

T.C
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARBAPENEME DİRENÇLİ *ACINETOBACTER*
*SP.*SUŞLARINDA KOLİSTİN/SULBAKTAM
KOMBİNASYONUNUN SİNERJİK ETKİNLİĞİNİN
İN-VİTRO OLARAK ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İmdat KILBAŞ

Enstitü Anabilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji

Enstitü Bilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet KÖROĞLU

ARALIK 2017

T.C
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARBAPENEME DİRENÇLİ ACINETOBACTER
SP.SUŞLARINDA KOLİSTİN/SULBAKTAM
KOMBİNASYONUNUN SİNERJİK ETKİNLİĞİNİN
İN-VİTRO OLARAK ARAŞTIRILMASI**

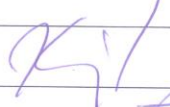
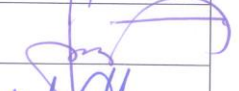

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İmdat KILBAŞ

Enstitü Anabilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji

Enstitü Bilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji

Bu tez 11.12/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/ oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyesi	Kanaati	İmza
Doç.Dr. Mehmet Köroğlu	Basarılı	
Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ	Basarılı	
Prof. Dr. Ayman Karadenizli	Basarılı	

BEYAN

Bu alışma için T.C. Sakarya Üniversitesi Klinik Araştırmalar Girişimsel Olmayan Etik Kurulu'ndan 31 Ekim 2016 tarihli toplantısında 176 karar numarası ile onay alınmıştır. Çalışmada kullanılan malzemeler öz kaynaklardan sağlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilemeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

İmdat KILBAŞ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans süresi boyunca her konuda ilgi ve desteğini benden esirgemeyen, hoş görüşü, öneri ve eleştirileriyle beni yönlendiren, tez planlaması süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak yol gösteren tez danışmanım değerli hocam sayın Doç.Dr.Mehmet KÖROĞLU'na şükranlarımı sunarım.

Eğitimim süresince başta bilimsel fikir ve düşünceleri olmak üzere her konuda yardımcı olan değerli hocam anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ' çok teşekkür ederim.

Tezin her aşamasından bana yardımcı olan, güler yüzlülüğünü ve hoş görüşünü benden esirgemeyen değerli arkadaşım Elmas Pınar KAHRAMAN'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmaları süresince bilgi, tecrübesini ve yardımını esirgemeyen her aşamada destek olan Arş.Gör.Dr.Ümit KILIÇ ve Arş.Gör.Dr.Hüseyin HATİPOĞLU'na teşekkür ederim.

İlaçların temin edilmesinde yardımcı olan Hatice KÖSE, Tuba AKTUĞRAN ve Ümran GEZGİN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme ve rahmetli annem Medine KILBAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMA VE SİMGELER.....	vi
TABLolar	vii
ŞEKİLLER.....	viii
ÖZET.....	ix
SUMMARY	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.TAKSONOMİ VE KLİNİK AÇIDAN ÖNEMLİ <i>ACINETOBACTER</i> TÜRLER	4
2.2.MORFOLOJİ, KÜLTÜR VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ	5
2.3.EPIDEMİYOLOJİ VE BULAŞMA ÖZELLİKLERİ	6
2.4.VİRÜLANS FAKTÖRLERİ	8
2.5. <i>ACINETOBACTER</i> TÜRLERİNİN SEBEP OLDUĞU ENFEKSİYONLAR	8
2.5.1. Hastaneden Edinilmiş Enfeksiyonlar	9
2.5.2. Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar	9
2.5.3. Doğal Felaketler ve Savaş Bölgelerinde Enfeksiyonlar.....	10
2.5.4. Diğer Enfeksiyonlar	10
2.6.TEDAVİ.....	11
2.6.1. Beta Laktamlar	11
2.6.1.1. Karbapenemler	11
2.6.2. Aminoglikozidler	12
2.6.3. Tetrasiklinler	12
2.6.4. Kinolonlar	13
2.6.5. Polimiksinler	13

2.7. <i>ACINETOBACTER</i> TÜRLERİNİN DİRENÇ MEKANİZMALARI	14
3. MATERYAL ve METOD	17
3.1. ÇALIŞMANIN AMACI	17
3.2. ETİK KURUL ONAYI	17
3.3. ÇALIŞMADA KULLANILAN MALZEMELER.....	18
3.4. İZOLATLARIN SEÇİMİ VE İDENTİFİKASYONU.....	18
3.5. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ VE SİNERJİ ÇALIŞMASI	20
3.6. TIME KILL METODU	20
3.6.1. Kolonilerin Sayılması ve Logaritmik Hesaplanması	23
3.7. CHECKERBOARD YÖNTEMİ.....	23
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	33
KAYNAKLAR	40
Ek 1. Sakarya Üniversitesi Etik Kurulu Onayı	59
ÖZGEÇMİŞ	60

KISALTMA VE SİMGELER

Acb complex	<i>A.calcoaceticus-A.baumannii</i> complex
<i>A.baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>A.haemolyticus</i>	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>
<i>A.junii</i>	<i>Acinetobacter junii</i>
<i>A.johnsonii</i>	<i>Acinetobacter johnsonii</i>
<i>A.lwoffii</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
<i>A.radiorezisten</i>	<i>Acinetobacter radiorezisten</i>
<i>A.schindleri</i>	<i>Acinetobacter schindleri</i>
<i>A.ursingii</i>	<i>Acinetobacter ursingii</i>
<i>A. pittii</i>	<i>Acinetobacter pittii</i>
<i>A. nozocomialis</i>	<i>Acinetobacter nozocomialis</i>
EMB	Eosin Methylene Blue
YBÜ	Yoğun Bakım Ünitesi
İYE	İdrar Yolu Enfeksiyonu
VİP	Ventilatörle İlişkili Pnömoni
ÇİD	Çoklu İlaç Dirençli
tRNA	Taşıyıcı RNA
mRNA	Mesajcı RNA
PBP	Penisilin Bağlayıcı Proteinler
OXA-51	Oksasilinaz-51
GSBL	Geniş Spektrumlu Beta Laktamazlar
MBL	Metallo-Beta-Laktamazlar
OMP	Dış Membran Proteinleri
S	Duyarlı
I	Orta duyarlı
R	Dirençli

CS	Kolistin
IPM	İmipenem
MEM	Meropenem
FEP	Sefepim
GM	Gentamisin
SXT	Trimetoprim/Sulfometaksazol
TET	Tetrasiklin
TZP	Piperasilin/Tazobaktam
AMP	Ampisilin
AMC	Amoksisilin/Klavulanik Asit
AMI	Amikasin
CAZ	Seftazidim
CIP	Siprofloksasin
LEV	Levofloksasin
SAM	Ampisilin/Sulbaktam
SFP	Sefoperazon/Sulbaktam
TGC	Tigesiklin
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MHB	Mueller Hinton Broth
MHA	Mueller Hinton Agar
KKA	Koyun Kanlı Agar
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
FİK	Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu
FİKİ	Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu İndeksi
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
XDR-AB	Extensive Drug Resistance- <i>Acinetobacter baumannii</i>

TABLÖLAR

Tablo 1. <i>Acinetobacter</i> türlerinin ayırımında kullanılan biyokimyasal testler.....	6
Tablo 2. <i>Acinetobacter</i> türlerinde tespit edilen direnç mekanizmaları.....	15
Tablo 3. Çalışmada kullanılan suşların izole edildiği hastalae ve kliniklere göre dağılımı	18
Tablo 4. Çalışmamızdaki suşların otomotize sistemdeki (VITEK 2®) direnç durumları	19
Tablo 5. Kolistin+subaktam kombinasyon çalışmasında, mikroplaktaki dilüsyonlar (µg/ml).....	25
Tablo 6. Onyeddi suş için kolistin, sulbaktam ve kolistin+sulbaktam'ın Time Kill yönteminde, inkübasyon periyotlarına göre log₁₀ tabanlı koloni sayıları.	28
Tablo 7. Checkerboard yönteminde, suşların kolistin ile sulbaktam MİK/FİK değerleri.....	30
Tablo 8. Suşların, VITEK 2® ve Checkerboard yönteminde saptanan MİK değerleri.....	31

ŞEKİLLER

Şekil 1. <i>Acinetobacter</i> izolatlarının bulaşma yolları.....	7
Şekil 2. Kolistin için antibiyotik dilüsyonlarının hazırlanması.	21
Şekil 3. Sulbaktam için antibiyotik dilüsyonlarının hazırlanması.	21
Şekil 4. Kolistin+sulbaktam için antibiyotik dilüsyonlarının hazırlanması.....	22
Şekil 5. Antibiyotik+bakteri süspansiyonundan (Kolistin, sulbaktam ve kolistin+sulbaktam) seri dilüsyonu sonrası MHA besiyerine ekim.	23
Şekil 6. Kolistin için örnek MİK çalışma şeması.	24
Şekil 7. Sulbaktam için örnek MİK çalışma şeması.	25
Şekil 8. Checkerboard (dama tahtası) yöntemi ile kolistin+sulbaktam kombinasyon/sinerji çalışması (11 nolu suş; Kolistin MİK: 0.5µg/ml, Sulbaktam MİK: 32 µg/ml).	32

ÖZET

Giriş ve Amaç: *Acinetobacter* cinsi bakteriler, çevresel şartlara dayanıklı olmaları nedeniyle uzun süre canlı kalabilirler, kolayca yayılabilirler ve daha çok hastane enfeksiyonlarına sebep olurlar. Karbapenem dirençli *Acinetobacter* suşlarının etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde en sık kolistin kullanılmaktadır. Ancak kolistine karşı da direnç görülmeye başlandığından, direnç gelişimine karşı kolistinin başka antibiyotiklerle kombine kullanımı önerilmektedir. Denenen çok sayıda kombinasyondan birisi de kolistin+sulbaktam kombinasyonudur. Bu çalışmada; karbapenem dirençli *Acinetobacter* suşlarında Time Kill (zamanla öldürme) ve Checkerboard (dama tahtası) yöntemi olmak üzere iki farklı yöntemle *in vitro* olarak kolistin+sulbaktam kombinasyonunun sinerjik etkinliği araştırılmıştır.

Materyal ve Metod: Bu tez çalışmasına çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenemlere dirençli 20 *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* complex suşu dahil edildi. İdentifikasyon ve antibiyotik duyarlılık sonuçları VITEK 2® (BioMerieux, Fransa) otomatize sistemi ile belirlendi. Kolistin, sulbaktam ve kolistin+sulbaktam kombinasyonunun Karbapenem dirençli suşlar üzerine *in vitro* etkinliği ve sinerjik aktivitesi, Time Kill ve Checkerboard yöntemi ile belirlendi.

Bulgular: Kolistin+sulbaktam kombinasyonunun denendiği Time Kill yönteminde; 17 suşun tümünde sinerjik etkisi olduğu, tek başına sulbaktamın ise çalışılan konsantrasyonlarında bakterisit etkisinin olmadığı saptandı. Checkerboard yönteminde; kolistin+sulbaktam kombinasyonunun suşların 17'sinde (%85) sinerjik, 3'ünde (%15) aditif etkili olduğu, sulbaktamın tek başına (MİK düzeyinde) düşük oranda (%15) etkili olduğu, kolistinin ise tüm suşlarda etkili olduğu saptandı.

Sonuç: Denenen tüm suşlarda her iki yöntem ile de kolistin+sulbaktam kombinasyonunun yüksek oranda sinerjik etkisinin olduğu görüldü. Literatürdeki çalışmalarda farklı sonuçlar bulunduğundan daha çok sayıda izolatlarla ve *in vivo* ile uyumun da ortaya konulduğu yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, kolistin, sulbaktam, Time Kill, Checkerboard.

SUMMARY

In-Vitro Investigation Of The Synergic Efficacy Of Colistin / Sulbactam Combination In Carbapenem Resistant Acinetobacter Sp. Strains

Introduction and Aim: Acinetobacter bacterial strains due to their resistance to environmental conditions, can survive for a long time, spread easily and cause more hospital infections. In the treatment of infections caused by carbapenem resistant Acinetobacter strains, the most commonly is used colistin. However, due to resistance to colistin has begun to appear, so it is recommended to use colistin in combination with other antibiotics against resistance development. One of the many combinations tried is the combination of colistin + sulbactam. In this study; The synergistic effect of colistin + sulbactam combination *in vitro* was investigated by two different methods, to be Time Kill and Checkerboard method, in carbapenem resistant Acinetobacter strains.

Material and Method: In this thesis study, 20 *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* complex strains resistant to carbapenems isolated from various clinical specimens were included. The identification and antibiotic susceptibility results were determined by the automated system of VITEK 2[®] (BioMerieux, France). The combination of colistin, sulbactam and colistin + sulbactam in carbapenem resistant strains was determined in vitro, bactericidal activity in bacteria was determined by Time Kill, MIC values and Checkerboard method for synergistic activity.

Results: In the Time Kill method, where the combination of colistin + sulbactam is tested; it was synergistic effect in 17 strains whereas it was found that there was no bactericidal effect in the working concentrations of sulbactam alone. In Checkerboard method; 17 (85%) strains of the combination of colistin + sulbactam were synergistic, 3 (15%) were additive, it was found that sulbactam was effective in low (15%) on its own (MIC level) and colistin was effective in all strains.

Conclusion: In all tested strains it was seen that both methods had high synergistic effect of the combination of colistin + sulbactam. Due to studies in the literature have different conclusions, there is a need for new studies that are also shown to be compatible with higher numbers of isolates and, if possible, in vivo.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, colistin, sulbactam, Time Kill, Checkerboard.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gram negatif kokobasil morfolojisinde olan *Acinetobacter* türleri; *Proteobacteria* filumu, *Gammaproteobacteria* sınıfı, *Pseudomonadales* takımı, *Moraxellaceae* ailesinde *Acinetobacter* cinsi altında yer almaktadır (Giamarellou, Antoniadou and Kanellakopoulou 2008).

Acinetobacter türleri bakteriyemi, pnömoni, menenjit, kateterle ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları, karın içi enfeksiyonlar, idrar yolu enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyonlara yol açan bakterilerdir (Fournier and Richet 2006, Maragakis and Perl 2008, Aygün 2002). *Acinetobacter* cinsi içerisinde sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonlarda tedavi açısından en fazla zorluklar/problemler yaşanan patojenlerden biri haline gelen *A.calcoaceticus-A.baumannii* complex (Acb complex) dikkat çekmektedir (Peleg, Seifert and Paterson 2008, Fournier et al 2006).

Acinetobacter türleri, çevresel şartlara dayanıklı olduğundan hastane ortamında ve sağlık çalışanlarının ellerinde uzun süre canlı kalabilirler. Bu sebeple de 1970'lerin başlarından itibaren nozokomiyal patojenler arasında yer almaktadır (Lessel 1971). Bu da izolatların klonal yayılabildiğini ve *Acinetobacter spp*'nin kişiden kişiye kolaylıkla geçtiğini düşündürmektedir (Wagenvoort, De Brauwer, Toenbreker and van der Linden 2002). Farklı antibiyotiklere direnç genlerini içeren plazmid, transpozon ve integronlara sahip olmaları; kimi antibiyotiklere karşı düşük dış membran geçirgenliği ve eflüks pompası sistemlerinin bulunması nedeniyle bu bakteriler dünyanın her yerinde ciddi enfeksiyonlara sebep olmaktadır (Souli, Galani and Giamarellou 2008). *Acinetobacter spp* ile ilişkili bir başka endişe de, direnç kabiliyetini hızla elde edebilmesi ve bu yeteneğin sonucunda suşlarda çoklu ilaca direncin ortaya çıkabilmesidir. Bu özellik, günümüz koşullarında *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde zorluklar/problemler meydana getirmektedir (Bonomo

and Szabo 2006, Higgins, Dammhayn, Hackel and Seifert 2010, Maragakis and Perl 2008).

Acinetobacter türlerinde 1990'ların başından beri beta laktam antibiyotiklere, florokinolonlara ve aminoglikozidlere karşı direnç görülmeye başlamıştır. Karbapenemler bu dirençli organizmaların tedavisinde önemli bir yeri olan antibiyotik grubu olarak düşünülmüştür. Bununla birlikte, karbapenem dirençli suşların neden olduğu *Acinetobacter* enfeksiyonları da giderek artmakta ve yeni terapötik alternatiflere ihtiyaç duyulmaktadır (Falagas, Koletsi and Bliziotis 2006). Bu bakteriler aynı zamanda çeşitli direnç mekanizmalarını kullanarak sefalosporinler, kinolonlar ve imipeneme karşı direnç kazandıklarından tedavide daha büyük zorluklar çıkmaktadır.

Acinetobacter baumannii'nin gittikçe daha yoğun enfeksiyona sebep olması ve antimikrobiyal direnç oranlarının artması, alternatif tedavide kullanılacak yeni ilaçların veya kombinasyonların araştırılmasını zorunlu kılmıştır (Akkök 2013). Bu enfeksiyonların tedavisinde en önemli alternatif ilaç seçeneği olarak 1947 yılında keşfedilen, ancak uzun yıllar boyunca yan etkileri nedeniyle kullanılmayan polimiksin grubu bir antibiyotik olan kolistin (Polimiksin E) kullanımı gündeme gelmiştir (Kwa, Kasiakou, Tam and Falagas 2007). Bununla birlikte, bir beta laktamaz inhibitörü olan sulbaktam, *Acinetobacter* türlerinde antibiyotik etkinliğe de sahip olduğundan kolistin ile kombine kullanımı yararlı olabilmektedir (Fishbain and Peleg 2010).

Kolistinin kullanımı ve önemi son 15 yıldan beri her geçen gün giderek artmaktadır. Ancak, direnç gelişiminin engellenmesi amacıyla kolistinin bu tür enfeksiyonlarda tek başına kullanımından kaçınılması ve kombinasyon tedavisinin tercih edilmesi önerilmektedir (Nikolaos, Apostolakos, Koumoudiou, Athanasiou, Koutsoukou, Alamanos and Gregorakos 2003, Falagas et al 2005). Çünkü son yıllarda kolistine de dirençli suşlar görülmektedir (Cai, Chai, Wang, Liang and Bai 2012).

Bu tez çalışmasında; Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenem grubu antibiyotiklere dirençli *Acinetobacter sp.* suşları dahil edilmiştir. Karbapenem grubu antibiyotiklere direnç gösteren *Acinetobacter sp.* suşlarında,

polimiksin grubu bir antibiyotik olan kolistin ve betalaktamaz inhibitörü olmasının yanında antibiyotik etkinliği de olan sulbaktamın kombinasyonunun sinerjik etkinliğinin in vitro olarak Time Kill ve Checkerboard yöntemleriyle araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TAKSONOMİ VE KLİNİK AÇIDAN ÖNEMLİ TÜRLER

Acinetobacter taksonomisi uzun ve karmaşık bir geçmişe sahip olup, tür tanımlamada halen zorluklar bulunmaktadır. *Acinetobacter* ailesinin üyeleri ilk defa 1911'de tanımlanmış, o tarihte Hollanda'lı mikrobiyolog Martinus Beijerinck, kalsiyum-asetat içeren besiyeri ile zenginleştirilmiş topraktan *Micrococcus calcoaceticus* adını verdiği mikroorganizmayı izole etmiştir (Beijerinck 1911, Çiftçi ve Aşık 2011). O tarihten beri şu anda *Acinetobacter* olarak bilinen bakteri, birçok kez izole edilmiş ve çeşitli cinslere ayrılmıştır.

Günümüze dek sınıflamadaki yerleri sık sık değişikliğe uğramıştır. *Acinetobacter* cinsi bugün *Moraxellaceae* ailesi içinde yer almaktadır. Deoksiribonükleik asit (DNA) benzerlikleri temel alarak yapılan çalışmalarda *A.calcoaceticus*, *A.baumannii*, *A.heamolyticus*, *A.junii*, *A.johnsonii*, *A.lwoffii*, *A.radiorezistens*, *A.schindleri*, *A.ursingii* ile beraber 19'dan fazla tür belirlenmiştir (Schreckenberger and Von Graevenitz 2003, Giamarellou et al 2008).

1968 yılında Baumann ve çalışma arkadaşları geniş kapsamlı bir araştırma yayımlayarak yukarıda adı geçen türlerin tek bir cinse ait olduğu sonucuna varmış ve *Acinetobacter* cinsi içerisinde yer aldığı sonucuna varmışlardır fakat fenotipik özelliklerine göre alt sınıflandırma ve tür tespiti yapamamışlardır (Baumann, Doudoroff and Stanier 1968). 1986 yılında DNA-DNA hibridizasyon analizi ile sınıf, 12 genomik türe ayrılmıştır ve 4 tanesi *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii* ve *Acinetobacter junii* olarak isimlendirilmiştir (Brown and Amyes 2005). Fenotipik özellikler temelinde, *Acinetobacter* türlerinin ayırt etmesi zor olduğu için bazen *A.calcoaceticus*-*A.baumannii* complex (Acb complex) terimi kullanılmaktadır (Schreckenberger et al 2003, Munoz-Price and Weinstein 2008, Beijerinck 1911).

A. baumannii, *A. pittii* ve *A. nosocomialis* klinik olarak enfeksiyonda rol oynayan türlerdir, ancak *A. calcoaceticus* büyük oranda patojen değildir ve hastane ortamında nadiren tanımlanır (Peleg et al 2008, Koh, Tan and Khoo 2012). Bu nedenle, klinik açıdan bakıldığında, *Acinetobacter* türlerinin, özellikle Acb kompleksindeki türlerin tanımlanması son derece önemlidir (Chuang, Sheng, Li, Lin, Wang, Chen and Chang 2011).

2.2. MORFOLOJİ, KÜLTÜR VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Acinetobacter türleri; genellikle kapsüllü, kısa, hareketsiz, gram negatif kokobasillerdir. 24 saatlik inkübasyon süreci sonunda koloni çapları 1.5-3 mm'ye ulaşır. *Acinetobacter* türleri, koyun kanlı agar ve triptik soya agar gibi klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan besiyerlerinde 37°C'de iyi ürerler. Katı besiyerlerinde üreyen koloniler düzenli, opak, yumuşak, kimi zaman mukoid, konveks şekilli ve grimsi-beyaz olmalarına karşın bir kısım çevresel izolatlarda kahverengi pigment üretimine rastlanmaktadır. Saf kültürden alınan gram boyamalarda değişkenlik göstermesinin yanı sıra, hücre boyutunda da çeşitlilik görülebilir (Lin, Lin, Yeh and Lan 2014, Lortholary, Fagon, Hoi, Slama, Pierre, Giral, Rosenzweig, Gutmann, Safar and Acar 1995). *Acinetobacter* cinsinin tüm üyeleri zorunlu aerob, glukozu oksitleyen, oksidaz olumsuz, indol olumsuz, katalaz olumlu ve non-fermentatif bakterilerdir. Oksidaz testinin negatifliği *Acinetobacter* izolatlarının diğer non-fermentatif bakterilerden seri bir şekilde ayrımını sağlamaktadır. Birçok izolat nitratı nitrite indirgeyememektedir (Murray, Baron, Pfaller, Jorgensen and Tenover 2003). Vücut sıvılarında ve katı besiyerlerinde daha çok diplokok şeklinde olduklarından yaymalarda *Neisseriae*'lara benzerlik gösterirler (Brooks, Carroll, Butel and Morse 2010). Üremenin çok az olduğu durumlarda ise kok şeklinde, daha çok kokobasil, ikişerli, küme halinde ya da kısa zincir olarak görülebilir (Bahar ve Esen 2008). MacConkey agarda soluk pembe, Eosin Methylene Blue (EMB) agarda ise mor renkte görünürler. Üreme için herhangi bir üreme faktörüne ihtiyaç duymazlar ve en iyi 30-35°C'de ürerler (Prashanth and Badrinath 2005, Bergogne-Berezin and Towner 1996).

Klinik örneklerden izolasyonu amacıyla; safra tuzları, şeker ve bromkrezol moru içeren Herelea Agar gibi seçici ayırt edici besiyerleri geliştirilmiştir (Peleg et al 2008). Rutin laboratuvar ortamında kimyasal reaksiyonlara ve üreme özelliklerine

göre *Acinetobacter* tür ayrımı yapılmaktadır. Bu ayırmada glukoza oksidatif etki, hemoliz ve 44°C'de üreyebilme genellikle yeterli olmaktadır. Glukozu oksitleyen ve hemoliz yapamayan izolatlar genellikle *A. baumannii*'dir (Brooks et al 2010, Akkök 2013, Schreckenberger, Daneshvar, Weyant and Hollis 2007). *A. baumannii* 44°C'de üreyebilme yeteneğiyle diğer türlerden kolayca ayrılır. *A. lwoffii* hemoliz yapamaz iken, *A. haemolyticus* hemoliz yapmaktadır. *A. johnsonii* diğer türlerden 37°C'de üreyememesi yönü ile ayırt edilebilir (Schreckenberger et al 2007).

Tablo 1. *Acinetobacter* türlerinin ayırımında kullanılan biyokimyasal testler.

Tür ismi	Galaktoz	Laktoz	44°C üreme	37°C üreme	Sitrat	Hemoliz
<i>A. baumannii</i>	+	-	+	+	+	-
<i>A. calcoaceticus</i>	+	+	-	+	+	-
<i>A. lwoffii</i>	-	-	-	+	+	-
<i>A. haemolyticus</i>	Değişken	-	-	+	Değişken	+
<i>A. johnsonii</i>	-	-	-	-	-	-
<i>A. junii</i>	-	-	-	+	+	-

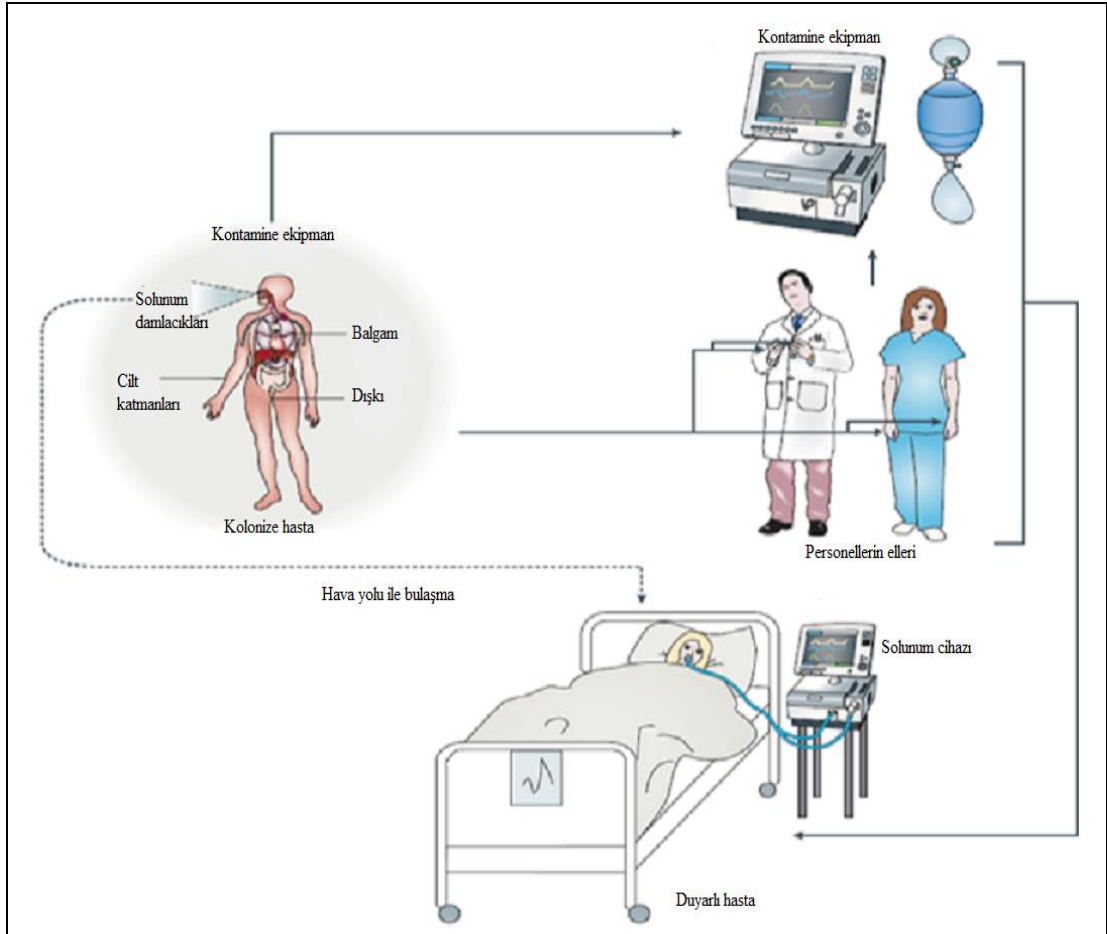
2.3. EPİDEMİYOLOJİ VE BULAŞMA ÖZELLİKLERİ

Acinetobacter cinsi bakteriler, yaşamlarını sürdürebilmek için çok az miktarda besleyici maddeye gereksinim duyması ve çeşitli karbon kaynaklarını kullanabilme yeteneğine sahip olması nedeniyle doğada toprak, su ve yiyeceklerde saprofit olarak serbest yaşayabilmektedirler. *Acinetobacter* türleri kuruluğa dirençli olmaları, çeşitli ısı ve pH ortamlarında canlı kalabilmeleri nedeniyle, cansız yüzeylerde günlerce hayatta kalabilmektedirler (Bergogne-Berezin and Towner 1996, Bahar ve Esen 2008, Maragakis and Perl 2008).

Herhangi bir sağlık sorunu olmayan bireylerde koltuk altı, kasık gibi nemli bölgeler başta olmak üzere ağız florasında, üst solunum yollarında, genitoüriner sistem ve alt gastrointestinal sistem florasında bulunabildikleri gibi insan deri florasının bir parçası olarak da düşünülmektedir (Bergogne-Berezin and Towner 1996, Maragakis and Perl 2008, Giamarellou et al 2008, Dijkshoorn, van Aken, Shunburne, van der Reijden, Bernards, Nemeç and Towner 2005).

Pastörize edilmiş sütlerden, dondurulmuş yiyeceklerden ve hastane havasından, camdan, musluklardan, peritoneal diyaliz gereçlerinden, anjiyografi kateterinden,

ventilatörlerden, laringoskoplardan, kontamine olmuş eldivenlerden, pamuktan, formikadan, kullanılmış enjektörlerden, hasta yastıklarından, perdeler, hasta taşıma ekipmanları, kapı kolları, klavyeler, paspaslar, yağ veya kuru yüzeylerde, kuru filtrelerden izole edilmiş ve buralarda günlerce (30 güne kadar) canlı kalabildiği gösterilmiştir (Ayan, Durmaz, Aktas ve Durmaz 2003, Bergogne-Berezin and Towner 1996, Allen and Hartman 2005, Wilks, Wilson, Warwick, Price, Kennedy, Ely and Millar 2006, Kempf and Rolain 2012, Munoz-Price and Weinstein 2008, Jawad, Seifert, Snelling, Heritage, Hawkey 1998, Kaul, Burt, Cork, Dedier, Garcia, Kennedy, Brunton, Kraiden and Conly 1996).



Şekil 1. *Acinetobacter* izolatlarının bulaşma yolları (Dijkshoorn, Nemeç, Seifert 2007 den uyarlanmıştır).

2.4. VİRÜLANS FAKTÖRLERİ

Acinetobacter cinsi bakteriler geçmişte genellikle virülansı düşük patojenler olarak kabul edilmiştir. Ancak enfeksiyon salgınlarına yol açığının gözlenmesi ve ilaçlara karşı geliştirdikleri direnç gelişimine paralel olarak bu düşünce terk edilmiştir. Sağlıklı bireylerde enfeksiyon oluşturmaları nadiren görülmekte olup, özellikle YBÜ'nde yatan ve uzun süreli antibiyotik kullanımı, mekanik ventilatöre bağlı kalma, idrar sondası varlığı, enteral beslenme uygulamaları ve bağışıklık sisteminin baskılanması gibi başlıca risk faktörlerine sahip hastalarda fırsatçı enfeksiyonlara sebep olurlar (Garnacho-Montero, Ortiz-Leyba and Fernandez-Hinojosa 2005, Taşova, Akgün, Saltoğlu, Yılmaz, Kara ve Dünder 1999). Genellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlara sebep olmalarına rağmen toplum kaynaklı enfeksiyonlardan da izole edilen türleri de bulunmaktadır. Cilt ve mukozal yüzeye kolayca tutunmayı sağlayan polisakkarit kapsüle ve fimbrialara sahiptirler (Lee, Koerten, van den Broek, Beekhuizen, Wolterbeek, van den Barselaar, van der Reijden, van der Meer, van de Gevel and Dijkshoorn 2006). Bunların yanında demir alımını sağlayan siderofor ve biyofilm oluşumu gözlenmektedir (Gonçalves, Vaz, Araujo, Boni, Leite and Irino 2000, Jin, Kwon, Moon, Gurung, Lee, Kim and Lee 2011). *Acinetobacter* türlerinin önemli bir özelliği, yeni veya geliştirilmiş virülans belirleyicilere ve aynı zamanda antimikrobiyal dirence yol açabilen genetik materyali edinme ve yeniden düzenleme kabiliyetidir (Clark, Zhanel and Lynch 2016).

2.5. ACINETOBACTER TÜRLERİNİN SEBEP OLDUĞU ENFEKSİYONLAR

Acinetobacter türleri; %90 oranında hastane enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. immünsupresif hastalar, deri bütünlüğü bozulmuş hastalar ve yoğun bakımda yatan hastalarda fırsatçı enfeksiyonlara sebep olurlar (Peleg et al 2008, Rodriguez-Bano, Cisneros, Fernandez-Cuenca, Ribera, Vila, Pascual, Martinez-Martinez, Bou and Pachon 2004). Ayrıca %5 oranında toplum kökenli enfeksiyonlarada sebep olmaktadır. Solunum yolu enfeksiyonları sebep oldukları en yaygın enfeksiyonlardır. Bunun yanında yumuşak doku enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları (İYE'ler) ve kan dolaşımı enfeksiyonlarına sebep olmaktadır (Rodriguez-Bano et al 2004).

2.5.1. Hastaneden Edinilmiş Enfeksiyonlar

Acinetobacter izolatları, hastanelerdeki farklı çevresel alanlardan izole edilebilir ve bölümler arası bulaşmanın hastane salgınlarında önemli bir bulaşma şekli olduğu düşünülmektedir. *Acinetobacter*'in hastane personelinin elinde taşınması tıbbi enstrümanlarla mikroorganizmanın yayılmasına katkıda bulunulabildiği gibi yine bazı *Acinetobacter* türlerinin uzun süre kuru yüzeylerde hayatta kalma yeteneğinin olması bulaşabilirlik oranını artırabilmektedir (van den Broek, Arends, Bernards, De Brauwer and Mascini 2006).

Acinetobacter türleri hastane enfeksiyonları içerisinde en çok ventilatörle ilişkili pnömoni, (VİP), deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonları, kateterle ilişkili enfeksiyonlar, idrar yolu enfeksiyonları, sekonder menenjit ve kan dolaşımı enfeksiyonları gibi hastane içi enfeksiyonlara neden olur (Garnacho-Montero et al 2003, Forster and Daschner 1998). Çoğunlukla yoğun bakım hastalarında olmak üzere *A. baumannii* ile enfekte hastaların % 18'inde bakteriyemi geliştiği ve mortalite oranının %44 gibi yüksek bir oranda olduğu, YBÜ'den edinilen pnömonilerin % 5-10'undan bu bakterinin sorumlu olduğu bildirilmiştir (Gaynes and Edwards 2005, Seifert, Strate and Gerhard 1995). Ancak *Acinetobacter* türlerinin bilhassa YBÜ'nde yatan hastalarda kolayca kolonize olabildiği göz önüne alınırsa, uygun şekilde alınmayan numunelerden izole edildiğinde, bunun bakteriyemi/kontaminasyon ayırımını yapmak zor olmaktadır (Rodriguez-Bano et al 2004).

2.5.2. Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar

Acinetobacter türleri daha çok hastaneden edinilmiş enfeksiyonlara sebep olurken, az da olsa toplumdan edinilmiş enfeksiyonlara sebep olduğu da gözlenmiştir (Moreira, Morais, Marques and Senra 2011). Özellikle Güneydoğu Asya ve Avustralya gibi tropik bölgelerde alkolik genç hastalarda pnömoniye sebep olmaktadır. Farklı çalışmalarda *A. baumannii*'nin toplumdan edinilmiş enfeksiyonlara nadiren neden olduğu bildirilmiştir. (Anstey, Currie, Hassell, Palmer, Dwyer and Seifert 2002, Leung, Chu, Tsang, Lo, Lo and Ho 2006, Chen, Hsueh, Lee, Yu, and Luh 2001).

2.5.3. Doğal Felaketler ve Savaş Bölgelerinde Enfeksiyonlar

Acinetobacter türleri de derin yara ve yanık enfeksiyonlarından, savaş ve felaket bölgelerindeki osteomyelitten sıklıkla izole edilir. Öncül ve ark. 1999 yılında Türkiye'deki Marmara depreminden çıkan raporlar sonucunda tramva hastalarında enfeksiyona neden olan *Acinetobacter* suşlarının görülme sıklığının yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir (Öncül ve ark 2002).

Acinetobacter'in sebep olduğu yara enfeksiyonları, osteomyelit ve kan dolaşımı enfeksiyonları savaş bölgelerinde sıkça görülmekte olup, izolatların çoğunun ÇİD olduğu belirtilmiştir (Johnson, Burns, Hayda, Hospenthal and Murray 2007, Murray et al 2006, Petersen et al 2007, Scott et al 2007, Davis, Moran, McAllister and Gray 2005).

2.5.4. Diğer Enfeksiyonlar

Acinetobacter spp. bazen katetere bağlı idrar yolu enfeksiyonlarına, üriner sistem enfeksiyonları, protez kapak endokarditi ve kafa travması sonrası primer menenjitte neden olduğu bildirilmiştir (Gaynes and Edwards 2005, Olut ve Erkek 2005, Berk and McCabe 1981).

2.6. TEDAVİ

2.6.1. Beta Laktamlar

Beta laktam grubu antibiyotikler; penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler gibi antibiyotikler olup, merkezinde beta laktam halkası veya penamdan oluşan doğal olarak türevlendirilen ya da yarı sentetik moleküllerdir (Zapun, Contreras-Martel and Vernet 2008). Beta laktamaz inhibitörleri, özellikle sulbaktam, birçok *Acinetobacter* suşuna karşı kendine has antibiyotik bakterisidal etkinliğe sahiptir (Brauers, Frank, Kresken, Rodloff and Seifert 2005). Sulbaktamın tek başına kullanılması direnç gelişme oranında artmaya sebep olabilme tehlikesi sebebiyle uygun değildir (Akova 2006).

2.6.1.1. Karbapenemler

En geniş etki spektrumuna sahip beta laktam ajanlar olan karbapenemler anaerob bakteriler de dahil olmak üzere birçok Gram pozitif ve Gram negatif bakteriye karşı aktiviteye sahiptir ve bu sebeple ciddi enfeksiyonların tedavisinde hep ilk tercih

olmuştur (Nicolau 2008). ÇİD, sefalosporin (sadece seftazidim veya sefepim), aminoglikozid, florokinolon, karbapenem ve piperasilin grupları arasında en az üç grup antibiyotiğe dirençli olan mikroorganizmalara denmektedir (Kahraman ve Çiftci 2017). Karbapenemler çoklu ilaca dirençli (ÇİD) *Acinetobacter* suşlarına karşı en değerli tedavi seçeneklerinden biridir. Bu beta laktam sınıfı antibiyotikler, beta laktamaz üreten ÇİD *Acinetobacter* izolatlarına karşı iyi bir bakterisidal aktivite göstermektedirler (Fishbain and Peleg 2010). Bununla birlikte, son yıllarda imipenem ve meropenem direnci giderek artmaktadır (Karageorgopoulos and Falagas 2008).

Karbapenem dirençli izolatlar genellikle diğer antibiyotik gruplarına karşı da dirençlidir. Böyle durumlarda tedavide tek seçenek olarak polimiksinler ve tigesiklin kalmaktadır (Reinert, Low, Rossi, Zhang, Wattal and Dowzicky 2007). Meropenem eflüks pompalarından daha fazla etkilenirken, imipenem ise spesifik beta laktamazlar tarafından hidrolize edebilir (Ikonomidis, Pournaras, Maniatis, Legakis and Tsakris 2006).

2.6.2. Aminoglikozidler

Aminoglikozitler, doğal olarak elde edilen veya yarı sentetik antibiyotiklerdir. İlk aminoglikozit olan streptomisin, 1944 yılında *Streptomyces griseus*'tan izole edilmiştir (Begg and Barclay 1995). ÇİD *Acinetobacter* izolatları amikasin veya tobramisine orta derecede duyarlılık göstermektedir (Maragakis and Perl 2008). Tobramisin ve amikasin gibi Aminoglikozit ajanlara karşı duyarlılığını koruyan ÇİD *Acinetobacter* suşlarının sebep olduğu enfeksiyonlarda terapötik seçeneklerdir. Bu antibiyotikler genellikle aktif olarak kullanılan başka bir antimikrobiyal ajan ile birlikte kullanılır (Maragakis and Perl 2008).

2.6.3. Tetrasiklinler

Bakteri ribozomunun 30S alt ünitesine bağlanarak tRNA' nın mRNA-ribozom kompleksine erişimini engelleyen, dolayısıyla protein sentezini durdurarak etki eden antimikrobik ajanlar olan tetrasiklinler bakteriyostatik etkilidirler (Mendes, Farrell, Sader and Jones 2010). Nispeten yeni bir glisilsiklin ajan olan tigesiklinin, ÇİD *Acinetobacter* türlerine karşı bakteriyostatik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Pachon-Ibanez, Jimenez-Mejias, Pichardo, Llanos and Pachon 2004). Bunun yanı

sıra yapılan çalışmalarda ÇİD *Acinetobacter* izolatları arasında tigesikline karşı yüksek direnç tespit edilmiştir ve organizmanın hızlı bir şekilde direnç geliştireceği yönünde görüşler mevcuttur (Insa, Cercenado, Goyanes, Morente and Bouza 2007, Navon-Venezia, Leavitt and Carmeli 2007, Reid, Grim, Aldeza, Janda and Clark 2007, Rice 2006, Maragakis and Perl 2008).

2.6.4. Kinolonlar

Kinolonlar, 4-kinolon çekirdeğine dayanan bir grup sentetik bileşikten oluşur. Çift halkalı yapı bu tür bileşiklerin hepsini karakterize eder. Antibakteriyel etki, bu temel yapıdaki değişikliklerle değiştirilir, örneğin; C-6 pozisyonuna bir florin atomunun eklenmesi, stafilokoklara karşı aktiviteyi artırırken, C-7'de bir piperazin grubunun eklenmesi, aerobik Gram negatif bakteri ve stafilokoklara karşı aktiviteyi artırmaktadır (Andriole 2003). Bakterisidal etkinliği olan bu antibiyotik grubu, yaygın direnç sebebiyle *Acinetobacter* spp'e karşı oldukça sınırlı etkinliğe sahiptir ve yalnızca kombine tedavide önerilmektedir (Abbott, Cerqueira, Bhuiyan and Peleg 2013).

2.6.5. Polimiksinler

Kolistin, siklik yapıya katyonik polipeptid antibiyotikler olan polimiksinlerin bir üyesidir. 1947 yılında keşfedilen polimiksinler, 1962 yılından itibaren gram-negatif bakterilerin etken olduğu infeksiyonların tedavisinde parenteral olarak kullanılmaya başlanmıştır. 1980'li yıllarda ciddi nefrotoksisiteleri nedeniyle parenteral kullanımı terk edilen polimiksinler, sadece topikal ve oral yoldan kullanımda kalmıştır (Giamarellou 2010, Falagas and Kasiakou 2005). Dirençli etkenlerin ortaya çıkmasıyla birlikte tekrar gündeme gelmiş ve klinikte oldukça sık bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Polimiksin E (kolistin) ve polimiksin B, ticari olarak elde edilebilen ve ÇİD *Acinetobacter* enfeksiyonlarında kullanılan polimiksinlerdir (Cai, Chai, Wang, Liang and Bai 2012).

Polimiksinler, Gram negatif bakterilerin dış zarını bozan katyonik lipopeptitler olup, hızla bakterisidal etki göstermektedirler. Kolistin Gram negatif bakterilerin hücre membranını, lipopolisakarit ile alakalı bir elektrostatik mekanizma aracılığıyla bozarak, hücre içi yapıların dış ortama sızmasına ve hücre ölümüne neden olan bakterisidal antimikrobik bir ajandır (Falagas and Kasiakou 2005). Polimiksin B

kolistin ile benzer aktiviteye ve toksisiteye sahip olmasına rağmen, klinikte daha çok kolistin tercih edilmekte ve araştırmalar bu antibiyotik üzerine yapılmaktadır (Pogue, Mann, Barber and Kaye 2013). Kolistine dirençli *Acinetobacter* rapor edilmiştir (Gottig et al 2014, Cai et al 2012). Ancak oldukça nadirdir (Lesho et al 2014).

2.7. ACINETOBACTER TÜRLERİNİN DİRENÇ MEKANİZMALARI

Acinetobacter türleri; beta laktamazlar, aminoglikozit modifiye edici enzimler, efluks pompaları, geçirgenliğin azaltılması ve hedef bölgelerin modifikasyonları gibi çeşitli antibiyotik direnç mekanizmalarına sahiptir (Lee et al 2017).

Acinetobacter türlerinde karbapenemleri de içeren beta-laktam antibiyotiklere karşı direncin temel mekanizması; kromozom ya da plazmid tarafından kodlanan beta laktamaz üretiminin sonucudur. Beta laktamazlara ilaveten porin değişimi ve penisilin bağlayıcı proteinlerin (PBP) modifikasyonu sonucu da direnç oluşabilir. Beta laktamazlar doğal ve kazanılmış olarak ikiye ayrılabilir. Doğal beta laktamazlar; OXA-51 benzeri beta laktamazlar ve ampC-tipi sefaloporinazlardır. Kazanılmış beta laktamazlar ise geniş-spektrumlu beta laktamazlar (GSBL), metallo-beta-laktamazlar (MBL), oksasilinazlar şeklinde özetlenebilir. Bu bakteriler ayrıca dış membran proteinlerindeki (OMP) değişiklikler ve (PBP) ile de beta laktam antibiyotiklere direnç geliştirmektedir (Çiftci ve Aşık 2011).

Acinetobacter türleri antibiyotiklerin etkinliğinin azaltılmasına veya etkisizleştirilmesine sebep olan temel efluks sistemlerine sahiptir. *Acinetobacter* türlerinde bulunan bazı antibiyotiklere özgü efluks pompalarına ilaveten Gram negatif bakterilerde kromozomal olarak kodlanan çoklu ilaç efluks sistemi de tanımlanmıştır. adeABC efluks sisteminin aminoglikozitler, kloramfenikol, florokinolonlar, trimetoprim ve sefotaksime direnç gelişimindeki ilişkisi yapılan çalışmalar sonucu ortaya konmuştur (Gehrlein, Leying, Cullmann, Wendt and Opferkuch 1991, Magnet, Courvalin and Lambert 2001).

Acinetobacter türlerinde aminoglikozid direnci genellikle aminoglikozid modifiye edici enzimlerin (asetiltransferaz, adeniltransferaz ve fosfotransferaz gibi) üretiminden kaynaklanmaktadır. Aminoglikozid direncinin diğer mekanizmalarının, hedef ribozomal protein değişiklikleri ve aminoglikozidlerin hücre içine taşınımı ve

dışa atım efluks sistemi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Gordon and Wareham 2010, Shi, Jiang and Mi 2005, Magnet et al 2001, Çiftci ve Aşık 2011).

Acinetobacter türleri, 1990'lı yıllardan itibaren kinolonlara karşı hızla direnç geliştirmişlerdir. Enzimleri kodlayan ve kromozoma lokalize genleri kodlayan bölgede meydana gelen mutasyonunun neden olduğu direnç; genellikle DNA giraz (topoizomeraz II) veya topoizomeraz IV'ün yapısal değişikliği sonucu gelişir (Vila, Ruiz, Goni and Jimenez de Anta 1997).

Tetrasiklin dirençli bakteriler genellikle efluks pompası veya ribozomal koruma sistemi olarak ifade edilen iki farklı direnç mekanizmasından birine sahiptir. Gram negatif bakterilerde tetrasiklin direncine sebep olan tetA'dan tetE'ye kadar farklı genlerin varlığı gösterilmiştir. *Acinetobacter* klinik izolatlarında ise en sık rastlanan tetrasiklin direnç genleri tetA ve tetB'dir (Huys, Cnockaert, Vaneechoutte, Woodford, Nemec, Dijkshroon and Swings 2005).

Dış membran proteinlerinin yanı sıra LPS ve peptidoglikanlar gibi hücre duvarı bileşenleri de *Acinetobacter* türlerinin antibiyotik direncini etkilemektedirler. LPS'nin kaybı ve/veya modifikasyonu *Acinetobacter* türlerinin membran bütünlüğünü azalması ile kolistin direnci ortaya çıkmaktadır (Hasani et al 2016, Tada, Miyoshi-Akiyama, Shimada, Shimojima and Kirikae 2014, Bakour, Alsharapy, Touati and Rolain 2014).

Tablo 2. *Acinetobacter* türlerinde tespit edilen direnç mekanizmaları (Roca, Espinal, Vila-Farres and Vila 2012'den uyarlanmıştır).

Antibiyotikler	Direnç mekanizması	Protein	
B-Laktamlar	Kromozomal sefalosporinaz	AmpC	
	Karbapenem hidrolize eden enzimler	OXA-51-like, OXA-23-like, OXA-24/40-like, OXA-58-like, OXA-143-like	
	Metallo B-Laktamazlar	IMP, VIM, SIM-1, NDM	
	Diğer B-Laktamazlar	TEM, SHV, SCO-1, CARB, PER, VEB, CTX-M, GES, KPC, OXA-2, 10, 20, 37	
	Geçirgenliği azaltmak	CarO, 47kDa OMP, 44kDa OMP, 37kDa OMP, 33–36kDa OMP, 22–33kDa OMP, HMP-AB, 43kDa OMP	
	Efluks pompası	AdeABC, AdeIJK, AdeFGH, AdeDE, AdeXYZ	
	Modifiye penisilin bağlayıcı proteinler	PBP	
	Aminoglikozitler	Aminoglikozit, modifiye edici enzimler	Asetiltransferaz, Fosfotransferazlar, Nükleotid transferazlar
		Hedefe bağlayıcı modifikasyonlar	16S rRNA metilazlar
		Hedef yeri belirleme mutasyonları	GyrA/ParC
Kinolonlar	Efluks pompası	AdeABC, AdeIJK, AdeFGH, AdeDE, AbeM, AbeS	
	Tetrasiklinler	Efluks pompası	TetA, TetB, AdeDE, AdeXYZ
Ribozomal koruma		TetM	
Polimiksinler	Lipid A modifikasyonu	PmrCAB	
	Lipopolisakkarit kaybı	LpxABC	

3. MATERYAL VE METOD

3.1. ÇALIŞMANIN AMACI

Son yıllarda özellikle sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonlara neden olan karbapenem dirençli *Acinetobacter sp.* izolatları giderek artış göstermektedir. Bu suşların yol açtığı enfeksiyonların bir kısmının tedavisinde tek alternatif ilaç olarak kolistin kalmaktadır. Literatürde kolistin/sulbaktam kombinasyonunun sinerjik etkinliği ile ilgili çalışmalar çoğunlukla *in-vivo* olup, az sayıda da olsa *in vitro* çalışmalar bulunmaktadır (Sezer, Doğan, Aldağ ve Tülük 2017, Marie, Krishnappa, Alzahrani, Mubarakı and Alyousef 2015, Çetinkol, Telli, Altunçekiç Yıldırım ve Çalgın 2016, Kempf, Djouhri-Bouktab, Brunel, Raoult and Rolain 2012, Marques, Brookings, Moser, Sonke, and Waites 1997).

Bu çalışmada karbapenem grubu antibiyotiklere direnç gösteren *Acinetobacter sp.* suşlarında bir polimiksin grubu antibiyotik olan kolistin ve bir betalaktamaz inhibitörü ve antibiyotik etkinliği de olan sulbaktam kombinasyonunun sinerjik etkinliğinin *in-vitro* olarak araştırılması amaçlanmıştır.

3.2. ETİK KURUL ONAYI

Çalışmamızın etik kurul onayı; Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu'nun, 31 Ekim 2016 tarihli toplantısında 176 karar numarasıyla onay almıştır. Çalışma Sakarya Üniversitesi Merkez Eğitim ve Araştırma Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarında yürütülmüştür.

3.3. ÇALIŞMADA KULLANILAN MALZEMELER

- Koyun Kanlı Agar (Fırat medikal İstanbul, Türkiye)
- Mueller Hinton Agar (Fırat medikal İstanbul, Türkiye)
- Mueller Hinton Broth (Fırat medikal İstanbul, Türkiye)
- 0.01'lik plastik tek kullanımlık öze
- Mikropipet ve mikropipet ucu (sarı, mavi)
- Petri kabı
- Steril 5ml cam tüp

- Sulbaktam (Mustafa Nevzat İlaç Sanayii A.Ş.)
- Kolistin sülfat (Sigma-Aldrich, Münih, Almanya)
- Pipet pompası/3 yollu puar
- 96 kuyucuklu mikrolate (checkerboard için)
- Hassas dijital terazi (Sartorius Stedim Biotech, Göttingen, Almanya)
- Otoklav (OT 40 L, Nüve, Ankara, Türkiye)
- Pastör fırını (Fn 500, Nüve, Ankara, Türkiye)
- Etüv (EN 500, Nüve, Ankara, Türkiye)
- Boncuklu saklama besiyeri (Orgamik, İstanbul, Türkiye)
- 3 ml'lik steril plastik tüp
- Fotometre (Densicheck plus, Biomerieux, Fransa)

3.4. İZOLATLARIN İDENTİFİKASYONU VE SEÇİMİ

Çalışmamıza Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenem grubu antibiyotiklere dirençli 20 *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* complex suşu dahil edildi. İdentifikasyon ve antibiyotik duyarlılık sonuçları VITEK 2® (BioMerieux, Fransa) cihazıyla otomatize olarak tespit edildi. Çalışma kapsamına alınan suşların izole edildiği hastalar ve kliniklere göre dağılımı Tablo 3'te sunulmuştur. Hastaların; 9'u kadın 11'i erkek idi. İzolatların 9'u trakeal aspirat, 3'ü kan, 3'ü balgam, 2'si yara enfeksiyonu, 1'i steril vücut sıvısı ve 2'si kataterden izole edildi. Çalışmaya dahil edilen suşların hepsi kolistine duyarlı iken; 10'u gentamisine, 9'u amikasine, 9'u tigesikline, 4'ü trimetoprim/sulfametaksazole, 2'si tetrasikline, 2'si sefoperazon/sulbaktama, 1'i de seftazidime duyarlı idi (Tablo 4).

Tablo 3. Çalışmada kullanılan suşların izole edildiği hastalar ve kliniklere göre dağılımı.

SUŞ NO	CİNSİYET	YAŞ	ÖRNEK	KLİNİK	TARİH
1	K	54	Trakeal aspirat	Göğüs hastalıkları	26.01.2016
2	K	59	Trakeal aspirat	Göğüs hastalıkları	12.02.2016
3	E	68	Kan	Enfeksiyon	15.04.2016
4	K	61	Trakeal aspirat	Göğüs hastalıkları	17.04.2016
5	E	72	Balgam	Dahiliye	24.04.2016
6	E	63	Trakeal aspirat	Göğüs hastalıkları	06.05.2016
7	E	65	Trakeal aspirat	Göğüs hastalıkları	15.05.2016
8	K	57	Yara sürüntüsü	Dahiliye	22.05.2016
9	E	62	Kan	Dahiliye	12.06.2016
10	K	63	Balgam	Göğüs hastalıkları	19.06.2016
11	E	69	Trakeal aspirat	Dahiliye	02.07.2016
12	E	71	Trakeal aspirat	Göğüs hastalıkları	11.07.2016
13	E	58	Yara sürüntüsü	Cerrahi	01.09.2016
14	K	74	Kan	Yoğunbakım ünitesi	13.12.2016
15	K	51	Trakeal aspirat	Göğüs hastalıkları	08.01.2017
16	E	59	Steril vücut sıvısı	Dahiliye	17.01.2017
17	K	76	Katater	Yoğun bakım ünitesi	14.02.2017
18	K	66	Balgam	Dahiliye	21.04.2017
19	E	77	Trakeal aspirat	Yoğun bakım ünitesi	23.04.2017
20	E	64	Katater	Yoğun bakım ünitesi	07.05.2017

E: Erkek, K: Kadın

Tablo 4. Çalışmamızdaki suşların otomotize sistemdeki (VITEK 2®) direnç durumları.

SUŞ	CS	IPM	MEM	FEP	TET	TZP	GM	SXT	AMP	AMC	AMI	CAZ	TGC	CIP	LEV	SAM	SFP
1	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	-	R	R	-	-
2	S	R	R	-	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
3	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	I	R	R	R	R
4	S	R	R	R	-	R	S	R	R	R	S	R	S	R	-	R	R
5	S	R	R	R	R	R	R	R	-	-	R	R	I	R	R	R	R
6	S	R	R	R	R	R	S	S	-	-	R	R	-	R	I	R	R
7	S	R	R	R	R	R	S	S	-	-	S	R	I	R	R	R	R
8	S	R	R	R	R	R	R	R	-	-	R	R	-	R	R	-	-
9	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	-	R	-	-	-
10	S	R	R	R	-	R	R	R	R	R	S	R	-	R	-	-	-
11	S	R	R	R	I	R	S	R	-	-	S	R	S	R	R	R	R
12	S	R	R	R	R	R	R	R	-	-	S	R	S	R	R	R	R
13	S	R	R	R	S	R	R	S	-	-	R	R	I	R	I	R	R
14	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	-	R	-	-	-
15	S	R	R	R	I	R	S	R	-	R	R	R	I	R	R	R	R
16	S	R	R	R	R	R	S	R	-	-	S	R	S	R	R	R	R
17	S	R	R	R	R	R	R	R	-	-	S	R	S	R	R	R	R
18	S	R	I	I	R	R	R	R	-	-	R	R	S	R	R	R	S
19	S	I	R	S	I	I	S	S	-	-	S	S	S	R	I	R	S
20	S	R	R	R	R	R	R	R	-	-	R	R	S	R	R	R	I

S: duyarlı, **I:** Orta duyarlı, **R:** dirençli, **CS;** Kolistin, **IPM;** İmipenem, **MEM;** Meropenem, **FEP;** Sefepim, **GM;** Gentamisin, **SXT;** Trimetoprim/Sulfametaksazol, **TET;** Tetrasiklinler **TZP;** Piperasilin/Tazobaktam, **Amp;** Ampisilin, **AMC;** Amoksisilin/Klavulanik Asit, **AMI;** Amikasin, **CAZ;** Seftazidim, **CIP;** Siprofloksasin, **LEV;** Levofloksasin, **SAM;** Ampisilin/Sulbaktam, **SFP;** Sefoperazon/Sulbaktam, **TGC;** Tigesiklin

3.5. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ VE SİNERJİ ÇALIŞMASI

Karbapenem dirençli suşlarda; kolistin, sulbaktam ve kolistin+sulbaktam kombinasyonunun sinerjik etkisinin in-vitro olarak araştırılması amacıyla zamana ve antibiyotik yoğunluğuna bağlı olarak, antibiyotiğin bakterisidal etkisini dinamik olarak ortaya koyan Time Kill yöntemi kullanıldı. Ayrıca Checkerboard yöntemi ile kolistin, sulbaktam ve kolistin+sulbaktam kombinasyonundaki MİK değerleri belirlenerek sinerjik etki araştırıldı. Suşların tümünde Checkerboard yöntemi ile 17'sinde ise Time Kill yöntemi ile antibiyotiklerin sinerji çalışması yapıldı. Çalışma kapsamındaki suşların VITEK 2® otomatize sisteminden alınan antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 3'te sunulmuştur.

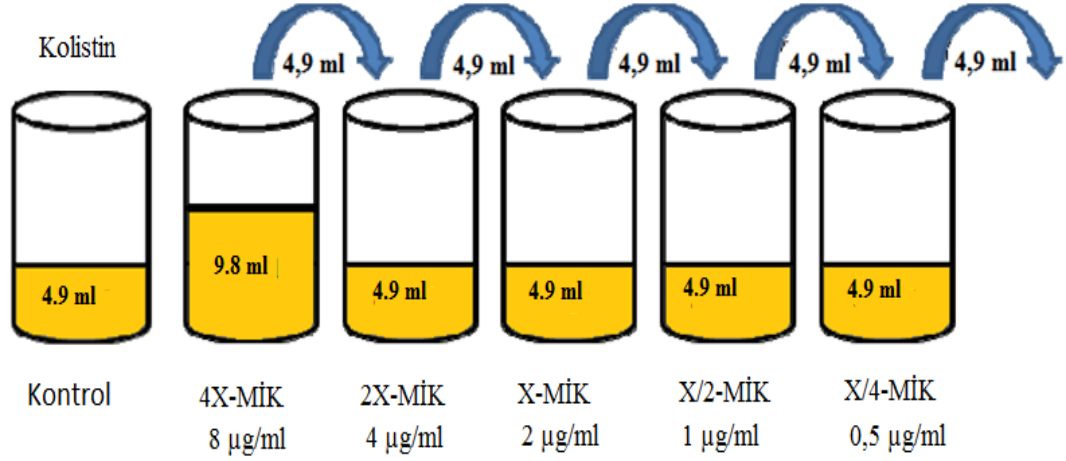
3.6. TIME KILL METODU

Zamana ve antibiyotik yoğunluğuna bağlı olarak, antibiyotiğin bakterisidal etkisini dinamik olarak ortaya koyan bir yöntemdir. Bu yöntemde, bakteri miktarındaki azalma zamana bağlı olarak her bir bakteri yoğunluğu için ayrı verilmektedir. Zamana bağlı azalma için farklı zamanlarda canlı bakteri sayımı yapılmaktadır. Laboratuvarımız kültür koleksiyonunda bulunan 17 izolat bu yöntem ile çalışılmıştır.

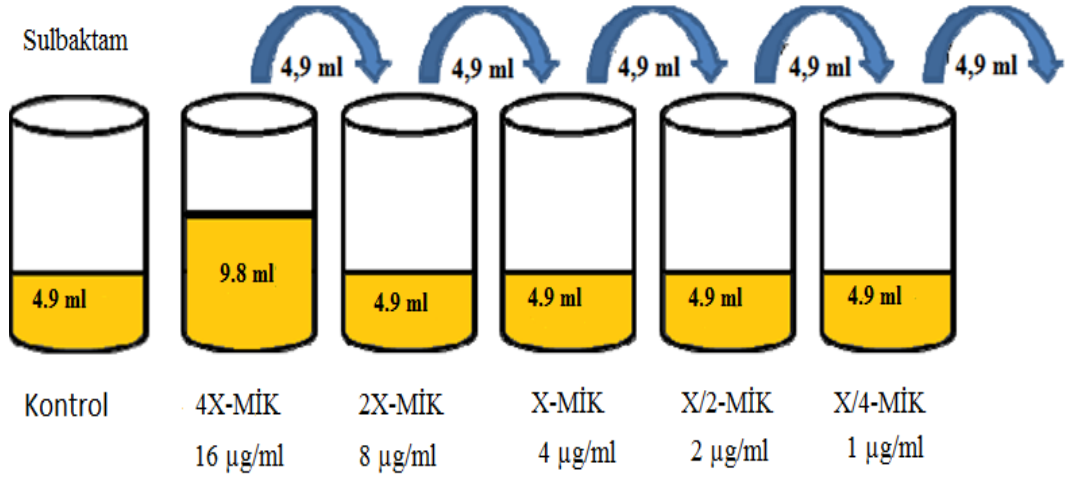
Tüplerde yapılacak olan antibiyotik dilüsyonu için sıvı besi yeri olarak Mueller Hinton Broth (MHB), canlı bakteri sayımı için ise Mueller Hinton Agar (MHA) besiyeri kullanıldı. Bu yöntemde, daha önceden kullanılmak üzere -80°C'lik derin dondurucuda saklanan *Acinetobacter spp.* izolatları Koyun Kanlı Agar (KKA) besiyerine ekilerek canlandırıldı. Bakteri süspansiyonu hazırlamak amacıyla her bir suş için bakteri süspansiyonu fotometrik yöntemle 0.5 McFarland standardına ayarlandı. Daha sonra nihai bakteri yoğunluğu 1×10^5 /ml olacak şekilde hazırlandı.

Kolistin ve sulbaktam için güncel CLSI standartlarında yer alan MİK değerlerinin 2 kat alt ve 2 kat üst konsantrasyonlarında antibiyotik (kolistin ve sulbaktam) içeren 4.9 ml MHB besiyeri hazırlandı. Kolistin ve sulbaktam tartılarak, 10 mg/ml tartılarak 10 ml serum fizyolojik ile sulandırıldı. Sulandırılmış kolistin çözeltisinden 80 µl alınarak son hacim 9.8 ml olacak şekilde MHB bulunan tüpe (birinci tüp) eklendi. Aynı işlem sulbaktam için sulbaktam çözeltisinden 160 µl alınarak tekrarlandı. Kombinasyon için de kolistin çözeltisinden 80 µl ve sulbaktam çözeltisinden 160 µl alınarak uygulandı. Nihai olarak üç serinin ilk tüpleri; 8 µg/ml kolsitin (4X-MİK), 16

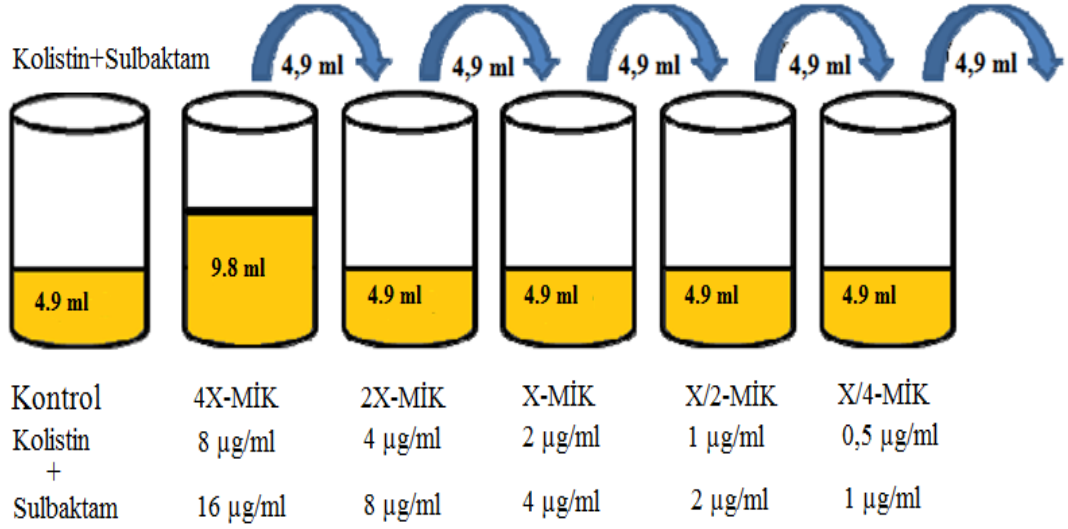
$\mu\text{g/ml}$ sulbaktam (4X-MİK) ve $8 \mu\text{g/ml}$ kolistin+ $16 \mu\text{g/ml}$ sulbaktam içecek şekilde hazırlandı. Daha sonra 4.9'ar ml MHB içeren tüplere seri dilüsyon yapıldı. Kombinasyon için ise $80 \mu\text{l}$ kolistin ve $160 \mu\text{l}$ sulbaktam 9.8 ml MHB içeren cam tüpe aktarıldı ve aynı şekilde seri dilüsyona tabi tutuldu. Her bir tüpe $100 \mu\text{l}$ bakteri bakteri süspansiyonundan aktarıldı (nihai hacim 5 ml). Bakteri süspansiyonu eklenen iki antibiyotik ve kombinasyonu $35\text{-}37^\circ\text{C}$ 'de inkübasyona alındı (Şekil 2).



Şekil 2. Kolistin için antibiyotik dilüsyonlarının hazırlanması.

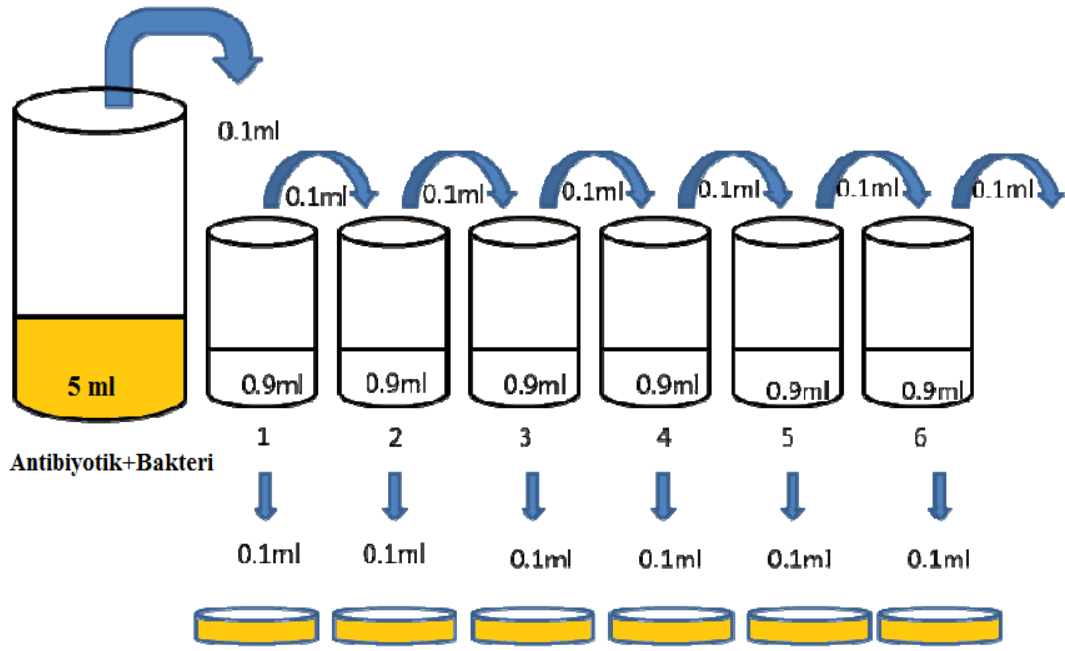


Şekil 3. Sulbaktam için antibiyotik dilüsyonlarının hazırlanması.



Şekil 4. Kolistin+sulbaktam için antibiyotik dilüsyonlarının hazırlanması.

Antibiyotiklerin her bir konsantrasyonu ve kontrol tüpü için 900 ml steril serum fizyolojik içeren 6 adet steril tüp serisi hazırlandı. İnkübasyona başlamadan hemen önce (0. Saatte) antibiyotiklerin her bir konsantrasyonu ve kontrol tüpünden 100 µl alınarak 900 µl serum fizyolojik içeren birinci tüpe aktarıldı ve diğer tüplere (kalan 5 tüpe) seri dilüsyonu yapıldı. Seri dilüsyon yapılan her tüpten 0.001 ml'lik tek kullanımlık standart öze ile bakteri+antibiyotik süspansiyonundan alınarak MHA besiyerine ekim yapıldı. Aynı işlem 3, 6, 12 ve 24. saatlerde tekrarlandı (Şekil 5). MHA besiyerine yapılan pasajlardaki üreme 35-37°C'de 16-18 saat inkübasyondan sonra değerlendirildi. Üreme var ise koloni sayıları kayıt altına alındı.



Şekil 5. Antibiyotik+bakteri süspansiyonundan (Kolistin, sulbaktam ve kolistin+sulbaktam) seri dilüsyon sonrası MHA besiyerine ekim.

3.6.1. Kolonilerin Sayılması ve Logaritmik Hesaplanması

Kontrol ve antibiyotiklerin her bir konsantrasyonunu içeren tüpten standart öze ile ekim yapılan plaklarda üreme olup olmadığı saptandı. Üreme olanlarda koloni sayımı gözle ve kalemle yapıldı. Altı dilüsyona ait plaklardan 30-300 koloni üreme olanı değerlendirmeye alındı. Altı plakta da 30'dan daha az sayıda üreme saptandığında dilüsyonsuz plakta görülen koloni sayısı veya 1. dilüsyona ait plaktaki koloni sayısı değerlendirmeye alındı (Van Heijenoort 1990, Ernest, Yodoi, Roling and Klepser 2002). Okuma periyotlarında bakteri sayısında, başlangıç dilüsyonuna (1×10^5) göre 3 \log_{10} ve daha fazla azalma var ise ilgili okuma periyodundaki antibiyotiğin bakterisidal etkili konsantrasyonu olarak kabul edildi. Bu şekilde her suş için her antibiyotik konsantrasyonun ve okuma periyotlarındaki koloni sayıları logaritmik olarak kaydedildi.

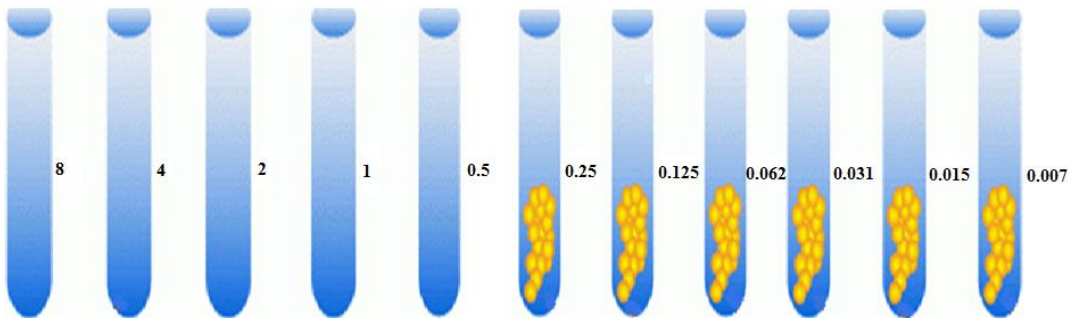
3.7. CHECKERBOARD YÖNTEMİ

Bu çalışmada, karbapenem dirençli *Acinetobacter* türlerinde kolistin ve sulbaktam kombinasyonlarının *in vitro* etkisini değerlendirmede Checkerboard (dama tahtası sinerji) yöntemi de kullanıldı. Laboratuvarımız kültür koleksiyonunda bulunan ve

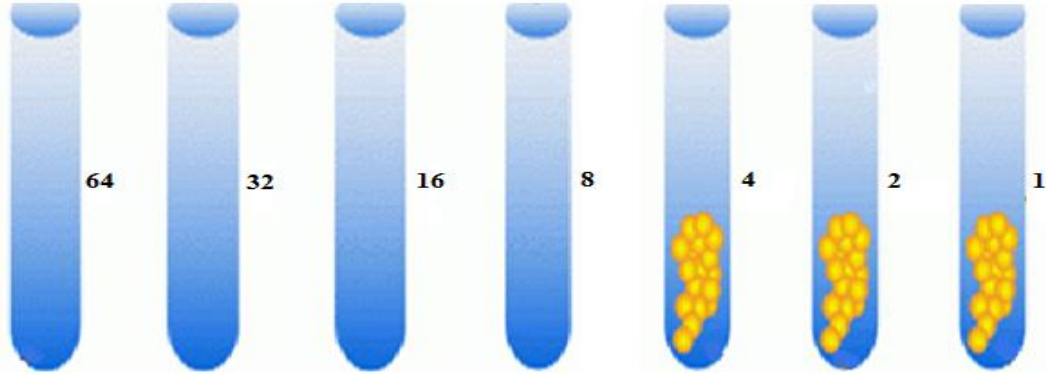
Time Kill yöntemi ile çalışılan 17 izolata ilaveten, sonradan izole edilen 3 suş da bu yöntem ile çalışılmıştır.

Çalışma için antibiyotiklerin MİK'lerine göre yapılan hesaplamalar sonucunda; 1 mg kolistin, 62.5 ml ve 1mg sulbaktam, 7.8 ml MHB ile sulandırıldı (16 µg/ml, 128 µg/ml). Her sulandırımından da 1 ml alınarak 1'er ml MHB içeren tüplerde seri dilüsyona tabi tutuldu. Hazırlanan bu dilüsyon tüplerinin her birinden 100'er µl mikroplaktaki kuyucuklara pipetlendi. Daha sonra; MHB içerisinde hazırlanan bakteri süspansiyonu fotometrik yöntemle 0.5 McFarland standardına ayarlanıp, 1/30 oranında dilüe edildi ve bu bakteri süspansiyonundan 10'ar µl mikroplaktaki tüm kuyucuklara eklendi (Bal 1999). 35-37°C'de 18-20 saat inkübasyon sonrasında sonuçlar değerlendirildi. Kolistin ve sulbaktam için her bir suşun MİK değerleri belirlendi. Her bir mikroplakta 8 suşun MİK çalışması yapıldı.

Her bir suş ile kombinasyon/sinerji (kolistin+sulbaktam) çalışması için bir adet mikroplak kullanıldı. Kolistin ve sulbaktam kombinasyonu çalışması için yukarıda anlatıldığı şekilde dilüsyonları hazırlanmış olan 1 ml'lik antibiyotik tüplerden önce kolistin sulandırımından 50'şer µl mikroplak kuyucuklarına konuldu. Mikroplaktaki kolistin konsantrasyonu soldan sağa doğru titreleri giderek azalacak şekilde ayarlandı. Daha sonra sulbaktam konsantrasyonu da yukarıdan aşağı (A-B-C-D yönünde) titreleri giderek artacak şekilde 50'şer µl ilave edildi. Negatif kontrol (sterilite kontrol) kuyucuğu hariç mikroplaktaki tüm kuyucuklara bakteri süspansiyonundan 10'ar µl konuldu ve inkübasyona alındı. İnkübasyon sonrası kombinasyon şartlarında kolistin ve sulbaktam MİK değerleri belirlendi. Çalışmadaki sinerjik etki Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından belirlenen yöntemlerle değerlendirildi (CLSI 2017).



Şekil 6. Kolistin için örnek MİK (µg/ml) çalışma şeması.



Şekil 7. Sulbaktam için örnek MİK ($\mu\text{g/ml}$) çalışma şeması.

Tablo 5. Kolistin+subaktam kombinasyon çalışmasında mikroplaktaki dilüsyonlar ($\mu\text{g/ml}$).

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	Sterilite kontrol
	K	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031	0.015	
B	S	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	K	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031	0.015	0.007
C	S	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	K	16	8	8	2	1	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031	0.015	0.007
D	S	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	K	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031	0.015	0.007
E	S	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	K	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031	0.015	0.007
F	S	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
	K	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031	0.015	0.007
G	S	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
	K	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031	0.015	0.007
H	S	Üreme	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64
	K	kontrol	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031	0.015	0.007

S:sulbaktam, K:kolistin

İlaçların kombinasyon durumundaki elde edilen MİK değerleriyle tek başlarına olan MİK değerleri oranlanarak, fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu (FİK) elde edildi. Daha sonra kombinasyonda yer alan antibiyotiklerin FİK değerleri toplanarak FİK indeksi (FİKİ) hesaplandı. Elde edilen verilerin hesaplaması ve analizi yapılarak, söz konusu kombinasyon ile sinerjik etki olup olmadığı ortaya konuldu. Formülasyon ve hesaplama aşağıda belirtildiği şekildedir. Formül;

$$FİK_s = \frac{\text{sulbaktamın kombinasyondaki MİK değeri}}{\text{sulbaktamın tek başına MİK değeri}}$$

$$FİK_k = \frac{\text{kolistinin kombinasyondaki MİK değeri}}{\text{kolistinin tek başına MİK değeri}}$$

$$FİK \text{ indeksi } (\sum FİK) = FİK_s + FİK_k$$

Toplam FİK indeksi ≤ 0.5 ise sinerji, $1 < FİK > 0.5$ ise aditif, > 1 ise antagonist etki olarak değerlendirildi (Çıkman ve ark 2013).

4. BULGULAR

Time Kill yöntemi ile kolistin+sulbaktam kombinasyonunun etkinliğinin ve sinerjik etkinin araştırıldığı 17 suşun tümünde sinerjik etki saptandı. Time Kill yöntemi ile tek başına sulbaktamın çalışılan konsantrasyonlarında bakterisit etkisinin olmadığı saptandı. Kolistinin X/2 konsantrasyonda dahi bazı okuma periyotlarında bakterisit etkinliğinin olduğu gözlemlendi. Çalışmaya alınan suşların Time Kill yönteminde inkübasyon periyotlarına göre **log₁₀** tabanlı koloni sayıları Tablo 5’te verilmiştir. Checkerboard yönteminde sinerji saptanmayan bir izolat Time Kill yöntemi ile çalışılmadığı için bunun sonucu verilemedi.

Tablo 6. 17 suş için kolistin, sulbaktam ve kolistin+sulbaktam'ın Time Kill yönteminde inkübasyon periyotlarına göre \log_{10} tabanlı koloni sayıları.

Suş no	Saat	Kolistin				Sulbaktam				Kolistin+ Sulbaktam			
		4x	2x	x	x/2	4x	2x	x	x/2	4x	2x	x	x/2
1	0.	3,60	3,6	3,47	3,69	4,3	4,39	4,84	4,6	4	1,5	1,49	4
	3.	0	0	0	3,3	4,3	4,69	4,84	4,44	0	0	0	0
	6.	0	0	0	0	4,40	5	5,3	5,3	0	0	0	0
	12.	0	0	0	4,3	5	6,11	5,36	6,3	0	0	0	0
	24.	0	0	0	4,3	7,07	7,17	7,47	7,49	0	0	0	0
2	0.	4,07	4,07	4,07	4,07	4,17	4	3,95	4,07	4,07	4,25	4,32	4,39
	3.	0	0	0	0	5,3	4,9	4,84	4,5	0	0	0	0
	6.	0	0	0	0	5,2	5,23	6,17	5,9	0	0	0	0
	12.	0	0	0	3	6,17	5,9	5,9	5,6	0	0	0	0
	24.	0	0	3,2	3,39	6,77	7,07	7,07	6,9	0	0	4,07	3,77
3	0.	3,77	3,77	3,73	3,71	4,9	5,11	5,13	5,14	4,07	4,07	4,11	4,13
	3.	0	0	0	3,51	4,73	4,69	4,79	4,84	0	0	0	0
	6.	0	0	0	0	4,72	4,99	5,17	5,26	0	0	0	0
	12.	0	0	0	4,26	6,25	6,29	6,6	6,72	0	0	0	0
	24.	0	0	0	4,38	6,95	7,25	7,33	8,9	0	0	0	4,12
4	0.	3,9	3,92	3,91	3,9	4,17	4,3	5,09	4,89	4,25	4,25	4,26	4,28
	3.	0	0	0	3,27	5,04	5,11	5,14	5,25	0	0	0	0
	6.	0	0	0	0	5	5,03	5,17	5,14	0	0	0	0
	12.	0	0	0	4,2	5,25	5,5	5,6	6,43	0	0	0	0
	24.	0	0	0	4,32	6,9	7,14	8,28	7,79	0	0	0	5,14
5	0.	5,8	5,14	5,13	5,17	5,25	4,14	5,13	5,07	3,95	3,97	3,96	4,04
	3.	0	0	0	4,09	4,31	4,36	5,44	5,44	0	0	0	0
	6.	0	0	0	4,14	5,21	5,28	5,39	6,42	0	0	0	0
	12.	0	0	0	4,04	5,74	5,97	5,98	6,44	0	0	0	4,06
	24.	3,65	3,81	3,94	5,16	6,92	7,19	7,3	8,2	0	3,3	4,07	4,18
6	0.	3,39	3,47	3,6	3,6	3,69	3,65	3,65	3,6	3,47	3,5	3,54	3,6
	3.	0	0	0	2,9	3,65	3,77	4,14	4,07	0	0	0	0
	6.	0	0	0	0	4	4,06	4,25	4,3	0	0	0	0
	12.	0	0	0	3,3	4,95	4,95	6,9	6,96	0	0	0	3,65
	24.	0	0	3,9	5,4	5,3	5,68	6,86	7,79	0	4,39	6,07	7,26
7	0.	4	4,11	4,07	4,3	3,84	4,2	4,07	3,9	3,9	4	4	4,07
	3.	0	0	0	5,07	4,14	4,36	4,38	4,77	0	0	0	0
	6.	0	0	0	6,38	5,44	5,9	6,27	7,36	0	0	0	0
	12.	0	0	0	6,44	7,3	8,02	8,39	8,65	0	0	0	6,8
	24.	3,9	5,04	7,16	7,14	7,92	8,25	8,27	8,77	3,25	4,16	4,34	7,25
8	0.	3,6	3,61	3,77	4	3,65	3,65	3,57	3,74	3,65	3,66	3,77	3,55
	3.	0	0	0	3,81	4,25	4,34	4,84	5,4	0	0	0	0
	6.	0	0	0	3,95	6,3	6,27	5	5,97	0	0	0	0
	12.	0	0	6,25	6,3	6,35	6,4	6,07	7,13	0	0	0	5,21
	24.	5,3	6,02	6,2	6,4	6,68	6,99	7,15	8,07	0	4,39	4,7	5,3
9	0.	3,6	3,54	3,57	3,69	3,6	3,69	3,64	3,69	3,5	3,73	3,6	3,85
	3.	0	0	0	0	4,2	4,25	4,44	4,63	0	0	0	0

	6.	0	0	0	0	5	5,04	5,14	5,25	0	0	0	0
	12.	0	0	0	3,9	5,07	5,25	5,69	5,92	0	0	0	0
	24.	0	0	3,44	4,25	5,59	5,99	6,83	7,06	0	0	0	3,27
10	0.	4,44	4,43	4,38	4,38	4	4,07	3,9	4,07	4,07	4,07	3,95	3,84
	3.	0	0	0	3,15	4,34	4,39	4,45	4,91	0	0	0	0
	6.	0	0	0	4,14	5,25	5,36	5,39	5,39	0	0	0	0
	12.	0	0	0	5,22	5,6	5,81	6,07	6,84	0	0	0	0
	24.	0	0	5,3	6,34	5,95	6,84	6,97	8,14	0	0	4,17	5,25
11	0.	3,6	3,51	3,54	3,6	4,07	3,5	3,51	3,69	3,95	3,6	3,6	3,47
	3.	0	0	0	0	4,34	4,44	4,54	4,65	0	0	0	0
	6.	0	0	0	3,6	4,69	5,25	5,27	5,3	0	0	0	0
	12.	0	0	0	4,07	4,54	4,94	7,87	7,9	0	0	0	0
	24.	0	0	5,14	7,03	7,25	7,3	8,65	8,71	0	0	5,07	7,03
12	0.	4,17	4,25	4,29	4,3	4,07	4,09	4,11	4,16	3,84	3,81	3,85	3,84
	3.	0	0	0	3,65	4,16	4,3	5,39	5,99	0	0	0	0
	6.	0	0	0	4,19	5,9	6,27	6,95	7,11	0	0	0	0
	12.	0	0	0	4,26	5,95	7,25	6,92	7,04	0	0	0	0
	24.	0	0	4,86	5,65	6,95	6,96	7,01	7,3	0	0	3,54	4,07
13	0.	3,95	4	3,97	3,69	3,77	3,9	3,84	3,92	3,84	3,95	3,87	4
	3.	0	0	0	0	4,25	4,38	5,39	6,16	0	0	0	0
	6.	0	0	0	0	4,92	6,25	6,92	7,14	0	0	0	0
	12.	0	0	0	5,26	5,92	6,28	7	7,2	0	0	0	0
	24.	0	0	4,16	6,43	5,94	6,98	8,01	8	0	0	3,61	5,71
14	0.	3,68	3,65	3,7	3,57	3,94	4,06	4,14	4,12	3,57	3,69	3,72	3,77
	3.	0	0	0	0	4,14	4,38	4,82	5,04	0	0	0	0
	6.	0	0	0	0	5,09	6,3	6,39	6,73	0	0	0	0
	12.	0	0	0	0	5,17	6,14	6,31	6,27	0	0	0	0
	24.	0	0	0	3,97	6,18	6,14	6,99	7,03	0	0	3,27	4,94
15	0.	3,65	3,69	3,86	3,85	4,19	4,16	4,2	4,27	4,16	4,17	4,18	4,25
	3.	0	0	0	0	4,3	4,46	5,3	5,25	0	0	0	0
	6.	0	0	0	0	4,68	4,9	5	5,07	0	0	0	0
	12.	0	0	0	3,92	5,49	5,9	6	6,13	0	0	0	0
	24.	0	0	3,46	4,76	5,77	7,14	7,21	7,3	0	0	3,98	4,79
16	0.	3,99	4,07	4,12	4,15	4,07	3,89	4,03	3,94	4	3,5	3,49	3,69
	3.	0	0	0	4,07	4,34	4,44	4,54	4,65	0	0	0	0
	6.	0	0	0	3,54	4,69	5,25	5,27	5,34	0	0	0	0
	12.	0	0	0	4,99	4,54	5,97	6,69	6,9	0	0	0	0
	24.	0	3,23	4,65	5,27	7,25	7,3	7,65	8	0	0	3	3,74
17	0.	3,95	4	3,97	4,04	3,77	3,91	3,84	3,96	3,84	3,95	3,87	4
	3.	0	0	0	5,65	4,25	5,3	5,39	6,43	0	0	0	0
	6.	0	0	0	6,26	5,9	7,25	6,9	7,11	0	0	0	0
	12.	0	0	0	7,43	6	7,27	6,92	7,14	0	0	0	0
	24.	0	0	7,16	8,02	6,94	6,96	8,01	8	0	0	4	5,3

X: İlacın MİK değeri (kolistin: 2µg/ml, sulbaktam: 2µg/ml), **X/2:** MİK değerinin yarısı, **2X:** MİK değerinin 2 katı, **4X:** MİK değerinin 4 katı

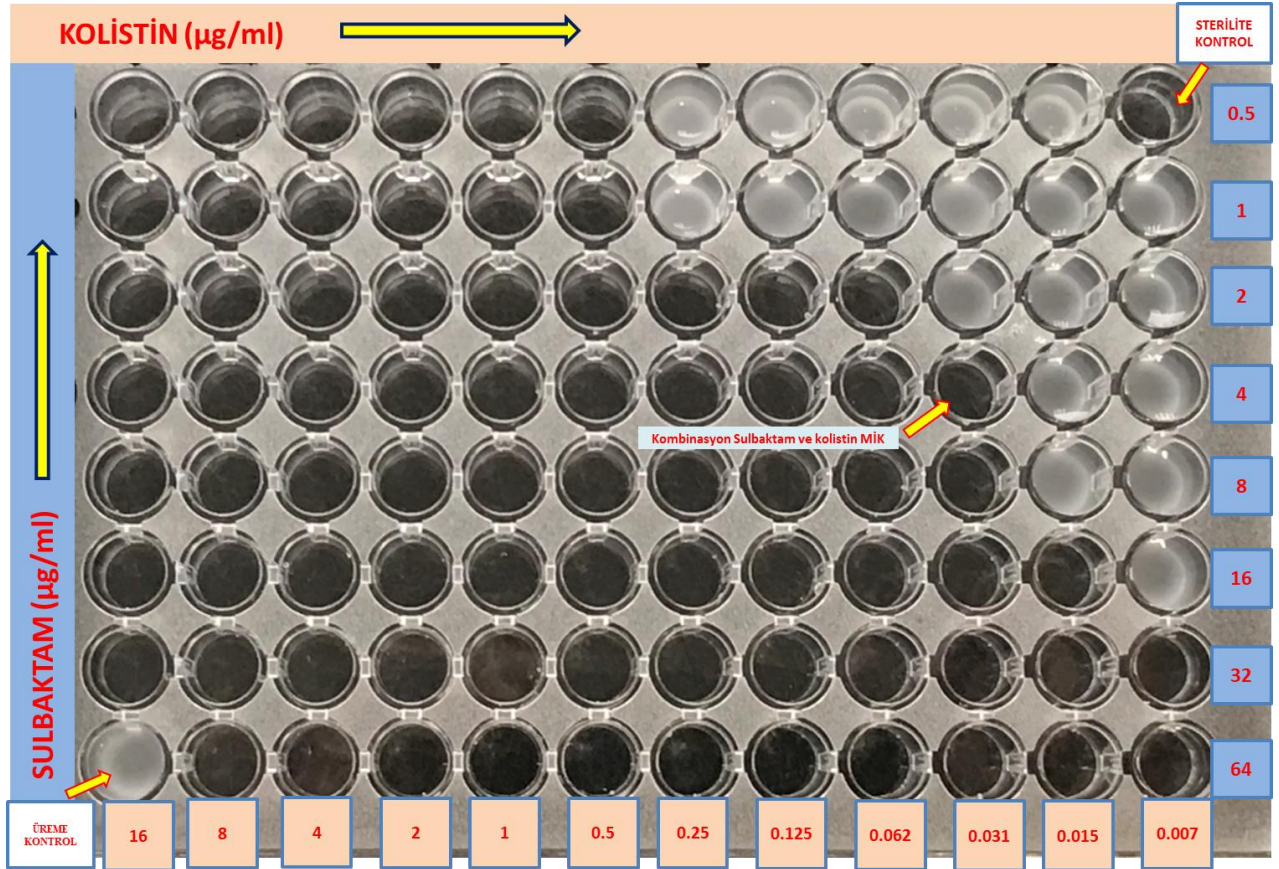
Checkerboard yöntemi ile çalışmaya dahil edilen suşlarda antibiyotiklerin tek başlarına ve kombinasyondaki belirlenen MİK değerleri Tablo 6’da sunulmuştur. Kolistin MİK değeri, 3 suşta VITEK 2[®] otomatize sisteminde saptanan değerlerden düşük bulundu. Bu yöntem ile tek başına sulbaktamın sadece 3 suşta (%15) MİK düzeyinde (8µg/ml) etkili olduğu görüldü. Checkerboard yönteminde kolistin+sulbaktam kombinasyonunun denenen 20 suşun 17’sinde (%85) sinerjik etkisi, 3’ünde ise %15’inde aditif etkisinin olduğu saptandı. Kombinasyondaki kolistinin MİK değerlerinin ortalaması 0.05±0.71, sulbaktam için ise 4.6±3.11 bulundu. Checkerboard yönteminde ve VITEK 2[®] sistemi elde edilen MİK değerleri ile sinerji bulguları Tablo 7’de özetlenmiştir.

Tablo 7. Checkerboard yönteminde suşların kolistin ile sulbaktam MİK (µg/ml) ve FİK değerleri.

Suş	Kolistin MİK	Sulbaktam MİK	Kombinasyon Kolistin MİK	Kombinasyon Sulbaktam MİK	FİK
1	0,25	16	0.062	4	0.5
2	0,5	16	0.125	4	0.5
3	0,5	8	0.062	2	0.37
4	0,5	32	0,015	4	0,56
5	0,5	16	0,125	2	0,33
6	0,25	16	0,031	2	0,13
7	0,5	32	0,031	4	0,18
8	0,5	8	0,015	4	0,5
9	0,25	16	0,031	4	0,37
10	0,5	32	0,031	4	0,18
11	0,5	32	0,031	4	0,18
12	0,5	16	0,062	4	0,37
13	0,5	32	0,015	8	0,28
14	0,5	16	0,031	4	0,31
15	0,5	16	0,062	2	0,25
16	0,5	8	0,31	4	0,56
17	0,5	32	0,031	8	0,31
18	0,5	32	0,015	16	0,53
19	0,5	16	0,031	4	0,31
20	0,5	16	0,031	4	0,31

Tablo 8. Suşların VITEK 2® ve Checkerboard yönteminde saptanan MİK (µg/ml) değerleri.

Suş No	VITEK 2® Kolistin MİK	Checkerboard Kolistin MİK	Checkerboard Sulbaktam MİK	Sinerji	
				Time Kill	Checkerboard
1	0,5	0,25	16	+	+
2	0,5	0,5	16	+	+
3	0,5	0,5	8	+	+
4	0,5	0,5	32	+	-
5	0,5	0,5	16	+	+
6	0,5	0,25	16	+	+
7	0,5	0,5	32	+	+
8	0,5	0,5	8	+	+
9	0,5	0,25	16	+	+
10	0,5	0,5	32	+	+
11	0,5	0,5	32	+	+
12	0,5	0,5	16	+	+
13	0,5	0,5	32	+	+
14	0,5	0,5	16	+	+
15	0,5	0,5	16	+	+
16	0,5	0,5	8	+	-
17	0,5	0,5	32	+	+
18	0,5	0,5	32	Çalışılmadı	-
19	0,5	0,5	16	Çalışılmadı	+
20	0,5	0,5	16	Çalışılmadı	+



Şekil 8. Checkerboard (dama tahtası) yöntemi ile kolistin+sulbaktam kombinasyon/sinerji çalışması (11 nolu suş; Kolistin MİK: 0.5µg/ml, Sulbaktam MİK: 32 µg/ml).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Acinetobacter cinsi bakteriler, yaşamlarını sürdürebilmek için çok az miktarda besleyici maddeye ihtiyaç duyması ve çeşitli karbon kaynaklarını kullanabilmesi nedeniyle doğada toprak, su ve yiyeceklerde saprofit olarak serbest yaşayabilmektedir (Bergogne-Berezin and Towner 1996). İnsan derisinde canlı kalabilmeleri, çevresel şartlara dayanıklı olmaları nedeniyle uzun süre canlı kalabilirler, kolayca yayılabilirler ve daha çok hastane enfeksiyonlarına sebep olurlar (Dijkshoorn, Nemec, Seifert 2007). Bunun yanında; balgam, dışkı, idrar ve vajinal sekresyonlar gibi numunelerden de izole edilebilirler (Rosenthal and Tager 1975).

Acinetobacter türleri immünsopresif hastalarda ventilatöre bağlı pnömoni, kan dolaşımı enfeksiyonları ve yara enfeksiyonlarına neden olan önemli patojenlerdir. Son yıllarda, *Acinetobacter* türlerinin sebep olduğu hastane kaynaklı enfeksiyonların giderek arttığı görülmektedir. *Acinetobacter* türleri içerisinde Acb complex, bu tip enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan etkidir. Bu enfeksiyonların tedavisindeki en önemli problem; suşların büyük bir kısmında karbapenem grubu antibiyotikler de dahil olmak üzere bir çok antibiyotiğe karşı direnç görülmesi ve tedavide kullanılacak antibiyotik seçeneklerinin tükenmesidir (Yıldırım ve Tuğrul 2011). Enfeksiyona neden olan dirençli bakterilerin ortaya çıkışı ve yayılması klinisyenler için büyük endişe kaynağı haline gelmiştir. Bu durum, klinisyenleri yeni tedavi seçenekleri arayışına yönlendirmektedir. ÇİD Acb complex enfeksiyonlarının tedavisinde hem başarı elde etmek hem de direnç gelişimini önlemek amacıyla kombine antibiyotik kullanımı önerilmektedir (Yıldız 2007, Punpanich, Munsrichoom and Srisarang 2011). Literatürdeki *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda kolistin+ampisilin/sulbaktam kolistin+rifampisin, kolistin+tigesiklin, kolistin-trimetoprim/sülfametoksazol, kolistin+vankomisin, kolistin+meropenem, kolistin+azitromisin, kolistin+doripenem ve kolistin+imipenem gibi çeşitli kombinasyonlar araştırma konusu olmuştur (Kalin, Alp, Akin, Coskun ve Doganay

2014, Dizbay, Altuncelik, Sezer ve Arman 2008, Çıkman ve ark 2013, Timurkaynak, Can, Kurt Azap, Demirbilek, Arslan ve Özbalıkcı Karaman 2006). Literatürde karbapenem dirençli Acb complex izolatlarında kolistin+sulbaktam sinerjik etkisinin araştırıldığı az sayıda *in vitro* çalışmada genellikle Time Kill ve Checkerboard yöntemleri birlikte veya tek başlarına kullanılmışlardır (Lee, Tang, Su, Chien and Liu 2008, Pongpech, Amornopparattanakul, Panapakdee, Fungwithaya, Nannha, Dhiraputra and Leelarasamee 2010, Thamlikitkul and Tiengrim 2014). Bu çalışmada da aynı suşlardaki söz konusu sinerjik etkinlik bu iki yöntemle araştırıldı. Çalışmaların büyük bir kısmında E-test yöntemi (gradientli antibiyotik stripleri) kullanılmıştır (Çetinkol, ve ark 2016, Temocin, Erdinc, Tulek, Demirelli, Ertem, Kinikli ve Koksal 2015). E-test yönteminin daha çok kullanılmasının sebebi; muhtemelen metodolojik kolaylıktan kaynaklanmaktadır. Kolistin ile yapılan çalışmalarda diffüzyon testleri önerilmemekte olup, MİK bakılması gerektiği vurgulanmaktadır (CLSI 2016, EUCAST). E-test yöntemi ile yapılan çalışmalarda predifüzyon yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem her ne kadar standardize edilmiş olsa da; ticari gradient testleri ve bu yöntemden kaynaklanan sorunlar yaşanabilmektedir. Nitekim zaman zaman bazı ticari kolistin gradient testler çeşitli uygunsuzluklardan dolayı kullanımdan kaldırılmakta, sorunlar giderildikten sonra kullanıcılara bildirilmektedir. Bazı yayınlarda da gradient diffüzyon testlerinin *Acinetobacter* türlerinin etken olduğu enfeksiyonlarda uygunsuz tedavilere sebep olduğu ve kolistin duyarlılık testlerinin otomatize sistemler veya dilüsyon metodları ile yapılması gerektiği vurgulanmaktadır (Dafopoulou, Zarkotou, Dimitroulia, Hadjichristodoulou, Gennimata, Pournaras S and Tsakrisa 2015).

Kolistinin uzun süre stabil olmadığı da akılda tutulması gereken bir diğer konudur. Bizim çalışmamızda da Time Kill yöntemi ile kolistin 12. saatten sonra etkinliğini yitirdiğini saptadık. Zaten yarılanma ömrü ve tedavide uygulanan dozlar da bunu desteklemektedir. Burada üzerinde durulması gereken bir konu da *in vitro* çalışmalarda kolistin hangi formunun kullanılması gerektiğidir. Güncel klavuzlarda *in vitro* çalışmalarda kolistin sülfat kullanımının referans alınması gerektiği, kolistimetat sodyum (diğer isimleri; kolistin metilsülfonat, pentasodyum kolistimetansülfat veya kolistin sülfonilmetat) kullanılmaması gerektiği vurgulanmaktadır (CLSI 2017, EUCAST). Kolsitimetat sodyum; *in vivo* sistemik tedavide paranteral kullanılan, daha az teröpatik etkinliği olan, yaklaşık dört ya da

sekiz kat daha az aktif, hidrolize olana kadar inaktif ve yan etkileri az olan formudur. Kolistin sülfat ise topikal ve oral formlar şeklinde bazı ülkelerde kullanılmakla birlikte, ABD’de yalnızca kolistimetat sodyum ve polimiksin B kullanımı mevcuttur. Tedavide durum böyle iken *in vitro* testlerin kolistin sülfat ile yapılması ve bu sonuçların *in vivo* ile uyumu konusunda az da olsa şüpheler vardır (Mülazımoğlu 2012).

Bir kısım sinerji çalışmasında da, sulbaktam tek başına araştırılmamış olup ampisilin/sulbaktam kombinasyonu aynı amaçla kullanılmıştır (Çıkman ve ark 2013, Yavaş, Yetkin, Kayaaslan, Baştuğ, Aslaner, But, Kanyılmaz, Sarı, Akıncı, ve Bodur 2016). Sulbaktamın bu şekilde kullanımının da kolistin+sulbaktam sinerji çalışmalarında uygun olmayacağı aşikardır. Çünkü, kolistin ile kombinasyon durumunda ampisilin de kombine edildiğinden, ancak üçlü bir kombinasyondan söz edilebilecektir.

Bu tez çalışması kapsamında incelemeye aldığımız karbapenem dirençli suşlarda (denenen 17 suşun tümünde) Time Kill yöntemi ile, sulbaktamın çalışılan konsantrasyonlarında bakterisit etkisinin olmadığı, kolistinin X/2 konsantrasyonda dahi bakterisit etkinliğinin olduğu ve kolistin+sulbaktam kombinasyonunun sinerjik etkisinin olduğu saptandı. Diğer bir yöntem olan Checkerboard yönteminde; kolistin+sulbaktam kombinasyonunun suşların 17'sinde (%85) sinerjik, 3'ünde (%15) aditif etkisi olduğu saptandı. Bu yöntem ile tek başına sulbaktamın sadece 3 suşta (%15) MİK düzeyinde (8µg/ml) etkili olduğu saptandı.

Time Kill yöntemi

Sadece Time Kill yöntemi kullanılan çalışmalara bakıldığında; Lee et al. kolistin+sulbaktam kombinasyonu için sinerjizm bildirmişlerdir (Lee, Tang, Su, Chien and Liu 2008). Pongpech et al. ise yaptıkları çalışmada Meropenem+sulbaktam+ kolistinin üçlü kombinasyonun *ÇİD A. baumannii*'nin % 96.7'sine karşı sinerji saptamışlar, bununla birlikte meropenem+sulbaktam, meropenem+kolistinin ve sulbaktam+kolistin sırasıyla % 70,% 73.3 ve% 53.3'lük sinerji etki saptamıştır (Pongpech, Amornopparattanakul, Panapakdee, Fungwithaya, Nannha, Dhiraputra and Leelarasamee 2010). Bu çalışmada Time Kill yöntemi ile bütün suşlarda (%100) sinerjik etki saptandı. Benzer sonuçların literatürde yer aldığı görüldü (Laishram et al 2016).

Checkerboard Yöntemi

Thamlikitkul et al. Checkerboard yöntemi ile yaptıkları bir çalışmada kolistin+sulbaktam kombinasyonunda kolistine duyarlı suşlarda sinerji saptamamışlardır. Ancak kolistine dirençli suşlarda sinerji saptadıklarını bildirmişlerdir (Thamlikitkul and Tiengrim 2014). Deveci ve ark. Checkerboard yöntemi ile yaptıkları bir çalışmada klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında (karbapenem duyarlılıkları ile ilgili bilgi vermemişlerdir) kolistin+sulbaktam kombinasyonunda %50 sinerji, %50 aditif etki saptamışlardır (Deveci, Çoban, Acicbe, Tanyel, Yaman ve Durupinar 2012).

Percin ve ark. kolistin dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında yaptıkları bir çalışmada C,heckerboard yöntemi ile kolistin+sulbaktam kombinasyonunda %50 sinerji, bildirmişlerdir (Perçin ve ark 2014).

Marie et al. yaptıkları bir çalışmada ÇİD *Acinetobacter baumannii* suşlarında Checkerboard yöntemi ile kolistin+sulbaktam kombinasyonu için %29 sinerji, kısmi sinerji % 38.9 bildirmişlerdir (Marie, Krishnappa, Alzahrani, Mubarakı and Alyousef 2015). Dong et al. ÇİD *Acinetobacter baumannii* suşlarında Checkerboard yöntemi ile kolistin+sulbaktam kombinasyonu sinerji bildirmemişlerdir (Dong, Chen, Zhang, Liu, Liu and Ma 2014).

Bu tez çalışmasında Checkerboard yöntemi ile elde edilen sonuçlara bakıldığında daha yüksek oranda bir sinerji oranı saptandığı görülmektedir. Bu konuda az sayıda yayın olduğundan daha fazla sayıda izolatlarla, mümkünse de çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Time Kill + Checkerboard Yöntemi

Laishram ve ark. çeşitli klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında; Time Kill yöntemi ile kolistin+sulbaktam kombinasyonunda alt solunum yolu örneklerinde %100, kan örneklerinde %96 bakterisid etki ve checkerboard yöntemi ile kolistin+sulbaktam kombinasyonunda ve %36 sinerji ile %64 aditif etki bildirmişlerdir (Laishram et al 2016). Bizim çalışmamızda tüm klinik örnek tiplerinde, Time Kill yöntemi ile %100 bakterisid etki, Checkerboard yönteminde ise %85 sinerjik etki ve %15 aditif etki saptandı.

Anandan et al. ÇİD *Acinetobacter baumannii* suşlarında Time Kill yöntemi ile kolistin+sulbaktam kombinasyonu için %96 bakterisidal etki, %68 sinerji,

Checkerboard yöntemi ile kolistin+sulbaktam kombinasyonu için %16 sinerji ve %84 etkisiz olduğunu saptamışlardır (Anandan, Jennifer, Anandan, Pragasam, Shankar, Veeraraghavan, Peter and Rao 2016).

E-test Yöntemi

Çetinkol ve ark. karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında E-test ile yaptıkları bir çalışmada suşların tamamında antagonist etki saptadıklarını bildirmişlerdir (Çetinkol, ve ark 2016).

Shields et al. ÇİD *Acinetobacter baumannii* suşlarında E-test ile yaptıkları bir çalışmada kolistin+ampisilin/sulbaktam, kolistin+doripenem ve kolsitin+imipenem kombinasyonları için sinerji saptamadıklarını bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada kolistin+ampisilin/sulbaktam kombinasyonu için %12 antagonistik etki saptadıklarını bildirmişlerdir (Shields, Kwak, Potoski, Doi, Adams-Haduch, Silveira, Toyoda, Pilewski, Crespo, Pasculle, Clancy and Nguyen 2011).

Marie et al. E-test ile kolistin+sulbaktam kombinasyonu için %44.4 sinerji, kısmi sinerji %42.6 bildirmişlerdir (Marie et al 2015).

Kempf ve ark. E-test yöntemi ile yaptıkları bir çalışmada kolistin+sulbaktam kombinasyonu için %100 sinerjizm bildirmişlerdir (Kempf et al 2012).

Temocin ve ark. ÇİD *Acinetobacter baumannii* suşlarında E-test ile yaptıkları bir çalışmada; kolistin+sulbaktam kombinasyonunda %17 sinerji, %73 aditif etki bildirmişlerdir (Temocin ve ark. 2015).

Yavaş ve ark. karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında E-test yöntemi ile yaptıkları bir çalışmada kolistin+sulbaktam kombinasyonunda %39.9 aditif etki, kolistin+meropenem kombinasyonunda %100 sinerji, meropenem+sulbaktam kombinasyonunda %16.7 sinerji ve tigesiklin+sulbaktam kombinasyonunda %5.6 sinerji bildirmiştir (Yavaş ve ark. 2016).

Çıkman ve ark. imipenem dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında E-test ile yaptıkları bir *in vitro* çalışmada kolistin-ampisilin/sulbaktam için sinerjik aktiviteyi %45.5, antagonistik etkiyi %27 olarak bildirmişlerdir (Çıkman ve ark 2013).

Alada ve ark. E-test yöntemi ile yaptıkları bir çalışmada ÇİD *Acinetobacter baumannii* suşlarında kolistin+sulbaktam kombinasyonunda %5 sinerji, %12.5 kısmi sinerji, imipenem-sulbaktam %15 sinerji, %47.5 kısmi sinerji bildirmişlerdir (Alada, Altoprak ve Coşkun 2017).

***In vivo* sinerjik etki çalışmaları**

Literatürde karbapenem dirençli Acb complex izolatlarının etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde kolistin+sulbaktam veya kolistin+ampisilin/sulbaktam kullanılarak sinerjik etkisinin araştırıldığı *in vivo* yayınlar da bulunmaktadır. Kalin ve ark. yaptıkları bir *in vivo* çalışmada ÇİD *Acinetobacter baumannii* suşlarında kolistin+sulbaktam kombinasyonunda %85.7 sinerjik etki saptamışlardır (Kalin ve ark 2014). Fan et al. ÇİD *Acinetobacter baumannii* suşlarında Kemirgen Uyluk Enfeksiyonu Modeli ile sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada kolistin+sulbaktam kombinasyonunda %87.5 sinerji, %12.5 aditif etki bildirmiştir (Fan, Guan, Wang and Cong 2016).

Dinç ve ark. karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarının etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde, kolistin+sulbaktam kombinasyonunun anlamlı bir sinerjik etkiye sahip olmadığını saptamışlardır (Dinc ve ark 2013).

Kengkla et al. bir derleme yazısında; kolistin+sulbaktam kombinasyon tedavisinin kolistin monoterapisinden daha üstün ve yan etkileri yönünden de benzer olduğunu, belirtmişlerdir. Ayrıca bu kombinasyonun ÇİD ve XDR-B enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılabileceğini ifade etmişlerdir (Kengkla, Kongpakwattana, Saokaew, Apisarnthanarak and Chaiyakunapruk 2017).

Karbapenem dirençli *Acinetobacter* suşlarının etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde alternatif seçenek olarak en sık kolistin kullanılmaktadır. Ancak kolistine karşı da direnç görülmeye başlandığından, direnç gelişimine karşı kolistin başka antibiyotiklerle kombine kullanımı önerilmektedir. Denenen çok sayıda kombinasyondan birisi de kolistin+sulbaktam kombinasyonudur. Bu çalışmada; karbapenem dirençli *Acinetobacter* suşlarında Time Kill ve Checkerboard yöntemi olmak üzere iki farklı yöntemle *in vitro* olarak kolistin+sulbaktam kombinasyonunun sinerjik etkinliği araştırılmıştır.

Sonuçta; sulbaktamın tek başına düşük oranda (%15) MİK düzeyinde etkili olduğu ve bakterisit etkisinin olmadığı, kolistin ise tüm suşlarda etkili olduğu saptandı. Denenen suşların büyük bir kısmında her iki yöntem ile de kolistin+sulbaktam kombinasyonunun sinerjik etkisinin olduğu görüldü. Literatürdeki çalışmalarda farklı

sonuçlar bulunduğundan daha yüksek sayıda izolatlarla ve mümkünse in vivo ile uyumun da ortaya konulduğu yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKÇA

- Abbott I, Cerqueira GM, Bhuiyan S, Peleg AY. (2013). Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: Laboratory challenges, mechanistic insights and therapeutic strategies, *Journal Expert Review of Anti-infective Therapy*, 11(4): 395-409.
- Akkök NİE. (2013). Farklı klinik örneklerden izole edilen çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında tigesiklin, kolistin direncinin disk difüzyon, e-test ve otomatize sistem yöntemleri ile karşılaştırılması. K.S.İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş, (Danışman: Prof. Dr. Aral M).
- Akova M. (2006). Sulbaktam-sefoperazon: *in vitro* çalışmalar ve klinik kullanımında yeni veriler, *Flora*, 11 (ek 2): 3-31.
- Alada DM, Altoprak Ü ve Coşkun MV. (2017). Çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının *Acinetobacter* suşları üzerine *in vitro* etkinliğinin araştırılması, *ANKEM Dergisi*, 31(1): 23-31.
- Allen DM, Hartman BJ. (2005). *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.
- Andriole, VT. (2003). Quinolones. In; Finch RG, Greenwood, D, Ragnar Nonby, S, Whitley RJ.(eds): *Antibiotic and chemotherapy: anti-infective agents and their use in therapy*. 9 th Ed. Philadelphia.
- Anandan S, Jennifer L, Anandan S, Pragasam AK, Shankar BA, Veeraraghavan B, Peter CJ and Rao R. (2016). Synergy testing between sulbactam and meropenem/ colistin in MDR *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* Complex isolated from ventilator associated pneumonia, *Journal of Infectious Diseases and Therapy*, 4(5): 1-6.

- Anstey NM, Currie BJ, Hassell M, Palmer D, Dwyer B, Seifert H. (2002). Community-acquired bacteremic *Acinetobacter* pneumonia in tropical Australia is caused by diverse strains of *Acinetobacter baumannii*, with carriage in the throat in at-risk groups, *Journal of Clinical Microbiology*, 40(2): 685-686.
- Ayan M, Durmaz R, Aktas E, Durmaz B. (2003). Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital acquired *Acinetobacter baumannii* infection in a teaching hospital, *J Hosp Infect*, 54(1): 39-45.
- Aygün G. (2007). Yoğun bakım birimlerinde antibiyotik direnç problemi ve tedavide güncel durum: Non-fermentatifler (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia*), *Türk Yoğun Bakım Dergisi*, 5(özel sayı): 25-28.
- Bahar GH, Esen N. (2008). *Acinetobacter* türleri ve diğer gram negatif non-fermentatif basiller. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Nobel Tıp Kitabevi., İstanbul.
- Bakour S, Alsharapy SA, Touati A and Rolain JM. (2014). Characterization of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates carrying blaOXA-23 carbapenemase and 16S rRNA methylase armA genes in Yemen, *Microb Drug Resist*, 20(6): 604-609.
- Bal Ç. (1999). Antibiyotik kombinasyonlarının *in vitro* etkinliğinin saptanması, *Flora*, 4(4): 219-229.
- Baumann P, Doudoroffand M, Stanier RY. (1968). A study of the Moraxella group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*). *J. Bacteriol.* 95(5): 1520-1541.

- Begg EJ, Barclay ML. (1995). Aminoglycosides - 50 years on, *Br J Clin Pharmacol*, 39(6): 597-603.
- Beijerinck, M. (1911). Pigmenten als oxydatieproducten gevormd door bacterien, *Versl. Koninklijke Akad. Wetensch. Amsterdam* 19: 1092-1103.
- Bergogne-Berezin, E, Towner KJ. (1996). *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features, *Clin Microbiol Rev*, 9(2): 148-165.
- Berk SL, McCabe WR. (1981). Meningitis caused by *Acinetobacter calcoaceticus* var *anitratus*: a specific hazard in neurosurgical patients, *Clinical Implications of Basic Neuroscience Research*, 38(2): 95-98.
- Bonomo RA, Szabo D. (2006). Mechanisms of multi-drug-resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*, *Clinical Infectious Diseases*, 43(Suppl 2): 49-56.
- Brauers J, Frank U, Kresken M, Rodloff AC, Seifert H. (2005). Activities of various beta-lactams and beta-lactam/beta lactamase inhibitor combinations against *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* DNA group 3 strains, *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 11(1): 24-30.
- Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. (2010). *Jewetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology*, Editör: Yenen OŞ, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, Türkiye.
- Brown S, Amyes SG. (2005). The sequences of seven class D beta-lactamases isolated from carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from four continents, *Clin Microbiol Infect*, 11(4): 326-329.

- Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. (2012). Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(7): 1607-1615.
- Chen MZ, Hsueh PR, Lee LN ,Yu CJ, Luh KT. (2001). Severe community-acquired pneumonia due to *Acinetobacter baumannii*, *Chest*, 120(4): 1072-1077.
- Chuang YC, Sheng WH, Li SY, Lin YC, Wang JT, Chen CY, Chang SC. (2011). Influence of genospecies of *Acinetobacter baumannii* complex on clinical outcomes of patients with *Acinetobacter* bacteremia, *Clinical Infectious Diseases*, 52(3): 352-360.
- Clark NM, Zhanel GG, Lynch JP. (2016). Emergence of antimicrobial resistance among *Acinetobacter* species: a global threat, *Infectious diseases*, 22(5): 491-499.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. [CLSI document M100-S23]Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-third informational supplement. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Seventeenth information supplement (M100-S17). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2017.
- Çetinkol Y, Telli M, Altunçekiç Yıldırım A, Çalgın MK. (2016). Karbapeneme dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında kolistin/sulbaktam kombinasyonu etkinliğinin değerlendirilmesi, *Mikrobiyol Bulteni*, 50(3): 460-465.

- Çıkman A, Ceylan MR, Parlak M, Karahocagil MK, Berktaş M. (2013) İmipeneme dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında kolistin-ampisilin/sulbaktam kombinasyonu etkinliğinin değerlendirilmesi, Mikrobiyoloji Bülteni, 47(1): 147-151.
- Çiftci İH, Aşık G. (2011). *Acinetobacter baumannii*'nin antibiyotik direnç mekanizmaları, Ankem, 25(3): 196-207.
- Dafopoulou K, Zarkotou O, Dimitroulia E, Hadjichristodoulou C, Gennimata V, Pournaras S and Tsakris A. (2015). Comparative Evaluation of Colistin Susceptibility Testing Methods among Carbapenem-Nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates, Antimicrob Agents Chemother, 59(8): 4625-4630.
- Davis KA, Moran KA, McAllister CK, Gray PJ. (2005). Multi-drug-resistance *Acinetobacter* extremity infections in soldiers, Emerging Infectious Diseases, 11(8): 1218-1224.
- Deveci A, Çoban AY, Acicbe Ö, Tanyel E, Yaman G ve Durupinar B. (2012). In vitro effects of sulbactam combinations with different antibiotic groups against clinical *Acinetobacter baumannii* isolates, Journal of Chemotherapy, 24(5): 246-252.
- Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. (2007). An increasing threat in hospitals: multi-drug-resistance *Acinetobacter baumannii*, Nature Reviews: Microbiology, 5(12): 939-951.
- Dijkshoorn L, vanAken E, Shunburne L, van der Reijden TJ, Bernards AT, Nemec A, Towner KJ (2005). Prevalence of *Acinetobacter baumannii* and other *Acinetobacter* spp. in faecal samples from non-hospitalised individuals. Clin Microbiol Infect 11(4): 329-332.

- Dinc G, Demiraslan H, Elmali F, Ahmed SS, Metan G, Alp E ve Doganay M. (2013). Efficacy of sulbactam and its combination with imipenem, colistin and tigecycline in an experimental model of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* sepsis, *Experimental Chemotherapy*, 59(5): 325-329.
- Dizbay M, Altuncekcic A, Sezer BE Arman D. (2008). Colistin and tigecycline susceptibility among multi-drug-resistance *Acinetobacter baumannii* isolated from ventilator-associated pneumonia, *Int J Antimicrob Agents*, 32(1): 29-32.
- Dong X, Chen F, Zhang Y, Liu H, Liu Y and Ma L. (2014). *In vitro* activities of rifampin, colistin, sulbactam and tigecycline tested alone and in combination against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *The Journal of Antibiotics*, 67(9): 677-680.
- Ernest EJ, Yodoi K, Roling EE and Klepser ME. (2002). Rates and extents of antifungal activities of amphotericin B, flucytosine, fluconazole, and voriconazole against *Candida lusitanae* determined by microdilution, Etest and time-kill methods, *Antimicrob Agents Chemother*, 46(2): 578-581.
- Falagas ME, Kasiakou SK. (2005). Colistin: there vival of polymyxins for the management of multi-drug-resistance gram negative bacterial infections, *Clinical Infectious Diseases*, 40(9): 1333-1341.
- Falagas ME, Koletsi PK, Bliziotis IA. (2006). The diversity of definitions of multi-drug-resistance (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*, *Journal of Medical Microbiology*, 55(12): 1619-1629.
- Fan B, Guan J, Wang X and Cong Y. (2016). Activity of colistin in combination with meropenem, tigecycline, fosfomycin, fusidic acid, rifampin or sulbactam against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a murine thigh-infection model, *Plos One*, 11(6): 1-12.

- Fishbain J, Peleg AY. (2010). Treatment of *Acinetobacter* infections, *Clinical Infectious Diseases*, 51(1): 79-84.
- Forster DH, Daschner FD. (1998). *Acinetobacter* species as nosocomial pathogens, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 17(2): 73-77.
- Fournier PE, Richet H. (2006). The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities, *Clinical Infectious Diseases*, 42(5): 692-699.
- Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Fernandez-Hinojosa E. (2005). *A.baumannii* ventilator-associated pneumonia: epidemical and clinical findings, *Intensive Care Med*, 31 (5): 649-655.
- Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Jimenez-Jimenez FJ, Barrero-Almodovar AE, Garcia-Garmendia JL, Bernabeu-Wittell M, Gallego-Lara SL, Madrazo-Osuna J. (2003). Treatment of multi-drug-resistance *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem-susceptible VAP, *Clinical Infectious Diseases*, 36(36): 1111-1118.
- Gaynes R, Edwards JR. (2005). Overview of nosocomial infections caused by gram negative bacilli, *Clinical Infectious Diseases*, 41(6): 848-854.
- Gehrlein M, Leying H, Cullmann W, Wendt S and Opferkuch W. (1991). Imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* is due to altered penicillin binding proteins, *Chemotherapy* 37(6): 405-412.
- Giamarellou H, Antoniadou A, Kanellakopoulou K. (2008). *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health?, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 32(2): 106-119.

- Giamarellou H. (2010). Multi-drug-resistance gram negative bacteria: how to treat and for how long, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 36(Suppl2): 50-54.
- Gonçalves CR, Vaz TM, Araujo E, Boni R, Leite D, Irino K. (2000). Biotyping, serotyping and ribotyping as epidemiological tools in the evaluation of *Acinetobacter baumannii* dissemination in hospital units, *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 42(5): 277-282.
- Gordon NC and Wareham DW. (2010). Multi-drug-resistance *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance, *Int J Antimicrob Agents*, 35(3): 219-226.
- Gottig S, Gruber TM, Higgins PG, Wachsmuth M, Seifert H, Kempf VA. (2014). Detection of pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in Germany, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(9): 2578-2579.
- Hasani A, Sheikhalizadeh V, Rezaee AM, Rahmati-Yamchi M, Hasani A, Ghotaslou R and Reza GH. (2016). Frequency of aminoglycoside-modifying enzymes and ArmA among different sequence groups of *Acinetobacter baumannii* in Iran, *Microb Drug Resist*, 22(5): 347-353.
- Higgins PG, Dammhayn C, Hackel M, Seifert H. (2010). Global spread of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(2): 233-238.
- Huys G, Cnockaert M, Vaneechoutte M, Woodford N, Nemec A, Dijkshroon L and Swings J. (2005). Distribution of tetracycline resistance genes in genotypically related and unrelated multi-resistant *Acinetobacter baumannii* strains from different European hospitals, *Res Microbiol*, 156(3): 348-355.
- Ikonomidis A, Pournaras S, Maniatis AN, Legakis NJ, Tsakris A. (2006). Discordance of meropenem versus imipenem activity against

Acinetobacter baumannii, International Journal of Antimicrobial Agents, 28(4): 376-377.

Insa R, Cercenado E, Goyanes MJ, Morente A, Bouza E. (2007). *In vitro* activity of tigecycline against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 59(3): 583-585.

Jawad A, Seifert H, Snelling AM, Heritage J, Hawkey PM. (1998). Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates, Journal of Clinical Microbiology, 36(7): 1938-1941.

Jin JS, Kwon SO, Moon DC, Gurung M, Lee JH, Kim SI, Lee JC. (2011). *Acinetobacter baumannii* secretes cytotoxic outer membrane protein a via outer membrane vesicles, PLoSOne, 6(2): 1-9.

Johnson EN, Burns TC, Hayda RA, Hospenthal DR, Murray CK. (2007). Infectious complications of open type III tibial fractures among combat casualties, Clinical Infectious Diseases, 45(4): 409-415.

Kahraman EP ve Çiftci İH. (2017). The antibiotic resistance patterns of *Klebsiella pneumoniae* clinic isolates: a comprehensive meta-analysis, Open Journal of Bacteriology, 1(1): 21-26.

Kalin G, Alp E, Akin A, Coskun R ve Doganay M. (2014). Comparison of colistin and colistin/sulbactam for the treatment of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia, Infection, 42(1): 37-42.

Karageorgopoulos DE, Falagas ME. (2008). Current control and treatment of multi-drug-resistance *Acinetobacter baumannii* infections, Lancet Infect Dis, 8(12): 751-762.

- Kaul R, Burt J, Cork L, Dedier H, Garcia M, Kennedy C, Brunton J, Kraiden M, Conly J. (1996). Investigation of a multi year multi plecritical care unit outbreak due to relatively drug-sensitive *Acinetobacter baumannii*: risk factors and attributable mortality, *The Journal of Infectious Diseases*, 174(6): 1279-1287.
- Kempf M, Rolain JM. (2012). Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options, *International Journal of Antimicrobial Agents* 39(2): 105-114.
- Kempf M, Djouhri-Bouktab L, Brunel JM, Raoult D and Rolain JM. (2012). Synergistic activity of sulbactam combined with colistin against colistin resistant *Acinetobacter baumannii*, *Int J Antimicrob Agents*, 39(2): 180-181.
- Kengkla K, Kongpakwattana K, Saokaew S, Apisarnthanarak A and Chaiyakunapruk N. (2017). Comparative efficacy and safety of treatment options for MDR and XDR *Acinetobacter baumannii* infections: a systematic review and network meta-analysis, *J Antimicrob Chemother*, doi:10.1093/jac/dkx368.
- Koh TH, Tan TT, Khoo CT. (2012). *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex species in clinical specimens in Singapore, *Epidemiology Infection*, 140(3): 535-538.
- Kwa A, Kasiakou SK, Tam VH, Falagas ME. (2007). Polymyxin B similarities to and differences from colistin (polymyxin E), *Expert Rev Anti Infect Ther*, 5(5): 811-821.
- Laishram S, Anandan S, Devi BY, Elakkiya M, Priyanka B, Bhuvaneshwari T, Peter JC, Subramani K and Balaji V. (2016). Determination of synergy

between sulbactam, meropenem and colistin in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* isolates and correlation with the molecular mechanism of resistance, *Journal of Chemotherapy*, 28(4): 297-303.

Lee CH, Tang YF, Su LH, Chien CC, Liu JW. (2008). Antimicrobial effects of varied combinations of meropenem, sulbactam, and colistin on a multi-drug-resistance *Acinetobacter baumannii* isolate that caused meningitis and bacteremia, *Microb Drug Resist*, 14(3): 233-237.

Lee CR, Lee JH, Park M, Park KS, Bae K, Kim YB, Cha CJ, Jeong BC and Lee SH. (2017). Biology of *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(55): 1-35.

Lee JC, Koerten H, van den Broek P, Beekhuizen H, Wolterbeek R, van den Barselaar M, van der Reijden T, van der Meer J, van de Gevel J, Dijkshoorn L.(2006). Adherence of *Acinetobacter baumannii* strains to human bronchial epithelial cells, *Res Microbiol*, 157(4): 360-366.

Lesho EP, Waterman PE, Chukwuma U, McAuliffe K, Neumann C, Julius MD, Crouch H, Chandrasekera R, English JF, Clifford JR, Kester KE. (2014). The antimicrobial resistance monitoring and research (armor) program: the us department of defense response to escalating antimicrobial resistance, *Clinical Infectious Diseases*, 59(3): 390-397.

Lessel EF. (1971). International committee on nomenclature of bacteria: subcommittee on the taxonomy of *Moraxella* and allied bacteria, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 21(2): 213-214.

- Leung WS, Chu CM, Tsang KY, Lo FH, Lo KF, Ho PL. (2006). Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome, *Chest*, 129(1): 102-109.
- Lin MF, Lin YY, Yeh H W, Lan CY. (2014). Role of the baer two-component system in the regulation of *Acinetobacter baumannii* adeab genes and its correlation with tigecycline susceptibility, *BMC Microbiology*, 14: 119-131.
- Lortholary OJ, Fagon Y, Hoi AB, Slama MA, Pierre J, Giral P, Rosenzweig R, Gutmann L, Safar M, Acar J. (1995). Nosocomial acquisition of *Acinetobacter baumannii*: risk factors and prognosis, *Clinical Infectious Diseases*, 20(4): 790-796.
- Magnet S, Courvalin P and Lambert T. (2001). Resistance nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454, *Antimicrob Agents Chemotherapy*, 45(12): 3375-80.
- Maragakis LL, Perl TM. (2008). *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance and treatment options, *Clinical Infectious Diseases*, 46(8): 1254-1263.
- Marie MAM, Krishnappa LG, Alzahrani AJ, Mubarak MA and Alyousef AA. (2015). A prospective evaluation of synergistic effect of sulbactam and tazobactam combination with meropenem or colistin against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*, *Bosn J Basic Med Sci*, 15(4): 24-29.
- Marques MB, Brookings ES, Moser SA, Sonke PB, and Waites KB. (1997). Comparative *in vitro* antimicrobial susceptibilities of nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* and synergistic activities of nine antimicrobial combinations, *Antimicrob Agents Chemother*, 41(5): 881-885.

- Mendes RE, Farrell DJ, Sader HS, Jones RN. (2010). Comprehensive assessment of tigecycline activity tested against a worldwide collection of *Acinetobacter* spp. (2005-2009), *Diagn Microbiol Infect Dis*, 68(3): 307-311.
- Moreira SG , Morais L, Marques L, Senra V. (2011). *Acinetobacter* community-acquired pneumonia in a healthy child, *Rev Port Pneumol*, 18(2): 96-98.
- Munoz-Price LS, Weinstein RA. (2008). *Acinetobacter* infection, *New England Journal of Medicine*, 358(12): 1271-1281.
- Murray CK, Roop SA, Hospenthal DR, Dooley DP, Wenner K , Hammock J, Taufen N, Gourdine E. (2006). Bacteriology of WarWounds at the Time of Injury, *Military Medicine*, 171(9): 826-829.
- Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC. (2003). *Manual of Clinical Microbiology*, 8 th ed. page: 750-751, Washington.
- Mülazımoğlu L. (2012). Kolistimetat sodyum ve kolistin farmakokinetiği-farmakodinamisi, *Ankem Dergisi*, 26(ek 2): 19-21.
- Navon-Venezia S, Leavitt A, Carmeli Y.(2007). High tigecycline resistance in multi-drug-resistance *Acinetobacterbaumannii*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59(4): 772-774.
- Nicolau D. (2008). Carbapenems: a potent class of antibiotics, *Expert Opin Pharmacother*, 9(1): 23-37.
- Olut AI, Erkek E. (2005). Early prosthetic valve endocarditis due to *Acinetohacter baumannii*: A case report and brief review o f the literature. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 31: 919-921.

- Öncül O, Keskin O, Acar HV, Küçükardalı Y, Evrenkaya R, Atasoyu EM, Top C, Nalbant S, Özkan S, Emekdaş G, Çavuşlu Ş, Us MH, Pahsa A, Gökben M. (2002). Hospital-acquired infections following the 1999 Marmara earthquake, *Journal of Hospital Infection*, 51(1): 47-51.
- Pachon-Ibanez ME, Jimenez-Mejias ME, Pichardo C, Llanos AC, Pachon J. (2004). Activity of tigecycline (GAR-936) against *Acinetobacter baumannii* strains, including those resistant to imipenem, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(11): 4479-81.
- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. (2008). *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen, *Clinical Microbiology Reviews*, 21(3): 538-582.
- Perçin D, Akyol S ve Kalin G. (2014). In vitro synergism of combinations of colistin with selected antibiotics against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*, *GMS Hygiene and Infection Control*, 9(2): 1-5.
- Petersen, K, Riddle MS, Danko JR, Blazes DL, Hayden R, Tasker SA, Dunne JR. (2007). Trauma-related infections in battle field casualties from Iraq, *Annals of Surgery*, 245(5): 803-811.
- Pogue JM, Mann T, Barber KE, Kaye KS. (2013). Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, surveillance and management, *Journal Expert Review of Anti-infective Therapy*, 11(4): 383-93.
- Pongpech P, Amornopparattanakul S, Panapakdee S, Fungwithaya S, Nannha P, Dhiraputra C and Leelarasamee A. (2010). Antibacterial activity of carbapenem based combinations against multi-drug-resistance *Acinetobacter baumannii*, *J Med Assoc Thai*, 3(2): 161-171.

- Prashanth K, Badrinath S. (2005). Epidemiological investigation of nosocomial *Acinetobacter* infections using arbitrarily primed PCR & pulse field gel electrophoresis, *The Indian Journal of Medical Research*, 122(5): 408-418.
- Punpanich W, Munsrichoom A, Srisarang S, Treeratweeraphong V. (2011). In vitro activities of colistin and ampicillin/sulbactam against *Acinetobacter baumannii*, *J Med Assoc Thai*, 94(Suppl 3): 95-100.
- Reid GE, Grim SA, Aldeza CA, Janda WM, Clark NM. (2007). Rapid development of *Acinetobacter baumannii* resistance to tigecycline, *Pharmacotherapy*, 27(8): 1198-1201.
- Reinert RR, Low DE, Rossi F, Zhang X, Wattal C, Dowzicky MJ. (2007). Antimicrobial susceptibility among organisms from the Asia/Pacific Rim, Europe and Latin and North America collected as part of TEST and the in vitro activity of tigecycline, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(5): 1018-1029.
- Rice LB. (2006). Challenges in identifying new antimicrobial agents effective for treating infections with *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*, *Clinical Infectious Diseases*, 43(Suppl 2): 100-105.
- Roca I, Espinal P, Vila-Farres X and Vila J. (2012). The *Acinetobacter baumannii* oxymoron: commensal hospital dweller turned pan-drug-resistant menace, *Frontiers in Microbiology*, 3(148): 1-30.
- Rodriguez-Bano J, Cisneros JM, Fernandez-Cuenca F, Ribera A, Vila J, Pascual A, Martinez-Martinez L, Bou G, Pachon J. (2004). Clinical features and epidemiology of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection in Spanish hospitals, *Infect Control Hosp Epidemiol*, 25(10): 819-824.
- Rosenthal S, Tager IB. (1975). Prevalence of Gram-negative rods in the normal pharyngeal flora, *Ann Intern Med*, 83(3): 355-357.

- Schreckenberger PC, Daneshvar MI, Weyant RS, Hollis DG. (2007). *Acinetobacter, Achromobacter, Chryseobacterium, Moraxella*, and other non-fermentative Gram negative rods, In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC (eds): Manual of Clinical Microbiology. 9th Ed. Washington.
- Schreckenberger PC, Von Graevenitz A. (2000). *Acinetobacter, Achromobacter, Alcaligenes*. In: Baron EJ, Pfaller MA; Tenover FC, Tenover FC (eds.). Manual of Clinical Microbiology. page: 749-760 Washington.
- Scott P, Deye G, Srinivasan A, Murray CK, Moran K, Hulten E, Fishbain J, Craft D, Riddell S, Lindler L, Mancuso J, Miltrey E, Bautista CT. (2007). An outbreak of multi-drug-resistance *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* complex infection in the US military health care system associated with military operations in Iraq, *Clinical Infectious Diseases*, 44(12): 1577-1584.
- Seifert H, Strate A Gerhard P. (1995), Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*. Clinical features, epidemiology, and predictors of mortality, *Medicine (Baltimore)*, 74(6): 340-349.
- Sezer BE, Doğan M, Aldağ ME ve Tülük GE .(2017). Kolistin dirençli *Acinetobacter baumannii* tedavisinde sıra dışı bir antibiyotik kombinasyon tedavisi: trimetoprim-sülfametoksazol ve kolistin kombinasyonu, *ANKEM Dergisi*, 31(1): 32-39.
- Shi WF, Jiang JP and Mi ZH. (2005). Relationship between antimicrobial resistance and aminoglycoside modifying enzyme gene expressions in *Acinetobacter baumannii*, *Chin Med J*, 118(2): 141-145.
- Shields RK, Kwak EJ, Potoski BA, Doi Y, Adams-Haduch JM, Silveira FP, Toyoda Y, Pilewski JM, Crespo M, Pasculle AW, Clancy CJ and Nguyen

- MH. (2011). High mortality rates among solid organ transplant recipients infected with extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: using in vitro antibiotic combination testing to identify the combination of a carbapenem and colistin as an effective treatment regimen, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 70(2): 246-252.
- Souli M, Galani I, Giamarellou H. (2008). Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. *Euro Surveill*, 13(47): pii: 19045.
- Tada T, Miyoshi-Akiyama T, Shimada K, Shimojima M and Kirikae T. (2014). Dissemination of 16S rRNA methylase ArmA-producing *Acinetobacter baumannii* and emergence of OXA-72 carbapenemase coproducers in Japan, *Antimicrob Agents Chemother*, 58(5): 2916-2920.
- Taşova Y, Akgün Y, Saltoğlu N, Yılmaz G, Kara O, Dündar İH. (1999). Nozokomiyal *Acinetobacter* enfeksiyonları, *Flora* 4(3): 170-176.
- Temocin F, Erdinc FS, Tulek N, Demirelli M, Ertem G, Kinikli S ve Koksall E. (2015). Synergistic effects of sulbactam in multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Braz J Microbiol*, 46(4): 1119-1124.
- Thamlikitkul V and Tiengrim S. (2014). *In vitro* activity of colistin plus sulbactam against extensive-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* by checkerboard method, *J Med Assoc Thai*, 97(Suppl 3): 1-6.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). www.eucast.org (8 August 2011, date last accessed).
- Timurkaynak F, Can F, Kurt Azap Ö, Demirbilek M, Arslan H ve Özbalıkcı Karaman S. (2006). *In vitro* activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multi-drug-resistance strains of

Pseudomonas aeruginosa and *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units, *Int J Antimicrob Agents*, 27(3): 224-228.

van den Broek P, Arends JJ, Bernards AT, De Brauwier E, Mascini EM. (2006). Epidemiology of multiple *Acinetobacter* outbreaks in The Netherlands during the period 1999-2001, *Clin Microbiol Infect*, 12(9): 837-843.

van Heijenoort J. (1990). Mecanismes moleculaires de la bactericidie: Beta-lactamines. In: Courvalin P, Drugeon H, Flandrois J-P, Goldstein F, eds. Bactericidie. Aspects theoriques et therapeutiques, Editions Maloine, page: 13-22. Paris.

Vila J, Ruiz J, Goni P and Jimenez de Anta T. (1997). Quinolone resistance mutations in the topoisomerase IV *parC* gene of *Acinetobacter baumannii*, *J Antimicrob Chemother*, 39(6): 757-762.

Wagenvoort JH, De Brauwier EIGB, Toenbreker HMJ and van der Linden CJ. (2002). Epidemic *Acinetobacter baumannii* strain with MRSA-like behaviour carried by healthcare staff. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 21(4): 326-327.

Wilks M, Wilson A, Warwick S, Price E, Kennedy D, Ely A, Millar MR.(2006). Control of an outbreak of multi-drug-resistance *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* colonization and infection in an intensive care unit (ICU) without closing the ICU or placing patients in isolation, *Infect Control Hosp Epidemiol*, 27(7): 654-658.

Yavaş S, Yetkin MA, Kayaaslan B, Baştuğ A, Aslaner H, But A, Kanyılmaz D, Sari B, Akinci E ve Bodur H. (2016). Investigating the in vitro synergistic activities of several antibiotic combinations against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates, *Turk J Med Sci*, 46(3): 892-896.

Yıldırım MI, Tuğrul HM. (2011). Assessment of efficacies of imipenem, cefoperazone-sulbactam and cefepime in rats with experimental thigh abscess model with multi-drug-resistance and susceptible *Acinetobacter baumannii* strains, Mikrobiyol Bul, 45(3): 422-429.

Yıldız O. (2007). Çoklu dirençli Gram negatiflerde tedavi yaklaşımı: *Acinetobacter* türleri, Yoğun Bakım Dergisi, 7(1): 144-145.

Zapun A, Contreras-Martel C, Vernet T. (2008). Penicillin-binding proteins and 3-lactam resistance, Fems Microbiology Reviews, 32(2): 361-385.

6. EKLER

Evrak Tarih ve Sayısı: 31/10/2016-E.14743



T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 71522473/050.01.04/182
Konu : Girişimsel Olmayan Etik Kurul
Başvuru Dosyası Hk.

Sayın Doç. Dr. Mehmet KÖROĞLU
Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İlgi : 17.10.2016 tarihli 176 sayılı başvurunuz.

Destekleyicisi olduğunuz "Karbapenem Dirençli *Acinetobacter sp.* Suşlarında Kolistin/Sulbaktam Kombinasyonunun Sinerjik Etkinliğinin İn-vitro Olarak Araştırılması" isimli çalışmanın ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup; çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen şekilde etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına etik kurul üyelerince karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. Hasan Çetin EKERBİÇER
Etik Kurulu Başkanı

Yücel DEMİR
Etik Kurulu Sekr.

Güvenli Elektronik
İmzalı Aslı ile Aynıdır.
31...10.2016

Evrakı Doğrulamak İçin : <http://193.140.253.232/envision.Sorgula/BelgeDogrulama.aspx?V=BENF3724N>

Fakülte Girişimsel Olmayan Etik Kurulu Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Dekanlığı, Korucuk Kampüsü, Korucuk, Adapazarı/Sakarya
Tel:264 295 6630 Faks:264 295 6629
E-Posta :tip@sakarya.edu.tr Elektronik Ağ :www.tip.sakarya.edu.tr



Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: İmdat KILBAŞ

Doğum Yeri ve Tarihi: Erzurum-1991

Uyruğu: TC

Medeni Durumu: Bekar

İletişim Adresi: Yıldırım/BURSA

Yabancı Dil: İngilizce

II- Eğitimi

2015- Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Yüksek Lisans Programı

2011-2015 Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

2005-2009 Bursa Ticaret ve Sanayi Odası Lisesi

III- Ünvanları

IV-Mesleki Deneyim

2016-2017 ÖZ-KAR İnşaat Gıda Nakliyat AŞ' ye bağlı REVAN su fabrikasında
mesül müdür olarak çalıştı.

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Makaleler:

1- İmdat Kilbas, İhsan Hakkı Ciftci. A Comprehensive Meta-Analysis of Antifungal Resistance in Candida albicans in Turkey. International Journal of Clinical Medicine Research. Vol. 4, No. 4, 2017, pp. 44-50.

2- İmdat KILBAS, İhsan Hakki CİFTÇİ. Antimicrobial resistance of *Enterococcus* in Turkey: A meta-analysis of current studies. Journal of Global Antimicrobial Resistance. 12 (2018) 26–30. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2017.08.012>

Poster Bildirisi:

1- 3rd International Molecular Immunology & Immunogenetics Congress MIMIC-III 27-30 April 2016- Resistance to polyene antifungals that used prophylactic purposes in immune deficiency, chemotherapy and transplantation-Congresses Book. Antalya, Türkiye.

VII- Bilimsel Etkinlikleri

VIII- Diğer Bilgiler