

# Nozokomial *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Virülans Genlerinin Araştırılması

## Investigation of Virulence Genes of Nosocomial *Acinetobacter baumannii* Isolates

Yasemin Zer<sup>✉</sup>, Mahsun Akboru<sup>✉</sup>, Mustafa Sağlam<sup>✉</sup>, Ayşe Büyüктаş Manay<sup>✉</sup>

Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep, Türkiye

**Atf/Cite as:** Zer Y, Akboru M, Sağlam M, Büyüктаş Manay A. Nozokomial *Acinetobacter baumannii* izolatlarının virülans genlerinin araştırılması. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(1):32-39.

### Öz

**Amaç:** *Acinetobacter baumannii* cansız ortamlarda dahi aylarca canlı kalabilen önemli bir nozokomial patojendir. Son yıllarda *A. baumannii*'nin sahip olduğu birçok virülans faktörü tanımlanmıştır. Bu çalışma *A. baumannii*'nin çeşitli virülans faktörlerinin araştırılması ve bunların neden olduğu enfeksiyonlardaki klinik öneminin irdelenmesi amacı ile yapılmıştır.

**Yöntem:** Çalışma çeşitli klinik örneklerden izole edilerek bakteriyoloji arşivinde bulunmakta olan *A. baumannii* izolatları ile yapılmıştır. Bakterilerin EUCAST standartlarına uygun olarak disk-diffüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testleri çalışılmıştır. Daha sonra bu izolatların *cvaC*, *iutA*, *csfA*, *cnf1* genleri gerçek zamanlı PCR yöntemi ile çalışılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmaya 121 izolat dahil edilmiştir. İzolatlar en fazla endo-trakeal aspirat (54 örnek, %44.6) ve yara sürüntüsünden (42 örnek, %34.7) izole edildi. İzolatlara en etkin antibiyotik kolistin olarak bulunmuş olup dört izolatta (%3.3) kolistin direnci saptanmıştır. İzolatların tümünde en az bir virülans geni saptanırken, bir izolatta tüm virülans genleri saptanmıştır. En fazla 110 izolatta (%90.9) *iutA* geni, en az da dört izolatta (%3.3) *cnf1* geni saptanmıştır. *csfA* ve *cvaC* genleri de sırasıyla 15 izolat (%12.4) ve 81 izolat (%66.9) da tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Siderofor ve bakteriosin genleri izolatların çoğunda izole edilmiş olmasına rağmen, kolonizasyondan ve direk hücrel sitotoksiteden sorumlu genlerin henüz daha az yaygın olduğu saptanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** *A. baumannii*, virülans genleri, PCR

### ABSTRACT

**Objective:** *Acinetobacter baumannii* is an important nosocomial pathogen that can survive for months even in inanimate environments. In recent years, many virulence factors of *A. baumannii* have been described. This study was conducted to investigate various virulence factors of *A. baumannii* and to examine their clinical importance.

**Methods:** The study was carried out with *A. baumannii* isolates of various clinical samples and the ones in the bacteriology archive. Antibiotic susceptibility tests of bacteria were done by disk-diffusion method in accordance with EUCAST standards. Then, *cvaC*, *iutA*, *csfA*, *cnf1* genes of these isolates were assessed with real time PCR.

**Results:** A total of 121 isolates were included in the study. Isolates were mostly obtained from endotracheal aspirates (n=54, 44.6%) and wound swabs (n=42, 34.7%). The most effective antibiotic was found to be colistin while colistin resistance was found in four isolates (3.3%). At least one virulence gene was detected in all isolates, while all virulence genes were detected together in one isolate. The *iutA* gene was found in at most 110 isolates (90.9%) and the *cnf1* gene was found in at least four isolates (3.3%). The *csfA* and *cvaC* genes were also detected in 15 isolates (12.4%) and 81 (66.9%) isolates, respectively.

**Conclusion:** Although siderophore and bacteriocin genes were isolated in most of the isolates, genes responsible for colonization and direct cellular cytotoxicity were found to be less common.

**Keywords:** *A. baumannii*, virulence genes, PCR

### Alındığı tarih / Received:

07.07.2023 / 07.July.2023

### Kabul tarihi / Accepted:

22.11.2023 / 22.November.2023

### Yayın tarihi / Publication date:

25.03.2024 / 25.March.2024

### ORCID Kayıtları

Y. Zer 0000-0002-9078-9900

M. Akboru 0000-0001-5875-3142

M. Sağlam 0000-0002-0479-3250

A. Büyüктаş Many 0000-0001-5790-3006

✉ yaseminzer@hotmail.com

## GİRİŞ

*Acinetobacter baumannii* en sık izole edilen *Acinetobacter* türüdür ve hastane enfeksiyonlarının en önemli etkenlerindendir<sup>(1)</sup>. Toplum kökenli enfeksiyonlara da neden olmaktadır. *Acinetobacter* cinsi bakterilerin klinik önemleri son 30 yıl içinde belirgin olarak artmıştır. Bütün dünyada izolasyon sıklığında giderek artmakta olan nozokomial enfeksiyon etkeni *A. baumannii*'nin tedavi ve kontrolünde ciddi zorluklar yaşanmaktadır. Bu artışta bakterilerinin çevre şartlarına uyumu ile antibiyotiklere geliştirdikleri direnç rol oynamaktadır. *A. baumannii*'nin birincil antimikrobiyal tedavilere karşı gelişen direnci, yüksek bir patojenite ve antimikrobiyal direnç kombinasyonu yaratmış olup, ESKAPE patojeni olarak sınıflandırılmıştır (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter türleri*)<sup>(2)</sup>. Karbapenem dirençli *A. baumannii* 2018 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün acilen yeni terapötiklerin gerekli olduğu bir numaralı kritik öncelikli patojen olarak kabul edilmiştir<sup>(3)</sup>. Aslında bakteri çok sayıda virülans faktörüne sahip olmamakla birlikte, sahip olduğu özellikleri büyük bir verimlilikle kendi yararına kullanabilmektedir<sup>(2)</sup>.

Özellikle yoğun bakım ünitesindeki hastalarda komorbid faktörlere de bağlı olmakla beraber *A. baumannii* enfeksiyonlarına bağlı mortalite oranı %23-68'dir<sup>(4,5)</sup>. Toplumdan edinilmiş *A. baumannii* enfeksiyonları için ölüm oranları %64 kadar yüksek bildirilmiştir; bununla birlikte, toplum ve hastane enfeksiyonları arasındaki hastalık sunumundaki farklılıktan konakçının mı yoksa bakteriyel faktörlerin mi sorumlu olduğu halen araştırma konularının başında gelmektedir<sup>(6)</sup>.

*Acinetobacter baumannii*'nin en önemli virülans mekanizması, özellikle hastane ortamlarında cansız yüzeylerde biyofilm oluşturarak, aylarca canlılığını sürdürebilmesidir. Bunun yanısıra özellikle son yıllarda patojenesiden sorumlu ve genellikle kazanılmış çeşitli genler tanımlanmıştır. *A. baumannii* suşlarının önemli virülans genlerinden bazıları; bir bakteriyosin olan kolisin V üretimi (*cvaC*), bakterinin

non-fibril adezyonundan sorumlu sirküler lifler (*csg*), demir sağlamadan sorumlu siderofor proteinleri olan aerobaktin (*iutA*) ve doğrudan insan hücrelerine sitotoksik etki gösteren bir ekzotoksin olan sitotoksik nekrotizan faktör (*cnf*)'dir<sup>(7,8)</sup>. Fofolipaz C (PLC'ler) ve D fosfolipidleri hidrolize eden ve dolayısıyla konakçılarda enfeksiyonun yayılmasını kolaylaştıran *A. baumannii*'deki önemli virülans faktörlerindendir. Ayrıca elastaz da elastinin bozulmasına ve konakçı dokuların veya savunma mekanizmalarının tahrip olmasına neden olan bir başka önemli virülans faktörüdür<sup>(9,10)</sup>.

*Acinetobacter baumannii*'nin klinik izolatlarında virülans genlerinin saptanması, bu bakterinin neden olduğu hastalıkların yayılmasını kontrol etmede yardımcı olabilecek epidemiyolojik sonuçlar sağlayabilir. Bu çalışma *A. baumannii*'nin önemli virülans faktörlerinden olan; *cnf1*, *csgA*, *cvaC*, *iutA* genlerinin hastanemizde yatmakta olan hastalardan izole edilen izolatlarda bulunma sıklığının saptanması ve klinik anlamda neden olduğu enfeksiyonlarla ilişkisinin araştırılması amacı ile yapılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma; Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (07.02.2022 tarih ve 2022-59 sayı) onaylanmıştır. Çalışma Helsinki Deklarasyonu'ndaki yönergelere göre yapılmıştır.

Ağustos-Aralık 2022 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında, çeşitli klinik örneklerden izole edilerek bakteriyoloji arşivinde bulunmakta olan *A. baumannii* izolatları dahil edilmiştir.

Örneklerin toplanması: Çalışma hastanede yatan hastaların laboratuvarımıza gönderilen rutin kültürlerinden izole edilerek -20°C'de stoklanmış olan *A. baumannii* izolatları ile yapılmıştır. İzole edilen bakteriler, bakteri saklama boncukları (Microbank, Kanada) kullanılarak -20°C'de depolanmıştır. Çalışmada %5'lik bir prevelansın %5 kesinlik ve %95 güven aralığında tahmin edilebilmesi için çalışmaya dahil edilmesi gereken minimum bakteri sayısı 73

olarak tahmin edilmiştir. Çalışmaya 121 izolat dahil edilmiştir.

Bakterilerin tanımlanması: Çalışma kriterlerine uygun stok bakterilerin %5 koyun kanlı agar (BD, ABD) ve eosin metilen blue agara (EMB) (BD, ABD) pasajları yapılarak, 24 saat inkübasyon sonrası üreyen koloniler değerlendirilmiştir. Bakterilerin tanımlanması konvansiyel yöntemler (koloni morfolojisi, gram boyama) ve Phoenix (BD, ABD) tam otomatize bakteri tanımlama sistemi kullanılarak yapılmıştır.

Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması: Antibiyotik duyarlılıkları testleri disk difüzyon ve kolistin için sıvı disk elüsyon yöntemi kullanılarak EUCAST standartlarına uygun olarak çalışılmıştır<sup>(11)</sup>.

Disk difüzyon yöntemi: Disk difüzyon yöntemi ile (Bioanalyse, Türkiye) EUCAST önerisine göre sınır değeri olan antibiyotikler (karbapenemler (meropenem (10 µg), imipenem (10 µg)), siprofloksasin (5 µg), levofloksasin (5 µg), amikasin (30 µg), gentamisin (10 µg), tobramisin (10 µg) ve trimetoprim-sülfametaksazol (1.25-23.75 µg)) test edilmiştir. Kontrol suşu olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 izolatları kullanılmıştır.

Kolistin Sıvı Disk Elüsyon (SDE) yöntemi: Katyon eklenmiş Mueller Hinton sıvı besiyeri (BD, USA) içeren dört adet tüpe sırası ile bir, iki ve dört adet kolistin diski (10 µg) eklenerek, birinci tüpte 1 µg/mL, ikinci tüpte 2 µg/mL ve üçüncü tüpte 4 µg/mL antibiyotik konsantrasyonu test edildi. Dördüncü tüp, antibiyotik diski içermeyen bakteri süspansiyonu olarak kontrol olarak kullanıldı<sup>(12)</sup>. EUCAST standartlarına göre kolistin minimal inhibitör konsantrasyon değeri *Acinetobacter* spp. için  $\geq 2$  µg/mL dirençli olarak kabul edildi<sup>(11)</sup>.

Polimeraz Zincir reaksiyonu ile virülans genlerinin saptanması: Örnekler, QIASymphony SP/AS (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazında DSP Virüs/Pathogen Midi (Qiagen, Hilden, Almanya) kiti kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı.

**Tablo 1. Çalışmada kullanılan primer dizileri<sup>(13)</sup>**

Gen hedefi	Primer dizisi (3'-5')
<i>cnf1</i>	F: AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG R: CATTGAGATCCTGCCCTCATTATT
<i>csgA</i>	F: ACTCTGACTTGACTATTACC R: A AGATGCAGTCTGGTCAAC
<i>cvaC</i>	F: CACACACAAACGGGAGCTGTT R: CTTCCCGCAGCATAGTTCCAT
<i>iutA</i>	F: GGCTGGACATCATGGGAAGCTGG R: CGTCGGGAACGGGTAGAATCG

**Tablo 2. Araştırmada kullanılan PCR aşamaları**

	Zaman	Sıcaklık
	10 dakika	95°C
40 Döngü	15 saniye	95°C
	60 saniye	58°C

DNA izolasyonu tamamlanan örnekleri amplifikasyonu için Rotor Gene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) Real Time PCR cihazı kullanıldı. Amplifikasyon *kolisin V (cva C)*, *csgA erobactin (csgA)*, *feri caerobactin (iutA)*, *sitotoksik nekrozitan F (cnf)* gen bölgeleri için, literatürden belirlenen primerler (Macrogen, Kore) dizayn ettirildi ve RT2 SYBR (R) Green qPCR Mastermiks (Qiagen, ABD) kiti ile kullanılarak yapıldı (Tablo 1)<sup>(13)</sup>.

Real Time PCR cihazında her izolat için dört farklı PCR tüpü kullanıldı ve 40 PCR döngüsü yapıldı (Tablo 2).

İstatistiksel yöntemler: Verilerin analizinde SPSS 21.0 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama, standart sapma ( $\pm$ ) ve yüzdelik değerler verildi. İki parametrelili değişkenlere ilişkin karşılaştırmalarda bağımsız örneklem t testi, kategorik değişkenlere yönelik karşılaştırmalarda ki-kare analizi kullanılmıştır. Sonuçlar %95 ( $p < 0.05$ ) anlamlılık düzeyinde değerlendirildi.

## BULGULAR

Örneklem grubunun demografik özellikleri: Çalışmamıza 121 *A. baumannii* izolatı dahil edilmiştir. İzolatların hastane enfeksiyonu etkeni olup-

olmadıklarına dair bir irdelenme yapılmamış, tamamı yatan hastalardan izole edilen örneklerden alınmış, aynı hastaya ait, aynı örnek grubundan sadece ilk izolat çalışmaya alınmıştır.

İzolatların 65'i kadın (%53.7), 56'sı erkek (%46.3) hasta örneklerinden izole edilmiştir. Hastalar 1-92 yaş arasında (ortalama 58.47±22.07) olarak bulunmuştur. Kadın hastaların yaş ortalaması 61.89 (±21.13) ve erkek hastaların yaş ortalaması 54.51 (±22.66) olarak tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen bakterilerin izole edildiği hastaların cinsiyet ve yaş dağılımı açısından istatistiksel fark bulunmamıştır (p>0.05).

İzolatların klinik örnekler göre dağılımı: Çalışmada yer alan örneklerin 54'ü (%44.6) endo trakeal aspirasyon örneğinden ve 65'i (%53.7) yoğun bakım ünitelerinden izole edilmiştir (Tablo 3).

**Tablo 4. Antibiyotik direnç oranları**

Antibiyoqram adı (disk; µg)	Duyarlı izolat n (%)
Amikasin (30)	22 (18.2)
Gentamisin (10)	9 (7.4)
İmipenem (10)	3 (2.5)
Kolistin (SDE)	117 (96.7)
Levofloksasin (5)	1 (0.8)
Meropenem (10)	3 (2.5)
Siprofloksasin (5)	1 (0.8)
Tobramisin (10)	26 (21.5)
Trimetoprim/Sülfometoksazol (1.25/23.75)	19 (15.7)

SDE: Sıvı disk elüzyon

Bakterilerin antibiyotik duyarlılık sonuçları: İzolatların antibiyotik duyarlılık testi sonucunda en etkin antibiyotik kolistin olarak bulunmuş olup, dört izolatta (%3.3) direnç saptanmıştır (Tablo 4).

**Tablo 3. İzolatların izole edildikleri servis örneklere göre dağılımı**

Klinik Sayı (%)	Örnek türü Sayı (%)								Toplam
	ETA <sup>1</sup>	Yara sürüntüsü	Kan	Balgam	İdrar	BOS <sup>2</sup>	BAL <sup>3</sup>	Plevra sıvısı	
Palyatif Bakım	1 (0.8)	36 (29.8)	2 (1.7)	1 (0.8)					40 (33.1)
Dahiliye YBÜ <sup>4</sup>	15 (12.4)		2 (1.7)	2 (1.7)	1 (0.8)				20 (16.5)
Anestezi-reanimasyon YBÜ	18 (14.9)		1 (0.8)				1 (0.8)		20 (16.5)
Nöroloji YBÜ	8 (6.6)		3 (2.5)			1 (0.8)			12 (9.9)
Beyin cerrahi YBÜ	6 (5)				1 (0.8)				7 (5.8)
Pediyatri YBÜ	6 (5)								6 (5)
Enfeksiyon		3 (2.5)		3 (2.5)					6 (5)
Göğüs Cerrahisi							1 (0.8)	1 (0.8)	2 (1.7)
Ortopedi ve travmatoloji		3 (3.3)							3 (3.3)
Göğüs Hastalıkları				2 (1.7)					2 (1.7)
Onkoloji-hematoloji			3 (3.3)						3 (3.3)
Toplam	54 (44.6)	42 (34.7)	11 (9.1)	8 (6.6)	2 (1.7)	1 (0.8)	2 (1.7)	1 (0.8)	121

<sup>1</sup>ETA: Endotrakeaspiyat, <sup>2</sup>BOS: Beyin omurilik sıvısı, <sup>3</sup>BAL: Bronko-alveolar lavaj, <sup>4</sup>YBÜ: Yoğun bakım ünitesi

Tablo 5. Virülans genlerinin örnek gruplara göre dağılımı

Örnek türü (İzolot sayısı)	Gen n (%)			
	<i>cnf1</i>	<i>csfA</i>	<i>cvaC</i>	<i>iutA</i>
ETA (54)	2 (50.0)	7 (13.0)	41 (75.9)	47 (87)
Yara sürüntüsü (42)	-	4 (9.5)	24 (57.1)	41 (97.6)
Kan kültürü (11)	-	2 (18.2)	7 (69.6)	11 (100.0)
Balgam (8)	2 (50.0)	1 (12.5)	5 (62.5)	6 (75.0)
İdrar (2)	-	-	1 (50)	1 (50.0)
BOS (1)	-	1 (100.0)	-	1 (100.0)
BAL (2)	-	-	2 (100.0)	2 (100.0)
Plevra sıvısı (1)	-	-	1 (100.0)	1 (100.0)
Toplam	4	15	81	110

Tablo 6. Sitoksik ekzotoksin (*cnf1* geni) saptanan hastaların özellikleri

Hasta No	Hasta özelliği	Örnek türü	Antibiyoqram sonuçları	Klinik
1	81, K <sup>1</sup> , SVO <sup>2</sup>	ETA	Kolistin S <sup>3</sup> , Diğer antibiyotikler R <sup>4</sup>	Eksitus
2	60, E <sup>5</sup> , Ca-met <sup>6</sup>	ETA	Kolistin S, Diğer antibiyotikler R	Eksitus
3	68, E, KOAH <sup>7</sup>	Balgam	Kolistin S, Diğer antibiyotikler R	
4	64, E, KOAH	Balgam	Kolistin S, Diğer antibiyotikler R	

<sup>1</sup>K: Kadın, <sup>2</sup>SVO: Serebrovasküler olay, <sup>3</sup>S: Duyarlı, <sup>4</sup>R: Dirençli, <sup>5</sup>E: Erkek, <sup>6</sup>Ca-met: Kanser metastazi, <sup>7</sup>KOAH: Kronik obstruktif akciğer hastalığı

PCR Sonuçları: İzolatların tümünde en az bir virülans geni saptanırken, bir izolatta tüm virülans genleri saptanmıştır. En fazla *iutA* geni saptanmıştır (Tablo 4).

Virülans genlerinin örnek gruplarına göre dağılımında *cnf1* geni saptanan dört izolatlardan ikisi balgam örneklerinde olduğu bulunmuştur (Tablo 5).

Siderofor proteinleri ile ilgili genlerin çoğu *A. baumannii* izolatlarında yaygın olarak bulunduğu (izolatların %90.9), bununla birlikte hücrel sitotoksiteden sorumlu olan ekzotoksinin sadece dört (%3.3) izolatta bulunduğu saptanmıştır (Tablo 6).

## TARTIŞMA

Son yıllarda, *A. baumannii*'nin hastanede yatan hastalarda yayılan nozokomiyal bir patojen olduğu defalarca rapor edilmiştir. *A. baumannii*'nin çevrede uzun süre hayatta kalabilmesi ve çoklu ilaç direnci

kazanabilmesi ciddi anlamda endişe vericidir<sup>(1)</sup>. Duyarlı *A. baumannii* izolatlarının tedavisinde karbapenemler (imipenem, meropenem ve doripenem) ilk tedavi seçeneğidir<sup>(2)</sup>. Bununla birlikte, karbapenemlere karşı direnç dünya çapında önemli ölçüde artmaktadır ve dirençte çeşitli mekanizmalar yer almaktadır. Karbapenemaz üretimi, özellikle  $\beta$ -Laktamazlar sınıf D ve sınıf B (Metallo- $\beta$ -Laktamazlar), direncin ana mekanizmasıdır. *NDM-1*'in ortaya çıkışı, *A. baumannii*'de metallo- $\beta$ -laktamazlara ait önemli bir direnç mekanizmasıdır. Plazmit kaynaklı bu beta-laktamaz özellikle kolay yayılması açısından endişe vericidir.  $\beta$ -Laktam antibiyotik direncinde yer alan diğer mekanizmalar arasında porin geçirgenliğinin azalması, penisilin bağlayıcı proteinlerin modifikasyonu ve akış pompalarının artan ekspresyonu yer alır<sup>(14)</sup>. *A. baumannii*'de diğer antimikrobiyal maddelere karşı direnç de yüksektir. DNA giraz ve DNA topoizomaz IV'ün mutasyonları, florokinolonların enzim-DNA kompleksine olan afinitesini azaltarak florokinolonlara dirençle sonuçlanır. Ek olarak, akış pompalarının artan

ekspresyonu ve plazmitle kodlanmış kinolon direnci belirleyicileri, florokinolon direncinde yer alır. Adeniltransferazlar, asetiltransferazlar ve fosfotransferazlar gibi enzimler aminoglikozit direncine yol açar. Ayrıca geçirgenlik kaybı, effluks pompalarının aktivitesinde artış ve ribozom modifikasyonu aminoglikozitlere karşı diğer direnç mekanizmalarıdır<sup>(14,15)</sup>. Yaygın ve çoklu antibiyotik direncindeki önemli artış nedeniyle *A. baumannii* enfeksiyonlarında kolistin bazlı tedavi rejimlerinin kullanılması önerilir<sup>(14)</sup>. Kombinasyon tedavisinin, çeşitli direnç belirleyicilerini hedeflemesi nedeniyle monoterapiden daha olumlu bir sonuca sahip olduğu unutulmamalıdır. Başarılı tedavi için kolistinle birlikte sulbaktam ve tigesiklin ile tedavi önerilmiştir<sup>(15)</sup>. Kolistin direncinin iki ana mekanizması, *pmrCAB* operonundaki değişiklikler ve lipit A biyosentezindeki mutasyonlardır; bu mekanizmaların her ikisi de lipit A'yı etkileyerek kolistine karşı dirence neden olur<sup>(14,15)</sup>. Bu çalışmada izolatların karbapenem, aminoglikozid ve kinolon grubu antibiyotiklere %78.5-99.2 oranında dirençli olduğu saptanmış, kolistine dört izolatta direnç bulunmuştur. Saptanmış olan yüksek direnç oranları etkenin tedavisindeki zorluğu yansıtmakta olup, aslında enfeksiyona yol açmaması açısından alınması gereken koruyucu önlemlerin daha önemli olduğunu göstermektedir.

*Acinetobacter baumannii*'nin klinik önemi, direnç genlerinin geniş genetik yayılımına ve hastanelerde, özellikle YBÜ'de bakteriyel kalıcılığa bağlıdır<sup>(16,17)</sup>. Ayrıca sahip olduğu çeşitli virülans genleri hastalık patogenezinde önemlidir<sup>(18)</sup>.

*Acinetobacter baumannii*'de *cvaC* geni bir bakteriyosin olarak görev almaktadır. Bu çalışmada izolatların %66.9'unda bu gen saptanmıştır. Abdullah ve ark.<sup>(19)</sup> bu oranı %40 olarak bildirmiştir.

Biyofilm, *A. baumannii*'nin önemli bir virülans faktörüdür. *csgA* geni bakterinin non-fibrial adezyonundan sorumlu, dış membranda yer alan sirküler lifler olarak ifade edilen yapıların sentezinden sorumludur. Adezyon hem cansız (biyofilm oluşumu), hem de canlı ortama tutunması (kolonizasyon) ve kalıcılığında ilk aşama olarak kabul edilir<sup>(16)</sup>. Bu çalışmada 15 izolatta (%12.4) *csgA* geni saptanmıştır.

Momtaz ve ark.<sup>(13)</sup> laboratuarda çeşitli klinik örneklerden izole edilen *A. baumannii* izolatlarında %12.39, Mohajeri ve ark.<sup>(20)</sup> klinik örneklerden izole edilen karbapenemaz üreten *A. baumannii* izolatlarında %54 olarak *csgA* geni saptadıklarını bildirmişlerdir. Oranlar arasındaki farkların farklı örnek gruplarının çalışılmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

*Acinetobacter baumannii*'deki demir alma sistemi, düşük moleküler demire özgü şelatörlerin (sideroforlar) üretimine dayanır. *A. baumannii* suşları tarafından üretilen en iyi bilinen siderofor, acinetobactin'dir. Aerobactin, *A. baumannii*'de, siderofor-ferrik kompleks reseptörünü harekete geçiren bir dış zar proteindir<sup>(21,22)</sup>. Bu çalışmada 110 izolatta (%90.9) *iutA* geni saptanmıştır. Çeşitli çalışmalarda bu oran %19-23.8 olarak bildirilmiştir<sup>(2,23,24)</sup>. Bu çalışmada oranın çok yüksek olması tüm izolatların hastanede yatan hastalardan seçilmiş olması veya muhtemel benzer klonal dağılıma sahip olmasına bağlı olabilir. Aerobactinin özellikle antibiyotik direnci ile ilgili olabileceği bildirilmektedir<sup>(25)</sup>. Saptanmış olduğumuz izolatlarda yaygın ilaç direncinin varlığının da bununla ilişkili olabilmesi mümkündür. Demir iyonu bakterinin antibiyotikleri etkisizleştiren litik enzimleri açısından ko-faktör olabileceğinden bu hipotezin daha detaylı irdelenmesinin faydalı olacağını, yeni tedavi seçeneklerinin oluşturulmasında hedef alan oluşturabileceğini düşünmekteyiz.

Sitotoksik nekrozitan faktör *cnf2*, *cnf3*, *cdt1*, *cdt2*, *cdt3* ve *cdt4* olarak gruplandırılan bir gen kümesinde bulunmaktadır. Bu gen kümesinin konak hücre fonksiyonlarında değişikliklere, epitel hücrelerinde hasara ve enflamatuar yanıtı uyarmak gibi doku patolojilerine yol açabilecek güçlü virülans faktörlerine neden olduğunu öne süren sınırlı sayıda klinik-epidemiolojik çalışma vardır<sup>(2,26)</sup>. Bu çalışmada sadece *cnf1* taranmış ve izolatların %3.3'ünde saptanmıştır. Literatürde %0-50 oranında genin varlığını bildiren veriler bulunmaktadır<sup>(26-28)</sup>. Sitotoksik nekrozitan gen saptanmış olduğumuz dört hastanın (Tablo 6) ikisinde mortalite olması, diğer iki hastada da KOAH varlığı, etkende bu gen varlığında oluşan enfeksiyonların seyrinde daha yıkıcı sonuçlara yol açabileceğini ve hastalık seyrinde önemli bir

virülans faktörü olabileceği düşünülmüş olup, daha geniş vaka serileri ile irdelenmelidir.

Çalışmada izolatların klonal analizinin yapılmaması ve *cnf* geninde tek alel taranması (*cnf1*) bu çalışmanın kısıtlılığıdır. Tedavi açısından en çok sorun yaşanan patojenlerden olan *A. baumannii* izolatlarına karşı özellikle esansiyel virülans genlerinin saptanması, yeni tedavi seçeneklerinin oluşturulması açısından önemlidir. Bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede yeni geliştirilen antibiyotiklere bakterilerin kısa sürede direnç geliştirmesi, farklı stratejilerin uygulanmasını gerektirmektedir. Virülans genleri olarak ifade edilen nükleotid dizilerinin protein ürünlerinin oluşturulması ve bu yapılara karşı farmakolojik preparatların geliştirilmesi bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde ilerde kullanılacak farklı yaklaşımlardan biri olabilir. Söz gelimi *A. baumannii* izolatlarında hücresel adezyondan sorumlu genin ürünü olan protein sentetik olarak sentezlenebilir ve bu proteine karşı geliştirilen moleküller ile etkenin hücresel adezyonu engellenebilir. Şimdilik uzak bir hedef gibi görünse de ilerde bu tür çalışmaların yaygınlaşacağını düşünmekteyiz.

**Etik Kurul Onayı:** Bu araştırma; Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (07.02.2022 tarih ve 2022-59 sayılı) onaylanmıştır.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansman:** Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

**Ethics Committee Approval:** This research was conducted with the approval of Gaziantep University, Clinical Research Ethics Committee (02.07.2022; 2022-59).

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Funding:** Gaziantep University Scientific Research Coordination Office.

## KAYNAKLAR

- Harding CM, Hennon SW, Feldman, MF. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nat Rev Microbiol.* 2017;16(2):91-102. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.148>
- Roca I, Espinal P, Vila-Farrés X, Vila J. The *Acinetobacter baumannii* oxymoron: Commensal hospital dweller turned pan-drug-resistant menace. *Front Microbiol.* 2012;3:148. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00148>
- Shlaes DM, Bradford PA. Antibiotics-From There to Where?: How the antibiotic miracle is threatened by resistance and a broken market and what we can do about it. *Pathog Immun.* 2018;3(1):19-43. <https://doi.org/10.20411/pai.v3i1.231>
- Morris FC, Dexter C, Kostoulas X, Uddin MI, Peleg AY. The mechanisms of disease caused by *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol.* 2019;10:1601. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01601>
- Dexter C, Murray GL, Paulsen IT, Peleg AY. Community acquired *Acinetobacter baumannii*: clinical characteristics, epidemiology and pathogenesis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2015;13(5):567-73. <https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1025055>
- Falagas ME, Karveli EA, Kelesidis I, Kelesidis T. Community acquired *Acinetobacter* infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007;26(12):857-68. <https://doi.org/10.1007/s10096-007-0365-6>
- Eraç B, Yılmaz FF, Hoşgör Limoncu M, Öztürk İ, Aydemir Ş. Çok ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında virülans faktörlerinin araştırılması. *Mikrobiyol Bul.* 2014;48(1):70-81. <https://doi.org/10.5578/mb.6981>
- Eijkelkamp BA, Stroehrer UH, Hassan KA, Paulsen IT, Brown MH. Comparative analysis of surface-exposed virulence factors of *Acinetobacter baumannii*. *BMC Genomics.* 2014;15(1):1020. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-1020>
- Antunes LC, Visca P, Towner KJ. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. *Pathog Dis.* 2014;71(3):292-301. <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12125>
- 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*). *Microbial Pathog.* 2017;110:568-72. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.08.001>

11. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint interpretation of MICs and zone diameter. EUCAST. Version 4.0; 2016.10.
12. Simner PJ, Bergman Y, Trejo M, et al. Two-site evaluation of the colistin broth disk elution test to determine colistin in vitro activity against Gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol.* 2019;30;57(2):e01163-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.01163-18>
13. Momtaz H, Seifati SM, Tavakol M. Determining the prevalence and detection of the most prevalent virulence genes in *Acinetobacter baumannii* isolated from hospital infections. *Int J Med Lab.* 2015;2(2):87-97.
14. Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms pathogens. 2021;10(3):37. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030373>
15. Dehbanipour R, Ghalavand Z. *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, virulence factors, novel therapeutic options and mechanisms of resistance to antimicrobial agents with emphasis on tigecycline. *J Clin Pharm Ther.* 2022;47(11):1875-84. <https://doi.org/10.1111/jcpt.13787>
16. 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. <https://doi.org/10.1264/jsme2.me10179>
17. Asif M, Alvi IA, Rehman SU. Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infect Drug Resist.* 2018;11:1249-60. <https://doi.org/10.2147/IDR.S166750>
18. McConnell MJ, Actis L, Pachón J. *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol Lett.* 2013;37(2):130-55. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00344.x>
19. Abdullah RM, Ahmed RZT. Sequencing analysis of *cvuC* gene in *Acinetobacter baumannii* that isolates from different infections. *J Appl Sci Nanotech.* 2021;1(4):24-31. <https://doi.org/10.53293/jasn.2021.3782.1042>
20. Mohajeri P, Rezaei Z, Sharbati S, et al. Frequency of adhesive virulence factors in carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical samples in West of Iran. *Asian J Bio Sci.* 2014;7(4):158-64. <https://doi.org/10.3923/ajbs.2014158164>
21. Sefid F, Rasooli I, Jahangiri A. In silico determination and validation of baumannii acinetobactin utilization a structure and ligand binding site. *Biomed Res Int.* 2013;2013:172784. <https://doi.org/10.1155/2013/172784>
22. Luo TL, Rickard AH, Srinivasan U, Kaye KS, Foxman B. Association of *blaOXA-23* and *bap* with the persistence of *Acinetobacter baumannii* within a major healthcare system. *Front Microbiol.* 2015;6:182. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00182>
23. Ahmad NH, Mohammad GA. Detection of some virulence genes and variation of *Acinetobacter baumannii*. *Middle East J Sci.* 2021;7(1):64-79. <https://doi.org/10.51477/mejs.899167>
24. Higgins PG, Dammhayn C, Hackel M, Seifert H. Global spread of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(2):233-8. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp428>
25. Liu C, Chang Y, Xu Y, et al. Distribution of virulence-associated genes and antimicrobial susceptibility in clinical *Acinetobacter baumannii* isolates. *Oncotarget.* 2018;9(31):21663-73. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24651>
26. Al-Falahat SY, Al-Drighi WA. Molecular identification of *rbIB*, *cnf1* and *csuE* genes *Acinetobacter baumannii* isolated from burn, wound infection and environmental samples. *HIV Nursing.* 2023;23(1):22-7. <https://doi.org/10.31838/hiv23.01.5>
27. Darvishi M. Virulence factors profile and antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from various infections recovered from immunosuppressive patients. *Biomed Pharm J.* 2016;9(3):1057-62. <https://doi.org/10.13005/bpj/1048>
28. Daryanavard R, Safaei HR. Virulence genes and antimicrobial resistance properties of *Acinetobacter baumannii* isolated from pediatrics suffered from UTIs. *Int J Adv Res Biol Sci.* 2015;2(11):272-9.