



**T. C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ACINETOBACTER BAUMANNII İZOLATLARINDA
ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİK KOMBİNASYONLARININ
SİNERJİSTİK ETKİSİNİN
DAMA TAHTASI YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

Bio. Nilgün ONGUN

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ocak 2015
BOLU**



**T. C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ACINETOBACTER BAUMANNII İZOLATLARINDA
ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİK KOMBİNASYONLARININ
SİNERJİSTİK ETKİSİNİN
DAMA TAHTASI YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

Bio. Nilgün ONGUN

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Fırat Zafer MENGELOĞLU**

**Ocak 2015
BOLU**

ONAY SAYFASI

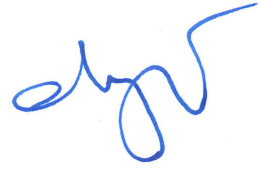
Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Esra KOÇOĞLU (Jüri Başkanı)
(Mikrobiyoloji AD, AİBÜ SABE)

(imza)



Doç. Dr. F. Zafer MENGELOĞLU (Danışman)
(Mikrobiyoloji AD, AİBÜ SABE)

(imza)



Yrd. Doç. Dr. Aysu KIYAN
(Halk Sağlığı AD, AİBÜ SABE)

(imza)



Tarih: 22/01/2015

Bu tez ile AİBÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Bio. Nilgün ONGUN'un Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Erol AYAZ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

(imza)



ÖZET

ACINETOBACTER BAUMANNII İZOLATLARINDA ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİK KOMBİNASYONLARININ SİNERJİSTİK ETKİSİNİN DAMA TAHTASI YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI

Acinetobacter cinsi bakteriler son yıllarda yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere hastane infeksiyonlarında en sık izole edilen etkenler arasındadır. Son yıllarda bu mikroorganizma pnömoni, idrar yolu infeksiyonları, sepsis ve menenjit gibi ciddi hastalık tablolarından sorumlu ve çoklu ilaç direnci gösteren bir patojen olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde *Acinetobacter baumannii* suşlarına bağlı olarak oluşan infeksiyonların tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı giderek artan direnç oranları ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. *Acinetobacter baumannii*'nin daha sık infeksiyon etkeni olması ve antimikrobiyal direnç oranlarının artması tedavide yeni seçenek ilaçların araştırılmasını gerektirmiştir.

Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarında yapıldı. 01/04/2009-20/11/2013 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 30 *Acinetobacter baumannii* suşu çalışmaya dahil edildi. Bakterilerin tanımlanması BD Phoenix 100 (Becton Dickinson, Sparks, Maryland, ABD) otomatize bakteri tanımlama sistemi kullanılarak tür düzeyinde yapıldı. *Acinetobacter baumannii* kökenlerinin antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Antibiyotik duyarlılık sınırları Clinical and Laboratory Standards Institute (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü, CLSI) 2014 kriterlerine göre değerlendirildi. Çoklu ilaç direnci gösteren 12 *A. baumannii* suşunda kolistin-vankomisin, kolistin-imipenem, kolistin-sulbaktam ve imipenem-sulbaktam kombinasyonlarının etkinliği dama tahtası yöntemiyle araştırıldı.

Araştırılan dört kombinasyon için dama tahtası yöntemi ile elde edilen fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu indeksi değerlerine göre kolistin-sulbaktam kombinasyonunun 9'unda (%75) aditif, 3'ünde (%25) etkisiz; kolistin-imipenem

kombinasyonunun 7'sinde (%58,3) aditif, 5'inde (%41,7) etkisiz; kolistin-vankomisin kombinasyonunda 7 (%58,3) izolatta aditif, 5 (%41,7) izolatta etkisiz; imipenem-sulbaktam kombinasyonunun tamamında etkisiz saptanmıştır. Sonuç olarak çalışmamızda, çoklu ilaç direnci gösteren *Acinetobacter baumannii* izolatlarının minimum inhibitör konsantrasyon değerleri genellikle yüksek bulunmuştur. Sinerjik ve antagonist etki saptanmamıştır.

Direnç oranlarının daha fazla artmaması için uygun endikasyonlarda kombinasyon halinde antibiyotik kullanılması ve *Acinetobacter baumannii* suşlarıyla yapılan in-vitro çalışmalarda etkili olarak saptanan antimikrobiyal ajan kombinasyonlarının etkinliklerinin ileri klinik çalışmalarla araştırılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, sinerjik etki, dama tahtası, kolistin, vankomisin, imipenem, sulbaktam

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE SYNERGISTIC EFFECTS OF VARIOUS ANTIBIOTIC COMBINATIONS IN ACINETOBACTER BAUMANNII ISOLATES USING THE CHECKERBOARD METHOD

Acinetobacter genus bacteria are considered as one of the most often isolated agents during the recent years especially in the intensive care units as nosocomial infections. In the last years, this microorganism is seen as a pathogen with multiple drug resistance which is seen in pneumonitis, urinary tract infections, septicaemia and meningitis. Nowadays, the resistance against antimicrobial agents used for treatment of infections caused by *Acinetobacter baumannii* strains have also become an important medical problem in our country. The fact of *Acinetobacter baumannii* becoming a more common infection agent and the increase upon the antimicrobial resistance has required researches upon new drugs.

This study was done at Microbiology Laboratory of Abant İzzet Baysal University Faculty of Medicine. A total of 30 *Acinetobacter baumannii* strains isolated from various clinical samples during 01/04/2009-20/11/2013 were included in the study. The identification of the bacteria was done in species level using BD Phoenix 100 system (Becton Dickinson, Sparks, Maryland, USA). The antibiotic susceptibilities of *A. baumannii* strains were identified using the disc diffusion method. Antibiotic susceptibility breakpoints were evaluated according to the Clinical and Laboratory Standards Institute 2014 criteria. Colistin-vancomycin, colistin-imipenem, colistin-sulbactam, imipenem-sulbactam combination efficiencies of 12 *Acinetobacter baumannii* strains which have shown multiple drug resistance were examined with checkerboard method.

Results of the four combinations with checkerboard method has shown that colistin-sulbactam combination had additive effect in nine isolates (%75), and was non-effective in three isolates (%25); colistin-vancomycin combination had additive effect in seven isolates (%58,3), and promiscuous effect in five isolates (%41,7); imipenem-sulbactam combination had promiscuous effect effectin 12 isolates (%100) according to the fractional inhibitory concentration index rates. In conclusion, our

studies showed that *Acinetobacter baumannii* isolates with multiple drug resistance had mostly high Minimum Inhibitory Concentration (MIC) rates. No synergic or antagonist effects were found.

For prevention of the increase in the resistance rates, antibiotic combinations with appropriate indications should be used, and the efficiency of the antimicrobial agent combinations determined as effective with in vitro studies on *Acinetobacter baumannii* strains should be examined with further clinical trials.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, synergistic effect, checkerboard, colistin, vancomycin, imipenem, sulbactam.

TEŞEKKÜR

Başta maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan çok değerli aileme, hiçbir konuda yardımını esirgemeyen bilgi ve deneyimlerini benimle her zaman paylaşan, tez dönemimdeki en büyük destekçim, tez danışmanım Doç. Dr. Fırat Zafer Mengeloğlu'na, yüksek lisans dönemim boyunca bilimsel bir eğitim ve araştırma ortamı sağlayan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Esra Koçoğlu'na, her zaman desteğini gördüğüm Anabilim Dalımız öğretim üyesi Doç. Dr. Tekin Taş'a, eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Erol Ayaz'a, yüksek lisans eğitimim sırasında her zaman uyum içinde çalışmalarıyla huzurlu bir iş ortamını paylaştığım biyolog, asistan, laborant ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bio. Nilgün ONGUN

BOLU-2014

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar	viii
ŞEKİLLER	ix
KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Acinetobacter</i> Türleri	3
2.2. Taksonomi ve Tarihçe	3
2.3. Genel Mikrobiyolojik ve Metabolik Özellikleri	4
2.4. Patogenez ve Virülans	5
2.5. Epidemiyoloji	6
2.6. Hastane Kaynaklı <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonları	6
2.7. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarının Tedavisi	7
2.8. <i>Acinetobacter</i> Cinsi Bakterilerde Direnç Mekanizmaları	8
2.8.1. Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları	9
2.8.2. Aminoglikozidlere karşı direnç mekanizmaları	9
2.8.3. Kinolonlara karşı direnç mekanizmaları	10
2.8.4. Polimiksinlere karşı direnç mekanizmaları	10
2.8.5. Tigesiklin direnci	10
2.9. Antibiyotik Duyarlılık Yöntemleri	11
2.9.1. Difüzyon testleri	11
2.9.1.1. Disk difüzyon testi	11
2.9.1.2. Epsilometer test (E-test)	12

2.9.2. Dilüsyon testleri	12
2.9.2.1. Sıvı dilüsyon	12
2.9.2.2. Agar dilüsyon	13
2.10. Sinerji Testleri ve Özellikleri	13
2.10.1. Dama tahtası (iki boyutlu sulandırım, checkerboard) yöntemi	14
2.10.1.1. Mikrodilüsyon yöntemi	14
2.10.1.1.1. Yöntemin uygulanması	14
2.10.2. Zamana bağlı öldürme tekniği (time-kill) yöntemi	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. İzolatlar	17
3.1.1. İzolatların tanımlanması	17
3.1.2. İzolatların antibiyotik direncinin saptanması	17
3.1.2.1. Kirby-Bauer disk difüzyon testi	17
3.1.2.2. Minimum inhibitör konsantrasyon değerlerinin belirlenmesi	19
3.2. Antibiyotik Stok Solüsyon Hazırlanması	20
3.3. İnokulum Hazırlanması	20
3.4. Sinerji Testleri	21
3.4.1. Dama tahtası yöntemiyle kombinasyonlarının değerlendirilmesi	21
3.5. Antibiyotik Dilüsyonu	21
3.6. Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu İndeksi-Kombinasyon Etkinlik Değerlendirilmesi	26
4. BULGULAR	28
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	40
7. KAYNAKLAR	41
8. ÖZGEÇMİŞ	47
9. EKLER	48

TABLÖLAR

Tablo		Sayfa
2.1.	Sık saptanan <i>Acinetobacter</i> türlerinin ayırımında kullanılan temel parametreler	5
2.2.	Mikrodilüsyon dama tahtası panel örneği	15
3.1.	<i>Acinetobacter baumannii</i> suşlarının klinik laboratuvar standartları enstitüsü tarafından önerilen disk difüzyon duyarlılık zon çapları ve minimum inhibitör konsantrasyon değerleri	19
3.2.	Dama tahtası yönteminde kullanılan antibiyotiklerin çözücü ve sulandırıcıları	20
4.1.	İzolatların elde edildiği kliniklere göre dağılımı	28
4.2.	İzolatların elde edildiği klinik örneklerle göre dağılımı	28
4.3.	<i>Acinetobacter baumannii</i> izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık sonuçları	29
4.4.	Suşların broth dilüsyon minimum inhibitör konsantrasyon değerleri ve duyarlılık değerlendirilmesi	30
4.5.	Dama tahtası yöntemiyle suşların ilaç kombinasyon etkinlikleri	31
4.6.	Dama tahtası yöntemiyle <i>Acinetobacter baumannii</i> suşlarının kombinasyon etkinlikleri	32
5.1.	<i>Acinetobacter baumannii</i> 'nin çeşitli kombinasyonlarının denendiği bazı çalışmalara ait veriler	38

ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
3.1.	Tüm kuyucuklara kolistin konsantrasyonlarına ek olarak 4, 2, 1, 0,5 µg/ml vankomisin eklenerek kolistin-vankomisi kombinasyonunun araştırıldığı mikropalak örneği	22
3.2.	Tüm kuyucuklara kolistin konsantrasyonlarına ek olarak 4, 2, 1, 0,5 µg/ml sulbaktam eklenerek kolistin-sulbaktam kombinasyonunun araştırıldığı mikropalak örneği	23
3.3.	Tüm kuyucuklara kolistin konsantrasyonlarına ek olarak 4, 2, 1, 0,5 µg/ml imipenem eklenerek kolistin-imipenem kombinasyonunun araştırıldığı mikropalak örneği	24
3.4.	Tüm kuyucuklara imipenem konsantrasyonlarına ek olarak 4, 2, 1, 0,5 µg/ml sulbaktam eklenerek imipenem-sulbaktam kombinasyonunun araştırıldığı mikropalak örneği	25
3.5.	Dama tahtası yöntemiyle çalışılmış sulbaktam-kolistin kombinasyon örneği	26

KISALTMALAR

ATCC	: American Type Culture Collection
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BK	: Besiyeri Kontrol
°C	: Santigrat derece
C	: Sitozin
CAMHB	: Katyon Ayarlı Mueller Hinton Broth
CASO	: Casein-peptone Soymeal-peptone Agar
CAZ	: Seftadizm
CFU	: Colony Forming Unit
CIP	: Siprofloksasin
ÇİD	: Çoklu İlaç Direnci
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
COL	: Kolistin
CRO	: Seftriakson
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DNaz	: Deoksiribonükleaz
E-Test	: Epsilometer test
EMB	: Eosin Metilen Blue
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA	: Food and Drug Administration
FİK	: Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon
G	: Guanin
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz
I	: Orta Duyarlı
IMP	: İmipenem
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
MEM	: Meropenem
MHA	: Mueller Hinton Agar

MİK	: Minimum İnhibitor Konsantrasyon
MİK₅₀	: İzolatların Yarisına Etki Eden Minimum İnhibitor Konsantrasyonu
MİK₉₀	: İzolatların Yüzde Doksanına Etki Eden Minimum İnhibitor Konsantrasyonu
MYSTIC	: Meropenem Yearly Susceptibility Test InformationCollection
NET	: Netilmisin
PBP	: Penisilin Bağlayan Protein
pH	: Power of Hydrogen
R	: Dirençli
S	: Duyarlı
SCF	: Sefoperazon-Sulbaktam
SUL	: Sulbaktam
TE	: Tetrasiklin
TOB	: Tobramisin
TSI	: Triple Sugar Iron Agar
TMP/SMX	: Trimetoprim/Sulfametoksazol
TZP	: Piperasilin-Tazobaktam
ÜK	: Üreme Kontrol
VA	: Vankomisin
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Doğada, toprak ve sulara yaygın olarak bulunan ve fırsatçı patojen olan *Acinetobacter* türleri hastane ortamına yerleşerek hastanede yatan hastalarda ve immün sistemi baskılanmış kişilerde ciddi hastane infeksiyonlarına neden olabilmektedir. *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) ise, özellikle hastane kaynaklı infeksiyonlarda, klinik örneklerden en fazla izole edilen türdür (1).

Bu etkenlerin hastane infeksiyonlarında sık saptanmalarının nedeni, çevre koşullarına dayanıklı olmaları ve antibiyotiklere karşı kolay direnç kazanabilmeleridir. *Acinetobacter* infeksiyonları sıklıkla yoğun bakım ünitelerinde gözlenmektedir. Kullanılan mekanik aletlerin yüzeyine kolonize olmaları, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılması, hastalar ve hastane personelinde kolonize olmaları, cansız ve kuru yüzeylerde uzun süre canlı kalabilmeleri *Acinetobacter* infeksiyonlarının yoğun bakım ünitelerinde sık görülme nedenlerini açıklamaktadır (2). *Acinetobacter* türleri, yatan hastalarda kolonizasyon, bakteriyemi, pnömoni, endokardit, menenjit, deri, yara ve üriner sistem infeksiyonlarına neden olmaktadır (3).

Mikroorganizmalarda direnç oranının artması sebebiyle, farklı tedavi protokolleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Kombinasyon tedavileri, yeni antibiyotiklerin üretilmesi bu çalışmalara örnek olarak verilebilir. Antimikrobiyal ilaç kombinasyonları geniş spektrum elde etmek, dirençli suşların gelişmesini önlemek, toksisiteyi minimuma indirmek ve iki ilaç arasında sinerjik etki elde etmek amacıyla kullanılır (4, 5).

Antibiyotik kombinasyonlarının etkileşimlerinin anlaşılabilmesi için yapılan tüm *in-vitro* duyarlılık işlemlerine sinerji testleri denilmektedir. Bu amaçla iki boyutlu sulandırım (dama tahtası, checkerboard yöntemi), zamana bağlı öldürme kinetiği (time-kill) ve Epsilometer test (E-test) yöntemleri uygulanabilmektedir (4, 5).

Bu çalışmada, hastanemizin çeşitli servislerinde yatmakta olan hastalarda klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli örneklerden izole edilen, çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına karşı; kolistin-vankomisin (COL-VA), kolistin-imipenem (COL-IMP), kolistin-sulbaktam (COL-SUL), imipenem-

sulbaktam (IMP-SUL) kombinasyonlarının *in-vitro* etkinlikleri dama tahtası yöntemiyle araştırılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. *Acinetobacter* Türleri

Acinetobacter'ler gram negatif, kokobasil yaklaşık 1,0-1,5 x 1,5-2,5 µm boyutlarında (6), üremenin logaritmik fazında 1-1,5 x 1,5-1,5 µm boyutlarında basil (7), üreme dışında daha çok kok görünümünde, diplokok ya da kısa zincir yapan bakterilerdir. Sporsuz, kirpiksiz olup bazen kapsül ve fimbriya oluşturabilirler. Basit besiyerlerinde üreyebilirler. Karbonhidratlara etkileri değişkendir. Oksidaz negatif, katalaz pozitifdir. Areob olup ortalama 30-32 °C ve pH 7'de ürerler. Penisiline dirençlidirler. Deoksiribonükleik asitteki (DNA) toplam guanin (G) ve sitozin (S) oranı %38-47 moldür. Gerek bu özelliği ile gerekse görünüm bakımından *Moraxella*'lara çok benzemekte olup başta oksidaz tepkimesinin negatif olması ve bazı biyokimyasal özellikleri ile hücre çeperindeki yapı ayrımı bu iki çeşit bakteriyi ayrı cinsler içerisinde toplamayı gerektirir (6).

Saprofit olarak her yerde bulunabilir, doğada ve hastane ortamında bulunur ve mekanik solunum cihazları gibi nemli yüzeylerde, deri gibi kuru yüzeylerde yaşayabilir. Normal sağlıklı popülasyonda orofarengal florada az sayıda bulunabilirken, hospitalizasyon sonrasında sayıları artabilir (8).

Acinetobacter çoğunlukla komensaldır, fakat bazen nozokomiyal enfeksiyonlara neden olmaktadır. *A. baumannii* çoğunlukla aletle ilişkili enfeksiyonlarda kan, balgam, deri, plevral sıvı ve idrardan izole edilmektedir (9).

2.2. Taksonomi ve Tarihçe

Acinetobacter'ler 1800'lü yılların sonunda, morfolojik özelliklerine ilk kez dikkat çeken iki bilim adamının adlarına ithafen 'Morax-Axenfeld basilleri' olarak adlandırılmışlardır. *Diplococcus mucosus*, *Micrococcus calcoaceticus*, *Alcaligenes haemolysans*, *Mimapolymorpha*, *Herellea vaginicola*, *Bacterium anitratum*, *Moraxella lwoffii*, *Neisseria winogradskyi*, *Achromobacter anitratus*, *Moraxella lwoffii*, *Achromobacter mucosus* *Acinetobacter*'lere verilen diğer isimlerdir (10). Brisou ve Prévot 1954'de benzer morfolojik özellikler gösteren bu mikroorganizmalar arasında bazılarının hareketsiz olduklarını göstermişler ve Yunanca hareketsiz anlamına gelen "Akinetos" sözcüğünden esinlenerek bu

bakterilere “*Acinetobacter*” adını vermişlerdir. Baumann 1968 yılında *Acinetobacter*’lerin biyokimyasal ve morfolojik özelliklerini ayrıntılı olarak ortaya koymuş, ardından 1971’de bu bakteriler *Moraxellaceae* ailesi içinde *Acinetobacter* cinsi olarak sınıflandırmadaki yerlerini almışlardır (11). Tanımlanan yeni türlerle birlikte genotip sayısı 27’dir (12). Tüm bu türler arasında en sık ve en önemli klinik tablolara yol açan etken *A. baumannii*’dir (13).

Acinetobacter cinsinin taksonomisi (7):

- Alem: Bacteria
- Şube: Proteobacteria
- Sınıf: Gamma Proteobacteria
- Takım: Pseudomonadales
- Familya: Moraxellaceae
- Cins: *Acinetobacter*

2.3. Genel Mikrobiyolojik ve Metabolik Özellikleri

Acinetobacter cinsindeki bakteriler üremenin logaritmik fazında kısa, iri, bazen renksizleştirme problemi yaşanan, gram negatif, basil, üremenin duraklama fazında kok veya kokobasil şeklinde görülmektedir. Genellikle düzgün, bazen mukoid, renksiz koloniler oluşturur. Zorunlu aerob, deoksiribonükleaz (DNaz) ve oksidaz negatif, katalaz pozitif, nonfermentatif bakterilerdir. Fimbriaları vardır ve hareketsizdirler. Diğer nonfermantatif bakterilerden ayırmada kullanılacak ilk test oksidaz testidir. *Acinetobacter* türleri arasında en sık ve en önemli klinik tablolara yol açan etken *A. baumannii*’dir (14).

Gram negatif diplokok, kokobasil şeklinde görülebilirler. Üremenin logaritmik fazında basil, üreme dışında ise kok şeklinde, daha çok ikişerli, kokobasil, küme halinde veya kısa basil olarak görüldüğünden Gram boyalı preparatların incelenmesinde *Haemophylus* ve *Neisseria* türleri ile karıştırılabilir (7).

MacConkey agar besiyerinde enterobakterilerden daha küçük, opak, pigmentsiz, S tipi (smooth, düzgün) koloniler oluştururlar. Klinik örneklerden üretilibilmeleri için seçici ve ayırt edici besiyerleri geliştirilmiş olup bu amaçla en sık Herellea agar ve Leeds *Acinetobacter* Agar kullanılmaktadır. Kontamine

örneklerden izole etmek amaçlı içine asetat ve amonyum tuzu eklenen sıvı mineral besiyeri kullanılabilir (13).

Rutin laboratuvar koşullarında üreme özellikleri ve biyokimyasal reaksiyonlarına göre *Acinetobacter* tür ayrımı yapılabilir. Tablo 2.1.'de gösterilmiştir. Glikozu oksitleyen ve hemoliz yapmayan izolatlar genellikle *A.baumannii*'dir. *A. baumannii* 44 °C'de üreyebilme yeteneğiyle de diğer türlerden kolayca ayırt edilebilir. Hemoliz yapmayan, glikozu oksitleyemeyen *A. lwoffii*, hemoliz yapan *A. haemolyticus* olarak adlandırılır. *A. johnsonii* diğer türlerden 37 °C'de üreyemiyor olması ile ayırt edilebilir (13).

Tablo 2.1. Sık saptanan *Acinetobacter* türlerinin ayırımında kullanılan temel parametreler.

	Glukoz	Laktoz	44 °C'de üreme	Hemoliz
<i>A. baumannii</i>	+	–	+	–
<i>A. calcoaceticus</i>	+	+	–	–
<i>A. lwoffii</i>	–	–	–	–
<i>A. haemolyticus</i>	Değişken	–	–	+

2.4.Patogenez ve Virülans

Acinetobacter cinsi bakterilerin virülans potansiyelleri düşük olduğundan konak savunma mekanizması normal olanlarda infeksiyon oluşturma riski düşüktür ve genellikle fırsatçı hastane infeksiyonlarına neden olurlar (15).

Malignite, yanık, konağın savunma sistemini baskılayan durumlar ve konağın yaşı infeksiyon gelişimini kolaylaştıran bazı faktörlerdir. Ağır cerrahi girişim, uzun süre yoğun bakım ünitesinde kalma, uzun süre mekanik ventilatöre bağlı kalma, uzun süreli antibiyotik kullanımı, damar içi kateterizasyon, enteral beslenme, idrar sondası, endotrakeal tüp ve trakeostomi varlığı da başlıca risk faktörleridir (15). *Acinetobacter* düşük virülanslı bir bakteri olarak tanımlanır fakat bazı özellikleri virülansını arttırmaktadır. Bunlar:

1. Polisakkarit kapsül varlığı,
2. Doku lipit hasarı yapabilen enzim üretimi,

3. Hücre duvarının lipopolisakkarit içeriği ve lipit A varlığının toksik rolü,
4. Fimbria ve/veya polisakkarit kapsül varlığında insan epitel hücrelerin adezyon özelliği,
5. Aerobaktin gibi sideroforlar ve demir tutucu dış membran reseptör proteinlerinin varlığıdır (7, 16).

2.5. Epidemiyoloji

Acinetobacter türleri cansız yüzeylerde günlerce canlı kalabilmektedirler. Toprak, gıda, su, eşya, hava gibi çevreden izole edilen *Acinetobacter* kökenlerinin sağlıklı insanların ağız florasında, üst solunum yollarında, genitoüriner sistem ve alt gastrointestinal sistemlerinde bulunduğu gösterilmiştir (15). Pastörize sütlerden, donmuş yiyeceklerden, hastane havasından, camdan, musluklardan, peritoneal diyaliz maddelerinden, anjiyografi kateterinden, ventilatörlerden, laringoskoplardan, kontamine eldivenlerden, pamuktan, formikadan, kullanılmış enjektörlerden, hasta yastıklarından, kuru filtrelerden izole edilmiş ve böyle farklı ortamlarda dahi günlerce canlı kalabildiği gösterilmiştir (7, 17, 18).

Yoğun bakım ünitelerinde özellikle ventilasyon uygulanan hastalarda, solunum sisteminde taşıyıcılığın yüksek oranda arttığı ve salgınlara yol açtığı gösterilmiştir (19).

Hastanede yatan hastalarda deri kolonizasyonunun %40'ın üzerinde olduğu rapor edilmiştir (20). Sağlıklı insanların normal deri florasında kısa süreli, düşük yoğunlukta bulunabildikleri belirlenmiş, bunun dışında ağız florasında, üst solunum yollarında, alt gastrointestinal ve genitoüriner sistemlerde bulundukları gösterilmiştir (17, 21).

Sağlık personeli, bakteriyi taşıyan hastalar ve cansız materyaller hastalar için uygun bir ortam sağlamaktadır (22).

2.6. Hastane Kaynaklı *Acinetobacter* Enfeksiyonları

Acinetobacter enfeksiyonlarının gelişmesinde konağa ait hazırlayıcı etmenlerin varlığı önemli rol oynamaktadır. *Acinetobacter* türleri toplum kaynaklı enfeksiyonlarda nadir olarak görülmekle birlikte esas olarak hastane kaynaklı enfeksiyonlarda etkindir (23).

Acinetobacter türleri arasında en ciddi ve en sık klinik tablolara neden olan etken *A. baumannii*'dir. *A. baumannii*'nin neden olduğu infeksiyonlar daha çok yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören hastalarda görülmektedir. Uzun süreli bakım merkezlerinde, özellikle de ventilatöre bağlı hastaların bakımının yapıldığı merkezlerde bulunan hastalarda yüksek risk altındadır (20).

Acinetobacter'lerin en önemli kolonizasyon ve sık lokalizasyon yeri solunum yollarıdır. Kolonizasyonunun burun delikleri, trakeostomi yeri ve nazofarenks olduğu bildirilmiştir (20). Ülkemizde yapılan bir çalışmada *A. baumannii* hastane kökenli pnömoni etkenleri arasında (%24) ilk sırada yer almıştır. Bu olguların önemli bir kısmı ventilatörle ilişkili pnömonidir (24).

Acinetobacter türlerinin neden olduğu pnömoniler genellikle multiloberdir. Plevral effüzyon, kavitasyon ve bronkopulmoner fistül gelişebilir. Üç gün içinde uygun antibiyotik tedavisi başlanan hastalarda mortalite azalmakta; septik şok ve sekonder bakteriyemi gelişenlerde mortalite artmaktadır. Prognoz risk faktörleri ve altta yatan hastalıklarla yakından ilişkilidir. Mortalite %20-60 arasında değişmektedir (24).

Acinetobacter'e bağlı üriner sistem infeksiyonları genellikle immün sistemi baskılanmış, kalıcı üriner katateri olan, yaşlı ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda görülmektedir. Üriner kateter taşıyan hastalarda *Acinetobacter* izolasyonunda kolonizasyon olasılığının unutulmaması gerekir (25).

Acinetobacter'lerin özellikle yumuşak doku ve kemik infeksiyonu yapma özellikleri bilinmektedir. Nemli ortamları besi yeri olarak kullanan ve bu ortamlarda hızla üreyebilen bir etken olduğundan postoperatif dönemde yara yerinde *Acinetobacter* üreyebilir (26).

Enfekte grubu oluşturan hastaların %24'ünde yara yerinde üreme olduğu görülmüştür. Çoklu ilaca direnci gösteren *Acinetobacter baumannii* sepsis, üriner sistem ve yara yeri infeksiyonları, ventilatörle ilişkili pnömoni, menenjit ve endokardit gibi farklı infeksiyonlara neden olmaktadır (26).

2.7. *Acinetobacter* İnfeksiyonlarının Tedavisi

Günümüzde *A. baumannii* suşlarına bağlı oluşan infeksiyonların tedavisinde tercih edilen antimikrobiyal ajanlara karşı giderek artan direnç tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık problemi haline gelmiştir (27, 28). Ciddi hastane

infeksiyonu salgınlarına neden olmaları ve tedavi sırasında çoğu antibiyotiğe karşı kısa zamanda direnç geliştirmeleri nedeniyle bu etkenlerle oluşan infeksiyonların tedavisinde farklı antibiyotik kombinasyonlarının kullanımını gündeme getirmiştir (29, 30). *Acinetobacter* türlerine etkili ilaçlar (7, 31), aminoglikozidler, beta laktam-bata laktamaz inhibitörleri, karbapenemler, kinolon, kloramfenikol, kolistin, 3. ve 4. kuşak sefalosporinler, tetrasiklin, trimetoprim-sülfametoksazoldür.

Bakterinin tedavisi esnasında hızla direnç geliştirebilme olasılığı ve tedavide yeterince başarı sağlanamaması nedeniyle tedavinin tek bir antibiyotik kullanılarak yapılması önerilmemektedir (7, 31). En sık kullanılan kombinasyon düşük direnç oranları ve *in-vitro* sinerji göstermesinden dolayı imipenem-amikasin'dir. Kolistin-rifampisin, kolistin-sulbaktam, sefoperazon-sulbaktam, seftazidim-aminoglikozid/florokinolon kombinasyonları da *Acinetobacter*'ler üzerinde etkinlik gösteren diğer kombinasyonlardır. İmipenem-siprofloksasin kombinasyonunun da *in-vitro* etkinliği gösterilmiştir (32).

2.8. *Acinetobacter* Cinsi Bakterilerde Direnç Mekanizmaları

Acinetobacter cinsi bakterilerde antibiyotiklere olan direnç giderek artmakta, tedavide zor durumlarla karşılaşmaktadır (33). Ampisilin, penisilin ve sefalotine hemen hemen tüm grup üyelerinde direnç gözlenmekte olup, suşların çoğu vankomisin ve kloramfenikole de dirençlidir (34). Aminoglikozidler, florokinolonlar, üreidopenisilinler, üçüncü kuşak sefalosporinler gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı *Acinetobacter* türlerini antibiyotiklere dirençli duruma getirmiştir (35). Çoklu ilaç direnci gösteren *Acinetobacter*'lere karşı etkili olduğu gösterilen antibakteriyel ajan kolistindir (36). Kolistin hücre membranı üzerinde konsantrasyona bağımlı ve bakterisit bir etki göstermektedir. En önemli yan etkisi nefrotoksitesidir. Katyonik bir peptid olan kolistin, gram-negatif bakterilerin dış membranında bulunan ve anyonik yapıda olan lipopolisakkaridlere bağlanır. Lipopolisakkarid moleküllerini birarada stabil halde tutan kalsiyum ve magnezyum divalen katyonların yerini değiştirerek dış membranda bozulma ve permeabilite artışı sonucu bakterinin ölümüne neden olur (37).

2.8.1. Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları

Beta-laktam grubu ilaçlar, kimyasal yapılarında ortak bir beta-laktam halkası taşıyan, hücre duvar sentezini inhibe ederek antibakteriyel etki gösteren geniş bir antibiyotik grubu oluşturmaktadır. Bu grupta penisilinler, karbapenemler, sefalosporinler, aztreonam yer almaktadır (38). Beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç dört farklı mekanizma ile gelişmektedir; bunlar beta-laktamaz enzimleriyle antibiyotiğin parçalanması, beta-laktam antibiyotiğin hücre içine girişinin engellenmesi, efluks pompasının aktive olması, penisilin bağlayan proteinlerde (PBP) oluşan değişikliklerdir. Genellikle bu mekanizmaların bir veya birkaçının olması sonucunda direnç gelişimi gözlenmektedir (39).

Acinetobacter kökenlerinde beta-laktam direnci oluşmasının en büyük nedeni beta-laktamaz enzimlerin varlığıdır. Bu bakterilerde 1980'lerin sonunda %80'e varan oranlarda beta-laktamaza bağlı antibiyotik direnci bildirilmiştir. Kromozomal beta-laktamazlar sefalosporinaz aktivitesi gösteren enzimlerdir. Yapılan çalışmalarda *A. baumannii* izolatlarının %97'sinde sefalosporinaz aktivitesi gösterilmiştir. *Acinetobacter* türleri genellikle penisilinleri etkileyen TEM-1, TEM-2, CARB-5 ve ACE 1-4 gibi beta laktamazlara sahiptirler (32). *Acinetobacter* kökenlerinde geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) olan PER-1 enzimi ilk kez ülkemizden bildirilmiştir (33). PBP'lere afinite azalması beta-laktam antibiyotiklere direnç gelişiminde önemli bir diğer mekanizmadır (40).

Efluks pompaları beta-laktam antibiyotikleri uzaklaştırmanın yanı sıra tetrasiklinleri, kinolonları ve kloramfenikölü etkin bir şekilde dışarı atar (41, 42).

Karbapenem direnci dış membran proteinlerinde ya da penisilin bağlayan proteinlerdeki değişiklik ile geçirgenliğin azalması, oksasilinazlar ve metallo-beta-laktamaz içeren karbapenemi hidrolize eden beta-laktamazlardan dolayı oluşabilmektedir (43, 44, 45).

A. baumannii kökenlerinde en sık bildirilen metallo beta-laktamazlar IMP-1, IMP-2, IMP-4, IMP-5, IMP-9, oksasilinazlar ise OXA-24 ile OXA-58'dir (46).

2.8.2. Aminoglikozidlere direnç mekanizmaları

Aminoglikozidlere direnç gelişiminden önemli bir etken olan enzimatik modifikasyon sorumludur (32).

En önemli direnç mekanizması plazmid kaynaklı enzimlerin (adeniltransferaz, astiltransferaz, fosfotransferaz) oluşmasıyla aminoglikozidlerin fosforilasyon, asetilasyon veya adenilasyon gibi işlemlerle inaktif olmalarıdır (47).

2.8.3. Kinolonlara karşı direnç mekanizmaları

Kinolonlar, konsantrasyona bağımlı bakterisidal etkiye sahip antibiyotiklerdir. Bakterilerde DNA replikasyonu için gerekli olan iki topoizomera (DNA giraz ve topoizomera IV) ile etkileşime girerek DNA sentezini durdurmaktadırlar (48).

Kinolonlara karşı direnç gelişiminde en önemli mekanizma *gyrA* ve *parC* genlerindeki mutasyonlardır (32).

2.8.4. Polimiksinlere karşı direnç mekanizmaları

Polimiksinler, gram negatif bakterilerin dış duvarında bulunan lipopolisakkaritlere ve fosfolipidlere bağlanarak etki gösteren bakterisidal antibiyotiklerdir. Katyonik bir peptid olan kolistin, gram negatif bakterilerin dış membranında bulunan ve anyonik yapıda olan lipopolisakkaritlere bağlanır. Lipopolisakkarit moleküllerini bir arada stabil halde tutan katyonların yerini değiştirerek, dış membranda bozulma ve permeabilite artışı sonucu bakterinin ölümüne neden olur (49).

A. baumannii'nin lipopolisakkaritindeki modifikasyon kolistin direncinde var olduğu düşünülen tahmini mekanizmadır (50). Diğer gram-negatif bakterilerde de mutasyon veya adaptasyon yolu ile kolistine karşı direnç gelişebilmektedir (51).

2.8.5. Tigesiklin direnci

Tigesiklin tetrasiklinlerin ribozomlarındaki bağlanma noktalarına bağlanır. Tigesiklin bu bağlanma noktasına tetrasiklinlerden beş kat daha kuvvetli bağlanır. Bu kuvvetli bağlanma tetrasiklinlere karşı gelişen ribozomal korunmadan tigesiklinlerin etkilenmemesine neden olmaktadır. Glisilsiklinlerin efluks pompası ile hücre dışına atımı yapılamadığından tigesiklin bu direnç mekanizmasından etkilenmemektedir. Tüm antimikrobiyallerde olduğu gibi tigesiklinin tedavisinde sürekli artan oranlarda yaygın olarak kullanılmaya başlamasıyla bu antibiyotiğe dirençli bakteri gelişimine neden olabilir (52, 53, 54).

2.9. Antibiyotik Duyarlılık Yöntemleri

Antimikrobiyal duyarlılık testleri, antimikrobiyal ajanın belli bir bakteri türü üzerinde *in-vitro* etkinliğini belirlemek amacıyla uygulanan testlerdir. Klinikte antimikrobiyal tedavinin, duyarlılık testlerinin sonuçlarına göre belirlenmesi esastır. Antibiyotik duyarlılık testlerinde difüzyon ve dilüsyon olmak üzere başlıca iki yöntem kullanılmaktadır (55).

2.9.1. Difüzyon testleri

Laboratuvarlarda antibiyotik duyarlılıklarının saptanmasında en sık kullanılan yöntemdir. Standardize, uygulaması basit ve ucuz olan bu yöntem Kirby-Bauer tarafından geliştirilmiştir. Bu test kağıt disklerle emdirilen antibiyotiğin duyarlılığı araştırılan bakterinin inoküle edildiği besiyerine difüze olması esasına dayanmaktadır (55).

2.9.1.1. Disk difüzyon testi

Belirli miktarda antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler test edilecek olan mikroorganizmanın inoküle edildiği katı besiyerine yerleştirilir. Disklerdeki antibiyotikler bir süre sonra çözünüp agara doğru difüze olurken, inoküle edilen mikroorganizmalarında sayısı artmaya başlar. Belirli bir süreden sonra ilacın inhibitör konsantrasyonlarının sağlandığı noktada diskin çevresinde üreme oluşmaz. Mikroorganizma ilaca ne kadar duyarlı ise diskin etrafında oluşan inhibisyon zonu da o kadar genişler. İnhibisyon zonunun çapı ölçülerek uluslararası standart verilerine göre değerlendirme yapılır sonrasında mikroorganizmanın kullanılan antimikrobiyal ajana karşı duyarlılığı belirlenir (55).

Bu yöntemle incelenecek olan mikroorganizma süspansiyonu 0,5 McFarland yoğunluğuna ayarlanır. Bu süspansiyondan steril bir eküvyon çubuk yardımıyla alınan örnek Mueller Hinton besiyeri yüzeyine inoküle edilir. Sonrasında farklı antibiyotik diskleri steril bir pens yardımıyla agar yüzeyine dikkatlice konulur. Oluşacak zonların birbiri üzerine gelmemesi için diskler arası en az 22 mm, petri kenarından ise 14 mm uzaklık olmasına özellikle dikkat edilmelidir. Besiyerleri 18-24 saat 35 °C’de inkübe edilir ve oluşan inhibisyon zonları ölçülür ve sonuç değerlendirilir (55).

2.9.1.2. Epsilometer test (E-test)

Katı besiyerinde difüzyon yoluyla minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerlerinin belirlenmesine olanak sağlayan yöntemlerden biridir. MİK değeri mikroorganizmanın üremesini önleyen en düşük ilaç konsantrasyonu olarak tanımlanabilir (55).

E-test yönteminde test edilecek bakteri süspansiyonu 0.5 McFarland yoğunluğuna getirilerek Mueller Hinton besiyeri yüzeyine steril bir eküvyonla yayılır. Sonrasında besiyeri yüzeyine belli bir antibiyotiği gradient şeklinde içeren E-test şeritleri yerleştirilir. Plaklar 18-24 saat 35 °C’de inkübe edilip, şerit etrafında oluşan inhibisyon elipsinin şerit üzerindeki ölçekle birleştiği yer MİK değeri olarak belirlenir (55).

2.9.2. Dilüsyon testleri

Dilüsyon testleri sıvı dilüsyon ve agar dilüsyon olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır. Antimikrobiyal ajanın bir mikroorganizma üzerindeki bakterisidal veya bakterisid etkinliğini belirlemek amacıyla uygulanır (55).

2.9.2.1. Sıvı dilüsyon

Sıvı dilüsyon mikro ve makro olmak üzere iki şekilde uygulanabilir. Her iki yöntemin ilkesi aynıdır. Mikrodilüsyonda U tabanlı mikropalaklar, makrodilüsyonda ise test tüpleri kullanılır. Dilüsyon testlerinde besiyeri olarak kalsiyum ve magnezyum (katyon) eklenmiş Mueller Hinton buyyon kullanılır (55).

Test edilecek olan antibiyotikler sulandırıcıları ve çözücülerini içinde çözdürülerek stok solüsyonlarının hazırlanması sonrasında sıvı besiyerinde iki kat azalan sulandırıcıları yapılır. Mikroorganizmaların standart bir inokulumu hazırlanıp antimikrobiyal ajanın farklı dilüsyonlarını içeren her bir kuyucuğa aynı miktarlarda eklenir. Aynı solüsyon antibiyotik içermeyen kontrol tüpüne de eklenir. Bakteri inoküle edilmemiş, yalnızca besiyeri konulmuş bir kuyucuk da besiyeri kontrolü olarak hazırlanır. Besiyerleri 35 °C’de bir gece inkübasyondan sonra bakteri üremesini gösteren bulanıklık bakımından incelenir. Bakterinin üremesini engelleyen bir bulanıklığın olmadığı en düşük ilaç konsantrasyonu MİK olarak değerlendirilir (55).

2.9.2.2. Agar dilüsyon

Agar dilüsyon yönteminin prosedürü tüp dilüsyon yöntemiyle benzerdir. Bu yöntemde antibiyotik sulandırımı Mueller Hinton besiyeri içine konulup, içerisinde antibiyotik bulunan besiyeri petri plaklarına dökülür. Her plakta antibiyotiğin farklı konsantrasyonları bulunur (55).

2.10. Sinerji Testleri ve Özellikleri

İnfeksiyon tedavisi sırasında çeşitli nedenlerle iki veya daha fazla antibiyotiğin birlikte kullanılması gerekebilir. Bu nedenler; antibiyotik duyarlılık özellikleri birbirinden farklı birden fazla mikroorganizmanın etken olduğu infeksiyonların tedavisi, toksisite potansiyeli olan antibiyotiklerin tedavi dozlarının azaltılması, mikroorganizmanın intrinsik duyarlılık özellikleri nedeniyle bir antibiyotik kombinasyonunun tedavi etkinliğinin bir antibiyotiğin tek başına kullanımından daha fazla olduğu infeksiyon hastalıklarının tedavisi olabilmektedir. Bunlardan farklı olarak antibiyotik kombinasyonları direnç gelişiminin geciktirilmesi veya önlem amaçlı olarakta kullanılabilir. Antibiyotik kombinasyonları genellikle ciddi infeksiyonların tedavisinde kullanıldığı için kombinasyonda yer alan ilaçlarının etkileşiminin daha önceden değerlendirebileceği *in-vitro* yöntemlerin uygulanması önemlidir. Bu nedenle çeşitli yöntemler geliştirilmesine rağmen günümüzde standart bir yöntem bulunmamaktadır (56).

Sinerji testleri antibiyotik kombinasyonlarının *in vitro* etkisini saptamak için kullanılan testlerdir. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) ve Avrupa Antibiyotik Duyarlılık Testi Komitesi (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Test, EUCAST) tanımlarına göre; antibiyotik kombinasyonlarının *in-vitro* etkinliği aynı ilaçlar tek başına kullanıldığında elde edilen etkinlikler toplamından daha yüksek ise buna sinerjistik etkileşim, toplamına eşit ise aditif etkileşim, tek ilaç ile elde edilen sonuca eşit ise etkisiz durum (indifference), her iki ilacın etkisinden daha düşük ise antagonistik etkileşimden (antagonizma) söz edilir (56).

Antibiyotik kombinasyonlarının *in-vitro* etkinliğinin belirlenmesinde üç farklı yöntemler kullanılmaktadır (56).

1. Dama Tahtası (İki Boyutlu Sulandırım Yöntemi, Checkerboard)
2. E-test

3. Zamana Bağlı Öldürme (Time-Kill) Yöntemi

2.10.1. Dama tahtası (iki boyutlu sulandırım, checkerboard) yöntemi

Sinerji değerlendirilmesinde kullanılan mikro ve makro dilüsyon yöntemleri inhibitör, bakterisidal konsantrasyonların saptanmasında ve antibiyotik duyarlılığının ölçümünde CLSI'nin sıvı dilüsyon yöntemlerine benzer çalışılmaktadır, fakat burada antibiyotikler hem tek başına hem de diğer ajanlar ile birlikte etkinlikleri değerlendirilmektedir. *In-vitro* etkileşimler fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) indeksi ile değerlendirilir. Kombinasyon ile elde edilen antibakteriyel etkinlik, her antibiyotik tek başına iken saptanan MİK değerleri ile kıyaslan, elde edilen değer FİK olarak ifade edilir. FİK değeri sinerjistik, aditif, etkisiz ya da antagonistik şeklinde yorumlanır (56).

2.10.1.1. Mikrodilüsyon Yöntemi

Antibiyotik kombinasyonlarının etkilerinin incelenmesinde genellikle mikrodilüsyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde, kombinasyonda yer alan iki antibiyotik bir mikrotitrasyon plağında farklı düzlemlerde sulandırımı ve plaktaki her kuyucukta farklı konsantrasyonlarda bir araya gelmeleri söz konusudur (46, 56). Dama tahtası panel örneği tablo 2.2.'de gösterilmiştir.

2.10.1.1.1. Yöntemin uygulanması

- a) Mikrodilüsyon panelleri hazırlanır
- b) Panel için kullanılacak antibiyotik son konsantrasyonları hesaplanır
- c) Antibiyotik solüsyonları hazırlanır
- d) Kuyucukta bulunması istenen son konsantrasyonun dört katı yoğunlukta olan ara sulandırmalar hazırlanır
- e) 100 µl buyyon besiyeri tüm kuyucuklara dağıtılır
- f) Kombinasyonda kullanılacak ilk antibiyotik 100 µl yarı yarıya dilue edilerek dağıtılır, sonrasında diğer antibiyotik hangi oranda hazırlandıysa dilue edilen kuyucuklara 100 µl eklenir (11. kuyucuk besiyeri kontrolü, 12. kuyucuk üreme kontrolü olarak kullanıldığından bu kuyucuklara antibiyotik eklenmez).

- g) Antimikrobik ajanlar 5 µl olacak şekilde plaklara dağıtılır. (11. kuyucuk besiyeri kontrolü olarak kullanıldığından bu kuyucuğa antimikrobik ajan eklenmez) (57).

Tablo 2.2. Mikrodilüsyon dama tahtası panel örneği.

A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12
C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12
E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12
F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12
G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12
H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12

2.10.2. Zamana bağlı öldürme kinetiği (time kill) yöntemi

Zamana ve antibiyotik yoğunluğuna bağlı olarak, antibiyotiğin bakterisidal etkisini dinamik olarak ortaya koyan bir yöntemdir. Canlı bakteri sayımı için bakteri cinsine göre CASO (Soybean Casein Digest Agar, Tryptic Soy) agar ya da kanlı agar kullanılabilir (55).

Test suşu antibiyotik içermeyen, çeşitli yoğunluklarda bir antibiyotik ya da antibiyotiklerin kombinasyonlarını içeren sıvı besiyerine aktarılır. İnokülasyon başlangıcında ve bunu takip eden belli zaman aralıklarında örnek alınır. Canlı organizma sayısı katı besiyerine pasaj yapılarak belirlenir ve alınan sonuçlar koloni sayısının zaman içindeki değişimini gösterecek bir şekilde grafiğe kaydedilir. Besiyeri olarak katyon eklenmiş Mueller Hinton buyyon kullanılır. Son inokulum konsantrasyonu bakterilerde 6×10^5 CFU/ml olmalıdır. İnokulum hazırlanırken kullanılan mikroorganizmalar logaritmik üreme fazında olmalıdır. MİK'in 1/2, 1/4, 1, 2, 4 katı gibi konsantrasyondaki antimikrobik dilüsyonları ile çalıştırılır. MİK belirleme yöntemi makrodilüsyondur. İnkübasyon ısı 35 °C'dir ve makrodilüsyon tüplerinden alınan örneklerden 0, 4, 8, 24. saatlerde dilüsyonlar hazırlanıp katı besiyerine ekim yapılır. Bakteri miktarındaki azalma zamana bağlı olarak her bir

bakteri yoğunluğu için ayrı verilir. Farklı zamanlarda bakteri sayımını kolaylaştırmak için dilüsyonlar hazırlanarak canlı bakteri sayımı yapılır. Değerlendirme katı besiyerinde üreyen koloni sayısına göre yapılır (56).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 17/01/2013 tarihli oturumu ve 2012/273 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

3.1. İzolatlar

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvar'ında 01/04/2009-20/11/2013 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 89 *A. baumannii* suşundan 30 *A. baumannii* suşu çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan 30 *A. baumannii* suşunun farklı tarihlerde, farklı tür örneklerden ve farklı kliniklerde yatan hastalara ait olmasına dikkat edildi. Bu özellikler dikkate alınarak 89 olan suş sayısı 30'a düşürüldü. Her hastadan bir klinik izolat çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen bu suşlardan en az üç antibiyotik sınıfına direnç gösteren ve duyarlılık profilleri farklı olan 12 *A. baumannii* suşu kombinasyon testlerinin değerlendirilmesi için seçildi.

3.1.1. İzolatların tanımlanması

Besiyerinde saf koloni halinde üreyen, gram negatif, hareketsiz, aerob, kokobasil veya diplokok morfolojisine sahip, oksidaz negatif, katalaz pozitif, glukoz ve laktoz fermentasyonu gözlenmeyen bütün suşlar olası gram negatif, non-fermentatif izolat olarak değerlendirildi ve ileri identifikasyon testlerine alındı. Bu izolatlar BD Phoenix 100 (Becton Dickinson, Sparks, Maryland, ABD) otomatize bakteri tanımlama sistemi kullanılarak tür düzeyinde tanımlandı. Bakteriler çalışma zamanına kadar -80 °C'de saklandı.

3.1.2. İzolatların antibiyotik direncinin saptanması

3.1.2.1. Kirby-Bauer disk difüzyon testi

Klinik örneklerden izole edilen 30 *A.baumannii* suşunun antibiyotiklere duyarlılıkları, CLSI 2014 (58). standartları doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle yapıldı.

Kullanılan antibiyotik diskleri (Sigma Aldrich, Missouri, ABD):

- Amikasin (AK, 30 µg),
- İmipenem (IMP, 10 µg),

- Meropenem (MEM, 10 µg),
- Netilmisin (NET, 30 µg),
- Piperasilin-Tazobaktam (TZP, 100/10 µg),
- Sefoperazon-Sulbaktam (SCF, 30 µg).
- Seftazidim (CAZ, 30 µg),
- Seftriakson (CRO, 30 µg),
- Siprofloksasin (CIP, 5 µg),
- Tetrasiklin (TE, 30 µg),
- Tobramisin (TOB, 10 µg),
- Trimetoprim-Sülfametoksazol (TMP/SMX), 1,25/23,75 µg)

Mikrotüplerde -80 °C’de saklanan suşlar koyun kanlı agara ekildi ve bir gece 35 °C’de inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında taze kültürdeki kolonilerden buyyon agar içerisinde 0,5 McFarland yoğunluğunda (10^8 CFU/mL) olacak şekilde süspansiyon hazırlandı. Hazırlanan süspansiyondan steril eküvyon çubuk yardımıyla 4 mm kalınlığındaki Mueller Hinton agar besiyerine ekim yapıldı. Antibiyotik diskleri 22 mm aralıklarla yerleştirildi ve 35 °C’de 18-24 saat etüvde bekletilen plaklar değerlendirildi ve CLSI 2014 tarafından önerilen disk difüzyon duyarlılık zon çaplarına göre S (susceptible, duyarlı), I (intermediate, orta duyarlı) ve R (resistant, dirençli) olarak değerlendirildi (Tablo 3.1.) (58).

Çalışmaya dahil edilen suşlardan çoklu direnç gösteren direnç gösteren, duyarlılık profili farklı olan 12 *A. baumannii* suşu kombinasyon testleri için seçildi ve çalışma gününe kadar -80°C’de saklandı. Çalışmada kalite kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanıldı.

Tablo 3.1. *A. baumannii* suşlarının klinik ve laboratuvar standartları enstitüsü tarafından önerilen disk difüzyon duyarlılık zon çapları ve minimum inhibitör konsantrasyon değerleri.

Antibiyotik	Zon Çapları			MİK Değerleri		
	Duyarlı mm	Orta duyarlı mm	Dirençli mm	Duyarlı mm	Orta duyarlı mm	Dirençli mm
Tikarsilin	≥ 20	15-19	≤ 14	≤16	32-64	≥128
Piperasilin	≥21	18-20	≤17	≤16	32-64	≥128
Ampisilin/sulbaktam	≥15	12-14	≤11	≤8/4	16/8	≥32/16
Piperasilin/tazobaktam	≥21	18-20	≤17	≤16/4	32/4-64/4	≥128/4
Tikarsilin / klavulanik asit	≥20	15-19	≤14	≤16/2	32/2-64/2	≥128/2
Seftazidim	≥18	15-17	≤14	≤8	16	≥32
Sefepim	≥18	15-17	≤14	≤8	16	≥32
Sefotaksim	≥23	15-22	≤14	≤8	16-32	≥64
Seftriakson	≥21	14-20	≤13	≤8	16-32	≥64
İmipenem	≥22	19-21	≤18	4	≥8	-
Meropenem	≥18	15-17	≤14	4	≥8	-
Gentamisin	≥15	13-14	≤12	≤4	8	≥16
Tobramisin	≥15	13-14	≤12	≤4	8	≥16
Amikasin	≥17	15-16	≤14	≤16	32	≥64
Tetrasiklin	≥15	12-14	≤11	≤4	8	≥16
Doksisiklin	≥13	10-12	≤9	≤4	8	≥16
Levofloksasin	≥17	14-16	≤13	≤2	4	≥8
Trimetoprim	≥16	11-15	≤10	≤2/38	-	≥4/76

3.1.2.2. Minimum inhibitör konsantrasyon değerlerinin belirlenmesi

Acinetobacter baumannii kökenlerinin kolistin, sulbaktam, imipenem ve vankomisine karşı MİK değerlerinin saptanmasında sıvı mikrodilüsyon yöntemi CLSI 2014 (58) kriterleri doğrultusunda uygulandı. Antibiyotik aktif maddeleri

Tablo 3.2.'de belirtilen çözücü ve sulandırıcılar kullanılarak stok solüsyonları hazırlandı.

Tablo 3.2. Dama tahtası yönteminde kullanılan antibiyotiklerin çözücü ve sulandırıcıları.

Antmikrobik ilaç	Çözücü	Sulandırıcı
Kolistin	Su	Su
İmipenem	Fosfat tamponu pH 7,2 0,01mol/l	Fosfat tamponu pH 7,2 0,01mol/l
Sulbaktam	Su	Su
Vankomisin	Su	Su

3.2. Antibiyotik Stok Solüsyon Hazırlanması

Her bir antibiyotikten 0,1 gr hassas terazide tartılarak 19,5 ml'lik uygun çözücülerde çözüldü. Çözücü olarak kolistin, vankomisin ve sulbaktam için su, imipenem için fosfat tamponu kullanıldı.

- Test edilecek mikrorganizma için antibiyotikğin konsantrasyon (dilüsyon) aralığı belirlendi.
- İmipenem dilüsyon aralığı: 0,25-64 µg/ml
- Kolistin dilüsyon aralığı: 0,25-64 µg/ml
- Sulbaktam dilüsyon aralığı: 0,25-64 µg/ml
- Vankomisin dilüsyon aralığı: 0,25-64 µg/ml olarak çalışıldı.

3.3. İnokulum Hazırlanması

Koyun kanlı agardan pasajlanmış mikroorganizmaların 18–24 saatlik taze kültürlerinden öze yardımı ile koloniler alındı ve buyyon agarda Mc Farland 0,5 (10^8 CFU/mL) standardına göre süspansiyonları hazırlandı. Sonrasında hazırlanan süspansiyon 1/10 oranında buyyon besiyeri ile dilüe edildi ve 1×10^6 CFU/ml şeklinde bakteri konsantrasyonu oluşturuldu. Toplam 96 (8×12) kuyucuklu, kuyucuk hacmi 0,2 ml olan mikropalakların 12. sırası hariç her bir kuyucuğuna 5 µl bakteri süspansiyonu eklendi.

Mikroplakların, 1-10. kuyucuklarına antibiyotik dilüsyonları ve bakteri inokulumu, 11. kuyucuğa buyyon besiyeri (besiyeri kontrol), 12. kuyucuğa ise bakteri inokulum (üreme kontrol) konuldu.

İnoküle edilen bakteri final konsantrasyonu 5×10^5 CFU/ml oldu. 35 °C de 18-24 saat inkübasyondan sonra her iki antibiyotiğin kombinasyondaki MİK değeri belirlendi. Kombinasyonların etkinliğini belirlemek için FİK indeksi kullanıldı.

3.4. Sinerji Testleri

Broth dilüsyon, kombinasyon yöntemi çalışma öncesinde 12 *A. baumannii* kökeni -80 °C'den çıkarılarak koyun kanlı agara aktarıldı. Aerobik ortamda, 35 °C'de 18-20 saat inkübasyon sonrası taze kültür pasajlarından elde edilen bakteri kolonileri testler için kullanıldı.

Çalışmaya alınan 12 *A. baumannii* suşunda COL-IMP, COL-VA, COL-SUL, IMP-SUL antibiyotiklerinin sinerjistik etkinlikleri dama tahtası yöntemiyle değerlendirildi.

3.4.1. Dama tahtası yöntemiyle kombinasyonların değerlendirilmesi

Broth mikrodilüsyon yöntemiyle MİK değerleri belirlenen her bir suş ve denenecek her bir antibiyotik için; 96 kuyucuklu ve U tabanlı bir adet steril mikroplak kullanılarak aşağıda belirtilen antibiyotik kombinasyonlarının etkileşimi dama tahtası metodu ile araştırıldı.

Çalışmada kullanılan kombinasyonlar:

- Kolistin-imipenem
- Kolistin-vankomisin
- Kolistin-sulbaktam
- İmipenem-sulbaktam

3.5. Antibiyotik Dilüsyonu

Antibiyotik olarak kolistin, vankomisin, imipenem, sulbaktam (Sigma Aldrich Missouri, ABD) kombinasyon şeklinde kullanıldı. Kombinasyonlarının etkisinin belirlenmesi için her bir antibiyotiğin 4, 2, 1 ve 0,5 µg/ml'lik konsantrasyonda çözeltileri hazırlandı. İki farklı antibiyotikten oluşan her kombinasyon denemesinde bu dörtlü konsantrasyon oranlarının birbirlerine olan etkisi araştırıldı (Şekil 3.1., Şekil 3.2., Şekil 3.3., Şekil 3.4).

	COL 64 ↓	COL 32 ↓	COL 16 ↓	COL 8 ↓	COL 4 ↓	COL 2 ↓	COL 1 ↓	COL 0,5 ↓	COL 0,25 ↓	COL 0 ↓	BK	UK
VA 4 →	COL 64 + VA 4	COL 32 + VA 4	COL 16 + VA 4	COL 8 + VA 4	COL 4 + VA 4	COL 2 + VA 4	COL 1 + VA 4	COL 0,5 + VA 4	COL 0,25 + VA 4	VA 4		
VA 2 →	COL 64 + VA 2	COL 32 + VA 2	COL 16 + VA 2	COL 8 + VA 2	COL 4 + VA 2	COL 2 + VA 2	COL 1 + VA 2	COL 0,5 + VA 2	COL 0,25 + VA 2	VA 2		
VA 1 →	COL 64 + VA 1	COL 32 + VA 1	COL 16 + VA 1	COL 8 + VA 1	COL 4 + VA 1	COL 2 + VA 1	COL 1 + VA 1	COL 0,5 + VA 1	COL 0,25 + VA 1	VA 1		
VA 0,5 →	COL 64 + VA 0,5	COL 32 + VA 0,5	COL 16 + VA 0,5	COL 8 + VA 0,5	COL 4 + VA 0,5	COL 2 + VA 0,5	COL 1 + VA 0,5	COL 0,5 + VA 0,5	COL 0,25 + VA 0,5	VA 0,5		
VA 0 →	COL 64	COL 32	COL 16	COL 8	COL 4	COL 2	COL 1	COL 0,5	COL 0,25			

Şekil 3.1. Tüm kuyucuklara kolistin konsantrasyonlarına ek olarak 4, 2, 1, 0,5 µg/ml vankomisin eklenerek kolistin –vankomisin kombinasyonunun araştırıldığı mikrop plak örneği.

BK: Besiyeri kontrolü, UK: Üreme kontrolü, COL: Kolistin, VA: Vankomisin, sayılar µg/ml olarak ifade edilmiştir.

	COL 64 ↓	COL 32 ↓	COL 16 ↓	COL 8 ↓	COL 4 ↓	COL 2 ↓	COL 1 ↓	COL 0,5 ↓	COL 0,25 ↓	COL 0 ↓	BK	ÜK
SUL 4 →	COL 64 + SUL 4	COL 32 + SUL 4	COL 16 + SUL 4	COL 8 + SUL 4	COL 4 + SUL 4	COL 2 + SUL 4	COL 1 + SUL 4	COL 0,5 + SUL 4	COL 0,25 + SUL 4	SUL 4		
SUL 2 →	COL 64 + SUL 2	COL 32 + SUL 2	COL 16 + SUL 2	COL 8 + SUL 2	COL 4 + SUL 2	COL 2 + SUL 2	COL 1 + SUL 4	COL 0,5 + SUL 2	COL 0,25 + SUL 2	SUL 2		
SUL 1 →	COL 64 + SUL 1	COL 32 + SUL 1	COL 16 + SUL 1	COL 8 + SUL 1	COL 4 + SUL 1	COL 2 + SUL 1	COL 1 + SUL 1	COL 0,5 + SUL 1	COL 0,25 + SUL 1	SUL 1		
SUL 0,5 →	COL 64 + SUL 0,5	COL 32 + SUL 0,5	COL 16 + SUL 0,5	COL 8 + SUL 0,5	COL 4 + SUL 4	COL 2 + SUL 0,5	COL 1 + SUL 0,5	COL 0,5 + SUL 0,5	COL 0,25 + SUL 0,5	SUL 0,5		
SUL 0 →	COL 64	COL 32	COL 16	COL 8	COL 4	COL 2	COL 1	COL 0,5	COL 0,25			

Şekil 3.2. Tüm kuyucuklara kolistin konsantrasyonlarına ek olarak 4, 2, 1, 0,5 µg/ml sulbaktam eklenerek kolistin-sulbaktam kombinasyonunun araştırıldığı mikrop plak örneği.

BK: Besiyeri kontrolü, ÜK: Üreme kontrolü, COL: Kolistin, SUL: Sulbaktam, sayılar µg/ml olarak ifade edilmiştir.

	COL 64 ↓	COL 32 ↓	COL 16 ↓	COL 8 ↓	COL 4 ↓	COL 2 ↓	COL 1 ↓	COL 0,5 ↓	COL 0,25 ↓	COL 0 ↓	BK	UK
IMP 4 →	COL 64 + IMP 4	COL 32 + IMP 4	COL 16 + IMP 4	COL 8 + IMP 4	COL 4 + IMP 4	COL 2 + IMP 4	COL 1 + IMP 4	COL 0,5 + IMP 4	COL 0,25 + IMP 4	IMP 4		
IMP 2 →	COL 64 + IMP 2	COL 32 + IMP 2	COL 16 + IMP 2	COL 8 + IMP 2	COL 4 + IMP 2	COL 2 + IMP 2	COL 1 + IMP 2	COL 0,5 + IMP 2	COL 0,25 + IMP 2	IMP 2		
IMP 1 →	COL 64 + IMP 1	COL 32 + IMP 1	COL 16 + IMP 1	COL 8 + IMP 1	COL 4 + IMP 1	COL 2 + IMP 1	COL 1 + IMP 1	COL 0,5 + IMP 1	COL 0,25 + IMP 1	IMP 1		
IMP 0,5 →	COL 64 + IMP 0,5	COL 32 + IMP 0,5	COL 16 + IMP 0,5	COL 8 + IMP 0,5	COL 4 + IMP 0,5	COL 2 + IMP 0,5	COL 1 + IMP 0,5	COL 0,5 + IMP 0,5	COL 0,25 + IMP 0,5	IMP 0,5		
IMP 0 →	COL 64	COL 32	COL 16	COL 8	COL 4	COL 2	COL 1	COL 0,5	COL 0,25			

Şekil 3.3. Tüm kuyuruklara kolistin konsantrasyonlarına ek olarak 4, 2, 1, 0,5 µg/ml imipenem eklenerek kolistin-imipenem kombinasyonunun araştırıldığı mikrop plak örneği.

BK: Besiyeri kontrolü, UK: Üreme kontrolü, COL: Kolistin, IMP: İmpenem, sayılar µg/ml olarak ifade edilmiştir.

	IMP 64 ↓	IMP 32 ↓	IMP 16 ↓	IMP 8 ↓	IMP 4 ↓	IMP 2 ↓	IMP 1 ↓	IMP 0,5 ↓	IMP 0,25 ↓	IMP 0 ↓	BK	UK
SUL 4 →	IMP 64 + SUL 4	IMP 32 + SUL 4	IMP 16 + SUL 4	IMP 8 + SUL 4	IMP 4 + SUL 4	IMP 2 + SUL 4	IMP 1 + SUL 4	IMP 0,5 + SUL 4	IMP 0,25 + SUL 4	SUL 4		
SUL 2 →	IMP 64 + SUL 2	IMP 32 + SUL 2	IMP 16 + SUL 2	IMP 8 + SUL 2	IMP 4 + SUL 2	IMP 2 + SUL 2	IMP 1 + SUL 2	IMP 0,5 + SUL 2	IMP 0,25 + SUL 2	SUL 2		
SUL 1 →	IMP 64 + SUL 1	IMP 32 + SUL 1	IMP 16 + SUL 1	IMP 8 + SUL 1	IMP 4 + SUL 1	IMP 2 + SUL 1	IMP 1 + SUL 1	IMP 0,5 + SUL 1	IMP 0,25 + SUL 1	SUL 1		
SUL 0,5 →	IMP 64 + SUL 0,5	IMP 32 + SUL 0,5	IMP 16 + SUL 0,5	IMP 8 + SUL 0,5	IMP 4 + SUL 0,5	IMP 2 + SUL 0,5	IMP 1 + SUL 0,5	IMP 0,5 + SUL 0,5	IMP 0,25 + SUL 0,5	SUL 0,5		
SUL 0 →	IMP 64	IMP 32	IMP 16	IMP 8	IMP 4	IMP 2	IMP 1	IMP 0,5	IMP 0,25			

Şekil 3.4. Tüm kuyruklara impenem konsantrasyonlarına ek olarak 4, 2, 1, 0,5 µg/ml sulbaktam eklenerek impenem-sulbaktam kombinasyonunun araştırıldığı mikroplak örneği.

BK: Besiyeri kontrolü, UK: Üreme kontrolü, IMP: İmpenem, SUL: Sulbaktam, sayılar µg/ml olarak ifade edilmiştir.

Her bir köken için hazırlanan antibiyotik dilüsyonları kombinasyonlar şeklinde 96 (8×12) kuyucuklu mikrolaklara önce 100 µl buyyon daha sonra 1. antibiyotik dilüsyonundan 100 µl konuldu ve 10. kuyucuğa kadar her sütunda yarı yarıya dilüe edilerek 64 µg/ml ile 0,25 µg/ml arasında dilüsyonlar sağlanmış oldu. Daha sonra 2. antibiyotiğin belirlenen konsantrasyonu 1. antibiyotiği içeren her bir kuyucuğa eşit olarak eklendi. A11 kuyucuğu besiyeri kontrolü, A12 ise kuyucuğu üreme kontrolü olarak kullanıldığından antibiyotik eklenmedi. Yapılan çalışmada kullanılan kolistin-sulbaktam kombinasyonu şekil 3.5'te gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Dama tahtası yöntemiyle çalışılmış sulbaktam-kolistin kombinasyon örneği.

3.6. Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu İndeksi-Kombinasyon Etkinlik Değerlendirilmesi

Kombinasyonların etkinliğini belirlemek için FİK indeksi aşağıdaki formüle göre uygulandı (59).

A: Kombinasyonda kullanılan 1. antibiyotik

B: Kombinasyonda kullanılan 2. antibiyotik

FİK indeksinin hesaplanması:

$$\text{FİK A} = \frac{\text{B'nin varlığında A'nın MİK sayısal değeri}}{\text{Tek başına A'nın MİK sayısal değeri}}$$

$$\text{FİK B} = \frac{\text{A'nın varlığında B'nin MİK sayısal değeri}}{\text{Tek başına B'nin MİK sayısal değeri}}$$

$$\Sigma \text{FİK indeksi} = \text{FİK A} + \text{FİK B}$$

$\Sigma \text{FİK indeksi} \leq 0,5$: sinerji

$\Sigma \text{FİK indeksi} >0,5$ ve <1 : aditif

$\Sigma \text{FİK indeksi} \geq 1$ ve $4 \leq$: etkisiz (indiferens)

$\Sigma \text{FİK indeksi} >4$: antagonizma

Bu çalışmaya alınan 12 çoklu dirençli *A. baumannii* klinik izolatında denenen dört antibiyotik kombinasyonu için FİK değerleri hesaplanıp etkileşimler sinerji, aditif, etkisiz ve antagonizma olarak kaydedildi. İstatistiksel analizde sıklık ve yüzde kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda, hastanemizde izole edilen *Acinetobacter* kökenlerinin (n:30) 15'i (%50,0) yoğun bakım ünitesi (YBÜ), 6'sı (%20,0) nöroloji, 4'ü (%13,3) göğüs hastalıkları, 3'ü (%10,0) beyin cerrahisi, 2'si (%6,7) genel cerrahide yatan hastalardan izole edilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. İzolatların elde edildiği kliniklere göre dağılımı (n:30).

Klinik	n (izolat sayısı)	yüzde(%)
Anestezi yoğun bakım ünitesi	15	50,0
Cerrahi klinikler	10	33,3
Dahili klinikler	5	16,7
Toplam	30	100,0

Çalışmaya alınan *Acinetobacter*'lerin 15'i (%50) kandan, 9'u (%30) solunum örneklerinden, 6'sı (%20) çeşitli klinik örneklerden izole edildi. (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. İzolatların elde edildiği klinik örneklerle göre dağılımı (n:30).

Klinik örnek	n (izolat sayısı)	yüzde(%)
Kan	15	50,0
Balgam	9	30,0
Yara	4	13,3
İdrar	2	6,7
Toplam	30	100,0

Çalışmada incelenen *A. baumannii* kökenlerinin disk difüzyon yöntemiyle yapılan antibiyogram sonuçlarına göre en yüksek direnç %86,7 ile tetrasikline, en düşük direnç %33,4 ile netilmisine karşı izlendi.

Duyarlı, orta duyarlı, dirençli olarak belirlenen *A. baumannii* izolatlarının antibiyogram sonuçları Tablo 4.3.'de gösterildi.

Tablo 4.3. *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık sonuçları (n:30).

Antibiyotik	Duyarlı n (%)	Orta duyarlı n (%)	Dirençli n (%)
İmipenem	5 (16,7)	2 (6,6)	23 (76,7)
Meropenem	5 (16,7)	1 (3,3)	24 (80,0)
Amikasin	7 (23,2)	2 (6,6)	21 (70,1)
Tobramisin	10 (33,4)	2 (6,6)	18 (60,0)
Netilmisin	20 (66,7)	-	10 (33,4)
Seftazidim	5 (16,7)	2 (6,6)	23 (76,7)
Seftriakson	4 (13,3)	3 (10,0)	23 (76,7)
Sefaperazon/Sulbaktam	6 (20,0)	6 (20,0)	18 (60,0)
Piperasilin/Tazobaktam	4 (13,3)	1 (3,3)	25 (83,4)
Siprofloksasin	4 (13,3)	2 (6,6)	24 (80,0)
TMP/SMX*	5 (16,7)	-	25 (83,4)
Tetrasiklin	3 (10,0)	1 (3,3)	26 (86,7)

* TMP/SMX: Trimetoprim/Sulfametoksazol

Seçilen çoklu ilaç dirençli 12 *A. baumannii* suşunda kolistin-imipenem, kolistin-vankomisin, kolistin-sulbaktam ve imipenem-sulbaktam kombinasyonlarının etkinliği araştırıldı.

Çalışmaya alınan 12 kökenin kolistin MİK₅₀ değeri 2 µg/ml olarak belirlendi ve bu 12 kökenin tamamı vankomisin, sulbaktam ve imipeneme MİK₅₀ 16 µg/ml değeri ile dirençli bulundu. Kombinasyon testlerinde kullanılan izolatlara ait MİK değerleri Tablo 4.4.'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Suşların broth dilüsyon minimum inhibitör konsantrasyonları ve duyarlılık değerlendirilmesi.

Suş No	COL MİK	VA MİK	SUL MİK	IMP MİK
D1	2 (S)	16 (R)	16 (R)	16 (R)
D2	4 (S)	16 (R)	16 (R)	16 (R)
D3	2 (S)	16 (R)	16 (R)	16 (R)
D4	4 (S)	16 (R)	16 (R)	16 (R)
D5	4 (S)	16 (R)	16 (R)	16 (R)
D6	2 (S)	16 (R)	16 (R)	16 (R)
D7	2 (S)	16 (R)	16 (R)	16 (R)
D8	4 (S)	16 (R)	16 (R)	16 (R)
D9	4 (S)	16 (R)	16 (R)	16 (R)
D10	2 (S)	16 (R)	16 (R)	16 (R)
D11	2 (S)	16 (R)	16 (R)	16 (R)
D12	4 (S)	16 (R)	16 (R)	16 (R)

S: duyarlı, R: dirençli

Değerlendirmeye alınan kombinasyonların dama tahtası yöntemiyle etkinlikleri incelendiğinde kolistin-sulbaktam kombinasyonunun ortalama FİK indeksi 0,9 aditif (%75), kolistin-vankomisin kombinasyonunun ortalama FİK indeksi 1,02 aditif (%58,3), kolistin-imipenem kombinasyonunun ortalama FİK indeksi 0,96 aditif (%58,3), imipenem-sulbaktam kombinasyonunun ortalama FİK indeksi 1,38 etkisiz (%100) olarak saptanmıştır. Antagonist ve sinerjik etki gözlemlenmemiştir. (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Dama tahtası yöntemiyle suşların ilaç kombinasyon etkinlikleri.

İlaç Kombinasyonu	Sinerji n (%)	Aditif n (%)	Etkisiz n (%)	Antagonist n (%)
COL-VA	0 (0,0)	7 (58,3)	5 (41,7)	0 (0,0)
COL-IMP	0 (0,0)	7 (58,3)	5 (41,7)	0 (0,0)
COL-SUL	0 (0,0)	9 (75,0)	3 (25,0)	0 (0,0)
IMP-SUL	0 (0,0)	0 (0,0)	12 (100,0)	0 (0,0)

Kombinasyonların dama tahtası yöntemiyle suşlara gösterdiği etkinlik ve FİK değerleri Tablo 4.6.'da gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Dama tahtası yöntemiyle *Acinetobacter baumannii* suşlarının ilaç kombinasyon etkinlikleri.

No	İlaç Kombinasyonu İlaç A/ İlaç B	Broth FİK İndeksi Değerlendirme
D1	Kolistin-Vankomisin Kolistin-İmipenem Kolistin-Sulbaktam İmipenem-Sulbaktam	1,25 Etkisiz 1,25 Etkisiz 1,00 Aditif 1,50 Etkisiz
D2	Kolistin-Vankomisin Kolistin-İmipenem Kolistin-Sulbaktam İmipenem-Sulbaktam	0,50 Aditif 0,75 Aditif 0,75 Aditif 1,50 Etkisiz
D3	Kolistin-Vankomisin Kolistin-İmipenem Kolistin-Sulbaktam İmipenem-Sulbaktam	1,50 Etkisiz 1,50 Etkisiz 1,25 Etkisiz 1,25 Etkisiz
D4	Kolistin-Vankomisin Kolistin-İmipenem Kolistin-Sulbaktam İmipenem-Sulbaktam	0,75 Aditif 0,75 Aditif 0,50 Aditif 1,25 Etkisiz
D5	Kolistin-Vankomisin Kolistin-İmipenem Kolistin-Sulbaktam İmipenem-Sulbaktam	1,00 Aditif 1,25 Etkisiz 0,50 Aditif 1,50 Etkisiz
D6	Kolistin-Vankomisin Kolistin-İmipenem Kolistin-Sulbaktam İmipenem-Sulbaktam	0,75 Aditif 0,75 Aditif 1,00 Aditif 1,50 Etkisiz
D7	Kolistin-Vankomisin Kolistin-İmipenem Kolistin-Sulbaktam İmipenem-Sulbaktam	1,25 Etkisiz 1,00 Aditif 1,25 Etkisiz 1,25 Etkisiz
D8	Kolistin-Vankomisin Kolistin-İmipenem Kolistin-Sulbaktam İmipenem-Sulbaktam	1,00 Aditif 0,50 Aditif 1,00 Aditif 1,50 Etkisiz
D9	Kolistin-Vankomisin Kolistin-İmipenem Kolistin-Sulbaktam İmipenem-Sulbaktam	0,75 Aditif 0,75 Aditif 0,75 Aditif 1,25 Etkisiz
D10	Kolistin-Vankomisin Kolistin-İmipenem Kolistin-Sulbaktam İmipenem-Sulbaktam	1,5 Etkisiz 1,25 Etkisiz 0,75 Aditif 1,25 Etkisiz
D11	Kolistin-Vankomisin Kolistin-İmipenem Kolistin-Sulbaktam İmipenem-Sulbaktam	1,25 Etkisiz 1,25 Etkisiz 1,25 Etkisiz 1,25 Etkisiz
D12	Kolistin-Vankomisin Kolistin-İmipenem Kolistin-Sulbaktam İmipenem-Sulbaktam	0,75 Aditif 0,50 Aditif 0,75 Aditif 1,5 Etkisiz

5.TARTIŞMA

Acinetobacter baumannii ile gelişen hastane infeksiyonları için antibiyotik kullanımı önemli bir risk faktörüdür. Özellikle kinolonlar, beta laktamlar ve aminoglikozidlere karşı direnç gelişimi önemlidir (60). Son yıllarda özellikle karbapenemlere karşı kazanılan direnç ve bu dirençli suşlarla gelişip hızla yayılan salgınlar dikkat çekmektedir (61, 62).

A.baumannii pek çok nozokomiyal infeksiyona yol açabilse de en fazla ventilatörle ilişkili pnömonilerde etken olarak belirlenmektedir (60, 63). Antibiyotik kullanımı dışında YBÜ’nde yatma, genel durumun kötü olması gibi durumlar antibiyotiklere dirençli *A. baumannii* ile infeksiyon oluşumu için önemli risk faktörleridir. Salgın yapan suşların yapmayanlara göre antibiyotiklere daha dirençli olduğu gösterilmiştir (64).

Acinetobacter suşlarının yoğun bakım ve diğer cerrahi kliniklerde sıklıkla hastane infeksiyonu etkeni olarak karşımıza çıkmasının nedeni, bu kliniklerde kritik hastaların olması ve bu hastalara uygulanan mekanik ventilasyon, entübasyon, trakeostomi, damar içi kateterizasyon ve üriner kateter gibi invaziv girişimlerin daha sık olması ile ilişkilendirilmiştir (65).

Gaziantep Tıp Fakültesinde yapılan bir çalışmada ise izole edilen 200 örneğin, 110’u (%55,0) yoğun bakım ünitelerinden, 7’si (%3,5) genel cerrahi servisinde, 10’u (%5,0) kalp ve damar cerrahisi, 12’si (%6,0) anestezi ve reanimasyon, 6’sı (%3,0) ortopedi ve travmatoloji, 8’i (%4,0) göğüs cerrahisi, 3’ü (%1,5) göğüs hastalıkları, 5’i (%2,5) infeksiyon hastalıkları, 15’i (%7,5) pediatri, 14’ü (%7,0) beyin cerrahisi ve 10’u (%5,0) diğer servislerde yatmakta olan hastalardan izole edilmişlerdir. (59).

Acinetobacter suşlarının izole edildiği örneklerin dağılımı çeşitli çalışmalarda farklılıklar göstermektedir. Çolpan ve ark.’nın (66) Ankara’da yaptıkları çalışmada örneklerin % 36’sı aspirat, % 25’i kan, % 21’i idrar, % 9,5’i cerrahi yara, % 8,5’i dekübitis yara yeri; İstanbul’da Aygün ve ark.’nın (67) çalışmasında 50 örnekten 37’i solunum sistemi materyali, 11’i kan, 2’si yara materyali; Çalışmamızda ise 30 örneğin 15’i (%50) kandan, 9’u (%30) solunum örneklerinden, 6’sı (%20) ise çeşitli klinik örneklerden izole edilmiştir.

Ülkemizin de içinde bulunduğu 11 Avrupa ülkesinde, 30 merkezde yapılan 1997-2000 Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) programında meropenem ve imipenem en etkili antibiyotik olarak bildirilmiş, fakat sulbaktam, kolistin ve ampisilin bu programda teste dahil edilmemişlerdir. Farklı ülkelerde farklı direnç varyasyonları rapor edilmiştir. Çalışmaya katılan 11 ülke (Belçika, Polonya, Çek Cumhuriyeti, Almanya, İtalya, Bulgaristan, Rusya, İsveç, Türkiye, İsviçre ve Büyük Britanya) arasında Türkiye, hemen hemen test edilen tüm antibiyotiklere en yüksek direnci gösterdiği saptanmıştır, Türkiye'yi İtalya ve Büyük Britanya izlemiştir. 2006 yılında, 12 ülke ve 40 merkezde yapılan MYSTIC programında ise meropenem (%43,4) ve imipenem (%42,5) direncinde büyük oranda bir artış olduğu raporlanmıştır (68).

Eraksoy ve arkadaşları (69) tarafından Avrupa genelinde yapılan 2007 MYSTIC çalışmasında ise meropenem non-fermentatiflere karşı en etkili ajan olarak saptanmıştır. Yine bu çalışmada 2006 yılı ile kıyaslandığında 2007 yılında direnç oranlarının azaldığı saptanmış ve bunun nedeninin de çalışmaya 2007'de Türkiye ve Yunanistan gibi direnç oranları yüksek *Acinetobacter* infeksiyonlarının sık görüldüğü iki ülkenin katılmaması gösterilmiştir (70).

2005 yılında tamamlanan ve Türkiye'nin değişik bölgelerinden 6 merkezin katılımı ile gerçekleştirilen bir sürveyans çalışması Hitit projesinde idrar, kan, steril vücut sıvıları, solunum yollarından izole edilen *A. baumannii*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), ve *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) izolatlarının geniş spektrumlu beta-laktamlara duyarlılık oranları incelenmiştir. Bu çalışmaların sonucunda karbapenemler *Enterobacteriaceae* üyelerinde etkinliklerini korurken, suşların izole edildiği hastane birimlerine göre değiştiği ve *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* izolatlarında direnç oranlarının % 40'a kadar ulaştığı gözlemlenmiştir (71).

Son yıllarda *A. baumannii* izolatlarında karbapenemler, aminoglikozidler ve kinolonları kapsayan çoklu ilaç direnci bildirilmekte bu durum klinisyenleri yeni tedavi seçeneklerine yönlenmelerine sebep olmakta ve çoklu ilaç direnci gösteren *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde başarı sağlamak ve direnç gelişimini önlemek amacıyla kombine antibiyotik kullanımı önerilmektedir (72).

Bu önerilerden birisi kolistin-sulbaktam kombinasyonudur. Bu kombinasyonun sinerjik etkinliği birçok çalışmada gösterilmiştir (73, 74). Lee ve

arkadaşları (73) bakteriyemi ve menenjit etkeni olan çoğul dirençli *A. baumannii* suşlarında bu kombinasyonun sinerjik etkinliğini araştırmış ve sulbaktam dirençli suşlarda sulbaktam-kolistin kombinasyonunun sinerjik etkinlik gösterdiğini ve iyi bir tedavi seçeneği olacağını bildirmiştir.

Rodriguez ve arkadaşları (75), karbapeneme dirençli bazı *A. baumannii* suşlarında antimikrobiyal ajanların kolistin ile kombine edilmesinin aktivitede azalmaya ve antibiyotik direncine neden olduğunu göstermiştir. Principe ve arkadaşları (76) *A. baumannii* suşlarındaki bu antibiyotik direncinin, birden fazla mekanizma ile karmaşık etkileşimler sonucunda geliştiğini göstermiştir. Bu nedenle direncin önüne geçmek ve antagonist etkileşimi azaltmak için kolistin ile yapılan kombinasyon terapisinin iyi belirlenmesi gerekmektedir. Bizim çalışmamızda çoklu ilaç direnci gösteren *A. baumannii* suşlarında kolistinin tek başına etkili olduğu görüldü. Bu nedenle çalışmamızda yaptığımız dört kombinasyonun üçünde kolistin kullanıldı. Kolistini tek başına kullandığımızda bakteriler üzerindeki etkinliği oldukça yüksek bulundu. $MİK_{50}$ değeri 2 µg/ml, $MİK_{90}$ değeri 4 µg/ml olarak bulundu. Sulbaktam etkinliğine bakıldığında $MİK_{50}$ değeri 16 µg/ml, $MİK_{90}$ değeri ise 16 µg/ml olarak bulundu. Bu değerlerinde gösterdiği gibi sulbaktamın tek başına suşlar üzerinde bir etkisi olmadığı dama tahtası yöntemiyle belirlendi.

Lee ve arkadaşlarının 2008 yılında disk difüzyon yöntemiyle yaptıkları çalışmada sulbaktam-kolistin kombinasyonunda %100 sinerji saptamışlardır (73). Bizim çalışmamızda ise kolistin-sulbaktam kombinasyonunda %75 aditif olarak diğer üç kombinasyon arasındaki en yüksek etkileşim bulundu. Kolistinin sulbaktamın etkinliğini arttırdığı yaptığımız çalışmada tespit edildi. *A.baumannii* infeksiyonlarında kolistin-sulbaktam kombinasyonunu uygulamadan önce kolistin direncinin belirlenmesi, direnç saptanması durumunda ise bu kombinasyonun verilmesinin daha etkili olabileceği kanısına varılmıştır.

Karslıgil ve arkadaşları (77) *Acinetobacter*'e karşı en etkili antibiyotiğin %85 oranı ile tobramisin olduğunu bulmuşlardır. Başka bir çalışmada Çolpan ve arkadaşları (66) en etkin antibiyotiğin %70 lik bir oranla tobramisin olduğunu bildirmişlerdir. Aygün ve arkadaşları (67) ise en etkili antibiyotiğin %98 ile netilmisin olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan farklı çalışmalarda da netilmisin ve tobramisin gibi aminoglikozidlerin duyarlılık oranlarının yüksek olduğu tespit

edilmiştir (1, 77, 78, 79). Bunun yanında imipenem ve meropenem gibi karbapenemlerin duyarlılıklarında düşüş olduğu yapılan çalışmalarda görülmüştür (1, 23, 79, 80). Akalın ve arkadaşları (81) imipenem duyarlılığını %84, Uzel ve arkadaşları (82) %85, Aygün ve arkadaşları (67) %66, Karslıgil ve arkadaşları (77) %75 olarak bulmuştur. Akan ve arkadaşları (83) imipenem duyarlılığını %38, Gazi ve arkadaşları (84) imipenem ve meropenem duyarlılıklarını sırasıyla %40,5 ve %36,3, Aygün ve arkadaşları (67) imipenem duyarlılığını %36 olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise imipenem ve meropenem duyarlılıkları %16,6 bulunmuştur.

Karbapenem sulbaktam kombinasyonunun, çoklu ilaç dirençi gösteren *A. baumannii* izolatlarında sinerjik etkileri gösterilmiştir (4). Kiffer ve arkadaşları (85) *A. baumannii* izolatında meropenem ve sulbaktamın MİK₅₀ değerlerini 1 µg/ml, MİK₉₀ değerlerini ise sırasıyla 8 ve 32 µg/ml olarak bulmuşlardır. Bu araştırmacılar, meropenem ve sulbaktam kombinasyonunun etkileşimini dama tahtası yöntemi ile araştırmışlar ve izolatların %29,2'sinde sinerji, %47,9'unda kısmi sinerji, %10,5'inde aditif, %6,2'sinde etkisiz ve %6,2'sinde antagonist etki saptamışlardır. Song ve arkadaşları (86) imipenem ve sulbaktam MİK₅₀ değerleri sırasıyla 32 ve 16 µg/ml, MİK₉₀ değerlerini ise 32 µg/ml olan 43 *A.baumannii* suşunda imipenem-sulbaktam kombinasyonunun *in-vitro* aktivitelerinin etkili olduğunu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda imipenemin MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri 16 µg/ml olarak bulunmuştur. FİK indeksine göre, imipenem-sulbaktam kombinasyonunda, izolatların tamamında (%100) etkisiz saptanmıştır.

Tayland'da 2010 yılında Pongpech ve arkadaşlarının (87) 30 izolatla dama tahtası yöntemiyle yaptıkları çalışmada kolistin-imipenem kombinasyonunda % 100 sinerjik saptamışlardır. Haddad ve arkadaşları (5) ise 1999 ile 2003 yılları arasında New York metropolitan bölgesindeki 10 farklı hastadan izole edilen ve rutin tüm antibiyotiklere dirençli 10 *A.baumannii* izolatıyla yaptıkları çalışmada, E-test yöntemiyle uyguladıkları kolistin-imipenem kombinasyonunu % 50 oranında sinerjik olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmalarda kolistin-imipenem kombinasyonun iyi bir seçenek olarak sunulmasına rağmen çalışmamızda kolistin MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 2 µg/ml ve 4 µg/ml, imipenem MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri 16 µg/ml olarak saptanmıştır. Kolistin-imipenem kombinasyonunun FİK indekslerine göre sinerji gözlenmemiş, 7 suş (%58,3) aditif, 5 suşta (%41,7) etkisiz olarak bulunmuştur.

Sinerji bulunmamasına rağmen % 58,3'lük aditif sonucu ilaç kombinasyonunun tedavide kullanılabilmesi için uygun bir yüzdelik olarak düşünülmüştür.

Gram negatif bakteriler hücre duvarındaki dış membran varlığı nedeniyle vankomisin gibi glikopeptidlere doğal olarak dirençlidir. Çalışmada kolistin gibi *A. baumannii* üzerinde duyarlı sonuç veren antibiyotik ile birlikte vankomisin gibi direnç gösteren bir bakteri kombinasyon halinde dama tahtası yöntemiyle incelendi. Vankomisin çalışmalarda diğer antibiyotikler kadar sıklıkla kullanılmasa da son zamanlarda kolistin gibi *A. baumannii* üzerinde etkisi gösterilmiş antibiyotiklerle kombinasyon halinde kullanıldığı görülmüştür.

O'Hara ve arkadaşları (88) vankomisin ve kolistin kombinasyonu ile yaptıkları çalışmada vankomisin MİK değeri 256 µg/ml olarak bulmuşlardır. Bu değer bakterisidal etki olarak değerlendirilmemiştir. Kolistin-vankomisin kombinasyonunda ise ortalama FİK indeksi 0,016 olarak bulunmuştur ve sinerjistik etki saptanmıştır. Gordon ve arkadaşlarının (78) yaptıkları çalışmada vankomisin MİK değeri 256 µg/ml olarak saptanmıştır. Time-kill yöntemiyle uyguladıkları vankomisin kolistin kombinasyonunda ise ortalama FİK indeksi 0,25'e kadar düşerek sinerjik etki saptanmıştır. Perçin ve arkadaşları (89) vankomisinin MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini sırasıyla 128 ve 256 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Vankomisin-kolistin kombinasyonunda ise ortalama FİK indeksini 0,18 olarak bulmuşlar ve sinerjik etkinlik gösterdiğini saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise vankomisin MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri 16 µg/ml olarak bulundu. Kolistin-vankomisin kombinasyonunda ise ortalama FİK indeks değeri 1,02 bulundu. Suşların %58,3 ünde aditif etki saptandı. Vankomisinin tek başına *A. baumannii* suşları üzerinde etkinliğinin olmadığı ancak kolistin kombinasyonu ile sinerjistik ve aditif etki gösterdiği saptanmıştır. Bu sonuçlara bakılarak kolistin vankomisin kombinasyonu etkin bir kombinasyon olarak değerlendirilebilir.

Araştırmacıların çoklu ilaç direnci gösteren *A. baumannii* suşlarıyla farklı yıllarda ve farklı yöntemlerle yaptıkları bazı ilaç kombinasyonları Tablo 5.1.'de gösterilmiştir

Tablo 5.1. *A. baumannii*'nin çeşitli kombinasyonlarının denendiği bazı çalışmalara ait veriler.

	Yıl	Yöntem	Sulbaktam- Kolistin	Kolistin- Ampisilin/ Sulbaktam	Meropenem- Sulbaktam	İmipenem- Ampisilin/ sulbaktam	Kolistin- Rifampisin	Kolistin- İmipenem
Kiffer ve ark. (85)	2005	Checkerboard			%70 Sinerji			
Timurkaynak ve ark. (90)	2006	Checkerboard					%100 Sinerji	
Pongpech ve ark. (87)	2010	Checkerboard			%70 Sinerji			%100 Sinerji
Haddad ve ark. (5)	2003	E- test						%50 Sinerji
Çıkman ve ark. (72)	2013	E-test		%45 Sinerji %27 Antagonist				
Tripodi ve ark. (91)	2007	Time-kill					%100 Sinerji	
Lee ve ark. (73)	2008	Disk difüzyon	%100 Sinerji					

Bu ve benzeri birçok çalışmada bildirilen farklı sinerji oranlarına rağmen makalelerin detaylı incelenmesi, bu çalışmalarda dama tahtası yöntemi standart bir uygulama yöntemi ile yapılıyor olsa da, yapılan çalışmalarda FİK değerleri belirlenirken seçilen kuyucuk ve FİK değerlerini hesaplandıktan sonra etkileşim türünü belirlemek için kullanılan sınır değerleri arasında farklılık olduğunu göstermiştir (92).

Ülkemizde bildirilen sinerji çalışmaları incelendiğinde görülmüştür ki, araştırmacıların büyük çoğunluğunun uygulaması kolay ve zahmetsiz bir yöntem olması nedeniyle, sinerji çalışmalarında E-test yöntemi tercih etmişlerdir (93). Dama tahtası yöntemi kullanılarak yapılan sınırlı sayıdaki çalışmalarda, araştırmacılar sinerji tanımlaması için kullandıkları sınır değerlerini bildirirler de, dama tahtası plağını yorumlarken hangi yöntemi kullandıklarını net bir şekilde açıklamamaktadırlar. Kullanılan yöntemler dışında, test edilen izolatlarla ilgili olarak da sinerjistik aktivite oranlarının değişiklik gösterebileceği unutulmamalıdır.

Çoklu ilaç direnci gösteren *A. baumannii* kaynaklı enfeksiyonu bulunan hastaların tedavisinde önceden yapılmış *in-vitro* çalışmalar ışığında etkili olabilecek kombinasyonlar amprik olarak tercih edilebilir. Bununla birlikte, izolatın test edilen antimikrobiyal ajana yüksek direnç veya duyarlılık göstermesi, sinerjistik aktiviteyi değiştirebilmektedir. Bundan dolayı kullanılan kombinasyonun hastadan izole edilen suşa etkinliğinin sinerji testleri ile belirlenmesi kritik öneme sahiptir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

-Çalışmamızda çoklu ilaç direnci gösteren *A. baumannii* izolatlarında sulbaktam, vankomisin ve imipenem $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri 16 $\mu\text{g/ml}$, kolistin $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 2 $\mu\text{g/ml}$ ve 4 $\mu\text{g/ml}$ bulunmuştur.

-Sinerjistik ve antagonist etki dört kombinasyonun hiçbirinde gözlemlenmemiştir.

-Aditif etki en yüksek %75 oranıyla kolistin-sulbaktam, daha sonra %58,3'lük oranla kolistin-vankomisin, kolistin-imipenem kombinasyonlarında bulunmuştur. İmipenem-sulbaktam kombinasyonu %100 etkisiz bulunmuştur.

-Direnç oranlarının daha fazla yükselmemesi için uygun endikasyonlarda kombinasyon halinde antibiyotik kullanılması yararlı olacaktır.

-Farklı çalışmalarda FİK sonuçlarının değerlendirilmesinde farklı sınır değerleri kullanılmasından dolayı çalışmamızda dama tahtası yönteminden elde ettiğimiz verilerin yorumlanmasında sıkıntı yaşanmıştır. İlerki çalışmalarda benzeri sıkıntıların önüne geçmek amacıyla sinerji testleri ile altın standart olan time-kill yöntemi birlikte yapılmalı ve elde edilen veriler karşılaştırılarak standart bir FİK indeksi ve değerlendirme kriterleri çıkartılmalıdır.

-Tedavide kullanılacak kombinasyonlara dikkat edilerek bu şekilde oluşabilecek direnç mekanizmalarının önüne geçilmelidir.

-Sinerjistik etkileşim gözlenen kombinasyonlardan elde edilen klinik yararların araştırıldığı ileri çalışmalara gereksinim vardır.

7. KAYNAKLAR

1. **Çetin E, Kaya S, Tetik T, Arıdoğan B.** Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının örneklere göre dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg*, **2006**; 20: 202-205.
2. **Villages MV, Hartstein AI.** *Acinetobacter* outbreaks 1997-2000. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2003**; 24: 284-95.
3. **Saltoğlu N.** *Acinetobacter baumannii* infeksiyonları ve tedavisi, *XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi*, Antalya, **2007**: 204.
4. **Moody J.** Susceptibility tests to evaluate synergism. In: Isenberg HD, editor. *Clinical microbiology procedures handbook*. Washington, DC: ASM Press, **2004**; pp. 5.12.1– 23.
5. **Haddad FA, Van Horn K, Carbonaro C, Agüero-Rosenfeld M, Wormser GP.** Evaluation antibiotic combinations against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* using E-test. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **2003**; 24: 577-9.
6. **Bilgehan H.** Gram Negatif Basiller. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları. 10. baskı, İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, **2000**: 345-346.
7. **Berezin E, Towner KJ.** *Acinetobacter spp.* as nosocomial pathogens: Microbiological, clinical and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev*, **1996**; 9: 148-165.
8. **Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA.** *Pseudomonas* ve İlişkili Bakteriler, Başustaoglu AC. Tıbbi Mikrobiyoloji. 6. Baskı, Ankara: Atlas Kitapçılık Tic. Ltd. Şti., **2010**: 339.
9. **Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA.** *Pseudomonas*'lar, *Acinetobacter*'ler ve Ender Gram Negatif Bakteriler. Yenen OŞ., Tıbbi Mikrobiyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2010**: 266-267.
10. **Winn J, Stephen A, William J, Elmer K, Gary P, Schreckenberger P.** Gail Woods Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology Washington. 4th.Ed, Lippincott Williams & Wilkins, Washington, **2006**: 353-355.
11. **Dal T, Dal MS, Ağır İ.** *Acinetobacter baumannii*'de antibiyotik direnci ve AdeABC aktif pompa sistemleri. *Van Tıp Derg*, **2012**; 19: 137-148.
12. 04.11.2014. *Acinetobacter*. <http://en.wikipedia.org/wiki/Acinetobacter> (06.09.2014).
13. **Yıldırım Mİ.** Sefaperazon-sulbaktam, imipenem ve sefepimin antibiyoterapi etkinliklerinin çoğul dirençli ve duyarlı *Acinetobacter baumannii* ile oluşturulan deneysel ikili apse modelinde karşılaştırılması, *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Uzmanlık Tezi, Edirne, **2006**: 61s
14. **Speller DCE, Humphreys H.** Hospital-acquired infection. In: Collier L, Balows A, Sussman M (Eds.). *Topley&Wilson's Microbiology and microbial infections*. 9th ed. London; **1998**: p.187–229.
15. **Karagöl Ç.** Hastane kökenli *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları ve imipenem dirençli izolatların genotiplenmesi, *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Uzmanlık Tezi, Edirne, **2008**: 69s

16. **Goel KV, Kapil A.** Monoclonal antibodies against the iron regulated outer membrane Proteins of *Acinetobacter baumannii* are bactericidal. *BMC Microbiol*, **2001**; 1: 16- 23.
17. **Ayan M, Durmaz R, Aktas E, Durmaz B.** Bacteriological, clinical, and epidemiological characteristics of hospital acquired *Acinetobacter baumannii* infection in a teaching hospital. *J Hosp Infect*, **2003**; 54: 39–45.
18. **Bahar İH, Esen N.** *Acinetobacter* türleri ve diğer gram negatif nonfermentatif basiller. İçinde: Topçu, AW, Söyletir G, Doğanay M (Editörler). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi **2008**; 2195-2201.
19. **Yücesoy M, Yuluğ N, Kocagöz S, Ünal S, Çetin S, Çalangu S, and study group:** Antimicrobial resistance of gram-negative isolates from intensive care units in Turkey: Comparision to previous three years. *J Antimicrob Chemother*, **2000**; 2: 294.
20. **Hartzel DJ, Kim SA, Kortepeter MG, Moran KA.** *Acinetobacter* Pneumonia: A Review. *Med Gen Med*. **2007**; 9: 4-11.
21. **Allen DM, Hartman BJ.** *Acinetobacter* species. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, ed (s). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases 6th ed. **2005**; 2632-2636.
22. **D'Agata E.M.C., Thayer V., Schaffner W.** An outbreak of *Acinetobacter baumannii*: The importance of cross-transmission. *Infec Control Hosp Epidemiol*, **2000**; 21: 588-591.
23. **Özdemir M, Erayman İ, Gündem NS, Baykan M, Baysal B.** Hastane enfeksiyonu etkeni *Acinetobacter* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. *ANKEM Derg*, **2009**; 23: 127-132.
24. **Akalın H, Özakin C, Kahveci F, Sütçü Ş, Helvacı S, Gedikoğlu S.** Hastane kökenli pnömoniler. *Flora*, **1999**; 4: 253-7.
25. **Taşova Y, AkgünY, Saltoğlu N, Yılmaz G, Kara O, Dündar İH.** Nozokomiyal *Acinetobacter* enfeksiyonları. *Flora*, **1999**; 4: 170-6.
26. **Camkıran A. ve ark.** Cerrahi yoğun bakım ünitelerinde çok ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının on belirleyicileri. *Yoğun Bakım Derg*, **2011**; 9: 8-53.
27. **Başustaoğlu A, Özyurt M.** Nozokomiyal Patojen Olarak *Acinetobacter* 'lerin Mikrobiyolojik, Klinik ve Epidemiyolojik Özellikleri. *Hastan İnfeks Derg*, **1998**; 2: 88-93.
28. **Ferrara M.** Potentially multidrug-resistant non-fermentative Gram-negative pathoges causing nosocomial pneumonia. *Int J Antimicrob Agents*, **2006**; 27: 183-95.
29. **Yaman A, Taşova Y, Kibar F, Inal AS, Saltoglu N, Buyukcelik O.** Investigation of the antibiotic susceptibility patterns of pathogens causing nosocomial infections. *Saudi Med J*, **2004**; 25: 1403-9.
30. **Saballs M, Pujol M, Tubau F, Pena C, Montero A, Dominguez MA et al.** Rifampicin/imipenem combination in the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *J Antimicrob Chemother*, **2006**; 58: 697-700.
31. **Sader HS, Rhomberg PR, Jones RN.** In vitro activity of betalactam antimicrobial agents in combination with aztreonam tested against metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, **2005**; 17: 622-7.

32. **Akalın H.** Çoğul Dirençli Gram Negatif Bakteriler. İn. Doğanay M, Ünal S. Hastane Enfeksiyonları. Bilim Tıp Yayınevi, Ankara; **2003**; 269–289.
33. **Erben N, Kiremitçi A, Özgüneş İ.** Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter* Türlerinde Genişletilmiş Spektrumlu Beta-laktamaz ve İndüklenebilir Beta-laktamaz Sıklığının ve Antimikrobiyal Duyarlılığın Değerlendirmesi. *Osmangazi Tıp Derg*, **2006**; 28: 135-146.
34. **Seifert H, Baginski R, Schulze A.** Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* species. *Antimicrob Agents Chemother*, **1993**; 37: 750–753.
35. **Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydna E, Lal H, Quale J.** Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: Citywide 84 prevalence, inter-institutional spread and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis*, **2000**; 31: 101–6.
36. **Jiemenes-Mejias ME, Pichardo-Guerrero C, Marquez-Rivas FJ.** Cerebrospinal fluid penetration and pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters of intravenously administered colistin in a case of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **2002**; 21: 212–214.
37. **Akalın H.** Kolistin. *ANKEM Derg*, **2007**; 21: 26-28.
38. **Meriç M, Wilke A, Çağlayan Ç, Toker K.** intensive care unit-acquired infections: incidence, risk factors and associated mortality in a Turkish University Hospital. *Jpn J Infect Dis*, **2005**; 58: 297-302.
39. **Giamarellou H, Antoniadou A, Kanellakopoulou K.** *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health. *Int J Antimicrob Agents*, **2008**; 32: 106–119.
40. **Chambers HF, Neu HC.** Other b-lactam antibiotics, In Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (ed), Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Churchill Livingstone: **2000** p: 264-272.
41. **Munoz-Price L, Weinstein R.** *Acinetobacter* Infection. *N Engl J Med*, **2008**; 358: 1271-81.
42. **Peleg AY, Adams J, Peterson DL.** Tigecycline efflux as a mechanism for nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, **2007**; 51: 2065-2069.
43. **Bou G, Cervero G, Dominguez MA, Quereda C, Martinez BJ.** Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem hydrolyzing enzyme: high level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of beta-lactamases. *J Clin Microbiol*, **2000**; 38: 3299-3305.
44. **Fernandez-Cuenca F, Martinez-Martinez L, Conejo MC, Ayala JA, Perea EJ, Pascual A.** Relationship between beta-lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, **2003**; 51: 565-574.
45. **Lolans K, Rice TW, Munoz-Price SL, Quinn JP.** Multicity outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing the carbapenemase OXA-40. *Antimicrob Agents Chemother*, **2006**; 50: 2941-2945.
46. **Rasmussen BA, Bush K.** Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, **1997**; 41: 223-232.
47. **Dökmeci İ.** Kenoterapötik ilaçlar. Farmakoloji ilaç uygulamalarında temel kavramlar. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul; **1992**: 705-786.

48. **Hooper GC.** Quinolones. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds.). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and practice of infectious diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; **2000**; 404–19.
49. **Kurt H, Gündeş S, Geyik MF.** İnfeksiyon Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., **2013**; 44-46.
50. **Looveren VM, Goossens H.** The ARPAC Steering Group. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter spp.* in Europe. *Clin Microbiol Infect*, **2004**; 10: 684–704.
51. **Falagas ME, Kasiakou SK.** Colistin: The Revival of Polymyxins for the Management of Multidrug-Resistant Gram Negative Bacterial Infections. *Clin Infect Dis*, **2005**; 40: 1333–41.
52. **Pullukçu H, Ulusoy S.** Tigesiklin. *Flora*, **2008**; 13: 126-138.
53. **Çalık N, Akova M.** Tigesiklin. *ANKEM Derg*, **2007**; 21: 29-33.
54. **Ulusoy S.** Tigesiklin. *ANKEM Derg*, **2006**; 20: 117-119.
55. 12.02.2012. Demirtek U. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri. <http://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf> (04.12.2014).
56. **Gülây Z.** Antibiyotik kombinasyonlarının in-vitro etkinliğini ölçen testler, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu (ADTS) Çalışma Grubu Toplantısı, İstanbul, **1997**: 85-100.
57. **Bilgehan H.** Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 3. Baskı, İzmir: Barış Yayınları Fkülteler Kitabevi, **2002**: 145-175
58. **Clinical and Laboratory Standards Institute,** Performance standartd for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement. M100-S24, Wayne, PA, US, January, **2014**; S: 62-65
59. **Akın FO, Bayram A, Balcı İ.** Coğul dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında tigesiklin, kolistin ve polimiksin direncinin saptanmasında disk difüzyon, E-test ve broth mikrodilüsyon yöntemlerinin karşılaştırması. *Mikrobiyol Bul*, **2010**; 44: 203-10.
60. **Bauern A, Klijucars, Jungwirth R.** Overview of antibiotic Resistance problems in *Acinetobacter spp.* *J Med Microbiol*, **1997**; 46: 726.
61. **Corbella X, Montreo A, Pujol M, Dominguez MA. et al.** Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multi resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*, **2000**; 38: 4086.
62. **Go ES, Urban C, Burns J, Kreiswirth B, Eisner W, Mariano N, Mosinska-Snipas K, Rahal JJ.** Clinical and Molecular epidemiology of *Acinetobacter* infections sensitive only to polymyxin and sulbactam. *Lancet*, **1994**; 344: 329.
63. **Lortholary O. et al.** Nosocomial acquisition of Multiresistant *Acinetobacter baumannii*: Risk factors and prognosis. *Clin Infect Dis*, **1995**; 20: 790-6.
64. **Dijkshoorn L. ve ark.** Comparison of outbreak and non-outbreak *Acinetobacter baumannii* strains by genotyping and phenotyping methods. *J Clin Microbiol*, **1996**; 34: 1519.
65. **Yavuz MT, Şahin İ, Behçet M, Öztürk E, Kaya D.** Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg*, **2006**; 20: 107-10.

66. **Çolpan A, Güngör Ş, Baykam N, Dokuzoğuz B.** Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Acinetobacter* suşlarının antibiyotik direnç durumlarının karşılaştırılması. *İnfeks Derg*, **2002**; 16: 55-8.
67. **Aygün G, Dikmen Y, Mete B.** Yoğun bakım ünitesinde hastane infeksiyonu etkeni olarak belirlenen *Acinetobacter baumannii* kökenlerinin antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Derg*, **2002**; 16: 85-8.
68. **Souli M, Galani I, Giamarellou H.** Emergence of extensively drug-resistant and pan drug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. *Eurosurveillance*, **2008**; 13: 47.
69. **Eraksoy H, Basustaoglu A, Korten V.** Susceptibility of bacterial isolates from Turkey-a report from the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) Program. *J Antimicrob Chemother*, **2007**; 19: 650-7.
70. **Turner PJ.** MYSTIC Europe 2007: activity of meropenem and other broad-spectrum agents against nosocomial isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis*, **2009**; 63: 217-22.
71. **Gülay Z.** Gram Negatif Çomaklarda Antibiyotik Direnci: 2003-2004 Türkiye Haritası. *ANKEM Derg*, **2005**; 19: 66-77.
72. **Çıkman A, Ceylan MR, Parlak M, Karahocagil MK, Berktaş M.** İmipeneme Dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında Kolistin-Ampisilin/Sulbaktam Kombinasyonu Etkinliğinin Değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*, **2013**; 47: 147-151.
73. **Lee CH, Tang YF, Su LH, Chien CC, Liu JW.** Antimicrobial effects of varied combinations of meropenem, sulbactam, and colistin on a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolate that caused meningitis and bacteremia. *Microb Drug Resist*, **2008**; 14: 233-7.
74. **Sung H, Choi SJ, Yoo S, Kim MN.** In vitro antimicrobial synergy against imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Korean J Lab Med*, **2007**; 27: 111-117.
75. **Rodriguez CH, De Ambrosio A, Bajuk M.** In vitro antimicrobials activity against endemic *Acinetobacter baumannii* multiresistant clones. *J Infect Dev Ctries*, **2010**; 4: 164-167.
76. **Principe L, D'Arezzo S, Capone A, Petrosillo N, Visca P.** In vitro activity of tigecycline in combination with various antimicrobials against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, **2009**; 8: 18.
77. **Karşlıgil T, Balcı İ.** Nozokomiyal *Acinetobacter* izolatlarında antibiyotik direnci. *İnfeks Derg*, **2000**; 14: 511-514.
78. **Gordon NC, Png K, Wareham DW.** Potent synergy and sustained bactericidal activity of a vancomycin-colistin combination versus multidrug resistance strains of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, **2010**; 54: 5316-5322.
79. **Marques MB, Brookings ES, Moser SA, Sonke PB, Waites KB.** Comparative in-vitro antimicrobial susceptibilities of nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* and synergy activities of nine antimicrobial combinations. *Antimicrob Agents Chemother*, **1997**; 41: 881-885.
80. **Kurtoğlu MG, Opuş A, Kaya M. ve ark.** Bir eğitim ve araştırma hastanesinde klinik örneklerden izole edilen *A. baumannii* suşlarında antimikrobiyel direnç. *ANKEM Derg*, **2011**; 25: 35-41.

81. Akalın H. Yoğun bakım ünitelerinde *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* ve diğer tedavisi zor gram-negatif bakteriler. *Hastan İnfeks Derg* ,1999; 3: 202.
82. Uzel S, Özsüt H, Eraksoy H, Dilmener M, Çalangu S. Yoğun bakım biriminde ventilatörle ilişkili pnömoni etkeni olabilecek bakterilerin dağılımı ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Klinik Derg* ,1996; 9: 6.
83. Akan Ö. *Acinetobacter baumannii* izolatlarında antibiyotik direnci: 2002 yılı İbni Sina Hastanesi verileri, *Mikrobiyol Bul*, 2003; 37: 241-6.
84. Gazi H, Sürücüoğlu S, Kurutepe S, İnmez E, Dinç G, Özbakkaloğlu B: Yoğun bakım ünitesi ve diğer ünitelerde yatan hastalardan izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında in-vitro antibiyotik direnci. *ANKEM Derg*, 2005; 19: 115-8.
85. Kiffer CR, Sampaio JL, Sinto S, et al. In vitro synergy test of meropenem and sulbactam against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2005; 52: 317-22.
86. Song JY, Kee SY, Hwang IS, et al. In vitro activities of carbapenem/ sulbactam combination, colistin, colistin / rifampicin combination and tigecycline against carbapenem - resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, 2007; 60: 317- 322.
87. Pongpech P, Panapakdee S, Fungwithaya S, Nannha P. et al. Antibacterial Activity of Carbapenem-Based Combinations Againsts Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Med Assoc Thai*, 2010; 93: 161-71.
88. O'Hara JA, Ambe LA, Cosella LG, Townsend B. et al. Activities of Vancomycin Containing Regimens against Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii* Clinical Strains. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013; 57: 2103-2108.
89. Perçin D, Akyol S, Kalin G. In vitro synergism of combinations of colistin with selected antibiotics against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*. *GMS Hyg Infec Control*, 2014; 9: 2196-5226.
90. Timurkaynak F, Can F, Azap OK, Demirbilek M, Arslan H, Karaman SO. In vitro activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units. *Int J Antimicrob Agents*, 2006; 27: 224-8.
91. Tripodi MF, Fortunato R, Utili R, Zarrilli R. Comparative activities of colistin, rifampicin, imipenem and sulbactam/ampicillin alone or in combination against epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing OXA-58 carbapenemases. *Int J Antimicrob Agents*, 2007; 30: 537-40.
92. 12.10.2012. FİK Değerlerinin Araştırılması. http://www.mikrobiyobul.org/managete/fu_folder/2012-03/html/2012-46-3-410-420.htm (05.12.2014).
93. Çoban AY, Bilgin K, Uzun M, Durupınar B. Çok ilaca dirençli *Mycobacterium tuberculosis* klinik izolatlarına karşı linezolidin izoniazid ve rifampisin ile kombine etkisi. *Mikrobiyol Bul*, 2009; 43: 293-7.

8. ÖZGEÇMİŞ

03.11.1989 yılında Bolu’da doğdu. İlkokulu Bolu Milli Egemenlik İlkokulu ve Ankara Gazi Osman Paşa İlkokulunda; Ortaokulu Bolu 50. Yıl İzzet Baysal Ortaokulunda; Liseyi Bolu İzzet Baysal Anadolu Lisesi’nde tamamladı. 2012 yılında Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü ve Sakarya Üniversitesi Eğitim Fakültesi’nde biyoloji öğretmenliği pedagojik formasyon sertifika programını bitirdi. 2012 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim dalında yüksek lisansa başladı.

9. EKLER