

Derleme

# *Acinetobacter baumannii*'de Antibiyotik Direnci ve AdeABC Aktif Pompa Sistemleri: Literatürün Gözden Geçirilmesi

Tuba Dal\*, Mehmet Sinan Dal\*\*, İsmail Ağır\*\*\*

## Özet

*Acinetobacter baumannii*, özellikle yoğun bakım ünitelerindeki hastalarda kolonize olabilen nonfermentatif, Gram-negatif bakteridir. Son 20 yıldır bu mikroorganizma pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları, septisemi ve menenjit gibi ciddi hastalık tablolarından sorumlu çoklu ilaç direnci gösteren bir patojen olarak karşımıza çıkmaktadır. Son çalışmalar *Acinetobacter baumannii*'nin çoklu ilaç direncinden sorumlu ana mekanizmanın aktif pompa sistemleri olduğunu göstermiştir. *Acinetobacter baumannii*'de RND ailesinin bir üyesi olan AdeABC aktif pompa sistemi tanımlanmıştır. Aktif pompa sistemleri tek bir adımda birden çok sınıftaki antibiyotiğe karşı dirence neden olurlar. Bu pompa sistemi tetrasiklinleri, eritromisini, kloramfenikölü, trimetoprimi, florokinolonları, bazı beta laktamları ve tigesiklini substrat olarak kullanabilirler. AdeABC aktif pompasının substratları olan ilaçlar, AdeABC genlerinin ekspresyonunu artırarak çoklu ilaç direncine yol açarlar. Sunulan bu çalışmada, *Acinetobacter baumannii*'nin karakteristik özellikleri ve ilaç direnci mekanizmaları literatürün gözden geçirilmesi ile birlikte tartışılmıştır. *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının tedavisi için aktif pompa sistemleri ile ilgili yeni çalışmalara ihtiyaç duymaktayız.

**Anahtar kelimeler:** *Acinetobacter baumannii*, çoklu ilaç direnci, aktif ilaç pompası-AdeABC

*Acinetobacter baumannii* hastanede yatan hastalarda kolonize olarak ciddi enfeksiyonlara, septik şoka ve ölümlere yol açan fırsatçı bir patojendir. Bu bakteriler özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda sıklıkla idrar yolu enfeksiyonlarına ve pnömonilere neden olmaktadır (1).

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yapılan geniş çaplı bir sürveyans çalışmasında yoğun bakımda kazanılmış pnömonilerin %5-10'undan *A. baumannii*'nin sorumlu olduğu belirtilmiştir (3). *A. baumannii*'nin neden olduğu nozokomiyal pnömonilerin sıklığı ülkeden ülkeye, bölgeden bölgeye değişmekle (%27-50) birlikte, bu pnömonilerde mortalite oranı %30-70 arasındadır (2).

*A. baumannii* pnömonilerinin kliniği ve radyolojisi diğer Gram-negatif bakteri pnömonilerine (ateş, nötrofili, pürülan balgam, PA'da infiltrasyonlar) benzerlik göstermektedir (2).

*A. baumannii* enfeksiyonları arasında özellikle kateterli hastalarda görülen idrar yolu enfeksiyonları da önemli bir yer tutmaktadır. Bir çalışmada yoğun bakımdan kazanılmış idrar yolu enfeksiyonlarının %1,6'sının *A. baumannii*'ye bağlı olduğu bulunmuştur (4). *A. baumannii*'ye bağlı menenjit olguları da özellikle ventriküler drenajı olan, beyin ameliyatı geçiren hastalarda karşımıza çıkmaktadır. Bu olguların mortalite oranları (%70) oldukça yüksektir (5).

Ayrıca bu mikroorganizmalar cilt ve yara enfeksiyonları, endokardit, peritonit (sıklıkla periton diyaliz hastalarında), konjunktivit, osteomyelit, sinovit gibi birçok enfeksiyon tablosuna da yol açmaktadır (1).

*A. baumannii* bakteremisi ve sepsisi de yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda sık görülmektedir (1,2).

\*Bismil Devlet Hastanesi Merkez Laboratuvarı

Diyarbakır/TURKEY

\*\*Çınar İlçe Entegre Hastanesi Diyarbakır/TURKEY

\*\*\*Bismil Devlet Hastanesi Diyarbakır/TURKEY

**Yazışma Adresi:** Dr. Tuba Dal, Bismil Devlet Hastanesi

Biyokimya ve Mikrobiyoloji Laboratuvarları

Diyarbakır/TURKEY

E-mail: tuba\_dal@yahoo.com

Makalenin Geliş Tarihi: 04.01.2011

Makalenin Kabul Tarihi: 15.08.2012

Tablo 1. *Acinetobacter* cinsi içinde yer alan bakterilerin tür adları ve genomik tipleri (9)

	Tür adı	Genomik tipi		Tür adı	Genomik tipi
	İsmlendirilen Türler	<i>A. baumannii</i>		2	İsmlendirilmeyen Türler
<i>A. baylyi</i>		-	-	6	
<i>A. bouvetii</i>		-	-	10	
<i>A. calcoaceticus</i>		1	-	11	
<i>A. gernerii</i>		-	-	13TU <sup>1</sup>	
<i>A. grimontii</i>		-	-	14BJ <sup>2</sup> ,14TU <sup>1</sup>	
<i>A. haemolyticus</i>		4	-	14BJ <sup>2</sup>	
<i>A. johnsonii</i>		7	-	15BJ <sup>2</sup>	
<i>A. junii</i>		5	-	15TU <sup>1</sup>	
<i>A. lwoffii</i>		8/9	-	16	
<i>A. parvus</i>		-	-	17	
<i>A. radioresistens</i>		12	-	1-3 arasındaki tür	
<i>A. schindleri</i>		-	-	13TU benzeri	
<i>A. tandoii</i>		-			
<i>A. tjernbergiae</i>		-			
<i>A. townneri</i>		-			
<i>A. ursingii</i>		-			
<i>A. venetianus</i>		-			

<sup>1</sup>TU: Tjenberg ve Ursing tarafından gösterilen genomik tipler

<sup>2</sup>BJ: Bouvet ve Jeanjean tarafından gösterilen genomik tipler

ABD’de 1995 ve 2000 yılları arasında hastanede yatan hastalarda yapılan bir çalışmada, yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda, *A. baumannii*’ye bağlı dolaşım sistemi enfeksiyonlarının daha yaygın olduğu ve mortalitelerinin de yüksek olduğu bildirilmiştir (6). *A. baumannii* enfeksiyonlarına hazırlayıcı faktörler arasında cerrahi uygulamalar, travma, kateter kullanımı, diyaliz, malignansiler, intrakranial kanamalar yer almaktadır (2). *A. baumannii* enfeksiyonları için belirlenen risk faktörleri; çevrenin veya kullanılan materyallerin önceden mikroorganizma ile kontamine olması (cihazlar, su banyoları, kateterler, ventilatörler), hastanın yenidoğan veya ileri yaşta olması, uzun süre hastanede yatma, hastanın entübe olması, cerrahi ve invaziv girişimler, alta yatan hastalık varlığı, uzun süre antibiyotik kullanımı gibi faktörlerdir (2).

#### ***Acinetobacter baumannii*’nin tarihesi ve sınıflandırmadaki yeri**

Asinetobakterler 1800’lü yılların sonunda, morfolojik özelliklerine ilk kez dikkat çeken iki bilim adamının adlarına ithafen ‘Morax-Axenfeld basilleri’ olarak adlandırılmışlardır (2). *Diplococcus mucosus*, *Micrococcus*

*calcoaceticus*, *Alcaligenes haemolysans*, *Mima polymorpha*, *Moraxella lwoffii*, *Herellea vaginicola*, *Bacterium anitratum*, *Moraxella lwoffii* var. *glucidolytica*, *Neisseria winogradskyi*, *Achromobacter anitratum*, *Achromobacter mucosus* daha sonraki yıllarda asinetobakterlere verilen diğer isimlerdir (1). Brisou ve Pre’vot 1954’de benzer morfolojik özellikler gösteren bu mikroorganizmalar arasında bazılarının hareketsiz olduklarını göstermişler ve Yunanca hareketsiz anlamına gelen ‘Akinetos’ sözcüğünden esinlenerek bu bakterilere ‘*Acinetobacter*’ adını vermişlerdir (1, 2). Baumann ve ark. 1968 yılında asinetobakterlerin biyokimyasal ve morfolojik özelliklerini ayrıntılı olarak ortaya koymuşlar, ardından 1971’de bu bakteriler *Moraxellaceae* ailesi içinde *Acinetobacter* cinsi olarak sınıflandırmadaki yerlerini almışlardır (2, 7). Bu cins içinde tanımlanan ilk tür *Acinetobacter calcoaceticus* olmuştur (2). Bouvet ve Grimont 1986’da DNA-DNA hibridizasyon yöntemini kullanarak *Acinetobacter* cinsi üyelerini 12 türe ayırmışlardır (8). Takip eden yıllarda bu türlere yenileri eklenmiş ve *Acinetobacter* cinsi bakteriler 25 farklı tür olarak sınıflandırılmıştır (7). *Acinetobacter baumannii*, *A. calcoaceticus*, *Acinetobacter* genomik tür 3

ve Acinetobacter genomik tür 13TU, sakkarolitik özellikte olup oksidasyon- fermentasyon besiyerlerinde karbohidratların hepsinden asit oluşturmaktadırlar (1). Fenotipik özellikleri açısından birbirlerine benzerlik gösterdiklerinden bu dört tür daha sonra 'A. calcoaceticus-A. baumannii kompleks' adı altında toplanmışlardır (Tablo 1) (1, 9)

### Acinetobacter baumannii'nin genel özellikleri ve tanımlanması

*A. baumannii*, fermentasyon yapmayan, Gram-negatif, hareketsiz, katalaz pozitif, oksidaz negatif bir mikroorganizmadır. Mikroskopik olarak Gram-negatif basil, kokobasil veya diplokok şeklinde görülen bu mikroorganizmalar taze kültürlerinde Gram-pozitif olarak görülebilmektedirler. *Acinetobacter* cinsi bakteriler klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan koyun kanlı agar, triptik soy agar ve McConkey besiyerlerinde kolay ürerler. Koyun kanlı agarda 0,5-2 mm çapında, şeffaf veya opak, zeminden kabarık kolonile oluştururlar (1). *Acinetobacter haemolyticus* ve diğer türlerin çoğu (*Acinetobacter* genomik tür 6, 13BJ, 14BJ, 15BJ, 16 ve 17) koyun kanlı agarda hemoliz oluşturmalarına rağmen 'A. calcoaceticus-A. baumannii kompleks' üyeleri bu özelliğe sahip değildirler (1, 9). *A. baumannii* rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan geleneksel yöntemlerle, karbon kaynaklarının asimilasyonu temeline dayanan yarı otomatize ve otomatize sistemlerle tanımlanabilmektedir (10). Epidemiyolojik olarak tiplendirilmesinde; biyokimyasal ve serolojik özelliklerinden, bakteriyofajlardan, bakteriyosinlerden, plasmid ve protein profillerinden yararlanır. Multilokus enzim elektroforezi, 'pulse-field jel elektroforezi' (PFGE), PCR, rastgele amplifiye polimorfik DNA analizi (RAPD) gibi yöntemler tiplendirilmede kullanılan diğer yöntemlerdir (10). *Acinetobacter* cinsi bakteriler doğada; toprakta ve suda, insan vücudunun normal florasında bulunmaktadırlar.

*A. lwoffii*, *A. johnsonii*, *A. radioresistens*, *Acinetobacter* genomik tür 3, genomik tür 11, genomik tür 15BJ normal flora üyesi iken *A. baumannii*'ye normal florada nadiren (%0.5-1) rastlanmaktadır (1,2,11,12). Hastanede yatan hastalarda ise *A. baumannii* ile kolonizasyon oranı sağlıklı bireylere kıyasla çok daha yüksektir (11, 12).

### Acinetobacter baumannii' de hücre duvarı organizasyonu

*Acinetobacter* cinsi bakterilerin hücre duvarı yapısı diğer Gram-negatif bakterilere benzerlik

göstermektedir. *A. baumannii*'de L-ramnoz, D-glikoz, D-glukronik asit, D-mannozdan oluşan polisakkarit yapıda bir kapsül bulunmakta ve bu kapsül bakterinin fagositozdan korunmasında rol oynayarak bakterinin virülansına katkıda bulunmaktadır (1). Kapsülün hücre yüzeyi hidrofobitesini artırdığı ve medikal aletlere yapışmada rol oynadığı gösterilmiştir (2).

*A. baumannii*, diğer Gram-negatif bakterilerde olduğu gibi sitoplazmik membranı çevreleyen bir dış membrana sahiptir. Dış membranının lipopolisakkarit tabakası; hidrofobik lipit A, polisakkarit yapıdaki kor tabakası ve hidrofilik O antijeninden oluşmaktadır. Doymuş yağ asitlerinden meydana gelen Lipit A endotoksin aktivitesine sahiptir. Kor polisakkariti, lipit A ve O antijeni arasında yer almaktadır. Polisakkarit tabaka hapten niteliğinde olup antijenik özellik göstermekte ve ayrıca bakteriyofajlara özgü reseptörler taşımaktadır (10). O antijeni tekrarlayan karbonhidratlardan oluşmuştur. *A. baumannii*'nin dış membranında, diğer Gram-negatif bakterilerdekine benzer şekilde çeşitli proteinler (porinler, integral proteinler) yer almaktadır. Bu proteinler hücre duvarına seçicilik kazandırmakta, bazı moleküllerin hücre içine girişini; bazılarının da (hidrolitik enzimler vb.) hücre dışına çıkışını engellemektedir (10). Dış membranda bulunan bu proteinlerin kaybı antimikrobiyal direncin ortaya çıkışında önemli bir mekanizmadır. *A. baumannii*'nin ana porini, dış membranda yer alan 35.6 kDa'lık ısıya duyarlı bir protein olan 'heat-modifiable protein'dir (HMP-AB) (13). Bu porin *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinin OmpA ve *P. aeruginosa*'nın OprF porinleri ile yakın benzerlik göstermektedir. *A. baumannii*'nin HMP-AB porini, (3-laktam antibiyotiklerin hücre içine girişine izin veren bir porin olup bu porinin kaybı penisilin ve sefalosporinlere karşı direnç gelişmesine neden olmaktadır. Bu porinin aşırı ekspresyonu sefalosporinlerin hücre içine girişini artırarak, ampC enzimi varlığında bile sefalosporinlere karşı duyarlılık artışına neden olmaktadır (13). *A. baumannii*'deki diğer dış membran proteinleri arasında 33-36 kDa'lık protein, 29 kDa'lık porin yapısında CarO proteini, bu porinle birlikte bulunan 25 kDa'lık protein ve 43 kDa'lık bir protein yer almaktadır. 29 kDa'lık CarO, özgül olmayan monomerik bir kanal proteini; 43 kDa'lık protein ise karbapenem özgü OprD benzeri bir porin proteindir. *A. baumannii*'de bulunan diğer bir dış membran proteini de, *E. coli* ve *P. aeruginosa* 'daki OmpW ile benzerlik gösteren OmpW benzeri porindir (13). *A. baumannii*'de dış membran ile sitoplazmik membran arasında yer alan periplazmik aralıkta,

proteaz, fosfataz, lipaz, nükleaz gibi hidrolitik enzimler ve penisilin bağlayıcı proteinlerin de aralarında olduğu çok sayıda protein bulunmaktadır (10). Fosfolipid yapıdaki sitoplazmik membranda da farklı protein ailelerine mensup çeşitli transport proteinleri yer almakta olup bunlar arasında bazılarının (AdeB) antimikrobialları ve toksik bileşikleri hücre dışına aktif olarak pompalayarak *A. baumanW* nin doğal ve kazanılmış ilaç direncine katkıda buldukları gösterilmiştir (14).

### **Antibiyotik duyarlılığı ve antibiyotik direnç mekanizmaları**

*A. baumannii*, antibiyotiklere dirençli izolatlarının enfeksiyon etkeni olarak sıklıkla saptandığı ve bu nedenle eradikasyonunda zorluklar yaşanan bir mikroorganizmadır. Klinik izolatları genel olarak penisilin, ampicilin, sefalotin, kloramfenikole direnç gösteren *A. baumannii* de antibiyotik direnç prevalansı, bölgeden bölgeye hatta hastaneden hastaneye göre değişiklik göstermektedir. Yapılan çalışmalar 1980'li yıllardan itibaren *A. baumanW* nin klinik izolatlarında antibiyotik direncinin giderek arttığını ortaya koymaktadır (15).

ABD'de 'The National Nosocomial Infections Surveillance' (NNIS) tarafından yapılan ve 1986-2003 yılları arasında kapsayan bir çalışmada *A. baumanW* de seftazidim direncinin %24'den %67'ye, amikasin direncinin %3'den %20'ye, imipenem direncinin de %20'lere çıktığı ortaya konmuştur (16). On bir Avrupa ülkesinin katıldığı bir diğer izlem çalışmasında (MYSTIC Program 1997-2000) 37 hastaneden toplanan asinetobakter izolatlarının %14'ü meropenem, %16'sı imipenem dirençli bulunmuştur. Bu çalışmada piperasilin-tazobaktam, tobramisin, seftazidim ve siprofloksasine direnç daha yüksek oranlarda bulunmuş olup bu oranlar sırasıyla %39, %41, %45 ve %53'dür. Türkiye'nin farklı bölgelerinin de dahil olduğu bu çalışma, ülkemize ait asinetobakter izolatlarında imipenem direncinin %38, meropenem direncinin %34 olduğunu ve izolatların %80'inden fazlasının piperasilin-tazobaktam, seftazidim ve siprofloksasine dirençli olduğunu ortaya koymuştur (17). MYSTIC grubunun 2000-2003 yılları arasında yaptıkları çalışmada ise Türkiye'de izole edilen asinetobakterlerin %42'sinin meropenem, %48'inin imipenem, %84'ünün seftazidime, %91'inin sefotaksime, %76'sının sefepime, %82'sinin piperasilin-tazobaktama, %79'unun siprofloksasine, %57'sinin tobramisine dirençli olduğu görülmüştür (18).

*A. baumannii*'de ilaç direncinden sorumlu çok sayıda mekanizma mevcuttur. Bunların bir kısmı antibiyotiklere özgü direnç mekanizmaları; diğerleri ise çoklu ilaç direncinden sorumlu mekanizmalardır (19).

### **Antibiyotiğe özgü direnç mekanizmaları**

*A. baumannii*'de antibiyotiklere özgü direnç mekanizmaları, diğer bakterilerdekine benzer şekilde antibiyotik molekülünün modifikasyonu ve/veya inaktivasyonunu ve antibiyotiğin hedefindeki değişiklikleri kapsamaktadır (19).

**Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç:** *A. baumannii*'nin beta-laktam antibiyotiklere karşı direncinden sorumlu önemli mekanizmalardan biri kromozom veya plazmid kontrolünde beta-laktamaz enzimlerinin üretilmesidir (19). Antibiyotiğe özgü dış membran porinlerinin kaybı ve penisilin bağlayan proteinlerdeki değişiklikler de, *A. baumannii*'nin beta-laktam direncinde rolü olduğu bilinen diğer mekanizmalardır (19, 20). *A. baumannii*'nin ürettiği beta-laktamazlar arasında Ambler sınıflandırmasında A'da yer alan TEM-1, PER-1, VEB-1, SHV-12, TEM-116, TEM-92, CTX-M-2, CTX-M-43 gibi genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar önemli yer tutmaktadır (19). Ülkemizde yapılan bir çalışma, *A. baumannii* izolatlarının Fransa, Belçika, Kore, ABD'ye benzer şekilde PER-1 tipi beta-laktamazları yaygın olarak ürettiğini ortaya koymuştur (20-24). VEB-1 tipi beta-laktamaz üreten *A. baumannii* salgınları Fransa, Belçika ve Arjantin'den bildirilmiştir (20-25).

*A. baumannii* izolatları, Ambler sınıf A beta-laktamazlar dışında Ambler sınıf C'de yer alan ve 'Acinetobacter derived cephalosporinases' (ADCs) olarak da bilinen AmpC enzimleri de üretmektedirler. *A. baumannii*'de bu enzimin aşırı derecede üretilmesinde 'ISAbal' adı verilen bir IS elementinin rolü olduğu ve bu element sayesinde geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı direnç geliştiği bilinmektedir (26). Sefepim ve karbapenemler AmpC enziminden etkilenmeyen antibiyotiklerdir (27, 20).

*A. baumannii*, karbapenemazlar da üretmekte olup bunlar Ambler sınıf D'de yer alan OXA tipi beta-laktamazları, Ambler sınıf B'de yer alan metallo beta-laktamazları kapsamaktadır. OXA tipi beta-laktamazlar arasında OXA-23 benzeri, OXA-40 benzeri, OXA-58 benzeri, OXA-51 benzeri, OXA-69 benzeri, OXA-24 beta laktamazlar bulunmaktadır (19,27). İskoçya'da 1985 yılında bulunan OXA-23'ün (ARI-1), *A. baumannii*'nin karbapenem direncinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (28).

*A. baumannii*'nin ürettiği metallo beta-laktamazlar arasında ise penisilinleri,

sefalosporineri ve karbapenemleri hidrolize eden IMP-1, IMP-2, IMP-4, IMP-5, IMP-6, IMP-11, VIM-1, VIM-2, SIM-1, IMP-12, IMP-9 yer almaktadır (19, 27).

Beta-laktamazlar dışında *A. baumannii*'nin beta-laktam antibiyotiklere direncinde, dış membran porinlerinin kaybı da rol oynamaktadır. Dış membran porinlerinden 29-kDa ağırlığındaki CarO'nun kaybı imipenem ve meropenem direncine; 35.6 kDa ağırlığındaki ısıya duyarlı bir protein olan 'heat-modifiable protein'in (HMP-AB) kaybı ise penisilin ve sefalosporin direncine yol açmaktadır (13, 27).

**Aminoglikozid direnci:** *A. baumannii*'nin aminoglikozid direncinde aminoglikozid modifiye edici enzimlerin üretilmesi önemli rol oynamaktadır. Bunlar arasında fosfotransferazlar, asetiltransferazlar, nükleotidiltransferazlar yer almakta olup bu enzimleri kodlayan genler bakteriler arasında plazmid ve transpozonlarla yayılma eğilimindedirler (19).

**Kinolon direnci:** *A. baumannii*'nin kinolonlara özgü direncinde, ilacın hedefi DNA giraz enziminde değişikliğe yol açan mutasyonlar önemli yere sahiptir. Bu mutasyonlar, *gyrA* ve *parC* genlerindeki mutasyonları kapsamaktadır. Sadece *gyrA*'da ortaya çıkan bir mutasyon orta düzey kinolon direncine yol açarken; *gyrA* ve *parC*'nin ikisinde birlikte ortaya çıkan mutasyon yüksek düzey kinolon direncine yol açmaktadır (9, 19).

**Tetrasiklin direnci:** *A. baumannii*'de tetrasikline özgü direnç iki mekanizma ile ortaya çıkmaktadır. Bu mekanizmalardan biri ilaca özgü pompa sistemleridir. Bunlar arasında TetA ve TetB aktif pompa sistemleri yer almakta olup TetA sadece tetrasiklin; TetB ise hem tetrasiklin hem de minosiklin direncine yol açmaktadır (Tablo 2).

Tablo 2. *A. baumannii*' de bulunan aktif pompa sistemleri ve bu pompa sistemlerinin substrat olarak kullandığı antibiyotikler ve bileşikler (13)

Aktif ilaç pompası	Protein ailesi	Substratlar
İlaca özgü pompa proteinleri	Tet(A)	Tetrasiklin
	Tet(B)	Tetrasiklin, minosiklin
	CmlA	Kloramfenikol
Çoklu ilaç direncinden sorumlu pompa sistemleri	AdeABC	Aminoglikozitler, beta-aktamlar, kloramfenikol, eritromisin, tetrasiklinler, etidyum bromid, florokinolonlar (azalmış duyarlılık)
	AbeM	Florokinolonlar, gentamisin, 4' 6,diamino-2-phenylindole (DAPI), triclosan, acriflavine, Hoechst 33342, daunorubicin, doxorubicin, rhodamine 6 G, etidyum bromid

<sup>a</sup>Major Facilitator Superfamily

<sup>b</sup>Resistance-Nodulation-Division

<sup>c</sup>Multidrug and Toxic Compound Extrusion

*A. baumannii*'de tetrasiklin direncinden sorumlu diğer mekanizma ise tetrasiklinin ribozomal hedefinde değişikliğe yol açan mutasyonlardır. *tet(M)* geni tarafından kodlanan proteinler, tetrasiklin, doksisisiklin, minosiklinin ribozomdaki hedef bölgelerine bağlanmalarını engellemektedir (9, 19).

**Peptid yapılı antibiyotiklere direnç:** *A. baumannii*'de peptid yapılı antibiyotikler polimiksin B ve polimiksin E'ye (kolistin) karşı direnç mekanizmaları henüz tam olarak bilinmemekle birlikte iki mekanizma üzerinde durulmaktadır: Bunlardan biri, *A. baumannii*'de peptid yapılı antibiyotiklere direncin, dış membran lipopolisakaritlerinde meydana gelen modifikasyonlar sonucunda antibiyotiğin hedef bölgesine olan ilgisinin azalmasıyla; diğeri ise dış membran porinlerinden OmpW benzeri porinlerin ekspresyonunun azalmasıyla ortaya çıktığını ileri sürmektedir (9, 27, 20, 29).

**Trimetoprim sülfametoksazol direnci:** *A. baumannii*'nin trimetoprim-sülfametoksazol direncinde integronların ve bunlarla taşınan *gac*, *sul*, *dHfr* gibi genlerin sorumlu olduğu ortaya konmuştur (27, 20, 30).

**Kloramfenikol direnci:** *A. baumannii*'de kloramfenikole özgü direnç mekanizmalarından biri ilacın modifikasyonuna yol açan ve *caf* geni tarafından kodlanan enzimlerin üretimi; diğeri de ilaca özgü CmIA aktif transport proteini ile ilacın hücre dışına pompalanmasıdır (Tablo 2).

Asinetobakterler doğal transformasyon kapasitesine sahip olmaları dolayısıyla genetik değişime oldukça açık mikroorganizmalardır (19). Bu özellikleri antibiyotik direnç genlerinin tür bireyleri arasında kolayca yayılmasına imkan vermektedir (19). *A. baumannii* genomunda çeşitli direnç genlerini bir arada taşıyan direnç adacıklarının varlığı ortaya konmuştur (19). Fournier ve ark. çoklu ilaç direnci gösteren *A. baumannii* izolatlarında 'AbaR1' adı verilen 86kb uzunluğunda bir direnç adacığının varlığını göstermişler ve 'AbaR1'de saptanan 45 direnç geninin VEB-1, AmpC, OXA-10 beta laktamazlarını, aminoglikozid modifiye edici enzimleri ve tetrasiklin aktif pompa proteinlerini kodlamaktan sorumlu olduğunu belirtmişlerdir (31). Ayrıca 'AbaR1' adacığının mobil genetik elementler de içerdiği gösterilmiştir. Aynı çalışma antibiyotiklere duyarlı *A. baumannii* izolatlarında genomun aynı lokasyonunda direnç genleri taşımayan, 'AbaG1' adı verilen, 20 Kb'lik bir gen adacığının varlığını ortaya koymuştur (31). Smith ve ark. tarafından yapılan diğer bir çalışmada, *A. baumannii* ATCC 17978 izolatında ilaç direnci ile ilişkili 74 direnç geni saptanmıştır. Bu direnç genleri arasında 32 aktif pompa geni,

11 permeaz geni, 26 ağır metal direnç geninin yer aldığı ve bu direnç genlerinin yayılmasında transpozonların; bu genlerin ekspresyonlarının düzenlenmesinde de, IS elementlerinin önemli rolü olduğu gösterilmiştir (32).

### ***A. baumannii*'nin çoklu ilaç direnç mekanizmaları**

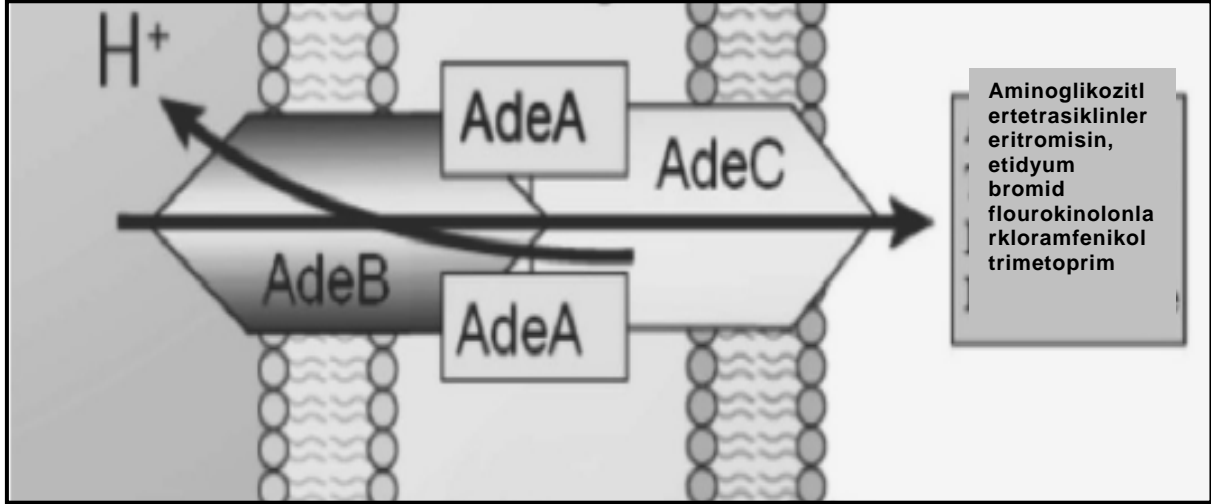
Son yıllarda yapılan çalışmalar diğer Gram-negatif bakterilerdekine benzer şekilde *A. baumannii*'nin çoklu ilaç direncinden esas olarak aktif ilaç pompa sistemlerinin sorumlu olduğuna dikkat çekmektedir (33, 34). Bilindiği gibi bakterilerdeki aktif ilaç pompa sistemleri beş protein süper ailesinin üyesidirler: 'ATP Binding Cassette' (ABC); 'Major Facilitator Super Family' (MFS); 'Multidrug and Toxic Compound Extrusion' (MATE); 'Small Multidrug Resistance' (SMR) ve Gram-negatif bakterilerde yaygın olarak bulunan 'Resistance Nodulation Cell Division' (RND) (Tablo 2) (33, 35).

**AdeABC pompa sistemi:** Yeni çalışmalarda, *A. baumannii*'nin çoklu ilaç direncinde, AdeABC isimli bir pompa sisteminin çok önemli rolü olduğu üzerinde durulmaktadır (13, 35). AdeABC pompa sistemi, yapısal düzeyde sentezlendiğinde *A. baumannii*'nin doğal direncine katkıda bulunurken aşırı derecede sentezlendiğinde tek bir adımda birçok antibiyotiğe karşı direnç gelişimine neden olmaktadır (13, 35). Aminoglikozidler, beta-laktamlar, florokinolonlar gibi klinikte yaygın kullanımı olan bir çok antibiyotiği substrat olarak kullanabildiği gösterilen AdeABC pompasının, *A. baumannii*'nin klinikte büyük sorun teşkil eden ilaç direncinin önemli bir nedeni olduğu ileri sürülmektedir (36-38). AdeABC pompa sistemi 2001 yılında tanımlanmış, *E. coli*'nin AcrAB-TolC ve *P. aeruginosa*'nın MexAB-OprM'si gibi RND protein ailesinin üyesidir (36). AdeABC aktif ilaç pompasının substrat profili oldukça geniş olup aminoglikozidler, florokinolonlar, tetrasiklinler, tigesiklin, kloramfenikol, eritromisin, trimetoprim, bazı beta-laktam antibiyotikler ve çok sayıda toksik maddeyi kapsamaktadır (37-39). AdeABC, esas transport proteini AdeB, membran füzyon proteini AdeA ve dış membran proteini AdeC'den oluşan üç komponentli bir pompa sistemidir. Sitoplazmik membranda bulunan transport proteini AdeB, substratlarını iç membranın fosfolipit tabakasından veya sitoplazmadan yakalayarak AdeA ve AdeC yardımıyla hücre dışına pompalar (14, 35). Bir periplazmik protein olan AdeA, AdeB ve AdeC arasındaki bağlantıyı sağlayan aksesuar bir proteindir (14). Transportun ana

sorumlusu AdeB, AdeC olmadan da başka dış membran proteinlerini kullanarak pompalama işlevini yerine getirebilmektedir (14). AdeABC pompası, enerji kaynağı olarak 'proton motive force'u kullanmaktadır. İlaç molekülü hücre dışına pompalanırken gereken enerji, hücreye dış

ortamdan bir  $H^+$  iyonunun alınmasıyla sağlanmaktadır (Şekil 1).

AdeABC aktif pompa proteinlerini kodlayan genler, kromozomda bulunurlar ve aynı operon üzerinde yerleşiktirler (Şekil 2) (14).



Şekil 1. RND protein ailesine üye olan AdeABC pompa sisteminin hücre yüzeyindeki yerleşimi ve bu pompanın etki spektrumunda yer alan bazı antibiyotikler ve bileşikler (14).



Şekil 2. AdeABC pompa proteinlerini kodlayan yapısal ve düzenleyici genler (14).

Bu operondaki yapısal genler *adeA*, *adeB*, *adeC*; düzenleyici genler ise *adeS* ve *adeR*'dir. *adeR* geninin ürünü AdeR proteini, 228 aminoasitten oluşan transkripsiyon düzenleyici bir proteindir; *adeS* geninin ürünü AdeS de bir sensör kinazdır. AdeS, çevresel uyarılara (antibiyotik veya toksik bileşik varlığı) bağlı olarak internal histidini fosforile eder ve fosfatı AdeR düzenleyici proteininin aspartat rezidüsüne transfer eder.

AdeR'nin fosforilasyonu, AdeABC pompa proteinlerinin transkripsiyonunu aktive eder (14).

**AbeM pompa sistemi:** *A. baumannii*'de AdeABC aktif ilaç pompa sistemi dışında farklı protein ailelerine üye başka ilaç pompa proteinleri de bulunmaktadır. Bunlar arasında TetA, TetB gibi ilaca özgü pompa proteinleri

yanında MATE ailesine üye AbeM gibi çoklu ilaç direncine yol açan pompa proteinleri de bulunmaktadır (40). AbeM pompasının substart profili, AdeABC'ye kıyasla daha kısıtlı olup bu pompanın substratları arasında flourokinolonlar, gentamisin, DAPI, triklozan, akriflavin, Hoechst 33342, daunorubisin, doksorubisin, rodamin 6 G, etidyum bromid bulunmaktadır (Tablo 2) (40). Bu pompanın, *A. baumannii*'nin klinik izolatlarının çoklu direncindeki rolü tam olarak bilinmemektedir (40).

*A. baumannii*'de AdeABC ve AbeM dışında son yıllarda varlığı gösterilen diğer bir ilaç pompa sistemi, bakterinin daha çok doğal direncinde rolü olduğu ileri sürülen RND ailesinin bir üyesi olan AdeIJK pompasıdır (Tablo 2) (41). (3-laktam

antibiyotikler, kloramfenikol, tetrasiklinler, eritromisin, linkozamidler, florokinolonlar, fusidik asit, novobiyosin, rifampin, trimetoprim, akridin, safranin, pironin, sodyum dodesil sülfat (SDS) AdeIJK pompasının substrat olarak kullandığı antibiyotikler ve toksik maddelerdir (41). AdeDE ve AdeXYZ de, *A. baumani*'de yeni tanımlanan diğer pompa sistemleridir (42,43). RND ailesi üyesi AdeDE'nin amikasin, seftazidim, kloramfenikol, siprofloksasin, eritromisin, meropenem, rifampin, tetrasiklin, etidyum bromidi substrat olarak kullandığı belirtilmektedir (38). AdeXYZ pompasının ise substrat profili ve klinik önemi henüz tam olarak bilinmemektedir (43).

### RND tipi aktif pompa inhibitörleri

Aktif pompa sistemlerinin bakterilerin antimikrobik ajanlara karşı direncinde önemli rolü olduğunun anlaşılması, bu pompa sistemlerini inhibe eden bileşiklerin yoğun bir şekilde araştırılmasına neden olmuştur (44). Bugüne kadar farklı ailelere üye aktif pompa sistemlerini inhibe eden bir çok bileşik tanımlanmış olup bunlar arasında phenylalanyl-arginyl-B-naphthylamide (PA(3N) (MC-207,110) RND tipi pompa sistemlerini inhibe ettiği gösterilen ilk bileşiktir (44, 45). Son yıllarda yapılan çalışmalar, phenylalanyl-arginyl-B-naphthylamide'in, bir çok Gram-negatif bakteride olduğu gibi *A. baumani*'de de RND tipi AdeABC pompasını inhibe ettiğini ortaya koymuştur (44, 45). Yeni olarak bir başka bileşiğin [1-(1-naphthylmethyl)-piperazine (NMP)] de, *A. baumannii*'de AdeABC pompasını inhibe ederek antibiyotik MİK'lerini belirgin şekilde düşürdüğü ortaya konmuştur (46).

### Tedavi ve korunma

Günümüzde, *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı giderek artan direnç tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Ciddi hastane enfeksiyonlarına ve salgınlara neden olmaları ve tedavi sırasında birçok antibiyotiğe karşı kısa sürede direnç geliştirmeleri nedeniyle bu etkenlerle oluşan enfeksiyonların tedavisinde farklı antibiyotik kombinasyonlarının kullanımı gündeme gelmiştir (1). Özellikle hayatı tehdit eden ciddi *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde uygulanan kombine antibiyotik tedavisi ile dirençli izolatlar karşı sinerjik etki sağlanmakta, ilaçların doza bağlı toksisitesi azalmaktadır. *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde genellikle bir aminoglikozitle birlikte imipenem,

piperasilin veya tikarsilin tedavisi verilmektedir. Ancak çoklu ilaç direnci gösteren özellikle de karbapenemlere dirençli izolatların artması ile *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisi zorlaşmıştır (1). İmipenem 1990'lı yılların başında *A. baumannii* enfeksiyonlarında kullanılan etkili bir antibiyotik iken 2000'li yıllara gelindikçe dünyada ve ülkemizde birçok *A. baumannii* kökeninde bu antibiyotiğe karşı direnç gelişmiştir (47). Çoklu ilaç direnci gösteren kökenlerin neden olduğu enfeksiyonlarda, sulbaktam ve amikasin kombinasyonu, kolistin, kolistin ve karbapenem kombinasyonu ya da tigesiklin, tedavi rejimlerinde yer alan antibiyotiklerdir (48, 49). Ülkemizde sulbaktam tekbaşına bulunmadığı için sefaperazonla ya da ampisilinle olan ticari kombinasyonları, asinetobakter enfeksiyonlarında kullanılmaktadır.

Hastane enfeksiyonlarının kontrolü için uygulanması gereken tüm kurallar *A. baumannii* enfeksiyonları için de geçerli olup; bilinçli antibiyotik kullanımının ve hastane personelinin eğitiminin önemi büyüktür (50).

### Tartışma

Hastane ortamında yaygın olarak bulunan, insan vücudunda kolayca kolonize olan *A. baumannii*, nozokomiyal enfeksiyon etkenleri arasında ön sıralarda yer alan, çoklu antimikrobiyal ilaç direnci nedeniyle eradikasyonunda zorluklar yaşanan bir bakteridir. *A. baumannii*, neden olduğu enfeksiyonların tedavisi sırasında antibiyotiklere hızla direnç geliştirme kapasitesine sahip bir bakteridir.

Bu mikroorganizmada ilaç direncine yol açan birçok mekanizma tanımlanmıştır. Bu mekanizmalardan bir kısmı, diğer Gram-negatif bakterilerdekine benzer olup antibiyotikleri inaktive ya da modifiye eden enzimleri, antibiyotik hedeflerindeki değişiklikleri kapsamaktadır. *P. aeruginosa*'dakine benzer şekilde *A. baumannii*'de de membranın hidrofobik özellikte olması, permeabiliteyi azaltarak bakterinin doğal direncine katkıda bulunmaktadır.

Yeni olarak *A. baumannii*'de ve bağlı olduğu *Acinetobacter* cinsinin bazı üyelerinde farklı antibiyotik direnç genlerini bir arada taşıyan direnç adacıklarının varlığı ortaya konmuş ve bunların mobil genetik elementler üzerinde yer aldığı gösterilmiştir. Bu çalışmalar, *A. baumannii*'de direncin suşlar arasında nasıl hızla yayılabildiğini açıklayabilmesi bakımından önem taşımaktadır. Son yıllarda *A. baumannii*'nin ilaç direncinde, aktif ilaç pompa sistemlerinin de etkin rol oynadığını ileri süren çalışmaların sayısı giderek artmaktadır.



Bu sistemler arasında TetA, TetB ve ChI gibi ilaca özgü pompa sistemleri yanında çoklu ilaç direncine yol açan pompa sistemleri de yer almaktadır (9). Yeni bazı çalışmalar *A. baumannii*'nin çoklu ilaç direncinde, *E. coli*'deki AcrAB-TolC ve *P. aeruginosa*'daki MexAB-OprM çoklu direnç pompa sistemlerinin de bağlı olduğu RND protein ailesine üye AdeABC pompa sisteminin etkin rol oynadığına dikkat çekmektedir (51-53). AdeABC pompası benzerleri gibi oldukça geniş bir substrat profiline sahip olup farklı sınıftan bir çok antibiyotiği, toksik bileşiği, boyaları aktif olarak hücre dışına pompalayabilmektedir (37).

Üç komponentli AdeABC pompa sisteminin esas transport proteini, membran yerleşimli AdeB'dir. Bu proteinin yapısal düzeyde ekspresyonu, bakterinin doğal direncine önemli katkıda bulunurken; yüksek düzeyde ekspresyonu klinikte sorun teşkil eden çoklu ilaç direncinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (37).

AdeB'nin ekspresyon düzeyi kompleks mekanizmalarla düzenlenmekte ve çevrede antimikrobiyal ilaç ya da toksik bileşik varlığı, ekspresyon düzeyini arttırmaktadır. *A. baumannii*'deki aktif ilaç pompalarıyla ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunlardan biri Pannek ve ark. tarafından yapılan, PAβN ve NMP'nin AdeABC aktif pompası üzerindeki etkilerinin ve bu etkilerin *adeB* transkripsiyon düzeyleri ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmadır. Bu çalışmada NMP'nin PAβN'e göre daha etkili olduğu özellikle linezolid, kloramfenikol, tetrasiklin, siprofloksasin MİK'lerinde belirgin düşüşlere neden olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada NMP'ye duyarlı fenotip gösteren izolatlarda *adeB* transkripsiyon düzeylerinin de yüksek olduğu saptanmıştır.

Bu konuyla ilişkili diğer bir çalışmada ise ortamda PAβN varlığında, *A. baumannii* izolatlarının tigesiklin MİK'lerindeki değişimler ve *adeB* transkripsiyon düzeyleri belirlenmiştir (37). Peleg ve ark. tarafından yapılan bu çalışmada ortamda PAβN varlığının tigesiklin MİK'lerinde 4 katlık düşüşe yol açtığı *A. baumannii* izolatlarının *adeB*'yi yüksek düzeyde transkribe ettikleri gösterilmiştir (38). Yeni bazı çalışmalarda, *A. baumannii*'nin çoklu ilaç direncinde, AdeABC dışında bir başka pompanın, AbeM'nin de etkili olabileceğine dikkat çekilmektedir (40).

Sonuç olarak nozokomiyal enfeksiyonlarda sıklıkla karşılaştığımız *A. baumannii*'nin antibiyotik direncinden bir çok mekanizma sorumlu olup bunlar arasında aktif pompa sistemleri ayrı bir öneme sahiptir. Aktif pompa sistemlerini özellikle de RND tipi pompa

sistemlerini araştıran çalışmaların artırılması bu mikroorganizma ile mücadeleye katkı sağlayacaktır.

## The antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii* and AdeABC efflux pumps: a review of the literature

### Abstract

*Acinetobacter baumannii* is a non-fermentative and Gram-negative bacterial species which can colonise patients especially in intensive care units. During the last 20 years this microorganism has become a multidrug resistant nosocomial pathogen responsible for pneumonia, urinary tract infections, septicemia, and meningitis. Recent studies have shown that the main mechanism of the multidrug resistance of *Acinetobacter baumannii* is efflux pump systems. In *Acinetobacter baumannii*, the AdeABC efflux pump, a member of the resistance-nodulation-cell division family (RND), has been well characterized. Efflux pump systems cause resistance against several different classes of antibiotics in one step. Aminoglycosides, tetracyclines, erythromycin, chloramphenicol, trimethoprim, fluoroquinolones, some β-lactams, and also recently tigecycline, were found to be substrates for this pump. Drugs, as substrates for the AdeABC pump, can increase the expression of the AdeABC genes, leading to multidrug resistance.

In the present study, the characteristic features and mechanism of the drug resistance of *Acinetobacter baumannii* are discussed together with a review of the literature. Further studies about efflux pump mechanisms for the treatment of *Acinetobacter baumannii* infections are needed.

**Key words:** *Acinetobacter baumannii*, multi drug resistance, efflux pump-AdeABC

### Kaynaklar

1. Winn J, Stephen A, William J, Elmer K, Gary P, Schreckenberger P. Gail Woods Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology Washington. Altıncı baskı, Lippincott Williams & Wilkins 2006: 353-355.
2. Bergogne-Berezin E. Importance of *Acinetobacter* spp. Ed: Bergogne-Berezin E. *Acinetobacter* Biology and Pathogenesis; 1-85, Springer, Paris, France 2008. Seifert H, Strate A, Pulverer G. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*. Clinical features, epidemiology, and predictors of mortality. *Medicine* 1995; 74:340-349.
3. Seifert H, Strate A, Pulverer G. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*.

- Clinical features, epidemiology, and predictors of mortality. *Medicine* 1995; 74:340-349.
4. Gaynes R, Edwards JR. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis* 2005; 41:848-854.
  5. Metan G, Alp E, Aygen B, Sumerkan B. *Acinetobacter baumannii* meningitis in post-neurosurgical patients: clinical outcome and impact of carbapenem resistance. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:197-199.
  6. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39:309-317.
  7. Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY. A study of the Moraxella group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*). *J Bacteriol* 1968; 95:1520-1541.
  8. Bouvet PJ, Grimont PA. Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov., and emended description of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. *Int J Syst Bacteriol* 1986; 36:228-240.
  9. Peleg YA, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clin Microbiol Rev* July 2008; 21:538-582.
  10. Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G. The distribution of *Acinetobacter* species in clinical culture materials. *Zentralbl Bakteriol* 1993; 279:544-552.
  11. Seifert H, Dijkshoorn L, Gerner-Smidt P, et al. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. *J Clin Microbiol* 1997; 35:2819-2825.
  12. Hasçelik G. İnfeksiyonlara ait temel özellikler, Ed: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2002;3-30.
  13. Vila J, Martí S, Sánchez-Céspedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:1210-1215.
  14. Wiczorek P, Sacha P, Hauschild T, et al. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*; the role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 2008; 46:257-267.
  15. Paterson DL. The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin Infect Dis* 2006; 43:43-48.
  16. Gaynes R, Edwards JR. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis* 2005; 41:848-854.
  17. Turner PJ, Greenhalgh JM. MYSTIC Study Group (Europe): The activity of meropenem and comparators against *Acinetobacter* strains isolated from European hospitals, 1997-2000. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9:563-567.
  18. Korten V, Ulusoy S, Zarakolu P, Mete B, Turkish MYSTIC Study Group. Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000-2003) in Turkey: results of the MYSTIC Program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 59:453-457.
  19. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK. Global challenge of multi-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:3741-3784.
  20. Pasteran F, Rapoport M, Petroni A, et al. Emergence of PER-2 and VEB-1a in *Acinetobacter baumannii* strains in the Americas. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:3222-3224.
  21. Naas T, Bogaerts P, Bauraing C, Degheldre Y, Glupczynski Y, Nordmann P. Emergence of PER and VEB extended-spectrum beta-lactamases in *Acinetobacter baumannii* in Belgium. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58:178-182.
  22. Naas T, Coignard A, Carbonne K, et al. VEB 1 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*, France. *Emerg Infect Dis* 2006; 12:1214-1222.
  23. Carbonne A, Naas T, Blanckaert K, et al. Investigation of a nosocomial outbreak of extended-spectrum beta-lactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a hospital setting. *J Hosp Infect* 2005; 60:14-18.
  24. Vahaboglu H, Ozturk R, Aygun G. Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study [published erratum appears in *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:484]. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:2265-2269.
  25. Poirel L, Menuteau O, Agoli N, Cattoen C, Nordmann P. Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a French hospital. *J Clin Microbiol* 2003; 41:3542-3547.
  26. Ruiz M, Martí S, Fernandez-Cuenca F, Pascual A, Vila J. Prevalence of IS(*Aba1*) in epidemiologically unrelated *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *FEMS Microbiol Lett* 2007; 274:63-66.
  27. Simona B, Landman D, Martin DA, Georgescu C, Quale J. Correlation of antimicrobial

- resistance with beta-lactamases, the OmpA-like porin and efflux pumps in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* endemic to New York City. Antimicrobial Agents Chemother 2008; 52:2999-3005.
28. Paton RH, Miles RS, Hood J, Amyes SG. ARI-1: $\beta$ -lactamase-mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. Int J Antimicrob Agents 1993; 2:81-88.
  29. Siroy A, Cosette P, Seyer D, et al. Global comparison of the membrane subproteomes between a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain and a reference strain. J Proteome Res 2006; 5:3385-3398.
  30. Gu B, Tong M, Zhao W, et al. Prevalence and characterization of class I integrons among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolates from patients in Nanjing, China. J Clin Microbiol 2007; 45:241-243.
  31. Fournier PE, Vallenet D, Barbe V, Audic S, Ogata H, Poirel L. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. Plos Genet Jan 2006; 2:7.
  32. Smith MG, Gianoulis TA, Pukatzki S, et al. New insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenesis revealed by high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis. Genes and Development 2007; 21:601-614.
  33. Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. J Antimicrob Chemother 2005; 56:20-51.
  34. Nikaïdo H, Zgurskaya HI. AcrAB and related multidrug efflux pump of *Escherichia coli*. J Mol Microbiol Biotechnol 2001; 3:215-218.
  35. Marchand I, Damier-Piolle L, Courvalin P, Lambert T. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the AdeRS two-component system. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48:3298-3304.
  36. 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; 45:3375-3380.
  37. Pannek S, Higgins PG, Steinke P, et al. Multidrug efflux inhibition in *Acinetobacter baumannii* comparison between 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine and phenyl-arginine- $\beta$ -naphthylamide. J Antimicrob Chemother 2006; 57:970-974.
  38. Peleg AY, Adams J, Paterson DL. Tigecycline Efflux as a mechanism for nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2007; 52:2065-2066.
  39. 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; 59:1001-1004.
  40. Su X-Z, Chen J, Mizushima T, Kuroda T, Tsuchiya T. Abe-M an H coupled *Acinetobacter baumannii* multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49:4362-4364.
  41. Damier-Piolle L, Magnet S, Bremont S, Lambert T, Courvalin P. Ade IJK a resistance nodulation cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52:557-562.
  42. Chau S-L, Chu Y-W, Elizabeth TS. Houang Novel Resistance-Nodulation-Cell Division Efflux System AdeDE in *Acinetobacter* Genomic DNA Group 3. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48:4054-4055.
  43. Tseng TT, Gratwick KS, Kollman J, et al. The RND permease superfamily: an ancient, ubiquitous and diverse family that includes human disease and development proteins. J Mol Microbiol Biotechnol 1999;1:107-125.
  44. Lomovskaya O, Bostian KA. Practical applications and feasibility of efflux pump inhibitors in the clinic. A vision for applied use. Biochem Pharmacol 2006; 71:910-918.
  45. Ribera A, Ruiz J, Jimenez de Anta MT, Vila J. Effect of an efflux pump inhibitor on the MIC of nalidixic acid for *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. J Antimicrob Chemother 2002; 49:697-698.
  46. Winfried VK, Steinke P, Schumacher A, et al. Effect of 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine, a novel putative efflux pump inhibitor, on antimicrobial drug susceptibility in clinical isolates of *Escherichia coli*. J Antimicrob Chemother 2006; 57:339-343.
  47. Looveren MV, Goossens H, ARPAC Steering Group. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. Clin Microbiol Infect 2004; 10:684-704.
  48. Akalın H. Çoğul Dirençli Gram Negatif Bakteriler, Ed: Doğanay M, Ünal S. Hastane İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2003:269-287.
  49. Michalopoulos A, Fotakis D, Vartzili S, et al. Aerosolized colistin as adjunctive treatment of ventilator-associated pneumonia due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria: A prospective study. Respir Med 2008; 102:407-412.
  50. The Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of Multidrug-Resistant Organisms In Healthcare Settings CDC (Centers for Disease Control and Prevention) 2006.

Dal ve ark.

51. Nikaido H, Zgurskaya HI. AcrAB and related multidrug efflux pump of *Escherichia coli*. J Mol Microbiol Biotechnol 2001; 3:215-218.
52. Poole K, Heinrichs DE, Neshat S. Cloning and sequence analysis of an EnvCD homologue in *Pseudomonas aeruginosa*: regulation by iron and possible involvement in the secretion of the siderophore pyoverdine. Mol Microbiol 1993; 10:529-544.
53. aLi XZ, Nikaido H, Poole K. Role of mexA mexB-oprM in antibiotic efflux in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39:1948-1953.