TC
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİK KOMBİNASYONLARININ ACINETOBACTER SUŞLARI ÜZERINE İN VİTRO ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Dursun Murat ALADA

Tez Yöneticisi

Prof. Dr. Ülkü ALTOPARLAK

Uzmanlık Tezi

ERZURUM - 2013

İÇİNDEKİLER

ONAY ..... **iii**
TEŞEKKÜR ..... **iv**
ÖZET ..... **v**
ABSTRACT ..... **vii**
KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ ..... **ix**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **x**
RESİMLER DİZİNİ ..... **x**
1. GİRİŞ ve AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **2**
2.1. Acinetobacter Cinsi Bakteriler 2
2.1.1. Tarihçe 2
2.1.2. Mikrobiyolojik ve Metabolik Özellikler 2
2.1.3. Patogenez ve Virulans 4
2.1.4. Epidemiyoloji 5
2.1.4.1. Hastane Kaynaklı Enfeksiyonlar 6
2.1.4.2. Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar 7
2.1.4.3. Askeri Personel 7
2.2. *Acinetobacter* İnfeksiyonları'nda Klinik Görünümler 8
2.2.1. Pnömoni 9
2.2.2. Bakteriyemi 10
2.2.3. Menenjit 10
2.2.4. Üriner Sistem Enfeksiyonları 11
2.2.5. Yumuşak Doku Enfeksiyonları 11
2.2.6. Diğer Enfeksiyonlar 12
2.3. *Acinetobacter* Enfeksiyonlarında Tedavi 12
2.4. *Acinetobacter*'lerde Direnç Mekanizmaları 13
2.4.1. Beta Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları 15
2.4.2. Aminoglikozidlerde Direnç Mekanizmaları 17
2.4.3. Kinolonlara Karşı Direnç Mekanizmaları 18
2.4.4. Kolistine Direnç Mekanizması 19

2.4.5. Tetrasiklin Direnç Mekanizmaları 20
2.4.6. Diğer Direnç Mekanizmaları 21
3. GEREÇ ve YÖNTEM 22
3.1. Kullanılan Malzemeler 22
3.2. İdentifikasyon ve Duyarlılık Testleri 22
3.3. Antibiyotik Kombinasyon Etkileşimlerinin Belirlenmesi 24
4. BULGULAR 28
5. TARTIŞMA 36
6. SONUÇ ve ÖNERİLER 46
KAYNAKLAR 48

ONAY

Arş. Gör. Dr. Dursun Murat ALADA'nın ''Çeşitli Antibiyotik Kombinasyonlarının Acinetobacter Suşları Üzerine İn vitro Etkinliğinin Araştırılması'' konulu tezi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın 07.03.2012 gün 1/1 no'lu karar ile Anabilim Dalı Kurulu'nda görüşülerek karar verildi.

Çalışma Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 28.02.2013 tarihli 2. oturumunun 7. no'lu kararıyla etik kurallara uygun görüldü.

Çalışma Temel Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığınca 08.03.2012 gün ve 1/1 no'lu karar ile tez çalışması olarak kabul edildi.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimin çalışma aşamasında bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen tez hocam sayın Prof. Dr. Ülkü ALTOPARLAK'a sonsuz teşekkür ederim.

Yine uzmanlık eğitimim boyunca eğitimime katkılarından dolayı anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Ahmet AYYILDIZ'a ve değerli hocalarım Prof. Dr. Selahattin ÇELEBİ, Prof. Dr. Osman AKTAŞ, Prof. Dr. A. Esin AKTAŞ, Prof. Dr. Halil YAZGI, Doç. Dr. Hakan USLU ve Doç. Dr. M. Hamidullah UYANIK hocalarıma;

Birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarım ve laboratuvar personeline;

Ayrıca tezimin istatistiksel verilerinin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı Tıp Eğitimi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Hamit ACEMOĞLU hocama;

Özellikle ve bilhassa tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini her daim yanımda hissettiğim aileme teşekkür ederim.

Arş. Gör. Dr. Dursun Murat ALADA

ÖZET

Çeşitli Antibiyotik Kombinasyonlarının Acinetobacter Suşları Üzerine In vitro Etkinliğinin Araştırılması

Acinetobacter türleri doğada yaygın olarak bulunan, deride sıklıkla kolonize olabilen fırsatçı patojen mikroorganizmalardır. İmmun sistemi baskılanmış kişiler ve hastanede yatan hastalarda, nozokomiyal bakteriyemi, sekonder menenjit, pnömoni, deri ve yumuşak doku infeksiyonları, endokardit ve üriner sistem infeksiyonlarına neden olmaktadırlar. *Acinetobacter* türleri içinde en sık infeksiyon yapan genomik tür *Acinetobacter baumannii* olup, hastane infeksiyonu etkenleri arasında önemli bir yer tutmaktadır. *A. baumannii* birçok antibiyotiğe karşı doğal olarak dirençlidir. Ayrıca invaziv tanı ve tedavi yöntemlerinin kullanımının artması ile birlikte geniş spektrumlu antibiyotiklerin yoğun şekilde kullanılması sonucu, *Acinetobacter*'ler birçok antibiyotiğe karşı çoklu direnç geliştirmiştir. Bu durum hastanede yatan hastalarda klinik bir problem olarak karşımıza çıkmakta ve bu bakterilerle gelişen infeksiyonlarda farklı tedavi seçeneklerini ve çeşitli antimikrobiyal kombinasyonların kullanımını zorunlu kılmaktadır.

Çalışmaya Aralık 2011 – Aralık 2012 tarihleri arasında, laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen, en az üç antibiyotik grubuna direnç gösteren 40 adet MDR *A. baumannii* suşu dâhil edildi. Suşlar geleneksel yöntemler ve Vitek-2 otomatize sistemiyle tiplendirildi. Antibiyotik duyarlılık testleri, Müller-Hinton agarda disk diffüzyon yöntemi ve Vitek-2 otomatize sistem kullanılarak gerçekleştirildi ve sonuçlar Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) standartlarına gore değerlendirildi. Bakteriler çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı. Kontrol suş olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanıldı.

Bu çalışmada *A. baumannii* suşlarında kolistin-sulbaktam, imipenem-sulbaktam, imipenem-amikasin ve rifampisin-azitromisin kombinasyonlarının in-vitro etkileşimleri E-test yöntemiyle araştırıldı. Kombinasyon testlerinde etkileşim, fraksiyonel inhibisyon konsantrasyon (FİK) indeksi kullanılarak belirlendi ve ilaç

ilişkileri, FİK ≤ 0.5 sinerjistik, 0.5 < FİK < 1 kısmi sinerjistik, FİK = 1 additif, 1 < FİK < 4 etkisiz, FİK ≥ 4 antagonistik etkileşim olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda en yüksek sinerji imipenem-amikasin kombinasyonunda (%15) tespit edilirken, en düşük sinerji ise rifampisin-azitromisin arasında (%2.5) gözlendi. Kısmi sinerji en fazla imipenem-sulbaktam kombinasyonunda (%47.5) saptandı. Antagonizma ise kolistin-sulbaktam (%7.5) ve rifampin-azitromisin kombinasyonlarında (%2.5) tespit edildi. Additif etkileşim; imipenem-amikasin (%10), rifampisin-azitromisin arasında (%2.5) tespit edilirken; kolistin-sulbaktam ve imipenem-sulbaktam kombinasyonlarında izlenmedi. Etkisizlik tüm kombinasyonlarda en sık görülen etkileşim şekli olup; kolistin-sulbaktam kombinasyonunda %75 iken, imipenem-sulbaktam'da %37.5, imipenem-amikasin arasında %42.5, rifampisin-azitromisin kombinasyonunda %60 oranlarında tespit edildi.

Sonuç olarak; çalışmamızda elde edilen yüksek sinerji ve kısmi sinerji oranları nedeniyle, imipenem-amikasin ve imipenem-sulbaktam kombinasyonları, çoğul dirençli *A. baumannii* suşlarında kullanılabilecek alternatif bir tedavi seçeneği oluşturabilir.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter, Acinetobacter baumannii*, Direnç, Antibiyotik Kombinasyonları

ABSTRACT

Investigation of in-vitro effects of various antibiotic combinations against *Acinetobacter* species

Acinetobacter species are mostly common in nature and regarded generally as commensals of human skin. They have also been implicated as the cause of serious infectious diseases such as pneumonia, urinary tract infection, endocarditis, wound infection, meningitis and septicaemia, involving mostly patients with impaired host defences and hospitalized. *Acinetobacter baumannii* is most common genomic spesies in *Acinetobacter* family and has an important role among nosocomial infections. *A. baumannii* is native resistant to many antibiotics. However, *Acinetobacter sp*. is going to be resistant to almost all antimicrobial agents by using increased invasive diagnostic, therapeutic procedures and extended spectrum antibiotics. This condition is an important clinical problem for us in hospitalized patients and therefore we need to use new treatment options such as combination theraphy on the infections that caused by those bacteria.

We included to our study 40 MDR *A. baumannii* bacteria that isolated from various clinical materials between December 2011 - December 2012 which are resistant to at least 3 antibiotic groups. All isolates were identified by standard methods and Vitek-2 automated system. Antibiotic susceptibility tests were performed by disk diffusion method on Muller-Hinton Agar and Vitek-2 automated system and results were interpreted according to the recommendations of Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI). Species kept frozen at -80°C until the experiment day. Control strains were *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922.

This study was performed to investigate the in-vitro effects of colistin-sulbactam, imipenem-sulbactam, imipenem-amikacin and rifampin-azithromycin combinations on MDR *A. baumannii* strains by E-test method. We used FIC index to determine interactions between antibiotic combinations. FIC index results are

interpreted as; FIC ≤ 0.50 synergy, 0.5 < FIC < 1 partial synergy, FIC = 1 additive, 1 < FIC < 4 inefficient, FIC ≥ 4 antagonist interaction.

In this study, the highest synergy ratio was detected between imipenem-amikacin combination by 15% and lowest synergy ratio was also detected between rifampin-azithromycin by 2.5%. The highest partial synergy was observed between imipenem-sulbactam by 47.5% ratio. We detected antagonistic interaction between colistin-sulbactam (7.5%) and rifampin-azithromycin combinations (2.5%). Additive interaction was found between imipenem-amikacin (10%) and rifampin-azithromycin combinations (2.5%) in contrast we wasn't detected additive interaction in the combination of colistin-sulbactam and imipenem-sulbactam. Inefficient interaction was the most common interaction in whole combinations. And the results were as follows; colistin-sulbactam 75% imipenem-sulbactam 37.5%, imipenem-amikacin 42.5%, rifampin-azithromycin 60% respectively.

Finally, we suggest that imipenem-amikacin and imipenem sulbactam combination theraphies against to MDR *A. baumanni* species may be an alternative option, according to the results of high synergy and high partial synergy that are obtained from our study.

Key words: *Acinetobacter, Acinetobacter baumannii,* Resistance, Antibiotic combinations

KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADC	: *Acinetobacter* Derived Sefalosporinaz
AK	: Amikasin
AZ	: Azitromisin
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Instıtute
CO	: Kolistin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EMB	: Eozin Metilen Blue
FİK	: Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz
Hİ	: Hastane İnfeksiyonları
ICU	: İntensive Care Unit
İP	: İmipenem
LAM	: Leeds Acinetobacter Medium
MDR	: Multidrug Resistance (Çoklu Antibiyotik Direnci)
MİK	: Minimal İnhibitör Konsantrasyon
NNSI	: Amerika Ulusal Nozokomiyal İnfeksiyon Sürveyans Sistemi
OMP	: Outer Membran Protein (Dış Membran Proteini)
PABA	: Para-amino Benzoik Asit
PBP	: Penisilin Bağlayan Protein
PDR	: Pandrug Resistance
Rİ	: Rifampisin
RNA	: Ribonükleik Asit
RND	: Resistance-Nodulation-cell Division
SUL	: Sulbaktam
VIM	: Veronese İmipenemaz
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No **Sayfa No**

Tablo 2.1. *Acinetobacter* Türlerinin; *Neisseria, Kingella* veya *Moraxella* Türlerinden Bazı Ayırıcı Özellikleri. 3
Tablo 4.1. Çalışılan *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Kliniklere Göre Dağılımı. 28
Tablo 4.2. Çalışılan *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Klinik Örneklere Göre Dağılımı. 28
Tablo 4.3. *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Kolistin, Sulbaktam Antibiyotiklerinin ve Kombinasyonlarının MİK değerleri (µg/mL). 30
Tablo 4.4. *Acinetobacter baumannii* Suşlarında İmipenem, Sulbaktam Antibiyotiklerinin ve Kombinasyonlarının MİK değerleri (µg/mL). 31
Tablo 4.5. *Acinetobacter baumannii* Suşlarında İmipenem, Amikasin Antibiyotiklerinin ve Kombinasyonlarının MİK değerleri (µg/mL). 32
Tablo 4.6. *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Rifampisin, Azitromisin Antibiyotiklerinin ve Kombinasyonlarının MİK değerleri (µg/mL). 33
Tablo 4.7. FİK Değerlerine Göre Kolistin-Sulbaktam Etkileşim Sonuçları. 34
Tablo 4.8. FİK Değerlerine Göre İmipenem-Sulbaktam Etkileşim Sonuçları. 34
Tablo 4.9. FİK Değerlerine Göre İmipenem-Amikasin Etkileşim Sonuçları. 34
Tablo 4.10. FİK Değerlerine Göre Rifampisin-Azitromisin Etkileşim Sonuçları. 34
Tablo 4.11. Antibiyotik Kombinasyonlarının Etkileşim Dağılımları. 35

RESİMLER DİZİNİ

Resim No **Sayfa No**

Resim 3.1. Rifampisin-azitromisin Kombinasyonunda Gözlenen Bir Etkileşim..... 26
Resim 3.2. Kolistin-sulbaktam Kombinasyonunda Gözlenen Bir Etkileşim 26
Resim 3.3. İmipenem-sulbaktam Kombinasyonunda Gözlenen Bir Etkileşim..... 27
Resim 3.4. İmipenem-amikasin Kombinasyonunda Gözlenen Bir Etkileşim..... 27

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Acinetobacter türleri doğada saprofit olarak bulunabilen, gram negatif, kok ya da kokobasil görünümünde, oksidaz enzimi negatif, aerop, nonfermentatif, hareketsiz bakterilerdir. Dış ortamda uzun süre canlı kalabilmeleri ve antibiyotiklere yüksek oranda direnç göstermeleri nedeniyle, hastane infeksiyonu etkenleri arasında önemli bir yer tutmakta ve yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda gittikçe artan sıklıkta görülmektedirler. İmmun sistemi baskılanmış kişilerde ve hastanede yatan hastalarda, özellikle çoğul ilaca dirençli suşların nozokomiyal bakteriyemi, sekonder menenjit, pnömoni ve üriner sistem infeksiyonlarına neden oldukları görülmektedir.[1- 3]

Acinetobacter türlerinde görülen çoğul antibiyotik direncinin nedeni; son yıllarda üçüncü kuşak sefalosporinler, aminoglikozidler, florokinolonlar ve karbapenemler gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının artması olup, bu direnç özellikle antibiyotik kullanımının ve hasta sirkülasyonunun yüksek olduğu birçok serviste infeksiyon tedavisinde ciddi sorunlara yol açmaktadır.[2, 4, 5]

Dirençli suşların yoğunluğunun artması yeni tedavi protokollerine duyulan ihtiyacı daha da artırmış ve bu yöndeki çalışmaların önemi artmıştır. Kombinasyon tedavileri, kolistin gibi eski antibiyotiklerin yeniden gündeme gelmesi ve yeni antibiyotik üretilmesi bunlara örnek olarak verilebilir.[4]

Bu çalışmada, hastanemizin çeşitli servislerinde yatmakta olan hastalardan mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden izole edilen, en az üç antibiyotik grubuna dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında; kolistin-sulbaktam, imipenem-sulbaktam, imipenem-amikasin, rifampisin-azitromisin kombinasyonlarının in-vitro aktivitesinin E test yöntemiyle araştırılması ve hastanemizde çoğul ilaç dirençli *Acinetobacter* suşlarının neden olduğu infeksiyonların tedavisinde yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Acinetobacter Cinsi Bakteriler

2.1.1. Tarihçe

Acinetobakterler ilk kez 'Morax-Axenfeld basilleri' olarak 1800'lü yılların sonunda morfolojik özelliklerine dikkat çeken iki bilim adamının ismine atıf olarak adlandırılmışlardır. Daha sonraları *Diplococcus mucosus, Micrococcus calcoaceticus, Alcaligenes haemolysans, Mima polymorpha, Moraxella lwoffi, Herellea vaginicola, Bacterium anitratum, Moraxella lwoffi var. glucidolytica, Neisseria winogradskyi, Achromobacter anitratus, Achromobacter mucosus* olarak farklı adlandırmalar yapılmıştır. 1954'de Brisou ve Pre'vot morfolojik olarak benzer özelliklere sahip bu mikroorganizmalar arasından bazılarının hareketsiz olduğunu gözlemlemiş ve Yunanca hareketsiz anlamına gelen 'Akinetos' sözcüğünden esinlenerek bu bakterilere '*Acinetobacter*' adını vermişlerdir. Acinetobakterlerin biyokimyasal ve morfolojik özelliklerini ayrıntılı olarak Baumann ve ark. 1968 yılında ortaya koymuşlardır. 1971'de ise Moraxellaceae ailesi içinde *Acinetobacter* cinsi olarak sınıflandırılmışlardır. *Acinetobacter calcoaceticus* tanımlanan ilk tür olmuştur. 1974'te glukozu asidifiye edebilen *A. lwoffii* tanımlanmıştır. 1986'da Bouvet ve Grimont, DNA-DNA hibridizasyon yöntemiyle *Acinetobacter* cinsi mikroorganizmaları 12 tür olarak sınıflandırmışlardır. Daha sonraki yıllarda bunlara yeni türler eklenmiş ve günümüze kadar *Acinetobacter* cinsi bakteriler içinde 25 farklı tür tanımlanmıştır. Fenotipik özellikleri açısından birbirlerine benzerlik gösteren dört tür; *Acinetobacter baumannii*, *A. calcoaceticus*, *Acinetobacter genomik tür 3* ve *Acinetobacter genomik tür 13TU*, daha sonra *'A. calcoaceticus-A. baumannii kompleks'* adı altında toplanmışlardır.[1, 2, 4, 5]

2.1.2. Mikrobiyolojik ve Metabolik Özellikler

Acinetobacter cinsi bakteriler; gram negatif, zorunlu aerobik, hareketsiz, nonfermentatif, katalaz pozitif, oksidaz negatif, indol negatif, nitratları redükte etmeyen, üç şekerli demirli besiyeri (TSI) ve oksidatif besiyerinde asit oluşturmayan, 35-37°C'de üremeyi seven ve DNA G+C içeriği %39-47 olan bakterilerdir.[2, 3] Flajellaları yoktur,

fimbriaları vardır. Logaritmik üreme fazında 1-1.5 x 1.5-2.5 μm boyutlarında basil olarak görülürler. Diğer dönemlerde ise kok, kokobasil, ikişerli, küme halinde veya kısa zincir morfolojısinde gözlenebilirler. Bu benzer morfolojik özellikleri nedeniyle *Haemophylus* ve *Neisseria* türleri ile karıştırılabilirler.[4, 5]

Acinetobacter cinsi bakteriler rutin mikrobiyoloji laboratuvarında sıklıkla kullanılan Eozin Metilen Blue (EMB) ve kanlı agar gibi pek çok besiyerinde üreyebilir. Gerek klinik örneklerden, gerekse çevreden *Acinetobacter* türlerini izole edebilmek amacıyla seçici ve ayırt edici besiyerleri geliştirilmiştir. Bu sebeple geliştirilen besiyerleri diğer mikroorganizmaların üremelerini inhibe eden Bromkrezol moru, safra tuzları, bazı şekerleri içeren Herellea agar, bazı antibiyotikleri içeren Leeds Acinetobacter Medium (LAM) ve Holton's agar besiyerleridir.[4]

Acinetobacter kolonilerinin morfolojik görünümü genellikle 1-2 mm çapında, opak, bazen mukoid, pigmentsiz, kubbe şeklinde, yüzeyleri oyuk veya düz olarak besiyerinin içeriğine ve zenginliğine göre farklı şekillerde görülebilmektedir. Mac Conkey agar besiyerinde enterobakterilerden farklı olarak daha küçük, S tipi, pigmentsiz, opak koloniler oluştururlar. Buna ilaveten anaerobik şartlarda üretmemesi ve nitratları redükte etmemesi *Enterobaktericea* cinsi bakterilerden kolayca ayrılmalarını sağlar. *Neisseria*, *Kingella* veya *Moraxella* türlerinden ayrımında kullanılan bazı kimyasal ve morfolojik özellikler ise Tablo 2.1'de sunulmuştur.[6, 7]

Tablo 2.1. *Acinetobacter* Türlerinin; *Neisseria*, *Kingella* veya *Moraxella* Türlerinden Bazı Ayırıcı Özellikleri.

Özellikler	*Acinetobacter* sp.	*Neisseria sp.*	*Morexella sp.*	*Kingella sp.*
Şekil	Kok, Basil	Kok	Kok, Basil	Basil
Oksidaz reaksiyonu	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
Katalaz	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif
Nitratı indirgeme	Negatif	Pozitif	Negatif/Pozitif	Pozitif
Glukoz asidifikasyonu	Pozitif/Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif

Amerikan hastalık kontrol ve önleme merkezinin (Centers for Disease Control and Prevention - CDC) sınıflamasına göre *Acinetobacter* türleri nonfermentatif gram negatif basiller içerisinde CDC Grup EO-5, CDC Grup NO-1 ve *Bordetella* türleri ile birlikte oksidaz negatif grup içerisinde yer alırlar.(4)

Acinetobacter cinsi bakterilerin tür düzeyinde ayrımında glukoza oksidatif etki, hemoliz ve 44°C'de üreyebilme özellikleri arasındaki farklılıklar genelde yeterli olmaktadır. *A. baumannii* nonhemolitik özelliği, glukozu oksitleyebilmesi ve 44°C sıcaklıkta üreyebilme yeteneği ile diğer türlerden kolayca ayırt edilebilir. Hemoliz yapmayan *A. lwoffi*, hemoliz yapan *A. haemolyticus* glukoz negatif kökenli türlerdir. *A. johnsonii'nin* diğer türlerden 37°C'de üreyememesi özelliği ile ayırt edilebilir.(4)

2.1.3. Patogenez ve Virulans

Acinetobacter'ler patojenitesi düşük bakterilerdir. Bu nedenle immunkompetan kişilerde infeksiyon yapma potansiyeli düşüktür; daha çok hastanede yatan immunitesi zayıf hastalarda fırsatçı hastane infeksiyonlarına yol açarlar.(7)

Polisakkarid kapsülün bakterinin yüzeyini daha hidrofilik yapması ve fagositozdan koruması, fimbrialarının epitel hücrelerine adezyon yeteneği oluşturması, doku lipidlerini parçalayan enzimlerin üretilmesi, hücre duvarındaki lipid A ve lipopolisakkaritlerin toksik etkileri *Acinetobacterin* patogenezini oluşturan ve virulansını artıran başlıca faktörlerdir. İn-vivo oluşturdukları endotoksinler muhtemelen *Acinetobacter* septisemisi sırasında oluşan semptomlardan sorumludur. Karışık infeksiyonlarda virulansın artmasından sorumlu en önemli faktör slime oluşturmalarıdır. Ancak *Acinetobacter* türlerinin yaklaşık %14'ü slime oluşturmaktadır. Slime; nötrofillere karşı sitotoksisite ve eksüdaya nötrofil migrasyonunun inhibisyonunda rol oynar. Ancak slime miktarı ile virulansın derecesi arasında bir ilişki bulunamamıştır. Üremesi için gerekli demiri insan vücudundan sağlaması diğer bir virulans özelliğidir. Gerekli demiri insan vucudundan sağlamak için aerobaktin gibi sideroforlar ve dış membran reseptör proteinleri ürettiği gösterilmiştir.(8)

Antibiyotik direnci sağlayan PER–1 enziminin virülansı arttırdığı ve klinik olarak daha ölümcül infeksiyonlara neden olduğu tespit edilmiştir.[9]

2.1.4. Epidemiyoloji

Diğer mikroorganizmalarla kıyaslandığında, *Acinetobacter* türleri dış ortam koşularına dayanıklı mikroorganizmalar olup cansız yüzeylerde günlerce canlılıklarını devam ettirebilmektedirler. *Acinetobacter* kökenleri çevrede topraktan, gıdalardan, sudan, eşyalardan, havadan ve daha birçok yerden izole edilelebilir. Bununla birlikte sağlıklı insanların üst solunum yollarında, ağız florasında, alt gastrointestinal sistemlerinde ve genitoüriner sistemlerinde bulundukları da tespit edilmiştir.[10] Ayrıca koltuk altı, kasık gibi nemli bölgeler başta olmak üzere derinin normal florasında yer alabilirler.[11] *Acinetobacter* türleri ile deri kolonizasyonu oranlarının araştırıldığı bir çalışmada; sağlıklı gönüllüler ile yatan hastalar karşılaştırılmış, kolonizasyon oranı hastalarda %75, kontrol grubunda %42.5 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada en sık kolonize olan bölgeler; eller (%26), kasık bölgesi (%25), ayak parmak arası (%24), alın (%23) ve dış kulak yolu (%21) olarak tespit edilmiştir.[12] Deri taşıyıcılığı oranlarının yüksek olmasının altında yatan sebep; hasta bakımı sırasında sağlık personelinin kontamine olması ve etkenin sağlık personeli tarafından hastane içerisinde taşınması olduğu düşünülmektedir. Kaynak durumundaki *Acinetobacter* taşıyıcısı insanlar ve kontamine olmuş hastane ekipmanı, cansız yüzeyler, hastalar arası yayılımın kaynağını oluşturmaktadırlar.[11, 13]

*A. baumannii'*nin yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda yüksek oranda kolonizasyon oluşturduğu özellikle yoğun bakım ünitesine (YBÜ) yatan hastaların %71'inde yatışı takiben birinci haftanın sonunda kolonizasyon oluştuğu ve kolonize olmuş hastalarda *A. baumannii* kaynaklı infeksiyonların arttığı gösterilmiştir.[14]

Hastanede izlenen hastalarda özellikle salgın dönemlerinde taşıyıcılık hızı yüksek olup %7-18 oranında boğaz taşıyıcılığı görülmektedir. Trakeostomi sürüntülerinde tespit edilen taşıyıcılık oranları %45'e kadar çıkmaktadır.[5] Mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda izlenen *Acinetobacter* kaynaklı salgınlarla, salgınlar

esnasındaki solunum yollarındaki taşıyıcılık oranları arasında güçlü ilişki olduğu gözlemlenmiştir.[11]

Hastane ortamındaki çevresel etmenler dikkate alındığında, *Acinetobacter* türleri hastane havası, buhar makinesi, musluk, periton diyalizat banyoları, yataklar, tansiyon aletleri, anjiyografi kateteri ve ekipmanı, solunum tedavisi solüsyonları ve mekanik ventilasyon cihazından izole edilmiştir.[11]

2.1.4.1. Hastane Kaynaklı Enfeksiyonlar

Hastane infeksiyonları (Hİ), hasta hastaneye başvurduğu sırada inkübasyon döneminde olmayıp, hastaneye başvurduktan 48–72 saat sonra oluşan ya da hastanede gelişip hasta taburcu olduktan sonra 10 gün içinde ortaya çıkan infeksiyonlardır.[15]

Acinetobacter kaynaklı infeksiyonlar çoğunlukla zayıf düşmüş ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda görülme eğilimindedir. Uzun süreli bakım merkezlerinde bulunan hastalar ve özellikle bunlar içindede ventilatör bağımlı hastalar yüksek risk grubundadır. Yoğun bakım ünitesinde kalmaya ek olarak yakın zamanda geçirilmiş cerrahi operasyon, santral damar içi kateterizasyon, trakeostomi, mekanik ventilasyon, enteral beslenme ve üçüncü grup sefalosporin, florokinolon veya karbapenem antibiyotikleriyle tedavi; kolonizasyon ve infeksiyona ilişkin risk faktörleridir.[16]

Endemik nozokomiyal infeksiyonlar arasında *Acinetobacter*'ler önemli bir yer tutmaktadır. Endemik ve epidemik infeksiyonların ayrımı zor olmasına rağmen izole edilen suşların %50'sinin yoğun bakım kaynaklı olmasından dolayı salgınların %50'sinin epidemik olduğu söylenebilir. *Acinetobacter* salgınlarının kontrolü, hastane çevresindeki kontaminasyon ve infeksiyon kaynaklarının çokluğu nedeniyle güçleşmektedir. Salgınlar; tıbbi cihazlar, tıbbi malzemeler, tedavi sırasındaki hasta teması ve hava yoluyla oluşmaktadır. Uzun süreli salgınların nedeni; *Acinetobacter* suşlarının çevrede uzun süre kalabilmesi sonucu hasta ve hastane personelinin yaygın şekilde kontamine olmasıdır. Birçok salgında personel-hasta ilişkilerinde el yoluyla yayılımının etkisi görülmüştür. Salgın kontrolu açısından olgu kontrol çalışmaları yapılarak etken bulunup kaynak tespit edilmelidir.[5, 8, 17, 18]

Acinetobacter kaynaklı seri hastane salgınlarının epidemiyolojisinde çoğul ilaç dirençli çeşitli suşlar görülmüştür. Bu durum çoğul dirençli suşların endemisitesine ve farklı zamanlarda baskın olan tek endemik suşun ortaya çıkmasına neden olur.[19]

2.1.4.2. Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar

Toplum kaynaklı *Acinetobacter* infeksiyonları Avustralya ve Asya'da rapor edilmiştir. *Acinetobacter* infeksiyonları sıklıkla hastane kaynaklı olmasına rağmen toplum kökenli alt solunum yolu infeksiyonlarından da izole edilmiştir. Sıcak ve nemli ülkelerde toplum kaynaklı *Acinetobakter* pnömonisinin önemi giderek artmaktadır. *Acinetobacter* Kuzey Avusturya'da toplum kökenli pnömonilerin tümünün %10 unda etken olarak saptanırken toplum kaynaklı gram negatif pnömoni etkenleri arasında da %21 oranında etken olarak izole edilmiştir. Toplum kaynaklı *Acinetobacter* pnömonileri, hastane kaynaklı pnömoniler kadar yaygın olmamakla birlikte önemi giderek artmakta ve daha mortal seyretmektedirler. Bu durum faringeal taşıyıcılık, alkoloizm ve kanserle ilişkili bulunmuştur. *Acinetobacter* infeksiyon prevalansının belirli coğrafik alanlarda daha fazla görülmesi kısmen kolonize olan bakteriyi etkileyen nem ve sıcaklığa bağlansa da kesin sebebi bilinmemektedir.[16, 20, 21]

2.1.4.3. Askeri Personel

İlk olarak 1955 yılında, Kore savaşında Koreli acemi bir askerde *Acinetobacter* olduğu tahmin edilen (*Achromobacter*) bakteriyel bir kan dolaşımı enfeksiyonu tespit edilmiştir. Vietnam savaşında ise 63 askerde *Acinetobacter*e bağlı yumuşak doku infeksiyonu tanımlanmıştır. Son zamanlarada Ortadoğu'da Amerika Birleşik Devletleri (ABD) askeri personelinde *Acinetobacter* infeksiyonları rapor edilmiştir.[16] Griffith ve arkadaşları[22] Irak'ta aktif görev yapan 102 askeri personelden aldıkları 303 deri kültürünün hiçbirisinde *A. baumannii* saptamamıştır. Bu durum yaralanma öncesi kolonizasyon tezini çürütmektedir.

Ocak 2002 ile Ağustos 2004 tarihleri arasında, iki askeri sevk hastanesindeki askerlerde, *A. baumannii'*nin izole edildiği 85 kan dolaşımı infeksiyonu tanımlanmıştır. Bunlardan %35'i sadece imipeneme duyarlıyken, %4'ü tüm standart antibiyotiklere

dirençli bulunmuştur.[23] Son 50 yılda dirençte görülen heteroklonalite ve bazı askeri hareketlere katılan personelde *Acinetobacter'*in yeniden ortaya çıkması, yerel yemekler (ayrıca global yayılmada olası kaynak), savaş alanında yaraların kontaminasyonu ile alanda ve sevk hastanelerinde çevresel yayılma ve çapraz enfeksiyon dahil birden fazla kaynağı ortaya koymaktadır.[16]

2.2. *Acinetobacter* İnfeksiyonları'nda Klinik Görünümler

Acinetobacter türleri doğada yaygın bulunmaları ve insanların özellikle deri florasında yer almalarından dolayı, zaman zaman fırsatçı patojen bakteriler olarak infeksiyon yapabilirler. Kateter uygulamasına bağlı sistit ve piyelonefrit gibi genitoüriner sistem infeksiyonları, cerrahi girişimlerden sonra görülen menenjit gibi intrakraniyel infeksiyonlar, entübasyon ve trakeostomi sonrası gelişen solunum sistemi infeksiyonları ve yumuşak doku infeksiyonları oluşturduğu fırsatçı infeksiyonlardandır. *Acinetobacter* türleri sıklıkla hastane kaynaklı infeksiyon oluşturmasına rağmen toplum kökenli alt solunum yolu infeksiyonlarından da izole edildiği görülmüştür.[9]

Acinetobacter'e bağlı klinik infeksiyonlarının en çoğunu ventilatör ilişkili pnömoni ve kan dolaşımı infeksiyonları oluşturmaktadır. *Acinetobacter* bakteriyemisinin kaynağı en sık damar içi katater ve solunum yoludur.[16]

1995 ile 1998 yılları arasında, ABD'de 49 hastanede yürütülen bir çalışmada, kan dolaşımı infeksiyonu olan 10852 hastadan alınan örneklerde; %1.5 oranında *Acinetobacter* kaynaklı infeksiyon saptanmış ve bunların %36'sı da polimikrobiyal infeksiyonlar olarak görülmüştür. Deri florası, yani koagülaz negatif stafilokoklar veya enterokoklar en yaygın koizolatlar olarak saptanmış ve bu durum bazı kan izolatlarının deri veya çevresel suşlardan kaynaklanan örnek kontaminasyonunun göstergesi olarak kabul edilmiştir.[16]

Ülkemizde Dizbay ve arkadaşlarının,[24] 2005 ile 2006 yıllarını kapsayan, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi anestezi-reanimasyon ve nöroloji yoğun bakım ünitelerinde nozokomiyal infeksiyon hızı ile etken ve antibiyotik direnç durumunu araştırıkları çalışmada; anestezi-reanimasyon yoğun bakım ünitesinde kan

dolaşımı infeksiyonu, nöroloji yoğun bakım ünitesinde ise pnömoni en sık görülen infeksiyon olarak tespit edilmiş olup, her iki yoğun bakım ünitesinde de *Acinetobacter* türleri en sık izole edilen hastane kaynaklı infeksiyon etkeni mikroorganizma olmuştur.

2.2.1. Pnömoni

Acinetobacter pnömonisi genellikle mekanik ventilasyon gerektiren yoğun bakım hastalarında görülür ve geç başlangıç gösterme eğilimindedir.[16]

YBÜ'nde yatış, cerrahi operasyon geçirmiş olmak, endotrakeal tüp ve gastrik tüp gibi invaziv alet varlığı, ileri yaş, kronik akciğer hastalığı, immünsupressif tedavi, antibiyotik kullanımı, solunum ekipmanının tipi; *Acinetobacter* pnömonisi ve alt solunum yollarının kolonizasyonu riskini arttıran faktörlerdir. Ventilatör bağımlı hastaların kontrolündeki ilerlemeler ve solunum cihazlarının dezenfeksiyonunda daha etkin yöntemlerin kullanılmasına rağmen *Acinetobacter*'lere bağlı solunum sistemi infeksiyonlarının insidansı artmaktadır. Birçok çalışmada *Acinetobacter* pnömonisi mekanik ventilasyonun en önemli komplikasyonları arasında gösterilmektedir.[5, 17]

Acinetobacter kökenli pnömoni olgularında kaba ölüm oranları ventilator bağımlı hastalarda en yüksek olmak üzere %30 ile %75 arasında gözlemlenmektedir. *Acinetobacter* kökenli pnömoni olgularının *Pseudomonas* hariç diğer tüm gram negatif ve gram pozitif kökenli pnömoni olgularından daha kötü prognoz gösterdikleri açıktır.[5]

Acinetobacter; kavitasyon, plevral effüzyon ve bronkopulmoner fistüle sebep olabilen ve genellikle multilober seyreden pnömoniler yapar. *Acinetobacter* kaynaklı pnömoni olgularında mortalite oranları üç gün içerisinde uygun antibiyotik tedavisi başlanan hastalarda azalmakta, sekonder bakteriyemi ve septik şok durumunda ise mortalite artmaktadır. Altta yatan hastalık ve risk faktörleri prognozla yakından ilişkilidir.[25]

Türkiye'de yapılan bir çalışmada, ventilatörle ilişkili pnömoninin önemli bir kısmını oluşturduğu nozokomiyal pnömoni etkenleri arasında, *A. baumannii* %24 oran ile ilk sırada yer almıştır.[26]

2.2.2. Bakteriyemi

Günümüzde yetişkin hastalarda gelişen *Acinetobacter* kaynaklı bakteriyemi olgularında en yaygın görülen tür *Acinetobacter baumannii* türüdür. Solunum yolu infeksiyonu ve intravenöz kateter kullanımı nozokomiyal *Acinetobacter* bakteriyemisinin sık görülen sebeplerini oluşturur. Bu nedenle santral venöz kateterli hastalar *Acinetobacter* bakteriyemisi açısından sıkı gözlem altında tutulmalıdır. Nozokomiyal *Acinetobacter* bakteriyemisinin daha az görülen diğer kaynaklarını üriner sistem, yara, cilt ve abdominal infeksiyonları oluşturur. Gerçek bakteriyeminin deri florası ile kontamine kan örneklerinden ayırımı oldukça zordur. Bakteriyemilerde, *Acinetobacter* tek patojen veya polimikrobiyal bakteriyeminin bir parçası olarak bulunabilir. Erişkin bakteriyemik hastaların büyük bir grubunu immünsüpressif yaşlı hastalar oluşturmaktadır. Bu hastalarda bakteriyeminin kaynağını sıklıkla solunum yolu infeksiyonları oluşturmakta ve bakteriyemi büyük oranda hastaneye yatışın ikinci haftasında gelişmektedir. Erişkin hastalarda bakteriyemiye en sık predispozisyon oluşturan faktörler; malignensiler, travma ve yanıktır. Travmalı hastalarda prognoz daha iyiyken, yanıklı ve maligniteli hastalarda prognoz oldukça kötüdür. İkinci önemli grubu yenidoğan hastalar oluşmaktadır. Yenidoğanlarda görülen septisemi için risk faktörleri; düşük doğum ağırlığı, mekanik ventilasyon, daha önce antibiyotik kullanımı ve yeni doğan konvülsiyonlarının varlığı olarak tanımlanmıştır.[5, 7, 27]

Klinik tablo diğer *Acinetobacter* türlerine göre *A. baumannii'ye* bağlı bakteriyemilerde daha ağır seyreder. Polimikrobiyal bakteriyemilerde mortalite oranı artmakta olup, *Acinetobacter* bakteriyemisinde mortalite oranı %17-46 arasında bildirilmiştir.[7]

2.2.3. Menenjit

Sporadik *Acinetobacter* menenjit olguları bildirilmekle beraber, sekonder olgular baskın form olarak görülmektedir. Sekonder olgular, daha çok erişkin erkeklerde travma ve lomber ponksiyon, ventrikülografi ve miyelografi gibi beyin cerrahisi uygulamalarından sonra gelişir. Mortalite oranları farklı çalışmalarda %20-27 arasında

izlenmektedir. Serebrospinal fistül, beş günden daha fazla süreli ventriküler kateter varlığı ve yoğun antibiyotik kullanımı durumunda risk artmaktadır.[5]

Ülkemizden Saba ve arkadaşlarının,[28] Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde yaptığı bir çalışmada; 55 nozokomiyal menenjit olgusunun 13'ünde *Acinetobacter* türleri izole edilerek tüm etkenler arasında ikinci sırada yer almıştır.

İlginç olarak bir grup lösemili çocukta intratekal metotreksat kulanımını takiben gelişen *Acinetobacter* menenjit salgını tanımlanmıştır. Metotreksat tedavisi alan 20 çocuktan sekizinde tedaviyi takiben 2 ile 19 saat sonra akut menenjial irritasyon belirtileri ve semptompları gözlenmiştir. Bu hastalardan beşinin beyin omurilik sıvısında (BOS) ve metotreksat solüsyonlarında *Acinetobacter* izole edilmiştir. Bunlarda üçü menenjit nedeniyle ölmüş, beşi kurtulmuştur. Salgının sebebi iyi sterilize edilmemiş iğnelerin kullanımı olarak gösterilmiştir.[5]

2.2.4. Üriner Sistem Enfeksiyonları

Acinetobacter'e bağlı üriner sistem infeksiyonları, genelde immün sistemi baskılanmış, yaşlı, sürekli üriner kateteri olan ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda görülmektedir. *Acinetobacter* kaynaklı üriner sistem infeksiyonu gelişen hastaların %80'i erkektir. Bunun muhtemel sebebi erkeklerde prostatizme bağlı üriner katater bulundurma oranlarının daha yüksek olmasıdır. Üriner kateter taşıyan hastalardan izole edilen her *Acinetobacter* gerçek infeksiyon etkeni olmadığından kolonizasyonu göz ardı etmemek gerekir.[5]

2.2.5. Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Travmatik yaralar, yanık, cerrahi insizyon bölgeleri, damar içi kateter uygulamaları ve bağışıklık sisteminin baskılanması *Acinetobacter'e* bağlı yumuşak doku infeksiyonu gelişimine zemin hazırlayan risk faktörlerini oluşturur. Mikroorganizmanın hasarlı dokularda ve yabancı cisimler üzerinde gelişebilmesi enfeksiyonlara olanak hazırlar. Damar içi kateter yerinde sellülit gelişen olgularda, kateterin uzaklaştırılmasıyla infeksiyon iyileşebilmektedir.[4, 5, 7]

2.2.6. Diğer Enfeksiyonlar

Acinetobacter'e bağlı vücudun çeşitli bölgelerinde konjonktivit, endoftalmit, yumuşak lens kontaminasyonu sonucunda korneal ülserasyon ve perforasyon, prostetik kapak endokarditi, osteomiyelit, artrit, pankreas ve karaciğer absesi rapor edilmiştir.[5, 7, 29] Ayrıca periton diyalizi, perkutan transhepatik kolanjiografi, perkütan safra drenajı sonrası infeksiyon gelişen olgular bildirilmiştir.[3]

2.3. *Acinetobacter* Enfeksiyonlarında Tedavi

Antibiyotiğe duyarlı *Acinetobacter* izolatlarının neden olduğu enfeksiyonlar, genelde geniş spektrumlu sefalosporinler, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları veya tek başına ya da aminoglikozidle kombinasyon halinde kullanılan karbapenemlerle tedavi edilmektedir Tedavi süresi, çoğunlukla enfeksiyon bölgesine bağlıdır ve büyük ölçüde ampiriktir.[4, 5]

Birçok antibiyotiğe çeşitli mekanizmalarla direnç geliştirmiş olan *Acinetobacter* suşlarına bağlı gelişen infeksiyonlarda tedavisi seçenekleri az ve tedavi oldukça güçtür. Tedavide en etkili antibiyotikler; karbapenemler, sulbaktam ve kolistindir.[9]

Ciddi *Acinetobacter* infeksiyonlarının tedavisinde kombinasyon tedavisi önerilmektedir. Düşük direnç oranları ve in-vitro olarak da sinerjik etkileşim göstermesinden dolayı imipenem-amikasin kombinasyonu en fazla tercih edilen kombinasyondur. Seftazidim-aminoglikozid veya florokinolon, imipenem-siprofloksasin, sefoperazon-sulbaktam, pefloksasin-amikasin yada tobramisin, seftazidim-aminoglikozid ve seftazidim-kinolon kombinasyonları kombine tedavide kullanılabilecek diğer kombine tedavi seçenekleridir.[5, 9]

İmipenem, doksisiklin ve amikasine duyarlı *A. baumannii'nin* kullanıldığı deneysel fare pnömoni modelinde ise imipenem-amikasin veya doksisiklin-amikasin kombinasyonu imipenem monoterapisinden daha etkili bulunmamıştır. Bu çalışmada doksisiklin-amikasin kombinasyonu in-vitro olarak sinerjik etki göstermiş ve imipenem monoterapisine alternatif tedavi seçeneği olarak gösterilmiştir.[30]

Bu konudaki klinik çalışmalar incelendiğinde olgu sayısının az olması dikkat çekmektedir. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda nozokomiyal *Acinetobacter* pnömonilerinde, tek başına meropenem veya imipenem ile tedavi başarı oranlarının oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Pnömoni olgularının aksine trakeobronşitli olgularda ise sulbaktam ve ampisilin/sulbaktam monoterapisi ile başarılı tedavi sonuçları elde edilmiştir. Ayrıca tedavi sırasında piperasilin/tazobaktam-amikasin ve seftazidim-amikasin kombinasyonlarına direnç geliştiği gözlemlenmiştir.[9]

Gülhan ve arkadaşları;[31] Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde, 2004–2006 yılları arasında infeksiyon etkeni olarak izole edilen *A. baumannii* kökenlerinin antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi için, minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda, bakterilerin 2004 ve 2006 yıllarına ait antibiyotik direnç oranlarını sırasıyla; meropenem %7 ve %25, amikasin %59 ve %59, seftazidim %80 ve %88, siprofloksasin %54 ve %82, sefepim %83 ve %87, gentamisin %78 ve %87, ko-trimoksazol için %73 ve %78 olarak tespit edilmiştir. Meropenem ve siprofloksasinde 2004'e göre 2006'da direnç oranları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. İmipenem ve meropenemin *A. baumannii* kökenlerine karşı en etkili antibiyotikler olduğu olduğu belirtilmiştir.

Shokrylanbaran[9] Trakya Üniversitesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde yaptığı çalışmada, çoğul dirençli *A. baumannii* kökenlerinde çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının etkileşimini duyarlı ve dirençli suşlarda araştırmıştır. Elde edilen en yüksek sinerji oranları dirençli suşlarda imipenem-tobramisin, ampisilin/sulbaktam-tobramisin ve seftazidim-amikasin, duyarlı suşlarda ise imipenem-amikasin, imipenem-tobramisin, tikarsilin/klavulanat-amikasin, tikarsilin/klavulanat-netilmisin, seftazidim-netilmisin ve seftazidim-siprofloksasin kombinasyonlarında gözlenmiştir. Ancak çoğul dirençli kökenlerde in-vitro elde edilen sinerjik etkileşimin her zaman klinikte erişebilecek konsatrasyonlarda sinerji oluşturmadığı saptanmıştır.

2.4. *Acinetobacter*'lerde Direnç Mekanizmaları

Yoğun bakım ünitelerinde çoğul ilaç dirençli *Acinetobacter* kaynaklı hastane infeksiyonlarının tedavisinde büyük sorunlarla karşılaşılmaktadır. Aminoglikozidler,

üreidopenisilinler, florokinolonlar, üçüncü kuşak sefalosporinler gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı, coğul ilaç dirençli suşların ortaya çıkmasında ve yayılmasında önemli bir rol oynamıştır.[9]

1997 yılında, New York'ta 15 hastaneyi kapsayan bir çalışma yapılmış ve *Acinetobacter*'lerde antibiyotik direnç durumu araştırılmıştır. Suşların ancak yarısı karbapenemlere duyarlı bulunmuş olup karbapenem dirençli suşların ortaya çıkmasının, üçüncü kuşak sefalosporinlerin yaygın kullanımıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir.[32] Özellikle *A. baumannii* diğer türlere göre daha dirençli, *A. lwoffii* ve *A. junii* ise daha duyarlı bir tür olarak görülürken; penisilin, ampisilin ve sefalotine direnç hemen hemen tüm grup üyelerinde, kloramfenikol direnci ise çoğu suşta gözlenmektedir.[33, 34] *A. baumannii* ampisilin, amoksisilin, birinci kuşak sefalosporinlere doğal dirençlidir.[35]

Hastane kaynaklı *Acinetobacter* suşlarında; beta-laktamazlar, aminoglikozid modifiye edici enzim üretimi, hücre duvarı kanalları ile dış membranda yer alan proteinlerin ekspresyonunun azalması, efluks pompaları ve topoizomeraz enziminde meydana gelen mutasyonlar sık görülen direnç mekanizmalarıdır. *A. baumannii*, kinolonlara gyrA ve parC genlerindeki mutasyonları ve bağlanma bölgesindeki değişikliklerle direnç geliştirir. Aminoglikozidlere ise integronlarca kodlanan ve aminoglikozidlerde adenilasyon, asetilasyon ve fosforilasyon yapan; aminoglikozid modifiye edici enzimleri salgılayarak direnç geliştirir. Bu direnç mekanizmalarından bir kaçı veya hepsi bir araya gelerek fırsatçı bir patojen olan Multidrug Resistance (MDR, çoklu antibiyotik direnci) ve Pandrug Resistance (PDR, bütün antibiyotiklere direnç) *A. baumannii* suşlarının gelişmesine sebep olur.[36]

A. baumannii'nin etken olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotik sınıflarından, kinolon, sefalosporin, karbapenem, aminoglikozid, doksisiklin, trimetoprim-sulfametaksazol gibi antibiyotik gruplarındadan üçüne veya daha fazlasına direnç görülmesi durumunda MDR *Acinetobacter* terimi kullanılsa da MDR'nin standart bir tanımı yoktur. Kolistin dışındaki standart tüm antibiyotiklere direçli suşlar için ise panrezistan terimi kullanılmakta olup, bu konuda da farklı tanımlamalar mevcuttur.[37- 40]

2.4.1. Beta Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

Dört farklı mekanizmanın tek başına ya da çoğunlukla bir arada işlemesi sonucu beta- laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişebilmektedir:

1- Beta-laktamaz enzimleriyle antibiyotiğin parçalanması,
2- Beta laktam antibiyotiğin hücre içine girişinin engellenmesi,
3- Penisilin bağlayan proteinlerde (PBP) değişikliklerin oluşması,
4- Effluks pompa direncinin aktive olması.

Beta laktam direnci diğer *Acinetobacter* türlerine göre *A. baumannii* kökenlerinde daha sıktır.[36, 41]

Acinetobacter kökenlerinde gelişen beta-laktam direncinin en önemli sebebi; plazmid, kromozom veya transpozon kontrolünde sentezlenen beta-laktamaz üretimidir.[42] AmpC tipi beta laktamaz enzimleri molekuler sınıf C ve fonksiyonel grup 1 olup, genellikle oksiminosefalosporinlere (seftriakson, sefotaksim), sefamisin grubu sefalosporinlere dirençlidir. Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitorleri ile inhibe olmazlar. AmpC tipi enzimlerin indüklenebilirliğine dair bir kanıt bulunamamıştır.[41, 43] *A. baumannii* izolatlarının hemen hemen hepsinde sefalosporinaz aktivitesi bulunmuştur.[41] Beş tanesi *Acinetobacter* kökenlerinden biri *Oligella urethralis'*den olmak üzere toplam altı tane sefalosporinaz tanımlanmış, son zamanlarda yüksek alkalik izoelektriksel noktaya sahip *Acinetobacter* derived sefalosporinaz-7 (ADC—7) olarak adlandırılan yeni bir beta-laktamaz enzimi tanımlanmıştır.[44]

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) olan PER-1 enzimi *Acinetobacter* türünde 1996 yılında ilk kez Türkiye'de saptanmış olup, çoğunlukla Türkiye ve Kore'deki suşlarda tespit edilmiştir.[45]

GSBL tipi direnç coğunlukla TEM-1, TEM-2 VE SHV-1 enzimlerinin hidrolitik aktivitesinde değişim oluşturan mutasyonlarla ortaya çıkar. GSBL enzimi plazmidler tarafından kodlanır ve *Enterobacteriaceae* türleri arasında hızla yayılır. Türkiye'de

Acinetobacter türleri arasında GSBL'ye bağlı direncin çok az olduğu, ancak klonal çeşitlilik ve yüksek prevelans ile hızlı yayılma potansiyeli taşıdığı belirtilmiştir.[46]

Vila ve ark.[47] oksasilin, kloksasilin ve metisilini hidrolize eden, OXA–21 olarak adlandırılan plazmidlerce kodlanan sınıf D beta laktamaz'ı (oksasilinaz) tanımlamışlardır. Yeni çalışmalarla plazmidlerce kodlanan ve sınıf D karbapenemazlar olan diğer OXA enzimleri (OXA-23, OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-27, OXA-40,) tanımlanmıştır.[9, 48-50]

Acinetobacter türleri genellikle penisilinleri etkileyen TEM–1, TEM–2 ve CARB–5 ve özellikle sefalosporinleri etkileyen ve az birazda penisilinaz aktivitesine sahip ACE-1, ACE-2, ACE-3 ve ACE-4 gibi beta laktamazlara sahiptirler. ACE grubu beta laktamazların; aztreonam, seftazidim ve sefotaksimi hidrolize edici aktiviteleri bulunmazken, en güçlü aktiviteleri sefaloridin ve ACE-4 hariç sefradine karşı görülür. En geniş etki spektrumlu sefalosporinaz olarak gösterilen ACE-1, sefuroksime karşı zayıf etkiliyken klavulonik aside dirençlidir.[9, 11]

Metallo-beta-laktamazlar ve oksasilinazları içeren (karbapenemazlar) *A. baumannii'*de karbapenem direncinin ortaya çıkmasına önemli bir katkıda bulunmaktadır. İmipeneme dirençli *A. baumannii* kökenlerinde Ambler sınıf D'de yer alan ve karbapenemleri hidrolize eden kromozomal OXA–24 enzimi gösterilmiştir.[48]

Acinetobacter türlerinde karbapenem ve aztreonam dışındaki beta-laktamları hidrolize ederek yüksek oranda direnç gelişimine sebep olan, plazmidlerce kodlanan sınıf B beta-laktamazlar içerisinde bulunan, aktif bölgelerinde taşıdıkları metal iyonları nedeniyle metallo beta laktamaz olarak adlandırılan IMP, VIM, GMP ve SMP türü metallo-beta-laktamazlar tanımlanmıştır.[9, 51, 52]

İmipenem ve azlosilini parçalayan ve ileride ciddi sorunlar yaratabileceği düşünülen ARI-1 ise plazmid kaynaklı bir karbapenemazdır. ARI-1 enzimi sefuroksim, seftazidim ve sefotaksimi parçalayamamaktadır.[5, 47]

Dış membran geçirgenliğinin azalması ve penisilin bağlayan protein (PBP)'lerin sayısında azalma, kromozomal mutasyonlar sonucu beta-laktam antibiotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP sentezlenmesi beta-laktam antibiyotik direncinde rol alan mekanizmalardandır.[2, 42, 43, 53, 54]

Dış membrandan madde transportunu sağlayan porinler olarak görev alan dış membran proteinlerinin (OMP) azalması sonucu oluşan değişimler direnç gelişimine yol açar ve enzimatik direncin daha da artmasına sebep olabilir. Diğer gram negatif bakterilere oranla *Acinetobacter*'lerde porin sayısı daha azdır. Porinler *Acinetobacter*'lerde intrensek antimikrobiyal direncinden sorumludur. *Acinetobacter*lerdeki dış membran proteinleri hakkında bilinenler az olsa da CarO (29 kDa) adıyla bilinen protein kaybının imipenem ve meropenem direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.[2, 53]

Eflux pompa sistemi ile ilacın uzaklaştırılması çoklu ilaç direnci oluşumunda önemli bir role sahiptir. TetA ve TetB tetrasiklin direncinde, TetB minosiklin direncinde, CmlA kloramfenikol direncinde rol alan dar spektrumlu effluks pompa sistemleridir. Aminoglikozid, beta-laktam, kloramfenikol, eritromisin ve tetrasiklin direncinde adeABC pompasının fazla miktardaki salınımı rol alır. AdeABC pompasının salınımını adeRS geni kontrol eder ve bu gende meydana gelen nokta mutasyonları pompa sisteminin aşırı salınımına dolayısıyla direnç gelişimine sebep olur. AdeIJK pompası ise adeABC pompası ile sinerji oluşturarak tigesiklin direncinde rol alır. Kinolon, gentamisin, kanamisin, eritromisin, kloramfenikol ve trimetoprim direncinde rol alan bir başka pompa sistemi ise AbeM pompasıdır.[2, 53]

2.4.2. Aminoglikozidlerde Direnç Mekanizmaları

Acinetobacter infeksiyonlarının tedavisinde aminoglikozidlerin kullanımının artmasıyla aminoglikozid direnç oranları da artmıştır. *Acinetobacter* türleri üç mekanizma ile aminoglikozid direnci geliştirirler. Bu mekanizmalar;

1- Ribozomal mutasyonlara bağlı olarak ribozomal hedeflerde değişiklik oluşması,

2- Aminoglikozidlerin hücreye girişi ve birikiminde azalma ve aktif pompalama mekanizmasıyla ilacın dışarı atılması,

3- Aminoglikozidlerin amino grup ve hidroksil gruplarının enzimatik yolla değiştirilmesidir.

Bu yolda kullanılan enzimler ise şunlardır:

a. Aminogilikozidlerin amino grubunu asetile eden aminoglikozid astiltansferaz

b. Aminoglikozidlerin hidroksil grubunu fosforile eden aminoglikozid fosfotransfeaz

c. Aminoglikozidlerin hidroksil grubunu adenile eden aminoglikozidnükleotidil transferaz

Bu enzimler sıklıkla plazmid kontrolünde sentezlenir ve sentezden sorumlu genler transpozonlarla taşınırlar. Bir enzim birçok aminoglikozid molekülünü değiştirebilir ve bir aminoglikozid molekülü birden fazla bölgede değişikliğe uğrayabilir.[5, 36, 55]

16S rRNA da metilasyon sonucunda oluşan ribozomal mutasyona bağlı olarak aminoglikozidlerin hedef bölgeye bağlanması bozulur ve gentamisin, tobramisin, amikasin dahil klinik kullanımdaki tüm aminoglikozidlere yüksek oranda direnç gelişir.[54]

2001 yılında; *Acinetobacter* türlerinde aminoglikozid direncinde rol alan RND (resistance-nodulation-cell division) tipi efluks pompa sistemi tanımlanmıştır.[55]

2.4.3. Kinolonlara Karşı Direnç Mekanizmaları

Kinolon grubu antibiyotiklere karşı direnç; hedef enzimler DNA giraz ve topoizomeraz IV'de gelişen mutasyonlara, ilacın hücre içine geçirgenliğinde azalma ve antibiyotiğin aktif dışa atımına bağlı olabilmektedir. Bu mekanizmaların tümü kromozom kontrolündedir. Florokinolonların hedef enzimleri ve direnç profilleri türler

arasında farklılıklar gösterir. Genel olarak Gram negatif bakterilerde birincil hedef DNA giraz iken, Gram pozitif bakterilerde ise topoizomeraz IV öncelikli hedeftir.[10, 56]

DNA giraz enziminin alt birimlerinde oluşan yapısal değişiklikler ilacın enzim-DNA kompleksine affinitesini azaltarak kinolon direncine yol açmaktadır. Bu yapısal değişiklikler gyrA ve parC genlerindeki mutasyonlar sonucu ortaya çıkmakta ve sıklıkla enzimin amino ucundaki 'kinolon direncini belirleyen bölge' olarak tanımlanan bir bölgede oluşmaktadır. Tek başına GyrA mutasyonu sonucunda orta düzeyde bir direnç gelişirken, gyrA ile birlikte parC mutasyonu olması durumunda yüksek düzey direnç gelişir.[10, 56]

Efflux pompa direnci mekanizmasında ise kromozomlarca kodlanan ilaç dışa atım pompaları ile ilacın hücre içinde birikimi engellenir. Gram-negatif bakterilerde kinolonların hücre içine girişi dış membrandaki porinlerden veya fosfolipit tabakasında difüzyon yoluyla olmaktadır. *Acinetobacter* türlerinde dış membran geçirgenliği *Escherichia coli*'nin %1-3'ü kadardır. Bunun sebebi porin sayısının az ve yapılarının küçük olmasıdır. Mutasyonlar sonucu daha da azalıp küçülen porinler direnç gelişimine sebep olur. Son dönemde yapılan çalışmalarda direnç gelişiminde porinlerdeki azalma ile atım pompalarının birlikte çalışmasının gerekli olduğu saptanmıştır.[10, 56]

2.4.4. Kolistine Direnç Mekanizması

Gram negatif bakterilerde adaptasyon ve mutasyon sonucu kolistine direnç gelişmektedir. Kolistine karşı *Acinetobacter*'lerde üç farklı mekanizma ile direnç gelişir. Bunlardan birincisi; hücre zarındaki lipopolisakkarit tabakasının lipit A yapısının; *A. baumannii*'de ortam şartlarına duyarlı iki kompartımanlı bir sinyal sistemi olan PmrA-B ile değiştirilmesi sonucunda, hücre zarının Mg^{+2} ve Ca^{+2} içeriklerine bağlı dış zar net negatif yükünün azalmasıdır. İkinci mekanizma; antibiyotiğin proteolitik mekanizma ile yıkılması, üçüncü mekanizma ise; geniş spektrumlu dışa atım pompaları ile antibiyotiğin dışarı atılmasıdır. Ayrıca polimiksin B direnci gelişen bakterilerde kolistine çapraz direnç gelişebilir.[57]

Diğer antibiyotiklere kıyasla kolistine direncin daha yavaş gelişmesinin sebebi antibiyotiğin etki mekanizmasının bakterinin metabolik aktivitesinden bağımsız olması olabilir. Diğer bir neden kolistinin bakterisidal etkisinin çok hızlı gelişmesidir. Önceden kolistin kullanımı, kolistin dirençli suşların ortaya çıkışında en önemli risk faktörleri olarak gösterilmiştir.[57, 58]

2.4.5. Tetrasiklin Direnç Mekanizmaları

Bakterilerde tetrasiklinlere dirençte, enzimatik inaktivasyon, rRNA mutasyonu, ribozomun sitozolik proteinlerle korunması, sitoplazmik membrandaki proteinler ile ilacın enerjiye bağlı olarak hücre dışına pompalanması mekanizmaları rol alır. Bunlar içinde en sık görülenleri, ilacın dışarı atılımı ve ribozomal koruyucu proteinler aracılığıyla gelişen direnç mekanizmalarıdır. TetA ve tetB spesifik transpozon aracılı eflüks pompalarıdır; tetB, tetrasiklin ve minosiklinin her ikisinin de efflüksünü belirlerken, tetA sadece tetrasiklinin efflüksünü yürütmektedir. Ribozom koruyuyucu proteinler ribozomları tetrasiklinlerin etkisinden korurlar. Ribozomları tetrasiklin, minosiklin ve doksisiklinden koruyan protein TetM olarak isimlendirilmiştir.[4, 5, 59]

Tigesiklinin etki mekanizması tetrasiklinlerle aynı olduğundan direnç mekanizmaları da aynıdır. Ancak tigesiklin ribozomlardaki bağlanma noktasına tetrasiklinden beş kat daha kuvvetli bağlanması tigesiklini ribozomal koruyucu proteinlerin etkisinden korur. Ayrıca; glisilsiklin sınıfı antibiyotikler tetrasiklinin dört halkalı karboksilik iskeletinde D halkasına büyük modifiye glisilamid parçasının eklenmesi ile geliştirilmiştir. Bu değişim tigesiklinin hem eflüks (eklenen büyük parça nedeni ile) hem de ribozomal tip direncin (ribozomal mutasyona affinitenin düzelmesi) üstesinden gelmesini sağlamıştır. Ancak tigesiklinin tedavide artan oranlarda yaygın olarak kullanılmaya başlamasıyla bu antibiyotiğe dirençli bakteri gelişimi söz konusu olabilir. Mutasyonlarla oluşacak yeni efluks pompaları ve ribozomal korunma genleri direnç gelişimini sağlayabilir.[56, 57]

2.4.6. Diğer Direnç Mekanizmaları

Sülfonamidlere karşı direnç, sıklıkla kromozomal mutasyonlar sonucu paraamino benzoik asit'in (PABA) aşırı sentezi ya da sülfonamidlere düşük afinite gösteren değişik bir dihidropteroat sentetaz enziminin sentezlenmesi ile gelişir. Bakteriler tarafından aşırı dihidrofolat redüktaz enzimi sentezlenmesi, trimetoprime geçirgenliğinin kaybı ve plazmid veya transpozonlarda bulunan genler tarafından trimetoprime dirençli yeni bir dihidrofolat redüktaz enzimi sentezlenmesi trimetoprim direncine neden olabilmektedir.[4]

A. baumannii izolatları kloramfenikol ve trimetoprim/sülfametoksazole karşı yüksek düzeyde direnç göstermektedirler, ancak bu direncin genetik temeli çok az bilinmektedir. Trimetoprim direncinden, plazmid DNA'sı tarafından taşınan dhfr geninin kodladığı dihidrofolat redüktaz enziminin sorumlu olduğu bildirilmiştir.[55]

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu prospektif çalışma; Aralık 2011 - Eylül 2013 tarihleri arasında, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Hastanenin farklı kliniklerinden gönderilen çeşitli klinik örneklerden (idrar, boğaz, kan, yara, beyin-omurilik sıvısı) izole edilen, çoğul ilaca dirençli 40 *A. baumannii* suşu çalışma kapsamına alınmış olup, her hastadan bir klinik izolat çalışmaya dâhil edilmiştir.

3.1. Kullanılan Malzemeler

Etüv
Derin dondurucu
NF615 santrifüj cihazı
McFarland cihazı
VİTEK 2 otomatize sistemi (BioMerieux)
Eppendorf tüpleri 2ml'lik
Eozin Metilen Blue besiyeri
Mueller Hinton agar
Koyun kanlı agar
Steril pamuklu eküvyon çubuğu
Colistin (CO) E test (Biomerieux)
Sulbaktam (SUL) E test (Biomerieux)
İmipenem (İP) E test (Biomerieux)
Amikacin (AK) E test (Biomerieux)
Rifampisin(Rİ) E test (Biomerieux)
Azitromisin (AZ) E test (Biomerieux)

3.2. İdentifikasyon ve Duyarlılık Testleri

Çalışma kapsamına alınan *Acinetobacter* suşlarının identifikasyonu konvansiyonel yöntemler (Gram boyama, oksidaz testi, fermentasyon özelliği…) ve VİTEK 2 otomatize sistemi (BioMerieux) kullanılarak yapılmıştır.[8]

VİTEK 2 otomotize sistemine göre duyarlı (D), orta duyarlı (OD) ve dirençli (R) olarak değerlendirilen ve en az üç antibiyotik grubuna (trimetoprim/sulfametoksazol, beta laktam-beta laktamaz inhibitörü, siprofloksasin, aminoglikozid, üçüncü kuşak sefalosporin ve karbapenem grubundan üçü) direnç gösteren *A. baumannii* izolatları, çalışma gününe kadar Lysogenybroth içeren eppendorflara pasajlanarak, derin dondurucuda (-80°C'de) saklanmıştır. Derin dondurucudan çıkarılan *A. baumannii* izolatları çalışmadan önce hazır dökülmüş EMB ve koyun kanlı agar besiyerlerine pasajlanmış; aerobik ortamda, normal atmosferde, 37°C'de, 18-20 saat inkübasyon sonrası saf olarak elde edilen bakteri kolonileri deneylerde kullanılmıştır.

A. baumannii klinik izolatlarına karşı kolistin, sulbaktam, imipenem, amikasin, rifampisin ve azitromisin'in minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri E-test yöntemi ile belirlenmiştir. E- test için üretici firmanın önerileri doğrultusunda; elde edilen saf bakteri kolonilerinin Mueller Hinton buyyonunda 0.5 McFarland Standard bulanıklığına eş süspansiyonları elde edilmiştir. Bunlardan da steril eküvyon çubukları ile laboratuvarımızda hazırlanan ve önceden kurutulmuş olan Mueller-Hinton agar besiyerlerine yüzey ekimleri yapılmış, E- test şeritleri yerleştirilmeden önce 15-20 dakika nemin emilmesi beklenmiştir. Pens yardımı ile antibiyotiklerin E-test şeritleri, besiyeri plaklarına yerleştirilmiştir.

Aerobik ortamda, normal atmosferde, 35±2°C de ve 16-20 saat inkübasyon sonucunda elips şeklindeki inhibisyon zonunun şeritle kesiştiği nokta sayısal MİK değeri olarak kabul edilmiştir. Her bir antibiyotiğin MİK değerleri üretici firma ve CLSI önerilerine uygun olarak ölçülmüş ve sonuçlar CLSI'nın sınır değerleri dikkate alınarak değerlendirilmiştir.[60]

CLSI'da MIK değerleri belirlenmemiş olan rifampin ve azitromisin için ise literatür çalışmaları dikkate alınarak değerlendirme yapılmıştır. Rifampisin için *Acinetobacterlerde* ≤2 mg/L duyarlı; ≥4 mg/L dirençli kabul edilmiştir.[61] Azitromisin için de MİK ≤4 değeri duyarlı olarak kabul edilmiştir.[62, 63]

3.3. Antibiyotik Kombinasyon Etkileşimlerinin Belirlenmesi

E- test ile fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) indeksini belirlemek için önce kombinasyonda yer alan A ve B antibiyotiklerinin MİK değerleri kaydedilmiştir. Kombinasyon MİK değerini saptamak için besiyerine önce B şeridi konmuş ve 37 °C'de bir saat inkübe edildikten sonra, konsantrasyon çizgileri tam çakışacak şekilde B'nin yerine A şeridi yerleştirilmiştir. 16-20 saatlik inkübasyon periyodunu takiben, inhibisyon zon çapının E-test şerit kenarının kestiği noktada B'nin varlığında A'nın MİK sayısal değeri kaydedilmiştir. Aynı işlem önce A ve sonra B antibiyotiği olacak şekilde tekrarlanmıştır.

Kombinasyonun etkinliğini belirlemek için FİK indeksi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

FİK A=B'nin varlığında A'nın MİK sayısal değeri / Tek başına A'nın MİK sayısal değeri
FİK B=A'nın varlığında B'nin MİK sayısal değeri / Tek başına B'nin MİK sayısal değeri
Σ FİK indeksi = FİK A+ FİK B
Σ FİK ≤ 0.5 sinerji
Σ FİK > 0.5 < 1 kısmi sinerji
Σ FİK = 1 additif
Σ FİK > 1 < 4 indifferan (etkisiz)
Σ FİK ≥ 4 ise antagonist etkileşim olarak değerlendirilmiştir.

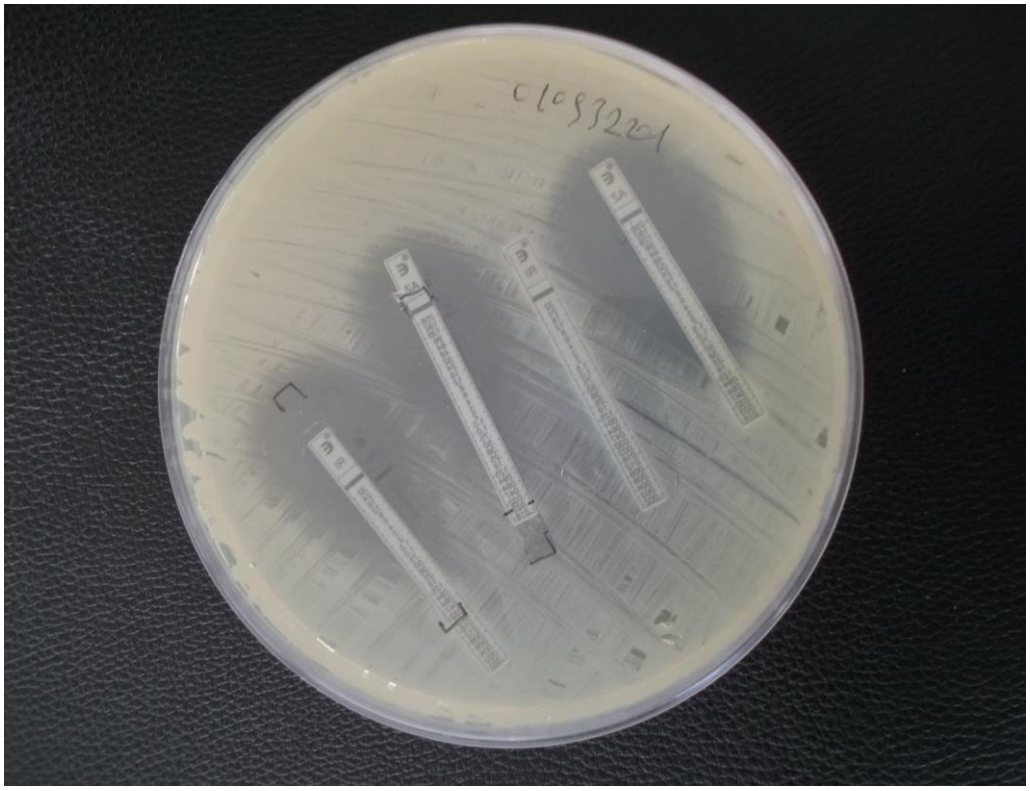
Sinerjinin bir diğer tanımı olarak, tek başına bir antibiyotiğin MİK değerine oranla, aynı antibiyotiğin kombinasyon MİK'inde en az dört kat düşüş de kullanılabilmektedir.[64]

Bu çalışmaya alınan 40 çoğul dirençli *A. baumannii* klinik izolatında denenen dört antibiyotik kombinasyonu için 160 FİK değeri hesaplanmıştır. Etkisiz, additif, antagonistik, sinerjistik ve kısmi sinerjistik etkileşimler kaydedilmiştir.

3.4. İstatistiksel Analizler

Kolistin-sulbaktam, imipenem-sulbaktam, imipenem-amikasin ve rifampisin-azitromisin kombinasyonlarının in-vitro etkileşimlerinde elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS (SPSS Incorporated, Chicago) programında Fisher'in kesin ki-kare testi kullanılarak yapılmış ve $p<0.05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

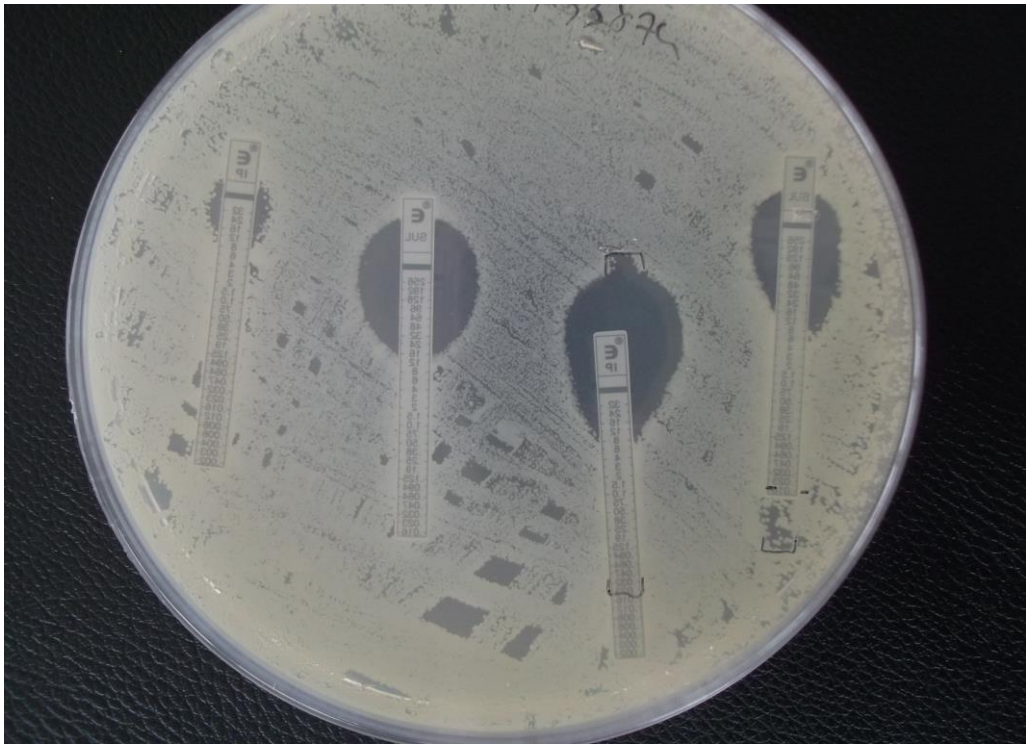
Aşağıda yapılan çalışmada elde edilen etkileşimlerden bazı resimler görülmektedir.



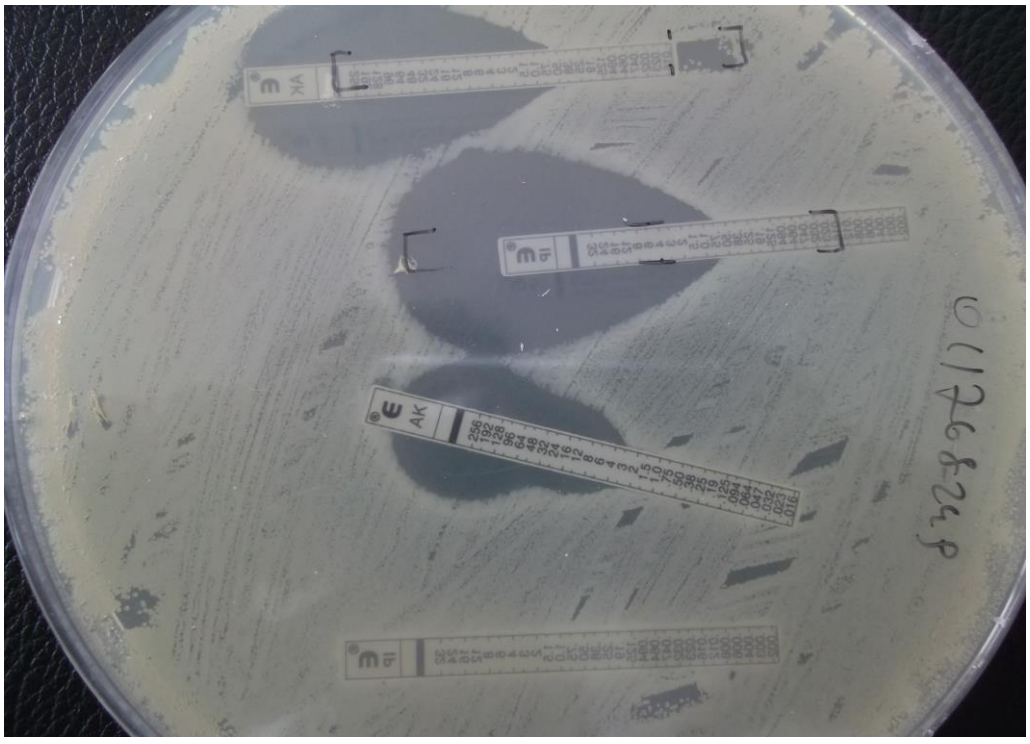
Resim 3.1. Rifampisin-azitromisin Kombinasyonunda Gözlenen Bir Etkileşim



Resim 3.2. Kolistin-sulbaktam Kombinasyonunda Gözlenen Bir Etkileşim



Resim 3.3. İmipenem-sulbaktam Kombinasyonunda Gözlenen Bir Etkileşim



Resim 3.4. İmipenem-amikasin Kombinasyonunda Gözlenen Bir Etkileşim

4. BULGULAR

Oniki aylık period süresince izole edilen çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarının servislere ve klinik örneklere dağılımı Tablo 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışılan *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Kliniklere Göre Dağılımı.

Servis	**Sayı**	**Yüzde**
Genel Cerrahi Yoğun Bakım	13	32.5
Plastik-Rekonstrüktif Cerrahi	2	5
Anestezi-Reanimasyon	9	22.5
Kalp Damar Cerrahi	3	7.5
Ortopedi	3	7.5
Nöroşirurji	5	12.5
Göğüs Hastalıkları	1	2.5
Yanık	1	2.5
İç Hastalıkları	3	7.5
Toplam	40	100

Tablo 4.2. Çalışılan *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Klinik Örneklere Göre Dağılımı.

Klinik Örnekler	**Sayı**	**Yüzde**
Yara	22	55
Boğaz	1	2.5
İdrar	1	2.5
Kan	15	37.5
Beyin Omurilik Sıvısı	1	2.5
Toplam	40	100

Acinetobacter baumannii suşlarında; imipenem, ampisilin, seftazidim, sefotaksim ve seftriakson antibiyotiklerinden herbirisine %95; ampisilin-sulbaktama %90; trimetoprim-sulfametoksazole %87.5; gentamisin ve rifampisine %85; sulbaktama %80; amikasin ve piperasilin/tazobaktama %75; azitromisine %52.5 oranlarında direnç saptanmıştır.

A. baumannii suşlarına karşı kolistin-sulbaktam, imipenem-sulbaktam, imipenem-amikasin, rifampisin-azitromisin kombinasyonlarından elde edilen FİK değerleri ve sonuçları aşağıda tablolar hakinde gösterilmiştir:

Tablo 4.3. *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Kolistin, Sulbaktam Antibiyotiklerinin ve Kombinasyonlarının MİK değerleri (µg/mL).

	Kolistin	Sulbaktam	Kolistin-Sulbaktam	Sulbaktam-Kolistin
1	0.016	32	0.016	0.016
2	0.016	8	0.016	0.016
3	0.032	4	0.064	0.016
4	0.064	256	0.125	0.125
5	0.032	8	0.032	0.016
6	0.032	8	0.032	0.016
7	0.023	6	0.016	0.016
8	0.023	12	0.032	0.016
9	0.016	6	0.016	0.016
10	0.032	8	0.094	0.094
11	0.38	16	0.19	2
12	0.016	2	0.016	0.016
13	0.032	16	0.016	0.016
14	0.032	12	0.064	0.064
15	0.016	6	0.016	0.016
16	0.016	12	0.064	0.016
17	0.016	12	0.016	0.016
18	0.023	1.5	0.016	0.032
19	0.032	12	0.032	0.032
20	0.016	6	0.016	0.016
21	0.016	8	0.032	0.032
22	0.023	12	0.016	0.016
23	0.016	4	0.032	0.032
24	0.016	6	0.032	0.023
25	0.032	3	0.032	0.032
26	0.016	24	0.016	0.016
27	0.016	8	0.032	0.032
28	0.032	8	0.032	0.016
29	0.016	16	0.094	0.016
30	0.016	12	0.016	0.016
31	0.016	4	0.016	0.016
32	0.016	6	0.016	0.016
33	3	256	2	2
34	1.0	64	1.0	0.5
35	0.032	12	0.032	0.032
36	0.38	1.5	0.38	0.5
37	0.064	4	0.016	0.064
38	0.032	4	0.094	0.094
39	0.064	8	0.064	0.064
40	8	256	2	2

Tablo 4.4. *Acinetobacter baumannii* Suşlarında İmipenem, Sulbaktam Antibiyotiklerinin ve Kombinasyonlarının MİK değerleri (µg/mL).

	İmipenem	Sulbaktam	İmipenem-Sulbaktam	Sulbaktam-İmipenem
1	12	32	6	12
2	32	8	8	12
3	32	4	4	4
4	0.75	256	0.25	0.25
5	16	8	4	4
6	24	8	4	6
7	32	6	4	4
8	32	12	4	4
9	32	6	6	6
10	32	8	6	6
11	256	16	256	6
12	8	2	0.125	1.0
13	8	16	8	4
14	12	12	3	3
15	6	6	3	1.5
16	32	12	4	3
17	32	12	8	6
18	6	1.5	1.5	1.0
19	32	12	6	4
20	32	6	4	2
21	32	16	12	6
22	32	8	8	4
23	32	4	4	4
24	32	6	6	8
25	32	3	4	3
26	32	16	8	8
27	32	8	4	8
28	32	8	6	4
29	32	16	32	16
30	32	12	4	12
31	32	4	4	3
32	32	6	6	6
33	32	8	6	4
34	32	4	6	4
35	32	12	8	6
36	0.19	0.38	0.19	0.19
37	32	4	6	2
38	32	4	4	4
39	16	8	1.5	4
40	32	256	4	4

Tablo 4.5. *Acinetobacter baumannii* Suşlarında İmipenem, Amikasin Antibiyotiklerinin ve Kombinasyonlarının MİK değerleri (µg/mL).

	İmipenem	Amikasin	İmipenem-Amikasin	Amikasin-İmipenem
1	12	16	8	8
2	32	24	8	8
3	32	32	16	24
4	0.75	4	0.38	0.75
5	16	16	6	6
6	24	0.38	0.5	0.5
7	32	256	12	24
8	32	16	6	6
9	32	32	16	16
10	32	0.5	0.5	0.38
11	2	256	2	256
12	8	12	6	3
13	8	24	6	6
14	12	24	8	6
15	6	0.5	0.75	0.25
16	32	16	24	8
17	32	32	16	16
18	24	24	8	6
19	32	256	12	12
20	32	16	8	8
21	32	16	24	12
22	32	24	8	24
23	32	32	24	64
24	32	0.38	0.75	0.75
25	32	24	32	12
26	32	24	12	16
27	32	0.38	0.5	0.5
28	32	1.5	1.5	1.5
29	32	16	8	8
30	32	3	0.75	0.75
31	32	32	16	32
32	32	16	16	24
33	32	0.5	1.0	0.38
34	32	12	12	6
35	32	12	12	8
36	0.19	0.094	0.016	.064
37	32	24	16	8
38	32	8	8	8
39	16	8	4	4
40	32	0.5	0.5	0.38

Tablo 4.6. *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Rifampisin, Azitromisin Antibiyotiklerinin ve Kombinasyonlarının MİK değerleri (µg/mL).

	Rifampisin	Azitromisin	Rifampisin-Azitromisin	Azitromisin -Rifampisin
1	1.5	24	1.0	0.75
2	32	8	12	12
3	32	16	16	12
4	4	4	2	2
5	1.5	16	1.0	0.75
6	32	2	2	1.5
7	32	16	16	12
8	32	2	1.5	1.5
9	32	256	16	12
10	32	2	2	1.5
11	6	256	3	256
12	32	3	32	8
13	1.0	8	0.5	0.5
14	32	1.5	1.5	1.5
15	4	12	3	2
16	32	1.5	1.5	1.5
17	32	16	16	16
18	32	6	4	8
19	32	1.5	1.5	1.5
20	32	0.75	1.0	1.0
21	32	8	12	12
22	32	1	1	2
23	32	12	16	16
24	32	3	6	3
25	32	12	16	16
26	1	8	0.5	0.5
27	32	3	32	2
28	32	0.5	1.0	0.019
29	32	2	2	2
30	32	3	3	3
31	32	12	24	64
32	32	2	2	1
33	32	1.0	1.5	0.5
34	32	12	8	12
35	32	24	12	8
36	0.75	.064	.016	.064
37	32	8	8	8
38	32	8	16	8
39	0.5	6	0.5	0.5
40	32	2	1.0	1.0

Tablo 4.7. FİK Değerlerine Göre Kolistin-Sulbaktam Etkileşim Sonuçları.

Etki	Sayı	Yüzde
Sinerji	2	5.0
Kısmi sinerji	5	12.5
Etkisiz	30	75.0
Antagonist	3	7.5
Toplam	40	100.0

Tablo 4.8. FİK Değerlerine Göre İmipenem-Sulbaktam Etkileşim Sonuçları.

Etki	Sayı	Yüzde
Sinerji	6	15.0
Kısmi sinerji	19	47.5
Etkisiz	15	37.5
Toplam	40	100.0

Tablo 4.9. FİK Değerlerine Göre İmipenem-Amikasin Etkileşim Sonuçları.

Etki	Sayı	Yüzde
Sinerji	3	7.5
Kısmi sinerji	16	40.0
Additif	4	10.0
Etkisiz	17	42.5
Toplam	40	100.0

Tablo 4.10. FİK Değerlerine Göre Rifampisin-Azitromisin Etkileşim Sonuçları.

Etki	Sayı	Yüzde
Sinerji	1	2.5
Kısmi sinerji	13	32.5
Additif	1	2.5
Etkisiz	24	60.0
Antagonist	1	2.5
Toplam	40	100.0

Tablo 4.11. Antibiyotik Kombinasyonlarının Etkileşim Dağılımları.

Kombinasyonlar	FİK				Toplam
	Sinerji + Kısmi Sinerji		Additif + Etkisiz + Antagonist		
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı
Kolistin-Sulbaktam	7	17.5	33	82.5	40
İmipenem-Sulbaktam	25	62.5	15	37.5	40
İmipenem-Amikasin	19	47.5	21	52.5	40
Rifampisin-Azitromisin	14	35.0	26	65.0	40

Yapılan ki-kare testinde; sinerji ve kısmi sinerjinin, imipenem-sulbaktam kombinasyonunda diğer kombinasyonlardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.0001$). Ayrıca en yüksek sinerji imipenem ile amikasin arasında (%15); en düşük sinerji rifampisin ile azitromisin arasında (%2.5) bulunmuştur. Kısmi sinerji ise imipenem-sulbaktam kombinasyonunda en yüksek oranda (%47.5) tespit edilmiştir. Antagonist etki, imipenemin sulbaktam ve amikasin ile olan kombinasyonlarında gözlenmezken; kolistin-sulbaktam (%7.5) ile rifampin-azitromisin (%2.5) antibiyotik kombinasyonlarında saptanmıştır.

Additif etkileşim ise; imipenem-amikasin arasında %10, rifampisin azitromisin arasında %2.5 oranlarında tespit edilirken; kolistin-sulbaktam ve imipenem-sulbaktam kombinasyonlarında izlenmemiştir. İndifferan veya etkisiz olarak tanımlanan, antibiyotiklerin birbirlerinin etkileri üzerinde bir rollerinin olmadığı durum; en yüksek kolistin-sulbaktam arasında (%75) tespit edildi. Tüm kombinasyonlarda en sık görülen etkileşim etkisizlik idi.

Sinerji ve kısmi sinerji birlikte değerlendirildiğinde kolistin-sulbaktam arasında %17.5, imipenem-sulbaktam arasında %62.5 imipenem-amikasin arasında %47.5, rifampisin-azitromisin arasında %35'lik oranlar tespit edilmiştir

5. TARTIŞMA

Acinetobacter türleri içerisinde insanlarda en sık hastalığa yol açan, genomik tür II olan *A. baumannii'*dir. Sağlıklı erişkinlerin derisinde kolonize olabilen *Acinetobacter*'ler; hastane personelinin cildine de yerleşerek, uzun süreli hastane infeksiyonlarına kaynak oluşturabilmektedir. Sıklıkla immün sistemi baskılanmış hastalarda, *Acinetobacter* kolonizasyonu sonrası ciddi infeksiyonlar izlenebilmektedir.[7, 65] Amerika Ulusal Nozokomiyal İnfeksiyon Sürveyans Sistemi (NNSI) verilerine göre özellikle alt solunum yolu infeksiyonlarında nonfermentatif bakteriler etken olarak saptanmaktadırlar. Ülkemizdeki hastane infeksiyonları ile ilgili sürveyans çalışmalarına ait verilerin analizinin yapıldığı bir makalede, hastane infeksiyonlarında en sık etken olarak *Pseudomonas* türlerinin saptandığı, *Acinetobacter*'lere bağlı infeksiyon insidansının da giderek arttığı tespit edilmiştir. Yoğun bakımlarda saptanan nozokomiyal infeksiyon etkenleri araştırıldığında da benzer durum görüldüğü tespit edilmiş olup, bazı merkezlerde *Acinetobacter* türlerinin ilk sıraya yerleştiği gözlenmiştir. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* dışındaki diğer Gram negatif nonfermentatifler ülkemizde henüz önemli boyutta tespit edilmemektedir.[66]

*A. baumannii'*nin biyofilm oluşturması ile bakterinin morfolojik, metabolik ve fizyolojik özelliklerinde yaptığı değişiklikler; hastane ortamında ve entübasyon tüpü, yapay kalp kapakları, sıvı yükleme aygıtları ve temizlik aygıtlarının yüzeyinde uzun süre canlı kalabilmesine olanak verir. Bu durum özellikle kateter kaynaklı *A. baumannii* infeksiyonlarda önemli bir virülans faktörü olarak gösterilmektedir. Biyofilm oluşturma özelliği, bakteriyi bazı antimikrobiyal ajanlara karşı da korumakta ve direnç oranlarının artmasına sebep olmaktadır.[67] Biyofilm tabakası yeni oluşmuş bakterilerde sulbaktam ve imipenemin etkisinin devam ettiği ancak biyofilm tabakası yaşı ileri olan bakterilerde sulbaktam aktivitesinin büyük oranda kaybolduğu ancak imipenem aktivitesinin devam ettiği Vidal ve arkadaşları[68] tarafından yapılan çalışmada vurgulanmıştır.

Yoğun bakım ünitelerinde uygunsuz ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının antibiyotik direnç oranlarını artmasında önemli bir etken olarak gösterilmektedir.[69] Ancak antibiyotik kullanımı; uygun olup olmamasından bağımsız olarak, dirençli suşların ortaya çıkmasında ve dirençli suşların seleksiyona uğrayarak

yayılmasında etkin bir role sahiptir.[70] Epidemiyolojik koşulların, antibiyotik kullanım sisteminin ve antibiyotik kontrol politikalarındaki farklılıkların bir sonucu olarak; ülkeler hastaneler ve hastane bölümleri arasında *Acinetobacter* suşlarının antibiyotik duyarlılık profilleri açısından farklılıklar gözlenmektedir.[71]

Ülkemizde YBÜ'lerinde en sık rastlanan Gram negatif infeksiyon etkenleri arasında *Acinetobacter*'ler önemli ve sıklığı artan bir etken olarak gözlemlenmekte olup bu suşlar antibiyotiklere yüksek oranda dirençli saptanmaktadırlar. Ülkemizde imipeneme %8 ile %70 arasında coğrafik bölgelere göre değişen direnç oranları saptanmaktadır.[4, 71-73]

Türkiyede yapılan ve ulusal ve uluslararası dergilerde yayınlanan makaleler taranarak 1995-2001 ve 2002-2005 yılları arasında *A. baumannii* kökenlerinde antibiyotik direç durumunun verileri karşılaştırıldığı meta analiz çalışması verilerine göre; amikasin direnci %65'den %72'ye, netilmisin direnci %24'den %91'e, tobramisin direnci %79'dan %95'e, imipenem direnci %9'dan %72'ye yülselmiştir.[74]

Kurtoğlu ve arkadaşları,[75] bir eğitim ve araştırma hastanesinde yatan hastaların klinik örneklerinden, 2008-2010 yıllarında 27 aylık süre içinde izole edilen 322 *A. baumannii* suşu üzerinde çeşitli antibiyotiklerin etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonuçlarına göre; %5 direnç oranı ile kolistin, %16 ile tigesiklin ve %28 ile sefoperazon-sulbaktam en etkili antibiyotikler olarak tespit edilirken, amikasine %52, trimetoprim-sulfametoksazole %67, karbapenemler ve tetrasikline %70-72 oranında direnç saptanmıştır. 2010 suşları, 2008-2009 suşlarıyla direnç oranları açısından kaşılaştırılmış ve sefoperazon-sulbaktam, tetrasiklin ve trimetoprim/sulfametoksazol için $p<0.001$ düzeyinde; piperasilin/tazobaktam, meropenem ve imipenem için $p<0.01$ düzeyinde anlamlı direnç artışları gözlenmiştir.

Bizim çalışmamızda da incelenen suşlarda imipenem de dahil olmak üzere, antibiyotiklere karşı yüksek direnç oranları tespit edilmiştir.

Çoğul dirençli bakterilerle oluşan infeksiyonlarda tedavi maliyeti ve hastanede kalış süresi uzamakta, daha da önemlisi mortalite artmaktadır. Dolayısıyla ciddi hastane

enfeksiyonlarında hastanın sağ kalımını etkileyen en önemli etkenlerden birisi etkenin doğru tespit edilerek lokal duyarlılık durumu ve kullanılacak antimikrobiyal ajanın etki spektrumu, gücü, direnç mekanizmaları, farmakokinetiği, tolerans ve güvenliği göz önüne alınarak uygun ampirik antibiyotik tedavinin başlanmasıdır.[76, 77] Tedavi başarısının artırılması, direnç gelişiminin önlenmesi veya azaltılması, morbidite ve mortalite oranlarının yüksek olması nedeniyle kanıtlar tamamen yeterli bulunmasa da kombine antibiyotik kullanımı önerilmektedir.[4, 78] Bu durumda in-vitro sinerji testlerinin yol gösterici olabileceği bir çok çalışmada vurgulanmıştır.[4, 79, 80]

Bir antibiyotik kombinasyonunun bakteri üzerine olan in-vitro etkisi; dama tahtası yöntemi, zamana bağlı öldürme yöntemi, disk difüzyon yöntemi ve E test yöntemi ile saptanabilir. Karşılaştırmalı çalışmalarda dört yöntemin sonuçları da birbiriyle uyumlu çıkmıştır. E-test yönteminin kolay uygulanabilirliği, kısa zamanda çalışılabilmesi avantajlarıdır. En önemil dezavantajı test maliyetinin yüksek olmasıdır.[64, 79, 81]

Kombinasyonu oluşturan antibiyotikler arasında ki sinerjik etkileşim araştırılırken antibiyotiklerin MİK değerlerini teker teker değerlendirerek kombinasyondaki etkileşimi yorumlamak yanlış sonuçlar doğurabilir. Bazen kombinasyonda kullanılan antibiyotiklerden birisi dirençliyken dahi sinerjik etkileşim görülebilir. Hatta dirençli iki antibiyotikle yapılan kombinasyonlarda daha yüksek oranda sinerjik etkinlik gözlenebilir. Ancak bazen de bunun tam tersi sonuçların alındığı da gözlemlendiğinden kombinasyonu oluşturan antibiyotikleri birlikte yorumlamak daha doğru olacaktır.[79]

Son zamanda sulbaktamın *Acinetobacter* tedavisinde ki etkinliğinin incelendiği bir metaanaliz çalışmasında eldeki verilerin sulbaktamın *Acinetobacter* infeksiyonlarının tedavisinde etkili bir alternatif oluşturduğu vurgulanmıştır.[82]

Bizim suşlarımızın kolistine çok düşük MİK değerlerinde duyarlı olmasından dolayı (MİK $\leq$ 0,064 μg/ml) 4 katlık düşüşün tespit edilemeyişi sinerji oranlarını düşük çıkarmıştır. Her ne kadar kolistin ile kombine ettiğimiz sulbaktamın kombinasyondaki MİK değeri, izolatların tamamı için 4 kat ve üzerinde düşmüş olsa da, ΣFİK

hesaplanırken her iki ilacın FİK değeri toplandığı için, sinerji ile sonuçlanan bulgu sayısı azdı. 2012 yılında Ondokuz mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılan bir çalışmada da kolistin ve sulbaktam kombinasyonunun in vitro etkileşimi araştırılmış sinerjik etkileşim tespit edilmesede bizim çalışmamıza benzer şekilde colistin duyarlı suşların tamamında sulbaktam MİK değerlerinde düşüş tespit edilmiştir[83]. Bizim çalışmamızda da suşların tamamında sulbaktam MİK değerlerinde düşüş tespit edilmiştir.

Marie ve arkadaşları[84] yaptıkları bir araştırmada, çoğul ilaç dirençli iki *Acinetobacter* üzerinde kolistin-sulbaktam kombinasyonunun etkileşimini E test yöntemiyle araştırmışlardır. MİK değerlerinde 4 kat düşüşü sinerji olarak kabul ettikleri çalışmada her iki suştada kolistin sulbaktam arasında sinerjik etkileşim tespit etmişlerdir.

Kalın ve arkadaşlarının[85] 89 yoğun bakım hastası üzerinde yaptığı çalışmada, hastaların bir grubuna sadece kolistin, bir grubuna ise kolistin-sulbaktam kombine verilmiş; klinik cevap açısından istatistiksel olarak bir fark görülmemesine rağmen, klinik kürün kolistin-sulbaktam kombinasyonu alanlarda tek başına kolistin monoterapisi alanlardan yüzdesel olarak daha iyi (kolistin-sulbaktam: %40, kolistin: %29.8) olduğu gözlenmiştir.

Lee ve arkadaşları;[86] Tayvan'da, kolistin, sulbaktam ve karbapenemler dahil standart antibiyotiklerin tümüne dirençli MDR *A. baumannii* kökenli bakteriyemisi olan 4 hastada karbapenem-sulbaktam kombinasyon tedavisini denemişler ve etkili bir tedavi sonucu sağlamışlardır. Aynı çalışmada bu hastalardan izole edilen suşlarda karbapenem-sulbaktam kombinasyonunun in-vitro etkileşimini araştırmış ve sinerjik etkileşim tespit etmişlerdir. Ve tigesiklin ve kolistine ulaşımın zor olduğu bölgelerde, sulbaktam-karbapenem kombinasyonunu, kolistin ve tigesiklin tedavisine alternatif olarak belirtmişlerdir. Çalışmamızda imipenem-sulbaktam kombinasyonunda elde ettiğimiz %62.5'lik sinerji ve kısmi sinerji oranı da bu sonuçla paralellik göstermektedir.

Bizim çaşlışmamıza benzer sonuç olarak; Choi ve arkadaşları;[87] ikisi imipenem ikisi sulbaktam biri hem sulbaktam hem imipeneme dirençli, imipenem dirençli suşlardan biri IMP- 1 tipi MBL enzimine sahip 4 MDR *A. baumannii* suşunda imipenem-sulbaktam kombinasyonunun etkileşimini broth mikrodilusyon metoduyla araştırmışlar ve sinerjistik etkileşim tespit etmişlerdir. Sulbaktam'ın penisilin binding protein-2 (PBP-2)'ye, imipenemin PBP-3'e bağlanarak sinerji gösterebileceği vurgulanmıştır.

Jingshu ve arkadaşları'nın[88] yaptıkları çalışmada; sulbaktam, imipenem ve meropenemle kombine edilmiş ve kısmi sinerji en sık görülen etkileşim olarak rapor edilirken, antagonizma görülmemiştir. Bizim çalışmamızda imipenem-sulbaktam arasında %47.5'lik kısmi sinerji oranı ile benzer sonuç elde edilmiştir.

Santimaleeworagun ve arkadaşları[89] sekiz adet MDR *A. baumannii* suşu üzerinde yaptıkları bir çalışmada, kolistin-sulbaktam ve imipenem-sulbaktam kombinasyonlarının etkileşimini checkboard yöntemiyle araştırmışlar ve araştırmanın sonucunda kolistin-sulbaktam ve imipenem-sulbaktam arasında antagonistik etkileşim saptamamışlardır. Bizim çalışmamızda ise imipenem-sulbaktam kombinasyonunda antagonistik etkileşim görülmezken; kolistin-sulbaktam arasında %7.5 oranında antagonizm tespit edilmiştir. Ancak Santimaleeworagun ve arkadaşları'nın çalıştıkları suş sayısının az olması antagonizma tespit edememiş olmalarının muhtemel sebebi olabilir.

Amornnopparattanakul ve arkadaşları[90] 30 *A. baumannii* suşu üzerinde çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının etkinliğini araştırmışlardır. FİK<1 = sinerji, FİK>1 = antagonizma olarak değerlendirdikleri araştırmanın sonucunda, kolistin-sulbaktam arasında %53.3 oranında bir sinerji ve %13.3'lük bir antagonizma görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise 3 suşta (%7.5) antagonistik etkileşim görülmüştür. Çalışma sonuçları arasındaki farklılığın, FİK'i yorumlamadaki farklılığa bağlı olabileceği düşünülmektedir. Sinerji oranlarının düşük olmasının muhtemel sebebi suşlarımızın kolistin stribindeki en düşük MİK değerinde duyarlı olup kombinasyom MİK değerlerinin MİK değerlerininde bu en düşük MİK değeri olarak görülmesidir. Yine aynı çalışmada bir başka karbapenem olan meropenem ile sulbaktam kombine edilmiş

%70 oranında sinerji görülmüştür. Bizim çalışmamızda da imipenem-sulbaktam kombinasyonunda %15 sinerji ve %47.5 kısmi sinerji nin toplamında %62.5'lik oranda sinerji tespit edilerek benzer sonuca ulaşılmıştır.

Haddad ve arkadaşları'nın[80] 1999 ile 2003 yılları arasındaki New York metropolitan bölgesindeki 10 farklı hastadan izole edilen ve rutin tüm antibiyotiklere dirençli 10 *A. baumannii* izolatı üzerinde, E-test metodu ile değişik antibiyotik kombinasyonlarının etkinliğini araştırdıkları çalışmada; imipenem dirençli suşlarda denedikleri imipenem-amikasin kombinasyonu için %30 oranında sinerjik etkileşim tespit edilirken, hiçbir suşta antagonistik etkileşim görülmemiştir. Bizim çalışmamızda da bu kombinasyonda antagonistik etkileşim görülmemiş, %7.5 oranında sinerji ve%40 oranında kısmi sinerji gözlenmiştir. Sinerji oranları arasındaki fark, suş sayıları veya coğrafik bölge farklılıklarından kaynaklanabilir.

Şener ve arkadaşları[91] 2005 yılında ABD'de bir hastanede yaptıkları çalışmada; imipenem-amikasin etkileşimini dama tahtası yömtemiyle araştırmışlardır. Sonuçlar; ΣFİK $\leq$ 0.5 ise sinerjistik etki, 0.5 < FİK $\leq$ 4 ise etkisiz, ΣFİK > 4 ise antagonistik etki olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak %16.6 oranında sinerji saptanırken, %83.3 suşta antibiyotik kombinasyonu etkisiz olarak değerlendirilmiş, antagonizma gözlenmemiştir. Aynı çalışmada bizim yöntemimizde olduğu gibi 0.5 < FİK <1 kısmi sinerji olarak kabul edildiğinde ise %33.3 lük bir kısmi sinerji görülmüştür. Kısmi sinerji ve sinerjinin toplamdaki oranı çalışmamızla paralellik göstermektedir. Antagonizma ise her iki çalışmada da gözlemlenmemiştir. Antibiyotiklerin birbirlerinin etkilerini değiştirmediği, etkisizlik olarak tanımlanan durum, bizim çalışmamızda %52.5 ile bu çalışmada elde edilen %50'lik oranla benzerlik göstermektedir.

2011 yılında yapılan bir çalışmada da imipenem ile amikasin kombinasyonunun etkileşimi checkerboard titrasyon yöntemiyle araştırılmış, %16 sinerji görülürken, antagonistik etkileşim gözlenmemiştir. Bizim çalışmamızda ise %7.5'lik bir sinerji gözlenirken antagonizma gözlenmemiştir. Aynı çalışmada MİK $\geq$ 32 değerinde imipenem dirençli suşlarda imipenem-amikasin kombinasyonunda sinerji gözlenmemiş olması sinerji oranları arasındaki farkın muhtemel sebebinin, bizim suşlarımızdaki yüksek imipenem direnci olduğu düşünülebilir.[92]

2005 yılında imipenem-amikasin kombinasyonunun etkileşiminin in-vivo ve in-vitro karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği bir çalışma yapılmış, sonucunda; duyarlı suşlarda in-vitro olarak sinerji görülürken, dirençli suşlarda görülmemiştir. İn-vivo olarak ise sinerji görülmemiştir. Bu durumun in-vivo farmakodinamik ve farmakokinetik etkileşimlerden kaynaklanabileceği belirtilmiştir.[93]

1997 yılında imipenem-amikasin kombinasyonunun in-vitro etkileşimi 14 suş üzerinde yapılan bir çalışmada araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, 3 suşta sinerji, 11 suşta kısmi sinerji görülmüştür. Çalışmamızda sinerji oranları daha düşük olup, bunun sebebi, zaman içinde değişen direnç mekanizmaları ve coğrafi değişikliklerden kaynaklanan klonal farklılıklar olabilir. İmipenem-amikasin arasında antagonistik etkileşim izlememişlerdir.[94] Bizim çalışmamızdada imipenem ile amikasin arasında antagonizma gözlemlenmedi.

İn-vitro ve deney hayvanları üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda, pnömoni ve menenjit durumunda, rifampisinin *A. baumannii'*ye karşı bakterisidal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Rifampisinin in-vitro etkinliğini gösteren az sayıdaki araştırmada Saballs ve ark.[95] %70, Yen ve ark.[96] %48, Fernandez-Cuenca ve ark.[97] %50.7, Song ve ark.[62] %95 oranında direnç saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise %85 oranında rifampisin direnci görülmüştür

Rifampisin ve azitromisinin *Acinetobacter* suşları üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada da her iki ilacın da *Acinetobacter* türleri üzerinde in-vitro etkili olduğu gösterilmiştir.[98]

Acinetobacter enfeksiyonlarında rifampisinin monoterapideki etkinliğine ilişkin veriler deneysel enfeksiyon modeliyle elde edilmiştir. Rifampinle yapılan monoterapilerde erken ve yüksek oranda direnç geliştiği dikkat çekmiştir. Nötropenik iki farede oluşturulan deneysel pnömoni modelinde akciğerlerin bakteriden temizlenmesinde rifampinle monoterapi, imipenem monoterapisi kadar etkili bulunmuştur. Burada kullanılan suşların MİK değerleri rifampin için 4 ve 8 mg/L, imipenem için 8mg/L ve 0.5 mg/L olarak gözlenmiştir. Buna benzer olarak immuncompetan iki farede imipenem MİK değeri 512 mg/L, rifampisin MİK değeri 8

mg/L olan iki suşla yapılan deneysel pnömoni modelinde de akciğerdeki bakteri yoğunluğunu azaltmada rifampin monoterapisi en etkin tedavi olmuştur. Rifampin MİK değeri 4mg/L olan bir suşla oluşturulan başka bir deneysel pnömoni modelinde de rifampin; imipenem, kolistin ve sulbaktamla karşılaştırıldığında en etkin monoterapi olmuştur. Dahası rifampinin bu antibiyotiklerle kombinasyonu sonuçları iyileştirmemiştir. Kombinasyon tedavilerinde imipenem-sullbaktam kombinasyonuyla ventilatör ilişkili pnömoni olgularında başarılı sonuçlar elde edilmiştir.[99]

Yamada ve arkadaşları,[100] MDR *A. baumannii* suşlarıyla farelerde oluşturdukları yapay pnömoni vakasında azitromisinin etkilerini inceledikleri çalışmada, azitromisinin antimikrobiyal etkisinin olmadığı ancak antienflamatuar etkisi ile akciğerde enflamasyon ilerlemesini durdurduğu ve bronkoalveolar sıvıdaki total hücre sayısını nötrofil sayısını ve sitokin seviyelerini belirgin olarak düşürdüğünü gözlemlemişlerdir.

Azitromisinin *Acinetobacter* suşları üzerine olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; azitromisin MİK ≤ 4 μg/ml duyarlı olarak kabul edilmiş ve duyarlı suşlarda hızlı bakterisidal aktivite dirençli suşlarda ise bakteriyostatik etki gösterdiği gözlenmiştir. Aynı çalışmada rifampin için MİK değeri ≤ 8 olarak alınmış salgın suşlarında bakterisidal etki gösterdiği vurgulanmıştır.[64] Bu çalışmadaki MİK değerleri esas alındığında bizim çalışmamızda da 19 suş (%47.5) azitromisine duyarlı bulunmuştur.

İn-vitro hücre kültürü modeli ile klamidyalar üzerinde rifampisin ve azitromisinin tek başlarına kullanımı ile kombine kullanımı karşılaştırmalı olarak çalışılmıştır. Çalışmanın sonucunda kombine kullanımın, tek başına kullanım durumuna göre rRNA sentezinin daha etkili olarak baskıladığı tespit edilmiştir.[101]

Acinetobacter enfeksiyonlarında tedavi yaklaşımlarının ele alındığı bir analitik çalışmada; karbapenem dirençli *A. baumannii* suşuyla oluşturulan deneysel bir pnömoni vakasında, akciğere penetrasyonunun iyi olmaması sebebiyle kolistinin etkisinin azaldığı, ancak rifampinle başarılı bir şekilde tedavi sağlandığı belirtilmiştir. *Acinetobacter* türlerinin rifampisine duyarlı olmaları nedeniyle günümüzde bu ilacın

MDR suşların tedavisinde etkili diğer ilaçlarla kombinasyonu da gündeme gelmiş; rifampisin-azitromisin kombinasyonunun MDR *A. baumannii* suşları üzerinde hızlı bakterisidal aktivite gösterdiği vurgulanmıştır.[102]

2003 yılında yapılan bir çalışmada azitromisin; amikasin, seftazidim, siprofloksasin ve imipenemle kombine edilmiş; azitromisin-seftazidim arasında sinerji ve kısmi sinerji gözlenmiştir. İmipenem ile kombinasyonunda additif etkileşim görülürken, diğer kombinasyonlarda herhangi bir etkileşim saptananamamıştır.[103] Bizim çalışmamızda da rifampin, azitromisinle kombine edilmiş ve %35 oranında sinerji ve kısmi sinerji görülmüştür.

Timurkaynak ve arkadaşları[63] MDR *A. baumannii* suşları üzerinde yaptıkları çalışmada; azitromisin için $MİK_{50}$ değerini yüksek bulmuşlar; rifampisinin ortalama bir etkinlik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Azitromisin'in *Acinetobacter* suşları için standart MİK değerleri henüz belirlenmemiştir. Ancak $\leq$ 4 mg/L değeri üzerinde MDR *Acinetobacter* suşlarında hızlı bakterisidal aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada rifampinin *Acinetobacter* suşlarında in-vitro bakterisidal etki gösterdiği belirtilmiştir. Bu çalışmada rifampisinle en etkili in-vitro sonuçların başka bir antibiyotikle kombinasyonu durumunda elde edilmiştir.

Dirençli *A. baumannii* suşlarıyla oluşan infeksiyonlarda tedavi seçeneklerinin az olması sebebiyle kombinasyon tedavileri önerilmiştir. Polimiksin B veya kolistinin; rifampin, imipenem veya azitromisinle; rifampin-azitromisin; sulbaktam+rifampin, azitromisin, veya bir kinolon ile; ve de polimiksin B'nin rifampin ve imipenemle üçlü kombinasyonunun, tek başlarına kullanımına göre etkiyi değiştirdiği gösterilmişltir. Kombine kullanım sonucunda, polimiksinlerin dış membran permeabilitesini arttırmak suretiyle imipenemin aktivitesini değiştirdiği saptanmıştır. Sulbaktamın tek başına veya diğer ajanlarla kombinasyonu, özellikle *A. baumannii'*nin penisilin bağlayan proteinlere tutunmasını etkilemek suretiyle etkinliği değiştirmektedir. Multidrug rezistan patojenlere karşı rifampin ve makrolidlerin etkisi tam olarak bilinmemektedir.[71]

FİK indeksini kullanarak çeşitli antibiyotik kombinasyonlarında etkileşimin incelendiği çalışmalarda en fazla göze çarpan, etkisiz etkileşim olmuştur. (Kaynak???)

Çalışmamızda %53.75 (86/160) oranında gözlemlediğimiz etkisiz etkileşim bu çalışmalarla uyum göstermektedir.

Antibiyotik kombinasyonlarının in-vitro etkileşimlerinden elde edilen sonuçlarda araştırmalar arasındaki farklılıklar dikkat çekmektedir. Bunun sebepleri olarak da seçilen suşların klonlarının tanımlamasındaki yöntem farklılıkları, denenen suşların özelliklerinin farklı olması, kullanılan metod için üretici firma önerilerine uyulmaması ve sinerjinin tanımlanmasında farklı metodların uygulanması gösterilmiştir.[83]

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çoğul ilaç dirençli *Acinetobacter* suşlarının sebep olduğu infeksiyonların tedavisinde ciddi sorunlarla karşı karşıya olduğumuz bir gerçektir. Klinik kullanıma yeni giren ve girme umudu olan antibiyotiklerin oldukça az olması yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesini zorunlu hale getirmiştir. Bu amaçla kombine antibiyotik kullanımı, hem daha etkin sonuç almak, hem de direnç oranlarını düşürmek açısından doğru bir strateji olabilir. Tedavi yönteminin belirlenmesinde, in-vivo kullanımlara yol gösterici olması açısından in-vitro araştırmaların önemli bir veri sağlayacağı kanaatindeyiz.

Çalışmamızda imipenem, sulbaktam ve amikasine yüksek dirençli suşlarda, bu antibiyotiklerin ikili kombinasyonlarından elde ettiğimiz yüksek orandaki sinerji/kısmi sinerji oranları, kombine antibiyotik seçiminde iyi birer seçenek olabileceklerini göstermektedir.

Çalışmamızda rifampisin ve azitromisin kombinasyonu için elde etiğimiz %35'lik kısmi sinerji, %2.5'lik antagonist etkileşim ve %60'lık etkileşimin görülmediği suşlar dikkate alındığında, yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu görülmüştür.

Kolistin-sulbaktam arasında ki etkileşimde ise; kolistin MİK değerlerinin çok düşük olması nedeniyle sinerji oranları çok düşük tespit edilse de, kolistinle birlikte kullanım durumunda sulbaktama ait MİK değerlerinin tamamının sulbaktama duyarlı düzeydeki MİK değerlerine gelmesi, kombine kullanım durumunda direnç gelişiminin önemli oranda düşürebileceğine dair bir veri olabilir.

Bu çalışmadan elde ettiğimiz veriler sonucunda aşağıdaki önerilerde bulunabiliriz:

1. Gereksiz ve uygun olmayan antibiyotik kullanımını direnç gelişimini artırdığından ve her hastanede görülen direnç profilinin farklı olması sebebiyle her hastane kendi antibiyotik kullanım stratejisini oluşturmalı ve buna titizlikle riayet edilmelidir.

2. Direnç gelişimi önleme açısından kombine antibiyotik kullanımının önemli bir alternatif olduğu herzaman göz önünde tutulmalı ve *A. baumannii* suşlarına bağlı infeksiyonların uygun ve başarılı tedavisi için daha fazla suşla ve farklı antibiyotik kombinasyonları ile daha ileri çalışmalara yapılmalıdır

3. Tüm in-vitro çalışmaların in-vivo ortamı yansıtmadığı bilinmektedir. Dolayısıyla in- vitro çalışmalardan elde edilen veriler ışığında in-vivo çalışmalar yapılmalıdır.

4. Ayrıca kombinasyonda sağlanacak etkinin suşa özel olması nedeniyle kombinasyon tedavisi uygulanacak her hastada imkanlar dahilinde kombinasyonda oluşacak etkinin in-vitro araştırılarak değerlendirilmesi uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Dal T, Dal MS, Ağır İ. *Acinetobacter baumannii*'de antibiyotik direnci ve AdeABC aktif pompa sistemleri: Literatürün gözden geçirilmesi. Van Tıp Dergisi 2012; 19(3): 137-148.
2. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. Clinical Microbiology Reviews 2008; 21(3): 538-582
3. Bahar İH, Esen N. *Acinetobacter* türleri ve diğer gram negatif nonfermentatif basiller. İçinde: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi 2008; 2195-2201.
4. Ersavaş H. Çeşitli Antibiyotik Kombinasyonlarının Çoğul İlaç Dirençli *Acinetobacter* Baumanni Suşlarına İn-vitro Etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyolojı Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Isparta, 2009.
5. Berezin BE, Towner KJ. *Acinetobacter spp*. as nosocomial pathogens. Microbiological, clinical and epidemiological features. Clinical Microbiology Reviews 1996; 9: 148-65.
6. Jawad A, Hawkey PM, Heritage J, Snelling AM. Description of leeds *Acinetobacter* medium, a new selective and differantial medium for isolation of clinically important *Acinetobacter spp.* and comporison with Herrellea agar and Holton's agar. J Clin Microbiol 1994; 13: 2353-8.
7. Allen DM, Hartman BJ. *Acinetobacter* species. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases.6 th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005; 2: 2632-2636.
8. Başustaoğlu A, Özyurt M. Nozokomiyal patojen olarak *Acinetobacter*'lerin mikrobiyolojik, klinik ve epidemiyolojik özellikleri. Hastane İnfeks Derg 1998; 2: 88-93.
9. Karagöl Ç. Hastane Kökenli *Acinetobacter Baumannii* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları Ve İmipenem Dirençli İzolatların Tiplendirilmesi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyolojı ve Klinik Mikrobiyolojı Anabilim Dalı, Umanlık Tezi Edirne, 2008.

10. Yıldırım Mİ. Sefaperazon-sulbaktam, İmipenem Ve Sefepimin Antibiyoterapi Etkinliklerinin Çoğul İlaç Dirençli Ve Duyarlı *Acinetobacter Baumannii* İle Oluşturulan Deneysel İkili Apse Modelinde Karşılaştırılması. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyolojİ Ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık tezi, Edirne, 2006.
11. Özlü N. Hastanemizde İzole Edilen *Acinetobacter Baumannii* Suşlarının Moleküler Epidemiyolojık Değerlendirilmesi. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyolojı ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2007.
12. Seifert H, Dijkshoorn L, Gerner-Smidt P, Pelzer N, Tjernberg I, Vaneechoutte M. Distrubution of *Acinetobacter* species on human skin: Comparison of phenotypic and genotypic identification methods. Journal of Clinical Microbiology 1997; 35: 2819-282.
13. Kaul R, Burt J, Cork L et al. Investigation of a multiyear multiple critical care unit outbreak due to relatively drug-sensitive *Acinetobacter baumannii*: Risk factors and attributable mortality. J Infect Dis 1996; 174: 1279-1287.
14. Dy ME, Nord JA, Labombardi VJ, Kislak JW. The emergence of resistant strains of *Acinetobacter baumannii*: clinical and infection control implications. Infect Control Hosp Epidemiol 1999; 20: 565- 67.
15. Peşken Y. Hastane infeksiyonlarının epidemiyolojisi. Günaydın M, Esen Ş, Saniç A, Leblebicioğlu H (Editörler). Hastane İnfeksiyonları'nda Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon. Samsun: Deomed Medikal Yayıncılık; 2002. s.203–13.
16. Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection. N Engl J Med 2008; 358 (12): 1271-1281.
17. Bergogne-Berezin E, Joly-Guillou ML. Hospital infection with *Acinetobacter spp*.: An incireasing problem. J Hosp Infect 1991; 18 (suppl A): 250-5.
18. Lortholary O, Fagon JY, Hoi AB et al. Nosocomial acquisition of multiresistant *Acinetobacter baumannii*: Risk factors and prognosis. Clin Infect Dis 1995; 20: 790-6.
19. Villegas MV, Hartstein AI. *Acinetobacter* outbreaks, 1977-2000. Infect Control Hosp Epidemiol 2003; 4: 284-295.

20. Chen MZ, Hsueh PR, Lee LN, Yu CJ, Yang PC, Luh KT. Severe community acguired pneumonia due to *Acinetobacter baumannii*. Chest 2001; 120: 1072-1077.
21. Leung WS, Chu CM, Tsang KY, Lo FH, Lo KF, Ho PL. Fulminant community acguired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. Chest 2006; 129: 102-109.
22. Griffith ME, Lazzarus DR, Mann PB, Boger JA, Hospenthal DR, Murray CK. *Acinetobacter* skin carriage among US army soldiers deployed in Iraq. Infect Control Hosp Epidemiol 2007; 28: 720-722.
23. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Acinetobacter baumannii* infections among patients at military medical facilities treating injured U.S. service members, 2002– 2004. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2004; 53: 1063-6.
24. Dizbay M, Altunçekiç A, Kanat Özcan D ve ark. Anestezi-reanimasyon ve nöroloji yoğun bakım ünitelerinde gelişen nozokomiyal infeksiyonlar: İki yılın değerlendirilmesi. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2007; 4: 252-257.
25. Hujer KM, Hujer AM, Hulten EA et al. Analysis of antibiotic resistance genes in multidrug-resistant *Acinetobacter sp*. isolates from military and civilian patients treated at the Walter Reed Army Medical Center. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 4114-4123.
26. Akalın H, Özakın C, Kahveci F, ve ark. Hastane kökenli pnömoniler. Flora 1999; 4(4): 253–7.
27. Yoon YK, Lee J, et al. Clinical significance of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii isolated from central venous catheter tip cultures in patients without concomitant bacteremia. Scand J Infect Dis. 2013; 19. [Epub ahead of print]
28. Saba R, İnan D, Günseren F, Özçelik FT, Mamıkoğlu L. Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde nozokomiyal menenjitler. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2000; 4: 47-50.
29. Towner KJ. Clinical importance and antiibiotic resistance of *Acinetobacter spp*. J Med Microbiology 1997; 46: 721-46.
30. Rodriguez-Hernandez MJ, Pachon J, Pichardo C et al. Imipenem, doxycycline and amikacin in monotherapy and in combination in *Acinetobacter baumannii* experimental pneumonia. J Antimicrob Chemother 2000; 45: 493–501.

31. Gülhan B, Özekinci T, Atmaca S, Bilek H. 2004–2006 yıllarında izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibiyotik direnci. Ankem Derg 2007; 21: 32–36.
32. Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydna E, Lal H, Quale J. Endemic carbapenem resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: Citywide prevalance, interinstitutional spread and relation to antibiotic usage. Clin Infect Dis 2000; 31: 101-106.
33. Tatman-Otkun M, Gürcan S, Özer B, Türe M. Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* kökenlerinde 1994'den 2000'e yıllık antibiotik direnç değisimi. Ankem Derg 2003; 17: 1-6.
34. Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G. Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* species. Antimicrob Agents Chemother 1993; 37: 750–753.
35. Diren Ş. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi sürekli tıp eğitimi etkinlikleri çoçuklarda akılcı antibiyotik kullanımı. Sempozyum dizisi 2002; s. 19–24.
36. Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii* species and *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Infect Dis 2006; 43: 49-56.
37. Şahin E, Yürüken Z, Göçmen JS Toplumda kazanılmış çoklu ilaç dirençli nonfermentatif gram negatif bakterilerde duyarlılık sonuçları Pam Tıp Derg 2012;5(1):15-19
38. Falagas ME, Koletsi PK, Bliziotis IA. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas* aeruginosa. J Med Microbiol 2006; 55: 1619–1629.
39. Kwon KT, Oh WS, Song JH et al. Impact of imipenem resistance on mortality in patients with *Acinetobacter* bacteraemia. J Antimicrob Chemother 2007; 59(3): 525-530.
40. Hsueh PR, Teng LJ, Chen CY et al. Pandrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* causing nosocomial ınfections in a university hospital, Taiwan. Emer Infec Dis 2002; 8(8): 827-832.
41. Giamarellou H, Antoniadou A, Kanellakopoulou K. *Acinetobacter baumannii*: A universal threat to public health? Int J Antimicrob Agents 2008; 32: 106–119.

42. Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microb Rev 1995; 8: 557-84.
43. Gür D. Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar. Ulusoy S (Editör). Beta laktamazlar ve klinik önemi. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2005. s.70–88.
44. Hujer KM, Hamza NS, Hujer AM et al. Identification of a new allelic variant of the *Acinetobacter baumannii* cephalosporinase, ADC-7 beta-lactamase: defining a unique family of class C enzymes. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(7): 2941-8.
45. Erben N, Kiremitçi A, Özgüneş İ. Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz ve indüklenebilir beta-laktamaz sıklığının ve antimikrobiyal duyarlılığın değerlendirmesi. Osmangazi Tıp Dergisi 2006; 28(3): 135-146.
46. Vahaboglu H, Ozturk R, Aygun G ve ark. Widespread detection of PER–1-type extended-spectrum b-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas* aeruginosa isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 2265–9.
47. Vila J, Navia M, Ruiz J, Casals C. Cloning and nucleotide sequence analysis of a gene encoding an OXA-derived β-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 2757–9.
48. Bou G, Cervero G, Dominguez MA, Quereda C, Martinez-Beltran J. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hidrolyzing enzyme: High-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of beta-lactamases. J Clin Microbial Infect 2000; 38: 3299-3305.
49. Afzal-Shah M, Woodford N, Livermore DM. Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27, molecular class D beta-lactamases associated with carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 583–8.
50. Lopez-Otsoa F, Gallego L, Towner KJ, Tysall L, Woodford N, Livermore DM. Endemic carbapenem resistanceassociated with OXA-40 carbapenemase among *Acinetobacter baumannii* isolates from a hospital in northern Spain. J Clin Microbiol 2002; 40: 4741–3.

51. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm. Clin Microbiol Rev 2005; 18: 306-325.
52. Poirel R, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 826-836.
53. Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. İnternational Journal of Antimicrobial Agents 2010; 35: 219-226.
54. Gülay Z. Hücre duvar sentezini etkileyen antibakteriyeller.Ankem Derg 2003; 17(3):192-204
55. Looveren VM, Goossens H, the ARPAC Steering Group. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter spp*. in Europe. Clin Microbiol Infect 2004; 10: 684–704.
56. Özgür Akın FE. Çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında tigesiklin kolistin ve polimiksin direncinin saptanmasında disk difuzyon, E test ve broth mikrodilisyon yöntemlerinin karşılaştırılması (tez) Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2007.
57. Şentürk A. Tigesiklinin tek başına ve kolistin sülfat, sülbaktam ve levofloksasin ile kombinasyon halinde *Acinetobacter baumannii* suşları üzerine antibiyotik sonrası etkisinin araştırılması(tez) İstanbul: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2011.
58. Adams MD, Nickel GC, Bajaksouzian S, Lavender H, Murthy AR, Jacobs MR, Bonomo RA Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated mutations in the Pmrab two-component system. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53(9): 3628-3634.
59. Perez F, Hujer AM, Hujer MK, Decker KB, Rather NP, Bonomo AR. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(10): 3471-3484.
60. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-first informational supplement, CLSI document M100-S21, CLSI, Wayne (2011).
61. Song JY, Kee SY, Hwang IS et al. In-vitro activities of carbapenem/sulbactam combination, colistin, colistin/rifampicin combination and tigecycline against

carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 2007; 60: 317–322.

62. Timurkaynak F, Can F, Azap OK, Demirbilek M, Arslan H, Karaman SO. In-vitro activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multidrug-resistant strains of *Pseudomonas* aeruginosa and *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units. J Antimicrob Agents 2006; 27(3): 224-8.
63. Appleman MD, Belzberg H, Citron DM et al. In-vitro activities of nontraditional antimicrobials against multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated in an intensive care unit outbreak. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44/4: 1035-1040.
64. Köksal İ. Sinerji sonuçlarının klinikteki yeri. 34. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Girne. 7–11 Kasım 2010. Kongre Kitabı İstanbul; 2010: 178.
65. Roberts SA, Findlay R, Lang SDR. Investigation of an outbreak of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care burns unit. J Hosp Infect 2001; 48: 228-232.
66. Çaylan R. Çok ilaca dirençli hastane kökenli gram negatif nonfermantatif bakteriler: Ülkemizdeki durum, tedavi ve kontrol politikaları. Klimik Derg 2003; 16: 18–20.
67. Tomaras AP, Dorsey CW, Edelman RE, Actis LA. Attachment to and biyofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. Microbiology 2003; 149: 3473-84.
68. Vidal R, Dominguez M, Urrutia H et al. Effect of imipenem and sulbactam on sesile cellls of *Acinetobacter baumannii* growing in biyofilm. Microbios 1997; 9: 79-87.
69. Enoch DA, Birkett CI, Ludlam HA. Non-Fermentative Gram-negative bacteria. Int J Antimicrob Agents 2007; 3: 33–41.
70. Fishmann N. Antimicrobial stewartship. Am J Med 2006; 119: 53-61.
71. Saltoğlu N. *Acinetobacter baumannii* İnfeksiyonları ve tedavisi. In. XIII. Türk Klimik Kongresi (14-18 Mart 2007 Antalya), Kongre Kitabı. İstanbul: 2007; 20(özel sayı): 204-207.
72. Leblebicioglu H, Rosenthal VD, Arikan OA ve ark. Device-associated hospital-acquired infection rates in Turkish intensive care units. Findings of the

International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC). J Hosp Infect 2007; 65(3): 251-257.

73. Gülay Z. Gram Negatif Çomaklarda Antibiyotik Direnci: 2003–2004 Türkiye Haritası. Ankem Derg 2005; 19(Ek2): 66–77.
74. Topçu AW. Çoklu dirençli Gram negatif basiller ve infeksiyonlar: Ülkemizde direnç durumu. XIII. Türk klinik mikrobiyoloji ve infeksiyon hastalıkları kongresi. Klimik Derg 2007; 69: 201-203.
75. Kurtoğlu MG, Opus A, Kaya M, Kesli R, Güzelant A, Yüksekkaya S. Bir eğitim ve arastırma hastanesinde klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suslarında antibakteriyel direnç (2008-2010). Ankem Derg 2011; 25: 35-41.
76. Garrouste-Orgeas M, Timsit JF, Tafflet M et al. (Outcomerea Study Group). Excess risk of death from intensive care unit-acquired nosocomial bloodstream infections: a reappraisal. Clin Infect Dis 2006; 42(8): 1118- 1126.
77. Masterton R, Drusano G, Paterson DL, Park G. Appropriate antimicrobial treatment in nosocomial infections. J Hosp Infect 2003; 55: 1-12.
78. Murray CK, Hospenthal DR. Treatment of multidrug resistant *Acinetobacter*. Curr Opin İnfect Dis 2005; 18(6): 502-506.
79. Erdoğan Yıldırım E. Çeşitli Antibiyotik Kombinasyonlarının Çoğul Dirençli *Acinetobacter spp*. ve *Pseudomonas spp.* Bakterilere İn-vitro Etkileri İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2011.
80. Haddad FA, Horn KV, Carbonaro C, Rosenfeld MA, Wormser GP. Evaluation of antibiotic combinations against multidrug - resistant *Acinetobacter baumannii* using the E-test. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005; 24: 577–579.
81. Bal Ç. Antibiyotik kombinasyonlarının in-vitro etkinliğinin saptanması. Flora Derg 1999; 4: 219-29.
82. Chu H, Zhao L, Wang M, Liu Y, Gui T, Zhang J. Sulbactam-based therapy for *Acinetobacter baumannii* infection: a systematic review and meta-analysis. Braz J Infect Dis 2013; 17(4): 389-394.
83. Deveci A, Coban AY, Acicbe O, Tanyel E, Yaman G, Durupinar B. In vitro effects of sulbactam combinations with different antibiotic groups against clinical Acinetobacter baumannii isolates. J Chemother. 2012; 24(5): 247-52.

84. Kempf M, Djouhri-Bouktab L, Brunel JM, Raoult D, Rolain JM. Synergistic activity of sulbactam combined with colistin against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*. İnternational Journal of Antimcrobial Agents 2012; 39: 180–181.
85. Kalin G, Alp E, Akin A, Coskun R, Doganay M. Comparison of colistin and colistin/sulbactam for the treatment of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. Infection 2013.
86. Lee NY, Wang CL, Chuang YC et al. Combination carbapenem-sulbactam therapy for critically ill patients with multidrugresistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia: Four case reports and an in-vitro combination synergy study. Pharmacotherapy 2007; 27: 1506-1511.
87. Choi JY, Park YS, Cho CH et al. Synergic in-vitro activity of imipenem and sulbactam against *Acinetobacter baumannii*. Clin Microbiol Infect 2004; 10: 1098-1101.
88. Ji J, Du X, Chen Y, Fu Y, Wang H, Yu Y. In-vitro activity of sulbactam in combination with imipenem, meropenem, panipenem or cefoperazone against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii.* Int J Antimicrob Agents 2013; 41(4): 400-1.
89. Santimaleeworagun W, Wongpoowarak P, Chayakul P, Pattharachayakul S, Tansakul P, Garey KW. In vitro activity of colistin or sulbactam ın combination with fosfomycın or ımıpenem against clınıcal ısolates of carbapenem resistant *Acinetobacter* baumannii producıng OXA-23 carbapenememases. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2011; 42/4: 890-900.
90. Pongpech P, Amornnopparattanakul S, Panapakdee S, Fungwithaya S, Nannha P, Dhiraputra C, Leelarasamee A, Antibacterial activity of carbapenem-based combinations againts multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* J Med Assoc Thai 2010; 93(2): 161-71.
91. Şener AG, Türk M, Afşar İ, Türker M. Çoğul dirençli *Acinetobacter* kökenlerinde ampisilin/sulbaktam-siprofloksasin, ampisilin/sulbaktam-amikasin, imipenem-siprofloksasin, imipenem-amikasin kombinasyonlarının in-vitro etkileşimlerinin araştırılması. İnfeks Derg 2005; 19: 107-110.
92. Sheng WH, Wang JT, Li SY et al. Comparative in-vitro antimicrobial susceptibilities and synergistic activities of antimicrobial combinations against

carbapenem-resistant *Acinetobacter* species: *Acinetobacter baumannii* versus *Acinetobacter* genospecies 3 and 13TU. Diagn Microbiol Infect Dis 2011; 70(3): 380-6.

93. Bernabeu-Wittel M, Pichardo C, Garcia-Curiel A et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic assessment of the in-vivo efficacy of imipenem alone or in combination with amikacin for the treatment of experimental multiresistant *Acinetobacter baumannii* pneumonia. Clin Microbiol Infect 2005; 11(4): 319-25.
94. Marques MB, Brookings ES, Moser SA, Sonke PB, Waites KB. Comparative in-vitro antimicrobial susceptibilities of nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* and synergistic activities of nine antimicrobial combinations. Antimicrob Agents Chemother 1997; 4: 881-885.
95. Saballs M, Pujol M, Tubau F et al. Rifampicin/imipenem combination in the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. J Antimicrob Chemother 2006; 58(3): 697-700.
96. Yen TT, Lily NG, Yong S, Karen P. Susceptibility testing of unconventional antibiotics against multiresistant *Acinetobacter spp*. by agar dilution and Vitek 2. Diag Microbiology Infect Dis 2007; 58(3): 357-61.
97. Fernandez-Cuenca F, Martinez-Martinez L, Conejo MC, Ayala JA, Perea EJ, Pascual A. Relationship between beta-lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 2003; 5: 565-574.
98. Lopez-Hernandez S, Alarcon T, Lopez-Brea M. Evolution of antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. Rev. Esp. Quimioter 2000; 13(4): 394-400. (Dergi adı yok)
99. Vila J, Pachon J. Therapeutic options for *Acinetobacter baumannii* infections: An update. Expert Opin Pharmacother 2012; 13(16): 2319-36.
100. Yamada K, Yanagihara K, Kaku N et al. Azithromycin Attenuates Lung Inflammation in a Mouse Model of Ventilator-Associated Pneumonia by Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2013; 57(8): 3883-8.

101. Dreses-Werringloer U, Padubrin I, Zeidler H, Köhler L. In-vitro effects of azithromycin and rifampin on *Chlamydia trachomatis* infection. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45(11): 3001-8.
102. Yıldız O. Çoğul dirençli gram-negatiflerde tedavi yaklaşımı. Yoğunbakım Dergisi 2007; 7/1: 144-150.
103. Fernandez-Cuenca F, Martinez-Martinez L, Pascual A, Perea EJ. In-vitro activity of azithromycin in combination with amikacin, ceftazidime, ciprofloxacin or imipenem against clinical isolates of *Acinobacter baumannii*. Chemotherapy 2003; 49(1-2): 24-6.

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİK KOMBİNASYONLARININ ACİNETOBACTER SUŞLARI ÜZERİNE IN VİTRO ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Dursun Murat ALADA

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi	:10.11.2009
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi	:14.11.2013
Uzmanlık Sınavı Tarihi	:14.11.2013
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. Ülkü ALTOPARLAK
Jüri üyesi	: Prof. Dr. Ahmet AYYILDIZ
Jüri üyesi	: Prof.Dr. Ülkü ALTOPARLAK
Jüri üyesi	: Prof.Dr. Asuman GÜRAKSIN
Jüri Üyesi	:Doç.Dr. Hakan USLU
Jüri üyesi	: Doç.Dr.Kemalettin ÖZDEN

Prof. Dr. Ahmet AYYILDIZ
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı