



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ÇOĞUL DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII* SUŞLARINA
ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİK KOMBİNASYONLARININ İN VİTRO
SİNERJİSTİK ETKİSİ**

Ekrem YAŞAR
DOKTORA TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Kadri GÜL

DIYARBAKIR-2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ÇOĞUL DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII* SUŞLARINA
ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİK KOMBİNASYONLARININ İN VİTRO
SİNERJİSTİK ETKİSİ**

Ekrem YAŞAR

DOKTORA TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Kadri GÜL

DIYARBAKIR-2019



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DICLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anabilim Dalı
Doktora öğrencisi’nın hazırladığı
“ ”
başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: .../.../20..

Danışman _____

Jüri Üyeleri

İmza

Jüri Başkanı		_____
Üye		_____
Üye		_____
Üye		_____
Üye		_____

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun .../.../20..
tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü





**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

19/01/2019

Ekrem YAŞAR

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca büyük bir özveri ile bana her konuda destek olan, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, yol gösteren, çok değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Kadri GÜL'e,

Yine doktora eğitimim boyunca kendilerinden çok şey öğrendiğim, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, her konuda desteklerini hissettiğim, bana her zaman yardımcı olan çok değerli hocalarım, Prof. Dr. Adnan SUAY, Prof. Dr. Mahmut METE, Prof. Dr. Selahattin ATMACA, Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT, Prof. Dr. Tuncer ÖZEKİNCİ ve Doç. Dr. Muttalip ÇİÇEK hocalarıma,

İzolatları toplamama yardımcı olan Uz. Dr. Nida ÖZCAN'a, literatür tarama konusunda yardımcı olan Arş. Gör. Ecz. Neslihan GENİŞEL'e

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki diğer tüm çalışanlara,

Tez aşamasında tecrübelerini benimle paylaşan Doç. Dr. Serap SÜZÜK'e,

Bu zorlu süreçte beni destekleyen aileme, en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ekrem Yaşar

Diyarbakır 2019

İÇİNDEKİLER

ONAY	i
BEYAN.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER ve RESİMLER LİSTESİ	xii
1. ÖZETLER	1
1.1. Özet	1
1.2. Abstract	3
2. GİRİŞ ve AMAÇ	5
3. GENEL BİLGİLER.....	7
3.1. <i>Acinetobacter</i> Türleri, Genel Özellikler Ve Tarihçe	7
3.2. <i>A.baumannii</i> 'nin Virülans Faktörleri.....	8
3.2.1. Hücre yüzey özellikleri	8
3.2.2. Dokulara yapışma.....	8
3.2.3. Biyofilm oluşumu.....	9
3.2.4. Litik/toksik bileşik üretimi	10

3.2.5. Demir kazanım mekanizmaları.....	10
3.2.6. Quorum sensing.....	10
3.2.7. Hastane ortamında sağkalım.....	11
3.3. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonları.....	11
3.3.1. Solunum sistemi enfeksiyonları	11
3.3.2. Bakteriyemi	12
3.3.3. Üriner sistem enfeksiyonu.....	12
3.3.4. Diğer enfeksiyonlar	12
3.4. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarında Tedavi.....	13
3.5. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotikler	13
3.5.1. Karbapenemler	13
3.5.2. Beta-laktamaz inhibitörleri.....	14
3.5.3. Tigesiklin.....	14
3.5.4. Kolistin	14
3.5.5. Aminoglikozidler.....	15
3.5.6. Rifampisin	15
3.6. Kombinasyon Tedavileri	15
3.7. <i>Acinetobacter</i>ler’de Antibiyotiğe Özgü Direnç Mekanizmaları	16
3.7.1. Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç:	16

3.7.1.1. Doğal beta-laktamazlar	16
3.7.1.2. Kazanılmış beta-laktamazlar	17
3.7.1.3. Dış membran proteinlerindeki (OMP) değişiklikler.....	18
3.7.1.4. Penisilin-bağlayan proteinlerde (PBP) değişiklik.....	19
3.7.2. Aminoglikozidlere direnç.....	19
3.7.3. Kinolonlara direnç	20
3.7.4. Tetrasikline direnç	20
3.7.5. Rifampisine direnç	21
3.7.6. Trimetoprim sülfametoksazole direnç.....	21
3.7.7. Kloramfenikole direnç.....	21
3.7.8. Kolistine (Polimiksin E) direnç	21
3.8. Çoklu İlaç Efluks Sistemleri.....	22
3.9. Çoklu İlaç Direnci	22
3.10. Çoğul Dirençli <i>Acinetobacter</i> Tanımları	23
3.11. Antibiyotik Kombinasyon Testleri	23
3.12. Sinerji Saptama Yöntemleri.....	24
3.12.1. Dilüsyon yöntemleri (Checkerboard-dama tahtası)	25
3.12.2. Zamana bağlı öldürme kinetiği (Time-kill).....	28
3.12.3. Disk difüzyon yöntemi	28

3.12.4. E-test yöntemi.....	29
4. GEREÇ ve YÖNTEM.....	30
4.1. İzolatların Toplanması.....	30
4.2. İdentifikasyon	30
4.3. Kullanılan Malzemeler	30
4.4. Antibiyotik Kombinasyon Testleri	31
4.4.1. Antibiyotiklerin hazırlanması ve saklanması	31
4.4.2. Kombinasyonlarda kullanılan antibiyotikler ve hazırlanışları	32
4.4.3. Mikrodilüsyon CB yöntemi ile antibiyotik kombinasyon testi	36
4.4.4. İnokülasyon	38
4.4.5. İnokulum saflık kontrolü	39
4.4.6. İnokulum yoğunluk kontrolü	39
4.4.7. İnkübasyon	39
4.4.8. Kalite kontrol ve test geçerliliği	39
4.4.9. Okuma ve FİK hesaplama	40
4.4.10. Yorumlama	40
5. BULGULAR	43
6. TARTIŞMA	47
7. SONUÇ.....	52

8. KAYNAKLAR	53
9. ÖZGEÇMİŞ.....	60
10. EKLER.....	61
11. ORİJİNALLİK RAPORU.....	62



KISALTMALAR LİSTESİ

AK :	Amikasin
ATCC :	American Type Culture Collection
BK :	Besiyeri Kontrol
CB :	Checkerboard
CFU :	Colony Forming Unit
CHL :	Kloramfenikol
CIP :	Siprofloksasin
CLSI :	Clinical and Laboratory Standards Institute
ÇİD :	Çoklu İlaç Direnci
EMB :	Eosin Metilen Blue
EUCAST :	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FİKİ :	Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon İndeksi
GSBL :	Geniş Spektrumlu Beta-Laktamaz
KAMHB :	Kasyon Ayarlı Mueller Hinton Broth
kDa :	KiloDalton
KHO :	Karbapenemi Hidrolize eden Oksasilinazlar
LPS :	Lipopolisakkarid
MBL :	Metallo Beta-Laktamaz
MDR:	Multi Drug Rezistan
MEM :	Meropenem
MHB :	Mueller Hinton Broth
MİK :	Minimum İnhibitor Konsantrasyon
PBP :	Penisilin Bağlayan Protein
PDR :	Pan-Drug Resistance
RIF :	Rifampisin
SUL :	Sulbaktam
TK :	Time-Kill Metodu
ÜK :	Üreme Kontrol
VİP :	Ventilatör ilişkili pnömoni
XDR :	Extensive-Drug Resistance

TABLolar LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 4.1. Siprofloksasin-Amikasin kombinasyonu için antibiyotik çözeltilerinin hazırlanması.....	32
Tablo 4.2. Meropenem-Sulbaktam kombinasyonu için antibiyotik çözeltilerinin hazırlanması.....	33
Tablo 4.3. Meropenem-Rifampisin kombinasyonu için antibiyotik çözeltilerinin hazırlanması.....	34
Tablo 4.4. Kloramfenikol-Rifampisin kombinasyonu için antibiyotik çözeltilerinin hazırlanması.....	35
Tablo 4.5. 15 no’lu izolata ait hesaplanan FİK indeksleri.....	42
Tablo 5.1. Test edilen <i>A.baumannii</i> izolatlarının klinik örneklere göre dağılımı.....	43
Tablo 5.2. Bu çalışmada kullanılan antibiyotiklerin EUCAST (2017) kriterleri uyarınca <i>Acinetobacter sp.</i> için MİK sınır değerleri.....	43
Tablo 5.3. Mikrodilüsyon yöntemi ile test edilen <i>A.baumannii</i> suşlarının saptanan MİK aralıkları, MİK50, MİK90 değerleri ve kombinasyonlarda kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları.....	44
Tablo 5.4. Çalışmadaki antibiyotik kombinasyonu sonucu oluşan etkiler.....	44
Tablo 5.5. <i>A.baumannii</i> izolatlarına karşı antibiyotik kombinasyonlarının FİK indeksleri ve etkileşimleri.....	45
Tablo 6.1. Çeşitli dönemlerde yapılmış antibiyotik kombinasyon testlerinin karşılaştırmalı tablosu.....	51

ŞEKİLLER ve RESİMLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 3.1. <i>A.baumannii</i> 'nin sahip olduğu antibiyotik direnç mekanizmaları.....	19
Şekil 3.2. Disk tekniğiyle sinerji testi.....	29
Şekil 4.1. Siprofloksasin-Amikasin kombinasyonunun mikrolaktaki yerleşimi.....	32
Şekil 4.2. Meropenem-Sulbaktam kombinasyonunun mikrolaktaki yerleşimi.....	33
Şekil 4.3. Meropenem-Rifampisin kombinasyonunun mikrolaktaki yerleşimi.....	34
Şekil 4.4. Kloramfenikol-Rifampisin kombinasyonunun mikrolaktaki yerleşimi.....	35
Şekil 4.5. Kombinasyon testi çalışırken mikroplağın altına konulan kağıt şablon.....	36
Şekil 4.6. Kombinasyon plağında AB1 antibiyotiğinin yukarıdan aşağı seri dilüsyonu.....	37
Şekil 4.7. Başka bir plakta AB2 antibiyotiğinin sağdan sola seri dilüsyonu.....	37
Şekil 4.8. İkinci antibiyotik (AB2) için hazırlanan dilüsyonların 2.plaktan, 1.plağa aktarılması.....	38
Şekil 4.9. 15 No'lu suşa ait temsili görünüm.....	41
Resim 4.1. Siprofloksasin-Amikasin kombinasyonunun mikrolak üzerinde inkübasyon sonrası görünümü (15 No'lu izolat).....	41

1. ÖZETLER

Çoğul Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarına Çeşitli Antibiyotik Kombinasyonlarının İn Vitro Sinerjistik Etkisi

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Ekrem YAŞAR

Danışmanı: Prof. Dr. Kadri GÜL

Anabilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji

1.1. ÖZET

Amaç: *Acinetobacter baumannii*, özellikle yoğun bakım ünitelerinde, ventilatör ilişkili pnömoni, bakteriyemi vb. sağlık hizmetleri ile ilişkili ciddi enfeksiyonlara neden olan bir bakteridir. Ayrıca geniş spektrumlu antibakteriyel ilaçların yoğun şekilde kullanılması sonucu, *Acinetobacter*ler birçok antibiyotiğe karşı dirençli hale gelmiştir. Özellikle yeni antimikrobiyallerin geliştirilmesinin çok uzun zaman alması ve bakteriyel direncin hızlı gelişmesi, bu bakteriyle savaşta başka stratejiler geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Son yıllarda buna çözüm olarak, kombinasyon tedavileri gündeme getirilmektedir. Bu amaçla 4 farklı kombinasyonun etkinliği test edilerek, in vitro sinerji araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Şubat 2017-Temmuz 2017 tarihleri arasında, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Memorial Dicle Hastanesi yoğun bakım ünitelerinden mikrobiyoloji laboratuvarına gelen hasta örneklerinden izole edilen, çoğul dirençli 30 adet *A.baumannii* suşu, çalışma kapsamına alındı. İzolatların identifikasyonu konvansiyonel yöntemler ve Vitek-2 Compact (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemle yapıldı. Antibiyotik duyarlılık testleri yine Vitek-2 Compact otomatize sistem kullanılarak “European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)” önerilerine göre yapıldı. Antibiyotik kombinasyon testleri mikrodilüsyon checkerboard (dama tahtası) metoduyla yapıldı.

Bulgular: Toplam olarak dört farklı antibiyotik kombinasyonunun test edildiği bu çalışmada sinerji oranları; meropenem-sulbaktam kombinasyonunda %26,6, siprofloksasin-amikasin’de %26,6, kloramfenikol-rifampisin’de %10, meropenem-rifampisin’de %6,6 olarak gözlemlendi.

Sonuç: Bu çalışmada çoğul dirençli *A.baumannii* suşlarına karşı, in vitro olarak meropenem-sulbaktam ve siprofloksasin-amikasin kombinasyonlarında saptanan

sinerji oranları ümit verici olmakla birlikte, in vivo yanıtla birlikte değerlendirilmesi gerektiği, yapılan çalışmalara bakıldığında aynı kombinasyonlarla farklı sonuçlar alındığı, dolayısıyla kombinasyon testlerini her hastanenin kendi suşlarıyla, belli periyotlarla yapmasını önermekteyiz.

Anahtar Sözcükler: *Acinetobacter baumannii*, çoğul direnç, sinerji testleri, mikrodilüsyon checkerboard



In Vitro Synergistic Effects Of Various Antibiotic Combinations On Multiple-Drug Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains

Student's Surname and Name: YASAR Ekrem

Adviser of Thesis: GUL Kadri, Professor

Department: Medical Microbiology

1.2. ABSTRACT

Aim: *Acinetobacter baumannii* is a resistant bacteria can cause health care related infections such as bacteremia and ventilator related pneumonia in intensive care units. It has been resistant to many antibiotics due to intensive use of wide-spectrum antibacterial drugs. It is crucial to develop new strategies to defeat this bacteria due to fast growing resistance of *A.baumannii* to antibiotics and it is taking long time to develop a new antibacterial drug. Multi-drug combination therapies have been proposed in order to overcome these problems in recent years. For this purpose, the in-vitro synergistic effects of four different antibiotic combinations were investigated.

Material and Method: Thirty multi-drug resistant *A.baumannii* strains were included this study. All strains were isolated from samples that isolated from intensive care units of Dicle University Hospital and in between February 2017 and Memorial Dicle Hospital July 2017.

Identification of strains were performed with conventional methods and VITEK-2 automated system. Antibiotic sensitivity tests of these strains were also performed by using VITEK-2 Compact (bioMérieux, France) automated system according to suggestions of "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)". Microdilution checkerboard method was performed for testing efficacy of antibiotic combinations.

Results: Four different antibiotic combinations were tested. The synergistic effects of meropenem-sulbactam combination, ciprofloxacin-rifampicin combination, chloramphenicol-rifampicin combination, and meropenem-rifampicin combination were found %26.6, %26.6, %10 and %6,6 accordingly.

Conclusion: Although, in-vitro synergistic effects of meropenem-sulbactam and ciprofloxacin-amikacin combinations against multi-drug resistant *A.baumannii* strains are promising, in vivo studies are needed to better evaluate the response to

combination therapies. Because many studies have found different results with same combinations, this study suggest that each hospital should perform its combination tests in certain times by using its own strains.

Key Words: *Acinetobacter baumannii*, multi-drug resistant, synergy testing, microdilution checkerboard



2. GİRİŞ ve AMAÇ

Acinetobacter baumannii özellikle yoğun bakım hastalarında, ciddi enfeksiyonlara neden olan ve mevcut antibiyotiklerin büyük çoğunluğuna karşı direnç kazanmış bir bakteridir. Yoğun bakım ünitelerinde, ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) başta olmak üzere, kan dolaşımı, menenjit, yara ve üriner sistem enfeksiyonları gibi sağlık hizmetleri ile ilişkili ciddi enfeksiyonlara neden olan fırsatçı bir patojendir (1,2). Çoklu ilaç direnci nedeniyle tedavide büyük sıkıntılar yaşanmakta ve bu bakteriyle enfekte hastalarda mortalite hızı daha yüksek, hastanede yatış süresi daha uzun ve hastane maliyeti daha fazla olmaktadır (3).

Sağlık hizmetleri ile ilişkili enfeksiyonlarda gittikçe artan düzeyde çoğul ilaç direnci gösteren bakterilerin izole edilmesi nedeniyle, kombine antibiyotik kullanımı gündeme gelmiştir (4, 5, 6).

Kombine antibiyotik kullanımı özellikle hayatı tehdit eden ciddi enfeksiyonların tedavisinde, prognozu etkileyen olumlu bir faktör olarak değerlendirilmektedir (7, 8).

A.baumannii birçok ilaca doğal dirençli olduğundan ve kolaylıkla yeni direnç mekanizmaları kazanabildiğinden, oluşturduğu enfeksiyonların tedavisi çok zor olmaktadır. Çoğul dirençli *A.baumannii* suşlarıyla oluşan enfeksiyonların tedavisinde genellikle karbapenemler, kolistin, tigesiklin ve aminoglikozidler kullanılmaktadır. Ancak tüm bu antibiyotiklere dirençli izolatlar da görülebilmektedir (9).

Birçok çalışmada *A.baumannii* 'ye karşı antibiyotik kombinasyon testleri yapılmış olup, kullanılan yöntemler arasındaki veya test edilen antibiyotik kombinasyonları arasındaki farklar veya bölgesel suşların kendilerine has direnç özellikleri nedeniyle, sinerji saptama konusunda farklı suşlarla ve kombinasyonlarla çalışma ihtiyacı doğmuştur (4, 7).

Antibiyotik kombinasyon testleri, suşların izole edildiği hastanedeki suşların antibiyotiklere duyarlılığı konusunda yol göstermekte olup, bu bakteriyle oluşan enfeksiyonlarda tedavi seçeneklerini arttırmayı, ayrıca bu bakterinin direnç geliştirmesini önlemeyi amaçlamaktadır (8).

Bu amaçla planlanan çalışmamızda, mikrodilüsyon checkerboard (dama tahtası) tekniği kullanılarak 4 farklı antibiyotik kombinasyonunun in vitro etkinliği test

edildi. Üzerinde en çok çalışma yapılan kombinasyonlardan biri olan meropenem-sulbaktam (MEM-SUL) kombinasyonu yanında literatürde çok az çalışılan siprofloksasin-amikasin (CIP-AK) ve meropenem-rifampisin (MEM-RIF) kombinasyonunun etkinliğinin saptanması amaçlandı. Ayrıca literatürde *Acinetobacterlere* karşı hiç test edilmeyen kloramfenikol-rifampisin (CHL-RIF) kombinasyonu da çalışma kapsamına alındı.

Rifampisinin özellikle kolistinle kombinasyonunun *Acinetobacterlere* karşı sinerjistik etkisi çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (10, 11, 12). Dolayısıyla rifampisinin, kloramfenikol ve meropenem ile sinerjistik etkisinin araştırılması da bu çalışmanın amaçlarından biridir.



3. GENEL BİLGİLER

3.1. *Acinetobacter* Türleri, Genel Özellikler Ve Tarihçe

Tarihte ilk olarak 1911 yılında, Hollandalı bir mikrobiyolog olan Beijerinck tarafından topraktan izole edilmiş ve *Micrococcus calcoaceticus* olarak adlandırılmıştır. *Acinetobacter* kelimesi Yunanca "akinetos" kelimesinden köken alıp, hareketsiz manasına gelmektedir. Brisou ve Prevot 1954'te, *Achromobacter* cinsindeki hareketsiz mikroorganizmaları hareketli mikroorganizmalardan ayırmak için *Acinetobacter* ismini cins isim olarak önermişlerdir. Bu öneri 1968'de Baumann ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmaların ardından kabul görmüştür. 1971'de ise *Moraxellaceae* ailesi içinde *Acinetobacter* cinsi olarak sınıflandırılmışlardır (13, 14). *Acinetobacter* genusunda, 25 adet tür bulunmaktadır (15).

Acinetobacter baumannii, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter pittii* (*Acinetobacter* genomik tür 3) ve *Acinetobacter nosocomialis* (*Acinetobacter* genomik tür 13TU) sakkarolitik özellikte olup oksidasyon- fermentasyon besiyerlerinde karbonhidratların hepsinden asit oluşturmaktadırlar. Fenotipik özelliklerine göre ayırt edilemediklerinden *A.calcoaceticus*-*A.baumannii* kompleks olarak adlandırılmaktadır (13, 14, 16).

Dolayısıyla konvansiyonel yöntemler, ya da otomatize bakteri identifikasyon sistemleri ile biyokimyasal özelliklerine göre tanımlanan *A.baumannii* izolatları, aslında *A.calcoaceticus*-*A.baumannii* kompleksidir. Uygulamada kolaylık olması amacıyla *Acinetobacter baumannii* kompleksi veya *Acinetobacter baumannii* olarak kullanılmaktadır (17).

Acinetobacter türleri, koloni yapısı olarak, enterobakterilerden biraz daha küçük olup, opak, pigmentsiz, S tipi koloni, Mac Conkey agarda renksiz koloniler oluştururlar. Aerobik şartlarda 35-37 °C de üreyen nonfermenter bakterilerdir. Oksidaz negatif, katalaz pozitif, indol negatif, nitrat redüksiyonu yapmayan, zorunlu aerop üreyen, hareketsiz bir gram negatif kokobasildir. Dekolorizasyon zorluğu nedeniyle gram boyamada, yanlışlıkla gram pozitif olarak değerlendirilebilir. Üremenin logaritmik döneminde basil şeklinde, duraklama döneminde ise kok şeklinde görünür, dolayısıyla bu kokobasil, diplokok yapısıyla gram boyamada *Haemophilus* ve *Neisseria* türleri ile karıştırılabilir (18).

A.baumannii doğada çok yaygın görülen, ayrıca insan deri florasında da yer alan fırsatçı bir patojendir. Birçok çevresel ortamda yaşayabilen ve yüzeylerde uzun süreler canlı kalabilen *A.baumannii*, hastane ortamında çok kolay kolonize olmakta ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde sağlık hizmetleri ile ilişkili enfeksiyonlara neden olmaktadır. *A.baumannii*, özellikle ventilatörle ilişkili pnömoni başta olmak üzere solunum yolu enfeksiyonları, bakteriyemi, menenjit, üriner sistem, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarından izole edilmektedir (2, 19).

A.baumannii, bağışıklığı baskılanmış bireylerde, özellikle de hastanede kalış süresi uzun olan (90 günü geçen) hastalarda, yüksek bir insidansa sahiptir (13).

Sağlık Bakanlığı Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı (UHESA) 2017 verilerine göre Türkiye’de sağlık hizmeti ilişkili tüm enfeksiyonlarda etken olarak *A.baumannii* %20,99 oranıyla ilk sırada yer almaktadır. Yine pnömonide ve ventilatör ilişkili pnömonide sırasıyla %35,6 ve %44,4 oranıyla en çok enfeksiyona neden olan bakteridir (20).

3.2. *A.baumannii*’nin Virülans Faktörleri

3.2.1. Hücre yüzey özellikleri

Acinetobacter türlerindeki polisakkarid kapsül L-ramnoz, D-glukoz, D-mannoz ve D-glukuronik asitten meydana gelmektedir. Bakteri yüzeyinin hidrofilik olmasını sağlayan kapsül yapısı ayrıca bakterinin fagositozdan korunmasına da yardımcı olur. Bunların dışında intravenöz kateterler, trakeal kanüller gibi invaziv aletlerin yüzeyine bakterinin tutunmasını ve dokulara penetre olmasını sağlar (2).

Bir çalışmada *A.baumannii* izolatlarından kapsül pozitif fenotipe sahip olanların insan asit sıvısında çok kolay ürediği ve insan serumunda yaşam sürelerinin arttığı; öte yandan kapsül negatif olan izolatların ise tümüyle elimine edildiği gösterilmiştir (1).

3.2.2. Dokulara yapışma

Polisakkarid yapıdaki yüzey elemanları, glikoproteinden oluşan fimbrialar ve membran komponentleri, bakterinin dokulara tutunmasını sağlar. AbOmpA *A.baumannii* hücre duvarında bulunan bir yüzey proteini olup, bakterinin epitelyal hücrelere adhezyonunu ve dokulara invazyonunu sağlar (2).

Kolonizasyon veya enfeksiyon ile sonuçlanacak olan konak-patojen arasındaki etkileşimin birinci evresi, patojen etkenin konak hücrelerine bağlanmasıdır. Bakterinin konak hücrelerine adhezyonu, fimbria ve membran komponentleri yardımı ile olmaktadır. İlk olarak *Acinetobacter* RAG-1 suşu ve *A.calcoaceticus*'un epitel ve lenfositlere yapıştığı gösterilmiştir. Sonradan *A.baumannii* izolatlarının insan eritrositleri ve bronşiyal epitel hücrelerine de tutunduğu belirlenmiştir. Bu tutunma işlemi, bakterinin sahip olduğu, uzun, ince ve mannoza dirençli polisakkarid fimbrialar aracılığıyla meydana gelmektedir (1, 2).

3.2.3. Biyofilm oluşumu

A.baumannii çeşitli biyotik ve abiyotik yüzeyde biyofilm oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Bakterinin çeşitli yüzeylerde kolonize olmasına, konak immün sisteminden kaçmasına ve antibiyotik direncine neden olan biyofilm yapısı, virulansta çok önemli rol oynamaktadır. Çoğul dirençli *A.baumannii* izolatlarının daha yüksek kapasitede biyofilm oluşturdıklarını gösteren çalışmalar vardır (9).

Biyofilm birçok bakteri tarafından üretilmekte olup , bakterinin antimikrobiyal ajanlardan ve konağın immün yanıtından korunmasına yardımcı olmak suretiyle patogeneizde önemli bir rol oynar. Çoğul dirençli *A.baumannii* izolatlarının çok daha fazla biyofilm oluşturduğu ve bunun diğer membran proteinlerinin birikimi ile paralel olduğu saptanmıştır. Yine aminoglikozid kullanımı sonrası biyofilm üreten *A.baumannii* kolonizasyon ve enfeksiyon riski artmaktadır. Ayrıca PER-1 beta-laktamaz geni taşıyan *A.baumannii* kökenlerinin biyofilm üretimi ve epitel hücrelere adhezyonunun bu geni içermeyen kökenlere oranla daha fazla olduğu saptanmıştır (1).

Acinetobacter türlerinde biyofilm üretimi ile ilgili mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Bakteriler biyofilm oluşturmak için öncelikle biyofilmin oluşacağı bölgeye flagella hareketi ile ulaşırlar. Ancak *Acinetobacter* türlerinde flagella bulunmamaktadır. Dolayısıyla biyofilm oluşturmak için en önemli komponentlerin pili oluşum sistemleri ve hücre dışına salgılanan OmpA proteini olduğu düşünülmektedir (1, 2).

3.2.4. Litik/toksik bileşik üretimi

A.baumannii izolatlarının çoğu, klinik olarak çok önemli çeşitli lipopolisakkaridler (LPS) üretir. Konağın endotoksine karşı oluşturduğu immün yanıtın ve klinik semptomların bu yapıdan kaynaklandığı düşünülmektedir (1).

Ekstraselüler enzim üretebilme yeteneği, *Acinetobacter* türlerinin başka bir virülans faktörüdür. Bu enzimlerin lipid yıkımına sebep olduğu, farelerde letal etkili olduğu ve hem in vitro hem in vivo çalışmalarda nötrofiller üzerinde olumsuz etki meydana getirdiği belirtilmektedir. Ayrıca, solunum yolu enfeksiyonu olan hastalardan soyutlanan *A. baumannii* kökenlerinden hazırlanan kültür filtratlarının, farelerin akciğer hücreleri üzerinde sitotoksik etki oluşturduğu saptanmıştır (1).

Yine *A.baumannii*'de bulunan dış membran veziküllerinin, konak hücrede sitotoksik etki gösteren outer membrane protein A (OmpA) içerdiği ortaya çıkarılmış ve bu proteininin önemli bir virülans faktörü olduğu belirtilmiştir (1, 2).

3.2.5. Demir kazanım mekanizmaları

Enfeksiyonun devam ettirilebilmesi için bakterinin belli bir hızda çoğalması ve çoğalırken de ihtiyaç duyduğu demiri konak ile yarışarak sağlaması gerekmektedir. Bakteriler demir iyonu kazanımında üç temel yol izlerler (9).

- 1) Siderofor olarak adlandırılan endojen demir-III şelatörlerini üretmek
- 2) “Hem” gibi dış kaynaklı şelatörleri almak
- 3) Demir-II iyonlarını doğrudan almak

Mikroorganizmalar konakta varlığını sürdürebilmek için, öncü demir moleküllerini kullanırlar ve bu işlemi yüksek afiniteli demir kazanım sistemlerini eksprese ederek sağlarlar. Bu amaçla eksprese edilen sideroforlar bakterinin demir kazanımını sağlamanın yanında enfekte konakta hücre hasarı da meydana getirerek bir virülans faktörü görevi yapmaktadır. (1, 2, 9).

3.2.6. Quorum sensing

Quorum sensing (QS) bakteri hücreleri arasındaki iletişimin, bazı sinyal molekülleri kullanılarak gerçekleşmesi ve bakterinin kendisini yeni duruma adapte etmeye çalışmasıdır (21).

Bakteri çeşitli mekanizmalar yardımıyla besin kaynağı, ozmolarite, pH, ve popülasyon artışı gibi çevresel şartlarda bir değişiklik algıladığı zaman, metabolizmasında birtakım değişiklikler yapar ve yeni şartlara uyum sağlamaya çalışır. Bu sistemi kullanarak bakteri davranışlarını ortam şartlarına göre koordine eder. Gerekirse aynı besin için yarışan diğer bakterilere karşı savaşabilir ayrıca enfeksiyon sırasında virülans faktörlerinin regülasyonu sayesinde konağın immün yanıtından kaçabilmektedir (1).

3.2.7. Hastane ortamında sağkalım

Bir bakterinin, besinlerin çok sınırlı bulunduğu bir ortamda ve elverişli olmayan yüzeylerde yaşayabilme yeteneği, çevresel ortamlarda çok uzun süre canlı kalmasına, dolayısıyla daha kolay yayılmasına neden olmaktadır. Bu durum bakterinin, hastane cihaz ve ekipmanlarındaki kolonizasyonunun uzun süreli olmasına ve salgınların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. *A.baumannii* birçok antibiyotiğe dirençli olması yanı sıra doğal ve sağlık hizmetleri ile ilişkili çevrelerde uzun süre canlı kalabilme yeteneği, enfeksiyonun kontrolünü ve tedavisini çok güçleştirmektedir (1, 2).

3.3. *Acinetobacter* Enfeksiyonları

Sağlık hizmetleri ile ilişkili enfeksiyonlarda önemli rol oynayan *A.baumannii* insan enfeksiyonlarında rol aldığından tıbbi olarak en büyük öneme sahiptir. Bu fırsatçı patojenin neden olduğu ciddi sağlık hizmetleri ile ilişkili enfeksiyonlar içerisinde; VİP, pnömoni, üriner sistem enfeksiyonları, sepsis ve yara/yanık enfeksiyonları yer almakta, mortalite oranları %30-50 arasında değişmektedir. *A.baumannii* ayrıca, alkol bağımlısı olan kişilerde ciddi toplum kökenli pnömoniye, kronik periton diyalizi alan hastalarda ise peritonit gibi enfeksiyonlara neden olmaktadır (1, 2).

3.3.1. Solunum sistemi enfeksiyonları

Acinetobacter türlerinin en sık neden olduğu enfeksiyon pnömoni olup, hem toplum kaynaklı, hem de hastane kaynaklı olabilmektedir (2). UHESA 2017 verilerine göre VİP etkenleri arasında *Acinetobacter* türleri %44,4 oranıyla ilk sırada yer almaktadır (20).

Mekanik ventilatör , hastanede yatış süresinin uzun olması ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı *Acinetobacter* enfeksiyonları için ciddi risk oluşturmaktadır (22). Multilober tutulum, kavitasyon, plevral efüzyon ve bronkopulmoner fistül oluşumu *Acinetobacter* pnömonisinde sık görülmektedir (2). Sağlık hizmetleri ile ilişkili *Acinetobacter* pnömonisinde mortalite %30-70 oranında bildirilmektedir (14).

Toplum kaynaklı pnömoni, erişkinlerde konak immünitesini zayıflatan alkolizm, sigara, diabetes mellitus, böbrek yetmezliği, altta yatan akciğer hastalığı vb. durumlarda daha çok görülür. *Acinetobacter* türlerine bağlı gelişen toplum kaynaklı pnömoni ani başlangıçlı ve fulminan seyirli olmaktadır (2).

3.3.2. Bakteriyemi

Acinetobacter'e bağlı bakteriyemi sık görülmektedir (%18-20) ve mortalitesi yüksektir (%17-65). Sağlık hizmetleri ile ilişkili bakteriyemiler çoğunlukla solunum sistemi enfeksiyonları ve intravenöz kateter ile ilişkilidir. Pnömoni ile birlikte olması mortaliteyi arttırır (23, 24). Amerikada 1995-2002 yılları arasında yapılan bir çalışmada kan dolaşımı enfeksiyonlarının %1,3'ünün *A.baumannii*'ye, bağlı olduğu saptanmıştır. Yine bu çalışmada yoğun bakım ünitelerinde görülen kan dolaşımı enfeksiyonlarının %1,6 sının *A.baumannii* tarafından oluşturulduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada yoğun bakım servislerinde en çok mortaliteye sebep olan ilk üç bakteri; *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida spp.* ve *A.baumannii* olarak sıralanmıştır. Türkiye'de UHESA 2017 verilerine göre sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda kandan izole edilen etkenlerin %11,5 ini *Acinetobacter* türleri oluşturmaktadır (20, 25).

3.3.3. Üriner sistem enfeksiyonu

Acinetobacter'e bağlı gelişen üriner sistem enfeksiyonları çoğunlukla sonda takılması, torba değiştirilmesi vb. işlemler esnasında elleri bu bakteriyle kontamine personelden bulaşmaktadır. Üriner sistem enfeksiyonu olan hastaların çoğunda enfeksiyon öncesi sonda uygulaması yapıldığı saptanmıştır (23).

3.3.4. Diğer enfeksiyonlar

Acinetobacter türleri yukarıda sayılanların dışında, çok olmamakla birlikte endokardit, santral sinir sistemi enfeksiyonları, deri-yumuşak doku ve kemik

enfeksiyonları, korneal ülserasyonlar, septik artrit, peritonit, pankreatit, karaciğer absesi gibi enfeksiyonlara da neden olabilmektedir (2, 23).

Acinetobacter endokarditi tipik olarak akut ve ciddi seyirlidir. Doğal kapaklarda gelişen endokardit prostetik kapaklarda gelişen endokardite oranla daha mortal seyretmektedir (2).

3.4. *Acinetobacter* Enfeksiyonlarında Tedavi

A.baumannii izolatlarının çoğu amino penisilinler (ampisilin, ampisilin-sulbaktam, amoksisilin klavulanat vb), üreidopenisilinler (piperasilin, piperasilin-tazobaktam, mezlosilin vb), geniş spektrumlu sefalosporinler, aminoglikozidlerin çoğunluğu, kinolonlar, tetrasiklinler ve kloramfenikol gibi sık kullanılan antibakteriyellere direnç kazanmıştır. Bundan dolayı tedavide karbapenemler sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde artık tüm dünyadan yüksek oranda karbapenem direnci bildirilmekte, hatta bazı izolatlarda mevcut tüm antibiyotiklere direnç saptanmaktadır (19).

Acinetobacter enfeksiyonlarında görülen yüksek direnç oranları tedavi seçeneklerini sınırlamaktadır. Çoğul dirençli *Acinetobacter* spp. enfeksiyonları 1980'li yıllardan beri sürekli artmakta, bazen ortaya çıkan panrezistan izolatlar ciddi sorunlar meydana getirmektedir (26). Ciddi *A.baumannii* enfeksiyonlarında monoterapiyi destekleyen randomize klinik çalışmalar bulunmamaktadır. *Acinetobacter* enfeksiyonlarında yüksek morbidite ve mortalite riski nedeniyle, bir an önce etkili sonuç almak için kombinasyon tedavileri çoğunlukla tercih edilmektedir (14).

3.5. *Acinetobacter* Enfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotikler

3.5.1. Karbapenemler

Duyarlı izolatlarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek antibiyotiklerden olmakla birlikte, tedavi sırasında direnç gelişebileceği gözden kaçırılmamalıdır. Karbapenemlerin aşırı kullanımı OXA beta-laktamaz taşıyan *Acinetobacter* suşlarının hakimiyetini artırarak direnç gelişimine neden olmaktadır. Monoterapide çoğunlukla karbapenemler tercih edilmelerine rağmen, son yıllarda "Multi Drug Rezistan (MDR)" *Acinetobacter* türlerinin ortaya çıkması nedeniyle,

kombinasyon tedavileri gündeme gelmiştir. İn vitro çalışmalarda karbapenemlerin aminoglikozidle veya sulbaktamla kombinasyonunun sinerjistik etkili olduğu gösterilmiştir. Yeni bir karbapenem olan doripenem, *Acinetobacter* türlerine etkili olmasına rağmen dirençli suşların oluşturduğu OXA karbapenemaz veya metallo beta-laktamazlar tarafından inaktive edilmektedir (26).

3.5.2. Beta-laktamaz inhibitörleri

Beta-laktamaz inhibitörleri olan sulbaktam ve klavulanat *Acinetobacter* türlerine karşı in vitro etkilidir. Sulbaktam, karbapenemlere dirençli suşların da dahil olduğu *Acinetobacter* türlerine karşı diğer beta-laktamaz inhibitörlerinden daha etkilidir. MDR suşlarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde etkili sonuçlar alınmıştır. Sulbaktam, ilaç olarak tek başına üretilmeyip, ticari olarak ampisilin veya sefoperazon ile kombine olarak bulunmaktadır. Ampisilin-sulbaktamın tek başına kullanılması direnç gelişimine neden olduğundan tavsiye edilmemektedir. Ancak, MDR suşlarda karbapenem direncinde artış görülmesiyle paralel bir şekilde sulbaktam direncinin de artması, gözden kaçırılmaması gereken bir noktadır. Klavulanat bazı *Acinetobacter* türlerine karşı düşük MİK düzeylerinde bile etkili olabilmesine rağmen klinik kullanımı ile ilgili yeterli veri yoktur (26, 27).

3.5.3. Tigesiklin

Karbapenem ve kolistine dirençli *Acinetobacter* suşlarına karşı in-vitro olarak çoğunlukla etkilidir. Tedavide kullanılacak ise MİK düzeyleri belirlenmelidir. Bir çalışmada karbapeneme dirençli *Acinetobacter spp.* salgınlarının kontrolünde tigesiklin kullanılan grupta, kullanılmayan gruba göre daha hızlı tedavi sağlandığı belirtilmiştir. Fakat tedavi esnasında tigesikline direnç geliştiği bildirilen çalışmalar da mevcuttur (26).

3.5.4. Kolistin

Kolistin (Polimiksin E) eski bir antibiyotik olup, çoğul dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Bir çalışmada kolistinin *Acinetobacter* suşlarının % 98'ine in vitro olarak etkili olduğu belirtilmiştir (26).

Kolistin bakteride dış membranın yapısını bozarak, hücre içeriğinin dışarı sızmasına ve sonuç olarak bakteri ölümüne neden olur (28).

İntravenöz kullanılan kolistin akciğer dokusuna geçişi zayıftır. Bu yüzden akciğer enfeksiyonlarında inhaler formunun önerildiği çalışmalar mevcuttur (29).

Tedavide kullanılacağı zaman MİK (Minimum inhibitör konsantrasyon) düzeyleri saptanmalıdır. Bakteriyemi, pnömoni ve menenjit olgularında kullanımını destekleyen çalışmalar mevcuttur. En önemli yan etkisi nefrotoksisitedir. Direnç gelişimini engellemek amacıyla, kolistin sadece çoğul dirençli etkenlerle gelişen enfeksiyonların tedavisinde kullanılmalıdır (26, 27).

3.5.5. Aminoglikozidler

A. baumannii gibi gram-negatif basiller tarafından oluşturulan enfeksiyonların tedavisinde, aminoglikozidler sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak *Acinetobacter* klinik izolatlarında aminoglikozid direncinin gittikçe arttığı gözlenmektedir (27, 30).

3.5.6. Rifampisin

Hızlı direnç gelişimi nedeniyle rifampisin gerek *Acinetobacter* gerekse de diğer duyarlı bakterilerle oluşan enfeksiyonlarda tedavide tek başına kullanılmamalıdır. Çoğul dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonlarında kolistin ile kombinasyon şeklinde kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Karbapenem dirençli *A. baumannii* pnömonisinin deneysel olarak oluşturulduğu bir çalışmada, kolistin akciğer doku penetrasyonunun iyi olmadığı, bundan dolayı, özellikle pnömoni olgularında rifampisinin tercih edilebileceği belirtilmiştir (26, 27).

3.6. Kombinasyon Tedavileri

Kombinasyon tedavileri özellikle çoğul dirençli suşların oluşturduğu enfeksiyonlarda öne çıkmaktadır (26).

Antibiyotik kombinasyonları ciddi enfeksiyonların başlangıç tedavisi dışında, dirençli izolatlarla karşı sinerjistik etki elde etmede, ilaçların doza bağlı toksisitesini azaltmada, polimikrobiyal enfeksiyonların tedavisi ve dirençli bakterilerin insidansını düşürme gibi amaçlar için de tercih edilebilmektedir (8, 31).

Çoğul dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarında çok sayıda kombinasyon tedavisi önerilmektedir. Kombine terapinin, monoterapiden daha etkili olduğunu gösteren

alışmalar vardır. Başta kolistin ve karbapenem temelli olmak üzere bugüne kadar birçok değişik kombinasyonla çeşitli çalışmalar yapılmıştır (27).

3.7. *Acinetobacter*ler’de Antibiyotiğe zg Direnç Mekanizmaları

3.7.1. Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç:

Acinetobacter türlerinde beta-laktam antibiyotiklere direnç, kromozom ya da plazmid tarafından kodlanan beta-laktamaz üretimi sonucu oluşmaktadır. “Penisilin bağlayan proteinlerde (PBP)” ortaya çıkan değişiklikler ve antibiyotiğe özgü olan dış membran porinlerinin kaybı da, *A.baumannii*’nin beta-laktam direncinde rol alan diğer mekanizmalar arasındadır (14, 32).

Beta-laktamazlar doğal ve kazanılmış olmak üzere ikiye ayrılır.

3.7.1.1. Doğal beta-laktamazlar

Dikey yolla aktarılabilen bu enzimler, cins ya da türün tüm suşlarında bulunmaktadır. Bunlar *A.baumannii* kompleksine ait izolatların byk çoğunluğunda tanımlanmış ampC tipi sefaloporinazlar ve OXA-51 benzeri beta-laktamazlardır (32).

Karbapenemi hidrolize eden oksasilinazlar (KHO) olarak da bilinen OXA-51 az rastlanan beta-laktamazlardandır (33).

Bugüne kadar 120’den fazla D grubu beta-laktamaz tanımlanmıştır. Bunlardan 45 tanesi KHO aktivitesine sahiptir. KHO grubundaki bu OXA enzimleri, *A.baumannii* tipine özgül olup, bu bakterideki karbapenem direncinin en büyük sorumlusu olarak kabul edilmektedir (33).

A.baumannii OXA-51 benzeri enzim analizleri sonucunda, bütün izolatlarda *bla_{OXA-51}* benzeri gen bulunduğu, ancak karbapenem direncine sadece *ISAbal* ile komşu olan *bla_{OXA-51}* benzeri genleri taşıyan suşların sahip olduğu saptanmıştır. Bu yüzden *ISAbal*, *bla_{OXA-51}* için regülatör gibi görünmektedir (32).

OXA-51 benzeri enzim kümesinin genomik kaynağı halen bilinmemektedir. Ancak antibiyotik üreten toprak mikroorganizmalarına karşı direnç mekanizması olarak veya bilinmeyen organizmalardan kaynaklanıp kromozoma entegre olma ihtimali ne çıkmaktadır. Ayrıca OXA-51 enzim kümesi yeleri *A.baumannii*’nin

suşlarının hemen hemen tümünün doğal yapısında bulunmakla birlikte, diğer *Acinetobacter* türlerinde bulunmamaktadır (32).

AmpC beta-laktamazlar karbapenem dışında kalan geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklere direnç sağlamaktadır. Ayrıca AmpC beta-laktamazların hidrolitik aktivitesi klavulanik asitle inhibe olmamaktadır (34).

Acinetobacter ampC beta-laktamazların amino asit dizilimlerinin benzer olması, bu enzimlerin tek bir enzim ailesinden geldiğini düşündürmektedir. Bu enzim birinci kuşak sefalosporinleri, üreidopenisilinleri ve aminopenisilinleri çok etkili bir şekilde hidroliz eder (32).

3.7.1.2. Kazanılmış beta-laktamazlar

a-Geniş-spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL)

Acinetobacter türlerinde bulunan plazmid aracılı kazanılmış beta-laktamazlar, öncelikle TEM, ardından SHV enzimlerinin gösterilmesiyle gündeme gelmiştir. Ampisilin, üreidopenisilinler ve karboksipenisilinlere karşı oluşan direncin bu enzimlerin varlığına bağlı olduğu, ancak bu enzimlerin karbapenemlere ve geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı etkili olmadığı belirtilmiştir. GSBL'leri *Acinetobacter*'lerde saptamak zordur ve özel çaba gerektirir. Diğer bakterilerde bu genler çoğunlukla plazmid aracılığıyla geçmektedir, ancak *Acinetobacter* türlerinin bu enzimleri nasıl kazandığı bilinmemektedir (32).

b-Metallo-beta-laktamazlar (MBL)

Metallo-beta-laktamazlar (MBL), aztreonam dışında tüm beta-laktam antibiyotikleri karbapenemler de dahil olmak üzere hidroliz etme kapasitesine sahiptir (35).

Metallo-beta-laktamazlar plazmid aracılığıyla yayıldığından, direnç gelişiminde diğer mekanizmalardan daha önemli bir yer tutar (36).

MBL ilk olarak 1991 yılında bir *P.aeruginosa* suşunda saptanmıştır. Sonradan çeşitli Asya ve Avrupa ülkelerinde gram negatif basillerde (özellikle *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* suşlarında) MBL pozitifliği bildirilmiştir. Son zamanlarda hızlı bir

şekilde artmakta ve dünya çapında yayılım göstermektedir. Karbapenem direncine neden olan bu durum, bir sorunun habercisidir (37).

Bugüne kadar altı grup kazanılmış MBL tanımlanmıştır. (IMP, VIM, SIM, SPM, GIM, GSO). *Acinetobacter* türlerinin klinik izolatlarında bildirilen MBL'lar IMP, SIM, VIM, ve GSO'dur. Beta laktam antibiyotiklerden sadece sefepim, sefpirom ve düşük seviye de olsa piperasilin-tazobaktam, MBL üreten suşlara karşı aktivite göstermektedir (32).

c-Oksasilinazlar

KHO aktivitesine sahip olan sınıf D oksasilinazlar, oksasilinleri hidrolize eden ve az rastlanan beta-laktamazlardır. Şimdiye kadar 120'den fazla D grubu beta-laktamaz tanımlanmıştır ve bunlardan 45 tanesi KHO aktivitesi göstermektedir (32).

A.baumannii'de OXA-58 enzimi eksprese olduğunda karbapenemlere duyarlılığın azaldığı, aşırı ekspresyon durumunda ise yüksek karbapenem direncine neden olduğu konusunda çalışmalar mevcuttur. OXA-58 ve OXA-23'ü kodlayan genlerin bazı türlerde plazmid tarafından da kodlandığı gösterilmiştir. Ancak bugüne kadar *Acinetobacter*'de tanımlanan KHO'ların çoğunlukla kromozomal olarak kodlandığı saptanmıştır (17, 32).

3.7.1.3. Dış membran proteinlerindeki (OMP) değişiklikler

A.baumannii'de karbapenem direnci ile bağlantılı 33-36 kDa'lık OMP 2005 yılında klonlanarak, dizi analizi yapılmıştır. Elde edilen veriler incelendiğinde, OMP'nin amino asit dizisinin ve içeriğinin diğer gram negatif bakterilerde bulunan aminoasit dizileri ile benzer olduğu ortaya çıkarılmıştır. Yapılan çalışmalarda, saptanabilir karbapenemaz aktivitesi göstermeyen *Acinetobacter* suşlarında 20-kDa'luk OMP kaybının, bakterinin imipenem direnci geliştirememesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (17, 32).

Antibiyotik/Direnç mekanizması	Grup/Gen	Antibiyotik/Direnç mekanizması	Grup/Gen
Beta-laktamlar için		Aminoglikozidler için	
Beta-laktamaz		Enzimatik yıkım	
Doğal		Asetiltransferaz	AAC-2, -3,-6 SAT-2
Sınıf A/sık görülen	ampC (ADC1-7) VEB-1,-2 PER-1,-2 TEM-92,-116 SHV-5,-12 CTX-M-2-3	Nükleotidiltransferaz Fosfotransferaz	ANT-2,-3 APH(3')-I, -II,-III,-IV APH(3'')-I adeABC adeM
Sınıf A/nadir görülen	SCO-1	Eflüks pompası	16s rDNA metiltransferaz armA
Karbapenemaz		Kinolonlar için	
Sınıf D oksasilinaz	OXA-51 benzeri OXA-23 OXA-24 OXA-27 OXA-37 OXA-40 OXA-58 benzeri	DNA giraz/topoizomerez Eflüks pompası	gyrA/parC adeABC adeM abeS
Metallo-beta-laktamaz	VIM IMP SIM	Kloramfenikol için	
Sınıf A karbapenemaz	GES-11 carO HMP-AB 33-36 kDa protein 43 kDa protein	Eflüks pompası	adeABC adeIJK cmlA craA abeS
Dış membran proteinleri		Trimetoprim/sulfametoksazol için	
Eflüks pompası	adeABC PBP2 değişimi	Eflüks pompası	adeABC adeIJK sul-I,-II folA
Tetrasiklinler için		Makrolitler için	
	tetA, tetB	Eflüks pompası	adeM
Eflüks pompası	adeABC	Glisilsiklin için	
Ribozomal hedef değişimi	tetM	Eflüks pompası	adeABC
		Polimiksin için	pmrAB
		Rifampisin için	arr-2

Şekil 3.1. *A.baumannii*'nin sahip olduğu antibiyotik direnç mekanizmaları (32).

3.7.1.4. Penisilin-bağlayan proteinlerde (PBP) değişiklik

Yapılan çalışmalarda penisilin bağlayan proteinlerdeki değişikliklerin *A.baumannii*'de beta-laktam direncini etkilediği ortaya konulmuştur. Karbapenem direnci konusunda yapılan çalışmalarda; dirençli mutant *A.baumannii* suşlarında 24-kDa'luk PBP'nin aşırı miktarda üretildiği saptanmıştır. Başka bir çalışmada, imipenem duyarlı *A.baumannii* izolatlarına ait PBP'lere beta-laktamaz inhibitörlerinin (sulbaktam, klavulanik asit ve tazobaktam) tümünün bağlandığı belirtilmiştir. Bu saptama *A.baumannii*'ye karşı beta-laktamaz inhibitörlerinin doğal antibakteriyel etkisini çok net bir şekilde ortaya koymaktadır. Fakat günümüzde klinik kullanım için formüle edilmiş ve in-vivo etkili bir formülasyon sadece sulbaktam olarak mevcuttur (32).

3.7.2. Aminoglikozidlere direnç

Acinetobacter türlerinde aminoglikozid direnci, aminoglikozid modifiye edici enzimler olan asetiltransferaz, adeniltransferaz ve fosfotransferaz üretilmesi ile

ilişkilidir. Bu üç enzimi kodlayan genler bakteriler arasında plazmid ve transpozonlarla yayılım göstermektedir. Ayrıca *Acinetobacter haemolyticus* ve benzer genomik gruplar doğal N-asetil-transferaz sentezi yaptıklarından dolayı, doğal olarak aminoglikozidlere dirençlidirler. Aminoglikozid direncinin diğer mekanizmaları, hedef ribozomal proteinlerde değişiklik ve aminoglikozidlerin hücre içine taşınması ile bağlantılıdır. *Acinetobacter* türlerinde dirençten sorumlu olan genler ve aminoglikozid modifiye eden enzimler, *Acinetobacter* türlerine özgü olmayıp, diğer gram negatif bakteri cinslerinde de bulunmaktadır (14, 17, 32).

3.7.3. Kinolonlara direnç

Acinetobacter türlerinde kinolon direnci, diğer gram negatif bakterilerde olduğu gibi, ilacın hedefi olan DNA giraz (topoizomeraz II) veya topoizomeraz IV enziminde değişikliğe yol açan mutasyonlar sonucu olmaktadır. Ayrıca ilaç permeabilitesinde azalma veya efluks pompasını etkileyen değişiklikler de kinolon direncine neden olabilmektedir (14, 17).

3.7.4. Tetrasikline direnç

En sık rastlanan tetrasiklin direnç genleri olan *tetA* ve *tetB*, hem *Acinetobacter* türlerinde, hem de diğer gram negatif bakterilerde bulunabilmektedir. Bu genler sıklıkla nonspesifik efluks pompası geni *adeB* ile kombine olarak bulunurlar. TetB hem minosiklin hem de tetrasiklin direncine neden olurken, tetA sadece tetrasiklin direncine neden olmaktadır (29, 38).

Tetrasiklinin ribozomal hedefinde değişikliklere yol açan mutasyonlar, *A.baumannii*'de tetrasiklin direncine neden olan diğer bir mekanizmadır. Tigesiklin, geniş spektrumlu, glisilsiklin grubu yeni bir antibiyotik olup, ribozomlar üzerine tetrasiklinlerle aynı bağlanma bölgesine bağlanır. Ancak tetrasiklinler için bahsedilen direnç mekanizmalarından etkilenmemektedir. Tigesiklinin *A. baumannii* suşlarına etkinliği, yüz güldürücü olsa da, bazı salgınlarda saptanan yüksek MİK değerleri özellikle bakteriyemilerde kullanımı konusunda ileriye dönük endişelere neden olmaktadır. (14, 17, 32).

3.7.5. Rifampisine direnç

Rifampisin, çoğul dirençli *Acinetobacter* türlerinin sorumlu olduğu enfeksiyonlarda, kombine terapinin bir üyesi olarak az da olsa kullanılmaktadır. *Acinetobacter* türlerinde yüksek düzeyde rifampisin direnci, kromozomal olarak ribozomal polimeraz subunitinde lokalize *rpoB* geninde spontan mutasyon sonucu meydana gelir (32).

3.7.6. Trimetoprim sülfametoksazole direnç

Acinetobacter türlerinde trimetoprim direnci çok yüksek değildir. İntegronlar ve bunlarla taşınan *gac*, *sul*, *dHfr* gibi genlerin trimetoprim-sülfametoksazol direncinde rol aldığı saptanmıştır. Ayrıca dihidrofolat redüktaz kodlayan genin kazanılması, bakteride yüksek düzey dirence neden olmaktadır (14, 32).

3.7.7. Kloramfenikole direnç

A.baumannii'de kloramfenikole özgü direnç mekanizmalarından bir tanesi ilacın modifikasyonuna yol açan ve *caf* geni tarafından kodlanan enzimlerin üretimi; diğeri ise ilaca özgü aktif transport proteini ile ilacın bakteri hücresi dışına atılmasıdır. *Acinetobacter* türlerinde kloramfenikol direnç genleri, genellikle konakçı kromozomuna entegre olmuş transpozonlarla bağlantılıdır (14, 32).

3.7.8. Kolistine (Polimiksin E) direnç

Kolistine direnç 2 şekilde olur.

1-Bakteri (-) yüklü olan yüzey LPS ve Lipid A yapısını değiştirir. PmrA-PmrB regulatuar sistem PmrE ve PmrHFIJKLM gen ekspresyonunu sağlar. LPS'nin fosfat gruplarına etanolamin, lipidA'ya ise aminoarabinoz ekler. Böylece katyonik polimiksinlerin bağlanma affinitesi düşer.

2-Bakterilerin dış membran proteini OprH aşırı sentezlenerek, membrandaki magnezyum yerine geçer. PhoP-PhoQ regulatuar sistem OprH gen ekspresyonunu sağlar. OprH proteinleri sentezlenir. Eksojen poliaminler ve düşük magnezyum konsantrasyonu regulatuar sistemi uyarır ve kolistinin bağlanmasını engeller (28).

3.8. Çoklu İlaç Efluks Sistemleri

Aktif efluks mekanizmalarıyla ilaçların uzaklaştırılması, *Acinetobacter* türlerinde de çoklu ilaç direncine yol açmaktadır. Bakterilerdeki aktif ilaç pompa sistemleri beş protein süper ailesinin üyesidirler:

1-*ATP Binding Casette (ABC)*

2-*Major Facilitator Super Family (MFS)*

3-*Multidrug and Toxic Compound Extrusion (MATE)*

4-*Small Multidrug Resistance (SMR)*

5-*Resistance Nodulation Cell Division (RND)*

Klinik direnç söz konusu olduğunda bu temel efluks sistemleri arasında *Resistance Nodulation Cell Division (RND)* ailesi öne çıkmaktadır. Bu aileye ait *adeABC* efluks sistemi tanımlanmış ve *A.baumannii*'de aminoglikozidlere direnç, kloramfenikol, florokinolonlar, trimetoprim ve sefotaksime azalmış duyarlılıkla ilişkisi gösterilmiştir (32).

Yine *Acinetobacter* türlerinde *Resistance Nodulation Cell Division (RND)* ailesine ait efluks sistemi olan *adeDE* de saptanmıştır. Amikasin, meropenem, siprofloksasin, seftazidim, rifampisin, kloramfenikol, eritromisin, etidium bromür ve tetrasikline azalmış duyarlılık, *adeE* genindeki aktivasyonun ile ilişkilidir.

Acinetobacter türlerinde *adeXYZ* olarak isimlendirilen sekonder bir aktif efluks sistemi de tanımlanmıştır. Ancak, bu yeni sistemin antibiyotik direncinde ne gibi bir rol oynadığı tam olarak tespit edilememiştir (17, 32, 39).

3.9. Çoklu İlaç Direnci

Acinetobacter türleri doğal transformasyon kapasitesine sahip oldukları için genetik değişikliklere çok açıktırlar. Bu durum antibiyotik direnç genlerinin tür bireyleri arasında kolayca yayılmasına neden olmaktadır. *A.baumannii* genomunda çeşitli direnç genlerini bir arada taşıyan direnç adacıklarının varlığı saptanmıştır (14).

Fornier ve ark. Çoğul dirençli *A.baumannii* izolatlarında 'AbaR1' adı verilen 86kb uzunluğunda bir direnç adacığı olduğunu ortaya çıkarmışlar ve 'AbaR1'de saptanan bu direnç geninin çeşitli beta laktamazları, tetrasiklin aktif pompa

proteinleri ve aminoglikozid modifiye eden enzimleri kodlamada rol aldıklarını saptamışlardır (40).

3.10. Çoklu Dirençli *Acinetobacter* Tanımları

Dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonlarında antimikrobik direnci tanımlamak için “multi-drug resistance (MDR)”, “pan-drug resistance (PDR)”, “extreme-drug resistance (XDR)” ve “extensive-drug resistance (XDR)” gibi çeşitli terimler kullanılmaktadır. Literatürlerde farklı tanımlamalar kullanılmakla birlikte, bu terimlerle ilgili standart bir tanımlama mevcut değildir. 2006 ve 2011 yılları arasında yapılan çalışmalar incelendiğinde, zaman içerisinde MDR, PDR ve XDR direnç terimleri ile ilgili tanımlamaların da değiştiği görülmektedir. Bunun sebebi zamanla mikroorganizmaların farklı direnç mekanizmaları geliştirerek mevcut antibiyotiklere karşı direnç kazanmasıdır. Bu konuda, çeşitli çalışmalarda yapılan önerilere bakıldığında, net bir görüşbirliği sağlanmadığı açıkça görülmektedir (41).

Bir çalışmada üçten fazla antibiyotik grubuna (karbapenemler, sefalosporinler, aminoglikozidler, piperasilin-tazobaktam, aztreonam, tetrasiklin, ampisilin-sulbaktam, siprofloksasin, trimetoprim-sülfametoksazol) dirençli olan suşlar MDR, kolistin ve tigesiklin dışında kalan tüm antimikrobiyallere dirençli olan suşlar ise XDR olarak tanımlanmıştır (42).

Mevcut tanımlamalar gözönüne alındığında çalışmamızda kullandığımız çoklu dirençli *Acinetobacter* suşlarının bir kısmı MDR, bir kısmı XDR olarak kabul edilmiştir.

3.11. Antibiyotik Kombinasyon Testleri

Bakterilerin çok hızlı bir şekilde oluşturduğu antibiyotik direnci yanında, yeni antimikrobiyallerin geliştirilmesi çok zaman aldığından, kullanımda olan antibiyotiklerin etkisinin devamlılığının sağlanması büyük önem kazanmıştır. Böylece, yeni tedavi stratejileri ve yeni ilaç geliştirme çalışmalarında, bakterinin oluşturduğu direnç ile başa çıkmak için, monoterapi yerine kombinasyon tedavisi mecburiyeti ortaya çıkmıştır.

Kombinasyonlarda sinerjistik etki; farklı hedefleri farklı yollardan veya aynı yoldan olabileceği gibi, aynı hedefin farklı yollardan inhibisyonu yoluyla da

olabilmektedir. Antibiyotik kombinasyonlarından elde edilen sinerjistik etki, direnç gelişimini önleme, toksik etkileri düşürme ve daha geniş spektrumlu antimikrobiyal etki gibi avantajlar sağlar.

Kombine antibiyotik tedavisinde antibiyotikler arasında 4 farklı etkileşim olur. Bunlar sinerji, additif etki, indifera etki ve antagonizmadır.

1-Sinerjistik etki: Test edilen antibiyotiklerin birlikte oluşturduğu etki, her bir antibiyotikğin tek başına kullanılması ile oluşan etkisinden önemli oranda yüksek ise, buna sinerjistik etki adı verilir. Burada pozitif bir etkileşim söz konusudur.

2-Antagonist etki: Test edilen antibiyotiklerin birlikte oluşturduğu etki, her bir ilacın tek başına kullanılması sonucu oluşan etkiden önemli oranda düşük ise buna antagonist etki adı verilir. Burada negatif bir etkileşim söz konusudur.

3-Additif etki: Kombinasyonda kullanılan antibiyotiklerin etkisi, ayrı ayrı etkilerinin toplamı ise buna additif etki adı verilir. Kısmi sinerji olarak da tanımlanmaktadır.

4- İndifera etki: İlaçların bir arada etkisi, daha etkili olan diğerinin tek başına yaptığı etki kadardır. Antibiyotikler birbiriyle etkileşmezler (8, 31, 43).

3.12. Sinerji Saptama Yöntemleri

Antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkinliğini ölçen testler 4 başlık altında sıralanır.

1- Dilüsyon yöntemleri

a-Mikrodilüsyon

b-Makrodilüsyon

c-Agar dilüsyon

2- Zamana bağlı öldürme yöntemi (Time-kill)

3- Disk diffüzyon yöntemi

4- E test (Epsilometer) yöntemi

Genel anlamda dilüsyon testleri antibiyotik kombinasyonlarının inhibisyon etkisini, zamana bağlı öldürme yöntemi ise kombinasyonun bakterisidal etkisini ölçmeye yarar (8, 31).

3.12.1. Dilüsyon yöntemleri (Checkerboard-dama tahtası)

a-Mikrodilüsyon “checkerboard (CB)”

Antibiyotikler arasındaki sinerjiyi saptamak için kullanılan standart yöntemlerden bir tanesi olan mikrodilüsyon CB metodu çalışma ve sonuçları yorumlama bakımından kolay bir mantığa sahiptir. Bu yüzden araştırmacılar tarafından en sık kullanılan yöntemdir (31, 44).

Bu yöntemde 96 kuyucuklu ve U-tabanlı steril mikroplaklar kullanılır. Her izolat ve test edilecek antibiyotik kombinasyonu için bir mikroplak paneli gereklidir. Öncelikle antibiyotik kombinasyon testi için tek antibiyotik stok solüsyonları hazırlanır ve birinci antibiyotik için yukarıdan aşağı doğru seri dilüsyon yapılır. İkinci antibiyotik için ise başka bir mikroplakta sağdan sola doğru seri dilüsyonlar yapılır. Ardından ikinci antibiyotik bu mikroplaktan, birinci antibiyotiği içeren mikroplağa aktarılır.

Yine mikroplağın başka bir bölgesinde, test edilen antibiyotiklerin tek başına MİK değerlerini saptamak için 2 ayrı sütun kullanılır.

Kombinasyona giren her antibiyotiğin, o mikroorganizma için bilinen veya beklenen MİK değerinin en az üç-dört dilüsyon aşığından, üst dilüsyonlar için ise MİK'in en az iki, tercihen sekiz katına kadarki dilüsyonları kullanılır.

Test için, kanlı agara vb. bir besiyerine ekilen izolatların bir gecelik kültürü kullanılır.

Bakteri inokulumu hazırlamak için Katyon Ayarlı Mueller-Hinton Buyyon (KAMHB) (Mg^{+2} : 10-12.5 mg/L, Ca^{+2} : 20-25 mg/L destekli Mueller-Hinton Buyyon) veya steril %8.5 tuzlu su kullanılır (31).

İnokulum hazırlama: 0.5 McFarland bulanıklığında (1.5×10^8 CFU/mL) bakteri süspansiyonu hazırlanır.

Mikrodilüsyon testlerinde en son aşamada, kuyuculara bakteri inoküle edildiğinde, bakterinin son konsantrasyonu ortalama 5×10^5 CFU/mL olmalıdır. Bu hesaplamanın yapılabilmesi için kuyucuklara konan inokulumun net hacminin bilinmesi gereklidir. Eğer kuyucuktaki besiyerinin hacmi 0.1 mL ise ve inokulum hacmi 0.01 mL ise o zaman 0.5 McFarland süspansiyonu (1×10^8 CFU/mL) 1:20 sulandırılmalı ve 5×10^6 CFU/mL elde edilmelidir. Bu süspansiyondan 0.01 mL alınıp mikropak kuyucuğuna eklenirse, test edilen bakterinin son konsantrasyonu ortalama 5×10^5 CFU/mL olacaktır (45).

Her mikropakta üreme kontrolü amacıyla bir kuyucuk antibiyotiksiz bırakılır. İnkübasyon bitiminde mikropak okunurken bu kuyucukta yoğun üreme görülmelidir.

Mikropakta başka bir kuyucuğa sadece besiyeri konulur. Bu kuyucuk besiyeri sterilite kontrolü amaçlıdır. İnkübasyon sonunda üreme olmamalıdır.

Kalite kontrol uygun ATCC suşlarıyla yapılır. Kalite kontrol için aynı antibiyotik stok solüsyonları ve sulandırmaları kullanılmalıdır.

İnokulum saflık kontrolü: Kullanılan bakteri süspansiyonu (5×10^6 CFU/mL) 1:100 oranında sulandırılıp 1 µL bir kanlı agar plağına yayılır ve ertesi gün üreyen kolonilerin saf olup olmadığı araştırılır (31).

İnokulum yoğunluk kontrolü: İnokulum yoğunluğunun kontrolü için üreme kontrol kuyucuğundan 10 µL bir tüpe alınır ve 90 µL steril serum fizyolojik eklenir (1:10 dilüsyon). Bu tüpten 1:10 dilüsyon yapılır (toplam 1:100 dilüsyon). Son tüpten 1:5 dilüsyon yapılarak (toplam 1:500 dilüsyon) bu son dilüsyondan 100 µL alınıp, kanlı agara yayılır. 16-20 saat 35-37°C’de inkübasyon sonunda plakta 75-125 (ortalama 100) koloni bulunmalıdır.

Antibiyotik kombinasyon paneli tamamlandıktan sonra mikropak 16-20 saat süreyle 35-37°C’de inkübe edilir.

Kalite kontrol suşlarının MİK değerleri uygunsa ve üreme kontrolü, besiyeri sterilite kontrolü, inokulum saflık kontrolü, inokulum yoğunluk sonuçları beklenen şekilde ise test geçerli kabul edilip, mikropak okunur.

Öncelikle birinci antibiyotiğin, sonra da ikinci antibiyotiğin tek başına MİK değerleri okunur ve kaydedilir.

Sonra kombinasyon kuyucukları okunur. Üreme olan kuyucuklar kayıt formuna işlenir.

Sonuçların yorumu için önce her iki antibiyotiğin ayrı ayrı fraksiyonel inhibisyon konsantrasyonu (FİK) değerleri aşağıdaki şekilde hesaplanır (31).

a antibiyotiğinin kombinasyondaki MİK değeri

$$FİK_a = \frac{\text{a antibiyotiğinin kombinasyondaki MİK değeri}}{\text{a antibiyotiğinin tek başına MİK değeri}}$$

a antibiyotiğinin tek başına MİK değeri

b antibiyotiğinin kombinasyondaki MİK değeri

$$FİK_b = \frac{\text{b antibiyotiğinin kombinasyondaki MİK değeri}}{\text{b antibiyotiğinin tek başına MİK değeri}}$$

b antibiyotiğinin tek başına MİK değeri

$$FİK \text{ indeksi (FİKİ)} = FİK_a + FİK_b$$

$FİKİ \leq 0.5$ ise sinerjistik; $> 0.5 - \leq 1$ ise additif; $> 1 - < 4$ ise indiferan; ≥ 4 ise antagonistik etki olarak yorumlanır (8, 46, 47).

b-Makrodilüsyon Yöntemi

Mikrodilüsyon yönteminin aynısıdır. Tek farkı mikropalak yerine burada deney tüpleriyle çalışılma yapılıır. Bu nedenle her tüpte bulunması gereken miktar 0.25'er mL her iki antibiyotik solüsyonu ve 0.5 mL bakteri süspansiyonu olmak üzere toplam 1 mL'dir. Ayrıca büyük hacimlerle çalışıldığından mikrodilüsyon için kullanılan panelin tümünü makrodilüsyon yöntemiyle yürütmek çok zordur. Genellikle kısıtlı panel hazırlanır ve $1/2$ MİK, MİK ve $2 \times$ MİK değerleriyle çalışılır. Antibiyotik stok solüsyonları her test tüpünde istenen son konsantrasyonun 4 katı olmalıdır. Değerlendirmeler mikrodilüsyon metoduyla aynı şekilde yapılır (31).

c-Agar Dilüsyon Yöntemi

Az sayıda antibiyotik kombinasyonu ve çok sayıda bakteri suşuyla çalışılması gereken durumlarda tercih edilebilir. Klasik agar dilüsyon yöntemi izlenir. Her bir antibiyotik solüsyonu petrideki 20 mL agar ile dilüe olacağı için stok solüsyonlar istenen son konsantrasyonun 20 katı yoğunlukta hazırlanır. Agara eklenen her bir antibiyotik solüsyonu miktarı petrideki agar miktarının en çok %5'i kadardır. Agar yüzeyine 10^4 CFU bakteri içerecek spot ekimleri yapılır. Değerlendirmeler aynı şekilde yapılır (8, 31).

3.12.2. Zamana bağlı öldürme kinetiği (Time-kill)

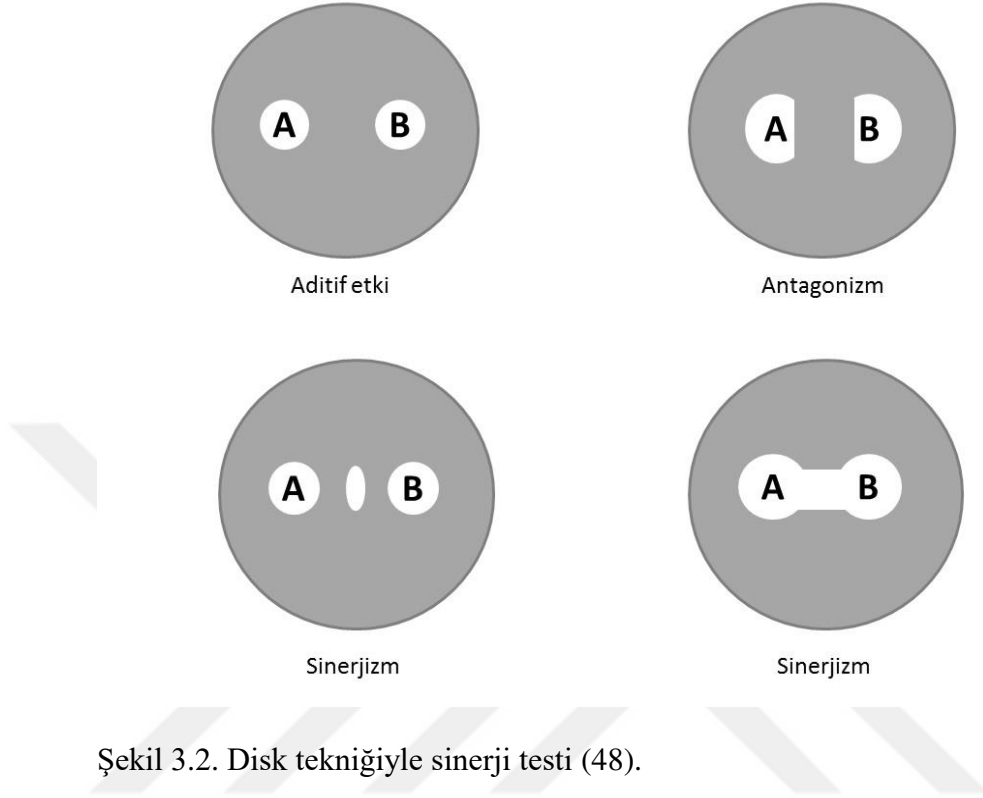
Checkerboard tekniğinde sadece inhibisyon verileri elde edilmektedir. Time-kill metodunda öldürme eğrisi tekniğiyle, denenen kombinasyonun bakterisidal aktivitesi ölçülebilmektedir. Bu nedenle bakterisidal amaçlı tedavi takipleri için daha anlamlı bir yöntemdir. Ayrıca checkerboard yönteminde 16-20 saat sonunda tek ölçüm yapıldığı halde, bu yöntemde zamanla birlikte değişen etki dinamik olarak gösterilebilmektedir

Time-kill metoduyla sinerji testi 10 mL KAMHB içeren tüplerde test yapılır. Bakteri inokulumu 5×10^5 CFU/mL olmalıdır. 0., 4., 8., 24. saatlerde kanlı agar plaklarına farklı antibiyotik dilüsyonu içeren her tüpten 25 μ L kadar bir hacim damlatılır. Plakların 24 saat inkübasyonundan sonra oluşan bakteri kolonileri sayılıp CFU/mL değerleri elde edilir. Antibiyotiğin zaman içindeki bakterisit etkisinden söz edebilmek için koloni sayısında 24 saatte %99.9 yani 10^3 kat azalma olmalıdır. Test edilen iki antibiyotiğin sinerjistik etkisinden söz edebilmek için önce kombinasyondaki antibiyotiklerin daha aktif olanının koloni sayısı kayıt edilir. Bu değerlere oranla, kombinasyonun 24 saatlik koloni sayılarında ≥ 100 kat düşüş varsa sinerji olarak değerlendirilir; ≥ 100 kat artma antagonist etkiyi, < 10 kat artma veya azalma ise additif veya indiferan etki anlamına gelir (31).

3.12.3. Disk difüzyon yöntemi

Kirby-Bauer disk difüzyon yönteminde olduğu gibi 0.5 McFarland bulanıklığındaki bakteri süspansiyonu petriye yayılıp kombinasyon etkisi araştırılan iki antibiyotiğin diskleri yanyana yerleştirilir. Aralarındaki merkezden merkeze uzaklık, her iki disk etrafındaki inhibisyon zon yarıçapları toplamına eşit veya biraz

fazla olmalıdır. 16-18 saat 35-37°C’de inkübasyon sonunda şekil 3.2’de görüldüğü gibi değerlendirilir (8, 31).



Şekil 3.2. Disk tekniğiyle sinerji testi (48).

3.12.4. E-test yöntemi

0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu 4 adet Mueller Hinton agar plağına yayılır. Kombinasyonu denenecek A ve B antibiyotiklerinin MİK değerleri önceden bilinmiyorsa, antibiyotikleri içeren E test stripleri, tek başlarına MİK’lerini saptamak üzere ayrı ayrı birer petriye yerleştirilir. Üçüncü petriye önce B stribi konur ve 1 saat yerinde bırakılır. B stribi steril bir pensle yerinden kaldırıldıktan sonra, aynı iz üzerine gelecek şekilde A stribi yerleştirilir. Dördüncü petriye A stribi konulup 1 saat bekletilir. A kaldırılıp B stribi yine A’nın bıraktığı iz üzerine yerleştirilir. 35-37°C’de 24 saat inkübasyondan sonra üçüncü petride B’nin varlığında A’nın MİK’i, dördüncü petride A’nın varlığında B’nin MİK’i okunur. Mikrodilüsyon CB yönteminde olduğu gibi FİK değerleri bulunduktan sonra FİKİ hesaplanır (8, 31).

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. İzolatların Toplanması

Bu çalışmada, Şubat 2017- Temmuz 2017 tarihleri arasında, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Memorial Dicle Hastanesi yoğun bakım ünitelerinden mikrobiyoloji laboratuvarına gelen hasta örneklerinden izole edilen, çoğul dirençli 30 adet *Acinetobacter baumannii* suşu test edildi. Her hastadan tek bir örnek çalışma kapsamına alındı.

(Bu çalışma Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 25.03.2016 tarih ve 164 no'lu kararıyla etik kurallara uygun görülmüştür. Ek 10.1).

İzolatlar, çalışma için yapılan canlandırma işlemine kadar, skim milk buyyon içerisinde – 20 °C'de saklandı. Çalışma tarihinden 1 gün önce derin dondurucudaki bakteri kültürleri oda ısısında bekletilerek, çözölmeleri sağlandı. Ardından kanlı agar ve EMB agar besiyerlerine pasajlanarak, plaklar inkübatörde 35-37 °C de 18-24 saat inkübe edildi.

4.2. İdentifikasyon

EMB besiyerinde saf koloni halinde üreyen, gram (-), aerob, mikroskopta kokobasil morfolojisine sahip, glukoz ve laktoz fermantasyonu yapmayan, oksidaz negatif, katalaz pozitif suşlar otomatize sistemle (Vitek2 Compact, bioMérieux, Fransa) tür düzeyinde tanımlandı. Yine aynı cihazda antibiyogram işlemleri eş zamanlı olarak yapıldı. Bu suşlardan, test edilen antibiyotiklerden, kolistin, tigesiklin ve aminoglikozid dışındaki tüm antibiyotiklere dirençli olan suşlar çoğul dirençli suş olarak çalışma kapsamına alındı. Antibiyotiklerin MİK sınır değerleri için “European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)” kılavuzu baz alındı.

4.3. Kullanılan Malzemeler

- 1-Etüv
- 2-Derin dondurucu (-20 °C)
- 3-McFarland ayarlayıcı (Densicheck)
- 4-Steril Eppendorf tüpleri (2 ml)
- 5-EMB agar (RTA)

- 6-Kanlı agar (RTA)
- 7-Kasyon Ayarlı Mueller Hinton broth (KAMHB) (Becton Dickinson, ABD)
- 8-Skim milk broth (Oxoid)
- 9-Vorteks
- 10-8 Kanallı pipet (50-300 µl)
- 11-8 Kanallı pipet (1-20 µl)
- 12-Ayarlanabilir mikropipet (10-100 µl)
- 13-Ayarlanabilir mikropipet (100-100 µl)
- 14-Steril mikropiplaklar (96 kuyucuklu)
- 15-Dilüsyon tüpleri
- 16-İki bölmeli steril petri kutuları
- 17-Steril distile su
- 18-Serum fizyolojik

4.4. Antibiyotik Kombinasyon Testleri

4.4.1. Antibiyotiklerin hazırlanması ve saklanması

Bu çalışmada siprofloksasin (Sigma-Aldrich), amikasin (Sigma-Aldrich), kloramfenikol (Sigma-Aldrich), rifampisin (Sigma-Aldrich), meropenem (Sigma-Aldrich) ve sulbaktam (Sigma-Aldrich) antibiyotiklerinin toz şekilleri kullanıldı.

Bu amaçla “Ağırlık (mg) = Hacim (mL) x Konsantrasyon (mg/L)/Potens (µg/mg)” formülüne göre antibiyotik tozları tartılarak, uygun konsantrasyonlarda hazırlandı. Antibiyotiklerin konsantrasyonları, duyarlı MİK aralığının 4 kat alt, 3 kat üst konsantrasyonları test edilecek şekilde hazırlandı. Hazırlanan antibiyotik çözeltileri, porsiyonlara bölünerek -20°C de saklandı ve çalışma günü oda ısısında çözüldükten sonra test için kullanıldı.

4.4.2. Kombinasyonlarda kullanılan antibiyotikler ve hazırlanışları

Tablo 4.1. Siprofloksasin-Amikasin kombinasyonu için antibiyotik çözeltilerinin hazırlanması

	Siprofloksasin	Amikasin
Konsantrasyon (mg/L)	32	256
Potens (µg/mg)	800	750
Ağırlık (mg)	5	20
Hacim (ml)	125	58,6
Çözücü	Su	Su
Sulandırıcı	Su	Su
Duyarlı MİK sınır değeri	≤1	≤8
Dilüsyon aralığı (mg/L)	0,062-32	0,5-256

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CIP 8 AK 0,5	CIP 8 AK 1	CIP 8 AK 2	CIP 8 AK 4	CIP 8 AK 8	CIP 8 AK 16	CIP 8 AK 32	CIP 8 AK 64		CIP 8	AK 64	ÜK
B	CIP 4 AK 0,5	CIP 4 AK 1	CIP 4 AK 2	CIP 4 AK 4	CIP 4 AK 8	CIP 4 AK 16	CIP 4 AK 32	CIP 4 AK 64		CIP 4	AK 32	CIP 16
C	CIP 2 AK 0,5	CIP 2 AK 1	CIP 2 AK 2	CIP 2 AK 4	CIP 2 AK 8	CIP 2 AK 16	CIP 2 AK 32	CIP 2 AK 64		CIP 2	AK 16	AK 128
D	CIP 1 AK 0,5	CIP 1 AK 1	CIP 1 AK 2	CIP 1 AK 4	CIP 1 AK 8	CIP 1 AK 16	CIP 1 AK 32	CIP 1 AK 64		CIP 1	AK 8	
E	CIP 0,5 AK 0,5	CIP 0,5 AK 1	CIP 0,5 AK 2	CIP 0,5 AK 4	CIP 0,5 AK 8	CIP 0,5 AK 16	CIP 0,5 AK 32	CIP 0,5 AK 64		CIP 0,5	AK 4	
F	CIP 0,25 AK 0,5	CIP 0,25 AK 1	CIP 0,25 AK 2	CIP 0,25 AK 4	CIP 0,25 AK 8	CIP 0,25 AK 16	CIP 0,25 AK 32	CIP 0,25 AK 64		CIP 0,25	AK 2	
G	CIP 0,125 AK 0,5	CIP 0,125 AK 1	CIP 0,125 AK 2	CIP 0,125 AK 4	CIP 0,125 AK 8	CIP 0,125 AK 16	CIP 0,125 AK 32	CIP 0,125 AK 64		CIP 0,125	AK 1	
H	CIP 0,062 AK 0,5	CIP 0,062 AK 1	CIP 0,062 AK 2	CIP 0,062 AK 4	CIP 0,062 AK 8	CIP 0,062 AK 16	CIP 0,062 AK 32	CIP 0,062 AK 64		CIP 0,062	AK 0,5	SK

Şekil 4.1. Siprofloksasin-Amikasin kombinasyonunun mikrolaktaki yerleşimi
CIP: Siprofloksasin, AK: Amikasin, ÜK: Üreme kontrolü, SK: Sterilite kontrolü

Tablo 4.2. Meropenem-Sulbaktam kombinasyonu için antibiyotik çözeltilerinin hazırlanması

	Meropenem	Sulbaktam
Konsantrasyon (mg/L)	64	128
Potens (µg/mg)	950	900
Ağırlık (mg)	10	10
Hacim (ml)	148,4	70,3
Çözücü	Su	Su
Sulandırıcı	Su	Su
Duyarlı MİK sınır değeri	≤2	≤4
Dilüsyon aralığı (mg/L)	0,125-64	0,25-128

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	MEM 16 SUL 0,25	MEM 16 SUL 0,5	MEM 16 SUL 1	MEM 16 SUL 2	MEM 16 SUL 4	MEM 16 SUL 8	MEM 16 SUL 16	MEM 16 SUL 32		MEM 16	SUL 32	ÜK
B	MEM 8 SUL 0,25	MEM 8 SUL 0,5	MEM 8 SUL 1	MEM 8 SUL 2	MEM 8 SUL 4	MEM 8 SUL 8	MEM 8 SUL 16	MEM 8 SUL 32		MEM 8	SUL 16	MEM 32
C	MEM 4 SUL 0,25	MEM 4 SUL 0,5	MEM 4 SUL 1	MEM 4 SUL 2	MEM 4 SUL 4	MEM 4 SUL 8	MEM 4 SUL 16	MEM 4 SUL 32		MEM 4	SUL 8	SUL 64
D	MEM 2 SUL 0,25	MEM 2 SUL 0,5	MEM 2 SUL 1	MEM 2 SUL 2	MEM 2 SUL 4	MEM 2 SUL 8	MEM 2 SUL 16	MEM 2 SUL 32		MEM 2	SUL 4	
E	MEM 1 SUL 0,25	MEM 1 SUL 0,5	MEM 1 SUL 1	MEM 1 SUL 2	MEM 1 SUL 4	MEM 1 SUL 8	MEM 1 SUL 16	MEM 1 SUL 32		MEM 1	SUL 2	
F	MEM 0,5 SUL 0,25	MEM 0,5 SUL 0,5	MEM 0,5 SUL 1	MEM 0,5 SUL 2	MEM 0,5 SUL 4	MEM 0,5 SUL 8	MEM 0,5 SUL 16	MEM 0,5 SUL 32		MEM 0,5	SUL 1	
G	MEM 0,25 SUL 0,25	MEM 0,25 SUL 0,5	MEM 0,25 SUL 1	MEM 0,25 SUL 2	MEM 0,25 SUL 4	MEM 0,25 SUL 8	MEM 0,25 SUL 16	MEM 0,25 SUL 32		MEM 0,25	SUL 0,5	
H	MEM 0,125 SUL 0,25	MEM 0,125 SUL 0,5	MEM 0,125 SUL 1	MEM 0,125 SUL 2	MEM 0,125 SUL 4	MEM 0,125 SUL 8	MEM 0,125 SUL 16	MEM 0,125 SUL 32		MEM 0,125	SUL 0,25	SK

Şekil 4.2. Meropenem-Sulbaktam kombinasyonunun mikropłaktaki yerleşimi

MEM: Meropenem, **SUL:** Sulbaktam, **ÜK:** Üreme kontrolü, **SK:** Sterilite kontrolü

Tablo 4.3. Meropenem-Rifampisin kombinasyonu için antibiyotik çözeltilerinin hazırlanması

	Meropenem	Rifampisin
Konsantrasyon (mg/L)	64	32
Potens (µg/mg)	950	960
Ağırlık (mg)	10	5
Hacim (ml)	148,4	150
Çözücü	Su	Metanol
Sulandırıcı	Su	Su
Duyarlı MİK sınır değeri	≤2	
Duyarlı MİK sınır değeri		≤2*
Dilüsyon aralığı (mg/L)	0,125-64	0,062-32

*“European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)” ve “Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)” kılavuzlarında *Acinetobacter* izolatları için Rifampisin MİK sınır değerleri olmadığından, literatürdeki diğer çalışmalar dikkate alınarak ≤2 mg/L sınır değerine göre test yapıldı (49, 50). Ancak EUCAST 2017 kılavuzunda stafilokoklar ve streptokoklar için Rifampisin duyarlı MİK sınır değeri ≤0,062 mg/L olduğundan, hazırlanan alt dilüsyonlar bir basamak artırıldı.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	MEM 16 RIF 0,062	MEM 16 RIF 0,125	MEM 16 RIF 0,25	MEM 16 RIF 0,5	MEM 16 RIF 1	MEM 16 RIF 2	MEM 16 RIF 4	MEM 16 RIF 8		MEM 16	RIF 8	ÜK
B	MEM 8 RIF 0,062	MEM 8 RIF 0,125	MEM 8 RIF 0,25	MEM 8 RIF 0,5	MEM 8 RIF 1	MEM 8 RIF 2	MEM 8 RIF 4	MEM 8 RIF 8		MEM 8	RIF 4	MEM 32
C	MEM 4 RIF 0,062	MEM 4 RIF 0,125	MEM 4 RIF 0,25	MEM 4 RIF 0,5	MEM 4 RIF 1	MEM 4 RIF 2	MEM 4 RIF 4	MEM 4 RIF 8		MEM 4	RIF 2	RIF 16
D	MEM 2 RIF 0,062	MEM 2 RIF 0,125	MEM 2 RIF 0,25	MEM 2 RIF 0,5	MEM 2 RIF 1	MEM 2 RIF 2	MEM 2 RIF 4	MEM 2 RIF 8		MEM 2	RIF 1	
E	MEM 1 RIF 0,062	MEM 1 RIF 0,125	MEM 1 RIF 0,25	MEM 1 RIF 0,5	MEM 1 RIF 1	MEM 1 RIF 2	MEM 1 RIF 4	MEM 1 RIF 8		MEM 1	RIF 0,5	
F	MEM 0,5 RIF 0,062	MEM 0,5 RIF 0,125	MEM 0,5 RIF 0,25	MEM 0,5 RIF 0,5	MEM 0,5 RIF 1	MEM 0,5 RIF 2	MEM 0,5 RIF 4	MEM 0,5 RIF 8		MEM 0,5	RIF 0,25	
G	MEM 0,25 RIF 0,062	MEM 0,25 RIF 0,125	MEM 0,25 RIF 0,25	MEM 0,25 RIF 0,5	MEM 0,25 RIF 1	MEM 0,25 RIF 2	MEM 0,25 RIF 4	MEM 0,25 RIF 8		MEM 0,25	RIF 0,125	
H	MEM 0,125 RIF 0,062	MEM 0,125 RIF 0,125	MEM 0,125 RIF 0,25	MEM 0,125 RIF 0,5	MEM 0,125 RIF 1	MEM 0,125 RIF 2	MEM 0,125 RIF 4	MEM 0,125 RIF 8		MEM 0,125	RIF 0,062	SK

Şekil 4.3. Meropenem-Rifampisin kombinasyonunun mikropłaktaki yerleşimi
MEM: Meropenem, RIF: Rifampisin, ÜK: Üreme kontrolü, SK: Sterilite kontrolü

Tablo 4.4. Kloramfenikol-Rifampisin kombinasyonu için antibiyotik çözeltilerinin hazırlanması

	Kloramfenikol	Rifampisin
Konsantrasyon (mg/L)	256	32
Potens (µg/mg)	950	960
Ağırlık (mg)	10	5
Hacim (ml)	37,1	150
Çözücü	Etanol (%95)	Metanol
Sulandırıcı	Su	Su
Duyarlı MİK sınır değeri	≤8*	
Duyarlı MİK sınır değeri		≤2**
Dilüsyon aralığı (mg/L)	0,5-256	0,062-32

* EUCAST ve CLSI kılavuzlarında *Acinetobacter* izolatları için Kloramfenikol MİK sınır değerleri olmadığından, EUCAST kriterleri uyarınca *Enterobacteriaceae* için ≤8 mg/L sınır değerine göre test yapıldı.

**EUCAST ve CLSI kılavuzlarında *Acinetobacter* izolatları için Rifampisin MİK sınır değerleri olmadığından, literatürdeki diğer çalışmalar dikkate alınarak ≤2 mg/L sınır değerine göre test yapıldı (49, 50). Ancak EUCAST 2017 kılavuzunda stafilokoklar ve streptokoklar için Rifampisin duyarlı MİK sınır değeri ≤0,062 mg/L olduğundan, hazırlanan alt dilüsyonlar bir basamak arttırıldı.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CHL 64 RIF 0,062	CHL 64 RIF 0,125	CHL 64 RIF 0,25	CHL 64 RIF 0,5	CHL 64 RIF 1	CHL 64 RIF 2	CHL 64 RIF 4	CHL 64 RIF 8		CHL 64	RIF 8	ÜK
B	CHL 32 RIF 0,062	CHL 32 RIF 0,125	CHL 32 RIF 0,25	CHL 32 RIF 0,5	CHL 32 RIF 1	CHL 32 RIF 2	CHL 32 RIF 4	CHL 32 RIF 8		CHL 32	RIF 4	CHL 128
C	CHL 16 RIF 0,062	CHL 16 RIF 0,125	CHL 16 RIF 0,25	CHL 16 RIF 0,5	CHL 16 RIF 1	CHL 16 RIF 2	CHL 16 RIF 4	CHL 16 RIF 8		CHL 16	RIF 2	RIF 16
D	CHL 8 RIF 0,062	CHL 8 RIF 0,125	CHL 8 RIF 0,25	CHL 8 RIF 0,5	CHL 8 RIF 1	CHL 8 RIF 2	CHL 8 RIF 4	CHL 8 RIF 8		CHL 8	RIF 1	
E	CHL 4 RIF 0,062	CHL 4 RIF 0,125	CHL 4 RIF 0,25	CHL 4 RIF 0,5	CHL 4 RIF 1	CHL 4 RIF 2	CHL 4 RIF 4	CHL 4 RIF 8		CHL 4	RIF 0,5	
F	CHL 2 RIF 0,062	CHL 2 RIF 0,125	CHL 2 RIF 0,25	CHL 2 RIF 0,5	CHL 2 RIF 1	CHL 2 RIF 2	CHL 2 RIF 4	CHL 2 RIF 8		CHL 2	RIF 0,25	
G	CHL 1 RIF 0,062	CHL 1 RIF 0,125	CHL 1 RIF 0,25	CHL 1 RIF 0,5	CHL 1 RIF 1	CHL 1 RIF 2	CHL 1 RIF 4	CHL 1 RIF 8		CHL 1	RIF 0,125	
H	CHL 0,5 RIF 0,062	CHL 0,5 RIF 0,125	CHL 0,5 RIF 0,25	CHL 0,5 RIF 0,5	CHL 0,5 RIF 1	CHL 0,5 RIF 2	CHL 0,5 RIF 4	CHL 0,5 RIF 8		CHL 0,5	RIF 0,062	SK

Şekil 4.4. Kloramfenikol-Rifampisin kombinasyonunun mikrolaktaki yerleşimi
CHL: Kloramfenikol, RIF: Rifampisin, ÜK: Üreme kontrolü, SK: Sterilite kontrolü

4.4.3. Mikrodilüsyon CB yöntemi ile antibiyotik kombinasyon testi

Bu amaçla, test edilecek her suş ve her antibiyotik kombinasyonu için bir adet steril U tabanlı mikropalak kullanıldı (1.Antibiyotik için AB1, 2.Antibiyotik için AB2 kısaltması kullanılmıştır).

1. Şekil 4.5. teki şablon, mikropalağın altına konularak, 1 no'lu sütundan 8 no'lu sütuna kadar tüm kuyucuklara 50 µl hazır besiyeri KAMHB (Becton - Dickinson, ABD) konuldu.
2. 10 ve 11 no'lu sütunlardaki tüm kuyucuklara ve ÜK, AB1, AB2, SK kuyucuklarına 100 µl KAMHB konuldu.
3. 8 kanallı pipet yardımıyla A1-A8 satırındaki tüm kuyucuklara 50 µl 1.Antibiyotik (AB1) eklenip, aşağı yönlü H1-H8 satırına kadar seri dilüsyon yapıldı (Şekil 4.6.)
4. AB1 (B12) kuyucuğuna 100 µl AB1 eklenip, mikropipetle iyice karıştırıldıktan sonra, bu kuyucuktan 100 µl alınıp, 10 no'lu sütundan aşağı doğru seri dilüsyon yapıldı.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
										AB1	AB2	
A	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8		1	1	ÜK
B	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8		2	2	AB1
C	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8		3	3	AB2
D	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8		4	4	
E	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8		5	5	
F	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8		6	6	
G	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8		7	7	
H	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8		8	8	SK

Şekil 4.5. Kombinasyon testi çalışırken mikropalağın altına konulan kağıt şablon

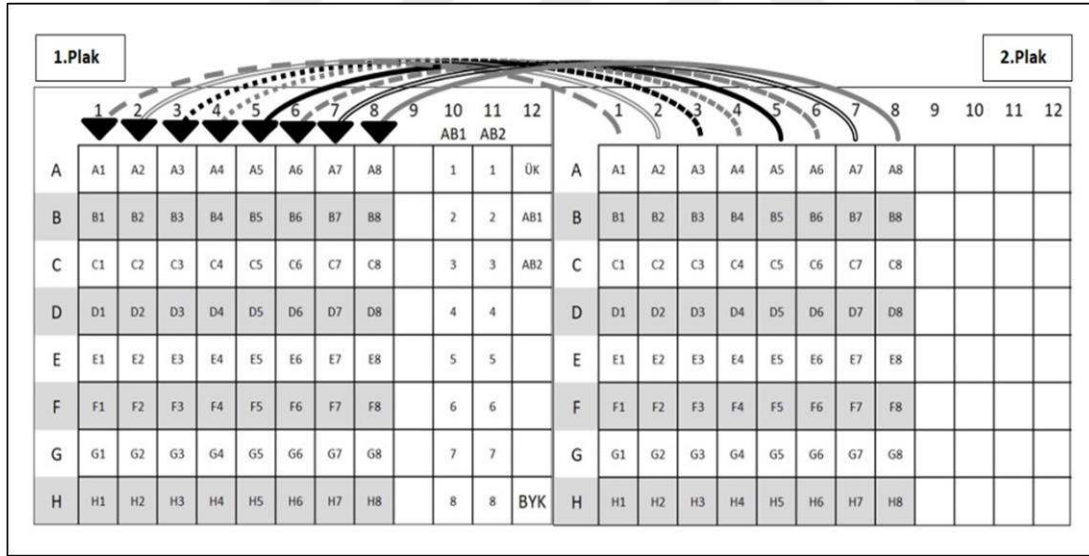
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
										AB1	AB2	
A	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8		1	1	ÜK
B	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8		2	2	AB1
C	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8		3	3	AB2
D	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8		4	4	
E	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8		5	5	
F	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8		6	6	
G	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8		7	7	
H	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8		8	8	SK

Şekil 4.6. Kombinasyon plağında AB1 antibiyotiğinin yukarıdan aşağı seri dilüsyonu

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8				
B	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8				
C	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8				
D	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8				
E	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8				
F	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8				
G	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8				
H	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8				

Şekil 4.7. Başka bir plakta AB2 antibiyotiğinin sağdan sola seri dilüsyonu

5. Şekil 4.7.'de belirtildiği gibi başka bir mikropiğe 1.sütundan 8.sütuna kadar her kuyucuğa 70 µl KAMHB konuldu. Test için gerekli olan miktar 50 µl'dir ancak kuyucuk içerisinde rezidüel volüm payı olarak 20 µl civarı besiyeri olması gerektiğinden toplam eklenmesi gereken besiyeri miktarı 70 µl olur. Bu mikropiğin 8. sütunundaki tüm kuyucuklara 8 kanallı pipet yardımıyla 70'er µl AB2 (2.Antibiyotik) eklenerek, 1.sütuna kadar seri dilüsyon yapıldı. Bu mikropiğten 8 kanallı pipet yardımıyla 8.sütundaki tüm kuyucuklardan 50'şer µl AB2 solüsyonu alınıp, 1.plağın 8.sütunundaki kuyucuklara aktarıldı. Aynı işlem 7,6,5,4,3,2,1 sütunlar için tekrarlandı (Şekil 4.8)
6. AB2 (C12) kuyucuğuna 100 µl AB2 eklenip, mikropipetle iyice karıştırıldı. Bu kuyucuktan 100 µl alınıp, 11 no'lu sütundan aşağı doğru seri dilüsyon yapıldı. Bu haliyle mikropiğ, bakteri inokülasyonu için hazırdır.
7. Üreme kontrol (ÜK) ve Sterilite Kontrol (SK) kuyucuklarına hiçbir antibiyotik konulmadı.



Şekil 4.8. İkinci antibiyotik (AB2) için hazırlanan dilüsyonların 2.plaktan, 1.plağa aktarılması

4.4.4. İnokülasyon

İnokulum hazırlanması: Steril bir tüpe 1 ml Mueller Hinton broth konulup bakterinin 0,5 Mcfarland (1×10^8 CFU/mL) bulanıklığına eşdeğer süspansiyonu

hazırlandı. Bu süspansiyon 20 kat sulandırılarak 5×10^6 CFU/mL elde edildi. (Bu süspansiyondan 10 µl alınıp 100 µl lik kuyucuğa eklenirse son konsantrasyon 5×10^5 CFU/mL olur.)

Hazırlanan bu bakteri süspansiyonundan, mikropakta antibiyotik içeren tüm kuyucuklar ve ÜK kuyucuğuna 10 µl olarak inoküle edildi. SK kuyucuğu sterilit kontrol kuyucuğu olduğundan, bu kuyucuğa antibiyotik veya bakteri süspansiyonu konulmadı.

4.4.5. İnokulum saflık kontrolü

Kullanılan bakteri süspansiyonu (5×10^6 CFU/mL) 1:100 oranında sulandırılıp 1 µL bir kanlı agar plağına yayılıp ertesi gün saflık yönünden incelendi.

4.4.6. İnokulum yoğunluk kontrolü

İnokulum yoğunluğunun kontrolü için üreme kontrol kuyucuğundan 10 µL bir tüpe alındı ve 90 µL steril serum fizyolojik eklendi. (1:10 dilüsyon). Bu tüpten 1:10 dilüsyon yapıldı (toplam 1:100 dilüsyon). Son tüpten 1:5 dilüsyon yapılarak (toplam 1:500 dilüsyon) bu son dilüsyondan 100 µL kanlı alınıp, kanlı agara yayıldı. 16-20 saat $35-37^\circ\text{C}$ 'de inkübasyondan sonra plakta 75-125 (ortalama 100) koloni bulunması, inokulumun 5×10^5 CFU/mL olduğunun kanıtı olarak kabul edildi.

4.4.7. İnkübasyon

Hazırlanan mikropak, kilitli poşet torbaya konulup 37°C de inkübasyona kaldırıldı.

4.4.8. Kalite kontrol ve test geçerliliği

Kalite kontrol amacıyla *P.aeruginosa* ATCC 27853 ve *E.coli* ATCC 25922 suşu kullanıldı. Bu suşlar çalışmada kullanılan antibiyotik çözeltileri kullanılarak, başka bir plakta test edildi.

Test plağında üreme kontrol kuyucuğunda üreme olması, besiyeri sterilit kontrol kuyucuğunda üreme olmaması, başka bir plakta test edilen kalite kontrol suşunun beklenen MİK aralığında çıkması, inokulum saflık ve inokulum yoğunluk sonuçları beklenen şekilde bulunduğu, test geçerli kabul edilip, mikropaklar okundu.

4.4.9. Okuma ve FİK hesaplama

1. 37 °C’de inkübe edilen mikropalaklar, 16-20 saat sonra inkübatörden çıkarılıp göz ile okuma yapıldı.

2. Mikropalak okuması yapılırken, her kombinasyon için ayrı olarak hazırlanan şablon (Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4) üzerinde işaretlemeler yapıldı.

Öncelikle birinci antibiyotiğin, sonra da ikinci antibiyotiğin tek başına MİK değerleri okundu ve kayıt formuna işlendi.

Sonra kombinasyon kuyucukları okunup, üreme olan kuyucuklar kayıt formuna işlendi. Kombinasyon plağında üreme olmayan tüm kuyucuklar taranarak, FİK indeksinin en düşük hesaplandığı kuyucuk değerlendirmeye alındı.

Sonuçların yorumu için önce her iki antibiyotiğin ayrı ayrı fraksiyonel inhibisyon konsantrasyonu (FİK) değerleri aşağıdaki şekilde hesaplandı.

$FİK_a$ = a antibiyotiğinin kombinasyondaki MİK değeri/a antibiyotiğinin tek başına MİK değeri

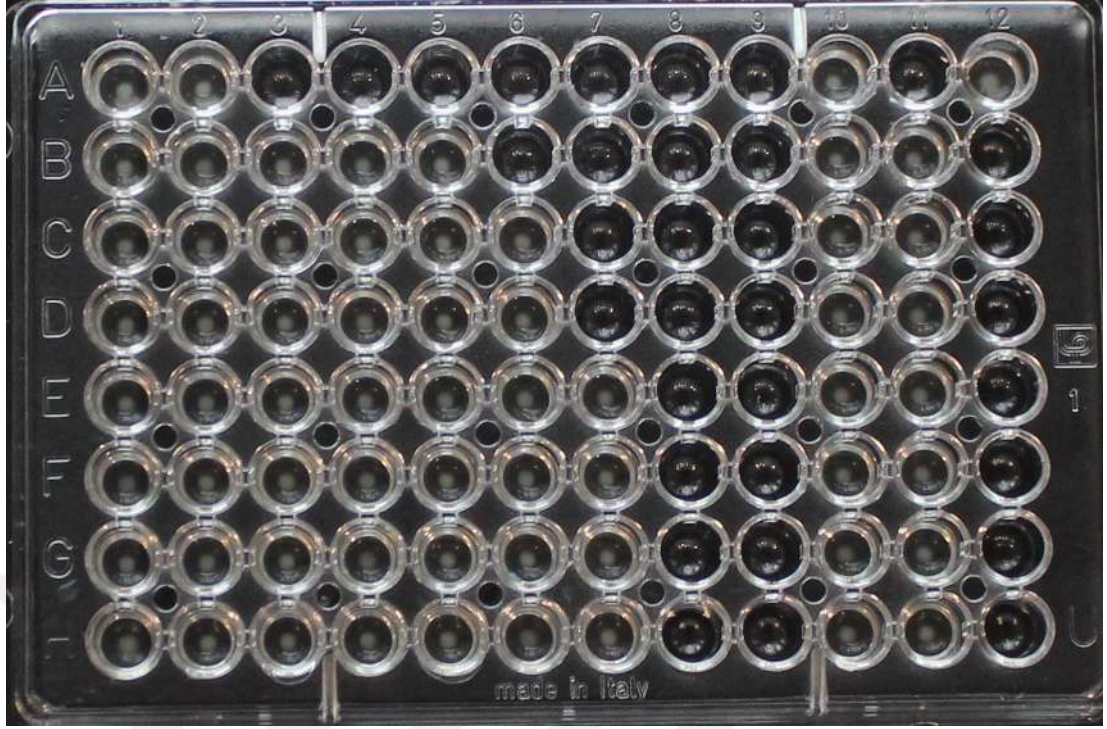
$FİK_b$ =b antibiyotiğinin kombinasyondaki MİK değeri/ b antibiyotiğinin tek başına MİK değeri

$$FİK \text{ indeksi } (FİKİ) = FİK_a + FİK_b$$

4.4.10. Yorumlama

$FİKİ \leq 0.5$ ise sinerjistik; $> 0.5 - \leq 1$ ise additif; $> 1 - < 4$ ise indiferan; ≥ 4 ise antagonizma olarak değerlendirildi.

Örnek hesaplama: Resim 4.1 ve Şekil 4.9.da görüldüğü şekilde Sipprofloksasin-Amikasin kombinasyon plağında 15 No’lu izolatın sonuçları değerlendirildi.



Resim: 4.1 Siprofloksasin-Amikasin kombinasyonunun mikropak üzerinde inkübasyon sonrası görünümü (15 No'lu izolat).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CIP 8 AK 0,5	CIP 8 AK 1	CIP 8 AK 2	CIP 8 AK 4	CIP 8 AK 8	CIP 8 AK 16	CIP 8 AK 32	CIP 8 AK 64		CIP 8 AK 64	AK 64	ÜK
B	CIP 4 AK 0,5	CIP 4 AK 1	CIP 4 AK 2	CIP 4 AK 4	CIP 4 AK 8	CIP 4 AK 16	CIP 4 AK 32	CIP 4 AK 64		CIP 4 AK 32	AK 128	CIP 16
C	CIP 2 AK 0,5	CIP 2 AK 1	CIP 2 AK 2	CIP 2 AK 4	CIP 2 AK 8	CIP 2 AK 16	CIP 2 AK 32	CIP 2 AK 64		CIP 2 AK 16	AK 64	AK 128
D	CIP 1 AK 0,5	CIP 1 AK 1	CIP 1 AK 2	CIP 1 AK 4	CIP 1 AK 8	CIP 1 AK 16	CIP 1 AK 32	CIP 1 AK 64		CIP 1 AK 8	AK 16	
E	CIP 0,5 AK 0,5	CIP 0,5 AK 1	CIP 0,5 AK 2	CIP 0,5 AK 4	CIP 0,5 AK 8	CIP 0,5 AK 16	CIP 0,5 AK 32	CIP 0,5 AK 64		CIP 0,5 AK 4	AK 16	
F	CIP 0,25 AK 0,5	CIP 0,25 AK 1	CIP 0,25 AK 2	CIP 0,25 AK 4	CIP 0,25 AK 8	CIP 0,25 AK 16	CIP 0,25 AK 32	CIP 0,25 AK 64		CIP 0,25 AK 2	AK 16	
G	CIP 0,125 AK 0,5	CIP 0,125 AK 1	CIP 0,125 AK 2	CIP 0,125 AK 4	CIP 0,125 AK 8	CIP 0,125 AK 16	CIP 0,125 AK 32	CIP 0,125 AK 64		CIP 0,125 AK 1	AK 16	
H	CIP 0,062 AK 0,5	CIP 0,062 AK 1	CIP 0,062 AK 2	CIP 0,062 AK 4	CIP 0,062 AK 8	CIP 0,062 AK 16	CIP 0,062 AK 32	CIP 0,062 AK 64		CIP 0,062 AK 0,5	AK 16	SK

Şekil 4.9. 15 No'lu suşa ait temsili görünüm.

CIP: Siprofloksasin, **AK:** Amikasin, **ÜK:** Üreme kontrolü, **SK:** Sterilite kontrolü

Koyu renkli kuyucuklar üreme olan kuyucuklardır. Bu izolata ait MİK değerleri şekilde de görüldüğü gibi **Siprofloksasin**: 16 mg/L, **Amikasin**: 64 mg/L'dir.

Kombinasyon kuyucuklarından üreme gözlenmeyen en düşük MİK değerli kuyucuklar A3, B6, D7, H8 kuyucuklarıdır.

Tablo 4.5. 15 no'lu izolata ait hesaplanan FİK indeksleri

Kuyucuk	CIP _{MİK}	AK _{MİK}	FİK CIP	FİK AK	FİK İndeksi
A3	8	2	0,5	0,03	0,53
B6	4	16	0,25	0,25	0,50
D7	1	32	0,06	0,5	0,56
H8	0,062	64	0,003	1	1,003

CIP: Siprofloksasin, **AK:** Amikasin, **MİK:** Minimum İnhibitör Konsantrasyon
FİK: Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon

FİK indeksi formülüne göre hesaplamalar yapılırken yukarıdaki sonuçlar çıkmaktadır. Dolayısıyla B6 kuyucuğunun FİK indeksi en düşük (0,50) çıktığından siprofloksasin ve amikasin arasında sinerji olarak değerlendirildi.

Bu şekilde 4 farklı antibiyotik için toplam 120 plakta kombinasyon testi yapıldı. Her bir plak için yukarıda anlatıldığı şekilde FİK indeksi hesaplandı.

5. BULGULAR

Çalışmaya alınan *A.baumannii* izolatlarının (n=30) tümü, sefalosporinlere, karbapenemlere, kinolonlara ve ampisiline dirençli idi. Amikasin 7 (%23,3), gentamisine 7 izolat (%23,3), kolistin ve tigesikline 30 izolat (%100) duyarlı idi. Bu izolatlardan sadece kolistin ve tigesikline duyarlı olan 13 (%43,3) izolat XDR kolistin ve tigesiklin ile beraber, aminoglikozidlere de duyarlı olan 17 (%56,6) izolat MDR olarak kabul edildi.

Tablo 5.1. Test edilen *A.baumannii* izolatlarının klinik örneklerle göre dağılımı

Klinik Örnek	Sayı	%
Kan	11	37
Trakeal Aspirat	13	43
İdrar	3	10
Doku	1	3,3
Biyolojik Sıvı	1	3,3
Kateter	1	3,3
Toplam	30	100

Tablo 5.2. Bu çalışmada kullanılan antibiyotiklerin EUCAST (2017) kriterleri uyarınca *Acinetobacter sp.* için MİK sınır değerleri

Antibiyotik	MİK (mg/L) sınır değerleri		Bakteri
	Duyarlı	Dirençli	
Siprofloksasin	≤1	>1	<i>Acinetobacter sp.</i>
Amikasin	≤8	>16	<i>Acinetobacter sp.</i>
Meropenem	≤2	>8	<i>Acinetobacter sp.</i>
Sulbaktam*	≤4	>4	<i>Enterobacteriaceae</i>
Kloramfenikol **	≤8	>8	<i>Enterobacteriaceae</i>
Rifampisin***	≤2	>2	

*EUCAST ve CLSI kılavuzlarında *Acinetobacter* izolatları için Sulbaktam MİK sınır değerleri olmadığından, EUCAST kriterleri uyarınca *Enterobacteriaceae* için ≤4 mg/L sınır değerine göre test yapıldı.

**EUCAST ve CLSI kılavuzlarında *Acinetobacter* izolatları için Kloramfenikol MİK sınır değerleri olmadığından, EUCAST kriterleri uyarınca *Enterobacteriaceae* için ≤8 mg/L sınır değerine göre test yapıldı.

***EUCAST ve CLSI kılavuzlarında *Acinetobacter* izolatları için Rifampisin MİK sınır değerleri olmadığından, literatürdeki diğer çalışmalar dikkate alınarak ≤ 2 mg/L sınır değerine göre test yapıldı (49, 50).

Tablo 5.3. Mikrodilüsyon yöntemi ile test edilen *A.baumannii* suşlarının saptanan MİK aralıkları, MİK50, MİK90 değerleri ve kombinasyonlarda kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları (n=30 izolat)

	MİK aralık (mg/L)	MİK50 (mg/L)	MİK90 (mg/L)	Duyarlı		Orta Duyarlı		Dirençli	
				Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Siprofloksasin	8-64	32	32	0	0	0	0	30	100
Amikasin	2- ≥ 256	64	≥ 256	7	23,3	3	10	20	66,6
Meropenem	16- ≥ 32	32	≥ 32	0	0	0	0	30	100
Sulbaktam	4-128	16	64	1	3,3	0	0	29	96,6
Rifampisin	2-32	4	32	11	36,6	0	0	19	63,3
Kloramfenikol	32- ≥ 256	128	128	0	0	0	0	30	100

Tablo 5.4. Çalışmadaki antibiyotik kombinasyonu sonucu oluşan etkiler

	Sinergi		Additif		İndiferan		Antagonizma	
	FİKİ ≤ 0.5		FİKİ $>0.5-\leq 1$		FİKİ $>1-< 4$		FİKİ ≥ 4	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
CIP-AK	8	26,6	7	23,3	15	50	0	0
CHL-RIF	3	10	16	53,3	11	36,7	0	0
MEM-RIF	2	6,6	14	46,7	14	46,7	0	0
MEM-SUL	8	26,6	17	56,7	5	16,7	0	0

CIP: Siprofloksasin, **AK:** Amikasin, **CHL:** Kloramfenikol, **RIF:** Rifampisin, **MEM:** Meropenem, **SUL:** Sulbaktam, **FİKİ:** FİK indeksi

Tablo 5.5. *A.baumannii* izolatlarına karşı antibiyotik kombinasyonlarının FİK indeksleri ve etkileşimleri

SUŞ NO	CIP-AK FİKİ	YORUM	MEM-SUL FİKİ	YORUM	MEM-RIF FİKİ	YORUM	CHL-RIF FİKİ	YORUM
1	2,00	İN	1,00	ADD	1,00	ADD	0,63	ADD
2	2,00	İN	0,50	Sinerji	1,00	ADD	0,27	Sinerji
3	2,00	İN	0,63	ADD	1,00	ADD	0,51	ADD
4	1,00	ADD	0,53	ADD	0,75	ADD	1,00	ADD
5	0,50	Sinerji	0,50	Sinerji	0,50	Sinerji	0,50	Sinerji
6	0,50	Sinerji	1,00	ADD	0,75	ADD	0,52	ADD
7	0,63	ADD	0,53	ADD	0,53	ADD	0,52	ADD
8	0,38	Sinerji	0,75	ADD	2,00	İN	1,00	ADD
9	2,00	İN	2,00	İN	2,00	İN	2,00	İN
10	2,00	İN	1,00	ADD	2,00	İN	1,00	ADD
11	0,51	ADD	0,50	Sinerji	0,75	ADD	0,50	Sinerji
12	0,50	Sinerji	0,75	ADD	2,00	İN	1,02	İN
13	0,38	Sinerji	0,38	Sinerji	0,75	ADD	0,53	ADD
14	1,06	ADD	0,50	Sinerji	0,75	ADD	0,63	ADD
15	0,50	Sinerji	0,53	ADD	0,52	ADD	0,53	ADD
16	2,00	İN	0,75	ADD	1,00	ADD	0,75	ADD
17	2,00	İN	1,00	ADD	0,75	ADD	1,00	ADD
18	0,75	ADD	0,50	Sinerji	2,00	İN	2,00	İN
19	2,00	İN	0,50	Sinerji	2,00	İN	2,00	İN
20	2,00	İN	2,00	İN	2,00	İN	2,00	İN
21	2,00	İN	2,00	İN	2,00	İN	2,00	İN
22	0,52	ADD	0,75	ADD	2,00	İN	2,00	İN
23	2,00	İN	2,00	İN	2,00	İN	2,00	İN
24	1,12	İN	0,75	ADD	2,00	İN	1,00	ADD
25	0,50	Sinerji	0,75	ADD	0,75	ADD	0,63	ADD
26	2,00	İN	2,00	İN	2,00	İN	2,00	İN
27	2,00	İN	0,50	Sinerji	2,00	İN	2,00	İN
28	0,75	ADD	0,75	ADD	0,31	Sinerji	0,75	ADD
29	0,38	Sinerji	1,00	ADD	1,00	ADD	1,00	ADD
30	0,63	ADD	0,75	ADD	2,00	İN	2,00	İN

CIP: Siprofloksasin, AK: Amikasin, CHL: Kloramfenikol, RIF: Rifampisin, MEM: Meropenem, SUL: Sulbaktam, FİKİ: FİK indeksi, ADD: Additif, İN: İndiferan

Bu çalışmada 30 izolat ve dört antibiyotik kombinasyonu için toplam 120 adet FİK indeksi hesaplandı.

Sinerji oranları MEM-SUL kombinasyonunda 8 (%26,6), CIP-AK kombinasyonunda yine 8 (%26,6), CHL-RIF kombinasyonunda 3 (%10), MEM-RIF kombinasyonunda 2 (%6,6) olarak gözlemlendi.

İzolatların 15'inde (%50) en az bir kombinasyonun sinerjistik etkinliği görüldü.

Additif etki en çok MEM-SUL kombinasyonunda 17 (%56,7) görülürken, 2.sırada CHL-RIF 16 (%53,3), 3.sırada 14 (%46,7) ile MEM-RIF kombinasyonunda gözlemlendi.

Test edilen konsantrasyonların hiç birinde antagonizma saptanmadı.

CIP-AK kombinasyonunda sinerji saptanan 8 izolattan 5 tanesi amikasin dirençli idi. (Tümü CIP dirençli)

CHL-RIF kombinasyonunda sinerji saptanan 3 izolattan 2 tanesi rifampisin dirençli idi. (Tümü CHL dirençli)

MEM-RIF kombinasyonunda sinerji saptanan 2 izolat da rifampisine dirençli idi. (Tümü MEM dirençli)

MEM-SUL kombinasyonunda sinerji saptanan 8 izolat da sulbaktama dirençli idi. (Tümü MEM dirençli)

Sinerjinin dirençli suşlarda daha fazla görülmesi dikkat çekmektedir. Başka bir çalışmada da benzer durum görülmüştür (51).

6. TARTIŞMA

A.baumannii yıllar içerisinde birçok antimikrobiyal ajana direnç kazandığından, tedavide ciddi sorunlar yaşatmaya devam etmektedir (46).

UHESA verilerine göre 2017 yılında ülkemizde *A.baumannii* de karbapenem direnci %70,46, kolistin direnci %4,79 olarak saptanmıştır. Bu durum kolistin direncinde artışın ayak sesleri olarak görülebilir (52).

A.baumannii de görülen bu çoğul dirençten dolayı tedavide sıklıkla kombine antibiyotikler kullanılmaktadır. Kombine tedavide uygulanan antibiyotiklerin arasında sinerjistik aktivitenin olması klinik açıdan önemlidir ve in vitro sinerji testleri tedavi planlamada yol gösterici olmaktadır (51).

Kolistinle yapılan kombinasyonlar etkili sonuçlar vermekle birlikte, kolistin nefrotoksik ve nörotoksik etkisi kullanımını sınırlayan en önemli faktörlerdir (53).

Bu çalışmada farklı kombinasyonlar kullanılarak, *A.baumannii*'ye karşı çeşitli antibiyotikler arasında sinerjistik etki, mikrodilüsyon CB yöntemiyle araştırıldı.

Üzerinde en çok çalışma yapılan kombinasyonlardan biri olan meropenem-sulbaktam (MEM-SUL) kombinasyonu yanında literatürde çok az çalışılan siprofloksasin-amikasin (CIP-AK) ve meropenem-rifampisin (MEM-RIF) kombinasyonunun etkinliğinin saptanması amaçlandı. Ayrıca literatürde *Acinetobacter*lere karşı hiç test edilmeyen kloramfenikol-rifampisin (CHL-RIF) kombinasyonu da çalışma kapsamında test edildi.

Mashaly ve ark. 2017 yılında 15 *A.baumannii* suşu kullanarak mikrodilüsyon CB metoduyla yaptıkları kombinasyon testinde CIP-AK kombinasyonunda %40 sinerji saptamışlardır (54).

Wang ve ark. 2016 yılında çoğul dirençli 116 *A.baumannii* suşu üzerine CIP-AK etkileşimini agar dilüsyon CB metodu ile araştırmışlardır. Sinerji saptanamazken, indiferan etki %82,76, antagonizma %17,24 bulunmuştur (55).

Bajaksouzian ve ark. 1997 yılında 101 *Acinetobacter* suşu kullanarak mikrodilüsyon CB metodu ile yaptıkları çalışmada levofloksasin MİK ≤ 2 mg/L olan 66 izolatta CIP-AK kombinasyonunda sinerji saptamazken, %76'sında additif etki, %24'ünde indiferan etki saptamışlardır. Levofloksasin MİK ≥ 4 mg/L olan 35 suşta

yine sinerji saptayamazken, %14'ünde additif, %86'sında indiferan etki saptamışlardır (56).

Çalışmamızda CIP-AK kombinasyonunda %26,6 sinerji, %23,3 additif, %50 indiferan etki saptanmıştır. Mevcut durumda tedavi için tercih edilebilecek bir kombinasyon olduğunu düşünmekteyiz. 2017 yılında Mashaly ve ark.nın yaptıkları çalışmada da CIP-AK kombinasyonu %40 gibi bir sinerji oranıyla dikkat çekmektedir.

MEM-SUL kombinasyonu bugüne kadar en çok test edilen kombinasyonlar arasında yer almaktadır. Ayrıca sonuç olarak da önemli oranda sinerji saptanan kombinasyonlardan biridir.

Wang ve ark. 2016 yılında agar dilüsyon CB metoduyla çoğul dirençli 116 *A.baumannii* suşu üzerinde yaptıkları çalışmada, MEM-SUL kombinasyonu %17,24 sinerji, %82,76 indiferan etki saptamışlardır (55).

Temoçin ve ark. 2015 yılında E-test metoduyla çoğul dirençli 30 adet *A.baumannii* suşu üzerinde yaptıkları çalışmada MEM-SUL kombinasyonu %43 sinerji, %17 additif etki, %40 indiferan etki saptamışlardır (57).

Anandan ve ark. 2015 yılında mikrodilüsyon CB ve time-kill metoduyla 5 adet karbapenem dirençli *A.baumannii* suşu kullanarak yaptıkları çalışmada, sırasıyla %52 ve %68 sinerji MEM-SUL kombinasyonunda saptamışlardır (58).

Marie ve ark. 2014 yılında mikrodilüsyon CB metodu ve E-test kullanarak 54 çoğul dirençli *A.baumannii* suşu üzerine MEM-SUL kombinasyonunun etkinliğini araştırmışlardır. Mikrodilüsyon CB metoduyla yapılan çalışmada %44,4 sinerji, %42,6 parsiyel sinerji, %12,96 additif etki saptamışlardır. E-test metodunda ise %40,7 sinerji, %59,3 parsiyel sinerji saptamışlardır (59).

Yavaş ve ark. 2014 yılında E-test metoduyla 18 adet karbapenem dirençli *A.baumannii* suşuna karşı, MEM-SUL kombinasyonunda %5,5 sinerji, %5,5 antagonizma saptamışlardır (60).

Türkdağı ve ark. 2013 yılında 40 adet karbapenem dirençli *A.baumannii* suşuyla, mikrodilüsyon CB metodu kullanarak yaptıkları çalışmada MEM-SUL kombinasyonunda, %48 sinerji, %7,5 kısmi sinerji, %7,5 indiferan etki saptamışlardır (51).

Laishram ve ark. 2013 yılında 50 adet XDR *A.baumannii* izolatına karşı mikrodilüsyon CB ve time-kill metoduyla MEM-SUL etkisini araştırmışlardır. Mikrodilüsyon CB metodunda %32 sinerji, %68 indifera etki, time-kill metodunda %58 sinerji, %42 indifera etki saptamışlardır (61).

Özseven ve ark. 2012 yılında, yoğun bakım ünitesinden izole edilen çoğul dirençli 34 *A.baumannii* suşuna karşı, mikrodilüsyon CB metodu kullanarak sinerji araştırmışlardır. Bu çalışmalarında MEM-SUL (sulbaktam/ampisilin) kombinasyonunda, %94,1 sinerji, %5,9 additif etki saptamışlardır (62).

Pongpech ve ark.2010 yılında yaptıkları çalışmada 30 adet çoğul dirençli *A.baumannii* suşuna MEM-SUL kombinasyonunda time-kill metoduyla %70 sinerji bulmuşlardır (63).

Kiffer ve ark. 2005 yılında mikrodilüsyon CB metodu ile 48 *A.baumannii* suşu ile yaptıkları çalışmada, MEM-SUL kombinasyonuyla %29,2 sinerji ($FİKİ \leq 0.5$), %47,9 parsiyel sinerji ($FİKİ 0.5 \leq 1$) saptamışlardır (64).

Jiang ve ark. 2018 yılında MEM-SUL kombinasyonuyla ilgili, toplam 8 çalışmadan (405 izolat) derleme yaptıkları bir meta-analizde, mikrodilüsyon CB metoduyla yapılan çalışmalarda % 25,2 sinerji saptamışlardır. Bu sonuç, çalışmamızda saptadığımız %26,6 ile çok benzerdir (65).

MEM-SUL kombinasyonunda sinerji oranları %5,5 - %94,1 aralığında saptanmış olmakla birlikte genelde yüksek oranda saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da sinerji oranı %26,6 saptanmış, dolayısıyla hala etkili bir kombinasyon olduğu düşünülmüştür.

Rifampisinin özellikle kolistinle kombinasyonunun *Acinetobacter*'lere karşı sinerjistik etkisi, çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (10-11-12). Burdan hareketle rifampisinin başka antibiyotiklerle kombinasyonunda oluşacak etkileşimleri araştırmak amacıyla meropenem-rifampisin (MEM-RIF) ve kloramfenikol-rifampisin (CHL-RIF) kombinasyonları test edilmiştir.

Sun ve ark. 2014 yılında MEM-RIF kombinasyonunun 12 adet çoğul dirençli *A.baumannii* izolatına karşı sinerjistik etkinliğini ölçmek için dama tahtası yöntemi ve time-kill metodu kullanmıştır. Ayrıca in vivo etkinliği ölçmek için farelerde deneysel sepsis oluşturulup monoterapi ve kombine terapi farkı araştırılmıştır. İn vitro kombinasyon testlerinde MEM-RIF kombinasyonunda %50 sinerji

saptanmıştır. Deneysel sepsis modelinde ise, kombinasyon tedavisinde monoterapiye oranla belirgin oranda serum interlökin-6 düzeylerinde düşüş saptanmıştır. Bu durum MEM-RIF kombinasyonunun hem in vitro hem de in vivo olarak etkili olduğunu göstermektedir (66).

Özseven ve ark. 2012 yılında, yoğun bakım ünitesinden izole edilen çoğul dirençli 34 *A.baumannii* suşuna karşı, mikrodilüsyon CB metodu kullanarak sinerji araştırmışlardır. Bu çalışmada MEM-RIF kombinasyonunda, %17,6 sinerji, %76,5 additif, %5,9 indiferaan etki saptamışlardır (62).

Biancofiore ve ark. 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada, trafik kazası sonrası *A.baumannii*'ye bağılı multifokal enfeksiyonu olan hastayı kolistin-meropenem-rifampisin kombinasyonu ile tedavi etmişlerdir. Bu hastadan izole edilen *A.baumannii* suşu ile yapılan antibiyotik kombinasyon testinde kolistin-rifampisin FİK indeksi=0,3 (Sinerji), kolistin-meropenem FİK indeksi=1 (Additif) çıkmıştır (12).

2005 yılında Glesen ve ark. hastaneye yatışının 7. gününde BOS kültüründe *A.baumannii* üreyen menenjitli bir hastayı meropenem, gentamisin, vankomisin ve metronidazol kombinasyonu ile tedavi etmeye çalışmış ancak 6 gün boyunca klinik yanıt alınamayınca, gentamisin ve metronidazol kesilerek, yerine rifampisin eklenmiştir. Rifampisin eklendikten 3 gün sonra ateş düşmüş, klinik ve laboratuvar bulguları düzelmeye başlamıştır (67).

Bizim çalışmamızda MEM-RIF kombinasyonunda %6,6 sinerji, %46,7 additif etki saptanmıştır. Çalışmamızda sinerjinin düşük çıkmasının test edilen suşlarla ilgili olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca additif etkinin de %46,7 gibi bir oranda çıkması, bu kombinasyonla yapılacak başka çalışmalarda daha yüksek sinerji olabileceğinin işareti olarak görülebilir.

Literatürde, *A.baumannii*'ye karşı kloramfenikol-rifampisin (CHL-RIF) kombinasyonunun kullanıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Kloramfenikol, protein sentezini inhibe ederek bakteriostatik etki gösteren, spiroketler, riketsiyalar, klamidya ve mikoplazmayı da içeren geniş bakteri grubuna etkili bir antibiyotiktir. Sood 2016 yılında yaptığı bir çalışmada, çoğul dirençli *A.baumannii* suşlarının %19'unun kloramfenikole duyarlı olduğunu ve in vivo olarak etkinliğinin daha farklı olabileceğini belirtmiştir (68).

Bizim çalışmamızda CHL-RIF kombinasyonunda %10 sinerji, %53,3 additif etki saptanmıştır. Eski bir antibiyotik olan ve günümüzde çok fazla kullanılmayan kloramfenikolün rifampisinle kombinasyonunda düşük de olsa sinerjistik etki olduğu görülmektedir. Bu kombinasyonla yapılacak başka çalışmalar, etkinliğin tam olarak anlaşılmasını sağlayabilir.

Tablo 6.1. Çeşitli dönemlerde yapılmış antibiyotik kombinasyon testlerinin karşılaştırmalı tablosu.

YAZAR	YIL	SUŞ SAYISI	METOD	CIP-AK	MEM-RIF	MEM-SUL
Jiang*	2018	408	MDCB			%25,2 SİN
Mashaly	2017	15	MDCB	%40 SİN		
Wang	2016	116	ADCB	%17,24 ANT		%17,24 SİN
Temoçin	2015	30	E-test			%43 SİN
Anandan	2015	5	MDCB			%52 SİN
Anandan	2015	5	TK			%68 SİN
Sun	2014	12	TK&MDCB		%50 SİN	
Yavaş	2014	18	E-test			%5,5 SİN
Marie	2014	54	MDCB			%44,4 SİN
Marie	2014	54	E-test			%40,7 SİN
Türkdağı	2013	40	MDCB			%48 SİN
Laishram	2013	50	MDCB			%32 SİN
Laishram	2013	50	TK			%58 SİN
Özseven	2012	34	MDCB		%17,6 SİN	%94,1 SİN
Pongpech	2010	30	TK			%70 SİN
Kiffer	2005	48	MDCB			%29,2 SİN
Bajaksouzian	1997	101	MDCB	%0 SİN		

ADCB: Agar dilüsyon checkerboard, **MDCB:** Mikrodilüsyon checkerboard
TK: Time kill, **SİN:** Sinerji, **ANT:** Antagonizma, *Meta-analiz çalışmasıdır.

7. SONUÇ

Antibiyotik kombinasyon testlerinde kullanılan test metodu, değerlendirme yöntemi ve suşların farklı olması, elde edilen sonuçlar arasında farklılıklara sebep olabilmektedir.

Bu çalışmada çoğul dirençli *A.baumannii* suşlarına karşı, in vitro olarak meropenem-sulbaktam ve siprofloksasin-amikasin kombinasyonlarında saptanan sinerji oranları ümit vericidir. Meropenem-sulbaktam kombinasyonu uzun yıllardır denenmekte ve kullanılmaktadır. Ancak siprofloksasin-amikasin kombinasyonu için in vivo deneyimlerin de araştırılması gerektiği açıktır. Kloramfenikol-rifampisin ve meropenem-rifampisin kombinasyonları, başka çalışmalarla desteklenmelidir.

Günümüzde *A.baumannii* izolatlarında yüksek oranda görülen çoğul direnç, tedavide monoterapinin artık yerinin olmayacağını göstermektedir. Ayrıca monoterapi izolatlarda direnç gelişme olasılığını daha da arttırmaktadır. Bu yüzden *A.baumannii* izolatları için lokal aktif sürveyans yapılmasını, elde edilen izolatlarla belirli dönemlerde antibiyotik kombinasyon testleri ile sinerji oluşturan antibiyotiklerin belirlenmesi gerektiği kanısındayız. Ayrıca in vitro testlerle daha farklı antibiyotik kombinasyonlarının denenmesi, yeni tedavi seçeneklerini ortaya koyabilir. Ancak in vitro kombinasyon testlerinin in vivo etkinlikle birlikte değerlendirilmesinin daha doğru bir yaklaşım olacağını düşünmekteyiz.

8. KAYNAKLAR

1. Aşık G. *Acinetobacter baumannii* Virülansının Açıklanmasında Güncel Yaklaşımlar. Mikrobiyol Bul 2011; 45(2): 371-380
2. Ozgur O, Aksaray N. *Acinetobacter* Enfeksiyonları ve Tedavisi. J Pediatr Inf 2014; 8: 28-32
3. Kılıç AU, Ergönül Ö, Çelikbaş AK, Dokuzoğuz B. *Acinetobacter baumannii* Bakteriyemilerinde Mortalite için Risk Faktörleri. Klimik Dergisi 2011; 24(3): 162-6
4. Ozseven AG, Sesli Çetin E, Ozseven L. Dama Tahtası Sinerji Testi Sonuçlarının Farklı Yöntemlerle Yorumlanması Sonuçlarımızı Etkiliyor mu? Mikrobiyol Bul 2012; 46(3): 410-420
5. Çıkman A, Ceylan MR, Parlak M, Karahocagil MK, Berktaş M. İmipenem Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Kolistin-Ampisilin/Sulbaktam Kombinasyonu Etkinliğinin Değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2013; 47(1): 147-151
6. Şener AG, Türk M, Afşar İ, Türker M. Çoğul Dirençli *Acinetobacter* Kökenlerinde Ampisilin/Sulbaktam-Siprofloksasin, Ampisilin/Sulbaktam - Amikasin, İmipenem - Siprofloksasin, İmipenem - Amikasin Kombinasyonlarının In Vitro Etkileşimlerinin Araştırılması. İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection) 2005; 19 (1): 107-110
7. Gazi H, Tünger Ö, Vural Ş, Özbakkaloğlu B, Sürücüoğlu S. Çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına in vitro etkileri. Türk Mikrobiyol Cem Derg (2007) 37 (1) : 11-14
8. Koksall İ. Sinerji Testleri : Laboratuvardan kliniğe yaklaşımlar. XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 11 Kasım 2010 GİRNE.
9. Eraç B, Yılmaz FF, Hoşgör Limoncu M, Oztürk I, Aydemir S. Çok İlaça Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Virülans Faktörlerinin Araştırılması. Mikrobiyol Bul 2014; 48(1): 70-81
10. Bassetti M1, Repetto E, Righi E, Boni S, Diverio M, Molinari MP, Mussap M, Artioli S, Ansaldi F, Durando P, Orengo G, Bobbio Pallavicini F, Viscoli C. Colistin and rifampicin in the treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. J Antimicrob Chemother. 2008 Feb;61(2):417-20

11. Bae S, Kim MC, Park SJ, Kim HS, Sung H, Kim MN, Kim SH, Lee SO, Choi SH, Woo JH, Kim YS, Chong YP. In Vitro Synergistic Activity of Antimicrobial Agents in Combination against Clinical Isolates of Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Oct 21;60(11):6774-6779
12. Biancofiore G, Tascini C, Bisà M, Gemignani G, Bindi ML, Leonildi A, Giannotti G, Menichetti F. Colistin, meropenem and rifampin in a combination therapy for multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* multifocal infection. A case report. Minerva Anesthesiol. 2007 Mar;73(3):181-5.
13. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii* An emerging opportunistic pathogen. Virulence. 2012 May 1; 3(3): 243–250.
14. Dal T, Dal MS, Ağır İ. *Acinetobacter baumannii*'de Antibiyotik Direnci ve AdeABC Aktif Pompa Sistemleri: Literatürün Gözden Geçirilmesi. Van Tıp Dergisi: 19 (3): 137-148, 2012
15. Espinal P, Seifert H, Dijkshoorn L, Vila J, Roca I. Rapid and accurate identification of genomic species from the *Acinetobacter baumannii* (Ab) group by MALDI-ToF MS. Clin Microbiol Infect 2012; 18: 1097–1103
16. Schleicher X, Higgins PG, Wisplinghoff H, Körber-Irrgang B, Kresken M, Seifert H. Molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter nosocomialis* in Germany over a 5-year period (2005–2009). Clin Microbiol Infect 2013; 19: 737–742
17. Demirdal T. *Acinetobacter* Enfeksiyonları: Mikrobiyolojik Tanı ve Direnç. Flora 2010;15(4):137-146
18. Bahar İH, Esen N. *Acinetobacter* türleri ve diğer gram negatif nonfermentatif basiller. İçinde: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi 2008; 2195-2201.
19. Keyik S, Arslan U, Türk Dağı H, Seyhan T, Fındık D. Karbapenemlere Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarında OXA Tipi Beta-Laktamazların Araştırılması ve PFGE ile Genotiplendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2014; 48(4): 556-565
20. T.C Sağlık Bakanlığı Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı Etken Dağılımı Ve Antibiyotik Direnç Raporu 2017

21. Çepni E, Gürel F. Bitkilerden Elde Edilen Anti Quorum Sensing Bileşikleri ve Yeni İlaç Geliştirmedeki Potansiyelleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg 41(4):131-138, 2011
22. Arda B. Çok İlaça Dirençli *Acinetobacter baumannii* Olgusu. ANKEM Derg 2010;24(Ek 2):78-81
23. Taşova Y, Yaman A, Saltoğlu N, Yılmaz G, Kara O, Dündar İH. Nozokomiyal *Acinetobacter* Enfeksiyonları. Flora 1999;4(3):170-176
24. Wong D, Nielsen TB, Bonomo RA, Pantapalangkoor P, Luna B, Spellberg B. Clinical and Pathophysiological Overview of *Acinetobacter* Infections: a Century of Challenges. Clin Microbiol Rev. 2017 Jan;30(1):409-447.
25. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. CID 2004;39 (1 August) • 309-315
26. Arda B. Çok İlaça Dirençli *Acinetobacter baumannii* Olgusu. ANKEM Derg 2010;24(Ek 2):78-81
27. Yıldız O. Çoğul Dirençli Gram-Negatiflerde Tedavi Yaklaşımı *Acinetobacter* Türleri. Yoğun Bakım Dergisi 2007;7(1):144-150.
28. Aydemir Ş. Kolistin Direnci, *Enterobacteriaceae* ve Diğer Gram Negatifler. 12.Antimikrobik ve Kemoterapi Günleri 2016 Harbiye/İSTANBUL
29. Gordon NC1, Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. International Journal of Antimicrobial Agents 35 (2010) 219–226
30. Joel Fishbain1 and Anton Y. Peleg. Treatment of *Acinetobacter* Infections. Clinical Infectious Diseases 2010; 51(1):79–84
31. Bal Ç. Antibiyotik Kombinasyonlarının İn vitro Etkinliğinin Saptanması. Flora 1999;4(4):219-229.
32. Çiftçi İH, Aşık G. *Acinetobacter baumannii*'nin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları. Ankem Derg 2011;25(3):196-207
33. Esenkaya Taşbent F, Özdemir M. *Pseudomonas* Suşlarında OXA Tipi Karbapenemazların Varlığı: Türkiye'den İlk Bildirim. Mikrobiyol Bul 2015; 49(1): 26-34

34. Coşkun S, Altanlar N. AmpC Beta-Laktamazlar. Ankem Derg. 2012;26(4):203-214
35. Keskin H, Tekeli A, Dolapci İ, Öcal D. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Beta-Laktamaz Kaynaklı Direncin Moleküler Karakterizasyonu. Mikrobiyol Bul 2014; 48(3): 365-376
36. Bucak Ö, Taş T, Koçoğlu E, Karabörk Ş. *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarında Metallo-Beta-Laktamaz Üretiminin Araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 44(1):23-27, 2014
37. Bulut Y, Çağlar H. Gram Negatif Non-fermantatif Bakterilerde Metallo-Beta Laktamaz Enziminin Farklı Yöntemlerle Gösterilmesi. F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg. 2013; 27 (3): 135 – 140
38. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global Challenge of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents And Chemotherapy, Oct. 2007, p. 3471–3484
39. Delmar JA, Su CC, Yu EW. Bacterial multi-drug efflux transporters. Annu Rev Biophys. 2014 ; 43: 93–117
40. Fournier PE1, Vallenet D, Barbe V, Audic S, Ogata H, Poirel L, Richet H, Robert C, Mangenot S, Abergel C, Nordmann P, Weissenbach J, Raoult D, Claverie JM. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. PLoS Genet. 2006 Jan;2(1):e7.
41. Tünay H, Demirdal T, Demirtürk N. *Acinetobacter* enfeksiyonlarında Dirençe İlgili Değişen Tanımlamalar ve Dirençte Güncel Durum. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2012 42(4):123-126.
42. Mansur A, Kuzucu Ç, Ersoy Y, Yetkin F. Çoğul Direnç veya Ekstrem İlaç Direnci Olan 30 *Acinetobacter* Suşunda in Vitro Tigesiklin Duyarlılığının Disk Difüzyon, E-test ve Buyyon Mikrodilüsyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2011;18(4):257-62
43. Aktaş G. Antibiyotik Kombinasyonları ve Sinerjistik Etkileşimleri. Türk Mikrobiyol Cem Derg 44(2):47-55, 2014
44. Ozseven AG, Sesli Çetin E, Ozseven L. Dama Tahtası Sinerji Testi Sonuçlarının Farklı Yöntemlerle Yorumlanması Sonuçlarımızı Etkiliyor mu? Mikrobiyol Bul. 2012 Jul;46(3):410-20.

45. Klinik Bakteriyoloji Tanı Standartları Çalışma Grubu. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS). MİK Saptama Yöntemleri. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
46. Zarakolu P, Ayaz ÇM, Metan G. Karbapeneme Dirençli *Acinetobacter baumannii* Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Çeşitli Antibiyotik Kombinasyonları ve İn Vitro Sinerji Test Sonuçları (2002-2016). Mikrobiyol Bul 2018; 52(2): 190-197
47. Sopirala MM, Mangino JE, Gebreyes WA, Biller B, Bannerman T, Balada-Llasat JM, Pancholi P. Synergy Testing by Etest, Microdilution Checkerboard, and Time-Kill Methods for Pan-Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents And Chemotherapy, Nov. 2010, p. 4678–4683
48. E. W. Koneman, S. D. Allen, W. M. Janda, P. C. Schereckenberger, and J. W. C. Winn, Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology, Lippincott, Philadelphia, Pa, USA, 5th edition, 1997, p:832.
49. Wanutsanun Tunyapanita,*, Pornpimol Pruekpraserta, Kamolwish Laoprasopwattanaa, Sureerat Chelae. Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolated from hospital patients. ScienceAsia 40 (2014): 28–34
50. Bai Y, Liu B, Wang T, Cai Y, Liang B, Wang R, Liu Y, Wang J. In Vitro Activities of Combinations of Rifampin with Other Antimicrobials against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Antimicrob Agents Chemother. 2015 Mar;59(3):1466-71.
51. Turk Dagi H, Kus H, Arslan U, Tuncer I. Karbapeneme Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarına Karşı Sulbaktam ile İmipenem, Meropenem ve Sefoperazon Kombinasyonlarının İn Vitro Sinerjistik Aktivitesi. Mikrobiyol Bul 2014; 48(2): 311-315
52. T.C Sağlık Bakanlığı Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı Özet Raporu 2017
53. Yolbaş İ, Tekin R, Güneş A, Kelekçi S, Şen V, Tan İ, Uluca Ü. Bir üniversite hastanesindeki *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. Journal of Clinical and Experimental Investigations 2013; 4 (3): 318-321

54. Mashaly GES. Aminoglycosides Resistance among *Acinetobacter baumannii* Complex Isolated from Hospital Acquired Blood Stream Infections. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci (2017) 6(11): 1103-1112
55. Wang FJ, Lyu Y, Liu ZH, Li Y, Cui LQ. In vitro Activity of Different Antibacterial Agents in Combination with Each Other against Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Chin Med J 2016;129:2388-9.
56. Bajaksouzian S, Visalli MA, Jacobs MR, Appelbaum PC. Activities of Levofloxacin, Ofloxacin, and Ciprofloxacin, Alone and in Combination with Amikacin, against *Acinetobacters* as Determined by Checkerboard and Time-Kill Studies. Antimicrob Agents Chemother. 1997 May;41(5):1073-6. May 1997, p. 1073–1076
57. Temocin F, Erdinc FS, Tulek N, Demirelli M, Ertem G, Kinikli S, Koksall E. Synergistic effects of sulbactam in multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Brazilian Journal of Microbiology 46, 4, 1119-1124 (2015)
58. Anandan S, Jennifer L, Anandan S, Pragasam AK, Shankar BA , Baby Abirami Shankar, Veeraraghavan B, Peter JV, Rao SV. Synergy Testing between Sulbactam and Meropenem/ Colistin in MDR *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* Complex Isolated from Ventilator Associated Pneumonia. J Infect Dis Ther 2016, 4:5
59. Marie MA, Krishnappa LG, Alzahrani AJ, Mubarak MA, Alyousef AA. A prospective evaluation of synergistic effect of sulbactam and tazobactam combination with meropenem or colistin against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. Bosn J Basic Med Sci. 2015;15(4):24-29.
60. Yavaş S, Yetkin MA, Kayaaslan B, Baştuğ A, Aslaner H, But A, Kanyilmaz D, Sari B, Akinci E, Bodur H. Investigating the in vitro synergistic activities of several antibiotic combinations against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. Turk J Med Sci. 2016 Apr 19;46(3):892-6.
61. Laishram S, Anandan S, Devi BY, Elakkiya M, Priyanka B, Bhuvaneshwari T, et al. Determination of synergy between sulbactam, meropenem and colistin in carbapenem-resistant *Klebsiella*

- pneumoniae and *Acinetobacter baumannii* isolates and correlation with the molecular mechanism of resistance. J Chemother 2016;28:297-303.
62. Ozseven AY, Cetin ES, Aridogan BC, Ozseven L. In vitro synergistic activity of carbapenems in combination with other antimicrobial agents against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Afr J Microbiol Res 2012;6:2985-92.
 63. Pongpech P, Amornnopparattanakul S, Panapakdee S, Fungwithaya S, Nannha P, Dhiraputra C,etal. Antibacterial activity of carbapenem-based combinations againts multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Med Assoc Thai 2010;93:161-71.
 64. Kiffer CR, Sampaio JL, Sinto S, Oplustil CP, Koga PC, Arruda AC, Turner PJ, Mendes C. In vitro synergy test of meropenem and sulbactam against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. Diagn Microbiol Infect Dis. 2005 Aug;52(4):317-22.
 65. Jiang Z, He X, Li J. Synergy effect of meropenem-based combinations against *Acinetobacter baumannii*: a systematic review and meta-analysis. Infection and Drug Resistance 2018;11 1083–1095.
 66. Sun Y, Wang L, Li J, Zhao C, Zhao J, Liu M, Wang S, Lu C, Shang G, Jia Y, Wen A. Synergistic efficacy of meropenem and rifampicin in a murine model of sepsis caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Eur J Pharmacol. 2014 Apr 15;729:116-22.
 67. Gleeson T, Petersen K, Mascola J. Successful treatment of *Acinetobacter* meningitis with meropenem and rifampicin. J Antimicrob Chemother. 2005 Sep;56(3):602-3.
 68. Sood S. Chloramphenicol – A Potent Armament Against Multi-Drug Resistant (MDR) Gram Negative Bacilli? Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2016 Feb, Vol-10(2)



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Ekrem	Soyadı	Yaşar
Doğum Yeri	Vankük	Doğum Tarihi	01.01.1968
Uyruğu	T.C	Tel	05056166189
E-posta	yasarekrem@hotmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	Ankara Numune Eğitim ve Araşt. Hast. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji	2002
Tezli Yüksek Lisans	-	
Tezsiz Yüksek Lisans	-	
Lisans	9 Eylül Tıp Fak. Tıbbi Biyolojik Bilimler	1992
Lise	Bingöl Sağlık Meslek Lisesi	1987

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Mikrobiyoloji Uzmanı	Özel Memorial Dicle Hastanesi	2013-Halen
Mikrobiyoloji Uzmanı	Sağlık Bakanlığı Diyarbakır Çocuk Hastanesi	2002-2013
Asistan	S.B.Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hast.	1998-2002
Sağlık Memuru	Sağlık Bakanlığı Diyarbakır Sağlık Müdürlüğü	1987-1998

Yabancı Dil Sınav Notu								
ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
56.25								

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	61,82	61,02	58,11
(Diğer) Puanı			

10. EKLER

10.1. Etik Kurul Onayı

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU					
DİCLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES					
164					
KARAR					
Prof. Dr. Kadri GÜL, Mik. Uzm. Ekrem YAŞAR, Uzm. Dr. Nida ÖZCAN, Arş. Gör. Neslihan GENİŞEL isimli araştırmacılar tarafından planlanan “Çoğul Dirençli <i>Acinetobacter baumannii</i> suşlarına çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının in vitro sinerjistik etkisi ” başlıklı araştırmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul’u tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir. Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul’a verilmesi zorunludur.					
DECISION					
The project titled as “In vitro synergistic affect of various antibiotic combinations against multiresistant acinetobacter baumannii strains” planned Kadri GÜL, Ekrem YAŞAR, Nida ÖZCAN, Neslihan GENİŞEL has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.					
Oturum No (Meeting number) :		Tarih (Date): 25.03.2016		Saat (Hour): 13:00-15:00	
KURUL BAŞKANI (CHIEF)		Prof. Dr. Aydın ECE			
KURUL ÜYELERİ / MEMBERS					
	ÜNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Aydın ECE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Çocuk Sağlığı ve Hast.	
2	Yrd. Doç. Dr.	İbrahim KAPLAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyokimya	
3	Prof. Dr.	Süleyman GÖREN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Adli Tıp	
4	Yrd. Doç. Dr.	İlker KELLE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
5	Doç. Dr.	A. Çetin TANRIKULU	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Göğüs Hast.	
6	Doç. Dr.	Abdullah BÖYÜK	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
7	Yrd. Doç. Dr.	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyostatistik	
8	Doç. Dr.	Uğur FIRAT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Patoloji	
9	Doç. Dr.	Orhan ATEŞ	Dicle Üniversitesi İlahiyat Fakültesi	Temel İslam Bilimleri	
10	Doç. Dr.	Mehmet Uğur ÇEVİK	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Nöroloji	
11	Avukat	Şahhanım KAPLAN	Dicle Üniversitesi Hastaneleri Başhekimlik	Avukat	
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası Zemin Kat 21280 Kampüs/DİYARBAKIR Telefon:+90.412 . 248 80 01-16/4631 Faks:+90.412. 248 84 40 kuruletikdiyar@gmail.com					

11. ORİJİNALLIK RAPORU

ORIGINALITY REPORT			
21%	18%	13%	3%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS
PRIMARY SOURCES			
1	www.floradergisi.org Internet Source	6%	
2	www.ankemdernegi.org.tr Internet Source	3%	
3	www.mikrobiyolbul.org Internet Source	1%	
4	www.cocukenfeksiyon.org Internet Source	1%	
5	vantipdergisi.yyu.edu.tr Internet Source	1%	
6	tmc.dergisi.org Internet Source	1%	
7	Hashizume, Hideki, Yoshiaki Takahashi, Shigeko Harada, and Akio Nomoto. "Natural lipopeptide antibiotic tripropeptin C revitalizes and synergistically potentiates the activity of beta-lactams against methicillin-resistant Staphylococcus aureus", The Journal of Antibiotics, 2015.	1%	

