış membran proteinidir. Omp22'nin *A. baumannii* patogenezinde rolü bilinmemektedir, ancak Omp22 ile bağışıklama çalışmalarından iyi sonuçlar alınmaktadır. Omp22 ile bağışıklanan farelerde doz bağımlı antikor oluşumu gözlenmekte, ve doza bağlı (5, 10, 20 ve 50µg) olarak farelerin hayatta kalma oranları artış (%0, %33, %33 ve 100%) göstermektedir (102). Omp22 ile bağışıklanan farelerde akciğer, dalak, karaciğer, böbrek ve kandaki bakteriyel yük 10^4 - 10^5 kat düşmekte, bu da Omp22 bağışıklamasının bakteri temizlenmesini arttırdığını göstermektedir (102). Üstelik

tek başına bile sitotoksositeye sebep olabilen OmpA'nın aksine yüksek dozda (500µg) dahi Omp22 belirgin bir yan etkiye sebep olmamaktadır (102). Omp22 gibi OmpK da tek başına kullanıldığında bağışıklık oluşturabilmektedir ancak Omp22 ile birleştirilerek oluşturulan rekombinant OmpK/Omp22 proteini hem Omp22 hem de OmpK'nın tek başlarına oluşturduğu bağışıklıktan daha fazla koruma sağlamaktadır (104). Aynı rekombinant proteinin MF59 adjuvanı ile birlikte kullanılmasıyla daha fazla antikor cevabı alınabilmektedir (105). Omp22'nin Chitosan - Laktik-ko-glikolik asit ile kapsüle edilmesiyle oluşturulan nanopartikül ile bağışıklama IgG ve IFN- γ oluşumunu tetiklemekte, akciğer hasarını ve akciğer ve kandaki bakteriyel yükü tek başına rekombinant Omp22'den daha fazla azaltmakta ve ölümcül *A. baumannii* dozlarına karşı koruma sağlamaktadır (106). *E. Coli*'den elde edilen OMV ile *A. baumannii* Omp22 proteininin birleştirilmesinden oluşan rekombinant Omp22-OMV yüksek oranda antikor üretimini tetiklemekte, akciğer, dalak, karaciğer, böbrek ve kandaki bakteriyel yükü azaltmakta ve enflamatuvar sitokinlerin seviyesini düşürmektedir (103). Omp22-OMV bileşiğiyle bağışıklanan farelerden elde edilen antiserum da klinik izolatlarla karşı bakterisidal etki göstermektedir (103). Omp22, OmpK veya OMV ile birleştirilerek veya kapsüle edilerek etkinliği artırılabilen *A. baumannii* enfeksiyonlarına karşı aşılama için önemli bir hedeftir.

A. baumannii'nin dış membranında bulunan bir protein olan FilF ile bağışıklanan farelerde yüksek antikor cevabını tetiklemekte, sitokin cevabını (TNF- α , IL-33, IFN- γ , IL-6, ve IL-1 β) düşürmekte, farenin hayatta kalma oranını arttırmakta ve akciğerdeki bakteriyel yükü azaltmaktadır (81). FilF'in T ve B hücre epitoplarının bağlanmasıyla elde edilen rekombinant protein ile farelerde uygulanan bağışıklama yüksek dozda IgG antikor üretimini tetiklemekte ve ölümcül *A. baumannii* dozlarına karşı koruyuculuk sağlamaktadır (107).

Oma87 olarak da bilinen BamA, *A. baumannii*'nin β -barrel yapısındaki dış membran proteinidir. BamA ile farelerde yapılan bağışıklama sonucu antikor cevabı oluşmakta, bakteriyel yük ve enflamatuvar sitokin seviyesi düşmekte ve ölümcül doza karşı koruyuculuk sağlanmaktadır (78,80).

1.1.4.3 Fosfolipazlar

Fosfolipidler bakterilerin enerji ve karbon ihtiyaçlarını karşılayabilecekleri ve insan vücudunda bolca bulunan moleküllerdir. Fosfolipidler akciğer sürfaktanının %80'ini oluşturmakta, bu fosfolipidlerin %80'i de fosfatidilkolinden (PC) oluşmaktadır (108). Fosfolipazlar PC'yi parçalayarak yağ asidi, gliserol ve koline ayırır (109). *Pseudomonas aeruginosa* salgıladığı fosfolipaz C ile PC'yi parçalayarak gliserol ve kolini metabolizmasında kullanır (110–112). *P. aeruginosa* dışında *A. baumannii* (113,114) de dahil olmak üzere *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Corynebacterium pseudotuberculosis* gibi birçok bakteri fosfolipaz üretmektedir (115). *A. baumannii* fosfolipaz A (PLA) (113), fosfolipaz C (PLC), fosfolipaz D (PLD), ve fosfolipaz LipAN üretmektedir. PLA büyüme sürecinde görevli iken PLC, PLD ve LipAN *A. baumannii* virülansında etkilidir. *A. baumannii* büyüme sürecinde PC'nin PLA ile parçalanmasından ortaya çıkan palmitik asidi kullanmaktadır (113). *A. baumannii*'de PLC ile ilişkili *plc1*, *plc2* ve *plcN* genleri bulunmaktadır. (116,117). *Plc1* ve *plc2* genlerinin mutanti olan suşlarda bakterinin PC-PLC aktivitesi, hemolitik ve sitolitik etkisi düşüş göstermekteyken, omurgasız enfeksiyonu modellerinde *A. baumannii* virülansına *plc1*'in daha fazla etkisinin olduğu gösterilmiştir (116,118). *PlcN* varlığı *A. baumannii* suşlarında %23.3 oranında görülmüştür (117). Bu gen tarafından kodlanan PLC *A. baumannii*'nin insan epitelial karsinoma hücrelerindeki (A549 hücre hattı) istilacılık ve öldürme kabiliyetini arttırmaktadır (117). PLC inhibitörü olan miltefosin tedavisi A549 hücrelerinde hücre hasarını azaltırken, *Galleria mellonella* enfeksiyonunda mortaliteyi düşürmektedir (119). PLC inhibitörünün *A. baumannii* virülansını önemli derecede düşürdüğü göz önüne alındığında PLC'nin *A. baumannii* için önemli bir virülans faktörü olduğu görülmektedir.

In silico analizlerde PLD'nin *A. baumannii*'ye karşı bağışıklamada hedef peptid olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (120). *A. baumannii* ATCC 19606 suşunda sırasıyla *pld1*, *pld2* ve *pld3* genleri tarafından kodlanan üç PLD fosfolipaz enzimi gösterilmiştir; PLD1, PLD2 ve PLD3 (113). Her üç fosfolipaz da *A. baumannii*'nin konak hücre invazyonunda rol almaktadır (113). Tek başına *pld1* ve *pld3* mutant suşlarının invazyon yetisinde kayıp görülmezken bu kayıp *pld2* mutant suşunda görülmektedir (113,114). En yüksek invazyon yetisi kaybı ise her üç fosfolipazdan da yoksun olan mutant suşda görülmektedir (113). Fare pnömoni

modelinde PLD inaktivasyonun, *A. baumannii*'nin serumda hayatta kalma kabiliyetinde ve epitel hücre invazyonunda, bakteriyemi, kalp ve karaciğer bakteri yüklerinde düşüşe sebep olurken, akciğer bakteri yükünde düşüşe sebep olmamaktadır (114). PLD'ler invazyon haricinde antibiyotik direncinde de rol almaktadırlar. PLD1 kardiyolipin, PLD2 ve PLD 3 kardiyolipin ve monolisokardiyolipin üretiminde rol almaktadırlar. PLD1 ve PLD3'ten yoksun mutant suşlarda kardiyolipin ve monolisokardiyolipin biyosentezi aksamakta, bu suşların katyonik antimikrobiyal peptid (CAMP) direnci düşmektedir (121). PLD'ye karşı yapılan bağışıklama, *A. baumannii* enfeksiyonunda farenin hayatta kalma oranını arttırmakta, akciğer bakteri yükünü, bronkoalveolar lavaj sıvısında ve serumdaki infiltrasyonu ve sitokin seviyesini düşürmektedir (122). Bu da fosfolipazların *A. baumannii*'ye yönelik aşı çalışmalarında kullanılabilecek hedefler olduğunu göstermektedir.

Son olarak, fosfolipaz C ile benzerlik gösterdiği görülen ve *A. baumannii* patogeneğinde rol oynadığı düşünülen, yeni bir fosfolipaz bulunmaktadır; LipAN (123). LipAN'ın PLC aktivitesi gösterdiği ve *A. baumannii*'nin hem normal büyümesinde hem de fare pnömoni modelinde hayatta kalmasında etkili olduğu düşünülmektedir (123).

1.1.4.4 Sekresyon Sistemleri

A. baumannii'de birçok protein sekresyon sistemi görülmektedir. Bunlardan biri tip IV pilus sistemleriyle yakın benzerlik gösteren tip II sekresyon sistemidir (T2SS) (124). T2SS dört ana parçadan oluşur; pseudopilus, sitoplazmik sekresyon ATPaz, iç membran platformu ve dış membran kompleksi (124). T2SS ile protein sekresyonu iki aşamayla gerçekleşir; (1) proteinlerin periplazmaya taşınması, (2) proteinlerin T2SS aracılığıyla membran dışına sekresyonu (124). T2SS Sec-bağımlı sistem olarak da adlandırılır çünkü, proteinlerin periplazmaya taşınması genel sekresyon yolağıyla (Sec yolağı) gerçekleşmektedir (125). T2SS *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella spp.*, *Legionella pneumophila*, *Yersinia enterocolitica*, *A. nosocomialis* ve *A. baumannii* olmak üzere bir çok bakteride bulunan protein sekresyon sistemidir (124,126). Bu bakteriler T2SS'i periplazmadan dış ortama protein aktarımı yapabilmek için kullanırlar (124). *A. baumannii* gibi nozokomiyal enfeksiyonlara sebep olan *A.*

nosocomialis, LipA ve LipH gibi lipazların ve proteaz CpaA'nın membran dışına sekresyonunda T2SS'yi kullanmaktadır (126). *A. baumannii* ATCC 17978 suşunda bulunan T2SS bileşenleri incelendiğinde *P. aeruginosa*'nın bulundurduğu T2SS bileşenleri ile yüksek oranda benzerlik gösterdiği görülmüştür (123). T2SS'in dış membranında bulunan sekretin bileşeninden yoksun mutant suşun oluşturduğu pnömonide bakterinin lipolitik aktivitesinde ve buna bağlı olarak kolonizasyon kabiliyetinde düşüş olduğu ve T2SS'in *A. baumannii*'de fosfolipaz aktivitesi gösteren LipAN dahil olmak üzere birçok protein ve enzimin sekresyonunda doğrudan rol aldığı görülmüştür (123). T2SS bileşenlerini kodlayan gsp genleri birçok *A. baumannii* izolatında muhafaza edilmektedir (127). GspD veya gspE geninin silinmesi *A. baumannii* ATCC 17978'de LipA kaybına yol açmakta, bu da *A. baumannii*'nin yağ asitlerini parçalamasını ve büyümesini engellemektedir (127). Ek olarak, bakteriyemi modelinde T2SS'in inaktivasyonunda dalak ve karaciğerdeki (127), pnömoni modelinde ise gspD mutantı suşda akciğer bakteri yükünün düştüğü görülmüştür (128). T2SS'in *A. baumannii*'nin antibiyotik direncinde etkili olduğu ve siprofloksasin direncine katkı sağladığı düşünülmektedir (128). Bu bilgiler doğrultusunda tip 2 sekresyon sisteminin *A. baumannii* virülansında önemli rol oynadığı görülmektedir.

A. baumannii ototransporter protein olarak da adlandırılan tip V sekresyon sistemini bulundurmaktadır. Trimerik ototransporterlerin tipik özelliklerini taşıyan bu adezin, *Acinetobacter* trimerik ototransporter (Ata) olarak adlandırılmıştır (129). Ata *A. baumannii*'de adezyon, biyofilm oluşumu (129) ve konak hücrenin apoptozunda (130) görevlidir. Ata'nın silinmesi *A. baumannii*'nin insan epitel hücrelerine tutunma kabiliyetini yok etmekte, konak hücredeki kaspaz-3 ve kaspaz-7 aktivitesini 5 kat azaltmaktadır (130). Ata yoksunu *A. baumannii* ile enfekte olan *Galleria mellonella* larvalarının (130) ve farelerin mortalitesi düşmektedir (129).

Tip VI sekresyon sistemi (T6SS) bakteriyofajlardaki iğne-benzeri yapıya benzeyen ve doğrudan konak hücrenin sitoplazmasına proteinlerin enjekte edilmesini sağlayan bir sistemdir (125). T6SS *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Francisella tularensis*, *Burkholderia mallei* gibi birçok patojenin virülansı için gereklidir (125). T6SS interbakteriyel rekabette önemli bir rol oynamakta ve rakip bakterilerin öldürülmesi için kullanılmaktadır (131). *A. baumannii*'nin T6SS sistemi 13 çekirdek ve birçok aksesuar proteinden oluşmaktadır (132). T6SS'in *A. baumannii* virülansındaki rolü net değildir, T6SS'in

A. baumannii virölansında doğrudan etkili olduğunu gösteren çalışmaların yanı sıra T6SS inaktive olsa dahi virölansını etkilemediğini, klinik izolatlarda da T6SS sisteminin önemli olmadığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. T6SS inaktivasyonunun *A. baumannii* ATCC 17978 virölansını etkilemediği, ATCC 17978'nin T6SS'i ne diğer bakterileri öldürmede ne de biyofilm oluşumunda kullanmadığı bildirilmiştir (132). Ancak, yazarlar sonraki yayınlarında Hcp sekresyonu görülmesine rağmen 17978 suşunun T6SS'i kullanmamasını hem T6SS+ hem de T6SS- barındıran karışık popülasyondan kaynaklanabileceğini belirtmiştir (133). Klinik izolatların incelendiği bir araştırmada, 162 klinik *A. baumannii* izolatının %31.5'inin bir T6SS proteini olan hcp kodlayan gene sahip olduğu ve aktif T6SS ve Hcp proteini salgılayan klinik *A. baumannii* izolatlarının T6SS- izolatlara oranla *E. coli* rekabetinde daha başarılı oldukları, daha yüksek biyofilm oluşturma aktivitesi gösterdikleri ve insan serumunda daha yüksek hayatta kalma oranına sahip oldukları görülmüştür (134). Ek olarak T6SS sistemini kullanan ve *E. coli* rekabetinden üstün çıkan *A. baumannii* suşları görülmüştür (131,133,135). ATCC 19606 suşunda ise T6SS'in virölansla önemli rol oynadığı, vgrG geninin silinmesinin bakterinin büyüme hızını, aderansını ve farelerdeki mortalitesini azalttığı ve antibiyotik direncinde etkili olduğu gösterilmiştir (136). Klinik *A. baumannii* izolatında T6SS'in inaktive olmasına sebep olan VgrG protein mutasyonu görülmekte ve T6SS'nin, interbakteriyel rekabette önemli bir rol oynamasına rağmen virölansla etkisiz olduğu, hatta T6SS sisteminin enerji yükünün yüksek olması yüzünden bu mutasyonun *A. baumannii*'nin belirtilen suşuna fayda sağladığı düşünülmektedir (137). Ek olarak çoklu ilaç direncine sahip suşların konağa uygulanan antibiyotik tedavisinden hayatta kalarak çıkmasından dolayı interbakteriyel rekabet için T6SS sistemine ihtiyacının olmadığı düşünülmektedir (138). Bu çalışmalar değerlendirildiğinde *A. baumannii*'nin farklı suşlarında T6SS sisteminin virölans ve patogeneze aldığı rolün değiştiği ancak sistemin rolünün net biçimde anlaşılması için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu görülmektedir.

1.1.4.5 Penisilin Bağlayan Proteinler

Penisilin bağlayan proteinler (PBP) transpeptidaz alt grubu olan penisilloil serin transferaz proteinleridir. PBP'ler bakteri hücre duvarındaki peptidoglikanın üretiminde ve metabolizmasında yer alırlar (139). PBP'ler paralel glikan polimer zincirleri oluşturmak için peptid zincirlerinin çapraz bağlanmasını sağlarlar (140). PBP'ler, penisilin gibi β -laktam antibiyotiklerin hedefidir (140). PBP'ler, penisilinin yapısındaki β -laktam amid bağı parçalayarak serin-ester bağı penisilloil enziminin üretimini sağlarlar (141). Parçalanmış substrat ise PBP'nin serin aktif alanına bağlanır ve bağı kalır (141). Sonuç olarak PBP peptidoglikan çapraz bağlama fonksiyonunu yerine getiremez ve bakterinin ölümüne sebep olur (141). Bakteriler β -laktam kaynaklı bu ölümden kaçabilmek adına β -laktamaz üretimine başvururlar. β -laktamazlar penisilini hidrolize ederek penisilloik aside çevirirler (139). *A. baumannii*'de PBP-7/8 kodlayan bpbG geni bulunmaktadır. PBP'ler β -laktam metabolizmasında yer alıyor olsalar da *A. baumannii*'de bulunan PBP-7/8 bir virülans faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. PBP-7/8'den mahrum *A. baumannii* suşunun oluşturduğu fare yumuşak doku enfeksiyonunda, pnömonide ve insan serumunda bakterinin hayatta kalma yeteneği önemli ölçüde düşmektedir (142). Buna ek olarak PBP-7/8 ile yapılan bağışıklamada farelerin *A. baumannii* ATCC 19606 enfeksiyonuna direnci ve farelerin hayatta kalma oranı kontrol grubuna oranla %60 artmaktayken dalak bakteriyel yükü düşmektedir (143). PBP-7/8'in, *A. baumannii* peptidoglikan yapısında rol aldığı, yoksunluğunda bu yapının bozulduğu, dolayısıyla da konak savunma faktörlerine karşı bakterinin savunmasını zayıflattığı düşünülmektedir (142).

1.1.4.6 Metal Alım Sistemleri

Bakterilerin yaşamlarını sürdürmeleri için gerekli olan bazı besinler konak hücreleri için de önem arz etmektedir. Hayvanlar, hem kendi besinlerini korumak hem de bakterilerin besin alımını bozmak ve böylece enfeksiyondan korunmak adına besinsel bağışıklıktan (nutritional immunity) faydalanırlar (144). Bu besinlerden bazıları demir, çinko ve manganez gibi metallerdir. Konak, bakterilerin demire ulaşmasını engellemek adına, hemoglobin, miyoglobin, hemopeksin, transferrin, laktoferrin ve ferritin gibi proteinleri kullanır (145). Çinko ve

manganezin istilacı tarafından alımının engellenmesi için kalprotektin, S100A7, S100A12, S100A15 ve NRAMP1 gibi proteinler görev almaktadır (145). Bakterilerde de, konak tarafından uygulanan kaynak korumasını delebilmek ve metallere erişim sağlayabilmek adına sistemler gelişmiştir. *A. baumannii*, metabolizması için gerekli olan demir, çinko ve manganezi ortamdan alabilmek ve bu metallerin yokluğuyla baş edebilmek adına bu sistemleri kullanmaktadır. *A. baumannii*'de çinko ve bakır stresinde rol alan efflux pompaları tanımlanmıştır. Çinko ve bakırın *A. baumannii*'nin oksidatif stres yönetiminde, membran yapısında ve bakterinin makrofaj ilişkili ölümünde rol aldığı bildirilmiştir (146).

A. baumannii, pre-asinetobaktin (pre-acinetobactin), asinetobaktin (acinetobactin), baumannoferrin A ve B, fimsbaktin (fimsbactin) A-F gibi birçok sideroforu demir şelasyonu için kullanmaktadır (145). Demir eksikliğinde sideroforların ekspresyonu artarken, demir fazlalığında ise sayıları azalmaktadır. *A. baumannii* birçok şelasyon sideroforu üretir, ancak tek başına asinetobaktin sentezinin inaktivasyonu bakterinin hayatta kalma kabiliyetini düşürmektedir (147). Bu yüzden asinetobaktinin *A. baumannii* metabolizmasının önemli bir parçası olduğu ve *A. baumannii*'ye karşı geliştirilecek terapötik stratejilerde hedef olabileceği düşünülmektedir (147). Asinetobaktinin üretimi pre-asinetobaktin'in ekstraselüler boşluğa salınımıyla başlar (148). Son zamanlarda gerçekleştirilen bir çalışmada, asinetobaktin dışında pre-asinetobaktinin de demir alımında etkili olduğu, pre-asinetobaktinin taşıyıcısı BauA ile birlikte rol aldığı bir sistem ile demir alımının gerçekleştiği ve bu sistemde asinetobaktine ihtiyaç duyulmadığı bildirilmiştir (149). Pre-asinetobaktin BauA proteinine bağlanırken, asinetobaktinin ise BauB'ye bağlandığı görülmüştür (150).

A. baumannii ATCC 17978 suşu düşük demir içeren ortamda geliştiğinde fimsbaktin A, B, C, D, E ve F üretmektedir (151). Fimsbaktin A'nın demir (III) ile 1:1 oranında kompleks oluşturduğu ve 2:1 kompleks oluşturan asinetobaktinden termodinamik olarak daha stabil olduğu düşünülmektedir (152). Tek başlarına hem asinetobaktin hem de fimsbaktin, *A. baumannii* gelişimini uyarmakta olsalar da birbirleriyle rekabete girdikleri için ikisinin kombinasyonunun bakteri gelişimini inhibe ettiği görülmüştür (152). Fimsbaktin metabolizması tamamen bilinmese de, BauA ve asinetobaktin yokluğunda *A. baumannii*'nin demir alımı için fimsbaktinleri kullandığı düşünülmektedir (153).

Acinetobacter baumannii AYE suşu asinetobaktin üretmemesine rağmen düşük demir bulunan ortam koşullarında yaşayabilmekte, bunu da baumannoferrin A ve B üreterek gerçekleştirmektedir (154). Yeni keşfedilen bir siderofor olan baumannoferrinin *A. baumannii* metabolizmasındaki rolü henüz bilinmemektedir.

Kalprotektin manganez ve çinko şelasyonu sayesinde *A. baumannii*'nin gelişimini inhibe etmekte, *A. baumannii* ise çinko alımı için enerjiye bağımlı ve ZnuABC olarak adlandırılan bir mekanizma kullanmaktadır (155). Bu mekanizma ABC taşıyıcısı ve TonB-bağımlı reseptörden oluşur (156). ZnuABC, *A. baumannii*'nin kalprotektine karşı dirençli hale getirmekteyken, bu mekanizmayı kodlayan ZnuB geninin silinmesi bakterinin diğer bakterilerle rekabet ve diseminasyon yeteneğini kısıtlamakta, antibiyotik direncini de azaltmaktadır (155).

ZnuABC sistemi Zur regülatörü tarafından denetlenir (157). Zur mutantı *A. baumannii* suşunun yüksek ve düşük çinko içeren ortamda gelişimi bozulmakta, fare pnömoni modelinde de diseminasyon yeteneği düşmektedir (157). ZnuABC mekanizmasının parçaları olan znuA ve znuD bakterinin gelişiminde ve patogeneğinde rol almaktadırlar (156).

A. baumannii'nin çinko alımında rol alan ZrlA enzimi, aynı zamanda bakterinin dış iskelet bütünlüğünde de rol almaktadır. ZrlA'nın inaktivasyonu çinko kısıtlamasında *A. baumannii* gelişimini azaltmakta, bakterinin zar geçirgenliği ve bariyer fonksiyonu bozulmakta, bu da bakterinin antibiyotik direncini azaltmaktadır (158).

A. baumannii kalprotektin ilişkili manganez kıtlığıyla baş edebilmek için metal iyon taşıyıcısı olan doğal bağışıklık ilişkili makrofaj proteini (NRAMP, natural resistance-associated macrophage protein) ailesinden bir manganez taşıyıcısı kullanır (159). Bu taşıyıcı kalprotektin varlığında manganez birikimini ve *A. baumannii* gelişimini iyileştirir. NRAMP manganez taşıyıcısının silinmesi fare pnömoni modelinde akciğer ve karaciğerdeki *A. baumannii* yükünü azaltmaktadır (159).

1.1.5 Antibiyotik Direnci ve Direnç Mekanizmaları

A. baumannii günümüzde kullanılan β -laktam, trimetoprim, eritromisin, aminoglikozit, sefotaksim, florokinolon, tetrasiklin, karbapenem, kloramfenikol, kolistin gibi birçok antibiyotiğe karşı dirençlidir (160,161). *A. baumannii* antibiyotik direnci için efflux pompası, β -laktamaz, membran proteinleri, biyofilm ve membran geçirgenlik değişimi gibi mekanizmalar kullanır.

Çoklu ilaç direncine (MDR) sahip *A. baumannii* suşlarının birçoğu immüno-kompromize hastalardan izole edilirken, bu suşların biyofilm üretimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (162).

1.1.5.1 Efflux Pompaları

Efflux pompaları, gram negatif bakterilerin hücre içine giren antibiyotikleri dışarı atmasına yardımcı olur (163). Efflux pompaları 5 ana gruptan oluşmaktadır; küçük çoklu ilaç direnci (SMR), majör fasilitatör süperfamilyası (MF), çoklu ilaç ve toksik bileşik atımı (MATE), direnç nodülasyon bölümü (RND) ve ATP bağlayıcı kaset (ABC) (164). *A. baumannii* tüm bu 5 efflux pompası ailesinin üyelerini bulundurmaktadır (165). RND üyeleri olan AdeABC, AdeFGH ve AdeIJK *A. baumannii*'nin aminoglikozit (166) ve tigesiklin (167–170) direncinde rol alır. MF süperfamilyası üyeleri CmlA (171,172) ve CraA (173) kloramfenikol, TetA (174) tetrasiklin, MdfA (175) siprofloksasin ve kloramfenikol ve AmvA (176) ise eritromisin, siprofloksasin, novobiosin gibi antibiyotikler de dahil olmak üzere birçok antibiyotik ve dezenfektan ve deterjana karşı *A. baumannii*'ye direnç sağlamaktadır.

1.1.5.2 β -laktamazlar

β -laktam antibiyotiklere karşı dirençte *A. baumannii*'nin bulundurduğu A, B, C ve D sınıfı β -laktamazlar rol almaktadır. *A. baumannii*'de tanımlanan birçok A sınıfı dar spektrumlu beta-laktamaz bulunmakla birlikte (177), PER-1 (178), PER-2 (179), PER-7 (180,181), TEM-92 (182), CARB-10 (183) ve SHV-5 (184) gibi genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (ESBL) da tanımlanmıştır. B sınıfı β -laktamaz üyesi VIM (185–187), IMP (186,188–190), SIM (191) ve NDM (192,193)

varyantı metallo- β -laktamazlar da *A. baumannii*'de tanımlanmıştır ve karbapenem direncinde önemli rol oynamaktadırlar. C sınıfı kromozomal β -laktamazlar klinik *A. baumannii* izolatlarında tanımlanmış (194), AmpC olarak adlandırılan bu β -laktamazların yüksek seftazidim direncinde rol aldığı bildirilmiştir (195,196). Karbapenem hidrolize eden D sınıfı β -laktamazlar ve C sınıfı β -laktamazlar *A. baumannii*'de bulunan ana β -laktamaz gruplarıdır (177). OXA olarak adlandırılan D sınıfı β -laktamazlar karbapenem direncinde en sık rastlananlardır (197). *A. baumannii*'de OXA-23, OXA-40/24, OXA-51 ve OXA-58 alt grupları tanımlanmıştır (198,199). OXA varyantları *A. baumannii*'de çok yaygındır ve OXA-23, OXA-58, OXA-40/OXA-24, OXA-72, OXA-97, OXA-96, OXA-143 ve OXA-235 gibi birçok D sınıfı β -laktamaz varyantını barındıran *A. baumannii* izolatları Türkiye de dahil olmak üzere dünyanın birçok ülkesinden bildirilmiştir (160,177,200).

1.1.5.3 Porin ve Penisilin Bağlayan Proteinler

A. baumannii membranında bulunan porin ve PBP'lerin ekspresyonlarını ve dış membran yapısını değiştirerek çeşitli antibiyotiklere karşı direnç kazanır. *A. baumannii* dış membranında bulunan lipid A'ya fosfoetanolamin ve galaktosamin grupları ekleyerek yapısını değiştirir ve polimiksin türü antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilir (44,45,201). *A. baumannii*'nin karbapenem direncinde 22- (202), 33-, 36- (203,204), 37-, 44-, 47-kDa OMP'ler (205), imipenem direncinde ise 9- (206,207), 29- (CarO) (208,209) ve 43-kDa (210) OMP'ler rol almaktadır. *A. baumannii* bu proteinlerin ve protein bağlayan proteinlerin (PBP-2) ekspresyonlarını düşürerek karbapenem ve imipeneme karşı direnç geliştirir (211).

1.1.5.4 Aminoglikozit-değiştirici Enzimler

Aminoglikozit-değiştirici enzimler (AME) olarak adlandırılan asetiltransferaz, adeniltransferaz ve fosfotransferaz enzimleri aminoglikozitleri kimyasal olarak değiştirerek bakterinin bu antibiyotiklere karşı direnç kazanmasını sağlar (212). *A. baumannii*'de AME kodlayan aphA1, aphA6, aacC1, aacC2, aacA4, aadA1 ve aadB genleri bildirilmiş (213–215), ve bu AME'lerin *A. baumannii*'nin amikasin direncinde rol aldığı görülmüştür (216,217).

1.1.6 Enfeksiyon ve Bulaş Yolları

A. baumannii tüm dünyada nozokomiyal enfeksiyonların en önemli etkenlerinden birisi olarak kabul edilmektedir. *A. baumannii* kuru yüzeylerde uzun süre barınabilmesi ve antibiyotiklere karşı direnci sayesinde salgınlara sebep olabilmektedir. *A. baumannii* özellikle yoğun bakımlardaki kritik hastalarda mortalite ve hastanede kalış süresini önemli ölçüde arttırmaktadır (218). *A. baumannii* nozokomiyal deri ve yumuşak doku, yara, üriner sistem, solunum sistemi, santral sinir sistemi ve kan dolaşımı enfeksiyonlarına sebep olabilmekte ve ventilatör ilişkili pnömoni ve kan yolu enfeksiyonlarında yüksek mortaliteye sebep olmaktadır (16,52,219).

A. baumannii'nin yayılımında ana vektörlerden birisi sağlık çalışanlarının elleridir ve kontamine ekipman ve hastane ortamına temas yoluyla hastalara bulaşır. (220–222). *A. baumannii* nispeten temiz hastane ortamlarında dahi kuru yüzeylerde 4 aya kadar hayatta kalarak, uzun süre yatan ve hastane ekipmanlarına bağlı hastalarda nozokomiyal enfeksiyon geliştirme becerisini arttırmaktadır (223). *A. baumannii* sağlık çalışanlarının el ve eldivenlerinden izole edilebilmekte, kontamine yüzeylerle temas halinde olan sağlık çalışanlarının gerçekleştirdiği yüzeylere dokunma, yara bakımı ve entübe hastaların respiratuar yollarıyla olan etkileşimler gibi aktiviteler bulaş riskini arttırmaktadır (224). *A. baumannii* hastalarda deri, farinks, kasık, perine ve sindirim sisteminde kolonize olabilir, solunum sistemi, kan, üriner sistem, santral sinir sistemi, peritonit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına sebep olarak bir rezervuar oluşturabilir (225). *A. baumannii* bulaşı su, hava ve yüzey temasları gibi birçok farklı kaynaktan gerçekleşebilmektedir. *A. baumannii* hem kuru hem de nemli yüzeylerde kontaminasyona sebep olabilmekte bu da hastane ortamında kolayca yayılabilen ve hayatta kalabilen bir patojen olmasını sağlamaktadır. Çoklu ilaç direncine sahip *A. baumannii* hastane ortamındaki bilgisayar klavye ve monitörü, elektrokardiyografi monitörü, infüzyon pompası, yatak başlığı, perde, stetoskop ve masa gibi birçok ekipman üzerinden izole edilebilmektedir (226). Bu ekipmanların periyodik temizliği ve kumaş yerine plastik perde kullanımı sayesinde *A. baumannii* kolonizasyonu düşürülebilmektedir (226). *A. baumannii*'nin su yoluyla bulaşı doğrudan su kontaminasyonundan değil, lavabo ve giderlerindeki kolonizasyondan kaynaklanmaktadır (227). *A. baumannii* giderlerde kolonize olarak biyofilm

oluşturmakta, bu sayede diğer bakterilere, kuruluğa ve deterjanlara karşı direnç elde etmektedir (227). Bakteri giderden yukarıya doğru yayılarak lavabo yüzeyinde biyofilm oluşturmakta, lavaboya çarpan su damlaları aracılığıyla yayılabilmektedir (227). Yoğun bakım ünitesinde meydana gelen bir *A. baumannii* salgını sonucu, salgının kontamine ekipmanlar, açık emme sistemleri ve sağlık çalışanlarının elleri aracılığıyla gerçekleştiği anlaşılmış, el hijyeni uygulamaları, ortam temizliği ve kapalı emme sistemlerinin kullanılması sayesinde salgın ortadan kaldırılmıştır (221). Bu nedenlerle özellikle yoğun bakım ünitelerinde olmak üzere tüm hastane ekipmanlarının ve hastane yüzeylerinin temiz tutulması ve uygun yöntemler ile sterilize edilmesi nozokomiyal *A. baumannii* enfeksiyonlarının önüne geçmek için önem arz etmektedir.

1.1.6.1 *Acinetobacter baumannii* Kaynaklı Pnömoni

A. baumannii hem toplum kökenli pnömoniye (TKP) hem de hastane kökenli pnömoniye (HKP) sebep olabilmektedir. *A. baumannii* kaynaklı HKP'nin görülme oranı TKP görülme oranından daha yüksektir (228). TKP hastalarında pozitif kan kültürüne ve akut respiratuar distres sendromuna (ARDS) daha sık rastlanırken, TKP hastalarının mortalitenin HKP hastalarına oranla daha yüksek olduğu görülmüştür (228). TKP hastalarında mortalitenin daha yüksek görülmesinin sebebinin bakteriyemi, dissemine intravasküler koagülasyon, ARDS (228) ve uygunsuz antibiyotik tedavisi olduğu düşünülmektedir (229).

HKP hastaneye yatışta inkübasyon aşamasında olmayan ve hastaneye yatıştan veya taburcudan 48 saat sonra gelişen pnömonidir (230). HKP'de en çok izole edilen mikroorganizmalar *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'dir ve Fransa, İspanya, Belçika, İrlanda, Portekiz, İtalya ve Almanya'da HKP'ye sebep olan en çok izole edilen bakteriler *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *E. coli* iken Türkiye ve Yunanistan'da *A. baumannii*'dir (231). Ventilatör ilişkili pnömoni (VİP), entübasyondan önce pnömonisi olmayan hastalarda mekanik ventilasyon desteğinin uygulanmasından 48-72 saat sonra gelişen pnömonidir ve HKP'nin %80'ini oluşturmaktadır (230). *A. baumannii* kaynaklı VİP'in önemli bir risk faktörü reentübasyondur. *A. baumannii*'nin kolonize olduğu orofaringeal sekresyonların reentübasyon sırasında aspirasyonu VİP'e sebep olmaktadır (232). VİP hastalarında *A. baumannii*, *P. aeruginosa*,

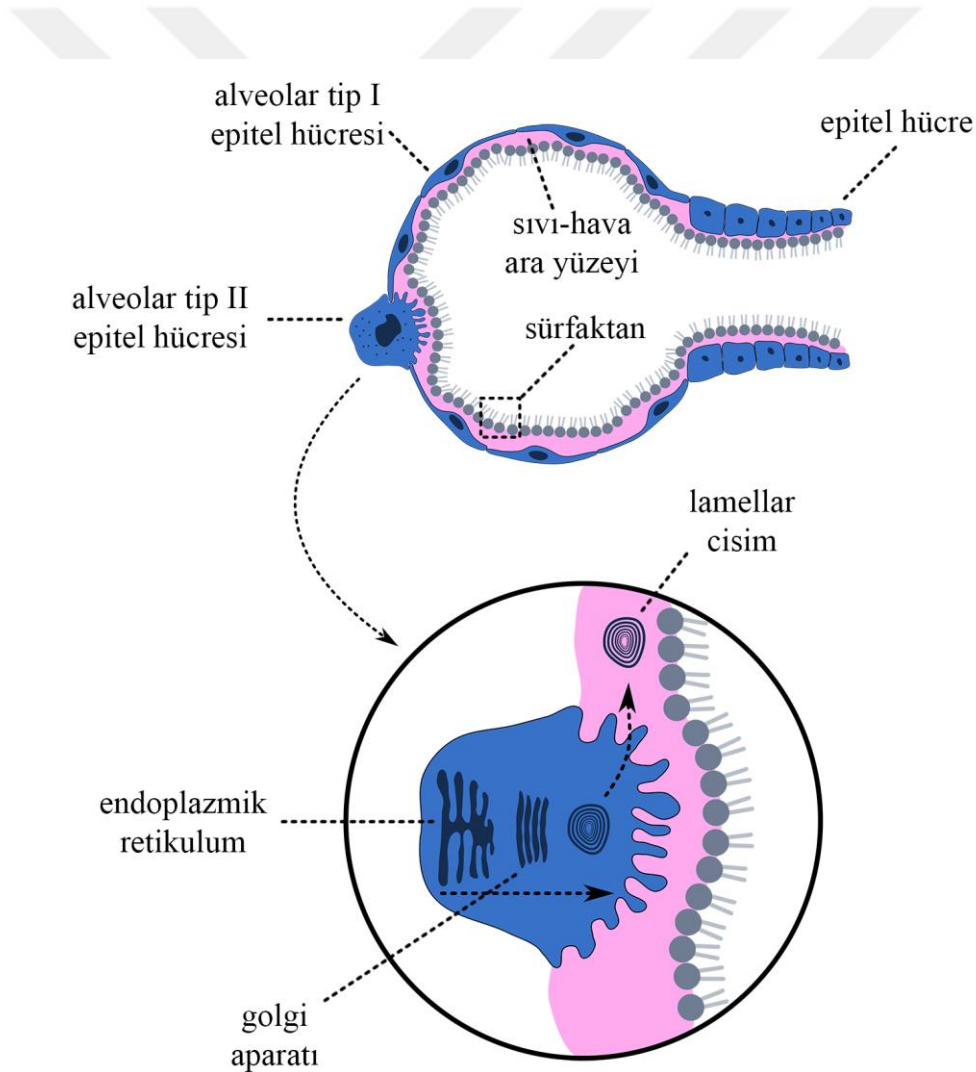
metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) ve *Klebsiella pneumoniae* gibi patojenlerle birlikte bulunabilmektedir (233).

A. baumannii kaynaklı VİP %60'dan yüksek mortaliteye sebep olabilmektedir (234,235) ve hasta prognozunda uygun antibiyotik seçimi önem arz etmektedir (232). *A. baumannii* kaynaklı VİP'in mortalitesinde patojenin antibiyotik direnci önem arz etmektedir; antibiyotik duyarlı suşta mortalite %21.2 iken, çok ilaca dirençli (MDR) suşta %31.9, yaygın ilaç dirençli (XDR) suşta %56.8 ve panrezistans (PDR) suşta %66.7 olduğu bildirilmiştir (233). Buna ek olarak karbapenem dirençli *A. baumannii* (CRAB) pnömonisinde mortalitenin karbapenem duyarlı *A. baumannii* (CSAB) pnömonisindekine göre daha yüksek olduğu görülmüştür (236). *A. baumannii* pnömonisi hastalarında mortalitenin akut fizyoloji ve kronik sağlık değerlendirmesi (APACHE) skoru, ardışık organ yetmezliği değerlendirme (SOFA) skoru, basitleştirilmiş akut fizyoloji (SAPS II) skoru, son 1 ayda geçirilmiş ameliyat, immünkompromize hastalar, septik şok, kronik solunum yolu hastalıkları, serebrovasküler olaylar, malignite, endotrakeal entübasyon, mekanik ventilasyon, diğer enfeksiyonlar, uygunsuz antibiyotik tedavisi ve antibiyotik direnciyle ilişkili olduğu görülmüştür (233,236).

1.2 Akciğer Sürfaktanı

Sürfaktan, alveollerin hava-sıvı ara yüzeyini kaplayan ve düşük yüzey gerilimi sayesinde alveollerin kolayca genişlemesini ve ekspirasyon sonrasında çökmesini engelleyen maddedir (237,238). Sürfaktanın %80-90'lık bölümünü, çoğunlukla (%70 civarında) fosfatidilkolin olmak üzere, fosfatidilgliserol, fosfatidilinositol, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin ve sfingomiyelin gibi lipidler, kalan kısmını ise sürfaktan proteinleri oluşturur (237). Sürfaktan yapısındaki fosfatidilkolin, dipalmitoilfosfatidilkolin (DPPC) formunda bulunmakta ve sürfaktan proteinleriyle birlikte sürfaktanın yüzey aktivitesini sağlamaktadır (239–241). Akciğerde bulunan iki alveolar epitel hücre tipinden birisi olan ve birinci tipe göre daha yoğun bulunan alveolar tip II epitel hücreleri (ATII) sürfaktan sentezi, salınımı ve geri dönüşümünde rol alırken (242–244), fosfolipaz aktivitesi bulunduran alveolar makrofajlar da sürfaktanın yıkımında rol almaktadırlar (245–248). Sürfaktan lipidleri ve sürfaktan protein C (SP-C) alveolar tip II epitel hücrelerinden (240,249,250), sürfaktan protein A (SP-A), B (SP-B) ve D (SP-D)

ise hem club (clara hücresi) hem de ATII hücrelerinden salınırlar (237,251,252). Sürfaktan lipidleri ve proteinleri ATII hücrelerinde bulunan endoplazmik retikulumda (ER) sentezlenir, Golgi aparatı aracılığıyla lamellar cisme taşınır ve ekzositozla salgılanırlar (Şekil 1.1) (253). SP-B ve SP-C sentez ve taşınımı lamellar cisim yolağıyla gerçekleşirken (254,255) SP-A ve SP-D salınımı lamellar cisim yolağından bağımsız gerçekleşir (251,256). Lamellar cisimler, epitelin üzerini kaplayan sıvı film olan hipofaza salgılanmalarının ardından sürfaktanın bir formu olan tübüler miyelin oluştururlar (257). Tübüler miyelin sıkışarak yüzey gerilimi düşük bir film oluşturur (257). Kullanılan sürfaktan bileşenleri ATII ve makrofajlar tarafından geri alınır ve sürfaktan bileşenlerinin sentez ve salgılanması tekrar başlar (257).



Şekil 1.1. Lamellar cismin alveolar tip II epitel hücrelerinden sentezlenmesi ve sıvı-hava ara yüzeyine salgılanması

Süpfaktanın görevi hava-sıvı ara yüzeyindeki yüzey gerilimini azaltmak, alveollerin çökmesini engellemek ve patojenlere karşı bağışıklığı oluşturmaktır (237). Ekspirasyon ardından akciğerde düşük hava hacmi bulunduğı sırada alveollerin çökmesinin engellenebilmesi için yüzey geriliminin 2 mN/m'den daha düşük olması gerekmektedir, DPPC açısından zengin süpfaktan filmi de 1 mN/m'den daha az bir yüzey gerilimi sağlayabilmekte, bu sayede alveollerin çökmesini engelleyebilmektedir (258). Süpfakta bulunan süpfaktan proteinlerinin yapısındaki c-terminal lektin domain yapıları virüs ve bakterilere bağlanarak fagosite edilmelerini kolaylaştırır (237). Süpfaktan fonksiyon bozukluğuna sebep olabilen genetik bozukluklar SP-B ve SP-C kodlayan genlerden kaynaklanmakta, buna bağlı gelişen süpfaktan yokluğu veya yapısında oluşan değişimler respiratuar distres sendromu (RDS) veya ARDS gelişebilmekte ve yeni doğanlarda ölüme sebep olabilmektedir (237). Buna ek olarak fazla süpfaktan salınımı ve alveollerde süpfaktan birikimi gaz değişimini olumsuz etkileyebilmektedir (237).

1.2.1 Süpfaktan Proteinleri

Süpfaktan proteinleri akciğer süpfaktanının %10-20'lik bölümünü oluşturan ve akciğerdeki süpfaktan fonksiyonlarının yerine getirilmesinden sorumlu proteinlerdir, ancak, gözyaşı, tükürük, nazal boşluk, beyin, böbrek, sindirim ve işitme sistemleri gibi bir çok sistemde saptanmışlardır (259–265). İnsan vücudunda geniş bir yayılım alanına sahip olan süpfaktan proteinlerinin *S. aureus* ve *P. aeruginosa* gibi bakteriler tarafından salgılandığı da görülmüştür (266). Fonksiyonları bilinen önemli süpfaktan proteinleri SP-A, SP-B, SP-C ve SP-D'dir ancak bunların haricinde SP-G ve SP-H proteinleri de saptanmıştır (267–269). SP-A, SP-B, SP-C ve SP-D kendi içinde ikiye ayrılabilir; hidrofilik, kollektin proteinleri (SP-A ve SP-D) ve hidrofobik, yüzey aktif proteinler (SP-B ve SP-C) (237,270). Diğer süpfaktan proteinleri SP-G ve SP-H yapısal olarak bu dört protein ile benzerlik göstermezler (267). C-tipi lektin, doğuştan bağışıklıkta görevli karbonhidrat bağlayıcı lektin proteinidir (271). C-tipi lektinler birçok patojenin hücre duvarında bulunan şeker yapılarını tanırlar ve bu yüzden patojen tanıma reseptör proteini olarak adlandırılırlar (272). Kollektinler c-tipi lektinlerin bir alt dalıdır. Kollektin proteinlerinin yapıları birbirine benzerdir, farklı sayıdaki monomerler bir araya gelerek multimerik bir yapı oluştururlar. Her bir monomer

sistein açısından zengin n-terminal domaini, kollajen benzeri domain, sarmal boyun domaini ve karbonhidrat tanıma domaini olarak da adlandırılan c-tipi lektin domaininden oluşur. SP-A ve SP-D apoptoz (273), opsonizasyon (274), fagositoz aktivasyonu (275), mikrobiyal büyümenin inhibisyonu ve enflamatuvar yanıtın düzenlenmesi (276) gibi rolleri olan kollektin proteinleridir. Ana görevleri pulmoner bağışıklığın sürdürülmesi ve solunum yolunun patojenlere karşı korunmasıdır (277). SP-B ve SP-C sürfaktan fosfolipidleriyle birlikte lamellar cisim aracılığıyla salgılanan yüzey aktif proteinlerdir (278). Hidrofobik yapıda olan bu proteinler sürfaktanın alveolar yüzeye yayılmasında, stabilitesinde, metabolizmasında, geri dönüşümünde görev alırlar ve alveolün yüzey geriliminin düşürülmesini sağlarlar (279).

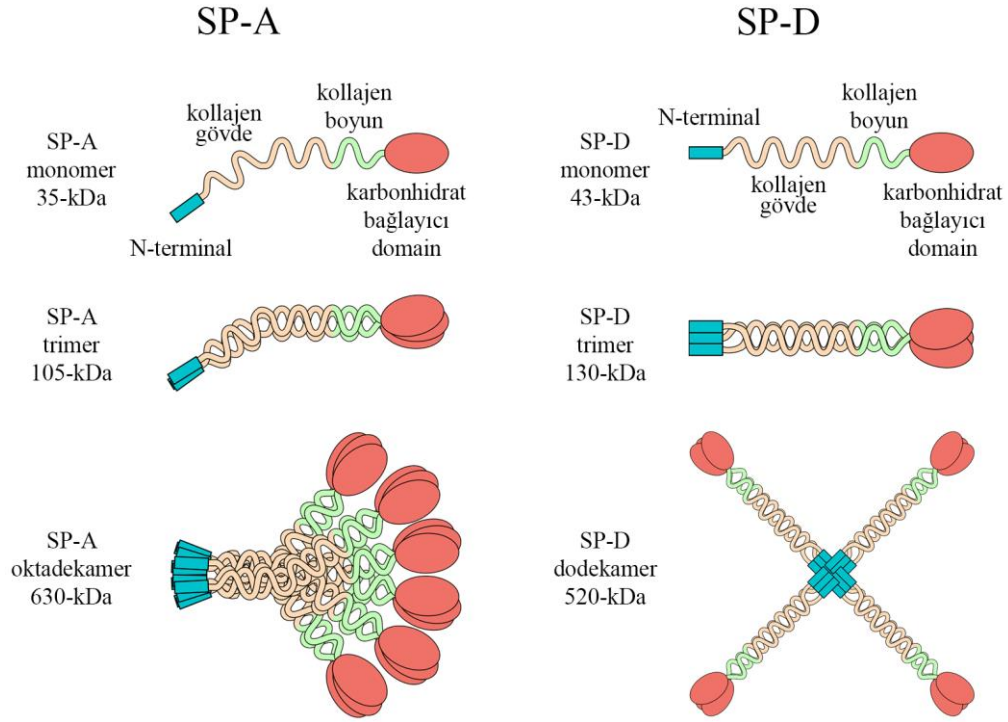
1.2.1.1 Hidrofilik Sürfaktan Proteinleri

Kollektin proteinleri birbirleriyle benzer yapıdaki proteinler olup, kollajen-benzeri bölgenin non-kollajen domaine bağlanmasından oluşurlar (271). Sürfaktan protein A'nın her bir polipeptid zincir monomeri 3 ana bölgeden oluşur; (1) n-terminal domaini, (2) kollajen gövde ve boyun, (3) karbonhidrat bağlayıcı domain (c-terminal, c tipi lektin) (280). Fonksiyonel SP-A proteini oktadekamer (on sekiz alt birimden oluşur) yapıda, 630-kDa moleküler ağırlığında ve altı adet SP-A trimer alt biriminden oluşmaktadır (Şekil 1.2) (281).

Her bir SP-A trimeri 105-kDa moleküler ağırlığına sahiptir ve üç adet 35-kDa ağırlığındaki SP-A polipeptid zincirinin n-terminal domaininden birbirlerine bağlanmasıyla bir araya gelir (281,282). İnsan SP-A'sı onuncu kromozomda bulunan SP-A1 ve SP-A2 genleri tarafından kodlanmaktadır (283). Bu iki genin farklı alelik varyantları sürfaktan fonksiyonunu değiştirebilmekte, bazı varyantlar yeni doğanlarda RDS'e sebep olabilmektedir (284).

Yapısal olarak SP-A ile benzerlik gösteren sürfaktan protein D monomerleri, aynı SP-A gibi n-terminal domaini, kollajen gövde ve boyun, karbonhidrat bağlayıcı domain bölgelerinden oluşur ancak SP-A'nın aksine 43-kDa ağırlığındadırlar (285,286). Fonksiyonel SP-D proteini dodekamer (on iki alt birimden oluşur) yapıda ve 520-kDa moleküler ağırlığındadır (287). Her bir dodekamer 4 adet 130-kDa ağırlığındaki SP-D trimerinden meydana gelir (285).

SP-D kodlayan SP-D geni de SP-A1 ve SP-A2 genleri gibi onuncu kromozomda bulunmaktadır (288).



Şekil 1.2. Hidrofilik sürfaktan proteinlerinin yapısı

SP-A doğuştan gelen ve sonradan kazanılan bağışıklıkta, akciğerin patojenlere karşı korunmasına, alerjik reaksiyonlarda ve enflamasyonun yönetilmesinde görev alır (280). SP-A ve SP-D kompliman kaskadını aktive ederek enflamatuvar hücrelerin uyarılmasını ve patojenlerin opsonizasyon sayesinde yok edilmesini sağlarlar (289). Bunun yanı sıra SP-A ve SP-D patojenler ile doğrudan etkileşime girmeden agregasyon ile hedeflemeyi sağlayabilmektedirler (289). SP-A opsonizasyonu gram negatif bakterilerin yapısındaki LPS (290), *Heamophilus influenza* yapısındaki P2 dış membran proteinleri (291), respiratuvar sinsityal virüs yapısındaki glikoprotein (292) ve influenza virüs yapısındaki oligosakkaritler (293) aracılığıyla gerçekleşmektedir (280). SP-D opsonizasyonu ise *Mycobacterium tuberculosis* yapısındaki lipoarabino-mannan (274), respiratuvar sinsityal virüs yapısındaki G proteini (294) ve influenza virüs yapısındaki nöraminidaz (295) aracılığıyla gerçekleşmektedir.

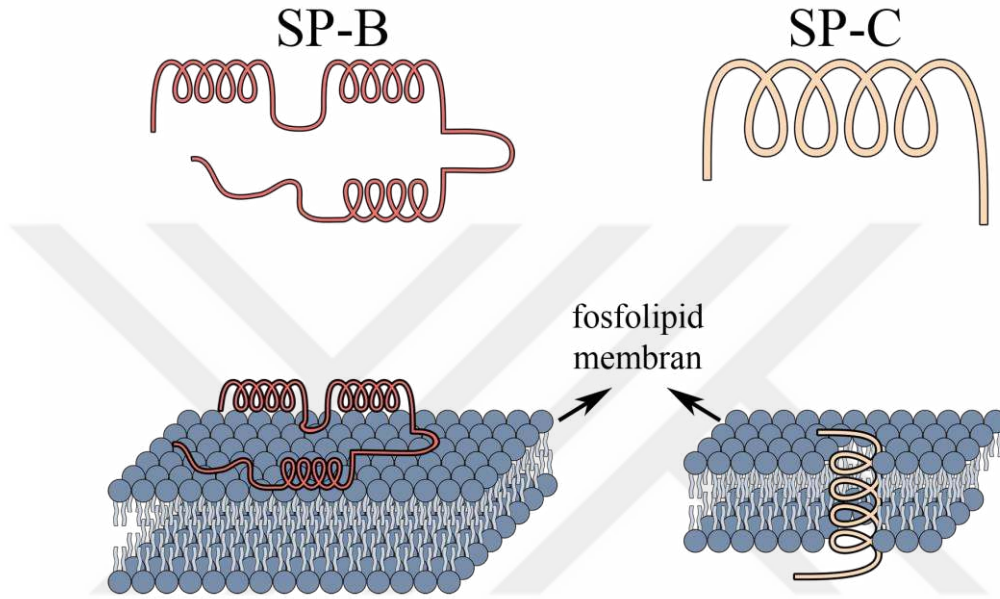
Karbonhidrat bağlayıcı proteinlerin (CRP) mannoza karşı yüksek afinitesi bulunmaktadır. SP-A yapısında bulunan CRP'ler afinitesi asetilmannozamin ve L-

fruktoz'a bağlanırken (296), SP-D'nin yapısında bulunan CRP'ler maltoz, glikoz ve inositole bağlanmaktadır (297). Hem SP-A hem de SP-D alveolar makrofajların hücre yüzeyinde bulunan ve fagositozda rol alan mannoz reseptörlerinin ekspresyonlarını arttırabilmektedirler (275). SP-A ve SP-D bakterilerin hücre membranı geçirgenliğini arttırarak bakteri büyümesini inhibe etmekte, aglütinasyona sebep olarak bakterinin besine ulaşımını kısıtlamaktadır (298). SP-A'nın O polisakkarit barındırmayan *E. coli*, *Klebsiella pneumonia* ve *Enterobacter aerogenes*, SP-D'nin ise yine O-polisakkarit barındırmayan *E. coli* ve *K. pneumonia* klinik izolatının gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir (298). SP-D O-polisakkarit bulundurmayan tüm *Klebsiella pneumonia* suşlarına bağlanırken O-polisakkarit bulunduranlara daha az sıklıkla bağlanabilmektedir (299). *E. coli*'nin O-polisakkarit barındıran suşlarının ise hem SP-A hem de SP-D'ye karşı dirençli olduğu görülmüştür ve bu yüzden LPS yapısında bulunan O-polisakkaritin bakteriyi sürfaktan proteinlerine karşı koruduğu düşünülmektedir (298). Buna ek olarak SP-D'nin O-polisakkaritten yoksun LPS'ye (LOS) bağlanabildiği gösterilmiştir (300). *E. coli* dış membranında bulunan OmpA proteininin silinmesi SP-A ve SP-D direncini düşürmektedir, bu yüzden OmpA'nın sürfaktan proteinlerine karşı direnç sağladığı düşünülmektedir (298).

1.2.1.2 Hidrofobik Sürfaktan Proteinleri

Sürfaktan protein B, yapısında sapozin, alfa heliks, sistein bulunduran ve hidrofobik amino asit içeriğine sahip sapozin-like protein ailesinin (SAPLIP) bir üyesidir (301). SAPLIP üyelerinin ortak özelliği hidrofobik amino asit içermeleri, altı sisteinin disülfid köprüler oluşturmaları, alfa heliks içermeleri ve lipidlerle etkileşime girebilmeleridir (302). SP-B yapısında %52 hidrofobik amino asit, sekiz pozitif yüklü rezidü ve bir negatif yüklü rezidü, altısı disülfid köprü oluşturan yedi sistein ve yüksek alfa heliks içeriği bulunan bir proteindir (303). SP-B'nin hala rekombinant teknolojilerle üretilmemiş olması ve yüksek hidrofobik yapısı sebebiyle üç boyutlu yapısı bilinmemektedir (303). Buna rağmen yapısında bulunan bileşenlerin fonksiyonları hakkında çalışmalar mevcuttur. SP-B n-terminal kuyruğunun ve W9 rezidünün sürfaktan filmine bağlanması için gerekli olduğu (304), prolinlerin, aromatik yan zincirlerin ve triptofan 9'un konformasyon ve yüzey aktivitesinde (304–306), heliks 1 ve 2'nin yüzey geriliminin düşürülmesinde

(307,308) ve C-terminalin membran füzyonu ve liziziyle birlikte yüzey geriliminin düşürülmesinde rol aldığı düşünülmektedir (307). SP-B kromozom 2’de bulunan tek bir gen tarafından kodlanır. SP-B ATII hücrelerinde prekürsör protein olarak sentezlenerek ER’den Golgi aygıtına aktarılır ve ardından aktif hale geldiği lamellar cisimde paketlenir (279). Katepsin-H, napsin A, pepsinojen C ve tiroid transkripsiyon faktör-1 SP-B maturasyonu ve senteziyle ilişkilidir (248).



Şekil 1.3. Hidrofobik sürfaktan proteinlerinin yapısı

SP-B, lipid vezikülleriyle etkileşime girerek lamellar cisim için gerekli fosfolipid yaprakların oluşumunda, sürfaktanın lamellar cisme paketlenmesinde, SP-C sentezinde, salgılanan sürfaktanın alveol içindeki tübüler miyeline dönüşümünde ve sürfaktan homeostazında rol alır (279,309–311). Sürfaktan salgılanması ve sağlıklı sürfaktan fonksiyonunun devamlılığı için SP-B elzem bir proteindir ve yokluğunda RDS veya ARDS gelişmektedir (279,312,313).

Yapıları benzerlik gösteren hidrofilik sürfaktan proteinleri olan SP-A ve D’nin aksine hidrofobik sürfaktan proteinleri SP-B ve C’nin yapısı birbirinden oldukça farklıdır (Şekil 1.3). Sürfaktan protein C çoğunlukla transmembran alfa heliks hidrofobik domain, N-terminal domain ve C-terminal domainden oluşur ve SP-C kromozom 8’de bulunan SFTPC geni tarafından kodlanır (279,314). Çok yüksek hidrofobisiteye sahip olan SP-C’nin bu özelliğini yapısındaki sisteinler kazandırır (315). SP-C yapısındaki palmitoillenmiş sistein grupları lipid katmanlar

içinde hareket edebilir ve alveolü kaplayan film formasyonunda görev alırlar (316). N-terminal domain prekürsör SP-C'nin ER'den taşınmasında, C-terminal domain ise SP-C biyosentezinde görev alır (314). SP-C, SP-B gibi prekürsör protein olarak ATII hücrelerinde sentezlenir, SP-B aracılığıyla multiveziküler cisimciklere taşınır ve oradan her iki hidroforik sürfaktan proteininin de işlendiği lamellar cisimde paketlenerek fosfolipidlerle birlikte alveol içerisine salgılanır (317).

SP-C'nin fonksiyonu SP-B ile benzerlik gösterir. SP-C, sürfaktanın yüzey gerilimini düşürme fonksiyonuna, fosfolipidlerin adsorpsiyonu ve film yüzeyine yayılmasına katkı sağlar ve sürfaktan katabolizmasında rol alır (314,318). SP-C yoksunluğu akciğerde enflamasyon, amfizem, fibrozis, displazi gibi sorunlara, akciğer anormalitesine ve RDS'ye sebep olabilmektedir (319,320).

Hem SP-B hem de SP-C, sürfaktan fonksiyonunu geliştirdikleri için yeni doğanlarda RDS'e yönelik sürfaktan replasman tedavisinde kullanılmakta, sentetik SP-B ve SP-C üretim çalışmaları sürdürülmektedir (279,321,322).

1.2.2 Sürfaktan Proteinleri ve Enfeksiyon İlişkisi

SP-A ve SP-D akciğerin patojenlere karşı korunmasında kompliman kaskadı, agregasyon, opsonizasyon gibi farklı mekanizmalarla görev almakta ve patojenlere farklı ligandlar aracılığıyla bağlanabilmektedir (274,280,289–295). Patojenlerin SP-A ve/veya SP-D ile maruziyeti patojenlerin virülansını etkileyebilmekte ve enfeksiyon varlığında akciğerdeki SP-A ve SP-D seviyeleri etkilenebilmektedir (Tablo 1.1).

SP-A ekspresyonu veya BALS SP-A seviyesi *E. coli* LPS'si (290), akut akciğer hasarı (323), *Aspergillus fumigatus* ile tetiklenen alerjik enflamasyondan (324) etkilenebilmektedir. SP-A *Cryptococcus neoformans* (325), influenza A (326), *Mycoplasma pneumoniae* (327), insan bağışıklık yetmezliği virüsünün (HIV) (328), respiratuar sinsityal virüsün (RSV) (292), *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, Grup A Streptokok (329), Grup B Streptokoka (330) bağlanabilmekte, bu patojenlerin büyümesini durdurmakta ve makrofajlar tarafından fagositozlarını kolaylaştırmaktadır.

SP-D *P. aeruginosa* (331), HIV (332), *Mycobacterium tuberculosis* (274), influenza A virüsü (333), *Pneumocystis carinii* (334), *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* (335), *Mycobacterium bovis* (336), *Mycobacterium*

tuberculosis (274,337,338) gibi patojenlere bağlanabilmekte, büyümelerini inhibe edebilmekte veya fagositozunu kolaylaştırabilmektedir. Buna karşılık SP-D *Coxiella burnetii*'ye bağlanmaktadır ancak bakterisidal bir etki göstermemekte ve fagositozu kolaylaştırmaktan ziyade *Coxiella burnetii*'nin alveolar makrofajlar tarafından fagositozunu azaltmaktadır (339).

SP-B seviyesi bakteri veya LPS maruziyetinden etkilenmektedir, ancak *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda farklı sonuçlar alınmış, ek olarak kullanılan farklı deney hayvanlarında farklı sonuçlarla karşılaşmıştır. *In vivo* çalışmada *Pseudomonas* LPS'si maruziyetinde SP-B seviyesinde düşüş (340), SP-B mRNA ekspresyonunda artış saptanmış (341) veya ekspresyonun değişmediği görülmüştür (290). *In vitro* çalışmada hangi mikroorganizmadan elde edildiği belirtilmeyen LPS maruziyetinde, SP-B gen transkripsiyonunda artış olduğu bildirilmiştir (342). *Pseudomonas aeruginosa* (343), *Pneumocystis carinii* (344,345) *Aspergillus fumigatus* (346) inokülasyonlarında SP-B ekspresyonu düşmektedir. Farklı BALS SP-B seviyesi bulunduran farelerde grup B streptokok ve *P. aeruginosa* seviyelerinin farklılık göstermemekte (347), farklı SP-B varyantları barındıran farelerde bakteriyel yükün değiştiği görülmektedir (343).

P. carinii (345) ve *A. fumigatus*'a (346) maruziyet BALS SP-C seviyesini düşürürken LPS maruziyetinin SP-C mRNA ekspresyonunu arttırdığı görülmüştür (341). SP-C'den yoksun farelerde de LPS maruziyetinde persistan enflamasyon ve artmış sitokin üretimi görülmektedir (348).

Tablo 1.1. Sürfaktan proteinlerinin etkilediği veya maruziyetinde etkilendiği mikroorganizmalar

SP-A	<i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , Grup A Streptokok, HIV, RSV, İnfluenza A
SP-B	<i>Pneumocystis carinii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
SP-C	<i>Pneumocystis carinii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i>
SP-D	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Pneumocystis carinii</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , İnfluenza A, HIV, <i>Mycobacterium bovis</i> (BCG)

1.3 Çalışmanın Amacı

A. baumannii yoğun bakım ünitelerinde yüksek sıklıkla nozokomiyal pnömoniye, buna bağlı olarak hastanede kalma süresinin artmasına ve yüksek mortaliteye sebep olmaktadır. Akciğer sağlığında sürfaktan proteinlerinin miktarı ve fonksiyonu önem arz etmektedir. Bu proteinlerin eksikliğinde patojenlere karşı direncin düştüğü bilinmektedir. Akciğer sürfaktan proteinleri; SP-A, SP-B, SP-C ve SP-D'nin ekspresyonları ve seviyeleri enfeksiyon varlığında değişiklik göstermektedir ancak *A. baumannii* pnömonisinin bu proteinler üzerinde nasıl bir etkisi olduğu bilinmemektedir. Çalışmanın amacı *A. baumannii* kaynaklı pnömonide 3., 24. ve 48. saatlerde sürfaktan seviyesinin nasıl etkilendiğini araştırmaktır. Bu çalışma *A. baumannii*'nin akciğer sürfaktan proteinleri üzerine etkisini araştıran ilk çalışmadır.

Bu çalışmamızdaki hipotezimiz; “Sıçanlarda, *A. baumannii* kaynaklı pnömoni akciğer sürfaktan proteinleri SP-A, SP-B, SP-C ve SP-D seviyelerinde değişime neden olur.” şeklindedir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Deney Hayvanları ve Gruplar

Bu çalışma Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 14.02.2018 tarihli, 2017/53 numaralı kararı ile onaylanmıştır. Çalışmada 54 adet, 6-7 aylık erkek Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlıkta, sabit nem ve oda sıcaklığındaki odalarda, ad libitum musluk suyu ve standart pellet yemler ile beslenmiştir. Hayvanlara uygulanan müdahaleler Abant İzzet Baysal Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde yürütülmüştür. Sıçanlar sham ve *A. baumannii* olmak üzere 2 ana gruba ayrılmıştır. Her ana grubun altında 3., 24. ve 48. saat grupları olmak üzere 3'er tane alt grup bulunmaktadır (Tablo 2.1); sham grupları (1) SH-3, (2) SH-24, (3) SH-48 olarak, *A. baumannii* grupları (1) AB-3, (2) AB-24, (3) AB-48 olarak adlandırılmıştır. Sham gruplarına intratrakeal yol ile 100 µl steril serum fizyolojik, *A. baumannii* gruplarına ise 0.5 McFarland *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 ihtiva eden 100 µl serum fizyolojik inokülasyonu yapılmıştır. İnokülasyonun ardından sıçanlar tekli kafeslerde dinlenmeye alınmıştır.

Tablo 2.1. Deney grupları ve sıçanlara uygulanan işlemler

Sham			<i>Acinetobacter baumannii</i>		
Grup	İnokulum	Doku Alımı	Grup	İnokulum	Doku Alımı
3. saat	Steril serum fizyolojik	İnstitasyondan 3 saat sonra	3. saat	0.5 McFarland <i>A. baumannii</i>	İnstitasyondan 3 saat sonra
24. saat	Steril serum fizyolojik	İnstitasyondan 24 saat sonra	24. saat	0.5 McFarland <i>A. baumannii</i>	İnstitasyondan 24 saat sonra
48. saat	Steril serum fizyolojik	İnstitasyondan 48 saat sonra	48. saat	0.5 McFarland <i>A. baumannii</i>	İnstitasyondan 48 saat sonra

2.2 *Acinetobacter baumannii*, İnokulum ve Testler

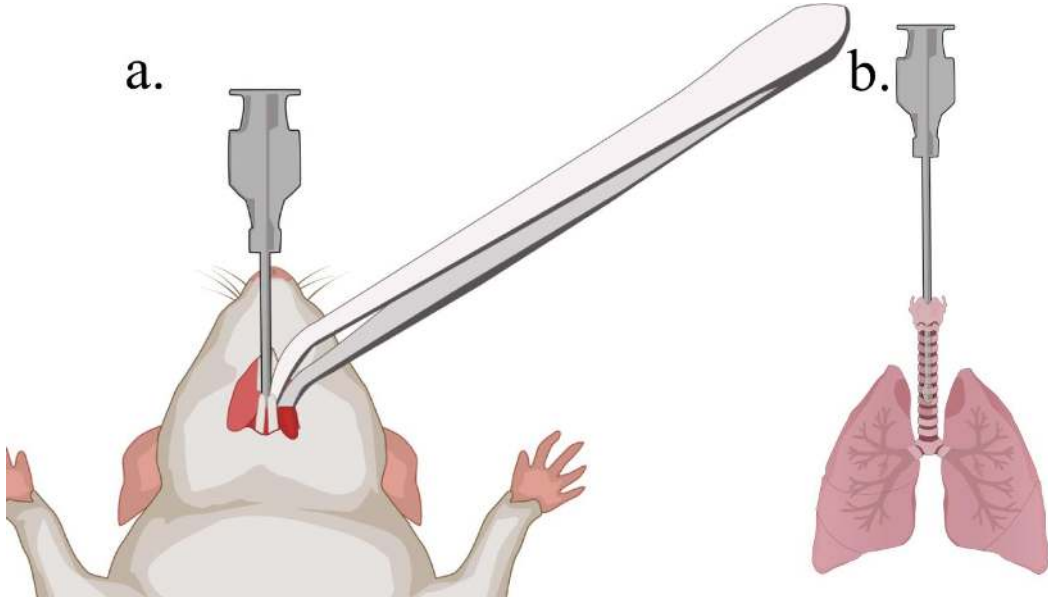
Bu çalışmada enfeksiyon etkeni olarak *Acinetobacter baumannii* Bouvet ve Grimont (ATCC 19606) (Epigen Biyoteknoloji, Ankara) standart suşu kullanılmıştır. -4°C’de saklanmakta olan bakterinin 1000 µl steril serum fizyolojik ile rehidrasyonu yapılmıştır. 10 µl’lik öze kullanılarak koyun kanlı agara azaltılarak ekimi gerçekleştirilmiş ve 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat ardından üremeler kontrol edilmiş ve üreyen kolonilerden alınan örneklerde gram boyaması yapılarak bakteriler mikroskop altında incelenmiş, katalaz ve oksidaz testleri yapılmıştır. Gram boyama için tek koloni örneği lam üzerine yayılmış ve kuruduktan sonra alevde tespit edilmiştir. Lam 1,5 dakika kristal viyole (Merck, 1.11885.0001, Darmstadt, Almanya) ile bekletildikten sonra 30 saniye çeşme suyunda yıkanmış, ardından 3 dakika Lugol (Merck, Darmstadt, Almanya) solüsyonunda bekletilmiştir. 20 saniye çeşme suyunda yıkanan lam 5-10 saniye kadar alkol solüsyonuyla (Merck, 1.11885.0001, Darmstadt, Almanya) yıkanmış, ardından 1 dakika Safranin (Merck, 1.11885.0001, Darmstadt, Almanya) solüsyonunda bekletilmiştir. 1 dakika çeşme suyunda yıkanan lam kurumaya bırakılmıştır. Katalaz testi için tek koloni örneği lama yayılarak üzerine katalaz reaktifi damlatılmıştır (Chembio, CB6525.0100, İstanbul). Oksijen kabarcıklarının görülmesi durumunda bakteri katalaz pozitif, kabarcık görülmemesi durumunda ise katalaz negatif kabul edilmiştir. Oksidaz testi için tek koloni örneği oksidaz test stripinin (Chembio, CB6525.0100, İstanbul) aktif bölgesine yayılmış ve reaksiyon için beklenilmiştir. 30 saniye içinde test stripi üzerinde mavi/mor renk oluşumu durumunda bakteri oksidaz pozitif, renk değişimi olmaması durumunda oksidaz negatif kabul edilmiştir. Her 24 saatte bir 3’er farklı besiyerinden alınan bakterilerden tek koloni pasajları yapılmış ve 3 tekrar olacak şekilde 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnokulum intratrakeal instilasyonun hemen öncesinde hazırlanmıştır. Pasajlanan besiyerlerinden alınan tek koloni örnekleri ile 0.5 McFarland (1.5×10^8 koloni oluşturan ünite) (349) *Acinetobacter baumannii* içeren 1ml’lik inokülasyon çözeltisi nefelometre (BD PhoenixSpec) aracılığıyla hazırlanmıştır.

2.3 Besiyerleri

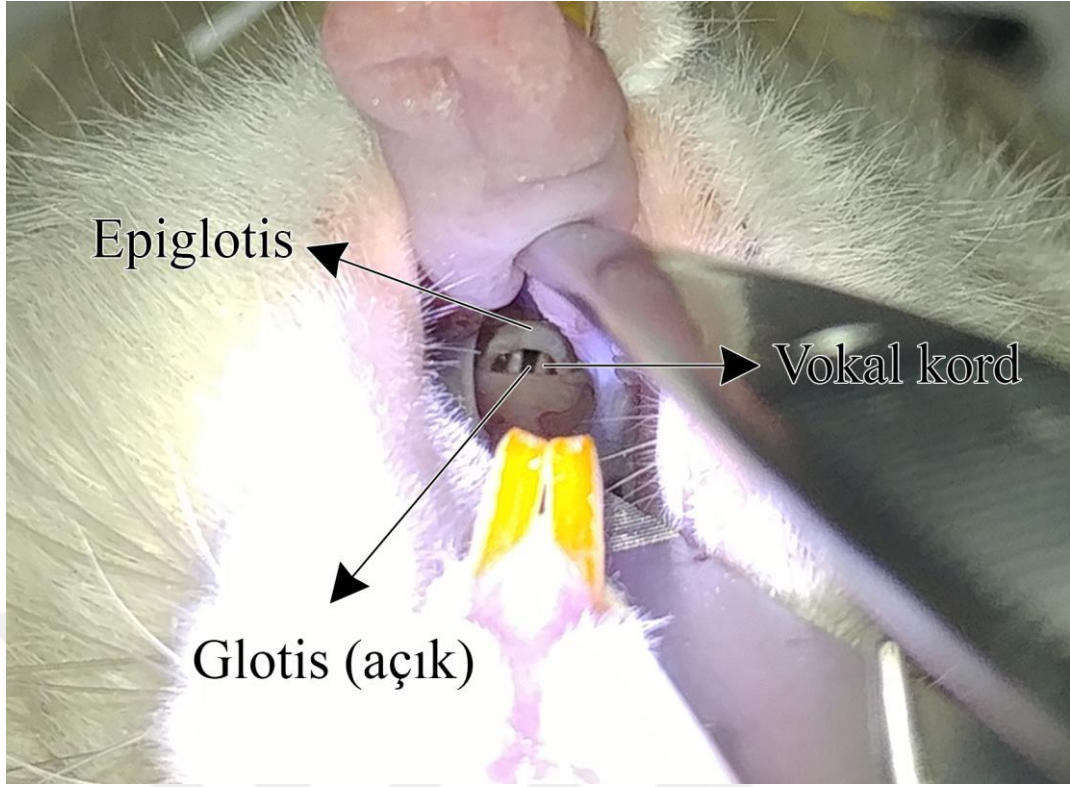
A. baumannii'nin (ATCC 19606) canlandırılmasında Koyun Kanlı Agar (Or-Bak, Alkim Sağlık Hizmetleri San. ve Tic. Ltd. Şti., Ankara), akciğerden alınan örneklerin ekiminde ise Eosin Methylen Blue (EMB) Agar (Or-Bak, Alkim Sağlık Hizmetleri San. ve Tic. Ltd. Şti., Ankara) kullanılmıştır.

2.4 İntratrakeal İnstilasyon

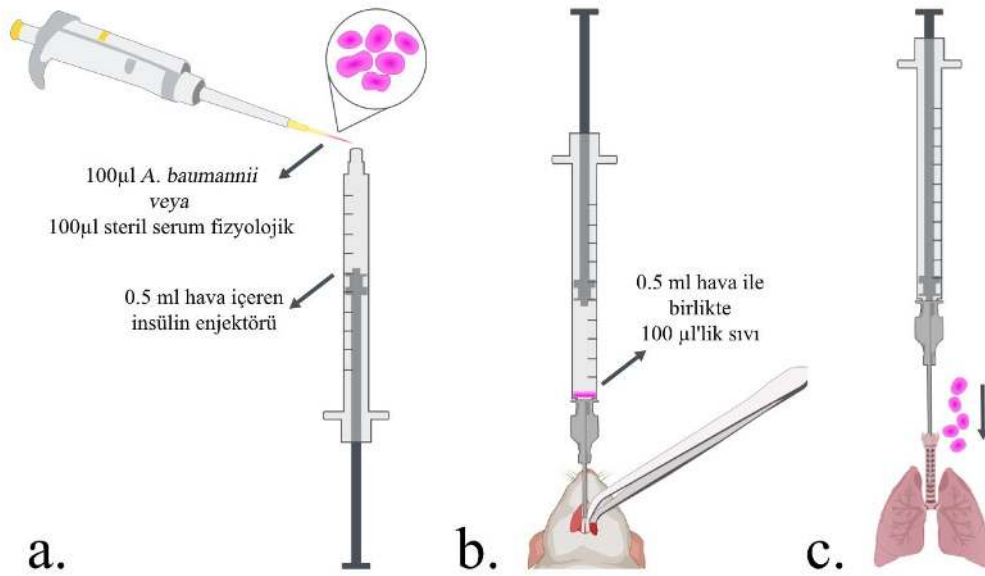
İntratrakeal ketamin (90mg/kg, Ketazol, İnterhas Tıbbi ve Kimyevi Ürünler San. ve Tic. A.Ş., Ankara) ve ksilazin (10mg/kg, Xylazin Bio, İntermed Ecza Deposu İthalat, İhracat, Ticaret ve Taahhüt Ltd. Şti., Ankara) anestezisi uygulanan sıçanlar yaklaşık 60 derecelik dikey açıda bulunan tablaya yerleştirilmiş ve üst dişlerinin altından geçirilen bir ip yardımıyla üst çenesi sabitlenmiştir. Sıçanın dili dışarıya doğru alınarak, bir tarafı damağa bir tarafı da dile gelecek şekilde ağza yerleştirilen bir pens sayesinde alt çenenin açık ve dilin sabit kalması sağlanmıştır (Şekil 2.1). Ağza dik yerleştirilen bir ışık kaynağı sayesinde farinks aydınlatılarak glotis ve trakenin görünmesi sağlanmıştır (Fotoğraf 2.1).



Şekil 2.1. Kanülün trakeye yerleştirilmesi a) dil ve alt çene pens ile açık tutulurken kanül trakeye yerleştirilir, b) kanül trake içinde ilerletilir.



Fotoğraf 2.1. Dil ve alt çene pens ile sabitlendikten sonra aydınlatılan farinks ve glottisin görünümü



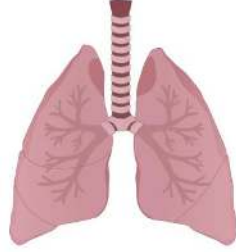
Şekil 2.2. Hazırlanan sıvının akciğere enjekte edilmesi a) enjekte edilecek sıvı insülin enjektörüne aktarılır, b) 0.5 ml hava ile birlikte sıvı içeren enjektör kanüle yerleştirilir, c) sıvı trake içerisinde enjekte edilir

19ga'lık kanül önce ağızdan, sonra glotisten geçirilerek trakeye yerleştirilmiştir. AB gruplarına 0.5 McFarland *Acinetobacter baumannii* içeren 100 µl serum fizyolojik (% 0.9 NaCl), SH gruplarına ise 100 µl steril serum fizyolojik insülin enjektörüne aktarılmış ve içerisine 0.5 ml daha hava çekilmiştir. Enjektör kanüle takılarak sıvı yavaşça enjekte edilmiştir. Sıvının kanülün içerisinde kalmaması için enjektör kanülden çıkartıldıktan sonra tekrar 0.5 ml hava çekilerek ve kanüle yerleştirilerek yavaşça enjekte edilmiştir (Şekil 2.2). Sıçanın soluksuz kalmaması için kanül çıkarılmıştır. Enjekte edilen sıvının ciğerlere inebilmesi ve geri çıkmaması için 1dk süreyle aynı açıda bekletildikten sonra, sıçan yan yatırılarak solunumu gözlenmiştir. Solunum stabilize olan sıçanlar dokuların alınacağı güne kadar tekli kafeslere yerleştirilmiştir.

2.5 Akciğer Dokuları

Her gruptan 6 hayvan bronkoalveolar lavaj, 3 hayvan ise histopatolojik inceleme için ayrılmıştır. Sıçanlar gruplara göre 3., 24. ve 48. saatlerde ketamin ve ksilazin (sırasıyla 270mg/kg, 30mg/kg) anestezisine alınmıştır. Anestezi altındaki sıçanlar eksanguinasyon ile sakrifiye edildikten sonra trakenin üst bölümü kesilerek akciğerler bütün olarak çıkartılmıştır. Her grupta 3 sıçandan elde edilen akciğerler %10'luk formaldehit ile tespit edilerek histopatolojik inceleme gününe kadar formaldehit solüsyonunun içerisinde saklanmıştır (Şekil 2.3).

a.



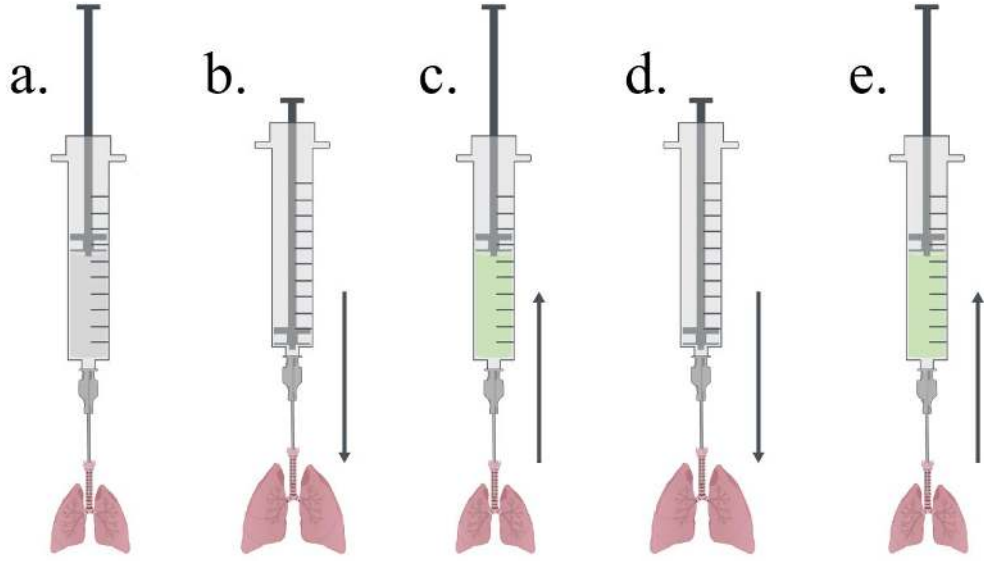
b.



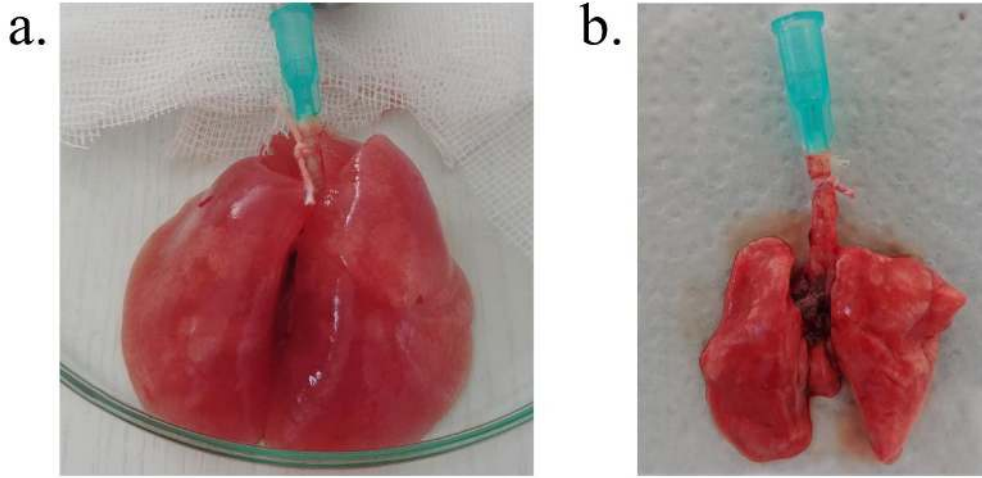
Şekil 2.3. Histopatolojik inceleme için ayrılan akciğer örnekleri a) akciğerler trakenin üst bölümünden kesilerek tek parça halinde çıkartılır, b) doku %10'luk formaldehit içeren bir kabın içerisine alınarak inceleme gününe kadar saklanır

2.6 Bronkoalveolar Lavaj

Bronkoalveolar lavaj için ayrılan sıçanlar ketamin ve ksilazin (sırasıyla 270mg/kg, 30mg/kg) anestezisine alınmıştır. Anestezi altındaki sıçanlar eksanguinasyon ile sakrifiye edildikten sonra trakenin üst bölümü kesilerek akciğerler bütün olarak çıkartılmıştır. Keskin bölümü çıkartılan bir enjektör ucu trakeye yerleştirilerek sıkıca bağlanmıştır. 15 ml steril serum fizyolojik içeren 20ml'lik bir enjektör uca yerleştirilmiştir (Şekil 2.4). Akciğerde yırtılma olmaması ve mümkün olan en çok BALS miktarının alınabilmesi adına, serum fizyolojik yavaşça trakeden akciğerlere enjekte edilmiştir. Tüm serum fizyolojinin enjekte edilmesinin ardından aynı yavaş hızda BALS geri çekilmiştir. Akciğer içerisinde bulunan moleküllerin tamamıyla alınabilmesi için çekilen BALS akciğere ikinci defa yavaşça enjekte edilmiş ve tekrar geri çekilmiştir (Şekil 2.4 ve Fotoğraf 2.2). Toplanan BALS vorteksenerek 1ml'lik bir bölüm mikrobiyolojik inceleme için ayrılmıştır. Geriye kalan BALS 3000 rpm'de 20dk santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı 1ml'lik tüplere ayrılarak biyokimyasal analizlere kadar -80°C'de saklanmıştır.



Şekil 2.4. Bronkoalveolar lavaj prosedürü a) 15 ml steril serum fizyolojik içeren enjektör trakeye bağlı kanüle yerleştirilir, b) sıvı yavaşça enjekte edilirken akciğerlerin şiştiği gözlenir, c) BALS yavaşça çekilir, d) sıvı bir kez daha yavaşça enjekte edilir



Fotoğraf 2.2. BALS sırasında akciğerin görünümü a) akciğerlere 15 ml steril serum fizyolojinin enjekte edilmiş hali, b) BALS'nin geri çekilmiş hali.

2.7 Mikrobiyolojik İnceleme

BALS'den ayrılan 1ml'lik sıvıdan 10 µl'lik öze ile alınan örnek Eosin-Metylene Blue (EMB) besi yerine ekim yapılarak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Aynı sıvının 100 µl'lik bölümü direkt olarak EMB besi yerine damlatılarak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. BALS alınmış olan akciğer

boylamasına kesilmiş ve kesik bölümü EMB besi yerine ekilerek 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saatlik inkübasyonun ardından besi yerlerindeki üreme kontrol edilerek koloni sayımı yapılmıştır.

2.8 Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik inceleme için ayrılan 3 sıçandan alınan akciğer dokuları %10’luk formaldehit içinde tespit edilmiştir. Akciğer dokuları kesilerek en geniş yüzeyleri görülecek şekilde doku takibine alınmış ve takip sonrasında parafine gömülmüştür. Hazırlanan parafin bloklardan 3 µm kalınlığında kesitler alınarak hematoxilen-eozin (HE) boyası ile boyanmıştır. Kesitler LEICA DM 2000 LED marka ışık mikroskobunda değerlendirilmiştir. Akciğer dokusunun patolojik incelemesinde konjesyon, hemoraji, alveol içerisinde makrofajların kümelenmesi, granülom, bronkoalveoler proliferasyon, alveol duvar kalınlaşması, bronş ve damar çevresi lenfosit varlığı, abse formasyonu, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, bronşiyal lümenlerde eksuda varlığı ve fibrozis parametreleri semikantitatif olarak değerlendirilmiş ve Tablo 2.2’ye göre skorlanmıştır (350).

Tablo 2.2. Histopatolojik skorlama

Skor	Açıklama
0	Minimum hasar
1	Hafif hasar
2	Orta derecede hasar
3	Şiddetli hasar
4	Maksimum hasar

2.9 Biyokimyasal İnceleme

-80°C’de saklanan BALS süpernatant bölümlerinde SP-A, SP-B, SP-C ve SP-D ELISA analizleri yapılmıştır. Her hayvandan alınan BALS örnekleri ELISA kitlerinde en az 2, en çok 4 tekrar olacak şekilde çalışılmıştır. ELISA testleri üretici firmanın (Shanghai YL Biotech Co. Ltd.) önermiş olduğu prosedür takip edilerek tamamlanmıştır. Kısaca; ELISA kitleri ve BALS örnekleri oda sıcaklığına getirilmiştir. Yıkama solüsyonu 30 kat konsantrasyonda halde bulunduğu için 1/30 oranında seyreltilmiştir. S1, S2, S3, S4, S5 ve S6 isimli 6 adet ependorf tüpü hazırlanmıştır. 120 µl orijinal standart S6’ya eklenmiş, S1, S2, S3, S4, S5 tüplerine 120 µl standart dilüsyon solüsyonu eklenmiştir. S5’e orijinal standarttan alınan 120 µl eklenerek seyreltilmiş, S5’ten alınan 120 µl, S4’e eklenerek seyreltilmiş, benzer şekilde bir üst standart tüpünden alınan solüsyonlar seyreltilerek her biri bir öncekinin iki katı konsantrasyonda olan S1, S2, S3, S4, S5 ve S6 standartları hazırlanmıştır. İkişer kuyu boş bırakılarak her standart için ikişer kuyu kullanılmıştır. 40 µl BALS örnekleri pipetlenerek, üzerlerine 10 µl her kitin kendi plaklarına ayrı olacak şekilde SP-A, SP-B, SP-C veya SP-D antikorları eklenmiştir. Standart kuyularına 50 µl solüsyon eklenmiştir. Boş kuyular hariç tüm örnekler ve standart kuyularına 50 µl Streptavidin-HRP eklenmiştir. ELISA plaklarının üzeri mühür membranı ile kapatılarak 37°C’de 60 dakika inkübasyona (Mettler IN75 İnkübatör) bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından hazırlanan yıkama solüsyonu ile tüm kuyular 5’er defa 350 µl pipetlenerek yıkanmıştır. Boş kuyular da dahil olmak üzere tüm kuyulara 50 µl Chromogen A ve 50 µl Chromogen B eklenmiştir. Plakaların üzeri tekrar mühürlenerek hafifçe sallanmış ve 10 dakika 37°C’de, karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Tüm kuyulara 50 µl Stop solüsyonu eklenmiş ve 10 dakika içinde 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Multiskan Go, Thermo Scientific, Waltham, ABD) okutularak absorbans değerleri kaydedilmiştir. Tekrarı olan örneklerin absorbanslarının ortalamaları alınmıştır. Test sonucunda alınan absorbans değerlerinden standart eğrisi saptanarak bu eğriden elde edilen formül ile örneklerin SP-A, SP-B ve SP-D için ng/ml, SP-C için pg/ml karşılıkları saptanmıştır.

2.10 İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin dağılımları Shapiro-Wilk testi ile test edilmiştir. Sıçanların ilk ve son ağırlıkları arasındaki farkların analizinde Eşleştirilmiş Örneklem T Testi (paired samples t test) kullanılmıştır. Grupları arası mortalite Ki Kare ile test edilmiştir. ELISA verilerinin Sham ve *A. baumannii* grupları arasındaki analizinde Bağımsız Örneklem T Testi (independent samples t test), verilerin grup içindeki saatler arası analizinde ise Fisher'ın en küçük anlamlı farklar testi (Fisher's least significant difference, Fisher's LSD) ve Bonferonni Post Hoc testleri ile Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) kullanılmıştır. Fisher's LSD ve Bonferonni arasındaki seçim örneklem eşitliğine göre yapılmış; eşit örneklemelerde Fisher's LSD, eşit olmayanlarda Bonferonni kullanılmıştır. Histopatolojik verilerin analizinde verilerin dağılımına göre Dunn's Post Hoc testi ile Kruskal-Wallis ve Fisher's LSD Post Hoc testi ile ANOVA kullanılmıştır. Sürfaktan proteinlerinin korelasyon analizinde Pearson korelasyon testi kullanılmıştır. Tüm testler IBM SPSS Statistics 22 (IBM, New York, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Pearson'ın korelasyon katsayısının değerlendirmesinde Tablo 2.3'deki değerlendirme kullanılmıştır (351).

Tablo 2.3. Korelasyon katsayısı değerlendirmesi

Korelasyon katsayısı	Değerlendirme
0,90 ile 1,00	Çok güçlü, pozitif korelasyon
0,70 ile 0,90	Güçlü, pozitif korelasyon
0,50 ile 0,70	Orta, pozitif korelasyon
0,30 ile 0,50	Düşük, pozitif korelasyon
0,00 ile 0,30	Göz ardı edilebilir, pozitif korelasyon
0,00 ile -0,30	Göz ardı edilebilir, negatif korelasyon
-0,30 ile -0,50	Düşük, negatif korelasyon
-0,50 ile -0,70	Orta, negatif korelasyon
-0,70 ile -0,90	Güçlü, negatif korelasyon
-0,90 ile -1,00	Çok güçlü, negatif korelasyon

3. BULGULAR

3.1 Deney Hayvanları, Ağırlıklar ve Mortalite

Çalışmada toplam 54 adet 6-7 aylık Sprague-Dawley erkek sıçan kullanılmıştır. İnstilasyon esnasında kanül trakeyi tamamen kapatmakta ve hayvanın nefes almasını zorlaştırmaktadır. Çalışmada 19ga kalınlığında, nispeten ince bir kanül kullanılmış olmasına rağmen kanülün ucunda bulunan geniş bölge trakenin kapanmasına yol açmaktadır. İnokulumun enjekte edilmesinin ardından kanülün hızlı bir şekilde, ancak trakeyi zedelemeyen çıkartılması sıçanın solunumunun düzene girmesi için önem arz etmektedir. Sıçanlarda instilasyonun ardından kısa bir süre takipne ve derin nefes alma gözlenmiş ve sıçanların solunumlarının kısa sürede stabilize olduğu görülmüştür. İnstilasyon yapılan tüm sıçanlarda işlemin ardından nefes alıp verme esnasında hırıltıya gözlenmiştir.

SH-3, SH-24, SH-48 ve AB-3 gruplarından birer hayvanda instilasyonun ardından solunum stabilize olmuş ancak ilerleyen dakikalarda sıçanlarda eksitus görülmüştür (Tablo 3.1). AB-48 grubundaki iki sıçanda instilasyonu takip eden günlerde takipne ve hareketlilikte düşüş gözlenmiş, aynı sıçanların doku alımlarında ise mediastinumda yarı şeffaf, koyu sıvı birikimi gözlenmiştir. Enfeksiyon kaynaklı olarak nitelendirilebilecek tek bir ölüm kaydedilmiştir. İnstilasyon sonrası yaşanan kayıpların ardından *A. baumannii* grubunda hem instilasyon hem de enfeksiyon kaynaklı ölümlerin olabileceği düşünülmüş ve Sham 48. Saat grubundan henüz inokulum instilasyonu yapılmamış rastgele bir hayvan *A. baumannii* 48. Saat grubuna aktarılmıştır. Son durumda eksitus görülen sıçanlarla birlikte SH-3, SH-24, AB-3 ve AB-24 gruplarında 9, SH-48 grubunda 8 ve AB-48 grubunda 10 hayvan bulunmaktaydı. AB-48 grubundaki bir sıçanda instilasyonu takip eden gün eksitus görülmüştür. SH-3, SH-24 ve AB-3 gruplarında mortalite %11,1, SH-48 grubunda %12,5, AB-24 grubunda %0 ve AB-48 grubunda %10 olarak bulunmuştur. Gruplar arasında mortalite açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 3.1. Deney hayvanlarının eksitus oranları

Grup	Eksitus (n/%)	Alınan Doku		n
		BALS	Akciğer	
SH-3	1 / 11,1	5	3	9
SH-24	1 / 11,1	5	3	9
SH-48	1 / 12,5	4	3	8
AB-3	1 / 11,1	5	3	9
AB-24	0 / 0	5	4	9
AB-48	1 / 10	5	4	10

Tablo 3.2. Deney hayvanlarının ilk ve son ağırlık ölçümleri

Grup	İlk Ağırlık, g	Son Ağırlık, g	p değeri
SH-3	417, 63 ± 37,60	417,00 ± 36,51	0,551
SH-24	424,00 ± 62,79	435,38 ± 61,70*	0,015
SH-48	419,57 ± 42,95	433,43 ± 23,94	0,247
AB-3	435,00 ± 41,76	433,75 ± 42,41	0,234
AB-24	436,67 ± 27,41	426,33 ± 25,18*	0,000
AB-48	439,33 ± 55,25	418,00 ± 45,01*	0,003

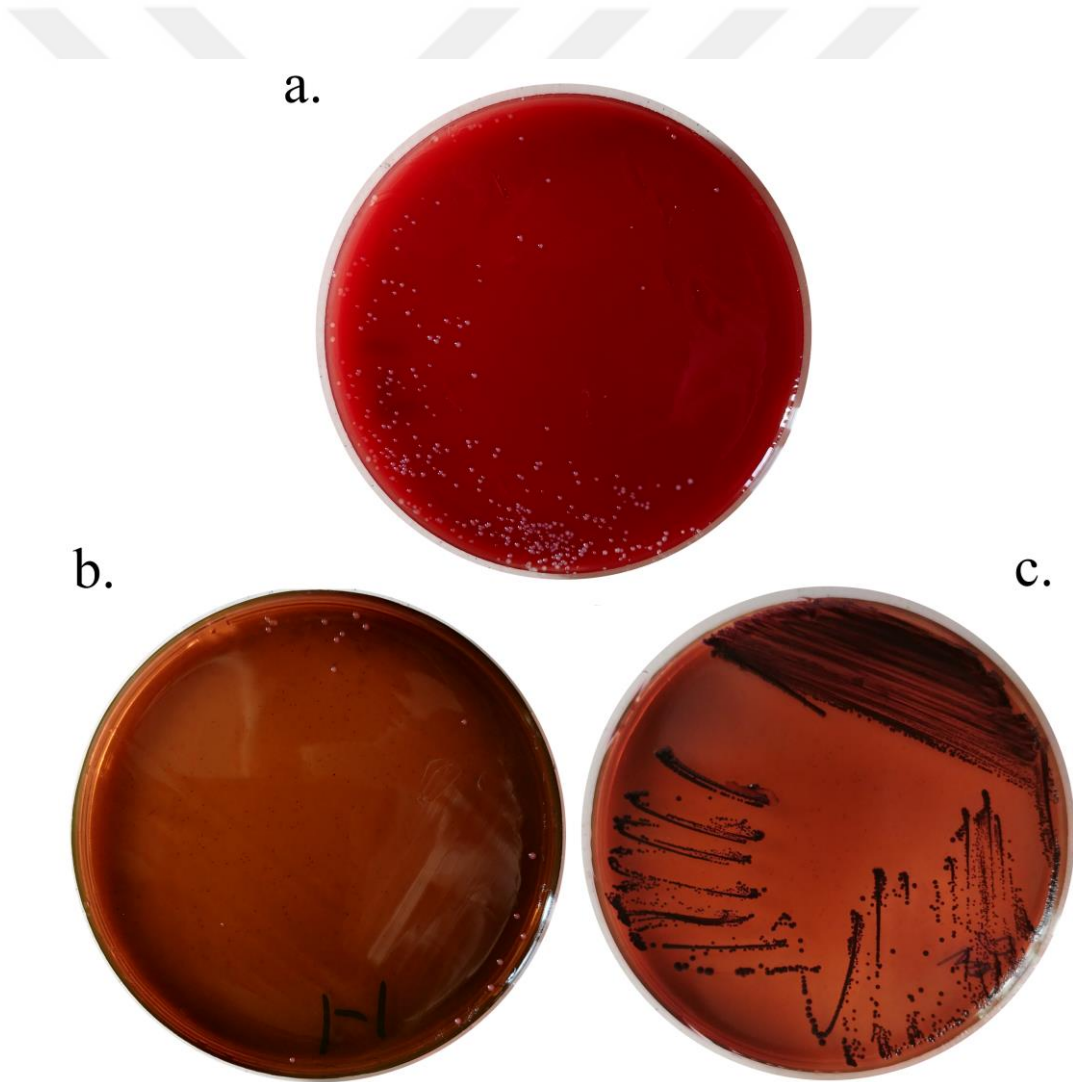
Veriler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. * ilk ağırlığa göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı.

Sıçanların vücut ağırlıkları inokulum instilasyonundan (ilk ağırlık) ve doku alımından önce (son ağırlık) birer defa ölçülmüştür. Gruplar arası karşılaştırmada sıçanların ilk ağırlıkları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). SH-3 grubunda hayvanların ilk ve son ağırlıkları arasında fark bulunmazken ($p>0,05$), SH-24 grubundaki hayvanların son ağırlıklarının ilk ağırlıklarına göre %2,68 oranında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu görüldü ($p<0,05$). SH-48 grubundaki hayvanların son ağırlıkları ilk ağırlıklarına göre %3,30 oranında artmış olsa da bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). AB-3 grubundaki hayvanların ilk ve son ağırlıkları arasında bir fark görülmezken, AB-24 ve AB-48 gruplarındaki hayvanların son ağırlıklarının ilk

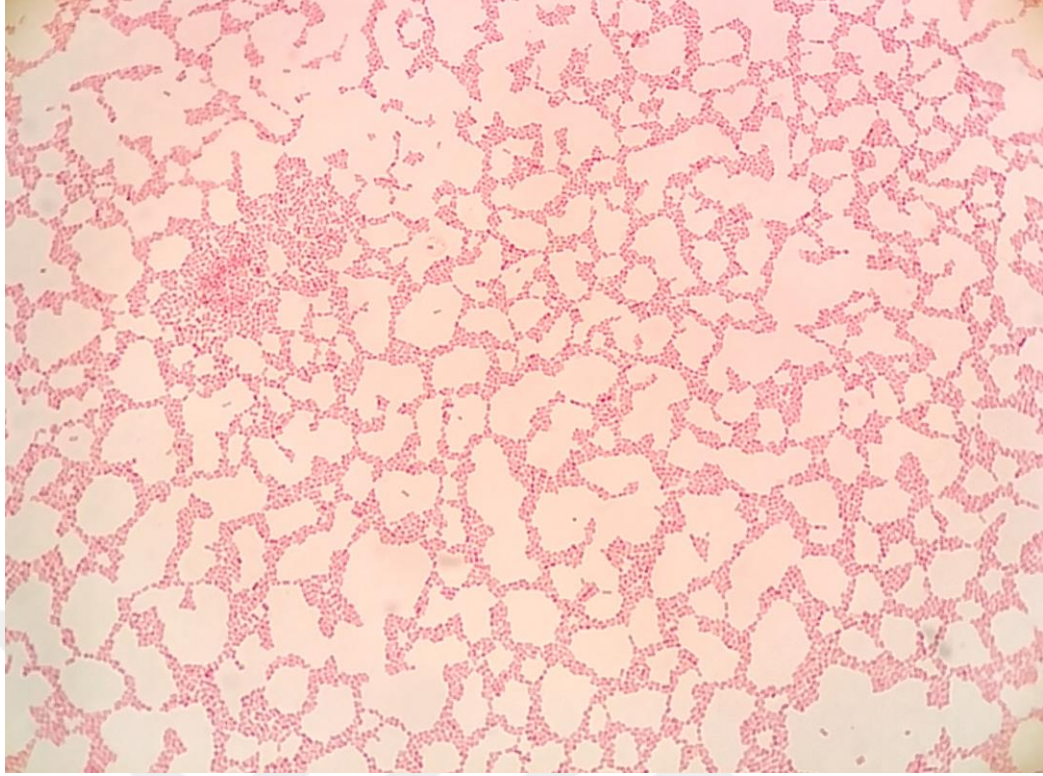
ağırlıklarına göre istatistiksel anlamlı şekilde düşük olduğu görüldü (sırasıyla %2,37 ve %4,86) ($p<0,01$) (Tablo 3.2).

3.1 Bakteriyel Üreme

A. baumannii (ATCC 19606) standart suş bakterisi rehidrasyonunun ardından koyun kanlı agarda 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmış (Fotoğraf 3.1), 24 saatin ardından üreyen kolonilerden alınan örneklerde gram boyaması yapılarak bakteriler mikroskop altında incelenmiş, katalaz ve oksidaz testleri yapılmıştır. Bakterinin gram negatif, katalaz pozitif, oksidaz negatif ve kokobasil şeklinde olduğu görülmüştür (Fotoğraf 3.2).



Fotoğraf 3.1. 24 saatlik enkübasyonun ardından *A. baumannii*’nin besiyerindeki görüntüsü, a) koyun kanlı agar, b) EMB Agar, c) EMB Agarda tek koloni pasajından 24 saat sonra

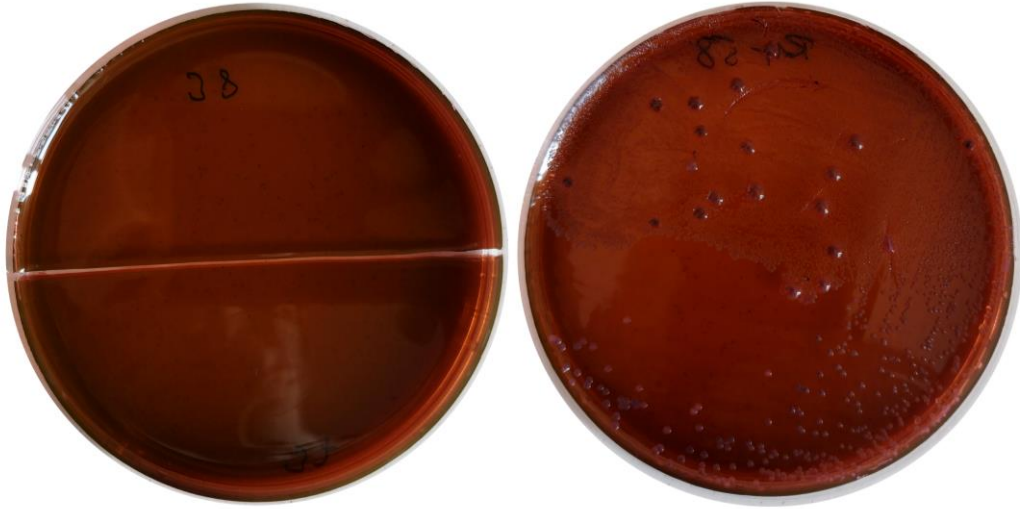


Fotoğraf 3.2. Gram boyanmış ATCC 19606 *Acinetobacter baumannii*'nin ışık mikroskobu altındaki görüntüsü

Tablo 3.3. BALS örneklerinden yapılan ekim sonucu üreyen koloni sayısı

Grup	Sham		<i>A. baumannii</i>	
	Koloni Sayısı	İnsidans (n/%)	Koloni Sayısı	İnsidans (n/%)
3. saat	0	0 / 0	148,80 ± 206,56	2 / 40
24. saat	0	0 / 0	0,80 ± 0,84	3 / 60
48. saat	0	0 / 0	0,20 ± 0,45	1 / 20

Sham grubundaki sıçanlardan alınan BALS'den yapılan ekimlerde üreme saptanmamıştır. *A. baumannii* grubunda ise 3. saatte 148,80 ± 206,56, 24. saatte 0,80 ± 0,84 ve 48. saatte 0,20 ± 0,45 adet *A. baumannii* kolonisi ürettiği saptanmıştır (Tablo 3.3). Sıçanların akciğerlerinden alınan kesitin doğrudan EMB besi yerine ekilmesi üzerine Sham grubunda *A. baumannii* kolonisi görülmezken *A. baumannii* grubunda tüm örneklerde 100.000'den fazla koloni saptanmıştır (Fotoğraf 3.3).



Fotoğraf 3.3. Akciğer kesitlerinden alınan örneklerin ekimi sonrası üreme, sol) Sham grubu, sağ) *A. baumannii* grubu

3.2 Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik bulgular hem Sham ve *A. baumannii* grupları arasında hem de grup içindeki farklı saatler arasında karşılaştırılmıştır. Gruplar arası karşılaştırma Tablo 3.4'te, grup içindeki saatler arasındaki karşılaştırma ise Tablo 3.5 ve 3.6'da verilmiştir. SH-3 ile AB-3 karşılaştırması Fotoğraf 3.4 ve 3.5'te, SH-24 ile AB-24 karşılaştırması Fotoğraf 3.6 ve 3.7'de, SH-48 ile AB-48 karşılaştırması Fotoğraf 3.8 ve 3.9'da, AB-3 ile AB-48 karşılaştırması Fotoğraf 3.10'da ve AB-24 ile AB-48 karşılaştırması Fotoğraf 3.11'de verilmiştir.

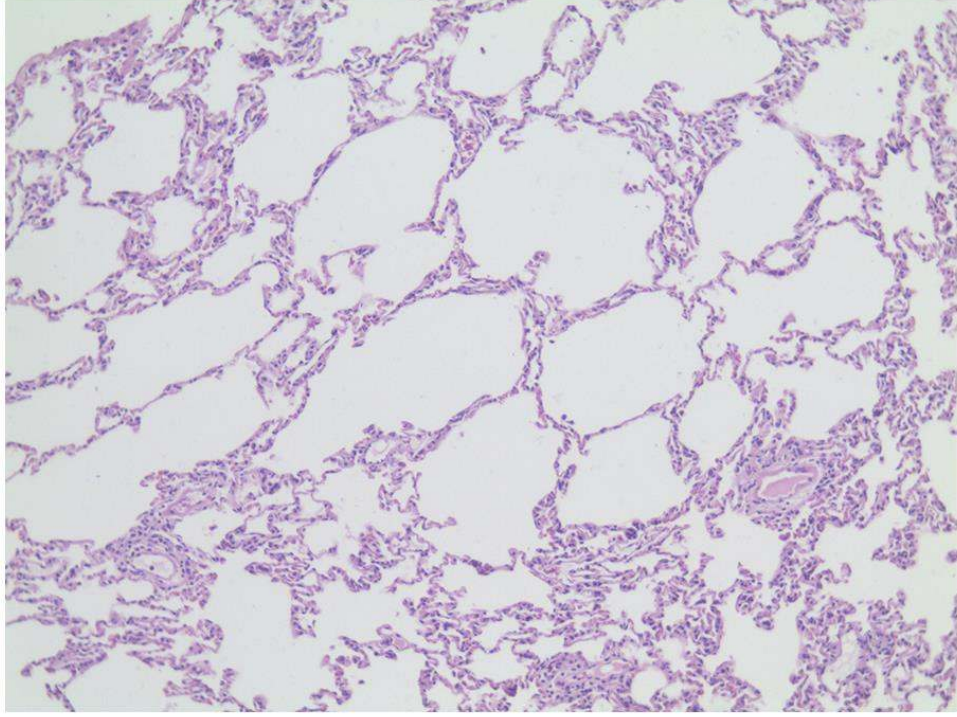
Bronş çevresi lenfosit skorunun Sham grubunda 3. ve 24. saatlerde aynı seviyede olduğu (sırasıyla $0,67 \pm 0,67$ ve $0,67 \pm 0,33$) 48. saatte ise 0,00'a indiği görülmüş, ancak istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 3.4). *A. baumannii* grubunda ise 3. saatten 24. saate %3,00, 24. saatten 48. saate de %9,09 artarak 3,00 seviyesine ulaştığı görülmüş ancak istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). *A. baumannii* grubundaki bronş çevresi lenfosit skoru her saatte Sham grubuna göre yüksek bulunmuş, 24. ve 48 saatlerde istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Damar çevresi lenfosit skorunun Sham grubunda 3. saatten 24. saate %50,38 oranında düştüğü, 48. saatte de %49,63 oranında düşerek $0,67 \pm 0,33$ seviyesine indiği görülmüş ancak saatler arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). *A. baumannii* grubunda ise Sham grubunun aksine damar çevresi lenfosit

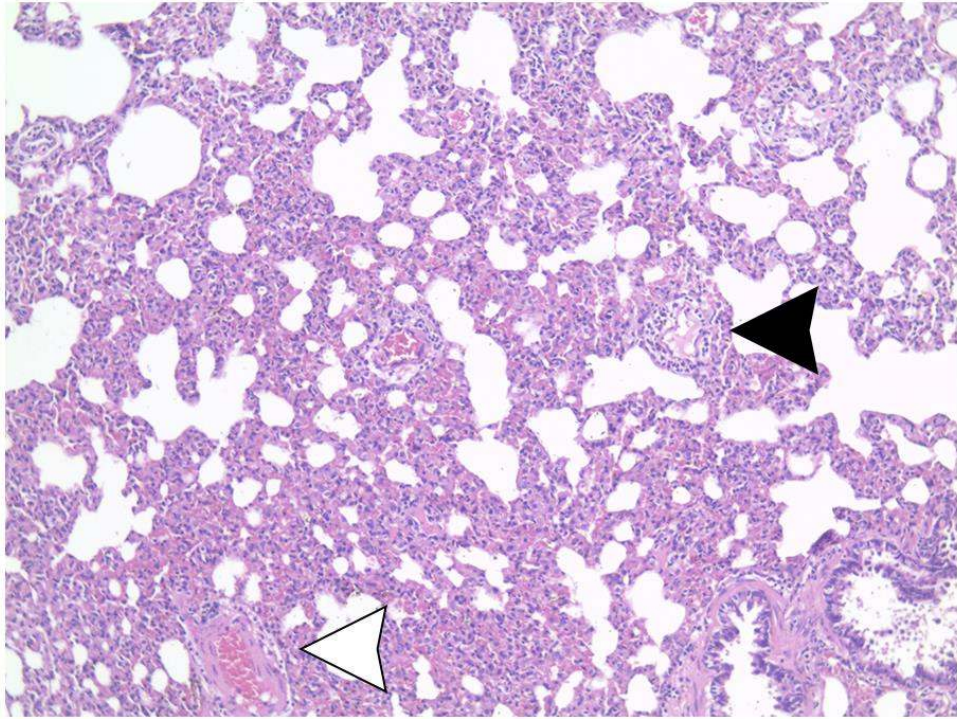
skoru 3. saatten 24. saate %11,33 düşmüş, ardından 48. saatte %33,33 artarak $2,00 \pm 0,58$ seviyesine ulaşmıştır, ancak saatler arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Damar çevresi lenfosit skorunda Sham ve *A. baumannii* grupları arasında da istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.

Sham grubunda polimorfonükleer lökosit (PMNL) infiltrasyonu görülmemiş, 3., 24. ve 48. saatlerde PMNL infiltrasyonu skoru 0,00 olarak bulunmuştur. *A. baumannii* grubunda ise PMNL infiltrasyonu skoru 3. saatten 24. saate %64,67 artmış, 48. saatte de %36,36 artarak $3,75 \pm 0,25$ seviyesine kadar yükselmiş, 3. ve 48. saatler arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$) (Fotoğraf 3.10). Sham ve *A. baumannii* grupları PMNL infiltrasyonu skoru açısından karşılaştırıldıklarında her saat grubunda *A. baumannii* grubundaki skorun Sham grubundan istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$) (Fotoğraf 3.4 ve 3.5).

a.

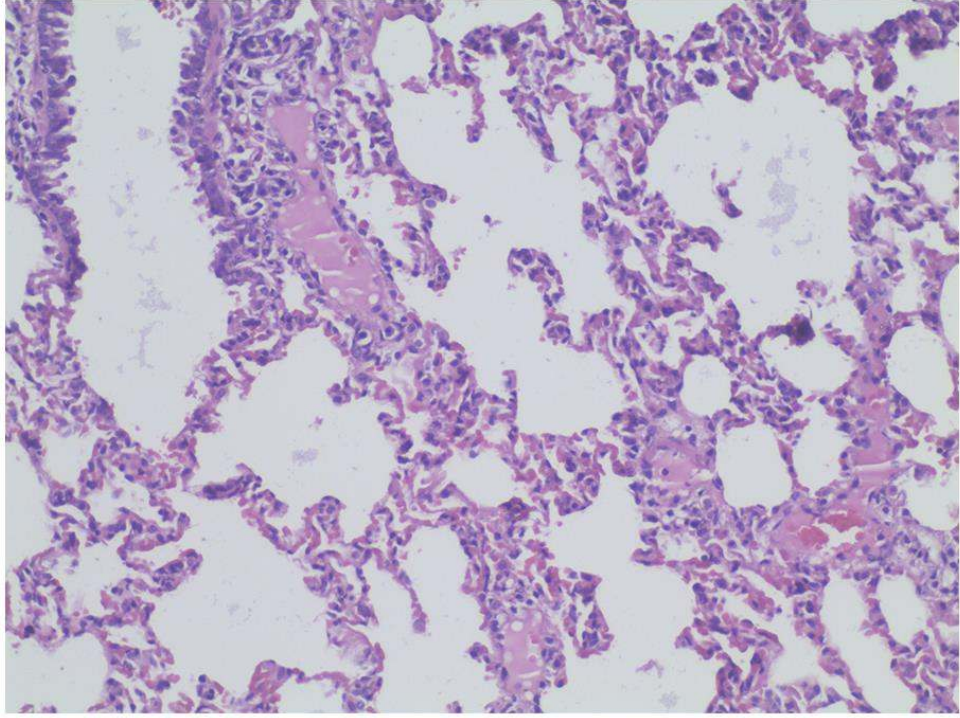


b.

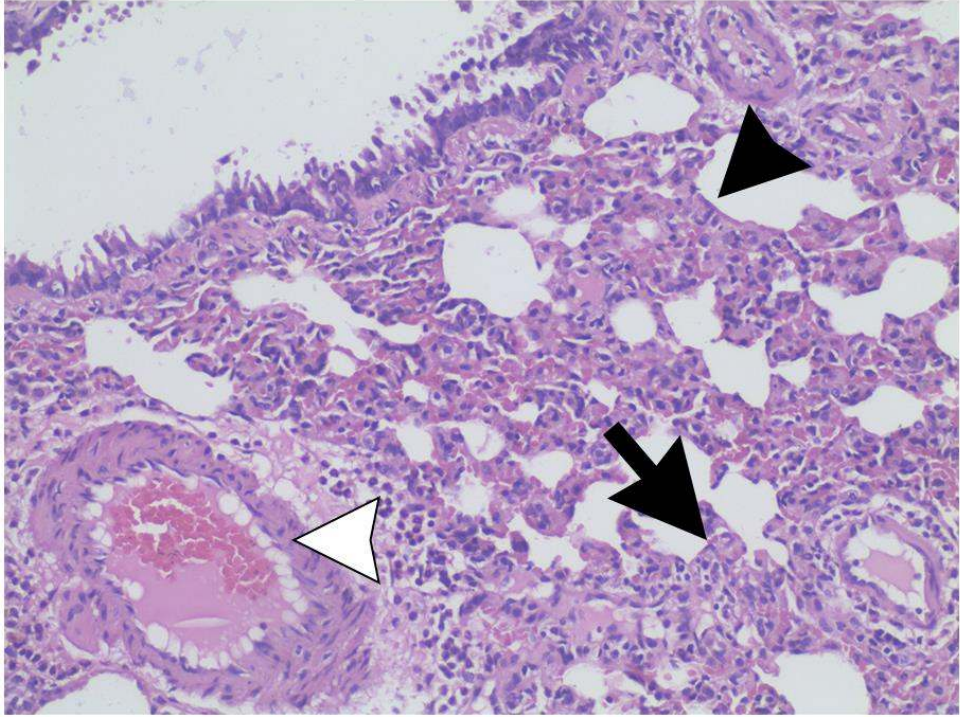


Fotoğraf 3.4. HE boyanan akciğer görüntüsü, SH-3 - AB-3, 10x büyütme, a) SH-3 grubu, ince alveol duvarı, belirgin konjesyon ve enflamasyon yok, b) AB-3 grubu, alveol duvarında bronkoalveolar proliferasyon (siyah ok), PMNL infiltrasyonu ve konjesyon görülmekte (beyaz ok)

a.



b.



Fotoğraf 3.5: HE boyanan akciğer görüntüsü, SH-3 - AB-3, 20x büyütme, a) SH-3 grubu, ince alveol duvarı, belirgin konjesyon ve enflamasyon yok, b) AB-3 grubu, alveol duvarında bronkoalveolar proliferasyon (siyah ok ucu), konjesyon (beyaz ok ucu), PMNL infiltrasyonu (siyah ok)

Tablo 3.4. Histopatolojik bulguların Sham ve *A. baumannii* grupları arasında karşılaştırılması

Parametre	Grup	Ortalama	p	Grup	Ortalama	p	Grup	Ortalama	p
Bronş çevresi lenfosit	SH-3	0,67 ± 0,67	0,068	SH-24	0,67 ± 0,33	0,026*	SH-48	0,00 ± 0,00	0,014*
	AB-3	2,67 ± 0,33		AB-24	2,75 ± 0,25		AB-48	3,00 ± 0,00	
Damar çevresi lenfosit	SH-3	2,00 ± 0,00	0,317	SH-24	1,33 ± 0,88	1	SH-48	0,67 ± 0,33	0,115
	AB-3	1,67 ± 0,33		AB-24	1,5 ± 0,87		AB-48	2,00 ± 0,58	
PMNL infiltrasyonu	SH-3	0,00 ± 0,00	0,034*	SH-24	0,00 ± 0,00	0,022*	SH-48	0,00 ± 0,00	0,022*
	AB-3	1,67 ± 0,33		AB-24	2,75 ± 0,25		AB-48	3,75 ± 0,25	
Apse formasyonu	SH-3	0,00 ± 0,00	1	SH-24	0,00 ± 0,00	0,386	SH-48	0,00 ± 0,00	0,066
	AB-3	0,00 ± 0,00		AB-24	0,25 ± 0,25		AB-48	1,50 ± 0,50	
Bronşiyal lümenlerde eksuda	SH-3	0,00 ± 0,00	0,317	SH-24	0,00 ± 0,00	0,18	SH-48	0,00 ± 0,00	0,18
	AB-3	0,67 ± 0,67		AB-24	0,50 ± 0,29		AB-48	0,50 ± 0,29	
Alveolde makrofaj kümelenmesi	SH-3	0,00 ± 0,00	1	SH-24	0,00 ± 0,00	0,18	SH-48	0,33 ± 0,33	0,026*
	AB-3	0,00 ± 0,00		AB-24	0,50 ± 0,29		AB-48	3,75 ± 0,25	
Fibrozis	SH-3	0,00 ± 0,00	1	SH-24	0,00 ± 0,00	1	SH-48	0,00 ± 0,00	0,386
	AB-3	0,00 ± 0,00		AB-24	0,00 ± 0,00		AB-48	0,25 ± 0,25	
Hemoraji	SH-3	0,67 ± 0,67	0,068	SH-24	0,67 ± 0,33	0,026*	SH-48	0,00 ± 0,00	0,026*
	AB-3	2,67 ± 0,33		AB-24	2,75 ± 0,25		AB-48	2,25 ± 0,48	
Konjesyon	SH-3	1,67 ± 0,33	0,034*	SH-24	2,00 ± 0,00	0,066	SH-48	1,33 ± 0,67	0,018*
	AB-3	3,00 ± 0,00		AB-24	2,75 ± 0,25		AB-48	4,00 ± 0,00	
Granülom	SH-3	0,00 ± 0,00	0,317	SH-24	0,00 ± 0,00	0,386	SH-48	0,00 ± 0,00	1
	AB-3	0,33 ± 0,33		AB-24	0,25 ± 0,25		AB-48	0,00 ± 0,00	
Bronkoalveolar proliferasyon	SH-3	0,00 ± 0,00	0,034*	SH-24	1,33 ± 0,33	0,364	SH-48	0,67 ± 0,33	0,026*
	AB-3	1,67 ± 0,33		AB-24	2,00 ± 0,71		AB-48	3,75 ± 0,25	
Alveolar duvar kalınlığı	SH-3	2,33 ± 0,58	0,56	SH-24	1,67 ± 0,58	0,13	SH-48	0,67 ± 0,58	0,000*
	AB-3	2,67 ± 0,58		AB-24	2,50 ± 1,00		AB-48	3,75 ± 0,50	

PMNL: polimorfonükleer lökosit. * gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark vardır (p<0,05).

Apse formasyonu skoru Sham grubunda her saatte 0,00 olarak bulunmuştur. *A. baumannii* grubunda 3. saatte 0,00 iken 48. saatte $1,50 \pm 0,50$ seviyesine yükseldiği görülmüş ancak istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Sham ve *A. baumannii* grupları karşılaştırıldığında da apse skoru açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

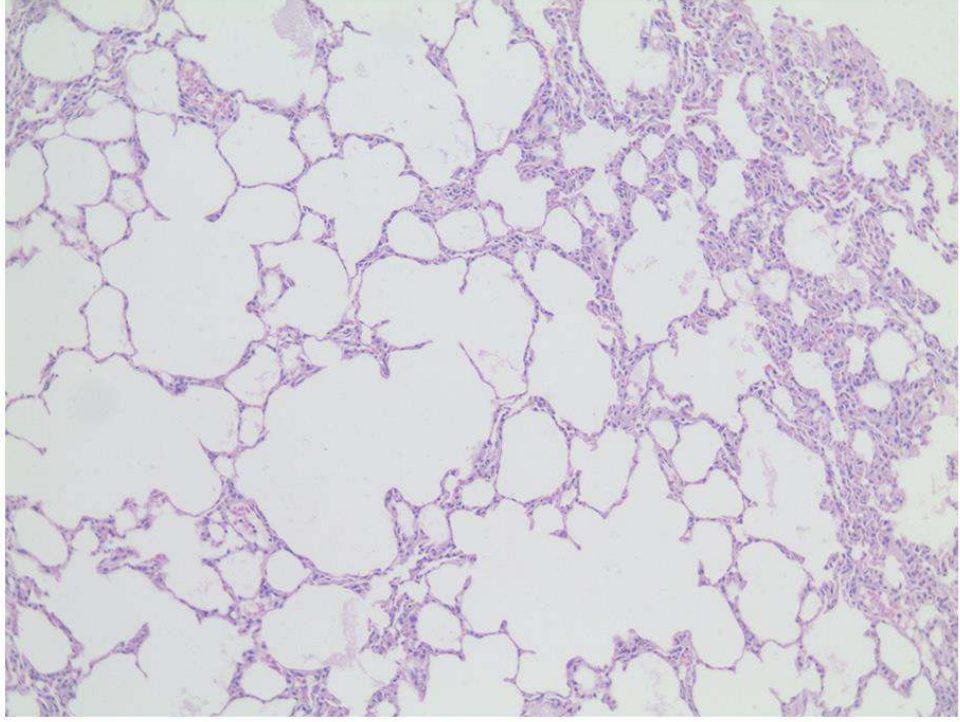
Bronşiyal lümenlerde eksuda varlığı skoru Sham grubunda her saatte 0,00 olarak bulunmuştur. *A. baumannii* grubunda ise benzer ve düşük seviyede olduğu görülmüş, grup içindeki saatler ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Alveolde makrofaj kümelenmesi skorunun Sham grubunda 3. ve 24. saatlerde 0,00, 48. saatte ise $0,33 \pm 0,33$ 'e yükseldiği görülmüş, ancak istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). *A. baumannii* grubunda ise 3. ve 24. saatlerde benzer ve düşük seviyede iken (sırasıyla $0,00 \pm 0,00$ ve $0,50 \pm 0,29$) 48. saatte %650 artarak maksimum skora yaklaşmış ve $3,75 \pm 0,25$ seviyesine çıkmıştır. 3. ve 48. saatler arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Fotoğraf 3.8 ve 3.9). Sham ve *A. baumannii* grupları karşılaştırıldığında da 48. saatte *A. baumannii* grubundaki alveolde makrofaj kümelenmesi skorunun Sham grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$) (Tablo 3.7).

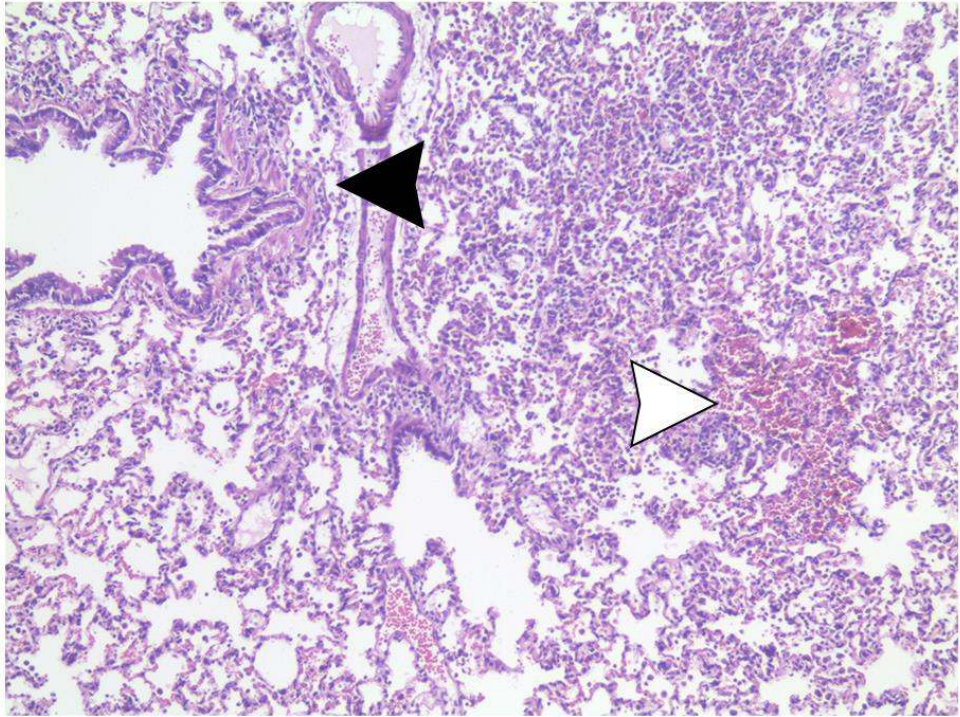
Hem Sham hem de *A. baumannii* gruplarında fibrozis görülmemiş, sadece AB-48 grubunda tek bir örnekte rastlanmış ve grubun skoru $0,25 \pm 0,25$ olarak bulunmuştur. Grup içindeki saatlerde ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Hemoraji skorunun Sham grubunda 3. ve 24. saatlerde aynı ve düşük seviyede olduğu (sırasıyla $0,67 \pm 0,67$ ve $0,67 \pm 0,33$), 48. saatte 0,00'a düştüğü görülmüş, ancak istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır. *A. baumannii* grubunda ise hemoraji skorunun 3. saat grubu hariç Sham grubundan istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüş ($p<0,05$) ve tüm saat gruplarında benzer düzeyde olduğu görülmüştür (Fotoğraf 3.6 ve 3.7).

a.

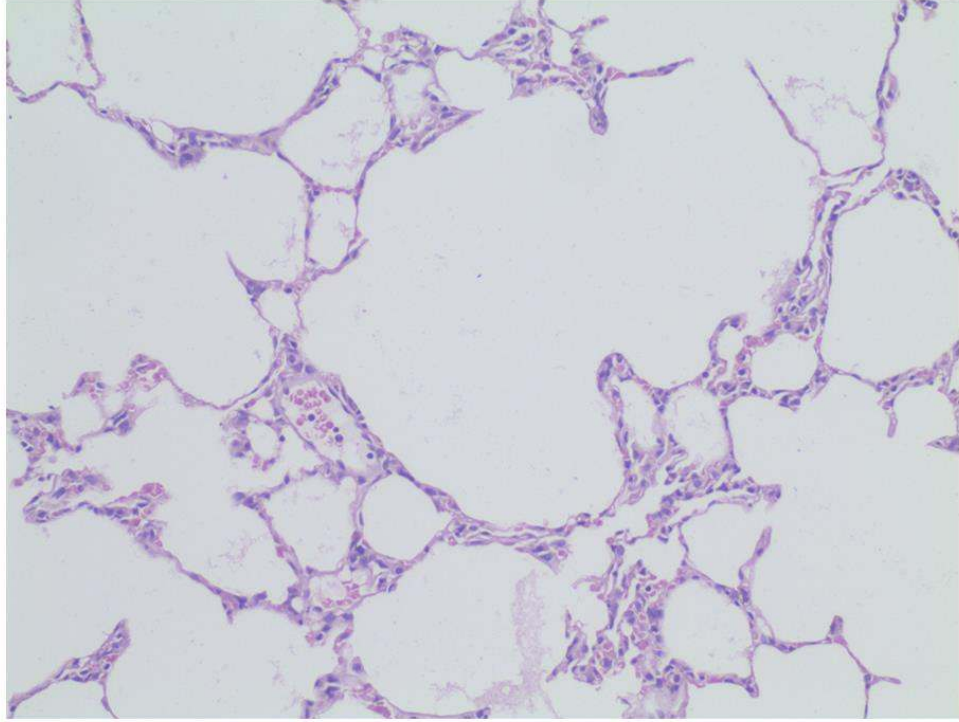


b.

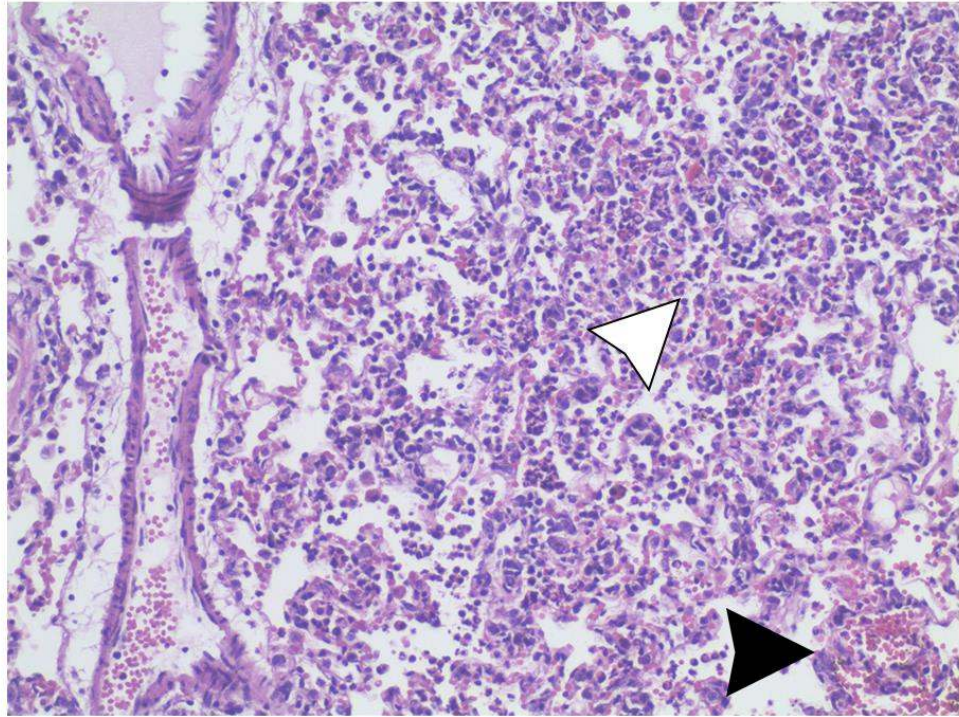


Fotoğraf 3.6: HE boyanan akciğer görüntüsü, SH-24 - AB-24 10x büyütme, a) SH-24 grubu, bronş çevresi lenfosit, PMNL infiltrasyonu ve hemoraji gözlenmemekte, b) AB-24 grubu, bronş çevresinde lenfosit infiltrasyonu (siyah ok) ve hemoraji (beyaz ok) izlenmekte

a.



b.



Fotoğraf 3.7. HE boyanan akciğer görüntüsü, SH-24 - AB-24 20x büyütme.
a) SH-24 grubu, bronş çevresi lenfosit, PMNL infiltrasyonu ve hemoraji mevcut değil, b) AB-24 grubu, alveollerde PMNL infiltrasyonu (beyaz ok) ve hemoraji yaygın (siyah ok)

Tablo 3.5. Histopatolojik bulguların Sham grubunun saatleri arasında karşılaştırılması

Parametre	Grup	Ortalama	p	Parametre	Grup	Ortalama	p
Bronş çevresi lenfosit	SH-3	0,67 ± 0,67	0,345	Fibrozis	SH-3	0,00 ± 0,00	1,000
	SH-24	0,67 ± 0,33			SH-24	0,00 ± 0,00	
	SH-48	0,00 ± 0,00			SH-48	0,00 ± 0,00	
Damar çevresi lenfosit	SH-3	2,00 ± 0,00	0,202	Hemoraji	SH-3	0,67 ± 0,67	0,345
	SH-24	1,33 ± 0,88			SH-24	0,67 ± 0,33	
	SH-48	0,67 ± 0,33			SH-48	0,00 ± 0,00	
PMNL infiltrasyonu	SH-3	0,00 ± 0,00	1,000	Konjesyon	SH-3	1,67 ± 0,33	0,558
	SH-24	0,00 ± 0,00			SH-24	2,00 ± 0,00	
	SH-48	0,00 ± 0,00			SH-48	1,33 ± 0,67	
Apse formasyonu	SH-3	0,00 ± 0,00	1,000	Granülom	SH-3	0,00 ± 0,00	1,000
	SH-24	0,00 ± 0,00			SH-24	0,00 ± 0,00	
	SH-48	0,00 ± 0,00			SH-48	0,00 ± 0,00	
Bronşiyal lümenlerde eksuda varlığı	SH-3	0,00 ± 0,00	1,000	Bronkoalveolar proliferasyon	SH-3	0,00 ± 0,00	0,060
	SH-24	0,00 ± 0,00			SH-24	1,33 ± 0,33	
	SH-48	0,00 ± 0,00			SH-48	0,67 ± 0,33	
Alveolde makrofaj kümelenmesi	SH-3	0,00 ± 0,00	0,368	Alveolar duvar kalınlığı	SH-3	2,33 ± 0,58	0,057
	SH-24	0,00 ± 0,00			SH-24	1,67 ± 0,58	
	SH-48	0,33 ± 0,33			SH-48	0,67 ± 0,58	

Tablo 3.6. Histopatolojik bulguların *A. baumannii* grubunun saatleri arasında karşılaştırılması

Parametre	Grup	Ortalama	p	Parametre	Grup	Ortalama	p
Bronş çevresi lenfosit	AB-3	2,67 ± 0,33	0,511	Fibrozis	AB-3	0,00 ± 0,00	0,417
	AB-24	2,75 ± 0,25			AB-24	0,00 ± 0,00	
	AB-48	3,00 ± 0,00			AB-48	0,25 ± 0,25	
Damar çevresi lenfosit	AB-3	1,67 ± 0,33	0,839	Hemoraji	AB-3	2,67 ± 0,33	0,510
	AB-24	1,5 ± 0,87			AB-24	2,75 ± 0,25	
	AB-48	2,00 ± 0,58			AB-48	2,25 ± 0,48	
PMNL infiltrasyonu	AB-3	1,67 ± 0,33	0,019*	Konjesyon	AB-3	3,00 ± 0,00	0,011*
	AB-24	2,75 ± 0,25			AB-24	2,75 ± 0,25	
	AB-48	3,75 ± 0,25			AB-48	4,00 ± 0,00	
Apse formasyonu	AB-3	0,00 ± 0,00	0,077	Granülom	AB-3	0,33 ± 0,33	0,511
	AB-24	0,25 ± 0,25			AB-24	0,25 ± 0,25	
	AB-48	1,50 ± 0,50			AB-48	0,00 ± 0,00	
Bronşiyal lümenlerde eksuda varlığı	AB-3	0,67 ± 0,67	1,00	Bronkoalveolar proliferasyon	AB-3	1,67 ± 0,33	0,035*
	AB-24	0,50 ± 0,29			AB-24	2,00 ± 0,71	
	AB-48	0,50 ± 0,29			AB-48	3,75 ± 0,25	
Alveolde makrofaj kümelenmesi	AB-3	0,00 ± 0,00	0,015*	Alveolar duvar kalınlığı	AB-3	2,67 ± 0,58	0,057
	AB-24	0,50 ± 0,29			AB-24	2,50 ± 1,00	
	AB-48	3,75 ± 0,25			AB-48	3,75 ± 0,50	

* Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark vardır (p<0,05).

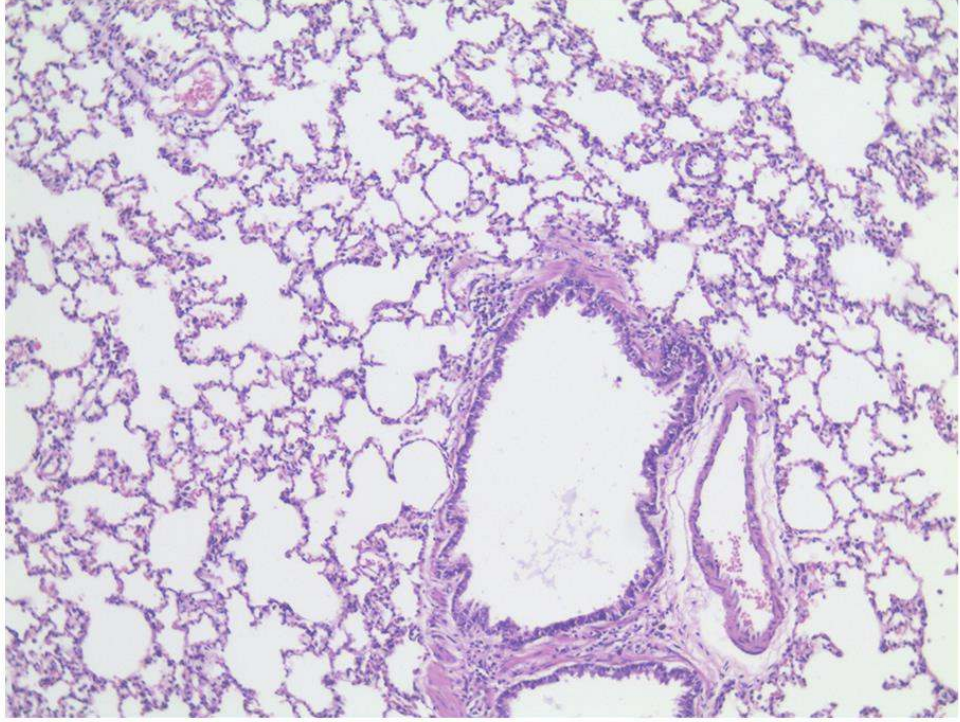
Konjesyon skorunun Sham grubunda 3. saatten 24. saate %19,76 arttığı ve 48. saatte %50,38 düşerek 3. saatteki seviyenin de altına indiği görülmüş ancak istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). *A. baumannii* grubunda ise Sham grubunun aksine 3. saatten 24. saate %9,09 oranında düştüğü, ardından 48. saatte %45,45 artarak maksimum skor olan $4,00 \pm 0,00$ 'a ulaştığı görülmüştür. *A. baumannii* grubunda 24. ve 48. saatler arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$) (Fotoğraf 3.11) ve *A. baumannii* grubunda 3. ve 48 saatlerdeki konjesyon skorunun Sham grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$) (Tablo 3.7, Fotoğraf 3.4, 3.5 ve 3.8).

Granülom skorunun hem Sham hem de *A. baumannii* gruplarının tüm saatlerinde benzer ve düşük düzeyde olduğu görülmüş, gruplar arasında ve grup içindeki saatler arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

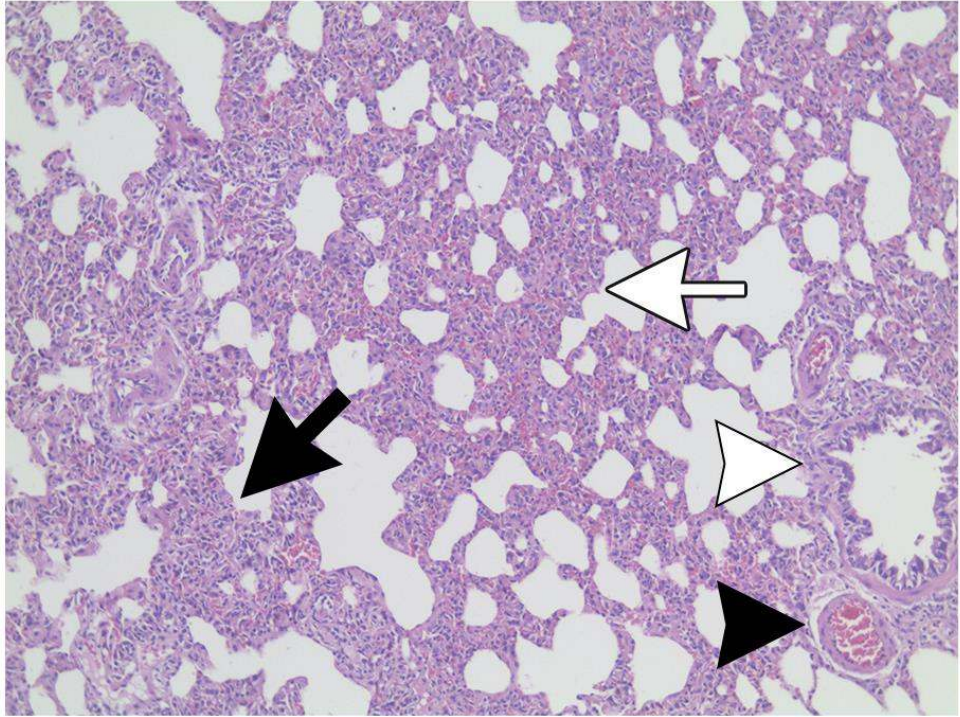
Sham grubunda bronkoalveolar proliferasyon skorunun tüm saatlerde benzer ve düşük düzeyde olduğu görülmüştür. *A. baumannii* grubunda ise skorun 3. saatten 24. saate %19,76 arttığı, ardından %87,5 daha artarak maksimum skora yaklaştığı ($3,75 \pm 0,25$) görülmüştür. *A. baumannii* grubu içerisinde 3. ve 48 saatler arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$) (Fotoğraf 3.10). *A. baumannii* ve Sham grupları karşılaştırıldığında ise bronkoalveolar proliferasyon skorunun 3. ve 48. saatlerde *A. baumannii* grubunda Sham grubuna oranla istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$) (Fotoğraf 3.4, 3.5, 3.8 ve 3.9).

Alveolar duvar kalınlığı skorunun Sham grubunda 3. saatten 24. saate %40,36 düştüğü, ardından 48. saatte %49,25 düşerek 0,67 seviyesine indiği görülmüş ancak grup içindeki saatler arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). *A. baumannii* grubunda alveolar duvar kalınlığı skorunun 3. ve 24. saatlerde benzer seviyede olduğu (sırasıyla $2,67 \pm 0,58$ ve $2,50 \pm 1,00$), 48. saatte ise %50 artarak maksimum seviyeye yaklaştığı görülmüş, ancak saatler arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). *A. baumannii* ve Sham grupları alveolar duvar kalınlığı açısından karşılaştırıldığında 48. saatte *A. baumannii* grubundaki skorun Sham grubundan istatistiksel anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,01$) (Fotoğraf 3.8 ve 3.9).

a.

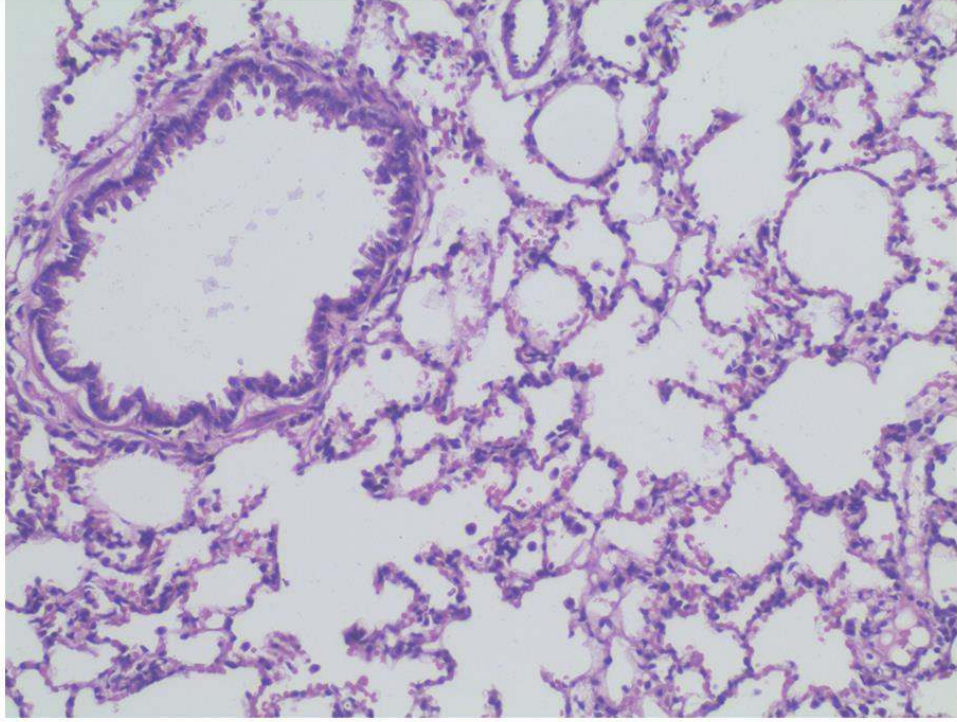


b.

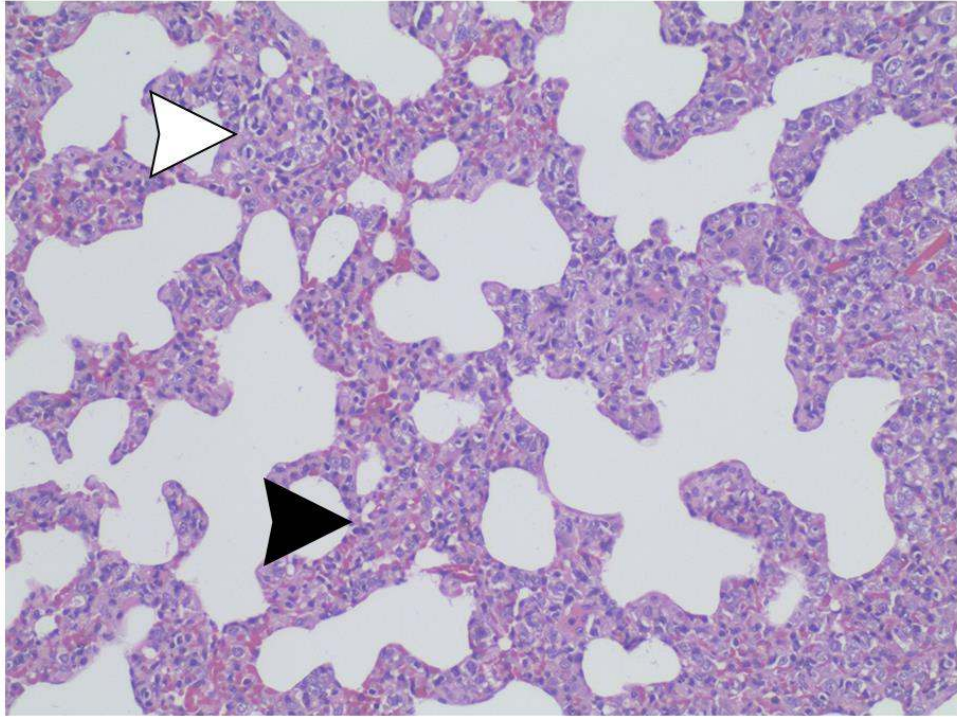


Fotoğraf 3.8. HE boyanan akciğer görüntüsü, SH-48 – AB-48, 10x büyütme, a) SH-48 grubu, ince alveol duvarları bulunmakta, belirgin makrofaj kümelenmesi veya enflamasyon yok, b) AB-48 grubu, belirgin bronkoalveolar proliferasyon (beyaz ok), bronş çevresi lenfosit (beyaz ok ucu), yoğun PMNL (siyah ok), konjesyon (siyah ok ucu)

a.



b.



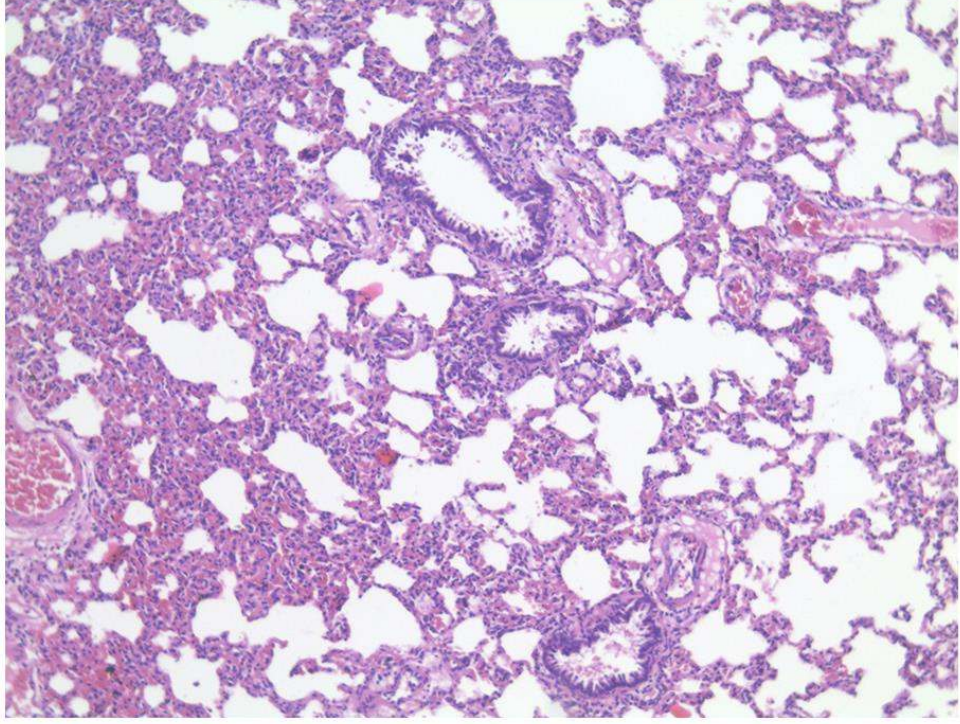
Fotoğraf 3.9. HE boyanan akciğer görüntüsü, SH-48 – AB-48, 20x büyütme, a) SH-48 grubu, ince alveol duvarları bulunmakta, belirgin makrofaj kümelenmesi ve enflamasyon yok, b) AB-48 grubu, belirgin bronkoalveolar proliferasyon (siyah ok), yoğun PMNL (beyaz ok) bulunmakta

Tablo 3.7. Histopatolojik bulguların *A. baumannii* grubu içindeki saatler arasındaki karşılaştırması

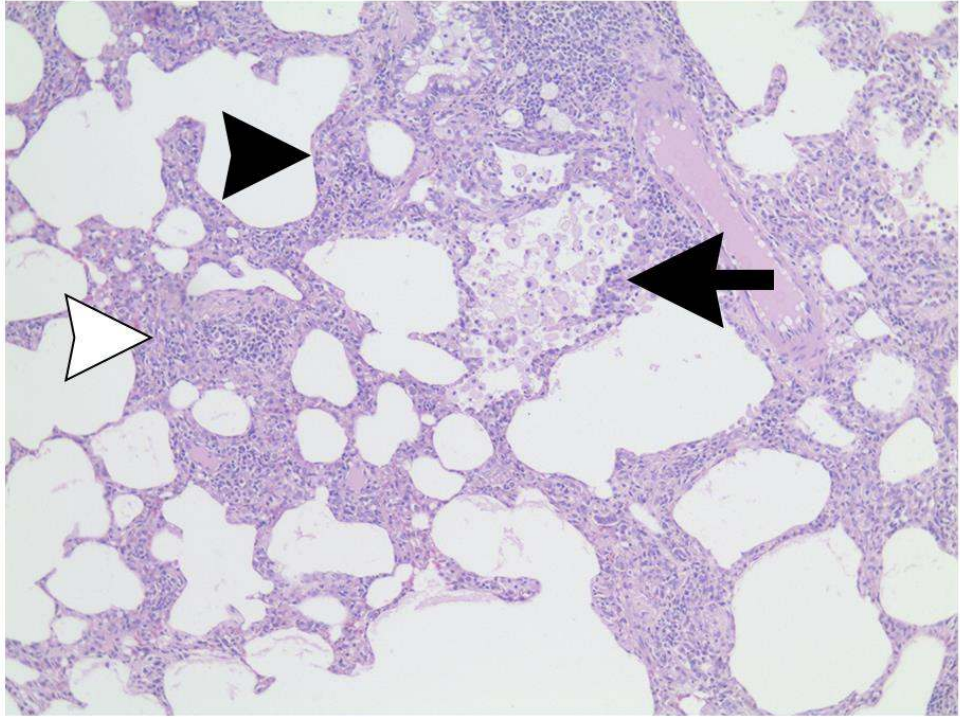
Parametre	Grup	Ortalama	p	Parametre	Grup	Ortalama	p
PMNL İnfiltrasyonu	AB-3	1,67 ± 0,33	0,525	Alveolde makrofaj kümelenmesi	AB-3	0,00 ± 0,00	1,000
	AB-24	2,75 ± 0,25			AB-24	0,50 ± 0,29	
	AB-3	1,67 ± 0,33	0,015*		AB-3	0,00 ± 0,00	0,019*
	AB-48	3,75 ± 0,25			AB-48	3,75 ± 0,25	
	AB-24	2,75 ± 0,25	0,358		AB-24	0,50 ± 0,29	0,094
	AB-48	3,75 ± 0,25			AB-48	3,75 ± 0,25	
Konjesyon	AB-3	3,00 ± 0,00	1,000	Bronkoalveolar Proliferasyon	AB-3	1,67 ± 0,33	1,000
	AB-24	2,75 ± 0,25			AB-24	2,00 ± 0,71	
	AB-3	3,00 ± 0,00	0,081		AB-3	1,67 ± 0,33	0,049*
	AB-48	4,00 ± 0,00			AB-48	3,75 ± 0,25	
	AB-24	2,75 ± 0,25	0,015*		AB-24	2,00 ± 0,71	0,145
	AB-48	4,00 ± 0,00			AB-48	3,75 ± 0,25	

* gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark var (p<0,05).

a.

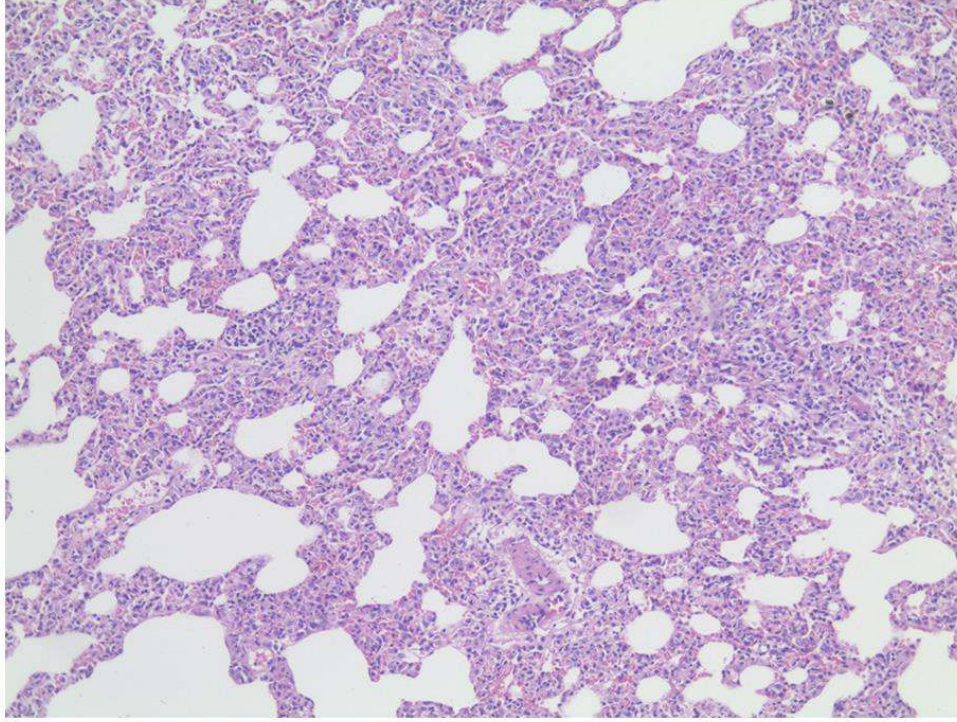


b.

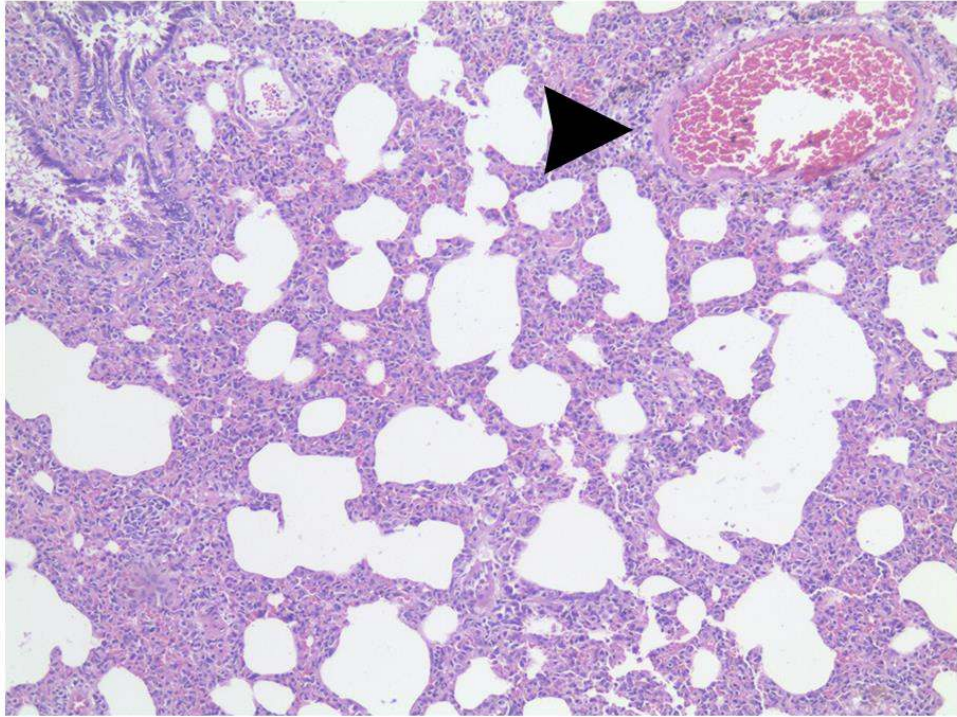


Fotoğraf 3.10. HE boyanan akciğer görüntüsü, AB-3 – AB-48, 10x büyütme
a) AB-3 grubu, b) AB-48 grubu, alveol lümeninde makrofajlarda belirgin artış (siyah ok), bronkoalveolar proliferasyon (siyah ok ucu), PMNL infiltrasyonunda artış (beyaz ok ucu)

a.



b.



Fotoğraf 3.11. HE boyanan akciğer görüntüsü, AB-24 – AB-48 10x büyütme, a) AB-24 grubu, bronkoalveolar proliferasyon mevcut, b) AB-48 grubu, bronkoalveolar proliferasyon mevcut ve konjesyonda (ok) belirgin artış görülmekte

3.3 Biyokimyasal Bulgular

3.3.1 BALS SP-A Konsantrasyonu

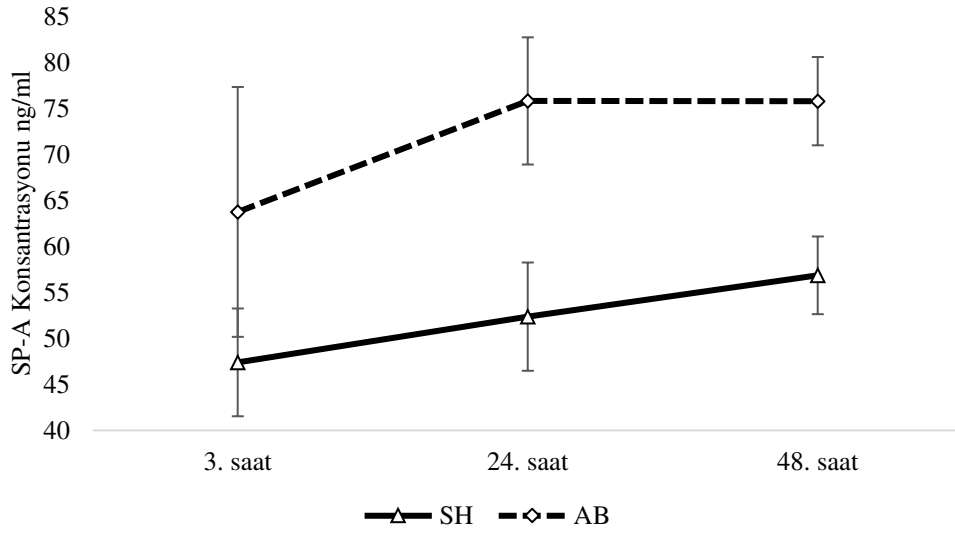
A. baumannii ana grubunda bulunan sıçanların BALS SP-A konsantrasyonlarının tüm saat gruplarında (3., 24. ve 48.) Sham gruplarına göre istatistiksel anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 3.8). *A. baumannii* gruplarındaki SP-A konsantrasyonunun 3. saat grubunda %34,51 ($p<0,05$), 24. saat grubunda %44,82 ($p<0,001$) ve 48. saat grubunda %33,30 ($p<0,001$) oranında Sham grubundan yüksek olduğu görülmüştür.

A. baumannii grubunda 24. saatteki SP-A konsantrasyonu 3. saattekine göre %18,95 artış göstermiş, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 3.1). Aynı grupta, SP-A konsantrasyonu 24. saatten sonra değişim göstermemiş, 48. saatteki konsantrasyon ile eşit olduğu görülmüştür ($p>0,05$). Sham grubunda ise SP-A konsantrasyonu 3. saatten 24. saate %10,49, 24. saatten 48. saate %8,59 artış göstermiş ancak bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 3.8. BALS SP-A konsantrasyonundaki değişim

Grup	Sham	<i>A. baumannii</i>	p değeri
3. saat	47,40 ± 5,86	63,76 ± 13,59*	0,0385
24. saat	52,37 ± 5,89	75,84 ± 6,92*	0,0004
48. saat	56,87 ± 4,23	75,81 ± 4,80*	0,0004

Veriler ortalama (ng/ml) ± standart sapma olarak verilmiştir. * sham grubuna göre istatistiksel anlamlı fark vardır.



Şekil 3.1. Saatlere göre BALS SP-A konsantrasyonundaki değişim

3.3.2 BALS SP-B Konsantrasyonu

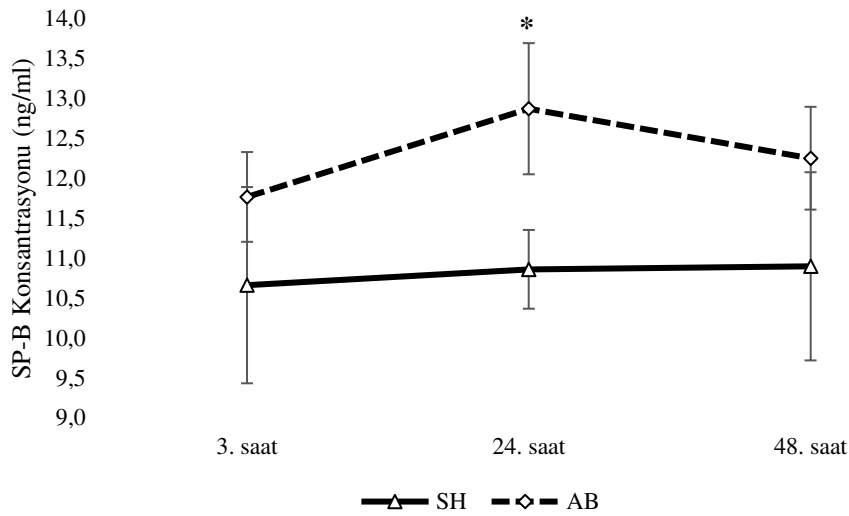
A. baumannii grubundaki sıçanlarda BALS SP-B konsantrasyonunun 3. ve 48. saatlerde (sırasıyla %10,41 ve %12,39) Sham grubuna göre daha yüksek olduğu görülmeye rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 3.9). 24. saatte ise *A. baumannii* grubundaki SP-B konsantrasyonunun Sham grubuna göre %18,51 oranında yüksek olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0,01$).

Sham grubunda SP-B konsantrasyonunun tüm saatlerde benzer seviyede seyrettiği görülmüş ve gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 3.2). *A. baumannii* grubunda SP-B konsantrasyonunun 24. saatte 3. saate göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde %9,35 artış gösterdiği ve 48. saatte hafif bir düşüş gösterdiği saptanmıştır ($p<0,05$).

Tablo 3.9. BALS SP-B konsantrasyonundaki değişim

Grup	Sham	<i>A. baumannii</i>	p değeri
3. saat	10,66 ± 1,23	11,77 ± 0,56	0,1049
24. saat	10,86 ± 0,49	12,87 ± 0,82*	0,0016
48. saat	10,90 ± 1,18	12,25 ± 0,64	0,0626

Veriler ortalama (ng/ml) ± standart sapma olarak verilmiştir. * sham grubuna göre istatistiksel anlamlı fark vardır.



Şekil 3.2. Saatlere göre BALS SP-B konsantrasyonundaki değişim, * 3. saat grubuyla arasında istatistiksel anlamlı fark vardır (p<0,05)

3.3.3 BALS SP-C Konsantrasyonu

A. baumannii grubunda BALS SP-C konsantrasyonunun, Sham grubuna göre 3. saatte %8,75, 24. saatte %9,65 oranında istatistiksel anlamlı şekilde düşük olduğu görülmüştür (p<0,05) (Tablo 3.10). 48. saatte *A. baumannii* grubundaki SP-C konsantrasyonunun Sham grubuna göre %8,25 daha düşük oluğu görülmüş ancak istatistiksel anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0,05).

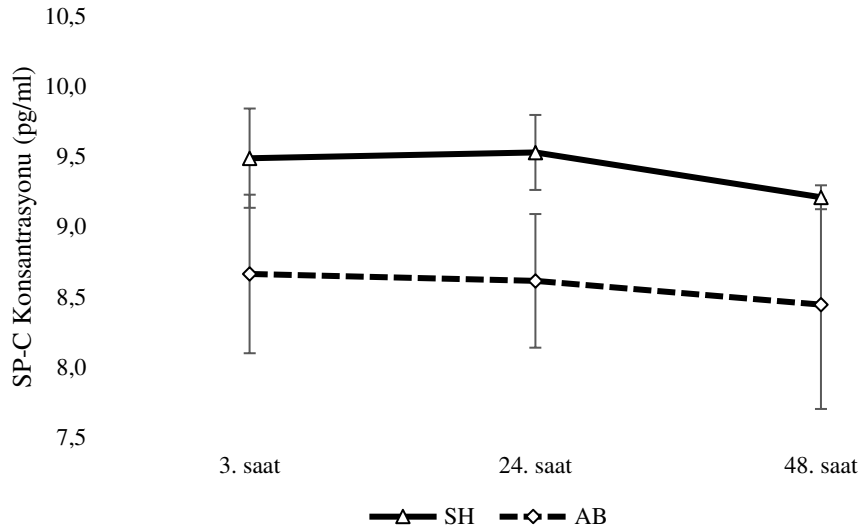
Sham grubunda SP-C konsantrasyonunun 24. saatte 3. saate göre %0,40 oranında arttığı, ardından 48. saatte %3,47 oranında düştüğü görülmüş ancak artış ve düşüşte istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır (p>0,05) (Şekil 3.3). *A.*

baumanni grubunda SP-C konsantrasyonu 3. saatten 48. saate doğru bir düşüş eğilimi göstermiştir. 24. saatte 3. saate göre %0,58 düşmüş, ardından 48. saatte %1,89'luk bir düşüş daha göstermiştir ancak konsantrasyondaki bu düşüşte istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 3.10. BALS SP-C konsantrasyonundaki değişim

Grup	Sham	<i>A. baumannii</i>	p değeri
3.saat	9,49 ± 0,35	8,66 ± 0,56*	0,0244
24.saat	9,53 ± 0,27	8,61 ± 0,48*	0,0056
48.saat	9,21 ± 0,09	8,45 ± 0,74	0,0832

Veriler ortalama (pg/ml) ± standart sapma olarak verilmiştir. * sham grubuyla arasında istatistiksel anlamlı fark vardır.



Şekil 3.3. Saatlere göre BALS SP-C konsantrasyonundaki değişim

3.3.4 BALS SP-D Konsantrasyonu

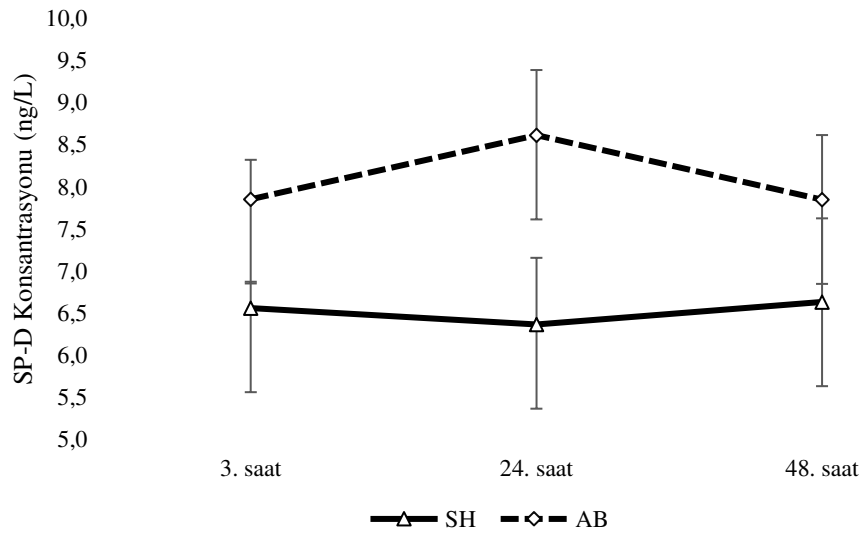
A. baumannii grubunda BALS SP-D konsantrasyonunun Sham grubuna göre 3. saatte %19,66, 24. saatte %35,16 oranında istatistiksel anlamlı şekilde yüksek olduğu ($p<0,01$), 48. saatte ise %18,40 oranında yüksek olduğu ancak istatistiksel anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($p>0,05$) (Tablo 3.11).

Sham grubunda BALS SP-D konsantrasyonunun 24. saatte 3. saate göre %2,98 düştüğü, ardından 48. saatte %4,08 oranında arttığı ve 3. saatteki seviyesine döndüğü görülmüş ancak hem düşüş hem de artışta istatistiksel anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). *A. baumannii* grubunda SP-D konsantrasyonunun 24. saatte 3. saate göre %9,68 oranında arttığı, ardından 48. saatte %8,83 oranında düşerek 3. saatteki seviyesine geri döndüğü görülmüş ancak, hem artış hem de düşüşte istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 3.4).

Tablo 3.11. BALS SP-D konsantrasyonu

Grup	Sham	<i>A. baumannii</i>	p değeri
3.saat	6,56 ± 0,31	7,85 ± 0,47*	0,0009
24.saat	6,37 ± 0,79	8,61 ± 0,77*	0,0019
48.saat	6,63 ± 0,99	7,85 ± 0,77	0,0762

Veriler ortalama (ng/ml) ± standart sapma olarak verilmiştir. * sham grubuyla arasında istatistiksel anlamlı fark vardır.



Şekil 3.4. Saatlere göre BALS SP-D konsantrasyonundaki değişim

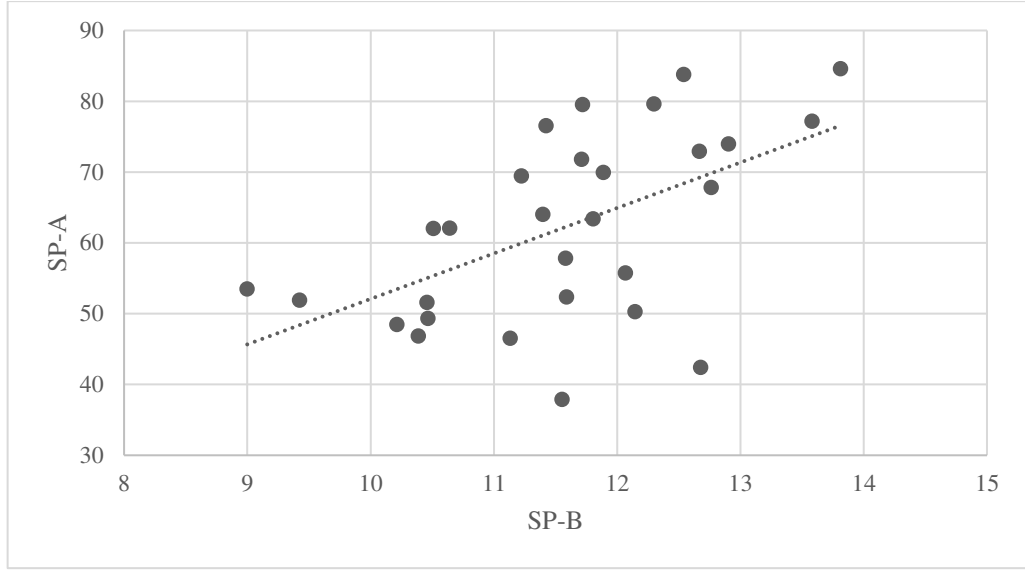
3.3.5 Sürfaktan Proteinleri Arasındaki Korelasyon

BALS sürfaktan proteini A ile SP-B arasında orta, pozitif (Şekil 3.5), SP-C arasında zayıf, negatif (Şekil 3.6), SP-D arasında ise güçlü pozitif (Şekil 3.7) yönlü korelasyon bulunmaktadır. Sürfaktan proteini B ile SP-C arasında orta negatif (şekil 3.8), SP-D arasında ise orta pozitif yönlü (Şekil 3.9) korelasyon bulunmaktadır. Sürfaktan proteini C ile SP-D arasında zayıf, negatif yönlü (Şekil 3.10) korelasyon bulunmaktadır (Tablo 3.12).

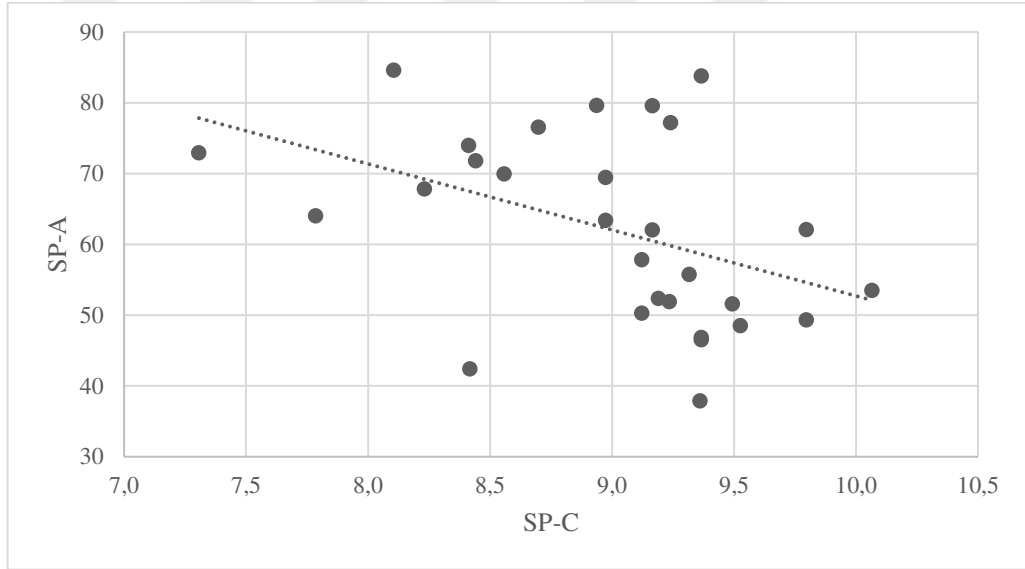
Tablo 3.12. Sürfaktan proteinleri arasındaki korelasyon değerleri

Protein	Değer	SP-A	SP-B	SP-C	SP-D
SP-A	r	1	0,551	-0,438	0,713
	p		0,00	0,02	0,000
SP-B	r	0,551	1	-0,608	0,511
	p	0,00*		0,00*	0,005*
SP-C	r	-0,438	-0,608	1	-0,433
	p	0,02*	0,00*		0,019*
SP-D	r	0,713	0,511	-0,433	1
	p	0,000*	0,005*	0,019*	

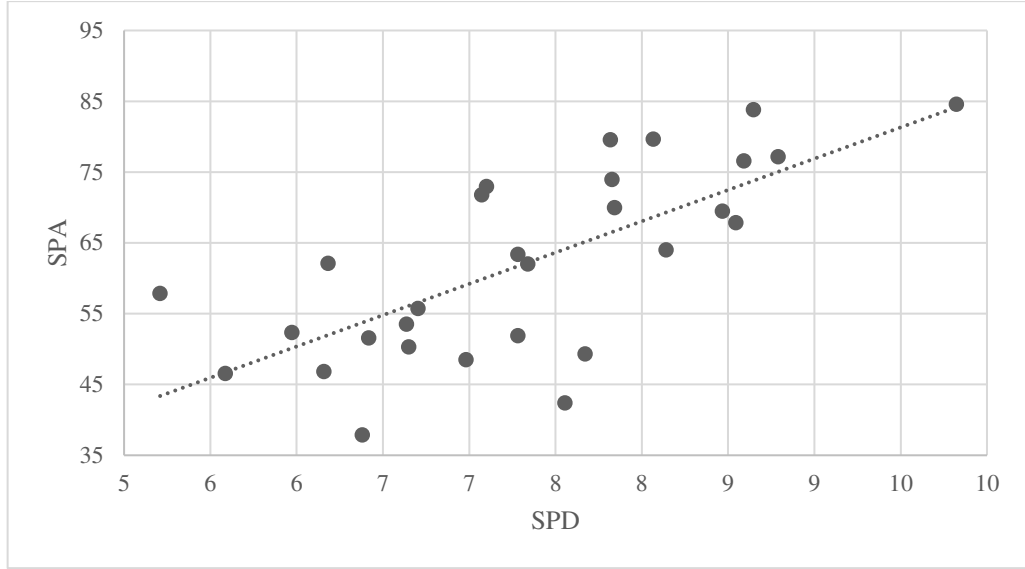
* istatistiksel anlamlı fark vardır.



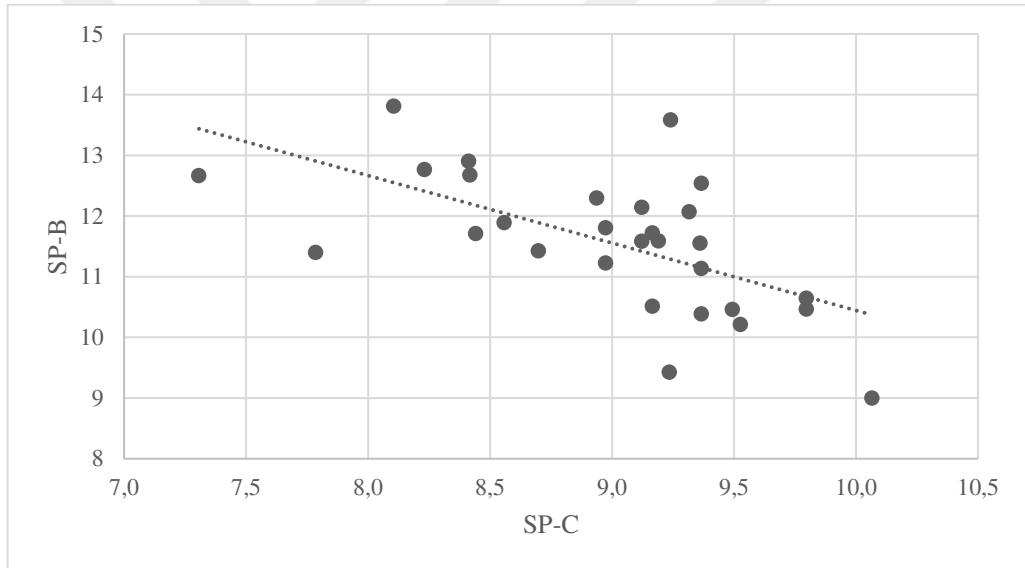
Şekil 3.5. SP-A ve SP-B arasındaki korelasyon



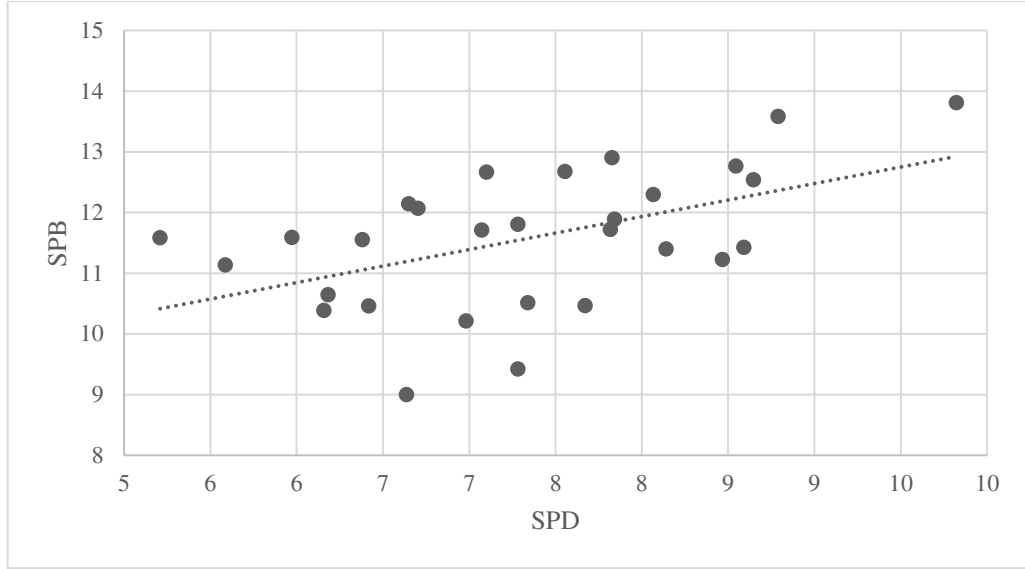
Şekil 3.6. SP-A ve SP-C arasındaki korelasyon



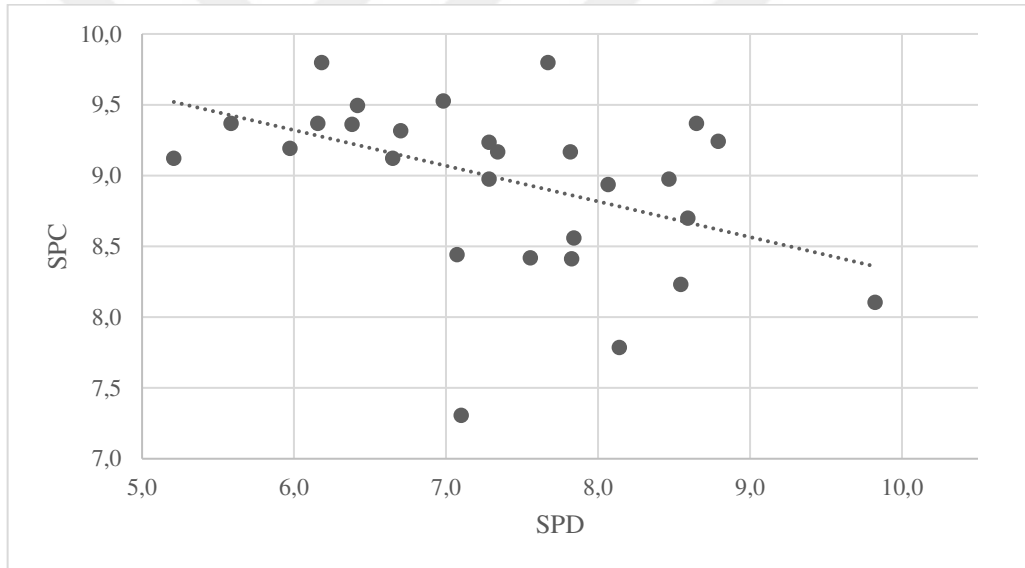
Şekil 3.7. SP-A ve SP-D arasındaki korelasyon



Şekil 3.8. SP-B ve SP-C arasındaki korelasyon



Şekil 3.9. SP-B ve SP-D arasındaki korelasyon



Şekil 3.10. SP-C ve SP-D arasındaki korelasyon

4. TARTIŞMA

4.1 Deney Hayvanları, Mortalite ve Vücut Ağırlığı

Çalışmada toplam 54 adet 6-7 aylık Sprague-Dawley erkek sıçan kullanılmış, AB-24 hariç her grupta 1'er sıçanda eksitus görülmüştür. Bunlardan yalnızca AB-48 grubundaki bir sıçanda görülen eksitusun bakteri instilasyonunun ertesi günü gerçekleşmesi sebebiyle enfeksiyon kaynaklı olduğu düşünülmektedir. SH-3, SH-24, SH-48 ve AB-3 gruplarındaki sıçanlarda görülen eksitus bakteri instilasyonundan birkaç dakika sonra gerçekleşmiş ve bu yüzden instilasyon veya anestezi kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Sıçanlara hem instilasyon öncesi hem de doku alımı öncesi intraperitoneal yol ile ketamin ve ksilazin (sırasıyla 90mg/kg, 10mg/kg) anestezisi uygulanmıştır. Uygulanan anestezik ajan dozu benzer çalışmalara göre seçilmiştir ve hayvan araştırmaları etik kurulunun onayladığı miktardadır (352–356). Benzer dozların kullanıldığı çalışmalarda anestezi kaynaklı mortalite görülmediği için çalışmamızda görülen eksitusun sebebinin instilasyon prosedüründen kaynaklandığını düşünmekteyiz. Çalışmada kullandığımız kanül 19 ga (357) kalınlığında olmasına rağmen trakeye yerleştirildiğinde glotis bölgesinde ve kanülün ucundaki geniş alan da trakede daralmaya sebep olmaktadır. Enjekte edilen 100 µl'lik inokulum sıçanlarda takipne, derin enfes alma, solunumun durması ve hırıldama gibi etkilere sebep olmuştur. Kanül yerleştirildikten sonra enjeksiyon ve kanülün çıkartılması işlemi mümkün olduğunca çabuk gerçekleştirilmiş, enjeksiyondan sonra inokulumun akciğerlere ulaşabilmesi için sıçanlar bir dakika boyunca 60 derece açıda bekletilip ardından yan yatırılmıştır. SH-3, SH-24, SH-48 ve AB-3 gruplarındaki sıçanlarda görülen eksitus bu aşamadan sonra gerçekleşmiştir. Mortalite SH-3, SH-24 ve AB-3 grubunda %11,1, SH-48 grubunda %12,5 ve AB-48 grubunda %10 olarak bulunmuş, gruplar arasında mortalite açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Sıçanlara intratrakeal yol ile instile edilen inokulum 0.5 McFarland *A. baumannii* içermektedir. Sham ve *A. baumannii* grupları ve grup içi saatler arasında mortalite açısından fark görülmemesi 0.5 McFarland'ın *A. baumannii* inokulumunun ölümcül düzeyden düşük olmasından kaynaklanmaktadır (358). Çalışmadaki amacımız *A. baumannii* pnömonisinin sürfaktan proteinleri üzerindeki etkisini

değerlendirmek olduğu için yüksek mortaliteye sebep olacak ve BALS sürfaktan protein konsantrasyonlarını ölçmemize engel olacak yüksek miktarda *A. baumannii* kullanımından kaçındık.

SH-3 grubundaki sıçanların vücut ağırlıklarında instilasyondan sonraki 3 saatte bir değişiklik saptanmadı. SH-24 grubundaki sıçanların instilasyondan sonraki 24 saat içerisinde %2,68 oranında vücut ağırlığı kazandığı, SH-48 grubundaki sıçanların ise %3,30 vücut ağırlığı kazandığı görüldü. SH-24 grubunda istatistiksel anlamlı fark bulunurken SH-48 grubunda istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. 24 saat grubunda ortalama 11,38 g, 48 saat grubunda ise ortalama 13,86 g'lık bir artış görülmüştür. Sprague-Dawley cinsi sıçanlarda 14 gün içinde 13 ila 102 g, 50 gün içinde ise 98 ila 233 g'lık artış görülebilmektedir (359), dolayısıyla Sham gruplarındaki bu artış standart pellet yem ile beslenen sağlıklı sıçanlarınkiyle benzer düzeydedir. *A. baumannii* 3. saat grubundaki sıçanlarda ağırlık farkı görülmezken 24. saat grubundaki sıçanlarda %2,37 (ortalama 10,34 g), 48. saat grubundaki sıçanlar ise %4,86 (ortalama 21,33 g) ağırlık kaybı görüldü. Sıçanlardaki enfeksiyon modellerinde ilk üç gün boyunca %3 civarında (360,361), bazı durumlarda 5 gün içerisinde %20'ye kadar ağırlık kaybı görüldüğü bildirilmiştir (362). Çalışmamızda *A. baumannii* intratrakeal inokülasyonu yaptığımız sıçanlarda 48 saat içerisinde gördüğümüz ağırlık kaybı literatür ile benzerlik göstermekte ve pnömoninin geliştiğine işaret etmektedir.

4.2 Bakteriyel Üreme

Intratrakeal instilasyon yaptığımız sıçanlardan topladığımız BALS'nin 1ml'lik bölümünü mikrobiyolojik inceleme için ayırdık. Sıvıyı ayırmadan önce BALS vortekslendi. Ayrılan 1ml'lik sıvıdan alınan 100 µl'lik örnek doğrudan EMB besiyerine damlatılarak inkübasyona bırakıldı. Sham gruplarından alınan örneklerde hiçbir üreme saptanmazken *A. baumannii* 3., 24. ve 48. saat gruplarında sırasıyla %40, %60 ve %20 oranında *A. baumannii* üremesi saptandı. 3. saat grubunda ortalama $148,80 \pm 206,56$, 24. saat grubunda $0,80 \pm 0,84$ ve 48. saat grubunda $0,20 \pm 0,45$ koloni saptandı. Üreyen koloniler arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Sıçanların akciğerlerinden alınan kesitlerin doğrudan EMB besiyerine ekilmesi sonucu Sham grubunda üreme saptanmazken *A. baumannii* gruplarında 100.000'den fazla koloni ürettiği görüldü. İki örnek arasındaki farkın

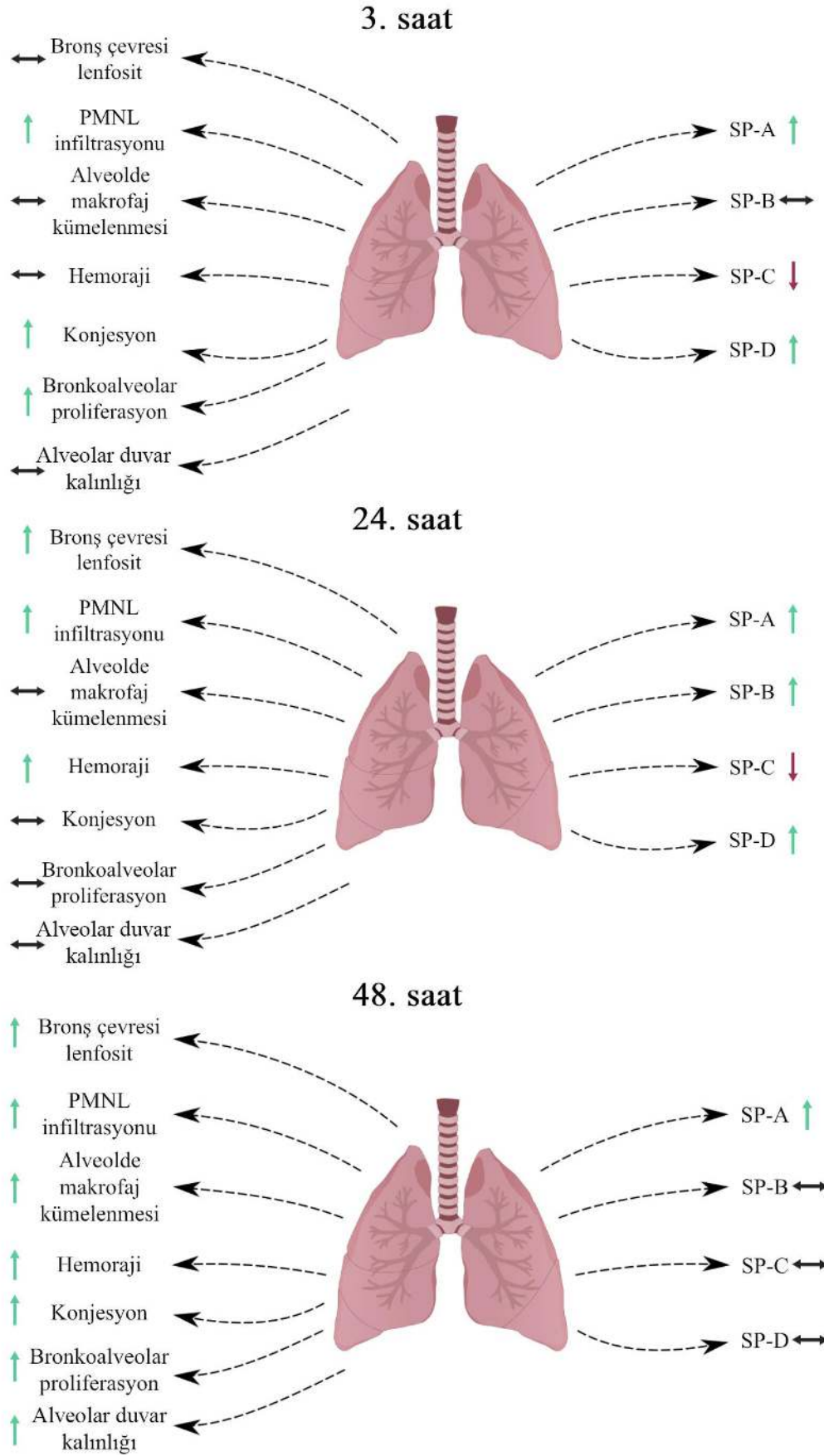
seyrelmiş olan BALS'den veya biyofilm üretme ve konak hücrelerine tutunma yeteneği olan *A. baumannii*'nin bronkoalveolar lavaj prosedürü ile yeteri kadar toplanamamasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Toplam 15ml'lik steril serum fizyolojik enjeksiyonu ile başlayan ve 8-12 ml arası geri çekilebilen BALS bakteri bakımından fazla seyrek olabilir, zaten seyrek olan bir sıvıdan alınan 1ml'lik örnekte yeteri kadar koloni oluşturan ünite alınamamış olabilir. BALS'den alınan örneklerin ekiminin yapıldığı çalışmalar olsa da bu çalışmalarda bakteri üremesi 1 ml (363) ve 2,5 ml (364) gibi düşük hacimli toplanan BALS'den ölçülmüştür. Russo ve arkadaşları bakteri sayısını ölçebilmek için 15ml'lik BALS'den ayırdıkları 500 µl'lik örneği kullanırken (358), bizim çalışmamızda aynı miktarda alınan BALS'den 1000 µl'lik örnek ayrıldı ve bundan alınan 100 µl örnek besiyerine ekildi, ancak yeterli bakteri üremesi elde edilemedi. Russo ve arkadaşları çalışmalarında klinik *A. baumannii* izolatları kullanırken (358), bizim çalışmamızda biyofilm varlığı araştırılmamasına rağmen biyofilm oluşturduğu bilinen *A. baumannii* ATCC19606 suşu kullanılmıştır (65). Russo ve arkadaşlarının çalışmalarında hem BALS'den alınan örnek hem de homojenize edilen akciğer, bakteriyel büyümenin araştırılması için kullanılmış, ancak elde edilen sonuçların hangi örneklerden alındığı belirtilmemiştir (358). Belirtilen çalışmadaki bakteriyel büyüme BALS'den alınan örnekten elde edildiyse, elde ettikleri sonucun bizim çalışmamızdan farklı olması, çalışmalarda kullanılan patojenlerin biyofilm üretme kabiliyetinden kaynaklanıyor olabilir. Bakteri temizlenmesinin araştırıldığı çalışmalarda BALS'den alınan örnek haricinde homojenize edilen akciğer dokuları da kullanılmaktadır (358,365,366). Çalışmamızda sürfaktan proteinlerinin konsantrasyonu ön planda olduğu, çalışmada tedavi kullanılmadığı, *A. baumannii* üremesi veya bakteri temizlenmesinin araştırılması ön planda olmadığı için homojenizasyon prosedürü kullanılmadı. Akciğer kesitlerinden yapılan ekimlerde tüm *A. baumannii* gruplarında 100.000'den fazla *A. baumannii* kolonisi üremesi ve ağırlık kaybı görülmesi, instilasyon işleminin başarılı olduğunu ve sıçanlarda pnömoni oluştuğunu göstermektedir.

4.3 Histopatolojik Bulgular

Alveolar makrofajlar *A. baumannii* gibi patojenlere karşı akciğerdeki ilk fagositik defans hattını oluşturlar (367). Düşük miktardaki patojenlere karşı savunma sistemi oluşturan alveolar makrofajlar, yüksek miktarda patojen saldırısına veya dirençli patojenlere karşı etkisiz kalabilirler. Bu durumda diğer bağışıklık hücrelerinin bölgeye toplanması gerekmektedir. Nötrofil ve monosit gibi enflamatuvar hücreler sitokinler aracılığıyla enflamasyon bölgesine toplanabilir ve aktive edilebilirler (368). Polimorfonükleer lökositler insan vücudunda en yaygın bulunan intravasküler fagositlerdir (367). Normal şartlarda alveolar boşlukta az miktarda PMNL bulunurken akciğerdeki enflamasyon ve enfeksiyon sırasında alveolar boşluklara toplanarak patojenlere karşı savunmaya yardım ederler (367). Enflamasyon ve enfeksiyonun başlangıcından 3 saat sonra akciğerde PMNL proliferasyonu görülebilmektedir (369,370).

İntranazal 5×10^8 *A. baumannii* uygulaması yapılan farelerde geniş bronkopnömoni, abse oluşumu, enflamasyon, hemoraji, epitel hücre nekrozu, atelektazi, alveolar ödem ile birlikte lenfosit, makrofaj ve nötrofil infiltrasyonu görülmektedir (371). Yine farelerde, 2×10^9 cfu/ml *A. baumannii*'nin oral aspirasyonu ile oluşturulan enfeksiyonda ise 2. ve 18. saatlerinde ödem, abse, PMNL infiltrasyonu, nekroz oluşumu ve damar çevresinde ve alveol duvarlarında enflamasyon görülmektedir. Hemoraji 2. saatte görülmeye başlamakta ve 18. saatte devam etmektedir. Hayvanlarda 2. saatten itibaren interstisyel ödem, 18. saatte ağır hemorajik pnömoni görülmektedir (372). 72 saatlik pnömoni çalışmasında, farelerde intratrakeal 10^8 cfu/ml klinik *A. baumannii* izolatının instilasyonu sonucunda 72 saatin ardından PMNL infiltrasyonu, abse oluşumu ve makrofaj infiltrasyonu görülmekte ve bu hayvanlardaki süreç akut enflamasyon olarak adlandırılmaktayken, konjesyon, hemoraji, lenfosit infiltrasyonu ve hafif fibrozis görünen hayvanlarda kronik enflamasyon olarak adlandırılmıştır (373). Farelere intranazal 10^7 cfu/ml *A. baumannii* uygulamasından 4 ve 24 saat sonra alınan akciğer dokularında nötrofil infiltrasyonu, interstisyel enflamasyon ve ödem saptanmıştır (374). Bizim çalışmamızda 0.5 McFarland (1.5×10^8 cfu) *A. baumannii*'ye maruz kalan sıçanlarda 3 saatten itibaren bronş ve damar çevresinde lenfosit infiltrasyonu, PMNL infiltrasyonu, hemoraji, konjesyon, alveol duvarında enflamasyon ve bronkoalveolar proliferasyon görülmeye başlamakta ve 48. saate

kadar devam etmektedir (Fotoğraf 3.10 ve 3.11). Alveolde makrofaj kümelenmesi 3. ve 24. saatlerde görülmezken 48. saatte maksimum seviyeye yakın görülmektedir (Fotoğraf 3.9). 48. saatte PMNL infiltrasyonu (3. saate göre) (Fotoğraf 3.10), konjesyon (24. saate göre) (Fotoğraf 3.11) ve bronkoalveolar proliferasyon (3. saate göre) (Fotoğraf 3.10) önceki saatlere göre artmaktadır. Rodríguez-Hernández ve arkadaşları konjesyon, hemoraji, lenfosit infiltrasyonu ve fibrozis görünen hayvanlardaki süreci kronik enflamasyon olarak adlandırmışlardır (373). Bizim çalışmamızda 48. saat gruplarında PMNL infiltrasyonu, konjesyon önceki saat gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek olsa da fibrozis sadece 48. saat grubundaki 1 hayvanda görülmüştür. Rodríguez-Hernández ve arkadaşlarının çalışmasında 10^8 cfu/ml *A. baumannii* ile oluşturulan 72 saatlik pnömoni modeli kullanılmıştır, bu yüzden çalışmalarında fibrozis görünme sıklığı daha yüksek olabilir. İntranasal LPS uygulaması yapılan sıçanlarda, 21 gün sonra akciğer dokuları incelenmiş ve fibrozis oluşumu saptanmamış, ancak daha önce LPS'ye maruz kalan sıçanlar akciğer hasarı oluşturabilen karbon nanotüplere maruz kaldıklarında fibrozisin daha yaygın olduğu görülmüştür (375). İnterstisyel pnömonide ileri düzeyde fibrozis görülebilmektedir (376). Bizim çalışmamızda en fazla 48 saatlik pnömoni grubu oluşturuldu, fibrozis insidansının düşük olmasının sebebi fibrozis gözlenen çalışmalara kıyasla daha kısa süreli pnömoni oluşturulması veya daha düşük bakteri içeren inokulum (0.5×10^8 cfu *A. baumannii*) kullanılması olabilir. Fibrozis görülme sıklığı düşük olmasına rağmen 48. saatte bronş, damar çevresi lenfosit ve PMNL infiltrasyonu, alveolde makrofaj kümelenmesi, hemoraji, konjesyon ve bronkoalveolar proliferasyon görülmesi enflamasyonun devam ettiğini, PMNL, makrofaj infiltrasyonu, bronkoalveolar proliferasyon ve konjesyonun artarak devam etmesi 48. saat grubunda enflamasyonun daha da arttığını göstermektedir (Şekil 4.1). Benzer *A. baumannii* pnömonisi çalışmalarıyla paralel olarak bu çalışmada da granülom görülmemiştir (372). *A. baumannii* 3. saat grubunda apse formasyonu görülmemiş, 24. saatte düşük oranda ($0,25 \pm 0,25$) görülürken, 48. saatte hafif düzeyde ($1,50 \pm 0,50$) görülmüştür, ancak gruplar ve grup içi saatler arasında istatistiksel anlamlı fark görülmemiştir. Bizim çalışmamızda elde edilen histopatolojik verilerin benzer çalışmalar ile benzerlik gösterdiği ve literatür ile paralel olduğu görülmüştür (371–374).



Şekil 4.1. Gruplara göre histopatolojik ve biyokimyasal sonuçlar.

4.4 Sürfaktan Proteinleri

Alveollerin iç yüzeyini kaplayan sürfaktanın %80-90'lık bölümü lipidlerden, kalan kısmı da sürfaktan proteinlerinden oluşmaktadır (237). Sürfaktan, alveol yüzeyindeki yüzey gerilimini düşürerek inhalasyon sırasında alveollerin kolayca genişlemesini ve ekspirasyon sonrasında çökmesini engeller ve patojenlere karşı bağışıklık sağlar (237,238). Sürfaktan proteinleri akciğerler haricinde tükürük, nazal boşluk, beyin, gözyaşı, böbrek, sindirim ve işitme sistemi gibi vücudun bir çok bölgesinde bulunmaktadır (259–265). SP-A, SP-B, SP-C ve SP-D fonksiyonları araştırılmış ve hala araştırılmakta olan önemli sürfaktan proteinleridir, bunlar haricinde SP-G ve SP-H proteinleri tanımlanmıştır ancak bu proteinlerin fonksiyonları henüz tamamıyla bilinmemektedir (267). SP-A ve SP-D akciğerin patojenlere karşı savunmasında (277), SP-B ve SP-C ise sürfaktanın metabolizmasında ve düşük yüzey geriliminin sağlanmasına rol alır (279). Sürfaktan proteinlerinin seviyesi patojenlere maruziyette değişmektedir. Bu çalışmada da *A. baumannii* pnömonisi oluşturulan sıçanlarda SP-A, SP-B, SP-C ve SP-D düzeylerinin değiştiği görülmüştür.

4.4.1 Hidrofilik Sürfaktan Proteinleri

Bu çalışmada hidrofilik sürfaktan proteinleri SP-A ve SP-D, hidrofobik sürfaktan proteinleri SP-B ve SP-C'nin bronkoalveolar lavaj sıvısındaki seviyeleri ELISA yöntemi ile ölçüldü ve *A. baumannii* pnömonisinin bu protein seviyeleri üzerindeki etkisi araştırıldı. Sürfaktan protein A seviyesinin *A. baumannii* inokülasyonu yapılan grupta Sham grubuna göre artış gösterdiği, 3. saatte %34,51, 24. saatte %44,82 ve 48. saatte %33,30 oranında daha yüksek olduğu görülmüştür. AB-24 grubundaki SP-A seviyesi 3. saat grubuna göre %18.95 yüksek bulunmuş ancak istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). SP-A ile benzer şekilde sürfaktan protein D'nin BALS'deki konsantrasyonu 3. ve 24. saatlerde Sham grubuna göre daha istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmuş ($p<0,05$), 48. saatte de AB grubunda daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). SP-D seviyesi Sham grubuna göre 3. saatte %19,66, 24. saatte %35,16, 48. saatte ise %18,40 yüksek bulunmuştur. SP-D konsantrasyonunun SP-A konsantrasyonunda da olduğu gibi AB-24 grubunda AB-

3 grubuna göre %9,68 daha yüksek olduğu görülmüş ancak istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

A. baumannii'de olduğu gibi *E. coli*'nin de dış membranında OmpA proteini bulunmaktadır, ve bu proteinin silinmesi *E. coli*'nin SP-A ve SP-D direncini düşürmektedir (298). OmpA *A. baumannii*'nin önemli virülans faktörlerinden biridir. SP-A ve SP-D'nin *A. baumannii*'ye bağlanıp bakterisidal etki göstermesi ihtimaline karşı *A. baumannii* OmpA gibi virülans faktörleri sayesinde direnç kazanıyor olabilir. Bizim çalışmamızda *A. baumannii* ATCC19606 suşu ile oluşturulan pnömonide SP-A ve SP-D seviyelerinde artış görülmüştür. *A. baumannii*'nin virülans faktörlerinin SP-A ve SP-D'ye karşı direnç sağlayıp sağlamadığı bilinmemekte ve araştırılması gerekmektedir.

E. coli'den elde edilen LPS'nin intratrakeal yolla sıçanlara instile edilmesinin ardından 6., 24. ve 72. saatlerde dokudaki SP-A seviyesinin yükseldiği, 72. saatte BALS'deki SP-A ve SP-D seviyesinin de kontrol grubuna göre yüksek olduğu görülmüştür (290). McIntosh ve arkadaşları, 24. saatte SP-A ve SP-D mRNA seviyelerinin arttığı ancak SP-B seviyesinde değişiklik olmadığını göstermiştir. SP-A ve SP-D mRNA seviyelerindeki artışla birlikte gerçekleşen BALS'deki SP-A ve SP-D seviyesi artışı, bu proteinlerin sekresyonlarındaki artışın LPS tarafından tetiklenen enflamasyonun ve sitokinlerin bir sonucu olabileceğini göstermektedir (290). *P. aeruginosa*'dan elde edilen LPS'nin nebulizasyon yöntemi ile farelere uygulanmasının ardından hem SP-B mRNA hem de BALS'deki SP-B seviyesinin maruziyetten sonra 24., 48. ve 96. saatlerde düştüğü, ancak SP-A ve SP-C seviyelerinin kontrol grubuyla aynı kaldığı görülmüştür (340). İntraperitoneal ve intranazal *Aspergillus fumigatus*'a maruz bırakılan farelerde alerjik reaksiyon tetiklenmiş ve hem SP-D mRNA hem de BALS'deki SP-D seviyesinde artış gözlenmiştir (324). Alerjik reaksiyonun sebep olduğu enflamasyonun SP-D seviyesini yükselttiği düşünülmektedir (324). Benzer bir çalışmada *A. fumigatus* ile tetiklenen alerjik reaksiyonun ardından SP-B ve SP-C seviyelerinin düştüğü, ancak SP-D seviyesinin arttığı görülmüştür (346). Bizim çalışmamızda, hem *A. baumannii* ve Sham grupları arasında hem de *A. baumannii* grubu içerisinde 48. ve önceki saatler arasında *A. baumannii* kaynaklı enflamasyon artışı saptanmıştır. *A. baumannii* kaynaklı enflamasyon sitokinleri tetikliyor ve SP-A ve SP-D seviyesinde artışa sebep oluyor olabilir. Enflamasyon devam ettiği süreçte BALS'deki SP-A ve SP-D konsantrasyonunun yüksek kalmakta, bu yüzden de

enflamasyonun SP-A ve SP-D artışını tetiklediğini düşünmekteyiz. SP-A *P. carinii*'ye glikoprotein 1 aracılığıyla bağlanabilmekte ve konak defansında rol almaktadır, ancak *P. carinii* maruziyetinden 4 hafta sonra seviyesinin değişmediği görülmüştür (344). Benzer bir çalışmada ise *P. carinii* pnömonisinin 4-6. haftalarında *P. carinii* gpA'sına bağlanan SP-D seviyesinin arttığı görülmüştür (377). Bizim çalışmamızda, 3, 24 ve 48 saatlik pnömoni modeli kullanıldı, ve her saatte SP-A konsantrasyonunun, 3. ve 24. saatlerde de SP-D seviyesinin Sham grubuna göre arttığı görüldü. *A. baumannii* pnömonisinde 3 saat kadar erken bir sürede başlayan SP-D artışı O'Riordan ve arkadaşlarının çalışmasındaki gibi 4-6 hafta kadar devam ediyor olabilir mi? Uzun süreli pnömonide SP-A ve SP-D konsantrasyonundaki yükseklik devam ediyor olabilir. *E. coli* LPS'si kullanılan çalışmalarda SP-A ve SP-D seviyelerinin arttığı, *P. aeruginosa* LPS'si kullanılan çalışmada ise SP-A seviyesinin değişmediği görülmektedir. LPS gram negatif bakterilerin yapısında bulunan bir yapıdır, ancak *A. baumannii* gram negatif bir bakteri olmasına rağmen dış membranında O-polisakkarit içeren LPS değil O-polisakkarit yoksun LOS bulundurur (24,35,40,41). LPS maruziyetinin sürfaktan proteinleri üzerine etkisinin incelendiği bu çalışmalarda LPS'nin yapısının veya O-antijeni varlığının etkisi araştırılmamıştır (290,340). Ancak *E. coli*'nin O-polisakkarit içeren suşlarının hem SP-A hem de SP-D'ye karşı dirençli olduğu (298) ve SP-D'nin lipooligosakkarite bağlanabildiği bildirilmiştir (300). SP-A O-polisakkaritten yoksun *E. coli*, *Klebsiella pneumonia* ve *Enterobacter aerogenes*'in, SP-D ise yine O-polisakkaritten yoksun *E. coli* ve *K. pneumonia* klinik izolatlarının gelişimini inhibe edebilmektedir (298). SP-A ve SP-D'nin O-polisakkaritten yoksun olan *A. baumannii*'ye bağlanıp bağlanamadığı veya gelişimini inhibe edip etmediği bilinmemektedir. Ancak bizim çalışmamızda hem SP-A, hem de SP-D seviyelerinin *A. baumannii* ile maruziyetten sonra istatistiksel anlamlı şekilde artış göstermesi SP-A ve SP-D'nin *A. baumannii*'ye karşı konak savunmasında etkili olabileceğini göstermektedir. SP-A ve SP-D O-polisakkaritten yoksun *A. baumannii*'ye bağlanıyor, fagositozunu kolaylaştırıyor ve bakteri büyümesini inhibe ediyor olabilir. *A. baumannii* inokülasyonundan sonra 3. saatte SP-A konsantrasyonu yükselmekte, 24. saatte daha da artmakta ve 48. saate kadar bu seviyesini korumaktadır. SP-D konsantrasyonu ise 3. saatte yükselmeye başlamakta, 24. saatte hafif bir artış gösterip 48. saatte tekrar 3. saatteki seviyesine düşmektedir. Histopatolojik veriler incelendiğinde PMNL infiltrasyonu, konjesyon

ve bronkoalveolar proliferasyonun 3. saatte *A. baumannii* grubunda Sham grubuna oranla istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunması bu saatte pnömoninin başladığını ve enflamasyonun tetiklendiğini göstermektedir. Enflamasyonun başlangıcıyla birlikte SP-A ve SP-D seviyelerinin de artış gösterdiği görülmektedir. Enflamasyon 48. saatte de devam etmekte, SP-A seviyesi de Sham grubuna göre yüksekliğini korumaktadır. Her ne kadar 48. saatteki SP-D seviyesinde SH ve AB grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamış olsa da SH seviyesine göre yüksekliğini korumaktadır. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre *A. baumannii* kaynaklı pnömonide enflamasyonun başlangıcıyla beraber BALS'deki SP-A ve SP-D konsantrasyonlarının arttığı ve enflamasyon süresince bu proteinlerin konsantrasyonlarının yüksek kalmaya devam ettiği görülmektedir.

SP-A ve SP-D birçok farklı patojene farklı yollar aracılığıyla bağlanabilmekte ve patojenlerin virölansını etkilemektedir. SP-A'nın *Cryptococcus neoformans*'a bağlanabilmekte ancak fagositozunda bir farka neden olmamaktadır (325). SP-A influenza A virüsü tanıyabilmekte ve insan akciğer epitel hücre hattında influenza A enfeksiyonunu inhibe etmektedir (326). SP-A'nın nanopartiküllere maruz bırakılması influenza A enfeksiyonuna karşı SP-A'nın etkisini arttırabilmektedir (378). SP-D influenza A enfeksiyonunda enflamatuvar sitokin üretimini düzenlemekte ve viral temizlenmeyi arttırmaktadır (333). SP-A *Mycoplasma pneumoniae*'ya fosfatidilgliserol aracılığıyla bağlanmakta ve koloni formasyonunu, metabolik aktiviteyi ve DNA replikasyonunu etkileyerek bakterinin gelişimini inhibe etmektedir (327). SP-A insan bağışıklık yetmezliği virüsünün (HIV) önemli bir parçası olan gp120 glikoproteinine bağlanmakta ve CD4+ T hücrelerini HIV enfeksiyonuna karşı korumaktadır (328). Ancak dendritik hücrelerle yapılan çalışmada SP-A'nın gp120'lerin dendritik hücrelere bağlanmasını arttırdığı ve dendritik hücrelerden CD4+ T hücrelerine enfeksiyonun yayılmasını kolaylaştırdığı görülmüştür (328). SP-A gibi SP-D de HIV'in gp120 glikoproteinlerine bağlanabilmekte ve virüs replikasyonunu inhibe etmektedir (332). SP-A immünoglobulin G'nin Fc bölgesine bağlanabilmekte ve fagositozu arttırabilmektedir (379). SP-A respiratuar sinsityal virüsün (RSV) yapısındaki F glikoproteinine bağlanarak virüsü nötralize edebilmektedir. Ancak aynı durum SP-D'de mevcut değildir, SP-D'nin RSV'nin yapısındaki F veya G glikoproteinine bağlanamadığı görülmüştür (292). SP-A *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* ve Grup A Streptokoka bağlanabilmekte ve bu patojenlerin alveolar

makrofajlar tarafından fagositozunu arttırmaktadır (329). Ancak, SP-A, *P. aeruginosa*'ya hem bağlanamamakta hem de fagositozunu değiştirmemektedir (329). SP-A Grup B Streptokoka bağlanabilmekte, makrofajların fagositoz yeteneğini arttırmakta ve böylece bakteri temizlenmesini arttırmaktadır (330). SP-D, *P. aeruginosa* pnömoni ve sepsisinde apoptoz ve enflamasyonu düzenleyerek akciğer ve renal hasarı azaltmaktadır (331). SP-D'den yoksun farelerde *P. aeruginosa* pnömonisinden kaynaklanan akciğer hasarı ve pnömoni ile tetiklenen sepsiste de renal hasar vahşi tip farelere göre artmaktadır (331). Hem SP-A, hem de SP-D *Mycobacterium tuberculosis* yapısındaki lipoarabinomannana bağlanabilmekte ve bakteri aglütinasyonunu sağlamakta, SP-A patojenin makrofajlara aderansını arttırırken SP-D aderansı azaltmaktadır (274). SP-D'nin patojene bağlanması, patojenin makrofajlar tarafından alınmasını ve içlerinde büyümesini inhibe etmektedir (337,338). SP-D yapısında bulunan CRP'ler *P. carinii*'nin yapısındaki glikoprotein A'ya bağlanabilmektedir (334). *P. carinii* enfeksiyonunda da SP-D seviyesi artmaktadır (345). İnsan solunum yolu epitel hücre hattında oluşturulan *Candida albicans* ve *Aspergillus fumigatus* enfeksiyonunda, SP-D her iki fungal yüzeye tutunmakta, fungal adhezyonu azaltmakta ve nötrofil tarafından gerçekleştirilen fungal temizlenmeyi arttırmaktadır (335). SP-D *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette–Guérin'in (BCG) hayatta kalma kabiliyetini azaltmaktadır (336). Buna karşılık SP-D *Coxiella burnetii*'ye bağlanmaktadır ancak bakterisidal bir etki göstermemekte ve fagositozu kolaylaştırmaktan ziyade alveolar makrofajların *Coxiella burnetii*'yi fagosit etmesini azaltmaktadır (339). Tüm bu bilgiler ışığında SP-A ve SP-D'nin sadece LOS değil, *A. baumannii*'nin yapısında bulunan birçok virülans faktör aracılığıyla patojenle etkileşime girebileceği görülmektedir. SP-A ve SP-D'nin hangi yollar ile *A. baumannii* ile etkileşime girdiğinin araştırılması gerekmektedir.

4.4.2 Hidrofobik Sürfaktan Proteinleri

A. baumannii inokülasyonu ile oluşturulan pnömonide SP-B'nin bronkoalveolar sıvıdaki konsantrasyonu 24. saatte Sham grubuna göre %18,51 oranında istatistiksel anlamlı artış göstermiştir. 3. ve 48. saatlerde de Sham grubuna oranla daha yüksek (sırasıyla %10,41 ve %12,39) SP-B konsantrasyonu bulunmuş olmasına rağmen istatistiksel anlamlı fark görülmemiştir. AB-24 grubundaki SP-B

konsantrasyonunun da 3. saate göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$). SP-B'nin aksine SP-C konsantrasyonunun Sham grubuna göre *A. baumannii* grubunun 3. saatinde %8,75, 24. saatinde ise %9,65 oranında istatistiksel anlamlı olarak düştüğü saptanmıştır. AB-48 grubunda da Sham grubuna göre %8,25 oranında düştüğü görülmüş ancak istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Çeşitli çalışmalarda SP-B ve SP-C seviyelerinin bakteri ve LPS maruziyetinden veya akut akciğer hasarından etkilendiği bildirilmiştir. Ancak elde edilen verilerde hem SP-B hem de SP-C seviyelerinde tutarlı bir değişim görülmemiştir. Bazı çalışmalar SP-B seviyesinin veya ekspresyonunun düştüğünü bildirirken, bazı çalışmalarda arttığı veya değişmediği bildirilmiştir. *A. fumigatus* ile tetiklenen alerjik reaksiyonda SP-B ve SP-C seviyeleri düşüş göstermektedir (346). İntratrakeal *P. carinii* inokülasyonundan 4 hafta sonra dokudaki SP-B mRNA ve SP-B seviyesinin yanı sıra BALS'deki SP-B seviyesi de düşmektedir (344). Benzer bir çalışmada *P. carinii* inokülasyonunun BALS SP-C ekspresyonunu düşürdüğü görülmüştür (345). Akut akciğer hasarında SP-C mRNA ekspresyonu düşmektedir (323). Bu çalışmalara ters şekilde, intratrakeal LPS instilasyonundan 3 gün sonra sıçanlarda SP-A, SP-B ve SP-C mRNA seviyeleri ve SP-A seviyesinin arttığı bildirilmiştir (341). Başka çalışmalarda ise SP-B mRNA ekspresyonunun LPS maruziyetinde değişmediği bildirilmiştir (290). Bizim çalışmamızdaki SP-C seviyesindeki düşüş, *P. carinii* (345,346) ve akut akciğer hasarı oluşturulan (323) çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Bizim çalışmamızda 3. ve 24. saatlerde elde edilen SP-C düşüşü Atochina ve arkadaşlarının çalışmasında 6. haftada da saptanmıştır. *A. baumannii* kaynaklı pnömonide 3. saatte başlayan SP-C düşüşünün 6. haftada da sürüyor olabilir. Uzun süreli pnömonide düşük SP-C konsantrasyonu devam ediyor olabilir, mortaliteye sebep olan pnömonide daha fazla düşüş görülüyor olabilir. SP-C sürfaktan metabolizmasında, fonksiyonunda ve katabolizmasında görev almaktadır (314,318). SP-C seviyesindeki düşüş sürfaktan metabolizmasını ve fonksiyonunu negatif yönde etkiliyor olabilir. *A. baumannii* kaynaklı pnömonide yüksek mortalite görülmesi düşen SP-C konsantrasyonu ve buna bağlı sürfaktan fonksiyon kaybıyla alakalı olabilir. Daha yüksek *A. baumannii* içeren inokülasyonuyla oluşturulabilecek yüksek mortaliteye sebep olan pnömoni modelinde SP-C konsantrasyonundaki düşüş ve sonuçları daha açık irdelenebilir. Bizim çalışmamızda, SP-B seviyesi LPS inokülasyonu yapılan çalışmayla (341) benzer

bir şekilde artmış iken *P. carinii* çalışmalarıyla (344) ters düşmektedir. Çalışmalar arasındaki zıt bulgular patojen farklılığından, uygulanan patojen miktarından veya uygulama süresinden kaynaklı olabilir. *P. carinii* inokülasyonu fareler üzerinde yapılmış ve SP-B seviyesi 6 hafta aradan sonra ölçülmüştür (345). Bizim çalışmamızda ise SP-B seviyesi 3. ve 48. saatlerde aynı kalırken 24. saatte yükselmiştir. Dolayısıyla tam olarak bir karşılaştırma yapmak mümkün değildir. *In vitro* çalışmada LPS maruziyetinde bronkoalveolar makrofajların ATII hücrelerindeki insan sürfaktan protein B gen transkripsiyonunu tetiklediği görülmüştür (342). Bizim çalışmamızda 24. saatte alveolde makrofaj kümelenmesi artmaya başlamış ve 48. saatte maksimum seviyeye ulaşmıştır. 24. saatte artmaya başlayan makrofaj kümelenmesi SP-B konsantrasyonundaki artışa sebep olmuş olabilir. Ancak 48. saatte alveoldeki makrofaj kümelenmesi maksimum seviyeye (3,75) ulaşmasına rağmen SP-B seviyesindeki artış 48. saatte devam etmemiş, aksine SP-B seviyesinde hafif bir düşüş saptanmıştır. Ayrıca 3. saatte başlayan ve 48. saatte devam eden enflamasyon düşünüldüğünde, SP-B konsantrasyonunda 24. saatte görülen istatistiksel anlamlı artış enflamasyonla doğrudan alakalı olmayabilir. SP-B konsantrasyonundaki artış *A. baumannii*'nin virülans faktörlerinden veya patogenevizinden kaynaklanıyor olabilir. Farklı BALS SP-B seviyesi bulunduran farelerde yapılan çalışmada, farelere intratrakeal yolla grup B streptokok ve *P. aeruginosa* inokule edilmiş, 6 ve 24 saat sonra akciğerden alınan örneklerdeki bakteri seviyelerinin farklılık göstermediği görülmüştür (347). Ancak, farklı SP-B genetik varyantları (C veya T aleli bulunduran SP-B proteinleri) barındıran farelerde bakteriyel yükün değiştiği görülmektedir (343). SP-B-T aleli barındıran farelerde SP-B-C aleli bulunduranlara göre daha düşük enflamasyon, daha düşük bakteriyel yük ve mortalite görülmekte, SP-B seviyesi ise C aleli bulunduran farelere göre daha yüksek görülmektedir (343). Çalışmamızda bakteriyel yükü değerlendirmedığımız için artan SP-B seviyesinin bakteriyel yük üzerindeki etkisini saptayamadık. *E. coli* LPS'si inoküle edilen SP-C'den yoksun farelerde persistan enflamasyon ve artmış sitokin üretimi görülmektedir (348). Bizim çalışmamızda 3. ve 24. saatlerde SP-C seviyesi istatistiksel anlamlı şekilde düşmektedir, düşüş 48. saatte de devam etmekte ancak istatistiksel anlamlı bir fark yoktur. *A. baumannii* gruplarında her saatte Sham grubuna göre yüksek enflamasyon saptanmıştır. Enflamasyondaki artış Glasser ve arkadaşlarının bildirdiği SP-C seviyesindeki düşüşle bağlantılı olabilir (348). Ancak bizim

çalışmamızda enflamasyonun 3. saatte başladığı ve 48. saatte devam ettiği ve hatta 48. saatte PMNL infiltrasyonunun (3. saate göre), makrofaj kümelenmesinin (3. saate göre), konjesyonun (24. saate göre) ve bronkoalveolar proliferasyonun (3. saate göre) istatistiksel anlamlı olarak daha da arttığı görülmektedir. Ancak SP-C konsantrasyonundaki düşüşün 3. ve 24. saatlerde istatistiksel anlamlı iken 48. saatte istatistiksel anlamlı olmadığı görülmektedir. SP-C konsantrasyonundaki düşüş doğrudan enflamasyonla alakalı değil, *A. baumannii*'nin virülans faktörleriyle ve patogeneziyle alakalı olabilir. Bizim çalışmamızda, *A. baumannii*'nin SP-B seviyesini arttırdığı ve SP-C seviyesini düşürdüğü görülmektedir, ancak *A. baumannii*'nin bu etkileri hangi yollar ile yaptığı açık değildir.

4.4.3 Sürfaktan Proteinleri Arasındaki Korelasyon

Bizim çalışmamızda *A. baumannii* pnömonisinin varlığında, sürfaktan proteinleri arasındaki korelasyon Pearson'ın korelasyon testi ile analiz edilmiştir. SP-A ile SP-B arasında orta, pozitif, SP-C arasında zayıf, negatif ve SP-D arasında güçlü, pozitif yönlü korelasyon bulunmaktadır. SP-B ile SP-C arasında orta, negatif, SP-D arasında orta, pozitif yönlü korelasyon bulunmaktadır. SP-C ile SP-D arasında ise zayıf, negatif yönlü korelasyon bulunmaktadır. Bu çalışma, *A. baumannii* pnömonisinde sürfaktan proteinleri arasındaki korelasyonu gösteren ilk çalışmadır. SP-A ve SP-D konak savunmasına rol almakta ve patojen varlığında seviyelerinde artış görülmektedir. Aralarında güçlü, pozitif yönlü korelasyon olması da *A. baumannii* pnömonisinde ikisinin de rol almasından ve patojene karşı benzer bir tepki vermelerinden kaynaklanıyor olabilir. SP-A'nın artışının SP-D artışına sebep olduğu veya bu durumun ters şekilde işlediğini söylemenin doğru olmamasına rağmen, *A. baumannii* pnömonisinde SP-A seviyesinde artış görüldüğünde SP-D seviyesinin de artmış olduğu beklenebilir. Ancak her iki proteinin de artışının *A. baumannii* pnömonisinde hangi yollar ile gerçekleştiğinin araştırılması gereklidir. Bronşiyal lavaj ile bronkoalveolar lavaj sıvıları arasındaki SP-D konsantrasyonunun güçlü ve pozitif yönlü korelasyon içinde olduğu bildirilmiştir (380). Biz çalışmamızda sadece bronkoalveolar lavaj sıvısındaki protein konsantrasyonlarını değerlendirdik, bu yüzden dokudaki veya

kandaki protein konsantrasyonu ile BALS'deki konsantrasyonu karşılaştırmamız mümkün olmadı.

SP-B konsantrasyonu ile SP-A ve SP-D konsantrasyonları arasında orta, pozitif yönlü korelasyon bulunmuştur. SP-A ve SP-D konak savunmasında görev alırken SP-D sürfaktan metabolizma ve fonksiyonundan sorumludur. *A. baumannii* pnömonisinde bu 3 proteinin de armış olması ve aralarında orta, pozitif yönlü korelasyon olması vücudun hem patojene karşı cevap verme, hem de sürfaktan fonksiyonunu düzeltme/arttırma isteği olabileceğini düşünüyoruz. Bizim çalışmamızda yüksek mortaliteye sebep olan bir pnömoni modeli kullanılmadı. Belki de daha yüksek bakteri inokülasyonu uygulanmış ve yüksek mortalite görülmüş olsaydı hem bu çalışmada görülen SP-B artışı ters yöne dönebilir, hem de korelasyon değişebilirdi.

SP-C ATII hücrelerinden sentezlenmekte ve SP-B aracılığıyla taşınarak lamellar cisimde paketlenmektedir. SP-B artışının SP-C sentezini arttırdığı söylenemez, ancak SP-C sentezi için SP-B'nin gerekli olduğu düşünülebilir. SP-B ve SP-C benzer görevler üstlenmelerine rağmen *A. baumannii* pnömonisinde seviyelerinin farklı değiştiği ve negatif korelasyon içinde oldukları görülmüştür. 24. saatte SP-B seviyesi artarken SP-C seviyesinin düştüğü görülmektedir. SP-B seviyesindeki artışın artan enflamasyondan, SP-C seviyesindeki düşüşün ise *A. baumannii*'nin virülansından kaynaklandığı düşünülebilir. Ancak her iki protein de sürfaktan metabolizmasında ve fonksiyonunda görev almasına rağmen (314,318) enflamasyon sırasında neden birisinin seviyesi artarken diğesinin düştüğü bilinmemektedir. *A. baumannii* pnömonisinde SP-B ve SP-C seviyelerini etkileyen faktörler ve iki protein arasındaki negatif korelasyonun başka patojenlerin sebep olduğu pnömonilerde de bulunup bulunmadığı araştırılmalıdır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

İntratrakeal 0.5 McFarland *Acinetobacter baumannii* inokülasyonu sıçanlarda pnömoni oluşturmakta, enflamasyonu tetiklemekte, sürfaktan proteinlerinin seviyesini değiştirmekte ancak 48 saat içerisinde mortaliteye sebep olmamaktadır. *A. baumannii* inokule edilen gruplar içerisinde sadece tek bir sıçanda inokülasyondan sonraki gün eksitus görülmüştür. 0.5 McFarland *A. baumannii* inokülasyonunun pnömoni oluşturmak, histopatolojik ve biyokimyasal verileri araştırmak için yeterli olduğu, ancak 48 saatlik pnömonide mortalite için düşük olduğu görülmektedir. Mortalitenin araştırılmasında 48 saatlik model kullanılacak ise daha yüksek bakteri barındıran inokulum tercih edilmesi veya benzer inokulum ile daha uzun süreli pnömoni oluşturulması gereklidir.

Sıçanlara yapılan intratrakeal instilasyonun ardından işlemin başarısını test etmek, akciğerde pnömoninin oluşumunu ve *A. baumannii*'nin çoğalmasını görebilmek amacıyla BALS'den ayrılan örnekler ve akciğerden alınan kesitler besiyerlerine ekilmiştir. *A. baumannii* gruplarındaki sıçanların akciğer kesitlerinden yapılan ekimlerde 100.000'den fazla koloni üremesi saptanmasına rağmen BALS'den ayrılan örneklerden yapılan ekimlerde istenilen sonuçlar alınamamıştır. Russo ve arkadaşları benzer pnömoni modelinde 15 ml'lik BALS'den ayırdıkları 500 µl'lik örnekte bakteri üremesi saptamış ve bakteriyel yükü karşılaştırmışlardır (358). Bizim çalışmamızda 500 µl yerine 1000 µl'lik örnek ayrılmış olmasına rağmen bakteriyel yük başarılı şekilde ölçülememiştir. BALS'den ayrılan örnekte bakteriyel üreme alınamamasının sebebi patojen suşlarındaki fark olabilir. Bizim çalışmamızda sürfaktan proteinlerinin bakteriyel yük üzerine etkisini araştırmadığımız için homojenizasyon yöntemini eklemedik, ancak bakteriyel yükün araştırılmasının amaçlandığı çalışmalarda bakteri ekimi için BALS'den alınan örnekler haricinde akciğerin homojenize edilmesinden elde edilen örneklerin de mutlaka kullanılması gerektiği görülmektedir. 15 ml'den daha düşük BALS alınması, elde edilen BALS'nin daha az seyrek olmasına ve böylece daha fazla bakteri üremesi elde edilmesini sağlayabilir. Ancak BALS için enjekte edilen serum fizyolojik miktarının azaltılması toplamda elde edilen BALS miktarını azaltabilir, yeteri kadar BALS elde edilemeyebilir veya elde edilen BAL sıvısının fazla yoğun olmasına, bu yüzden de ELISA testlerinde sonuçların test aralığının

dışında kalmasına neden olabilir. Sıçanların kullanıldığı BALS içeriği ile ilgili çalışmalarda 5-30 ml arasında serum fizyolojik kullanıldığı görülmektedir (381–384). Bakteri yükünün saptanmasının önem arz ettiği tedavi amaçlı çalışmalarda ek grup eklenebilir, bu grupta serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmamış akciğer dokusu homojenize edilerek bakteri yükü saptanabilir (384).

Bu çalışmada ilk kez *A. baumannii* pnömonisinin sürfaktan proteinleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Sıçanlarda oluşturulan *A. baumannii* pnömonisi bronkoalveolar sıvıdaki SP-A, SP-B ve SP-D seviyelerini arttırırken SP-C seviyesini düşürmektedir. SP-A ve SP-D birçok patojene bağlanabilirken *A. baumannii* ile olan etkileşimleri bilinmemektedir. Bizim çalışmamızda elde edilen SP-A, SP-B ve SP-D artışlarının ve SP-C düşüşünün hangi yollarla gerçekleştiği, SP-A ve SP-D'nin *A. baumannii*'ye nasıl bağlandığı ve *A. baumannii*'nin büyümesini nasıl etkilediği araştırılmalıdır. Bu çalışmada elde edilen sonuçların ardından, sürfaktan proteinlerinin eksikliğinde ve *A. baumannii* virülans faktörlerinin yokluğunda *A. baumannii* virülansının nasıl etkileneceği soruları açığa çıkmaktadır. Sürfaktan proteinlerinden yoksun mutant denekler ile yapılacak çalışmalarla sürfaktan proteini eksikliğinin *A. baumannii* pnömonisini nasıl etkilediği araştırılabilir. Virülans faktörlerinden yoksun *A. baumannii* mutantlarının kullanılacağı çalışmalarla da sürfaktan proteinleriyle *A. baumannii*'nin virülans faktörleri arasındaki etkileşim açığa çıkartılabilir. Bu sayede yoğun bakım ünitelerinde sıklıkla nozokomiyal pnömoniye ve %60'a varan mortaliteye sebep olan *A. baumannii*'nin patogenezi aydınlatılabilir ve yeni tedavi stratejileri üretilebilir.

Çalışmamızın kısıtlılığı, farklı *A. baumannii* suşlarının ve farklı dozların değil tek bir standart suş ile tek bir dozun kullanılmış olması ve sürfaktan proteinlerinden yoksun mutant deneklerin kullanılmamış olmasıdır. Yüksek mortaliteye sebep olabilecek inokülasyon dozları denenirse sürfaktan protein seviyelerinin mortal seyreden *A. baumannii* pnömonisinde nasıl değiştiği görülebilir. Virülans faktörlerden yoksun mutant *A. baumannii* suşları ile yapılacak çalışmalarda ise *A. baumannii*'nin sürfaktan proteinlerini hangi yollar ile etkilediği araştırılabilir. Sürfaktan proteinlerinden yoksun mutant deneklerin kullanımı ile konağın *A. baumannii*'ye hangi sürfaktan proteinlerinin *A. baumannii*'ye karşı verilen cevapta daha etkin olduğu ve bu proteinlerin yokluğunun *A. baumannii* kaynaklı pnömoniye nasıl etkilediği öğrenilebilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada ilk kez sıçanlardaki *A. baumannii* pnömonisinin bronkoalveolar lavaj sıvısındaki sürfaktan proteini A, B ve D seviyesini arttırdığı, C seviyesini düşürdüğü görülmüş ve sürfaktan proteinleri arasındaki korelasyon gösterilmiştir.



6. KAYNAKLAR

(Bu tez çalışmasında Vancouver atıf sistemi kullanılmıştır)

1. Beijerinck MW. Über pigmentbildung bei essigbakterien. Cent Bakteriöl Parasitenk. 1911;29:169–76.
2. Brisou J, Prevot AR. Studies on bacterial taxonomy. X. The revision of species under Acromobacter group. In: Annales de L'institut Pasteur. 1954. p. 722–8.
3. Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY. A study of the Moraxella group II. Oxidative-negative species (genus Acinetobacter). J Bacteriol. 1968;95(5):1520–41.
4. Lessel EF. International Committee on Nomenclature of Bacteria Subcommittee on the Taxonomy of Moraxella and Allied Bacteria: Minutes of the Meeting, 11 August 1970. Room Constitution C, Maria-Isabel Hotel, Mexico City, Mexico. Int J Syst Evol Microbiol. 1971;21(2):213–4.
5. Acinetobacter [Internet]. Available from: <https://lpsn.dsmz.de/genus/acinetobacter>
6. Wayne LG. International Committee on Systematic Bacteriology: Announcement of the Report of the Ad Hoc Committee on Reconciliation of Approaches to Bacterial Systematics. Syst Appl Microbiol. 1988;10(2):99–100.
7. Gerner-Smidt P. Ribotyping of the Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex. J Clin Microbiol. 1992 Oct;30(10):2680–5.
8. Vaneechoutte M, Dijkshoorn L, Tjernberg I, Elaichouni A, de Vos P, Claeys G, et al. Identification of Acinetobacter genomic species by amplified ribosomal DNA restriction analysis. J Clin Microbiol. 1995;33(1):11–5.
9. Nemec A, Baere T De, Tjernberg I, Vaneechoutte M, Reijden TJK Van Der, Dijkshoorn L. Acinetobacter schindleri sp. nov., isolated from human clinical specimens within the genus Acinetobacter, designated phenon 1 and phenon 2, was new genomic species. Furthermore, 16S rRNA gene sequence analysis of three. Int J Syst Evol Microbiol. 2001;51(2001):1891–9.
10. Dolzani L, Tonin E, Lagatolla C, Prandin L, Monti-Bragadin C. Identification of Acinetobacter isolates in the A. calcoaceticus-A. baumannii complex by restriction analysis of the 16S-23S rRNA intergenic-spacer sequences. J Clin Microbiol. 1995 May;33(5):1108–13.
11. Chang HC, Wei YF, Dijkshoorn L, Vaneechoutte M, Tang CT, Chang TC. Species-level identification of isolates of the Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex by sequence analysis of the 16S-23S rRNA gene spacer region. J Clin Microbiol. 2005 Apr;43(4):1632–9.
12. La Scola B, Gundi VAKB, Khamis A, Raoult D. Sequencing of the rpoB gene and flanking spacers for molecular identification of Acinetobacter species. J Clin Microbiol. 2006 Mar;44(3):827–32.
13. Chan JZM, Halachev MR, Loman NJ, Constantinidou C, Pallen MJ. Defining bacterial species in the genomic era: Insights from the genus Acinetobacter. BMC Microbiol. 2012;12.
14. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. Acinetobacter baumannii: Emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev. 2008;21(3):538–82.

15. Gerner-smidt P, Tjernberg I, Ursing JAN. Reliability of Phenotypic Tests for Identification of *Acinetobacter* Species. 1991;29(2):277–82.
16. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: *baumannii*. 2007;5(december).
17. Centers for Disease Control and Prevention. *Acinetobacter baumannii* infections among patients at military medical facilities treating injured U.S. service members, 2002-2004. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2004 Nov;53(45):1063–6.
18. Lee CR, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. Front Cell Infect Microbiol [Internet]. 2017/03/30. 2017;7:55. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28348979>
19. A. TK, Daniela D, N. RP, P. de B. Phase-Variable Control of Multiple Phenotypes in *Acinetobacter baumannii* Strain AB5075. J Bacteriol [Internet]. 2015 Aug 1;197(15):2593–9. Available from: <https://doi.org/10.1128/JB.00188-15>
20. Ahmad I, Karah N, Nadeem A, Wai SN, Uhlin BE. Analysis of colony phase variation switch in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. PLoS One. 2019;14(1):1–13.
21. Doughari HJ, Ndakidemi PA, Human IS, Benade S. The ecology, biology and pathogenesis of *acinetobacter* spp.: An overview. Microbes Environ. 2011;26(2):101–12.
22. Towner KJ. *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. J Hosp Infect [Internet]. 2009;73(4):355–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2009.03.032>
23. Kleanthous C, Armitage JP. The bacterial cell envelope. Philos Trans R Soc B Biol Sci. 2015;370(1679):1–17.
24. Weber BS, Harding CM, Feldman MF. Pathogenic *Acinetobacter*: From the cell surface to infinity and beyond. J Bacteriol. 2016;198(6):880–7.
25. Sarkar S, Ulett GC, Totsika M, Phan M-D, Schembri MA. Role of Capsule and O Antigen in the Virulence of Uropathogenic *Escherichia coli*. PLoS One [Internet]. 2014;9(4):1–11. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094786>
26. Jefferies D, Shearer J, Khalid S. Role of O-Antigen in Response to Mechanical Stress of the *E. coli* Outer Membrane: Insights from Coarse-Grained MD Simulations. J Phys Chem B [Internet]. 2019 May 2;123(17):3567–75. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.8b12168>
27. Domínguez-Medina CC, Pérez-Toledo M, Schager AE, Marshall JL, Cook CN, Bobat S, et al. Outer membrane protein size and LPS O-antigen define protective antibody targeting to the *Salmonella* surface. Nat Commun [Internet]. 2020;11(1):851. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14655-9>
28. Preston A, Mandrell RE, Gibson BW, Apicella MA. The Lipooligosaccharides of Pathogenic Gram-Negative Bacteria. Crit Rev Microbiol [Internet]. 1996;22(3):139–80. Available from: <https://doi.org/10.3109/10408419609106458>
29. Haseley SR, Wilkinson SG. Structure of the O-7 antigen from *Acinetobacter baumannii*. Carbohydr Res [Internet]. 1998;306(1):257–63. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008621597100398>
30. Haseley S, Wilkinson SG. Structure of the O18 antigen from *Acinetobacter baumannii*. Carbohydr Res [Internet]. 1997;301(3):187–92. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008621597000955>
31. Haseley SR, Wilkinson SG. Structure of the putative O10 antigen from *Acinetobacter baumannii*. Carbohydr Res [Internet]. 1994;264(1):73–81. Available from:

32. MacLean LL, Perry MB, Chen W, Vinogradov E. The structure of the polysaccharide O-chain of the LPS from *Acinetobacter baumannii* strain ATCC 17961. *Carbohydr Res* [Internet]. 2009;344(4):474–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008621508005715>
33. Vinogradov E V., Duus J, Brade H, Holst O. The structure of the carbohydrate backbone of the lipopolysaccharide from *Acinetobacter baumannii* strain ATCC 19606. *Eur J Biochem*. 2002;269(2):422–30.
34. Vinogradov E V, Brade L, Brade H, Holst O. Structural and serological characterisation of the O-antigenic polysaccharide of the lipopolysaccharide from *Acinetobacter baumannii* strain 24. *Carbohydr Res* [Internet]. 2003;338(23):2751–6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008621503004221>
35. Fregolino E, Gargiulo V, Lanzetta R, Parrilli M, Holst O, Castro C De. Identification and structural determination of the capsular polysaccharides from two *Acinetobacter baumannii* clinical isolates, MG1 and SMAL. *Carbohydr Res* [Internet]. 2011;346(7):973–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2011.03.024>
36. Iwashkiw JA, Seper A, Weber BS, Scott NE, Vinogradov E, Stratilo C, et al. Identification of a general O-linked protein glycosylation system in *Acinetobacter baumannii* and its role in virulence and biofilm formation. *PLoS Pathog*. 2012;8(6).
37. Harding CM, Nasr MA, Kinsella RL, Scott NE, Foster LJ, Weber BS, et al. *Acinetobacter* strains carry two functional oligosaccharyltransferases, one devoted exclusively to type IV pilin, and the other one dedicated to O-glycosylation of multiple proteins. *Mol Microbiol*. 2015;96(5):1023–41.
38. Kenyon JJ, Nigro SJ, Hall RM. Variation in the OC locus of *Acinetobacter baumannii* genomes predicts extensive structural diversity in the lipooligosaccharide. *PLoS One*. 2014;9(9).
39. Kenyon JJ, Hall RM. Variation in the Complex Carbohydrate Biosynthesis Loci of *Acinetobacter baumannii* Genomes. *PLoS One*. 2013;8(4).
40. Kikuchi-Ueda T, Ubagai T, Kamoshida G, Nakano R, Nakano A, Ono Y. *Acinetobacter baumannii* LOS Regulate the Expression of Inflammatory Cytokine Genes and Proteins in Human Mast Cells. *Pathogens* [Internet]. 2021;10(3). Available from: <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/3/290>
41. Geisinger E, Huo W, Hernandez-Bird J, Isberg RR. *Acinetobacter baumannii*: Envelope determinants that control drug resistance, virulence, and surface variability. *Annu Rev Microbiol*. 2019;73:481–506.
42. Boll JM, Tucker AT, Klein DR, Beltran AM, Brodbelt JS, Davies BW, et al. Reinforcing lipid a acylation on the cell surface of *acinetobacter baumannii* promotes cationic antimicrobial peptide resistance and desiccation survival. *MBio*. 2015;6(3):1–11.
43. Needham BD, Trent MS. Fortifying the barrier: The impact of lipid A remodelling on bacterial pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 2013;11(7):467–81.
44. Arroyo LA, Herrera CM, Fernandez L, Hankins J V., Trent MS, Hancock REW. The *pmrCAB* operon mediates polymyxin resistance in *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 and clinical isolates through phosphoethanolamine modification of lipid A. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(8):3743–51.
45. Pelletier MR, Casella LG, Jones JW, Adams MD, Zurawski D V, Hazlett KRO, et al. Unique structural modifications are present in the lipopolysaccharide from colistin-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Oct;57(10):4831–40.

46. Espinal P, Martí S, Vila J. Effect of biofilm formation on the survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J Hosp Infect.* 2012 Jan;80(1):56–60.
47. Sebit B. Biofilm production and biocidal efficacy in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolates. *Int J Antisepsis Disinfect Steriliz.* 2016;1(1):7–12.
48. Adewoyin MA, Okoh AI. The natural environment as a reservoir of pathogenic and non-pathogenic *Acinetobacter* species. 2018;
49. Seifert H, Dijkshoorn L, Gerner-smidt P, Pelzer N, Tjernberg I, Vaneechoutte M, et al. Distribution of *Acinetobacter* Species on Human Skin : Comparison of Phenotypic and Genotypic Identification Methods. 1997;35(11):2819–25.
50. Patil JR, Chopade BA. Distribution and in vitro antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* species on the skin of healthy humans. 2001;14(4):204–8.
51. La Scola B, Raoult D. *Acinetobacter baumannii* in human body louse. *Emerg Infect Dis.* 2004;10(9):1671–3.
52. McConnell MJ, Actis L, Pachón J. *Acinetobacter baumannii*: Human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol Rev.* 2013;37(2):130–55.
53. Russo TA, Luke NR, Beanan JM, Olson R, Sauberan SL, MacDonald U, et al. The K1 capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* strain 307-0294 is a major virulence factor. *Infect Immun.* 2010;78(9):3993–4000.
54. Moxon ER, Kroll JS. The role of bacterial polysaccharide capsules as virulence factors. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1990;150(Sutherland 1977):65–85.
55. Singh JK, Adams FG, Brown MH. Diversity and function of capsular polysaccharide in *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol.* 2019;10(JAN):1–8.
56. Geisinger E, Isberg RR. Antibiotic Modulation of Capsular Exopolysaccharide and Virulence in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Pathog.* 2015;11(2).
57. Talyansky Y, Nielsen TB, Yan J, Carlino-Macdonald U, Di Venanzio G, Chakravorty S, et al. Capsule carbohydrate structure determines virulence in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Pathog* [Internet]. 2021;17(2):1–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1009291>
58. Geisinger E, Mortman NJ, Vargas-Cuebas G, Tai AK, Isberg RR. A global regulatory system links virulence and antibiotic resistance to envelope homeostasis in *Acinetobacter baumannii*. *PLOS Pathog* [Internet]. 2018;14(5):1–28. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007030>
59. Tipton KA, Rather PN. An ompR-envZ Two-Component System Ortholog Regulates Phase Variation, Osmotic Tolerance, Motility, and Virulence in *Acinetobacter baumannii* Strain AB5075. *J Bacteriol.* 2017 Feb;199(3).
60. Longo F, Vuotto C, Donelli G. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbiol.* 2014 Apr;37(2):119–27.
61. Martí S, Rodríguez-Baño J, Catel-Ferreira M, Jouenne T, Vila J, Seifert H, et al. Biofilm formation at the solid-liquid and air-liquid interfaces by *Acinetobacter* species. *BMC Res Notes* [Internet]. 2011;4(1):5. Available from: <https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-5>
62. Gil-Perotin S, Ramirez P, Marti V, Sahuquillo JM, Gonzalez E, Calleja I, et al. Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response: A state of concept. *Crit Care* [Internet]. 2012;16(3):R93. Available from: <http://ccforum.com/content/16/3/R93>
63. Surendran-Nair M, Lau P, Liu Y, Venkitanarayanan K. Efficacy of selenium in controlling

- Acinetobacter baumannii* associated wound infections. *Wound Med* [Internet]. 2019;26(1):100165. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213909518300648>
64. Dallo SF, Weitao T. Insights into *Acinetobacter* War-Wound Infections, Biofilms, and Control. *Adv Skin Wound Care* [Internet]. 2010;23(4). Available from: https://journals.lww.com/aswcjournal/Fulltext/2010/04000/Insights_into_Acinetobacter_War_Wound_Infections,.7.aspx
 65. Peleg AY, de Breij A, Adams MD, Cerqueira GM, Mocali S, Galardini M, et al. The Success of *Acinetobacter* Species; Genetic, Metabolic and Virulence Attributes. *PLoS One*. 2012;7(10).
 66. Harding CM, Hennon SW, Feldman MF. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2017/12/19. 2018;16(2):91–102. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29249812>
 67. Tomaras AP, Dorsey CW, Edelmann RE, Actis LA. Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: Involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. *Microbiology*. 2003;149(12):3473–84.
 68. Eijkelkamp BA, Strocher UH, Hassan KA, Papadimitriou MS, Paulsen IT, Brown MH. Adherence and motility characteristics of clinical *Acinetobacter baumannii* isolates. *FEMS Microbiol Lett*. 2011;323(1):44–51.
 69. de Breij A, Gaddy J, van der Meer J, Koning R, Koster A, van den Broek P, et al. CsuA/BABCDE-dependent pili are not involved in the adherence of *Acinetobacter baumannii* ATCC19606(T) to human airway epithelial cells and their inflammatory response. *Res Microbiol*. 2009 Apr;160(3):213–8.
 70. Lannan FM, O’conor DK, Broderick JC, Tate JF, Scoggin JT, Moran NA, et al. Evaluation of Virulence Gene Expression Patterns in *Acinetobacter baumannii* Using Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction Array. *Mil Med*. 2016 Sep;181(9):1108–13.
 71. Rollauer SE, Soreshjani MA, Noinaj N, Buchanan SK. Outer membrane protein biogenesis in Gram-negative bacteria. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2015;370(1679).
 72. Koebnik R, Locher KP, Van Gelder P. Structure and function of bacterial outer membrane proteins: Barrels in a nutshell. *Mol Microbiol*. 2000;37(2):239–53.
 73. Klebba PE, Newton SMC. Mechanisms of solute transport through outer membrane porins: burning down the house. *Curr Opin Microbiol*. 1998 Apr 1;1(2):238–47.
 74. Lauber F, Deme JC, Lea SM, Berks BC. Type 9 secretion system structures reveal a new protein transport mechanism. *Nature* [Internet]. 2018;564(7734):77–82. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0693-y>
 75. Stubenrauch C, Belousoff MJ, Hay ID, Shen H-H, Lillington J, Tuck KL, et al. Effective assembly of fimbriae in *Escherichia coli* depends on the translocation assembly module nanomachine. *Nat Microbiol* [Internet]. 2016;1(7):16064. Available from: <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.64>
 76. Vesicles M, Reduced T, Response I. OmpA Protein-Deficient *Acinetobacter baumannii* Outer. 2021;
 77. Srinivasan VB, Vaidyanathan V, Rajamohan G. AbuO, a tolC-like outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii*, is involved in antimicrobial and oxidative stress resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(2):1236–45.
 78. Rasooli I, Abdolhamidi R, Jahangiri A, Darvish Alipour Astaneh S. Outer Membrane Protein, Oma87 Prevents *Acinetobacter baumannii* Infection. *Int J Pept Res Ther* [Internet]. 2020;26(4):2653–60. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10989-020-10056-0>

79. Kim SW, Oh MH, Jun SH, Jeon H, Kim S Il, Kim K, et al. Outer membrane Protein A plays a role in pathogenesis of *Acinetobacter nosocomialis*. *Virulence* [Internet]. 2016;7(4):413–26. Available from: <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1140298>
80. Singh R, Capalash N, Sharma P. Immunoprotective potential of BamA, the outer membrane protein assembly factor, against MDR *Acinetobacter baumannii*. *Sci Rep* [Internet]. 2017;7(1):12411. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12789-3>
81. Singh R, Garg N, Shukla G, Capalash N, Sharma P. Immunoprotective Efficacy of *Acinetobacter baumannii* Outer Membrane Protein, FilF, Predicted In silico as a Potential Vaccine Candidate. *Front Microbiol* [Internet]. 2016;7:158. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.00158>
82. Viale AM, Evans BA. Microevolution in the major outer membrane protein ompa of *acinetobacter baumannii*. *Microb Genomics*. 2020;6(6):1–14.
83. Gaddy JA, Tomaras AP, Actis LA. 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. *Infect Immun*. 2009 Aug;77(8):3150–60.
84. Choi CH, Hyun SH, Lee JY, Lee JS, Lee YS, Kim SA, et al. *Acinetobacter baumannii* outer membrane protein A targets the nucleus and induces cytotoxicity. *Cell Microbiol*. 2008 Feb;10(2):309–19.
85. Choi CH, Lee EY, Lee YC, Park TI, Kim HJ, Hyun SH, et al. Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. *Cell Microbiol*. 2005;7(8):1127–38.
86. Smani Y, McConnell MJ, Pachón J. Role of fibronectin in the adhesion of *Acinetobacter baumannii* to host cells. *PLoS One*. 2012;7(4):e33073.
87. Frank S, Gaume B, Bergmann-Leitner ES, Leitner WW, Robert EG, Catez F, et al. The Role of Dynamin-Related Protein 1, a Mediator of Mitochondrial Fission, in Apoptosis. *Dev Cell* [Internet]. 2001;1(4):515–25. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1534580701000557>
88. Tiku V, Kofoed EM, Yan D, Kang J, Xu M, Reichelt M, et al. Outer membrane vesicles containing OmpA induce mitochondrial fragmentation to promote pathogenesis of *Acinetobacter baumannii*. *Sci Rep* [Internet]. 2021;11(1). Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79966-9>
89. Skerniškytė J, Karazijaitė E, Lučiūnaitė A, Sužiedėlienė E. Ompa protein-deficient *acinetobacter baumannii* outer membrane vesicles trigger reduced inflammatory response. *Pathogens*. 2021;10(4).
90. Choi CH, Lee JS, Lee YC, Park TI, Lee JC. *Acinetobacter baumannii* invades epithelial cells and outer membrane protein A mediates interactions with epithelial cells. *BMC Microbiol*. 2008 Dec;8:216.
91. Kim SW, Choi CH, Moon DC, Jin JS, Lee JH, Shin J-H, et al. Serum resistance of *Acinetobacter baumannii* through the binding of factor H to outer membrane proteins. *FEMS Microbiol Lett*. 2009 Dec;301(2):224–31.
92. Smani Y, Fàbrega A, Roca I, Sánchez-Encinales V, Vila J, Pachón J. Role of OmpA in the multidrug resistance phenotype of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(3):1806–8.
93. Kwon H Il, Kim S, Oh MH, Na SH, Kim YJ, Jeon YH, et al. Outer membrane protein A contributes to antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* through the OmpA-like domain. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(11):3012–5.
94. Zhang X, Yang T, Cao J, Sun J, Dai W, Zhang L. Mucosal immunization with purified

- OmpA elicited protective immunity against infections caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microb Pathog*. 2016 Jul;96:20–5.
95. Lin L, Tan B, Pantapalangkoor P, Ho T, Hujer AM, Taracila MA, et al. *Acinetobacter baumannii* rOmpA vaccine dose alters immune polarization and immunodominant epitopes. *Vaccine*. 2013 Jan;31(2):313–8.
 96. Luo G, Lin L, Ibrahim AS, Baquir B, Pantapalangkoor P, Bonomo RA, et al. Active and passive immunization protects against lethal, extreme drug resistant-*Acinetobacter baumannii* infection. *PLoS One*. 2012;7(1):e29446.
 97. Jahangiri A, Rasooli I, Owlia P, Fooladi AAI, Salimian J. An integrative in silico approach to the structure of Omp33-36 in *Acinetobacter baumannii*. *Comput Biol Chem* [Internet]. 2018;72:77–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2018.01.003>
 98. Novović K, Mihajlović S, Dinić M, Malešević M, Miljković M, Kojić M, et al. *Acinetobacter* spp. porin Omp33-36: Classification and transcriptional response to carbapenems and host cells. *PLoS One*. 2018;13(8):1–17.
 99. Rumbo C, Tomás M, Moreira EF, Soares NC, Carvajal M, Santillana E, et al. The *Acinetobacter baumannii* Omp33-36 porin is a virulence factor that induces apoptosis and modulates autophagy in human cells. *Infect Immun*. 2014;82(11):4666–80.
 100. Smani Y, Dominguez-Herrera J, Pachón J. Association of the outer membrane protein Omp33 with fitness and virulence of *Acinetobacter baumannii*. *J Infect Dis*. 2013 Nov;208(10):1561–70.
 101. Fajardo Bonin R, Chapeaurouge A, Perales J, da Silva JGJ, do Nascimento HJ, D'Alincourt Carvalho Assef AP, et al. Identification of immunogenic proteins of the bacterium *Acinetobacter baumannii* using a proteomic approach. *Proteomics Clin Appl*. 2014 Dec;8(11–12):916–23.
 102. Huang W, Yao YY, Wang S, Xia Y, Yang X, Long Q, et al. Immunization with a 22-kDa outer membrane protein elicits protective immunity to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Sci Rep* [Internet]. 2016;6(August 2015):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep20724>
 103. Huang W, Wang S, Yao Y, Xia Y, Yang X, Li K, et al. Employing *Escherichia coli*-derived outer membrane vesicles as an antigen delivery platform elicits protective immunity against *Acinetobacter baumannii* infection. *Sci Rep*. 2016;6(February):1–12.
 104. GUO SJ, REN S, XIE YE. Evaluation of the Protective Efficacy of a Fused OmpK/Omp22 Protein Vaccine Candidate against *Acinetobacter baumannii* Infection in Mice. *Biomed Environ Sci* [Internet]. 2018;31(2):155–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.3967/bes2018.019>
 105. Yang A qiong, Yang H yan, Guo S jun, Xie Y en. MF59 adjuvant enhances the immunogenicity and protective immunity of the OmpK/Omp22 fusion protein from *Acineterbacter baumannii* through intratracheal inoculation in mice. *Scand J Immunol*. 2019;90(1):1–7.
 106. Du X, Xue J, Jiang M, Lin S, Huang Y, Deng K, et al. A multiepitope peptide, romp22, encapsulated in chitosan-plga nanoparticles as a candidate vaccine against *acinetobacter baumannii* infection. *Int J Nanomedicine*. 2021;16:1819–36.
 107. Ren S, Guan L, Dong Y, Wang C, Feng L, Xie Y. Design and evaluation of a multi-epitope assembly peptide vaccine against *Acinetobacter baumannii* infection in mice. *Swiss Med Wkly*. 2019;149(23–24):1–9.
 108. Hamm H, Fabel H, Bartsch W. The surfactant system of the adult lung: physiology and clinical perspectives. *Clin Investig*. 1992;70(8):637–57.

109. Son MS, Matthews WJJ, Kang Y, Nguyen DT, Hoang TT. In vivo evidence of *Pseudomonas aeruginosa* nutrient acquisition and pathogenesis in the lungs of cystic fibrosis patients. *Infect Immun*. 2007 Nov;75(11):5313–24.
110. Schweizer HP, Jump R, Po C. Structure and gene-polypeptide relationships of the region encoding glycerol diffusion facilitator (glpF) and glycerol kinase (glpK) of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*. 1997 Apr;143 (Pt 4):1287–97.
111. Rodríguez-Alonso B, Almeida H, Alonso-Sardón M, López-Bernus A, Pardo-Lledias J, Velasco-Tirado V, et al. Epidemiological scenario of Q fever hospitalized patients in the Spanish Health System: What's new. *Int J Infect Dis*. 2020;
112. Sun Z, Kang Y, Norris MH, Troyer RM, Son MS, Schweizer HP, et al. Blocking phosphatidylcholine utilization in *Pseudomonas aeruginosa*, via mutagenesis of fatty acid, glycerol and choline degradation pathways, confirms the importance of this nutrient source in vivo. *PLoS One*. 2014;9(7).
113. Stahl J, Bergmann H, Göttig S, Ebersberger I, Averhoff B. *Acinetobacter baumannii* virulence is mediated by the concerted action of three phospholipases D. *PLoS One*. 2015;10(9):1–19.
114. Jacobs AC, Hood I, Boyd KL, Olson PD, Morrison JM, Carson S, et al. Inactivation of phospholipase D diminishes *Acinetobacter baumannii* pathogenesis. *Infect Immun*. 2010 May;78(5):1952–62.
115. Songer JG. Bacterial phospholipases and their role in virulence. *Trends Microbiol*. 1997 Apr;5(4):156–61.
116. Fiester SE, Arivett BA, Schmidt RE, Beckett AC, Ticak T, Carrier M V, et al. Iron-Regulated Phospholipase C Activity Contributes to the Cytolytic Activity and Virulence of *Acinetobacter baumannii*. *PLoS One* [Internet]. 2016;11(11):1–26. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167068>
117. Kareem SM, Al-Kadmy IMS, Al-Kaabi MH, Aziz SN, Ahmad M. *Acinetobacter baumannii* virulence is enhanced by the combined presence of virulence factors genes phospholipase C (plcN) and elastase (lasB). *Microb Pathog* [Internet]. 2017;110:568–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2017.08.001>
118. Camarena L, Bruno V, Euskirchen G, Poggio S, Snyder M. Molecular mechanisms of ethanol-induced pathogenesis revealed by RNA-sequencing. *PLoS Pathog*. 2010 Apr;6(4):e1000834.
119. Fiester SE, Arivett BA, Beckett AC, Wagner BR, Ohneck EJ, Schmidt RE, et al. Miltefosine Reduces the Cytolytic Activity and Virulence of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019;63(1):e01409-18.
120. Hosseingholi EZ, Rasooli I, Gargari SLM. In silico analysis of *Acinetobacter baumannii* phospholipase D as a subunit vaccine candidate. *Acta Biotheor*. 2014 Dec;62(4):455–78.
121. Pfefferle K, Lopalco P, Breisch J, Siemund A, Corcelli A, Averhoff B. In vivo synthesis of monolysocardiolipin and cardiolipin by *Acinetobacter baumannii* phospholipase D and effect on cationic antimicrobial peptide resistance. *Environ Microbiol* [Internet]. 2020;22(12):5300–8. Available from: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1462-2920.15231>
122. Li H, Tan H, Hu Y, Pan P, Su X, Hu C. Small protein A and phospholipase D immunization serves a protective role in a mouse pneumonia model of *Acinetobacter baumannii* infection. *Mol Med Rep* [Internet]. 2017;16(2):1071–8. Available from: <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6688>
123. Elhosseiny NM, El-Tayeb OM, Yassin AS, Lory S, Attia AS. The secretome of *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 type II secretion system reveals a novel plasmid

- encoded phospholipase that could be implicated in lung colonization [Internet]. Vol. 306, International Journal of Medical Microbiology. Elsevier GmbH.; 2016. 633–641 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2016.09.006>
124. Korotkov K V., Sandkvist M, Hol WGJ. The type II secretion system: Biogenesis, molecular architecture and mechanism. *Nat Rev Microbiol.* 2012;10(5):336–51.
 125. Tseng TT, Tyler BM, Setubal JC. Protein secretion systems in bacterial-host associations, and their description in the Gene Ontology. *BMC Microbiol.* 2009;9(SUPPL. 1):1–9.
 126. Harding CM, Kinsella RL, Palmer LD, Skaar EP, Feldman MF. Medically Relevant *Acinetobacter* Species Require a Type II Secretion System and Specific Membrane-Associated Chaperones for the Export of Multiple Substrates and Full Virulence. *PLOS Pathog* [Internet]. 2016;12(1):1–27. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005391>
 127. Johnson TL, Waack U, Smith S, Mobley H, Sandkvist M, Schneewind O. *Acinetobacter baumannii* Is Dependent on the Type II Secretion System and Its Substrate LipA for Lipid Utilization and *In Vivo* Fitness. *J Bacteriol.* 2016;198(4):711–9.
 128. Elhosseiny NM, Elhezawy NB, Attia AS. Comparative proteomics analyses of *Acinetobacter baumannii* strains ATCC 17978 and AB5075 reveal the differential role of type II secretion system secretomes in lung colonization and ciprofloxacin resistance. *Microb Pathog* [Internet]. 2019;128:20–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401018316322>
 129. Bentancor L V., Camacho-Peiro A, Bozkurt-Guzel C, Pier GB, Maira-Litrán T. Identification of Ata, a multifunctional trimeric autotransporter of *Acinetobacter baumannii*. *J Bacteriol.* 2012;194(15):3950–60.
 130. Weidensdorfer M, Ishikawa M, Hori K, Linke D, Djahanschiri B, Iruegas R, et al. The *Acinetobacter* trimeric autotransporter adhesin Ata controls key virulence traits of *Acinetobacter baumannii*. *Virulence* [Internet]. 2019;10(1):68–81. Available from: <https://doi.org/10.1080/21505594.2018.1558693>
 131. Carruthers MD, Nicholson PA, Tracy EN, Munson RS. *Acinetobacter baumannii* Utilizes a Type VI Secretion System for Bacterial Competition. *PLoS One.* 2013;8(3).
 132. Weber BS, Miyata ST, Iwashkiw JA, Mortensen BL, Skaar EP, Pukatzki S, et al. Genomic and functional analysis of the type VI secretion system in *Acinetobacter*. *PLoS One.* 2013;8(1):e55142.
 133. Weber BS, Ly PM, Irwin JN, Pukatzki S, Feldman MF. A multidrug resistance plasmid contains the molecular switch for type VI secretion in *Acinetobacter baumannii*; *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2015 Jul 28;112(30):9442 LP – 9447. Available from: <http://www.pnas.org/content/112/30/9442.abstract>
 134. Kim J, Lee JY, Lee H, Choi JY, Kim DH, Wi YM, et al. Microbiological features and clinical impact of the type VI secretion system (T6SS) in *Acinetobacter baumannii* isolates causing bacteremia. *Virulence.* 2017;8(7):1378–89.
 135. Fitzsimons TC, Lewis JM, Wright A, Kleifeld O, Schittenhelm RB, Powell D, et al. Identification of novel *Acinetobacter baumannii* type VI secretion system antibacterial effector and immunity pairs. *Infect Immun.* 2018;86(8).
 136. Wang J, Zhou Z, He F, Ruan Z, Jiang Y, Hua X, et al. The role of the type VI secretion system *vgrG* gene in the virulence and antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606. *PLoS One.* 2018;13(2):1–10.
 137. Lopez J, Ly PM, Feldman MF. The tip of the VgrG spike is essential to functional type VI secretion system assembly in *Acinetobacter baumannii*. *MBio.* 2020;11(1).

138. Wright MS, Haft DH, Harkins DM, Perez F, Hujer KM, Bajaksouzian S, et al. New Insights into Dissemination and Variation of the Health Care-Associated Pathogen *Acinetobacter baumannii* from Genomic Analysis. *MBio*. 2014;5(1):e00963-13.
139. Goffin C, Ghuysen J-M. Multimodular Penicillin-Binding Proteins: An Enigmatic Family of Orthologs and Paralogs. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998;62(4):1079–93.
140. Kluge AF, Petter RC. Acylating drugs: redesigning natural covalent inhibitors. *Curr Opin Chem Biol* [Internet]. 2010;14(3):421–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.03.035>
141. Ghuysen JM. Molecular structures of penicillin-binding proteins and β -lactamases. *Trends Microbiol*. 1994;2(10):372–80.
142. Russo TA, MacDonald U, Beanan JM, Olson R, MacDonald IJ, Sauberman SL, et al. Penicillin-binding protein 7/8 contributes to the survival of *Acinetobacter baumannii* in vitro and in vivo. *J Infect Dis*. 2009;199(4):513–21.
143. Badmasti F, Habibi M, Firoozeh F, Fereshteh S, Bolourchi N, Goodarzi NN. The combination of CipA and PBP-7/8 proteins contribute to the survival of C57BL/6 mice from sepsis of *Acinetobacter baumannii*. Vol. 158, *Microbial Pathogenesis*. 2021.
144. Weinberg ED. Nutritional Immunity: Host's Attempt to Withhold Iron From Microbial Invaders. *JAMA J Am Med Assoc*. 1975;231(1):39–41.
145. Mortensen BL, Skaar EP. The contribution of nutrient metal acquisition and metabolism to *Acinetobacter baumannii* survival within the host. *Front Cell Infect Microbiol*. 2013;3(DEC):1–10.
146. Hassan KA, Pederick VG, Elbourne LDH, Paulsen IT, Paton JC, McDevitt CA, et al. Zinc stress induces copper depletion in *Acinetobacter baumannii*. *BMC Microbiol*. 2017;17(1):1–15.
147. Sheldon JR, Skaar EP. *Acinetobacter baumannii* can use multiple siderophores for iron acquisition, but only acinetobactin is required for virulence [Internet]. Vol. 16, *PLoS Pathogens*. 2020. 1–32 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1008995>
148. Shapiro JA, Wencewicz TA. Acinetobactin Isomerization Enables Adaptive Iron Acquisition in *Acinetobacter baumannii* through pH-Triggered Siderophore Swapping. *ACS Infect Dis*. 2016;2(2):157–68.
149. Moynié L, Serra I, Scorciapino MA, Oueis E, Page MGP, Ceccarelli M, et al. Preacinetobactin not acinetobactin is essential for iron uptake by the bauA transporter of the pathogen *acinetobacter baumannii*. *Elife*. 2018;7:1–16.
150. Bailey DC, Bohac TJ, Shapiro JA, Giblin DE, Wencewicz TA, Gulick AM. Crystal Structure of the Siderophore Binding Protein BauB Bound to an Unusual 2:1 Complex Between Acinetobactin and Ferric Iron. *Biochemistry* [Internet]. 2018 Dec 4;57(48):6653–61. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.8b00986>
151. Proschak A, Lubuta P, Grün P, Löhr F, Wilharm G, De Berardinis V, et al. Structure and biosynthesis of fimsbactins A-F, siderophores from *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter baylyi*. *Chembiochem*. 2013 Mar;14(5):633–8.
152. Bohac TJ, Fang L, Giblin DE, Wencewicz TA. Fimsbactin and Acinetobactin Compete for the Periplasmic Siderophore Binding Protein BauB in Pathogenic *Acinetobacter baumannii*. *ACS Chem Biol*. 2019;14(4):674–87.
153. Kim S, Lee H, Song WY, Kim HJ. Total Syntheses of Fimsbactin A and B and Their Stereoisomers to Probe the Stereoselectivity of the Fimsbactin Uptake Machinery in *Acinetobacter baumannii*. *Org Lett*. 2020;22(7):2806–10.

154. Penwell WF, DeGrace N, Tentarelli S, Gauthier L, Gilbert CM, Arivett BA, et al. Discovery and Characterization of New Hydroxamate Siderophores, Baumannoferrin A and B, produced by *Acinetobacter baumannii*. *ChemBioChem* [Internet]. 2015;16(13):1896–904. Available from: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbic.201500147>
155. Hood MI, Mortensen BL, Moore JL, Zhang Y, Kehl-Fie TE, Sugitani N, et al. Identification of an *Acinetobacter baumannii* Zinc Acquisition System that Facilitates Resistance to Calprotectin-mediated Zinc Sequestration. *PLOS Pathog* [Internet]. 2012;8(12):1–17. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003068>
156. Hesse LE, Lonergan ZR, Beavers WN, Skaar EP. The *acinetobacter baumannii* znu system overcomes host-imposed nutrient zinc limitation. *Infect Immun*. 2019;87(12).
157. Mortensen BL, Rath S, Chazin WJ, Skaar EP. *Acinetobacter baumannii* response to host-mediated zinc limitation requires the transcriptional regulator zur. *J Bacteriol*. 2014;196(14):2616–26.
158. Lonergan ZR, Nairn BL, Wang J, Hsu YP, Hesse LE, Beavers WN, et al. An *Acinetobacter baumannii*, Zinc-Regulated Peptidase Maintains Cell Wall Integrity during Immune-Mediated Nutrient Sequestration. *Cell Rep* [Internet]. 2019;26(8):2009-2018.e6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.01.089>
159. Juttukonda LJ, Chazin WJ, Skaar EP. *Acinetobacter baumannii* coordinates urea metabolism with metal import to resist host-mediated metal limitation. *MBio*. 2016;7(5).
160. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007 Oct;51(10):3471–84.
161. Vrancianu CO, Gheorghe I, Czobor IB, Chifiriuc MC. Antibiotic resistance profiles, molecular mechanisms and innovative treatment strategies of *acinetobacter baumannii*. *Microorganisms*. 2020;8(6):1–40.
162. Eze EC, Chenia HY, El Zowalaty ME. *Acinetobacter baumannii* biofilms: Effects of physicochemical factors, virulence, antibiotic resistance determinants, gene regulation, and future antimicrobial treatments. *Infect Drug Resist*. 2018;11:2277–99.
163. Poole K. Outer Membranes and Efflux: The Path to Multidrug Resistance in Gram- Negative Bacteria. *Curr Pharm Biotechnol*. 2005;3(2):77–98.
164. Yılmaz, Özcengiz G. Antibiotics: Pharmacokinetics, toxicity, resistance and multidrug efflux pumps. *Biochem Pharmacol*. 2017;133:43–62.
165. Abdi SN, Ghotaslou R, Ganbarov K, Mobed A, Tanomand A, Yousefi M, et al. *Acinetobacter baumannii* efflux pumps and antibiotic resistance. *Infect Drug Resist*. 2020;13:423–34.
166. Magnet S, Courvalin P, Lambert T. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Dec;45(12):3375–80.
167. Ruzin A, Immermann FW, Bradford PA. RT-PCR and statistical analyses of adeABC expression in clinical isolates of *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *Microb Drug Resist*. 2010 Jun;16(2):87–9.
168. Ruzin A, Keeney D, Bradford PA. AdeABC multidrug efflux pump is associated with decreased susceptibility to tigecycline in *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *J Antimicrob Chemother*. 2007 May;59(5):1001–4.
169. Peleg AY, Adams J, Paterson DL. Tigecycline Efflux as a Mechanism for Nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007 Jun;51(6):2065–9.

170. Damier-Piolle L, Magnet S, Brémont S, Lambert T, Courvalin P. AdeIJK, a resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 Feb;52(2):557–62.
171. Coyne S, Courvalin P, Périchon B. Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Mar;55(3):947–53.
172. Fournier PE, Vallenet D, Barbe V, Audic S, Ogata H, Poirel L, et al. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Genet*. 2006;2(1):62–72.
173. Roca I, Martí S, Espinal P, Martínez P, Gibert I, Vila J. CraA, a major facilitator superfamily efflux pump associated with chloramphenicol resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Sep;53(9):4013–4.
174. Ribera A, Roca I, Ruiz J, Gibert I, Vila J. Partial characterization of a transposon containing the tet(A) determinant in a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 2003 Sep;52(3):477–80.
175. Vila J, Martí S, Sánchez-Céspedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 2007 Jun;59(6):1210–5.
176. Rajamohan G, Srinivasan VB, Gebreyes WA. Molecular and functional characterization of a novel efflux pump, AmvA, mediating antimicrobial and disinfectant resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 2010 Sep;65(9):1919–25.
177. Lin M-F. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii* : From bench to bedside . *World J Clin Cases*. 2014;2(12):787.
178. Vahaboglu H, Oztürk R, Aygün G, Coşkunkan F, Yaman A, Kaygusuz A, et al. Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997 Oct;41(10):2265–9.
179. Pasterán F, Rapoport M, Petroni A, Faccone D, Corso A, Galas M, et al. Emergence of PER-2 and VEB-1a in *Acinetobacter baumannii* Strains in the Americas. Vol. 50, *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2006. p. 3222–4.
180. Bonnin RA, Potron A, Poirel L, Lecuyer H, Neri R, Nordmann P. PER-7, an extended-spectrum beta-lactamase with increased activity toward broad-spectrum cephalosporins in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 May;55(5):2424–7.
181. Opazo A, Sonnevend A, Lopes B, Hamouda A, Ghazawi A, Pal T, et al. Plasmid-encoded PER-7 β -lactamase responsible for ceftazidime resistance in *Acinetobacter baumannii* isolated in the United Arab Emirates. *J Antimicrob Chemother*. 2012 Jul;67(7):1619–22.
182. Endimiani A, Luzzaro F, Migliavacca R, Mantengoli E, Hujer AM, Hujer KM, et al. Spread in an Italian hospital of a clonal *Acinetobacter baumannii* strain producing the TEM-92 extended-spectrum beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007 Jun;51(6):2211–4.
183. Potron A, Poirel L, Croizé J, Chanteperdrix V, Nordmann P. Genetic and biochemical characterization of the first extended-spectrum CARB-type beta-lactamase, RTG-4, from *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Jul;53(7):3010–6.
184. Naas T, Namdari F, Réglie-Poupet H, Poyart C, Nordmann P. Panresistant extended-spectrum beta-lactamase SHV-5-producing *Acinetobacter baumannii* from New York City. Vol. 60, *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. England; 2007. p. 1174–6.
185. Tsakris A, Ikonomidis A, Pournaras S, Tzouvelekis LS, Sofianou D, Legakis NJ, et al. VIM-1 metallo-beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis*. 2006 Jun;12(6):981–3.

186. Lee M-F, Peng C-F, Hsu H-J, Chen Y-H. Molecular characterisation of the metallo-beta-lactamase genes in imipenem-resistant Gram-negative bacteria from a university hospital in southern Taiwan. *Int J Antimicrob Agents*. 2008 Dec;32(6):475–80.
187. Tsakris A, Ikonomidis A, Poulou A, Spanakis N, Vrizas D, Diomidous M, et al. Clusters of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clones producing different carbapenemases in an intensive care unit. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2008 Jun;14(6):588–94.
188. Tognim MCB, Gales AC, Penteado AP, Silbert S, Sader HS. Dissemination of IMP-1 metallo- beta -lactamase-producing *Acinetobacter* species in a Brazilian teaching hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2006 Jul;27(7):742–7.
189. Riccio ML, Franceschini N, Boschi L, Caravelli B, Cornaglia G, Fontana R, et al. Characterization of the metallo-beta-lactamase determinant of *Acinetobacter baumannii* AC-54/97 reveals the existence of bla(IMP) allelic variants carried by gene cassettes of different phylogeny. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000 May;44(5):1229–35.
190. Chu YW, Afzal-Shah M, Houang ET, Palepou MI, Lyon DJ, Woodford N, et al. IMP-4, a novel metallo-beta-lactamase from nosocomial *Acinetobacter* spp. collected in Hong Kong between 1994 and 1998. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Mar;45(3):710–4.
191. Lee K, Yum JH, Yong D, Lee HM, Kim HD, Docquier J-D, et al. Novel acquired metallo-beta-lactamase gene, bla(SIM-1), in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Nov;49(11):4485–91.
192. Chen Y, Zhou Z, Jiang Y, Yu Y. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China. *J Antimicrob Chemother*. 2011 Jun;66(6):1255–9.
193. Espinal P, Fugazza G, López Y, Kasma M, Lerman Y, Malhotra-Kumar S, et al. Dissemination of an NDM-2-producing *Acinetobacter baumannii* clone in an Israeli rehabilitation center. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Nov;55(11):5396–8.
194. Lin M-F, Chang K-C, Lan C-Y, Chou J, Kuo J-W, Chang C-K, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance determinants of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in five proximal hospitals in Taiwan. *Jpn J Infect Dis*. 2011;64(3):222–7.
195. Segal H, Nelson EC, Elisha BG. Genetic environment and transcription of ampC in an *Acinetobacter baumannii* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Feb;48(2):612–4.
196. Corvec S, Caroff N, Espaze E, Giraudeau C, Drugeon H, Reynaud A. AmpC cephalosporinase hyperproduction in *Acinetobacter baumannii* clinical strains. *J Antimicrob Chemother*. 2003 Oct;52(4):629–35.
197. Zarrilli R, Giannouli M, Tomasone F, Triassi M, Tsakris A. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities. *J Infect Dev Ctries*. 2009 Jun;3(5):335–41.
198. Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Jan;54(1):24–38.
199. Walther-Rasmussen J, Høiby N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*. 2006 Mar;57(3):373–83.
200. Vahaboglu H, Budak F, Kasap M, Gacar G, Torol S, Karadenizli A, et al. High prevalence of OXA-51-type class D beta-lactamases among ceftazidime-resistant clinical isolates of *Acinetobacter* spp.: co-existence with OXA-58 in multiple centres. *J Antimicrob Chemother*. 2006 Sep;58(3):537–42.
201. Beceiro A, Llobet E, Aranda J, Bengoechea JA, Doumith M, Hornsey M, et al.

- Phosphoethanolamine modification of lipid A in colistin-resistant variants of *Acinetobacter baumannii* mediated by the *pmrAB* two-component regulatory system. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Jul;55(7):3370–9.
202. Bou G, Cerveró G, Domínguez MA, Quereda C, Martínez-Beltrán J. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of beta-lactamases. *J Clin Microbiol*. 2000 Sep;38(9):3299–305.
 203. del Mar Tomás M, Beceiro A, Pérez A, Velasco D, Moure R, Villanueva R, et al. Cloning and functional analysis of the gene encoding the 33- to 36-kilodalton outer membrane protein associated with carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Dec;49(12):5172–5.
 204. Hood MI, Jacobs AC, Sayood K, Dunman PM, Skaar EP. *Acinetobacter baumannii* increases tolerance to antibiotics in response to monovalent cations. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Mar;54(3):1029–41.
 205. Quale J, Bratu S, Landman D, Heddurshetti R. Molecular Epidemiology and Mechanisms of Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* Endemic in New York City. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2003 Jul 15;37(2):214–20. Available from: <https://doi.org/10.1086/375821>
 206. Fonseca EL, Scheidegger E, Freitas FS, Cipriano R, Vicente ACP. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Brazil: role of *carO* alleles expression and *blaOXA-23* gene. *BMC Microbiol*. 2013 Nov;13:245.
 207. Jeong HW, Cheong HJ, Kim WJ, Kim MJ, Song K-J, Song J-W, et al. Loss of the 29-kilodalton outer membrane protein in the presence of OXA-51-like enzymes in *Acinetobacter baumannii* is associated with decreased imipenem susceptibility. *Microb Drug Resist*. 2009 Sep;15(3):151–8.
 208. Catel-Ferreira M, Coadou G, Molle V, Mugnier P, Nordmann P, Siroy A, et al. Structure-function relationships of CarO, the carbapenem resistance-associated outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 2011 Sep;66(9):2053–6.
 209. Jin JS, Kwon S-O, Moon DC, Gurung M, Lee JH, Kim S Il, et al. *Acinetobacter baumannii* secretes cytotoxic outer membrane protein A via outer membrane vesicles. *PLoS One*. 2011 Feb;6(2):e17027.
 210. Dupont M, Pagès J-M, Lafitte D, Siroy A, Bollet C. Identification of an OprD Homologue in *Acinetobacter baumannii*. *J Proteome Res* [Internet]. 2005 Dec 1;4(6):2386–90. Available from: <https://doi.org/10.1021/pr050143q>
 211. Fernández-Cuenca F, Martínez-Martínez L, Conejo MC, Ayala JA, Perea EJ, Pascual A. Relationship between beta-lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*. 2003 Mar;51(3):565–74.
 212. Cho YJ, Moon DC, Jin JS, Choi CH, Lee YC, Lee JC. Genetic basis of resistance to aminoglycosides in *Acinetobacter* spp. and spread of *armA* in *Acinetobacter baumannii* sequence group 1 in Korean hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009 Jun;64(2):185–90.
 213. Nemec A, Dolzani L, Brisse S, van den Broek P, Dijkshoorn L. Diversity of aminoglycoside-resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European *Acinetobacter baumannii* clones. *J Med Microbiol*. 2004 Dec;53(Pt 12):1233–40.
 214. Turton JF, Kaufmann ME, Gill MJ, Pike R, Scott PT, Fishbain J, et al. Comparison of *Acinetobacter baumannii* isolates from the United Kingdom and the United States that were associated with repatriated casualties of the Iraq conflict. *J Clin Microbiol*. 2006 Jul;44(7):2630–4.

215. Hujer KM, Hujer AM, Hulten EA, Bajaksouzian S, Adams JM, Donskey CJ, et al. Analysis of antibiotic resistance genes in multidrug-resistant *Acinetobacter* sp. isolates from military and civilian patients treated at the Walter Reed Army Medical Center. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Dec;50(12):4114–23.
216. Gallego L, Towner KJ. Carriage of class 1 integrons and antibiotic resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from northern Spain. *J Med Microbiol*. 2001 Jan;50(1):71–7.
217. Doi Y, Wachino J-I, Yamane K, Shibata N, Yagi T, Shibayama K, et al. Spread of novel aminoglycoside resistance gene *aac(6')-Iad* among *Acinetobacter* clinical isolates in Japan. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Jun;48(6):2075–80.
218. García-Garmendia JL, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J, Jiménez-Jiménez FJ, Monterrubio-Villar J, Gili-Miner M. Mortality and the increase in length of stay attributable to the acquisition of *Acinetobacter* in critically ill patients. *Crit Care Med*. 1999 Sep;27(9):1794–9.
219. Antunes LCS, Visca P, Towner KJ. *Acinetobacter baumannii*: Evolution of a global pathogen. *Pathog Dis*. 2014;71(3):292–301.
220. Wagenvoort J, De Brauwier E, Toenbreker H, van der Linden C. Epidemic *Acinetobacter baumannii* Strain with MRSA-Like Behaviour Carried by Healthcare Staff. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2002;21(4):326–7. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10096-002-0716-2>
221. El Shafie SS, Alishaq M, Leni Garcia M. Investigation of an outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in trauma intensive care unit. *J Hosp Infect*. 2004 Feb;56(2):101–5.
222. Munoz-Price LS, Arheart K, Nordmann P, Boulanger AE, Cleary T, Alvarez R, et al. Eighteen years of experience with *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital. *Crit Care Med*. 2013 Dec;41(12):2733–42.
223. Wendt C, Dietze B, Dietz E, Rüden H. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J Clin Microbiol*. 1997;35(6):1394–7.
224. Thom KA, Rock C, Jackson SS, Johnson JK, Srinivasan A, Magder LS, et al. Factors Leading to Transmission Risk of *Acinetobacter baumannii*. *Crit Care Med*. 2017 Jul;45(7):e633–9.
225. Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R. Multiresistant *Acinetobacter baumannii* infections: epidemiology and management. *Curr Opin Infect Dis* [Internet]. 2010;23(4). Available from: https://journals.lww.com/co-infectiousdiseases/Fulltext/2010/08000/Multiresistant_Acinetobacter_baumannii_infection_s_.8.aspx
226. Cheon S, Kim M-J, Yun S-J, Moon JY, Kim Y-S. Controlling endemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in Intensive Care Units using antimicrobial stewardship and infection control. *Korean J Intern Med*. 2016 Mar;31(2):367–74.
227. Nasr P. Genetics, epidemiology, and clinical manifestations of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Hosp Infect* [Internet]. 2020;104(1):4–11. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670119304098>
228. Leung W-S, Chu C-M, Tsang K-Y, Lo F-H, Lo K-F, Ho P-L. Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. *Chest*. 2006 Jan;129(1):102–9.
229. Anstey NM, Currie BJ, Withnall KM. Community-Acquired *Acinetobacter* Pneumonia in the Northern Territory of Australia. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1992;14(1):83–91. Available from: <https://doi.org/10.1093/clinids/14.1.83>

230. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Feb;171(4):388–416.
231. Koulenti D, Tsigou E, Rello J. Nosocomial pneumonia in 27 ICUs in Europe: perspectives from the EU-VAP/CAP study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2016/06/12. 2017;36(11):1999–2006. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27287765>
232. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Fernández-Hinojosa E, Aldabó-Pallás T, Cayuela A, Marquez-Vácaro JA, et al. *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: epidemiological and clinical findings. *Intensive Care Med* [Internet]. 2005;31(5):649–55. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00134-005-2598-0>
233. Inchai J, Pothirat C, Bumroongkit C, Limsukon A, Khositsakulchai W, Liwsrisakun C. Prognostic factors associated with mortality of drug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *J Intensive Care* [Internet]. 2015;3(1):9. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40560-015-0077-4>
234. Čiginskienė A, Dambrauskienė A, Rello J, Adukauskienė D. Ventilator-Associated Pneumonia due to Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Risk Factors and Mortality Relation with Resistance Profiles, and Independent Predictors of In-Hospital Mortality. *Medicina (B Aires)* [Internet]. 2019;55(2). Available from: <https://www.mdpi.com/1648-9144/55/2/49>
235. Chaari A, Mnif B, Bahloul M, Mahjoubi F, Chtara K, Turki O, et al. *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: epidemiology, clinical characteristics, and prognosis factors. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2013;17(12):e1225–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S120197121300249X>
236. Zheng Y, Wan Y, Zhou L, Ye M, Liu S, Xu C, et al. Risk factors and mortality of patients with nosocomial carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* pneumonia. *Am J Infect Control* [Internet]. 2013;41(7):e59–63. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655313001065>
237. Han SH, Mallampalli RK. The role of surfactant in lung disease and host defense against pulmonary infections. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12(5):765–74.
238. Wright JR, Clements JA. Metabolism and turnover of lung surfactant. *Am Rev Respir Dis*. 1987 Aug;136(2):426–44.
239. Wang Y, Mi Z, Niu W, An X, Yuan X, Liu H, et al. Intranasal treatment with bacteriophage rescues mice from *Acinetobacter baumannii*-mediated pneumonia. *Futur Microbiol* [Internet]. 2016/03/02. 2016;11:631–41. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26925593>
240. King RJ, Clements JA. Surface active materials from dog lung. I. Method of isolation. *Am J Physiol*. 1972 Sep;223(3):707–14.
241. Veldhuizen R, Nag K, Orgeig S, Possmayer F. The role of lipids in pulmonary surfactant. *Biochim Biophys Acta*. 1998 Nov;1408(2–3):90–108.
242. Yamano G, Funahashi H, Kawanami O, Zhao LX, Ban N, Uchida Y, et al. ABCA3 is a lamellar body membrane protein in human lung alveolar type II cells. *FEBS Lett*. 2001 Nov;508(2):221–5.
243. Ban N, Matsumura Y, Sakai H, Takanezawa Y, Sasaki M, Arai H, et al. ABCA3 as a lipid transporter in pulmonary surfactant biogenesis. *J Biol Chem*. 2007 Mar;282(13):9628–34.
244. Ravasio A, Olmeda B, Bertocchi C, Haller T, Pérez-Gil J. Lamellar bodies form solid three-dimensional films at the respiratory air-liquid interface. *J Biol Chem*. 2010 Sep;285(36):28174–82.
245. Wolman M, Cervós-Navarro J, Sampaolo S, Cardesa A. Pathological changes in organs of

- rats chronically exposed to hypoxia. Development of pulmonary lipidosis. *Histol Histopathol.* 1993 Apr;8(2):247–55.
246. Rao RH, Waite M, Myrvik QN. Deacylation of dipalmitoyllecithin by phospholipases A in alveolar macrophages. *Exp Lung Res.* 1981 Mar;2(1):9–15.
 247. Nichols BA. Normal rabbit alveolar macrophages. II. Their primary and secondary lysosomes as revealed by electron microscopy and cytochemistry. *J Exp Med.* 1976 Oct;144(4):920–32.
 248. Lopez-Rodriguez E, Gay-Jordi G, Mucci A, Lachmann N, Serrano-Mollar A. Lung surfactant metabolism: early in life, early in disease and target in cell therapy. *Cell Tissue Res.* 2017;367(3):721–35.
 249. Batenburg JJ, Post M, Oldenburg V, Van Golde LM. The perfused isolated lung as a possible model for the study of lipid synthesis by type II cells in their natural environment. *Exp Lung Res.* 1980 Mar;1(1):57–65.
 250. Kalina M, Mason RJ, Shannon JM. Surfactant protein C is expressed in alveolar type II cells but not in Clara cells of rat lung. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1992 Jun;6(6):594–600.
 251. Voorhout WF, Veenendaal T, Kuroki Y, Ogasawara Y, van Golde LM, Geuze HJ. Immunocytochemical localization of surfactant protein D (SP-D) in type II cells, Clara cells, and alveolar macrophages of rat lung. *J Histochem Cytochem Off J Histochem Soc.* 1992 Oct;40(10):1589–97.
 252. Wang J, Souza P, Kuliszewski M, Tanswell AK, Post M. Expression of surfactant proteins in embryonic rat lung. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1994 Feb;10(2):222–9.
 253. Orgeig S, Morrison JL, Sullivan LC, Daniels CB. Chapter 9 - The Development of the Pulmonary Surfactant System. In: Harding R, Pinkerton KE, editors. *The Lung* (Second Edition) [Internet]. Second Edi. Boston: Academic Press; 2014. p. 183–209. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780127999418000092>
 254. OSANAI K, TSUCHIHARA C, HATTA R, OIKAWA T, TSUCHIHARA K, IGUCHI M, et al. Pulmonary surfactant transport in alveolar type II cells. *Respirology* [Internet]. 2006;11(s1):S70–3. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1440-1843.2006.00813.x>
 255. Weaver TE. Synthesis, processing and secretion of surfactant proteins B and C. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* [Internet]. 1998;1408(2):173–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925443998000660>
 256. Rooney SA. Regulation of surfactant secretion. *Comp Biochem Physiol Part A Mol Integr Physiol* [Internet]. 2001;129(1):233–43. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1095643301003208>
 257. Goerke J. Pulmonary surfactant: Functions and molecular composition. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 1998;1408(2–3):79–89.
 258. Perez-Gil J, Weaver TE. Pulmonary Surfactant Pathophysiology: Current Models and Open Questions. *Physiology* [Internet]. 2010;25(3):132–41. Available from: <https://doi.org/10.1152/physiol.00006.2010>
 259. Bräuer L, Schicht M, Stengl C, Heinemann F, Götz W, Scholz M, et al. Detection of surfactant proteins A, B, C, and D in human gingiva and saliva. *Biomed Tech (Berl).* 2012 Jan;57(1):59–64.
 260. Schicht M, Stengl C, Sel S, Heinemann F, Gotz W, Petschelt A, et al. The distribution of human surfactant proteins within the oral cavity and their role during infectious diseases of the gingiva. *Ann Anat* [Internet]. 2014/07/16. 2015;199:92–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25023567>

261. Schicht M, Knipping S, Hirt R, Beileke S, Sel S, Paulsen F, et al. Detection of surfactant proteins A, B, C, and D in human nasal mucosa and their regulation in chronic rhinosinuitis with polyps. *Am J Rhinol Allergy*. 2013 Jan;27(1):24–9.
262. Schob S, Lobsien D, Friedrich B, Bernhard MK, Gebauer C, Dieckow J, et al. The Cerebral Surfactant System and Its Alteration in Hydrocephalic Conditions. *PLoS One*. 2016;11(9):e0160680.
263. Bourbon JR, Chailley-Heu B. Surfactant proteins in the digestive tract, mesentery, and other organs: evolutionary significance. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2001 May;129(1):151–61.
264. Kankavi O. Immunodetection of surfactant proteins in human organ of Corti, Eustachian tube and kidney. *Acta Biochim Pol*. 2003;50(4):1057–64.
265. Paananen R, Glumoff V, Sormunen R, Voorhout W, Hallman M. Expression and localization of lung surfactant protein B in Eustachian tube epithelium. *Am J Physiol Cell Mol Physiol* [Internet]. 2001;280(2):L214–20. Available from: <https://doi.org/10.1152/ajplung.2001.280.2.L214>
266. Bräuer L, Schicht M, Worlitzsch D, Bense T, Sawers RG, Paulsen F. Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa Express and Secrete Human Surfactant Proteins. *PLoS One* [Internet]. 2013;8(1):1–10. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053705>
267. Schröder H, Sollfrank L, Paulsen F, Bräuer L, Schicht M. Recombinant expression of surfactant protein H (SFTA3) in Escherichia coli. *Ann Anat - Anat Anzeiger* [Internet]. 2016;208:129–34. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0940960216300978>
268. Heilig R, Eckenberg R, Petit J-L, Fonknechten N, Da Silva C, Cattolico L, et al. The DNA sequence and analysis of human chromosome 14. *Nature*. 2003 Feb;421(6923):601–7.
269. Mungall AJ, Palmer SA, Sims SK, Edwards CA, Ashurst JL, Wilming L, et al. The DNA sequence and analysis of human chromosome 6. *Nature*. 2003 Oct;425(6960):805–11.
270. Weaver TE, Whitsett JA. Function and regulation of expression of pulmonary surfactant-associated proteins. *Biochem J*. 1991 Jan;273(Pt 2):249–64.
271. Hoppe H -J, Reid KBM. Collectins — soluble proteins containing collagenous regions and lectin domains — and their roles in innate immunity. *Protein Sci*. 1994;3(8):1143–58.
272. Mayer S, Raulf MK, Lepenies B. C-type lectins: their network and roles in pathogen recognition and immunity. *Histochem Cell Biol*. 2017;147(2):223–37.
273. Liu Z, Shi Q, Liu J, Abdel-Razek O, Xu Y, Cooney RN, et al. Innate Immune Molecule Surfactant Protein D Attenuates Sepsis-induced Acute Pancreatic Injury through Modulating Apoptosis and NF-κB-mediated Inflammation. *Sci Rep*. 2015;5.
274. Ferguson JS, Voelker DR, McCormack FX, Schlesinger LS. Surfactant Protein D Binds to Mycobacterium tuberculosis Bacilli and Lipoarabinomannan via Carbohydrate-Lectin Interactions Resulting in Reduced Phagocytosis of the Bacteria by Macrophages. *J Immunol* [Internet]. 1999 Jul 1;163(1):312 LP – 321. Available from: <http://www.jimmunol.org/content/163/1/312.abstract>
275. Beharka AA, Gaynor CD, Kang BK, Voelker DR, McCormack FX, Schlesinger LS. Pulmonary Surfactant Protein A Up-Regulates Activity of the Mannose Receptor, a Pattern Recognition Receptor Expressed on Human Macrophages. *J Immunol*. 2002;169(7):3565–73.
276. Herbein JF, Wright JR. Enhanced clearance of surfactant protein D during LPS-induced acute inflammation in rat lung. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol*. 2001;281(1):25–31.

277. van Iwaarden F, Welmers B, Verhoef J, Haagsman HP, van Golde LM. Pulmonary surfactant protein A enhances the host-defense mechanism of rat alveolar macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1990;2(1):91–8.
278. Schürch D, Ospina OL, Cruz A, Pérez-Gil J. Combined and independent action of proteins SP-B and SP-C in the surface behavior and mechanical stability of pulmonary surfactant films. *Biophys J*. 2010 Nov;99(10):3290–9.
279. Whitsett JA, Weaver TE. Hydrophobic surfactant proteins in lung function and disease. *N Engl J Med*. 2002 Dec;347(26):2141–8.
280. Vieira F, Kung JW, Bhatti F. Structure, genetics and function of the pulmonary associated surfactant proteins A and D: The extra-pulmonary role of these C type lectins. *Ann Anat* [Internet]. 2017;211:184–201. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aanat.2017.03.002>
281. Haagsman HP, White RT, Schilling J, Lau K, Benson BJ, Golden J, et al. Studies of the structure of lung surfactant protein SP-A. *Am J Physiol Cell Mol Physiol* [Internet]. 1989;257(6):L421–9. Available from: <https://doi.org/10.1152/ajplung.1989.257.6.L421>
282. Floros J, Steinbrink R, Jacobs K, Phelps D, Kriz R, Recny M, et al. Isolation and characterization of cDNA clones for the 35-kDa pulmonary surfactant-associated protein. *J Biol Chem* [Internet]. 1986;261(19):9029–33. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925819844836>
283. Voss T, Melchers K, Scheirle G, Schäfer KP. Structural comparison of recombinant pulmonary surfactant protein SP-A derived from two human coding sequences: implications for the chain composition of natural human SP-A. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1991 Jan;4(1):88–94.
284. Marttila R, Haataja R, Guttentag S, Hallman M. Surfactant protein A and B genetic variants in respiratory distress syndrome in singletons and twins. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Nov;168(10):1216–22.
285. Holmskov U, Lawson P, Teisner B, Tornøe I, Willis AC, Morgan C, et al. Isolation and Characterization of a New Member of the Scavenger Receptor Superfamily, Glycoprotein-340 (gp-340), as a Lung Surfactant Protein-D Binding Molecule*. *J Biol Chem* [Internet]. 1997;272(21):13743–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925818403687>
286. Kankavi O, Ata A, Celik-Ozenci C, Sati L, Ciftcioglu MA, Demir R, et al. Presence and subcellular localizations of surfactant proteins A and D in human spermatozoa. *Fertil Steril* [Internet]. 2008;90(5):1904–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028207037600>
287. Crouch E, Rust K, Veile R, Donis-Keller H, Grosso L. Genomic organization of human surfactant protein D (SP-D). SP-D is encoded on chromosome 10q22.2–23.1. *J Biol Chem* [Internet]. 1993;268(4):2976–83. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925818538692>
288. Lu J, Willis AC, Reid KBM. Purification, characterization and cDNA cloning of human lung surfactant protein D. *Biochem J* [Internet]. 1992 Jun 15;284(3):795–802. Available from: <https://doi.org/10.1042/bj2840795>
289. Tenner AJ, Robinson SL, Borchelt J, Wright JR. Human pulmonary surfactant protein (SP-A), a protein structurally homologous to C1q, can enhance FcR- and CR1-mediated phagocytosis. *J Biol Chem*. 1989;264(23):13923–8.
290. McIntosh JC, Swyers AH, Fisher JH, Wright JR. Surfactant Proteins A and D Increase in Response to Intratracheal Lipopolysaccharide. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1996;15(4):509–19.

291. McNeely TB, Coonrod JD. Aggregation and opsonization of type A but not type B *Hemophilus influenzae* by surfactant protein A. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1994;11(1):114–22.
292. Ghildyal R, Hartley C, Varrasso A, Meanger J, Voelker DR, Anders EM, et al. Surfactant protein A binds to the fusion glycoprotein of respiratory syncytial virus and neutralizes virion infectivity. *J Infect Dis*. 1999 Dec;180(6):2009–13.
293. Hartshorn KL, White MR, Shepherd V, Reid K, Jensenius JC, Crouch EC. Mechanisms of anti-influenza activity of surfactant proteins A and D: comparison with serum collectins. *Am J Physiol*. 1997 Dec;273(6):L1156–66.
294. Hickling TP, Bright H, Wing K, Gower D, Martin SL, Sim RB, et al. A recombinant trimeric surfactant protein D carbohydrate recognition domain inhibits respiratory syncytial virus infection in vitro and in vivo. *Eur J Immunol*. 1999 Nov;29(11):3478–84.
295. Hartshorn K, Chang D, Rust K, White M, Heuser J, Crouch E. Interactions of recombinant human pulmonary surfactant protein D and SP-D multimers with influenza A. *Am J Physiol*. 1996 Nov;271(5 Pt 1):L753–62.
296. Haagsman HP, Hawgood S, Sargeant T, Buckley D, White RT, Drickamer K, et al. The major lung surfactant protein, SP 28-36, is a calcium-dependent, carbohydrate-binding protein. *J Biol Chem* [Internet]. 1987;262(29):13877–80. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925818478738>
297. Persson A, Chang D, Crouch E. Surfactant protein D is a divalent cation-dependent carbohydrate-binding protein. *J Biol Chem* [Internet]. 1990;265(10):5755–60. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002192581939427X>
298. Wu H, Kuzmenko A, Wan S, Schaffer L, Weiss A, Fisher JH, et al. Surfactant proteins A and D inhibit the growth of Gram-negative bacteria by increasing membrane permeability. *J Clin Invest*. 2003;111(10):1589–602.
299. Sahly H, Ofek I, Podschun R, Brade H, He Y, Ullmann U, et al. Surfactant Protein D Binds Selectively to *Klebsiella pneumoniae* Lipopolysaccharides Containing Mannose-Rich O-Antigens. *J Immunol*. 2002;169(6):3267–74.
300. Kuan SF, Rust K, Crouch E. Interactions of surfactant protein D with bacterial lipopolysaccharides. Surfactant protein D is an *Escherichia coli*-binding protein in bronchoalveolar lavage. *J Clin Invest* [Internet]. 1992 Jul 1;90(1):97–106. Available from: <https://doi.org/10.1172/JCI115861>
301. Zaltash S, Griffiths WJ, Beck D, Duan CX, Weaver TE, Johansson J. Membrane activity of (Cys48Ser) lung surfactant protein B increases with dimerisation. *Biol Chem*. 2001 Jun;382(6):933–9.
302. Bruhn H. A short guided tour through functional and structural features of saposin-like proteins. *Biochem J*. 2005 Jul;389(Pt 2):249–57.
303. Olmeda B, García-Álvarez B, Pérez-Gil J. Structure–function correlations of pulmonary surfactant protein SP-B and the saposin-like family of proteins. *Eur Biophys J* [Internet]. 2013;42(2):209–22. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00249-012-0858-9>
304. Serrano AG, Ryan M, Weaver TE, Pérez-Gil J. Critical structure-function determinants within the N-terminal region of pulmonary surfactant protein SP-B. *Biophys J*. 2006 Jan;90(1):238–49.
305. Manzanares D, Rodriguez-Capote K, Liu S, Haines T, Ramos Y, Zhao L, et al. Modification of tryptophan and methionine residues is implicated in the oxidative inactivation of surfactant protein B. *Biochemistry*. 2007 May;46(18):5604–15.
306. Wimley WC, White SH. Experimentally determined hydrophobicity scale for proteins at

membrane interfaces. *Nat Struct Biol.* 1996 Oct;3(10):842–8.

307. Ryan MA, Qi X, Serrano AG, Ikegami M, Perez-Gil J, Johansson J, et al. Mapping and analysis of the lytic and fusogenic domains of surfactant protein B. *Biochemistry.* 2005 Jan;44(3):861–72.
308. Ryan MA, Akinbi HT, Serrano AG, Perez-Gil J, Wu H, McCormack FX, et al. Antimicrobial activity of native and synthetic surfactant protein B peptides. *J Immunol.* 2006 Jan;176(1):416–25.
309. Suzuki Y, Fujita Y, Kogishi K. Reconstitution of tubular myelin from synthetic lipids and proteins associated with pig pulmonary surfactant. *Am Rev Respir Dis.* 1989 Jul;140(1):75–81.
310. Foster CD, Zhang PX, Gonzales LW, Guttentag SH. In vitro surfactant protein B deficiency inhibits lamellar body formation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003 Aug;29(2):259–66.
311. Clark JC, Wert SE, Bachurski CJ, Stahlman MT, Stripp BR, Weaver TE, et al. Targeted disruption of the surfactant protein B gene disrupts surfactant homeostasis, causing respiratory failure in newborn mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 Aug;92(17):7794–8.
312. Gregory TJ, Longmore WJ, Moxley MA, Whitsett JA, Reed CR, Fowler AA 3rd, et al. Surfactant chemical composition and biophysical activity in acute respiratory distress syndrome. *J Clin Invest.* 1991 Dec;88(6):1976–81.
313. Pryhuber GS, Hull WM, Fink I, McMahan MJ, Whitsett JA. Ontogeny of surfactant proteins A and B in human amniotic fluid as indices of fetal lung maturity. *Pediatr Res.* 1991 Dec;30(6):597–605.
314. Mulugeta S, Beers MF. Surfactant protein C: Its unique properties and emerging immunomodulatory role in the lung. *Microbes Infect.* 2006;8(8):2317–23.
315. Weaver TE, Conkright JJ. Function of Surfactant Proteins B and C. *Annu Rev Physiol* [Internet]. 2001 Mar 1;63(1):555–78. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.63.1.555>
316. Horowitz AD, Elledge B, Whitsett JA, Baatz JE. Effects of lung surfactant proteolipid SP-C on the organization of model membrane lipids: a fluorescence study. *Biochim Biophys Acta.* 1992 Jun;1107(1):44–54.
317. Conkright JJ, Bridges JP, Na CL, Voorhout WF, Trapnell B, Glasser SW, et al. Secretion of surfactant protein C, an integral membrane protein, requires the N-terminal propeptide. *J Biol Chem.* 2001 May;276(18):14658–64.
318. Horowitz AD, Moussavian B, Whitsett JA. Roles of SP-A, SP-B, and SP-C in modulation of lipid uptake by pulmonary epithelial cells in vitro. *Am J Physiol Cell Mol Physiol* [Internet]. 1996 Jan 1;270(1):L69–79. Available from: <https://doi.org/10.1152/ajplung.1996.270.1.L69>
319. Noguee LM. Abnormal expression of surfactant protein C and lung disease. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002 Jun;26(6):641–4.
320. Glasser SW, Burhans MS, Korfhagen TR, Na CL, Sly PD, Ross GF, et al. Altered stability of pulmonary surfactant in SP-C-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 May;98(11):6366–71.
321. Johansson J, Curstedt T. Synthetic surfactants with SP-B and SP-C analogues to enable worldwide treatment of neonatal respiratory distress syndrome and other lung diseases. *J Intern Med* [Internet]. 2019;285(2):165–86. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/joim.12845>
322. Sato A, Ikegami M. SP-B and SP-C Containing New Synthetic Surfactant for Treatment of

Extremely Immature Lamb Lung. PLoS One [Internet]. 2012 Jul 13;7(7):e39392. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039392>

323. Savani RC, Godinez RI, Godinez MH, Wentz E, Zaman A, Zheng C, et al. Respiratory distress after intratracheal bleomycin: Selective deficiency of surfactant proteins B and C. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol*. 2001;281(3 25-3).
324. Atochina EN, Beers MF, Tomer Y, Scanlon ST, Russo SJ, Panettieri RA, et al. Attenuated allergic airway hyperresponsiveness in C57BL/6 mice is associated with enhanced surfactant protein (SP)-D production following allergic sensitization. *Respir Res*. 2003;4:1–12.
325. Walenkamp AM, Verheul AF, Scharringa J, Hoepelman IM. Pulmonary surfactant protein A binds to *Cryptococcus neoformans* without promoting phagocytosis. *Eur J Clin Invest*. 1999 Jan;29(1):83–92.
326. Al-Qahtani AA, Murugaiah V, Bashir HA, Pathan AA, Abozaid SM, Makarov E, et al. Full-length human surfactant protein A inhibits influenza A virus infection of A549 lung epithelial cells: A recombinant form containing neck and lectin domains promotes infectivity. *Immunobiology* [Internet]. 2019;224(3):408–18. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2019.02.006>
327. Piboonpocanun S, Chiba H, Mitsuzawa H, Martin W, Murphy RC, Harbeck RJ, et al. Surfactant protein a binds *Mycoplasma pneumoniae* with high affinity and attenuates its growth by recognition of disaturated phosphatidylglycerols. *J Biol Chem* [Internet]. 2005;280(1):9–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M411570200>
328. Gaiha GD, Dong T, Palaniyar N, Mitchell DA, Reid KBM, Clark HW. Surfactant Protein A Binds to HIV and Inhibits Direct Infection of CD4 + Cells, but Enhances Dendritic Cell-Mediated Viral Transfer . *J Immunol*. 2008;181(1):601–9.
329. Tino MJ, Wright JR. Surfactant protein A stimulates phagocytosis of specific pulmonary pathogens by alveolar macrophages. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol*. 1996;270(4 14-4).
330. LeVine AM, Kurak KE, Wright JR, Watford WT, Bruno MD, Ross GF, et al. Surfactant protein-A binds group B streptococcus enhancing phagocytosis and clearance from lungs of surfactant protein-A-deficient mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* [Internet]. 1999/01/28. 1999;20(2):279–86. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9922219>
331. Du J, Abdel-Razek O, Shi Q, Hu F, Ding G, Cooney RN, et al. Surfactant protein D attenuates acute lung and kidney injuries in pneumonia-induced sepsis through modulating apoptosis, inflammation and NF-κB signaling. Vol. 8, *Scientific Reports*. 2018.
332. Meschi J, Crouch EC, Skolnik P, Yahya K, Holmskov U, Leth-Larsen R, et al. Surfactant protein D binds to human immunodeficiency virus (HIV) envelope protein gp120 and inhibits HIV replication. *J Gen Virol*. 2005;86(11):3097–107.
333. LeVine AM, Whitsett JA, Hartshorn KL, Crouch EC, Korfhagen TR. Surfactant Protein D Enhances Clearance of Influenza A Virus from the Lung In Vivo. *J Immunol*. 2001;167(10):5868–73.
334. Vuk-Pavlovic Z, Standing JE, Crouch EC, Limper AH. Carbohydrate recognition domain of surfactant protein D mediates interactions with *Pneumocystis carinii* glycoprotein A. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2001;24(4):475–84.
335. Ordonez SR, van Eijk M, Escobar Salazar N, de Cock H, Veldhuizen EJA, Haagsman HP. Antifungal activities of surfactant protein D in an environment closely mimicking the lung lining. *Mol Immunol* [Internet]. 2019;105(December 2018):260–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2018.12.003>
336. Hsieh MH, Ou CY, Hsieh WY, Kao HF, Lee SW, Wang JY, et al. Functional Analysis of

Genetic Variations in Surfactant Protein D in Mycobacterial Infection and Their Association With Tuberculosis. *Front Immunol.* 2018;9(July).

337. Ferguson JS, Martin JL, Azad AK, McCarthy TR, Kang PB, Voelker DR, et al. Surfactant protein D increases fusion of Mycobacterium tuberculosis- containing phagosomes with lysosomes in human macrophages. *Infect Immun.* 2006;74(12):7005–9.
338. Ferguson JS, Voelker DR, Ufnar JA, Dawson AJ, Schlesinger LS. Surfactant Protein D Inhibition of Human Macrophage Uptake of Mycobacterium tuberculosis Is Independent of Bacterial Agglutination . *J Immunol.* 2002;168(3):1309–14.
339. Soltysiak KA, Van Schaik EJ, Samuel JE. Surfactant protein D binds to Coxiella burnetii and results in a decrease in interactions with murine alveolar macrophages. *PLoS One.* 2015;10(9):1–12.
340. Ingenito EP, Mora R, Cullivan M, Marzan Y, Haley K, Mark L, et al. Decreased surfactant protein-B expression and surfactant dysfunction in a murine model of acute lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2001;25(1):35–44.
341. Sugahara K, Iyama K, Sano K, Kuroki Y, Akino T, Matsumoto M. Overexpression of surfactant protein SP-A, SP-B, and SP-C mRNA in rat lungs with lipopolysaccharide-induced injury. *Lab Investig.* 1996 Jan;74(1):209–20.
342. Yang L, Lian X, Cowen A, Xu H, Du H, Yan C. Synergy between signal transducer and activator of transcription 3 and retinoic acid receptor- α in regulation of the surfactant protein B gene in the lung. *Mol Endocrinol.* 2004;18(6):1520–32.
343. Yang F, Zhang J, Yang Y, Ruan F, Chen X, Guo J, et al. Regulatory Roles of Human Surfactant Protein B Variants on Genetic Susceptibility to Pseudomonas Aeruginosa Pneumonia-Induced Sepsis. *Shock.* 2020;54(4):507–19.
344. Beers MF, Atochina EN, Preston AM, Beck JM. Inhibition of lung surfactant protein B expression during Pneumocystis carinii pneumonia in mice. *J Lab Clin Med.* 1999;133(5):423–33.
345. Atochina EN, Beers MF, Scanlon ST, Preston AM, Beck JM. P. carinii induces selective alterations in component expression and biophysical activity of lung surfactant. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol.* 2000;278(3 22-3):599–609.
346. Haczku A, Atochina EN, Tomer Y, Chen H, Scanlon ST, Russo S, et al. Aspergillus fumigatus-induced allergic airway inflammation alters surfactant homeostasis and lung function in BALB/c mice. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2001;25(1):45–50.
347. Akinbi HT, Bhatt H, Hull WM, Weaver TE. Altered Surfactant Protein B Levels in Transgenic Mice Do Not Affect Clearance of Bacteria from the Lungs. *Pediatr Res [Internet].* 1999;46(5):530. Available from: <https://doi.org/10.1203/00006450-199911000-00007>
348. Glasser SW, Maxfield MD, Ruetschilling TL, Akinbi HT, Baatz JE, Kitzmiller JA, et al. Persistence of LPS-induced lung inflammation in surfactant protein-C-deficient mice. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2013;49(5):845–54.
349. Sharma R, Lambu MR, Jamwal U, Rani C, Chib R, Wazir P, et al. Escherichia coli N-Acetylglucosamine-1-Phosphate-Uridyltransferase/Glucosamine-1-Phosphate-Acetyltransferase (GlmU) Inhibitory Activity of Terreic Acid Isolated from Aspergillus terreus. *J Biomol Screen.* 2016;21(4):342–53.
350. Meyerholz DK, Beck AP. Fundamental Concepts for Semiquantitative Tissue Scoring in Translational Research. *ILAR J [Internet].* 2018 Dec 1;59(1):13–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30715381>
351. Hinkle DE, Wiersma W, Jurs SG. Applied statistics for the behavioral sciences. Vol. 663.

Houghton Mifflin College Division; 2003.

352. Molina AM, Moyano MR, Serrano-Rodriguez JM, Ayala N, Lora AJ, Serrano-Caballero JM. Analyses of anaesthesia with ketamine combined with different sedatives in rats. *Vet Med (Praha)*. 2015;60(7):368–75.
353. Shekarforoush S, Fatahi Z, Safari F. The effects of pentobarbital, ketamine–pentobarbital and ketamine–xylazine anesthesia in a rat myocardial ischemic reperfusion injury model. *Lab Anim* [Internet]. 2015 Jul 29;50(3):179–84. Available from: <https://doi.org/10.1177/0023677215597136>
354. Ruebhausen MR, Brozoski TJ, Bauer CA. A comparison of the effects of isoflurane and ketamine anesthesia on auditory brainstem response (ABR) thresholds in rats. *Hear Res* [Internet]. 2012;287(1):25–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378595512000913>
355. Omri A, Suntres ZE, Shek PN. Enhanced activity of liposomal polymyxin B against *Pseudomonas aeruginosa* in a rat model of lung infection. *Biochem Pharmacol*. 2002;64(9):1407–13.
356. Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu. No Title [Internet]. 2001. Available from: http://www.etikkurul.hacettepe.edu.tr/ekler/formlar_hdek/anestez_i_tablo.pdf
357. Brain JD, Knudson DE, Sorokin SP, Davis MA. Pulmonary distribution of particles given by intratracheal instillation or by aerosol inhalation. *Env Res*. 1976/02/01. 1976;11(1):13–33.
358. Russo TA, Beanan JM, Olson R, MacDonald U, Luke NR, Gill SR, et al. Rat pneumonia and soft-tissue infection models for the study of *Acinetobacter baumannii* biology. *Infect Immun* [Internet]. 2008 Aug 1;76(8):3577–86. Available from: <https://doi.org/10.1128/IAI.00269-08>
359. Alende-Castro V, Macía-Rodríguez C, Novo-Veleiro I, García-Fernández X, Treviño-Castellano M, Rodríguez-Fernández S, et al. Q fever in Spain: Description of a new series, and systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;
360. Hraiech S, Brégeon F, Brunel J-M, Rolain J-M, Lepidi H, Andrieu V, et al. Antibacterial efficacy of inhaled squalamine in a rat model of chronic *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2012 Oct 1;67(10):2452–8. Available from: <https://doi.org/10.1093/jac/dks230>
361. Hraiech S, Hiblot J, Lafleur J, Lepidi H, Papazian L, Rolain J-M, et al. Inhaled Lactonase Reduces *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing and Mortality in Rat Pneumonia. *PLoS One* [Internet]. 2014 Oct 28;9(10):e107125. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107125>
362. Bakker-Woudenberg IA, L van GA, Michel MF. Efficacy of antimicrobial therapy in experimental rat pneumonia: antibiotic treatment schedules in rats with impaired phagocytosis. *Infect Immun* [Internet]. 1979 Jul 1;25(1):376–87. Available from: <https://doi.org/10.1128/iai.25.1.376-387.1979>
363. Zhang H, Sun T, Liu Z, Zhang J, Wang X, Liu J. Systemic Inflammatory Responses and Lung Injury following Hip Fracture Surgery Increases Susceptibility to Infection in Aged Rats. Douvdevani A, editor. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2013;2013:536435. Available from: <https://doi.org/10.1155/2013/536435>
364. Beurskens CJP, Aslami H, Kuipers MT, Horn J, Vroom MB, van Kuilenburg ABP, et al. Induced hypothermia is protective in a rat model of pneumococcal pneumonia associated with increased adenosine triphosphate availability and turnover*. *Crit Care Med* [Internet]. 2012;40(3). Available from: https://journals.lww.com/ccmjournal/Fulltext/2012/03000/Induced_hypothermia_is_protective_in_a_rat_model.29.aspx

365. Joly-Guillou ML, Wolff M, Pocidalo JJ, Walker F, Carbon C. Use of a new mouse model of *Acinetobacter baumannii* pneumonia to evaluate the postantibiotic effect of imipenem. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 1997 Feb 1;41(2):345–51. Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.41.2.345>
366. Greg H, Rhonda KL, K. LC, Gregory K, B. PG, Howard XH, et al. A Mouse Model of *Acinetobacter baumannii*-Associated Pneumonia Using a Clinically Isolated Hypervirulent Strain. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2013 Aug 1;57(8):3601–13. Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.00944-13>
367. Sibille Y, Reynolds HY. Macrophages and polymorphonuclear neutrophils in lung defense and injury. *Am Rev Respir Dis*. 1990 Feb;141(2):471–501.
368. Strieter RM, Belperio JA, Keane MP. Cytokines in innate host defense in the lung. *J Clin Invest* [Internet]. 2002 Mar;109(6):699–705. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11901175>
369. Zhang P, Bagby GJ, Stoltz DA, Spitzer JA, Summer WR, Nelson S. MODULATION OF THE LUNG HOST RESPONSE BY GRANULOCYTE COLONY-STIMULATING FACTOR IN RATS CHALLENGED WITH INTRAPULMONARY ENDOTOXIN. *Shock* [Internet]. 1997;7(3). Available from: https://journals.lww.com/shockjournal/Fulltext/1997/03000/MODULATION_OF_THE_LUNG_HOST_RESPONSE_BY.7.aspx
370. Zhang P, Summer WR, Bagby GJ, Nelson S. Innate immunity and pulmonary host defense. *Immunol Rev*. 2000;173:39–51.
371. Dietert K, Gutbier B, Wienhold SM, Reppe K, Jiang X, Yao L, et al. Spectrum of pathogen- and model-specific histopathologies in mouse models of acute pneumonia. *PLoS One*. 2017;12(11):e0188251.
372. Luna BM, Yan J, Reyna Z, Moon E, Nielsen TB, Reza H, et al. Natural history of *Acinetobacter baumannii* infection in mice. *PLoS One*. 2019;14(7):1–16.
373. Rodríguez-Hernández MJ, Pachón J, Pichardo C, Cuberos L, Ibáñez-Martínez J, García-Curiel A, et al. Imipenem, doxycycline and amikacin in monotherapy and in combination in *Acinetobacter baumannii* experimental pneumonia. *J Antimicrob Chemother*. 2000;45(4):493–501.
374. Renckens R, Roelofs JJTH, Knapp S, de Vos AF, Florquin S, van der Poll T. The Acute-Phase Response and Serum Amyloid A Inhibit the Inflammatory Response to *Acinetobacter baumannii* Pneumonia. *J Infect Dis* [Internet]. 2006 Jan 15;193(2):187–95. Available from: <https://doi.org/10.1086/498876>
375. Cesta MF, Ryman-Rasmussen JP, Wallace DG, Masinde T, Hurlburt G, Taylor AJ, et al. Bacterial lipopolysaccharide enhances PDGF signaling and pulmonary fibrosis in rats exposed to carbon nanotubes. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2010;43(2):142–51.
376. Leslie KO, Cool CD, Sporn TA, Curran-Everett D, Steele MP, Brown KK, et al. Familial Idiopathic Interstitial Pneumonia: Histopathology and Survival in 30 Patients. *Arch Pathol Lab Med* [Internet]. 2012 Nov 1;136(11):1366–76. Available from: <https://doi.org/10.5858/arpa.2011-0627-OAI>
377. O’Riordan DM, Standing JE, Kwon KY, Chang D, Crouch EC, Limper AH. Surfactant protein D interacts with *Pneumocystis carinii* and mediates organism adherence to alveolar macrophages. *J Clin Invest* [Internet]. 1995 Jun;95(6):2699–710. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7769109>
378. McKenzie Z, Kendall M, Mackay RM, Tetley TD, Morgan C, Griffiths M, et al. Nanoparticles modulate surfactant protein A and D mediated protection against influenza A infection in vitro. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2015;370(1661).

379. Lin PM, Wright JR. Surfactant protein A binds to IgG and enhances phagocytosis of IgG-opsinized erythrocytes. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol*. 2006;291(6):1199–206.
380. Betsuyaku T, Kuroki Y, Nagai K, Nasuhara Y, Nishimura M. Effects of ageing and smoking on SP-A and SP-D levels in bronchoalveolar lavage fluid. *Eur Respir J*. 2004;24(6):964–70.
381. Song JA, Yang HS, Lee J, Kwon S, Jung KJ, Heo JD, et al. Standardization of bronchoalveolar lavage method based on suction frequency number and lavage fraction number using rats. *Toxicol Res*. 2013;26(3):203–8.
382. Slade R, Crissman K, Norwood J, Hatch G. Comparison of antioxidant substances in bronchoalveolar lavage cells and fluid from humans, Guinea pigs, and rats. *Exp Lung Res*. 1993;19(4):469–84.
383. Samarghandian S, Borji A, Afshari R, Delkhosh MB, Gholami A. The effect of lead acetate on oxidative stress and antioxidant status in rat bronchoalveolar lavage fluid and lung tissue. *Toxicol Mech Methods*. 2013;23(6):432–6.
384. Russo TA, Wang Z, Davidson BA, Genagon SA, Beanan JM, Olson R, et al. Surfactant dysfunction and lung injury due to the *E. coli* virulence factor hemolysin in a rat pneumonia model. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* [Internet]. 2007/03/08. 2007;292(3):L632–43. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17341765>