

## Araştırma Makalesi

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg 2023;16(2):191-199

doi:10.26559/mersinsbd.1196943

### Acinetobacter baumannii izolatlarında biyosit direnç genlerinin araştırılması

 Harun Gülbudak<sup>1</sup>,  Gizem Görgülü<sup>1</sup>,  Efdal Oktay Gültekin<sup>2</sup>,  Seda Tezcan Ülger<sup>1</sup>,  Nuran Delialioğlu<sup>1</sup>,  Gönül Aslan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

<sup>2</sup>Toros Üniversitesi, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Mersin, Türkiye

#### Öz

**Amaç:** Acinetobacter türleri sıklıkla yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojenlerdir. Hastane enfeksiyonlarının önlenmesinde antiseptikler ve dezenfektanlar önemli rol oynamaktadır. Ancak biyositlerin yaygın olarak kullanılması bakterilerin dirençli hale gelmesine neden olmaktadır. Bu çalışmada klinik örneklerden izole edilen A. baumannii suşlarında biyosit direnci ile ilişkili qacE, qacEΔ1 ve cepA gen bölgeleri sıklığının araştırılması amaçlanmıştır. **Yöntem:** Çalışmaya, klinik örneklerden izole edilen, 51 A. baumannii izolatı dahil edildi. Microscan otomatize sistemi ile identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı. A. baumannii türleri bla<sub>Oxa-51-like</sub> gen varlığı ile doğrulandı. Biyosit direnç gen bölgeleri qacE, qacEΔ1 ve cepA PCR yöntemi ile araştırıldı. **Bulgular:** Çalışmada, qacE ve qacEΔ1 genleri sırasıyla %51.0 (n=26) ve %47.1 (n=24) oranında tespit edilmiştir. Ancak cepA geni izolatların tamamında negatif bulunmuştur. İzolatların %84.3 (n=43)'ünde çoklu ilaç direnci (ÇİD) tespit edilmiştir. ÇİD izolatlarda qacE %41.9(n=18), qacEΔ1 %44.2 (n=19) oranında pozitif; duyarlı izolatlarda ise qacE %100(n=8) ve qacEΔ1 %62.5(n=5) oranında pozitif bulunmuştur. ÇİD ve duyarlı izolatlar arasında qacEΔ1 pozitifliğinde istatistiksel bir fark saptanmazken (p=0.341); ÇİD izolatlarda qacE pozitifliği duyarlı olanlara göre daha düşük oranda bulunmuştur (p<0.05). **Sonuç:** Sonuç olarak bu çalışmada, ÇİD ve duyarlı A. baumannii izolatlarında qacE ve qacEΔ1 biyosit direnç genleri yüksek oranda bulunmuştur. Bu yüzden hastanelerde nozokomiyal A. baumannii enfeksiyonlarının önlenmesinde ve kontrolünde duyarlı izolatların da biyositlere dirençli olabileceğinin dikkate alınması önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** A. baumannii, qacE, qacEΔ1, cepA, biyosit

Yazının geliş tarihi: 01.11.2022

Yazının kabul tarihi: 03.04.2023

**Sorumlu Yazar:** Harun Gülbudak, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çiftlikköy Kampüsü 33343 Yenişehir/Mersin, Türkiye. Tel: +90 324 241 0000 / 22393, E-posta: harungulbudak@gmail.com

## Investigation of biocide resistance genes in *Acinetobacter baumannii* isolates

### Abstract

**Objective:** *Acinetobacter* species are opportunistic pathogens that often cause nosocomial infections. Antiseptics and disinfectants play an important role in the prevention of healthcare-associated infections. However, the widespread use of biocides in hospitals may cause emergence of resistance in bacteria. In this study, it was aimed to investigate the frequency of *qacE*, *qacEΔ1* and *cepA* genes associated with biocide resistance in *A. baumannii* strains. **Method:** In this study, 51 *A. baumannii* strains isolated from clinical specimens were included. Identification and antibiotic susceptibility tests were performed with Microscan automated system. *A. baumannii* strains were confirmed by presence of the *bla*<sub>Oxa-51-like</sub> gene. Biocide resistance genes *qacE*, *qacEΔ1* and *cepA* were investigated by PCR method. **Results:** In the study, *qacE* and *qacEΔ1* genes were detected in 51.0% (n=26) and 47.1% (n=24), respectively. However, *cepA* gene was found negative in all isolates. Multi-drug resistance (MDR) was detected in 84.3% (n=43) of the isolates. *qacE* and *qacEΔ1* genes were found positive 41.9% (n=18), and 44.2% (n=19) in MDR isolates, while 100% (n=8) and 62.5% (n=5) were found positive in susceptible isolates. While there was no statistical difference in *qacEΔ1* positivity between MDR and susceptible isolates (p=0.341); *qacE* positivity was found at a lower rate in MDR isolates than in susceptible ones (p<0.05). **Conclusion:** As a result, *qacE* and *qacEΔ1* biocide resistance genes were found high in MDR and susceptible *A. baumannii* isolates. Therefore, it is important to consider that susceptible isolates may also be resistant to biocides in the prevention and control of nosocomial *A. baumannii* infections in hospitals.

**Keywords:** *A. baumannii*, *qacE*, *qacEΔ1*, *cepA*, biocides

### Giriş

*Acinetobacter* türleri sıklıkla yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojenlerdir.<sup>1</sup> *Acinetobacter baumannii* kompleks grubu içerisinde yer alan *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis* ve son yıllarda tanımlanan *A. seifertii* ve *A. Dijkshoorniae* türleri arasında hastane enfeksiyonlarına en sık neden olan tür *A. baumannii*'dir.<sup>1,2</sup> Hastanelerde çok ilaca dirençli (ÇİD) *A. baumannii* enfeksiyonları genellikle endemik ve epidemik yayılım gösterir.<sup>1,3</sup> Bakterinin kuru yüzeylerde *Enterobacteriaceae* ve diğer *Acinetobacter* türlerinden daha uzun süre canlı kalabilmesi, biyositlere direnç göstererek hastane ortamında varlığını sürdürmesi ve son yıllarda ÇİD *A. baumannii* suşlarındaki artış bu organizmayı önemli bir nozokomiyal patojen haline getirmektedir.<sup>3-5</sup> Bu yüzden hastanelerde nozokomiyal enfeksiyonların önlenmesinde biyositler (antiseptikler ve dezenfektanlar) önemli rol oynamaktadır. Ancak biyositlerin yaygın olarak kullanılması

bakterilerde duyarlılığın azalmasına ya da tolerans geliştirerek dirençli hale gelmesine neden olmaktadır.<sup>6,7</sup> Bakterilerde biyofilm oluşumu ve hücre duvarında meydana gelen değişimler dışında biyosit direnci ile ilişkili diğer mekanizma kuaterner amonyum bileşikleri (quaternary ammonium compounds; qac) gen bölgesi ile kodlanan dışa atım pompa (efflux pump) sistemidir.<sup>8,9</sup> *qac* genleri bakteri gruplarına göre farklı dağılım gösterir. *qacA*, *qacB* ve *qacC/smr* genleri Gram pozitif bakterilerde sık görülürken; *qacE* ve fonksiyonel varyantı *qacEΔ1* *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. ve diğer Gram negatif bakterilerde görülür.<sup>9,10</sup> Antiseptik direnciyle ilişkili dışa atım pompası kodlayan bir diğer gen *cepA*, *Klebsiella pneumoniae* ve diğer Gram negatif bakterilerde klorheksidin direnciyle ilişkilidir ve son dönemde *A. baumannii* izolatlarında da bildirilmiştir.<sup>10-12</sup> Bu çalışmada klinik örneklerden izole edilen *A. baumannii* suşlarında biyosit direnci ile ilişkili *qacE*, *qacEΔ1* ve *cepA* gen bölgeleri sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmaya, bir üniversite hastanesinde çeşitli klinik örneklerden izole edilen, 51 *A. baumannii* izolatu dahil edildi. Klinik örnekler; %5 kanlı agar, çikolata agar ve eozin metilen blue (EMB) agara (HiMedia, Hindistan) ekilerek 37°C'de 24 saat inkübe edildi, üreyen kolonilerin identifikasyonu konvansiyonel yöntemler (koloni morfolojisi, Gram boyama, oksidaz aktivitesi) ve Microscan otomatize sistemi (Beckman Coulter, ABD) ile yapıldı. İzolatların antibiyotik duyarlılık testi Microscan sistemi ile belirlendi. *A. baumannii* kompleks olarak tanımlanan izolatlara çalışma için %10 gliserollü buyyona alınarak -30°C'de saklandı. Birden fazla örneğinde *A.baumannii* kompleks izole edilen hastaların sadece bir örneği çalışmaya alındı.

### DNA izolasyonu ve Polimeraz zincir reaksiyonu

DNA izolasyonu, %5 kanlı agarda üreyen bakteri kolonilerine hızlı DNA

ekstraksiyon prosedürü uygulanarak yapıldı.<sup>13</sup> Buna göre, bir öze dolusu bakteri 1 ml steril distile su ile süspanse edilerek, 80°C'de 20 dakika bakterilerin parçalanması sağlandı. Daha sonra 12.000xg'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant atıldı. Pellet üzerine 200 µl kloroform, 200 µl steril distile su ilave edildi ve karışım tekrar 12.000xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Bu aşamada elde edilen süpernatant PCR reaksiyonunda kalıp DNA olarak kullanılmak üzere -20°C'de saklamaya alındı.

Çalışmada PCR yöntemi ile *A. baumannii* tür identifikasyonu için *bla<sub>Oxa-51-like</sub>* gen bölgesini hedefleyen primer; biyosit direnç genlerini araştırmak için *qacE*, *qacEΔ1* ve *cepA* gen bölgelerini hedefleyen primerler kullanıldı. PCR reaksiyonları için daha önce araştırmacılar tarafından tanımlanmış; *Oxa-51-like*, *qacE*, *qacEΔ1* ve *cepA* primer dizileri kullanıldı.<sup>11,14-16</sup> (Tablo 1)

**Tablo 1.** Çalışmada kullanılan primer dizileri ve beklenen amplicon büyüklükleri

Gen bölgesi	Primer dizisi	Amplicon (bp)	Bağlanma Sıcaklığı (°C)	Kaynak
<i>Oxa-51-like</i>	F-5'-TAATGCTTTGATCGGCCTTG-3' R-5'-TGGATTGCACTTCATCTTGG-3'	353	57	[14]
<i>qacE</i>	F-5'-GCCAAGTAATCGCAACATCC-3' R-5'-GCCCCATACCTACAAAGCC-3'	228	57	[15]
<i>qacEΔ1</i>	F-5'-TAGCGAGGGCTTTACTAAGC-3' R-5'-ATTCAGAATGCCGAACACCG-3'	300	57	[16]
<i>cepA</i>	F-5'-CAACTCCTTCGCCTATCCCG-3' R-5'-TCAGGTCAGACCAAACGGCG-3'	1058	60	[11]

Çalışmada gen bölgelerinin PCR reaksiyon karışımı her bir örnek için 25 µl hacimde hazırlandı. PCR reaksiyon karışımı; 2.5 µl 10XPCR tamponu, 2.5 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM stok), 0.5 µl dNTP miks (10 mM stok), 0.25 µl her primerden (100 µM stok), 0.15 µl Taq DNA polimeraz (5 U/µl stok), 2.5 µl kalıp DNA örneği ve son hacmi 25 µl'ye tamamlayacak miktarda steril distile su eklenerek hazırlandı. Örneklerin amplifikasyon koşulları; 94°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu, 35 siklus 94°C'de 45 saniye denatürasyon, 57°C'de 45 saniye bağlanma, 72°C'de 1 dakika uzama basamağı

ve arkasından 72°C'de 8 dakika son uzama basamağı olacak şekilde uygulandı. *Oxa-51-like*, *qacE*, *qacEΔ1* ve *cepA* gen bölgesi PCR reaksiyonları için primer bağlanma sıcaklığı hariç (*Oxa-51-like* için 57°C, *qacE* için 57°C, *qacEΔ1* için 57°C ve *cepA* için 60°C) aynı termal döngü koşulları kullanıldı. Amplifikasyon ürünleri, 0.5 µg/ml etidyum bromür içeren %1'lik agaroz jelde 120 voltta 40 dakika elektroforeze tabi tutulduktan sonra ultraviyole ışık altında görüntülendi. Elektroforez sonucu *Oxa-51-like*, *qacE*, *qacEΔ1* ve *cepA* PCR ürünlerinden sırasıyla 353, 228, 300, 1058 baz çifti (bp)

uzunluğunda bant elde edilen örnekler pozitif olarak değerlendirildi.<sup>11,14-16</sup>

Bu çalışma için, Mersin Üniversitesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından etik kurul onayı alındı (Tarih: 23/06/2021 ve Karar no: 457).

#### İstatistik Analiz

İstatistiksel analizlerde; tanımlayıcı istatistikler ve kategorik değişkenler için sayı ve yüzde frekanslar kullanıldı. Kategorik değişkenlerin analizinde Ki-kare testinden yararlandı. Analizler Statistica v.13.3.1 (TIBCO, ABD) programı ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edildi.

#### Bulgular

Çalışmaya dahil edilen *bla<sub>Oxa-51-like</sub>* pozitif 51 *A. baumannii* izolatının %33.3 (n=17)'ü trakeal aspirat, %17.6 (n=9)'sı kan, %15.7 (n=8)'si idrar, %11.8 (n=6)'i

balgam, %7.8 (n=4)'i yara, %5.9 (n=3)'ü doku, ve %7.8 (n=4)'i diğer klinik örneklerden (safra, abse, kateter) izole edilmiştir. Direnç genlerinin klinik örneklerle göre dağılımına bakıldığında *qacE* geni en sık trakeal aspirat (%26.9, n=7), kan (%23.1, n=6) ve idrar (%23.1, n=6) kültürü izolatlarında görülürken; *qacEΔ1* geni en sık trakeal aspirat (%33.3, n=8) ve kan (%33.3, n=8) kültürü izolatlarında tespit edilmiştir (Tablo 2).

İzolatların %52.9 (n=27)'ü yoğun bakım ünitelerinden, %35.3 (n=18)'ü servislerden ve %11.8 (n=6)'i polikliniklerden gönderilen örneklerden elde edilmiştir. Direnç genlerinin kliniklere göre dağılımına bakıldığında ise: *qacE* geninin %53.8 (n=14)'i yoğun bakım ünitesi (YBÜ), %30.8 (n=8)'i servis ve %15.4 (n=4)'ü poliklinik; *qacEΔ1* geninin %58.4 (n=14)'ü YBÜ, %33.3 (n=8)'ü servis ve %8.3 (n=2)'ü poliklinik izolatlarında tespit edilmiştir (Tablo 3).

**Tablo 2.** *A. baumannii* izolatlarında *qacE* ve *qacEΔ1* genlerinin klinik örneklerle göre dağılımı

	Örnek sayısı	<i>qacE</i> pozitif	<i>qacEΔ1</i> pozitif
Klinik örnekler	n= 51(%)	n=26 (%)	n=24 (%)
Trakeal aspirat	17 (33.3)	7 (26.9)	8 (33.3)
Kan	9 (17.6)	6 (23.1)	8 (33.3)
İdrar	8 (15.7)	6 (23.1)	3 (12.5)
Balgam	6 (11.8)	3 (11.5)	3 (12.5)
Yara	4 (7.8)	3 (11.5)	0 (0.0)
Doku	3 (5.9)	0 (0.0)	1 (4.2)
Diğer	4 (7.8)	1 (3.9)	1 (4.2)

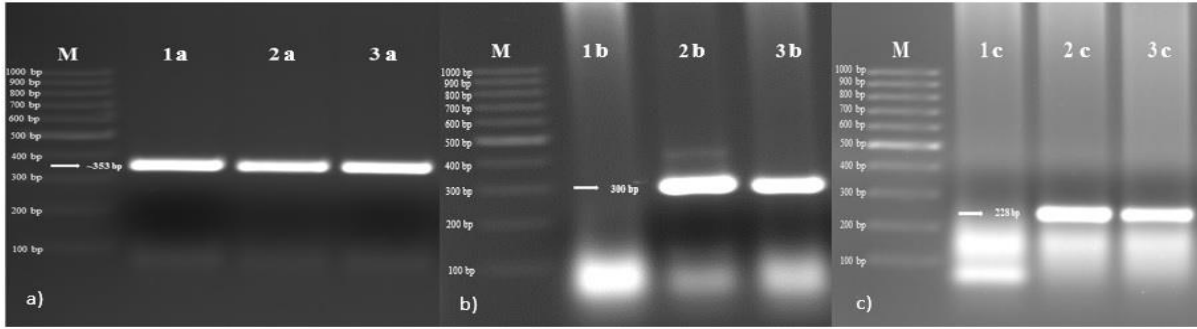
**Tablo 3.** *A. baumannii* izolatlarında *qacE* ve *qacEΔ1* genlerinin kliniklere göre dağılımı

Klinikler	Örnek Sayısı	<i>qacE</i> pozitif	<i>qacEΔ1</i> pozitif
	n=51(%)	n=26 (%)	n=24(%)
YBÜ	27 (52.9)	14 (53.8)	14 (58.4)
Servis	18 (35.3)	8 (30.8)	8 (33.3)
Poliklinik	6 (11.8)	4 (15.4)	2 (8.3)

YBÜ: Yoğun bakım ünitesi

Çalışmadaki 51 *A. baumannii* izolatının %51.0 (n=26)'inde *qacE* ve %47.1 (n=24)'inde *qacEΔ1* geni pozitif bulunurken, %27.5 (n=14)'inde *qacE* + *qacEΔ1* geni

birlikte pozitif bulunmuştur. Örneklerin tamamında *cepA* geni negatif bulunmuştur (Şekil 1).



**Şekil 1.** PCR jel elektroferez görüntüsü: a) Kolon M: Moleküler ağırlık standardı (DNA Ladder), Kolon 1a-3a *Oxa-51-like* pozitif (353 bp) PCR ürünleri; b) Kolon 2b ve 3b *qacEA1* pozitif (300 bp) PCR ürünleri, c) Kolon 2c ve 3c *qacE* (228 bp) PCR ürünleri.

İzolatların %84.3 (n=43)'ünde ÇİD profili tespit edilmiştir. ÇİD 43 izolatın %41.9 (n=18)'unda *qacE*, %44.2 (n=19)'sinde *qacEA1* ve %20.9 (n=9)'unda *qacE + qacEA1* geni birlikte pozitif; duyarlı 8 izolatın ise %100 (n=8)'ünde *qacE*, %62.5 (n=5)'inde *qacEA1* ve %62.5 (n=5)'inde *qacE*

+ *qacEA1* geni birlikte pozitif bulunmuştur. *qacEA1* pozitifliğinde ÇİD ve duyarlı izolatlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmazken (p=0.341); *qacE* pozitifliği ÇİD izolatlarında duyarlı olanlara göre daha düşük oranda bulunmuştur (p<0.05) (Tablo 4).

**Tablo 4.** *A. baumannii* izolatlarında *qacE* ve *qacEA1* gen bölgeleri dağılımı

Gen bölgesi		Toplam n=51 (%)	ÇİD <i>A. baumannii</i> n=43 (%)	Duyarlı <i>A. baumannii</i> n=8 (%)	P değeri
<i>qacE</i>	Pozitif	26 (51.0)	18 (41.9)	8 (100)	0.003
	Negatif	25 (49.0)	25 (58.1)	0 (0.0)	
<i>qacEA1</i>	Pozitif	24 (47.1)	19 (44.2)	5 (62.5)	0.341
	Negatif	27 (52.9)	24 (55.8)	3 (37.5)	

## Tartışma

Dirençli bakteriler hastane ortamında tıbbi ekipmanlarda ve hastaların çevresinde bulunan yatak, masa gibi mobilyalarda ve çeşitli yüzeylerde bulunur.<sup>17</sup> ÇİD *A. baumannii* enfeksiyonları kolonizasyonla ortaya çıkar, hastaların klinikler arasında transferiyle birlikte hastalar arasında ve hastane ortamına yayılarak salgınlara neden olur.<sup>1,3</sup> Bu yüzden antiseptikler ve dezenfektanlar hastanelerde nozokomiyal enfeksiyonların önlenmesinde ve kontrolünde önemli rol oynar.<sup>6</sup> Ancak antiseptik ve dezenfektanların yaygın kullanılması sonucu, sub-letal dozlarda bu biyositlere maruz kalan bakterilerde, duyarlılığın azalmasına ve tolerans/direnç gelişmesine neden olabilir.<sup>7,18,19</sup> *Acinetobacter baylyi*'nin sub-letal konsantrasyonlarda klorheksidine maruz

kaldığında letal konsantrasyonlara karşı duyarlılığın azaldığı; hastalara uygulanan oral bakım ve klorheksidin banyosu sonucunda dirençli *A. baumannii* izolatlarında klorheksidin MİK değerinin yükseldiği bildirilmiştir.<sup>18,19</sup> Bakterilerde biyosit direnci genetik mutasyonlarla ya da direnç genlerinin plazmid aracılığıyla aktarılması sonucu kazanılır. *A. baumannii* ve diğer Gram negatif bakterilerde biyosit direnci ile ilişkilendirilen *qacE* ve *qacEA1* genleri geniş spektrumlu dışa atım pompalarını kodlar.<sup>9,20</sup> Qac proteinleri, ana substratlarından birinin adını almasına rağmen aktivite spektrumu çok daha geniştir ve farklı kimyasal sınıflara ait 30'dan fazla lipofilik monovalan (benzalkonyum, setrimid, vd.) ve divalen (Klorheksidin, heksamidin, propamidin, vd.) katyonik bileşiğe direnç geliştirebilir.<sup>7,9</sup> Bu çalışmada

klinik *A. baumannii* izolatlarında *qacE* ve *qacEA1* direnç genleri araştırılmıştır ve 51 izolatın %51.0 (n=26)'inde *qacE* ve %47.1 (n=24)'inde *qacEA1* geni pozitif bulunmuştur. Farklı ülkelerden yapılan çalışmalara baktığımızda *A. baumannii* izolatlarında *qacE* geni; Malezya'dan %28-73, Çin'den %30.5-70, Mısır'dan %52, İran'dan %4-47.1 ve Rusya'dan %19 oranında bildirilmiştir.<sup>10,15,21-26</sup> *qacEA1* geni ise Mısır'dan %93.5, İran'dan %49.6-91, Çin'den %68-76.8, Malezya'dan %63 ve Rusya'dan %23.8 oranında bildirilmiştir.<sup>10,21-26</sup>

Çalışmada PCR ile araştırdığımız diğer antiseptik direnç geni *cepA*, *Klebsiella pneumoniae* ve diğer Gram negatif bakterilerde klorheksidin direnci ile ilişkili dışa atım pompası kodlayan genidir.<sup>11</sup> Son yıllarda *A. baumannii* izolatları ile yapılan çalışmalarda Vijayakumar ve ark %54.2, Kosyakova ve ark. %42.9 oranında *cepA* geni pozitifliği bildirmişlerdir.<sup>10,12</sup> Ancak Gomaa ve ark<sup>27</sup> *A. baumannii* izolatlarında *cepA* genini örneklerin tamamında negatif bulmuşlardır. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da *cepA* geni tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda *qacE* ve *qacEA1* geni diğer çalışmalarda bildirilen oranlar arasında bulunmuştur. Ancak çalışmamızda yaygın kullanılan biyositlerin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri test edilmediği için direnç genlerinin fenotipik olarak biyosit direncine etkisi gösterilmemiştir. Farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda *qac* genlerinin dağılımı farklı oranlarda bulunmuş ve biyosit duyarlılığındaki rolüne ilişkin farklı sonuçlar bildirilmiştir. Paulsen ve ark<sup>20</sup> *qacE* ve *qacEA1* genlerinin kuaterner amonyum bileşiklerine fenotipik olarak direnç oluşturduğunu, *qacEA1* geninin *qacE*'nin defektif bir versiyonu olduğunu ve bu bileşiklere karşı direnç seviyesinin daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Kücken ve ark<sup>28</sup> Gram negatif bakterilerde, biyositlerin MİK değeri ile *qacEA1/qacE* genlerinin anlamlı bir ilişki göstermediğini bildirmişlerdir. Nor A'shimi ve ark<sup>21</sup> *A. baumannii* izolatlarında *qacE* ve *qacEA1* genleri ile biyosit yüksek MİK değeri arasında ilişki olmadığını bulmuşlardır.

Ancak bu sonuçlardan farklı olarak son dönemde yapılan çalışmalarda Gou ve ark<sup>22</sup> *A. baumannii* izolatlarında *qacE* geni varlığının benzalkonyum bromür ve klorheksidin glukonat MİK'leri üzerine etkili olduğunu; Gomaa ve ark<sup>27</sup> *qac* geni taşıyan izolatlarda klorheksidin ve setrimit MİK'lerinin daha yüksek olduğunu; Elkhatib ve ark<sup>24</sup> *qacE* ve *qacEA1* direnç genleri ile benzalkonyum, benzetonyum ve klorheksidin direnci arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

Gram negatif bakterilerde antibiyotik direncindeki artışın antiseptik direnci ile korelasyon gösterdiği; ayrıca, sub-inhibitör konsantrasyonda biyosit maruziyeti arttıkça bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığının da azaldığı bildirilmiştir.<sup>29,30</sup> Hastanelerde özellikle yoğun bakım ünitesinde kullanılan antiseptik çeşidi ve kullanım süresi bakteri profilini etkilemektedir.<sup>8,31</sup> Antibiyotiklerin ve antiseptiklerin yaygın olarak kullanılması, bakteri profilini etkileyerek dirençli bakterilerin seçilmesine neden olur. Çalışmamızda, *A. baumannii* izolatlarında pozitif bulunan *qacE* geninin %84.6'sı ve *qacEA1* geninin %91.7'si servis ve yoğun bakım ünitesinde yatan hasta örneklerinden tespit edilmiştir. *qacEA1* pozitifliğinde ÇİD ve duyarlı *A. baumannii* izolatları arasında istatistiksel bir fark saptanmazken (p=0.341); ilginç olarak *qacE* pozitifliği ÇİD izolatlarında duyarlı olanlara göre daha düşük oranda bulunmuştur (p<0.05) (Tablo 1). Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde Betchen ve ark<sup>32</sup> antibiyotiklere duyarlı *A. baumannii* izolatlarında ÇİD olanlardan daha yüksek oranda *qacE* ve *qacEA1* pozitifliği tespit etmişler ve bakterilerde antibiyotik direncinin antiseptiklere karşı hayatta kalma artışı sağlamadığını gözlemlemişlerdir. Başka bir çalışmada, antibiyotik direnci ile biyosit duyarlılığı arasında net bir ilişki kurulamadığı bildirilmiştir.<sup>23</sup> Ancak *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında çoklu antibiyotik direnci ile *qacEA1* geninin iyi korelasyon gösterdiği belirtilmiştir.<sup>33</sup> Çalışmalardaki farklı sonuçlar, çalışma popülasyonu, test edilen bakteriler, örnek genişliği, biyosit ve direnç genleri gibi farklı değişkenlerden etkilenmiş olabilir. Ancak, elde ettiğimiz bulgular ve çalışmaların sonuçları bakterilerde biyosit direnç

genlerinin tespit edilmesi her zaman fenotipik olarak antiseptik ve dezenfektan direnci olduğunu göstermez fakat potansiyel olarak bu biyositlere karşı direnç olabileceğini düşündürür.

## Sonuç

Sonuç olarak bu çalışmada, ÇİD ve duyarlı *A. baumannii* izolatlarında biyosit direnciyle ilişkili *qacE* ve *qacEA1* gen sıklığı yüksek bulunmuştur. Direnç genlerinin yüksek bulunması bu izolatlarda potansiyel biyosit direnci olabileceğini göstermektedir. Bu yüzden hastanelerde nozokomiyal *A. baumannii* enfeksiyonlarının önlenmesinde ve kontrolünde ÇİD izolatların yanında antibiyotiklere duyarlı izolatların da biyositlere dirençli olabileceğinin dikkate alınması önemlidir.

**Yazar katkısı:** H.G.: Çalışmanın tasarlanması, yöntem belirlenmesi, laboratuvar çalışmalarının yapılması, sonuçların analizi, makalenin yazılması; G.G.: Örneklerin toplanması ve tanımlanması, laboratuvar çalışmalarının yapılması, yazılan makalenin düzenlenmesi; E.O.G.: Örneklerin toplanması ve tanımlanması, laboratuvar çalışmalarının yapılması, yazılan makalenin düzenlenmesi; S.T.Ü.: Laboratuvar çalışmalarının yapılması, sonuçların analizi, makalenin yazılması; N.D.: Çalışmanın tasarlanması, örneklerin toplanması ve tanımlanması, yazılan makalenin düzenlenmesi; G.A.: Çalışmanın tasarlanması, yöntem belirlenmesi, sonuçların analizi, yazılan makalenin düzenlenmesi.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması beyan edilmemektedir.

**Mali destek:** Herhangi bir mali destek alınmamıştır.

## Kaynaklar

1. Dijkshoorn L, Nemeç A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol*. 2007; 5(12):939-951. doi: 10.1038/nrmicro1789.

2. Vijayakumar S, Biswas I, Veeraraghavan B. Accurate identification of clinically important *Acinetobacter* spp.: an update. *Future Sci OA*. 2019;5(6):FS0395. doi: 10.2144/fsoa-2018-0127.
3. Gulbudak H, Aslan G, Tezcan S, et al. Investigation of the clonal relationship between nosocomial *Acinetobacter baumannii* isolates by rep-PCR. *Mikrobiyol Bul*. 2014;48(2):316-24. doi: 10.5578/mb.7225.
4. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2008; 21(3): 538-582. doi: 10.1128/CMR.00058-07.
5. Shan W, Kan J, Cai X, Yin M. Insights into mucoid *Acinetobacter baumannii*: A review of microbiological characteristics, virulence, and pathogenic mechanisms in a threatening nosocomial pathogen. *Microbiol Res*. 2022; 261:127057. doi: 10.1016/j.micres.2022.127057.
6. Milstone AM, Passaretti CL, Perl TM. Chlorhexidine: expanding the armamentarium for infection control and prevention. *Clin Infect Dis*. 2008;46(2):274-81. doi: 10.1086/524736.
7. Jennings MC, Minbiole KP, Wuest WM. Quaternary ammonium compounds: An antimicrobial mainstay and platform for innovation to address bacterial resistance. *ACS Infect Dis*. 2015;1(7):288-303. doi: 10.1021/acsinfectdis.5b00047
8. Russell AD. Biocide use and antibiotic resistance: the relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations. *Lancet Infect Dis*. 2003;3(12):794-803. doi: 10.1016/s1473-3099(03)00833-8.
9. Jaglic Z, Cervinkova D. Genetic basis of resistance to quaternary ammonium compounds - the *qac* genes and their role: a review. *Veterinarni Medicina*. 2012;57(6): 275-281. doi: 10.17221/6013-VETMED.
10. Kosyakova KG, Esaulenko NB, Kameneva OA et al. Prevalence of carbapenemase genes, *qacE*, *qacEA1* and *cepA* in

- multidrug-resistant Gram-negative bacteria with different susceptibility to chlorhexidine. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(5):49-60. doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-5-49-60
11. Fang CT, Chen HC, Chuang YP, Chang SC, Wang JT. Cloning of a cation efflux pump gene associated with chlorhexidine resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(6):2024-8. doi: 10.1128/AAC.46.6.2024-2028.2002.
  12. Vijayakumar R, Sandle T, Al-Aboody MS, et al. Distribution of biocide resistant genes and biocides susceptibility in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* - A first report from the Kingdom of Saudi Arabia. *J Infect Public Health*. 2018;11(6):812-816. doi: 10.1016/j.jiph.2018.05.011.
  13. Sajduda A, Brzostek A, Poplawska M, et al. Molecular characterization of rifampin- and isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Poland. *J Clin Microbiol*, 2004;42(6):2425-31. doi: 10.1128/JCM.42.6.2425-2431.2004.
  14. Turton JF, Woodford N, Glover J, Yarde S, Kaufmann ME, Pitt TL. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *J Clin Microbiol*. 2006;44(8):2974-6. doi: 10.1128/JCM.01021-06.
  15. Babaei M, Sulong A, Hamat R, Nordin S, Neela V. Extremely high prevalence of antiseptic resistant quaternary ammonium compound E gene among clinical isolates of multiple drug resistant *Acinetobacter baumannii* in Malaysia. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2015;14:11. doi: 10.1186/s12941-015-0071-7.
  16. Wang C, Cai P, Guo Y, Mi Z. Distribution of the antiseptic-resistance genes qacEDelta1 in 331 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in China. *J Hosp Infect*. 2007;66(1):93-5. doi: 10.1016/j.jhin.2007.01.012.
  17. Chaoui L, Mhand R, Mellouki F, Rhallabi N. Contamination of the surfaces of a health care environment by multidrug-resistant (MDR) bacteria. *Int J Microbiol*. 2019;2019:3236526. doi: 10.1155/2019/3236526.
  18. Fuangthong M, Julotok M, Chintana W, et al. Exposure of *Acinetobacter baylyi* ADP1 to the biocide chlorhexidine leads to acquired resistance to the biocide itself and to oxidants. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2011;66(2):319-22. doi: 10.1093/jac/dkq435.
  19. Apisarnthanarak A, Yang Hsu L, Lim TP, Mundy LM. Increase in chlorhexidine minimal inhibitory concentration of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates after implementation of advanced source control. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2014;35(1):98-9. doi: 10.1086/674404.
  20. Paulsen IT, Littlejohn TG, Rådström P, et al. The 3' conserved segment of integrons contains a gene associated with multidrug resistance to antiseptics and disinfectants. *Antimicrob Agents Chemother*. 1993;37(4):761-8. doi: 10.1128/AAC.37.4.761.
  21. Nor A'shimi MH, Alattraqchi AG, Mohd Rani F, et al. Biocide susceptibilities and biofilm-forming capacities of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Malaysia. *J Infect Dev Ctries*. 2019;13(7):626-633. doi: 10.3855/jidc.11455.
  22. Guo J, Li C. Molecular epidemiology and decreased susceptibility to disinfectants in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit patients in central China. *J Infect Public Health*. 2019;12(6):890-896. doi: 10.1016/j.jiph.2019.06.007.
  23. Lin F, Xu Y, Chang Y, Liu C, Jia X, Ling B. Molecular characterization of reduced susceptibility to biocides in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol*. 2017;8:1836. doi: 10.3389/fmicb.2017.01836.
  24. Elkhatib WF, Khalil MAF, Ashour HM. Integrons and antiseptic resistance genes mediate resistance of



- Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from intensive care unit patients with wound infections. *Curr Mol Med.* 2019;19(4):286-293. doi: 10.2174/1566524019666190321113008.
25. Shirmohammadlou N, Zeighami H, Haghi F, Kashefieh M. Resistance pattern and distribution of carbapenemase and antiseptic resistance genes among multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit patients. *J Med Microbiol.* 2018;67(10):1467-1473. doi: 10.1099/jmm.0.000826.
26. Khosravi AD, Montazeri EA, Maki SR. Antibacterial effects of Octenisept, and benzalkonium chloride on *Acinetobacter baumannii* strains isolated from clinical samples and determination of genetic diversity of isolates by RAPD-PCR method. *Mol Biol Rep.* 2021;48(11):7423-7431. doi: 10.1007/s11033-021-06758-3.
27. Goma FAM, Helal ZH, Khan MI. High Prevalence of bla<sub>NDM-1</sub>, bla<sub>VIM</sub>, qacE, and qacEΔ1 Genes and their association with decreased susceptibility to antibiotics and common hospital biocides in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Microorganisms.* 2017;5(2):18. doi: 10.3390/microorganisms5020018.
28. Kücken D, Feucht HH, Kaulfers PM. Association of *qacE* and *qacEΔ1* with multiple resistance to antibiotics and antiseptics in clinical isolates of Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Lett.* 2000;183(1):95-98. doi: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb08939.x.
29. Kõljalg S, Naaber P, Mikelsaar M. Antibiotic resistance as an indicator of bacterial chlorhexidine susceptibility. *J Hosp Infect.* 2002;51(2):106-13. doi: 10.1053/jhin.2002.1204.
30. Capita R, Riesco-Peláez F, Alonso-Hernando A, Alonso-Calleja C. Exposure of *Escherichia coli* ATCC 12806 to sublethal concentrations of food-grade biocides influences its ability to form biofilm, resistance to antimicrobials, and ultrastructure. *Appl Environ Microbiol.* 2014;80(4):1268-80. doi: 10.1128/AEM.02283-13.
31. Webster J, Faoagali JL, Cartwright D. Elimination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a neonatal intensive care unit after hand washing with triclosan. *J Paediatr Child Health.* 1994;30(1):59-64. doi: 10.1111/j.1440-1754.1994.tb00568.x.
32. Betchen M, Giovinco HM, Curry M, et al. Evaluating the effectiveness of hospital antiseptics on multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: understanding the relationship between microbicide and antibiotic resistance. *Antibiotics (Basel).* 2022;11(5):614. doi: 10.3390/antibiotics11050614.
33. Romão C, Miranda CA, Silva J, Mandetta Clementino M, de Filippis I, Asensi M. Presence of *qacEΔ1* gene and susceptibility to a hospital biocide in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* resistant to antibiotics. *Curr Microbiol.* 2011;63(1):16-21. doi: 10.1007/s00284-011-9934-0.