

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**İNTRAABDOMİNAL ENFEKSİYONLARDA
SEKONDER VE TERSİYER PERİTONİT ETKENİ OLAN
GRAM NEGATİF BAKTERİLERİN
MOLEKÜLER SÜRVEYANSI**

**Tülay KANDEMİR
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ YÖNETİCİSİ
Yrd. Doç. Dr. Toğrul NAĞİYEV**

ADANA-2015

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**İNTRAABDOMİNAL ENFEKSİYONLARDA
SEKONDER VE TERSİYER PERİTONİT ETKENİ OLAN
GRAM NEGATİF BAKTERİLERİN
MOLEKÜLER SÜRVEYANSI**

**Tülay KANDEMİR
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ YÖNETİCİSİ
Yrd. Doç. Dr. Toğrul NAĞIYEV**

**Bu çalışma TYL-2014-2718 nolu proje olarak
Çukurova Üniversitesi Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir.**

ADANA-2015

TEŞEKKÜR

Eğitim sürem boyunca bilimsel desteklerini esirgemeyen, her zaman hoşgörülü davranan Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof.Dr. Fatih KÖKSAL ve akademik tecrübelerinden faydalandığım, her konuda rahatlıkla ulaşıp danıştığım danışman hocam Sayın Yrd.Doç.Dr. Toğrul NAĞİYEV başta olmak üzere Anabilim Dalımızın değerli öğretim üyelerine, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Yrd.Doç.Dr. Tülin GÜVEN GÖKMEN'e;

Bölüm sekreterimiz Suna GÖKMEN'e, çalışmam boyunca bana her türlü desteği veren arkadaşım Cansu ÖNLEN'e ve birlikte çalıştığım arkadaşlarıma saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Klinik örneklerimizin toplanması ve değerlendirilmesinde her türlü desteği veren Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd.Doç.Dr. Ayşe Seza İNAL'a, Genel Cerrahi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd.Doç.Dr. Abdullah ÜLKÜ ve Öğr. Gör.Uz.Dr. Orçun YALAV'a, ayrıca örneklerin toplanmasını titizlikle takip eden Merkez Labratuvarında görevli tekniker Dönay ÜNLÜ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda, bana destek olan sevgili eşime ve canım çocuklarıma en içten duygularıyla sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Tülay KANDEMİR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. İntraabdominal Enfeksiyonlar	5
2.1.1. Peritonun Yapısı	5
2.1.1.1. Peritonun Embriyolojisi	6
2.1.1.1.1. Barsakların Rotasyonu ve Periton Boşluğu (Cavitas Peritonealis)	6
2.1.1.1.1.1. Ön Barsak Rotasyonunun Mekanizması:	6
2.1.1.1.1.2. Orta Barsak Rotasyonunun Mekanizması	7
2.1.1.1.1.2.1. Fizyolojik Herni Evresi	7
2.1.1.1.1.2.2. Redüksiyon Evresi	8
2.1.1.1.1.2.3. Tespit Evresi	8
2.1.1.2. Peritonun Anatomisi	9
2.1.1.2.1. Mezenter	9
2.1.1.2.1.1. Tutunma Yeri	9
2.1.1.2.1.2. Mezokolon Transversum	10
2.1.1.2.1.3. Mezosigmoid	10
2.1.1.2.2. Omentum	10
2.1.1.2.2.1. Omentum Minus	10
2.1.1.2.2.2. Omentum Majus	11
2.1.1.2.3. Periton Resesusları	11
2.1.2. Peritonitin Sınıflandırılması	12

2.1.2.1. Primer Peritonit	12
2.1.2.2. Sekonder Peritonit	13
2.1.2.3. Tersiyer Peritonit	14
2.1.3. Peritonitle İlişkili Spesifik Hastalık Durumları	16
2.1.3.1. Apandisit	16
2.1.3.2. Kolon	17
2.1.3.3. Mide ve İncebarsak	17
2.2. Etiyoloji / Epidemiyoloji	17
2.3. Patogenezi	19
2.4. Sekonder ve Tersiyer Peritonitten Sorumlu Başlıca	
Gram Negatif Bakteriler	20
2.4.1. Pseudomonas	21
2.4.2. Acinetobacter	23
2.4.3. Klebsiella	25
2.4.4. Escherichia coli	26
2.4.5. Proteus	28
2.4.6. Achromobacter	28
2.5. Tanı	28
2.5.1. Klinik ve Radyolojik Tanı	28
2.5.2. Mikrobiyolojik Tanı	29
2.5.2.1. Fenotipik Yöntemler	29
2.5.2.2. Moleküler Yöntemler	30
2.6. Tedavi	31
2.6.1. Cerrahi Yöntemler	32
2.6.2. Kaynak Kontrolü	32
2.6.3. Antibiyotikler	33
2.6.3.1. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması	34
2.6.3.1.1. Bakterilerin Hücre Duvar Sentezini İnhibe Edenler	34
2.6.3.1.1.1. Beta Laktamlar	34
2.6.3.1.1.2. Glikopeptitler	35
2.6.3.1.1.3. Fosfomisin	35
2.6.3.1.2. Protein Sentezini İnhibe Edenler	35

2.6.3.1.3. Sitoplazma Membranının Geçirgenliğini Artırarak Etki Gösterenler	36
2.6.3.1.4. DNA veya mRNA Sentezini Bozanlar	36
2.6.3.1.5. Bakterinin Metabolizması için Gerekli Maddelerin Sentezini Önleyenler	37
2.6.3.2. Direnç Mekanizmaları	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. Örneklerin Toplanması	41
3.1.1. Birinci Grup Hastalar	41
3.1.2. İkinci Grup Hastalar	41
3.2. Fenotipik İnceleme	41
3.2.1. Mikroskopik İnceleme	42
3.2.2. Kültür Ortamında İzolasyon	42
3.2.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri (ADT)	42
3.3. Klonal İlişkinin Pulsed-Field Gel Elektrophoresi (PFGE) Yöntemi ile Belirlenmesi	43
3.3.1. PFGE’ de Kullanılan Solüsyonlar	43
3.3.2. Örneklerin Hazırlanması	45
3.3.3. PFGE Yönteminin Uygulanması	46
3.3.4. PFGE Sonuçlarının Değerlendirilmesi	50
4. BULGULAR	51
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	59
KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Peritonun Yapısı	8
Şekil 2.2.	PFGE Görüntüsü	31
Şekil 2.3.	Antibiyotik Etki Mekanizmaları	36
Şekil 2.4.	Bakterilerin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları	39
Şekil 3.1.	PFGE Tankı ve Soğutucu	49
Şekil 3.2.	Gel Logic 1500 Imaging System	49
Şekil 4.1.	Peritonit Etkeni Olan <i>E. coli</i> İzolatlarının PFGE ile Elde Edilen Jel Görüntüsü	54
Şekil 4.2.	Peritonit Etkeni Olan <i>E. coli</i> İzolatlarının PFGE Sonucunda Elde Edilen Dendrogramı	54
Şekil 4.3.	Peritonit Etkeni Olan <i>K. pneumoniae</i> İzolatlarının PFGE Sonucunda Elde Edilen Dendrogramı	55
Şekil 4.4.	Peritonit Etkeni Olan <i>P. aeruginosa</i> İzolatlarının PFGE Sonucunda Elde Edilen Dendrogramı	55
Şekil 4.5.	Peritonit Etkeni Olan <i>Achromobacter xylosoxidans</i> İzolatının PFGE ile Elde Edilen Jel Görüntüsü	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Peritonitlerin Sınıflandırılması	12
Çizelge 4.1. Peritonitli 21 Hastadan İzole Edilen 32 gram(-) Bakterinin Dağılımı	52
Çizelge 4.2. İzolatların PFGE ve Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları	53

KISALTMALAR DİZİNİ

<i>A. baumannii</i>	: <i>Acinetobacter baumannii</i>
ADT	: Antibiyotik duyarlılık testi
AFLP	: Amplified fragment length polymorphism
Ara4N	: 4-amino-4-deoxy-L-arabinose
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
ÇİD	: Çoklu İlaç Dirençli
<i>E.coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EAEC	: Enteroagregatif <i>E.coli</i>
EDTA	: Etilen Di amin Tetra Asetik asit
EHEC	: Enterohemorajik <i>E.coli</i>
EIEC	: Enteroinvaziv <i>E.coli</i>
EMB	: Eozin Metilen Blue
EPEC	: Enteropatojenik <i>E.coli</i>
ETEC	: Enterotoksijenik <i>E.coli</i>
GNB	: Gram Negatif Basil
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz
HK-İAE	: Hastane kaynaklı İntraabdominal Enfeksiyonlar
IMVIC	: Indol, Metil kırmızısı, Voges Proskauer, Citrat testi
IR-GNB	: İmipenem Dirençli Gram Negatif Basil
KNC	: Potasyum Siyanid
<i>K. pneumoniae</i>	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>
LasA	: Serin proteaz
LasB	: Çinko metalloproteaz
LPS	: Lipopolisakkarit
MBK	: Minimum Bakterisid Konsantrasyon
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MRSA	: Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
PFGE	: Pulsed- Field Gel Elektroforezi
<i>P. aeruginosa</i>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism

SBP	: Spontan Bakteriyal Peritonit
SIS	: Surgical Infection Society
SMART	: Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends
TK-İAE	: Toplum Kaynaklı İntraabdominal Enfeksiyonlar
TSI	: Triple Sugar Iron agar
VRE	: Vankomisin Dirençli Enterokok

ÖZET

İntraabdominal Enfeksiyonlarda Sekonder ve Tersiyer Peritonit Etkeni Olan Gram Negatif Bakterilerin Moleküler Sürveyansı

Antimikrobiyal direnç risk faktörü bulunmayan toplum kökenli intraabdominal enfeksiyonlarda önemli bir sorun değil iken, hastane kökenli enfeksiyonlarda yüksek mortalite oranlarına yol açmaktadır. Özellikle de, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi tersiyer peritonit etkeni olarak sıklıkla izole edilen gram negatif bakterilerle yapılan güncel çalışmalar New Delhi Metallobetalaktamaz (NDM-1) gibi neredeyse bütün antibiyotiklere karşı direnç gelişmesine sebep olabilen yeni mekanizmalar açığa çıkarmaktadır. Hastanemizde de altta yatan hastalıkları daha fazla olan hasta grubunda cerrahi uygulanması yanı sıra daha komplike ameliyatların gerçekleştirilmesi nedeniyle, bölgemizdeki diğer üçüncü basamak hastanelere göre daha ağır abdominal sepsis olguları görülmektedir. Bu hastalarda kaynak kontrolü ile birlikte erken ve etkili antimikrobiyal tedavi hayat kurtarıcıdır. Bu sebeple, etken mikroorganizmaların fenotipik ve genotipik özelliklerinin birlikte değerlendirilmesi daha da önemli hal almaktadır.

Çalışmamızın amacı hastanemizde intraabdominal enfeksiyonlu hastalardan sekonder ve tersiyer peritonit etkeni olarak izole edilen gram negatif bakterilerin direnç paternlerinin tespiti ve aralarındaki filogenetik ilişkinin belirlenmesidir.

Çalışmamızda, Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesinin Genel Cerrahi Servisinde ve Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesinde sekonder ve tersiyer peritonit klinik tanısı ile yatarak takip edilen ardışık hastalar iki grup halinde incelendi. Birinci grubu başka bir hastanede opere edilen hastalar; ikinci grubu ise çalışma yapığımız hastanede opere edilen hastalar oluşturdu. Her iki grup hastadan da kan kültürü ve/veya pürülan akıntısı varsa sürüntü örneği alındı. İzolatların tür düzeyinde identifikasyonu ve antibiyotik direnç paternlerinin tespiti VITEK 2 otomatize sistemle yapıldı. Moleküler olarak dirençli olan suşlar arasındaki akrabalık ilişkisini bulmak için Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) yöntemi kullanıldı.

Çalışma sonunda; peritonit tanısı konan hastalardan izole edilen 32 Gram(-) suşun 20'si *E.coli*, 6'sı *K. Pneunmoniae*, 3'ü *P.aeruginosa*, 1'i *Proteus spp*, 1'i *A. baumannii* ve 1'i *Achromobacter xylosoxidans* olarak belirlendi. Kullandığımız PFGE yöntemi izolatlarımız arasında önemli bir klonal ilişkinin bulunmadığını gösterdi.

Anahtar Sözcükler: Antibiyotik direnci, gram negatif bakteriler, intraabdominal enfeksiyon, peritonit, Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

ABSTRACT

Molecular Surveillance of Gram Negative Bacteria Causing Secunder and Tertiary Peritonitis in Intraabdominal Infections

Although antimicrobial resistance is not important problem in Community-acquired infections having no risk factors, it brings about high mortality rates in Hospital-acquired intraabdominal infections. Recent studies performed on gram negative bacteria such as *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*, especially frequently isolated as causative agents of tertiary peritonitis, reveal novel mechanisms such as New Delhi Metallo- β -lactamase (NDM-1) that may cause a resistance development against almost all antibiotics. Cases with abdominal sepsis occur to be more serious in our hospital than other tertiary hospitals of our region due to application of surgery in patients with more predisposing diseases as well as performing of more complicated operations. In those patients early and efficient treatment together with surveillance of sources is life-saving. Thus, collective evaluation of the phenotypic and genotypic characteristics of causative microorganisms is becoming more important.

In our study, we aimed to detect the resistance patterns of the gram negative bacteria isolated from patients with intraabdominal infection in our hospital as causative agents of secondary and tertiary peritonitis and to determine the phylogenetic relationships between these isolates.

In the study, consecutive patients hospitalized in the General Surgery Clinic and Surgical Intensive Care Unit due to clinical diagnosis of secondary and tertiary peritonitis were investigated in two different groups. While first group was consisted of patients operated in other hospitals, second group was consisted of patients operated in our hospital. Blood culture samples and/or swab samples from purulent discharge were obtained from patients of both groups. Species-level identification and antibiotic resistance patterns were carried out using VITEK 2 automated system. For detection of molecular relationships between the resistant isolates the Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) method was used.

Among the 32 Gram(-) strains isolated from patients that diagnosed as peritonitis 20 *E.coli*, 6 *K.pneumoniae*, 3 *P.aeruginosa*, 1 *Proteus spp*, 1 *A. Baumannii* and 1 *Achromobacter xylosoxidans* isolates have been identified. PFGE method which we used revealed no significant clonal relationship between our strains.

Key Words: Antibiotic resistance, gram negative bacteria, intraabdominal infection, peritonitis, Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

1. GİRİŞ

Genellikle gram negatif bakterilerin sebep olduğu intraabdominal enfeksiyonlar fekal peritonitten komplike olmayan apandisit kadar birçok patolojik durumda meydana gelir. İntraabdominal enfeksiyon terimi ile peritonit sıklıkla eş anlamlı olarak kullanılsa da peritonitin orjinleri ve farklı formları sebebiyle hastalığın şiddeti geniş bir varyasyon gösterir. Apandisitli hastalarda mortalite oranı % 5-9 iken; gastrik ülser perforasyonunda oran % 21 ve safra yolundan başlayan peritonit yada kalın barsak perforasyonunda oran % 45 ile 50 aralığındadır¹.

İntraabdominal enfeksiyonlar özellikle az gelişmiş ülkelerde genel olarak cerrahlar açısından tedavisi en zor enfeksiyonlardan biridir. Tanı için birçok yardımcı teknolojik tanı yöntemleri olmasına rağmen hala peritonitin tanısı klinik kriterlere bağlıdır. Ameliyat süreci laparotominin tekrar edilmesini gerektirebilir, deneyimli cerrahların yeteneklerini sınavabilir².

Cerrahi müdahaleyle beraber, kritik hastaların yoğun bakım desteğine multi-disipliner bir yaklaşım hastanın hayatta kalması için önemlidir³.

İntraabdominal enfeksiyonlar komplike ve komplike olmayan enfeksiyonlar olarak sınıflandırılır. Komplike olmayan intraabdominal enfeksiyonlar tek bir organda gelişir ve peritona yayılmaz. Tedavi enfekte organın cerrahi olarak çıkarılmasıyla ya da sadece antibiyotik kullanımıyla yapılır. Komplike intraabdominal enfeksiyonlar organın dışında, lokalize ya da diffüz peritonite sebep olur. Tedavisi kaynak kontrolünün yanı sıra antibiyotik kullanımıyla yapılır. Bu enfeksiyonlar morbiditenin önemli bir sebebidir ve sıklıkla kötü prognoza sahiptir⁴.

Peritonit primer, sekonder ve tersiyer olmak üzere üçe ayrılır⁴.

Primer peritonit monomikrobiyal bir enfeksiyondur ve bu enfeksiyonda gastrointestinal sistemin bütünlüğü bozulmamıştır. En genel klinik tablosu spontan bakteriyel peritonittir ve karaciğer hastalığının son aşamasındaki hastalarda tipik olarak tanımlanmıştır⁵.

Sekonder peritonit peritonitin en yaygın formudur. Bir organ enfeksiyonu, barsak perforasyonu, iç organ boşluklarının perforasyonunu ya da ameliyat sonrası gelişen komplike intraabdominal enfeksiyonlarla ilişkilidir^{6,5}.

Tedavi kaynak kontrolünden sonra sistemik antibiyotik başlanmasıyla yapılır⁷.

Kaynak kontrolü enfekte toplanmış sıvının ya da abselerin direnaji, nekrotik enfekte dokunun temizlenmesi, yapı ve fonksiyonları düzenlemek ve devam eden mikrobiyal kaynağı kontrol etmek için alınan kesin önlemlerdir⁸.

Tersiyer peritonit, primer ve sekonder peritonit yeterli tedavi yapıldıktan sonra intraabdominal enfeksiyonun yeniden tekrar etmesi ya da kalıcılığıdır^{5,9}.

Tersiyer peritonitli hastaların tedavisi multidisipliner bir takım tarafından ve yoğun bakım ünitesinde yapılmalıdır. Hastaya metabolik ve besin desteğinin yanında hemodinamik ve solunum desteği de gerekecektir. Kan ve abdominal kavitenin en son kültür raporlarına göre; kullanılacak antibiyotiklerin, cerrahi ve yoğun bakım ünitesi uzmanlarının birlikte alacakları karara göre uygun miktarı ve zamanı ayarlanmalıdır¹⁰.

İntestinal flora, tamamı yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar için patojen olan; *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* gibi nonfermenter ve *Enterobacteriaceae* familyasının üyelerini içeren Gram negatif basillerin (GNB) majör rezervuarıdır. Bu GNB'lerin antibiyotiklere direnci gün geçtikçe artmaktadır. Özellikle de geniş spektrumlu sefalosporinlere direnç gelişmiştir. Bunun sebebi; genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üreten *Enterobacteriaceae* ve AmpC sefalosporinazları yüksek seviyede üreten *P. aeruginosa* ve *Enterobacteriaceae*' ların küresel olarak yaygınlaşmasıdır.¹¹⁻¹³ Bu bakterilere karşı aktif beta laktam etkinliği devam eden tek antibiyotik karbapenemlerdir. Bu durum karbapenemleri sadece tanısı konulmuş enfeksiyonlar için değil; aynı zamanda hastane kaynaklı enfeksiyonların ampirik tedavisinde de kullanılmasına yol açmıştır.¹³ Bu şekildeki kullanımda 1990'lardan sonra karbapem direncinin ortaya çıkmasına ve direncin artan bir şekilde devam etmesine sebep olmuştur. Karbapenem direnci bakterilerde dış membran permeabilitesinin selektif kaybıyla ya da karbapenemleri hidrolize eden enzimlerin varlığıyla gerçekleşir. Karbapeneme dirençli olan GNB'ler aminoglikozidler, florokinolonlar gibi diğer antibiyotik sınıflarına da dirençlidir. İmipenem dirençli GNB (IR-GNB)' den dolayı gelişen yoğun bakım ünitesinde edinilen enfeksiyonlarda morbidite ve mortalite oranı daha yüksektir. İntestinal flora dirençli GNB'lerin epidemiyolojisinde merkezi bir rol oynamaktadır; ve birçok yoğun bakım ünitesindeki hastaların enfeksiyonu intestinal yoldan orjin almaktadır¹⁴.

Gram negatif bakterilerin sebep olduğu hastane kaynaklı enfeksiyonlardan en sık görülenler; solunum yolları enfeksiyonları (pnömoni), cerrahi alan enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları ve kan dolaşım sistemi enfeksiyonlarıdır¹⁵.

En yaygın görülen üriner sistem enfeksiyonları iken; solunum yolları ve kan dolaşım sistemi enfeksiyonları en letal olanlardır. U.S. National Healthcare Safety Network verilerine göre hastane kaynaklı enfeksiyonların % 30' undan gram negatif bakteriler sorumludur. Ventilator ilişkili pnömonilerin % 47' sinden ve üriner sistem enfeksiyonlarının %45'inden, yoğun bakım ünitesindeki bu tip enfeksiyonların % 70'inden gram negatif bakteriler sorumludur. Benzer veriler dünyanın değişik bölgelerinden de rapor edilmektedir. Gram negatif bakterilerden de en yaygın olan *Enterobacteriaceae*'dir. *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL) üreten ya da karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* gibi çoklu ilaç dirençli gram negatif bakteriler dünyanın her yanından rapor edilmektedir¹⁶.

Gram negatif bakterilerin antibiyotiklere karşı birçok direnç mekanizmaları vardır. Bunlar antibiyotiklerin hücre duvarından girişini engelleyen porin kaybı, beta laktamları indirgeyen beta laktamazların varlığı, membranda eflux pompasının etkinliğinin artması, antibiyotik modifiye edici enzimlerin varlığı, antibiyotiğin hedef bölgesinin değiştirilmesi ve polimiksin grubu antibiyotiklerin hedef bölgeye bağlanmasını engellemek için lipopolisakkaritte mutasyon meydana getirmek gibi mekanizmalardır¹⁶.

Hastaneden edinilen enfeksiyonlar çoğunlukla invaziv medikal araçlar ve cerrahi prosedürle ilişkilidir ve hastalar için en büyük tehlikedir. Tahminen 2002'de 1,7 milyon insanda hastane kaynaklı enfeksiyon meydana gelmiş; ve bunların yaklaşık 99000'i ölmüştür. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) hastane kaynaklı enfeksiyonlar ölüme sebep olan enfeksiyonlardan altıncı sıradadır. Benzer sonuçlar Avrupa'dan da gelmektedir. Bu enfeksiyonun yıllık maliyeti ABD'ye 5-10 milyon dolardır. Tahminen hastane kaynaklı enfeksiyonların üçte birinden fazlası önlenabilir¹⁶.

Salgın hastalıkların moleküler epidemiyolojik tanımlanmasında kullanılan Pulse Field Gel Elektrophoresis (PFGE) yöntemi hastane enfeksiyonlarından sorumlu bakteriler arasındaki klonal ilişkiyi de tespit etmek için en uygun yöntem sayılmaktadır¹⁷.

Çalışmamızın amacı; Çukurova Üniversitesi Genel Cerrahi Servisi ve Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi'nde toplum kökenli veya hastane kökenli intraabdominal enfeksiyon tanısı ile takip edilen, operasyon planlanmış veya opere edilmiş olan hastalardan sekonder ve tersiyer peritonit etkeni olarak izole edilen gram negatif bakterilerin direnç paternlerinin tespiti ve aralarındaki filogenetik ilişkinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İntraabdominal Enfeksiyonlar

İntraabdominal enfeksiyonlar genellikle bir iç organın duvarında enterik bakterilerin çoğalması ve invazyonu sonucu gelişir. Abdominal kavitenin normal steril bölgesinde ya da periton boşluğunda enfeksiyon geliştiği zaman bu enfeksiyon komplike intraabdominal enfeksiyon olarak tanımlanır. Komplike intra-abdominal enfeksiyonlar genellikle kaynak kontrolü için invaziv girişimle tedavi edilir. Komplike olmayan intraabdominal enfeksiyon bir abdominal organın duvarında enfeksiyon yada iltihaplı bir süreçtir. Komplike olmayan intraabdominal enfeksiyonların tedavisi hızlı bir şekilde yapılmazsa komplike intraabdominal enfeksiyon gelişir⁵.

Komplike intraabdominal enfeksiyonların mortalite oranı yüzyıl önce % 90' dı. Son yüzyıl boyunca yoğun cerrahi metodlar, yoğun bakım yönetimi ve farklı etkilere sahip antibiyotiklerin geniş çeşitliliği mortalite oranını %25' lerin altına düşürdü. Ama 21. Yüzyılın ilk çeyreğinin sonunda komplike intraabdominal enfeksiyonlar yoğun bakım ünitesindeki ağır sepsislerin % 20 'sinden sorumludur. Bundan dolayı pnömoniden sonra mortalite ve morbidite oranı yüksek ikinci enfeksiyondur.

İntraabdominal enfeksiyonlar:

- a) Apandisit ve kolesistit gibi spesifik organların enfeksiyonlarını;
- b) Genel olarak peritoneal boşluktaki enfeksiyonların yayılması sonucu oluşan peritonitleri;
- c) İntra-abdominal apseleri içerir³.

2.1.1. Peritonun Yapısı

Periton bazal membranda mezotel hücrelerinin tek katlı bir katmanıdır, ve bazı elastik kollojen lifler, lenfositler, makrofajlar, fibroblastlar ve adipoz hücreler tarafından bağ doku yatağında şekillenmiştir. Peritonun abdominal boşluğu kaplayan kısmına parietal periton; parietal peritonun iç organları kaplayan kısmına da visseral periton denir. Peritonun toplam yüzeyi 1,7 metrekaredir. Periton normal koşullarda sterilidir. Makrofajları, lenfositleri ve mezotel hücrelerini içeren, 50 mL sarı bir sıvı ile doludur.

Periton membranının büyük bir bölümü su ve çoğu solütlerin çift yönlü difüzyonunu yapan semipermeabl, pasif bir bariyer gibi davranır¹⁸.

2.1.1.1. Peritonun Embriyolojisi

Karın içinde periton ile karın içi organların ilişkilerini ve konjenital bozuklukları anlamak için barsakların rotasyon mekanizmasını bilmek gereklidir.

2.1.1.1.1. Barsakların Rotasyonu ve Periton Boşluğu (Cavitas Peritonealis)

Embriyonik gastrointestinal kanal, iki yapraklı primer ventral ve primer dorsal mezenterlerle vücut ön ve arka duvarına asılmış bir tüp şeklindedir. Ventral mezenterin alt bölümü erken bir evrede kaybolur, sağ ve sol karın boşluğu birbirine birleşirler¹⁹.

Ventral mezenter: Karaciğer geliştikten sonra karın ön duvarı ile karaciğer arasında kalan kısmı **ligamentum falsiformis** adını alır. Bunun aşağıya doğru uzanan serbest kenarı içinde vena umblikalis seyrederek ve bu kenar **ligamentum teres hepatis** adını alır¹⁹.

Karaciğer ile mide arasında kalan mezenter **gastro-hepatik ligament** denir. Bu ligamentin serbest kalan alt kenarı duodenumun birinci kısmı üzerine uzanır. Hepatoduodenal ligament denilen bu kısmın iki yaprağı arasında, ductus choledochus, hepatica ve vena porta seyrederek¹⁹.

Dorsal mezenter: Orijinal dorsal mezenterin mideyi asan kısmına **mesogastrium**, duodenumu asan kısmına **mesoduodenum**, kolonu asan kısmına **mezokolon** denir. Jejunum ile ileumu asan kısmına ise **dorsal mesenterium** denir. Dorsal mezenterin üst kısmı içinde mezenşimal hücrelerin bir araya toplanmasından **dalak** gelişir. Turuncus coeliacus'dan çıkıp üç organı (karaciğer, mide, dalak) besleyen; a. hepatica, a. gastrica sinistra, ve a. splenica dorsal mezenterin iki yaprağı arasında seyrederek¹⁹.

Mide ile dalak arasında kalan dorsal mezenter kısmı gastro-lienal ligament, dalak ile retroperitoneal aorta arasında kalan kısmı ise aorto-lienal ligament adını alır¹⁹.

2.1.1.1.1.1. Ön Barsak Rotasyonunun mekanizması

Ön barsak, öncelikle ekseni boyunca 90 derece sağa doğru rotasyona uğrar. Bu nedenle midenin dorsal kenarı, omentum majus ve dalak sola doğru dönerler. Bu

dönmenin sonucunda midenin sol-arka kısmında bir periton boşluğu oluşur. Burası ilerde **bursa omentalis** adını alacaktır. Aorto-lienal ligament arka parietal peritona temas eder ve yapışır. Bu periton kısmı aorta ile sol böbrek arasında uzanır. Aorto-lienal ligamentin dalak ile sol böbrek arasında kalan kısmı ise **lieno-renal ligament** adını alır¹⁹.

Ön barsak rotasyonunun ikinci evresi midenin horizontal eksenine ile ilgilidir. Ventral mezenter çok yavaş, dorsal mezenter ise çok hızlı gelişir. Böylece, büyük kurvatura genişlemeye devam eder. Buraya yapışan dorsal mezenter kısmı torba gibi aşağıya sarkmaya başlar. Bu torba omentum majusu yapacaktır. Ventral mezenter yavaş geliştiği için küçük kurvatur tespit edilir. Karaciğerin yukarıya ve sağa doğru deplasmanımidenin pyloru ile duodenumu yukarıya doğru çeker ve küçük kurvatur kıvrılır. Mide “J” harfi şeklini alır. Orijinal mesoduodenum arka duvara temas eder ve yapışır. Karaciğerin yukarıya ve sağa doğru dönmesi ve midenin arka kenarının sağdan sola doğru rotasyonu ile midenin arka yüzünde bursa omentalis denilen boşluk oluşur. Bu boşluk karaciğerin alt yüzündeki foramen epiploicum adlı delik hariç, tamamen kapalı bir boşluktur. Midenin büyük kurvatura’sından sarkan dorsal mezenter kısmı birkatlanma sonucu meydana geldiği için iki ön ve iki arka olmak üzere dört yapraktan oluşmuştur. Buna omentum majus denir. Kesenin aşağı kısımlarında iç yapraklar birbirine yapıştığı için, bu kısımlar tıkanmıştır. Orijinal olarak arka yaprak mezokolon transversum’un tutunma yerinin biraz üstünde arka duvara yapışır. Daha ilerideki gelişimde bu yaprak mezokolon transversum yapısına karışır. Omentum majus önyaprağının transvers kolon üstünde kalan kısmına **gastrokolik ligament** denir¹⁹.

2.1.1.1.1.2. Orta Barsak Rotasyonunun Mekanizması

Orta barsakta ventral mezenter atrofiye uğradığı için barsak yalnızca dorsal mezenterin serbest kenarında asılmıştır. Dorsal mezenterin iki yaprağı aort ön yüzünden karın duvarına atlayarak parietal peritonu oluşturur. Orta bağırsağın rotasyonu üç evrede olur¹⁹.

2.1.1.1.1.2.1. Fizyolojik Herni Evresi

İlk evrede barsak Ductus Vitello İntestinalis yoluyla Yolk kesesine bağlı olduğu için gelişmesinde öne doğru bir herniyasyon gösterir. Omfalomezenterik arter bu

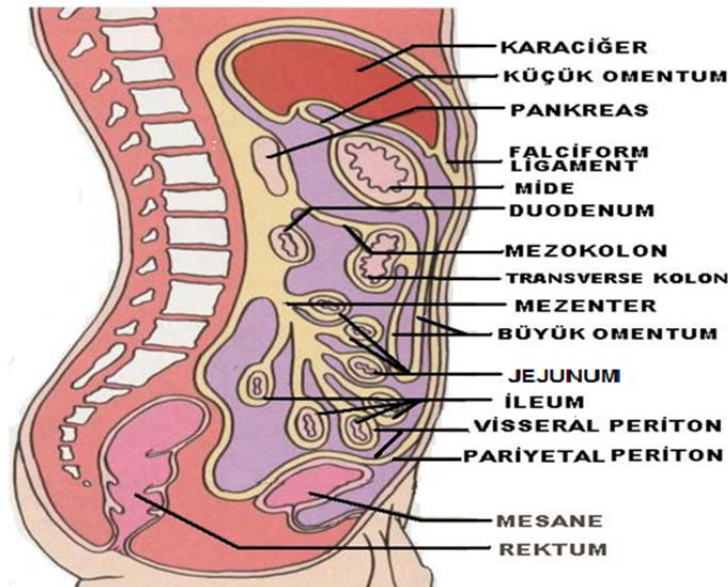
herninin tam ortasında ekseni teşkil eder. Herninin arterin üstünde kalan kıvrımına prearterial kıvrım, altında kalan kısma postarterial kıvrım denir. İlk aşamada, sagittal hatta bulunan herni 90 derece sağa döner¹⁹.

2.1.1.1.2.2. Redüksiyon Evresi

Prearterial kıvrımın proksimal parçası öne çekilmeye uğrar. Omfalomezenterik arterin altına ve sola doğru çekilir. Bu sırada duodenum normal şeklini alır. Post arterial kısmın distalinde caecum (çekum) taslağı belirir. Prearterial kısım eksen olmak üzere, sağa doğru 180 derecelik bir rotasyon olur. Bu rotasyonla çekum ve colonun proksimal kısmı karın sağ-alt kısmına aktarılırlar. Böylece barsak toplam olarak 270 derecerotasyon yapmış olur¹⁹.

2.1.1.1.2.3. Tespit Evresi

Bu evrede çekum daha aşağıya inerek normal yerini alır. Ascendens kolonun dorsal mezenter arka yüzü karın arka duvarına yapışır. Mezokolon transversum enine bir hal alır. Kolon descendens dorsal mezenteriy yine karın arka duvarına yapışır. Barsaklarda kolonun bu kıvrımları ortasında gittikçe uzunluklarını artırarak normal kıvrımlarını yaparlar¹⁹.



Şekil 2.1. Peritonun Yapısı¹⁸

2.1.1.2. Peritonun Anatomisi

Periton intraabdominal organların çıplak yüzeyini ve abdominal kaviteyi kaplar. Mesoderm kaynaklı yassı epitel hcrelerinden oluşur. Abdominal organların bulunduğu basit bir boşluk gibi görünmesine karşın oldukça karmaşık bir bölgedir. Periton iki kısımdan oluşur²⁰.

Parietal periton karın duvarlarının iç yüzlerini döşer. Ancak duvarların belirli yerlerinde iç organlara atlayarak bazı organları da tamamen sarar. Peritonun bir iç organı saran katmanına visseral periton denir. Her iki periton da aynı tip mezotel hücrelerinden yapılmıştır. İki periton yaprağı birbirinden az veya çok genişlikte bir aralık ile ayrılır. Bu aralık normalde kaygan bir seröz salgı tabakası ile ıslak tutulur. Salgı iç organların fazla bir sürtünmeye uğramaksızın hareket etmelerine yardımcı olur¹⁹.

Diyaframın alt bölümünü döşeyen parietal periton n. phrenicus tarafından inerve olur. Pelvis duvarında yer alan parietal peritonun inervasyonu ise n. pudendus ve n. obturatorius ile sağlanır. Parietal peritonun inervasyonu ile ilgili olan sinir lifleri ağrı, ısı, dokunma ve basınç duyularını taşır²¹.

Visseral periton otonom sinir sistemi tarafından inerve edilir ve buranın gerilme duyusu sempatik afferent sinir lifleri ile taşınır. Parietal periton, abdomen ve pelvis duvarındaki damarlardan, visseral periton ise organları besleyen damarlar tarafından beslenir²¹.

2.1.1.2.1. Mezenter

Peritonun barsakları saran kısmına mezenter adı verilmektedir. Mezenter başlıca ince barsak mezenter, sağ, sol ve transvers mezokolon, mezosigmoid ve mezorektum kısımlarından oluşmaktadır¹⁹.

2.1.1.2.1.1. Tutunma Yeri

İkinci lomber vertebranın biraz sol tarafı ile sağ sakroiliak eklem arasındadır. Tutunma yeri soldan sağa doğru sırasıyla; duodenum üçüncü parçası, aorta, v.cava inferior, sağ üreter ve sağ psoas major kasını çaprazlar. Tutunduğu kısım ile bağırsağın bağlandığı serbest kenarı arasındaki uzaklık 15-20 cm'dir. Bu mesafe yaşla birlikte artar. Mezenterin iki yaprağı arasında, a. mesenterica süperior ve dalları, yandaş venler,

lenfatikler, 100-200 lenf nodu, otonomik sinir pleksusları, bağ dokusu ve değişik miktarda yağ dokusu vardır¹⁹.

2.1.1.2.1.2. Mezokolon Transversum

Kolon transversumu karın arka duvarına bağlayan geniş bir periton yaprağıdır. Mezokolon transversumun kökü sağ böbreğin ön yüzünü ve duodenumun iki parçası ile pankreas kaputunu çaprazladıktan sonra, pankreas corpus ve caudasının alt kenarı boyunca flexura duodenojejunalise ulaşarak, sol böbreğin ön yüzünde sonlanır. İki yaprağı arasında; a.colica media, sağ ve sol kolik arterin dalları, yandaş venler, lenfatikler, sinir pleksusları ve bağ dokusu bulunur¹⁹.

2.1.1.2.1.3. Mezosigmoid

Sigmoid kolonun peritonudur. Kökü sol fossa iliaca'nın arka kısmından, aşağı ve içeri doğru seyrederek, üçüncü sakral vertebra hizasında sonlanır. Seyri sırasında ters bir "V" harfi çizer. Mezokolonun birinci sakral vertebra hizasındaki kısmı en geniş kısımdır. Bu genişliğin 25cm'ye kadar çıktığı görülmüştür. Bu nedenle sigmoid kolon "S" harfi şeklinde kıvrılmıştır. Mezosigmoid tutunma yerinde; sol arteria ve vena testicularis, sol iliaca communis, sol üreter ve süperior rektal damarları çaprazlar. İki yaprağı arasında; a.sigmoidea, a.rectalis süperior ve yandaş venleri, lenfatikler, otonom sinir pleksusları, bağ dokusu ve yağ dokusu bulunur¹⁹.

Kolon Ascendens arka yüzü m. İliacus, m.quadratus lumborum, m.transversus abdominis origosu ve sağ böbreğin ön yüzüne gevşek bağ dokusu ile tutunmuştur.

Kolon Descendens arka yüzü sol böbreğin yan ve alt yüzlerine, transversus abdominis ve quadratus lumborum origolarına gevşek bağ dokusu ile tutunmuştur¹⁹.

2.1.1.2.2. Omentum

Omentum minus ve omentum majus olmak üzere iki kısımdır.

2.1.1.2.2.1. Omentum Minus

Gastrohepatik omentum olarak da adlandırılır. Karaciğerin visseral yüzündeki porta hepatis'ten, kurvatura minör ile duodenumun başlangıç kısmına uzanan ve iki tabakadan oluşan periton parçasıdır. Karaciğer ile mide arasında yer alan bölümüne

ligamentum hepatogastricum ve karaciğer ile duodenum arasında yer alan bölümüne de ligamentum hepatoduodenale denir. Ligamentum hepatogastricum yaprakları arasında midenin kurvatura minor'unda seyreden gastrica sinistra ve gastrica dextra bulunur. Ligamentum hepatoduodenale içerisinde ise hepatica propria (ön-sol), portae hepatis(arka) ve ductus choledochus (ön-sağ) yer alır. Safra kesesini besleyen arter genellikle hepatica propria'nın dalı olup, bölgenin ameliyatları sırasında oluşabilecek kanamalarda ligamentum hepatoduodenale sıkılarak kontrol edilir²¹.

2.1.1.2.2.2. Omentum Majus

Gastrokolik omentum da denir. En büyük periton katlantısıdır. Kurvatura majör ve duodenum'un ilk bölümüne yapışarak başlar. Midenin ön ve arka yüzünü örten periton, iki yaprak halinde önlük tarzında karın ön duvarının arkasından aşağı doğru uzanır. Daha sonra yukarı dönerek ince barsak kıvrımlarının önünde, kolon transversum'un önünden ve üzerinden geçerek karın arka duvarına ulaşır. Omentum majos'un arka iki yaprağı, taenia omentalis boyunca colon transversum ile temas halindedir. Symphysis pubica'ya kadar inen peritonun iki yaprağı sonra yukarı doğru devam eder ve sagittal kesitlerinde dört yaprak şeklinde izlenir. Sol kenarı ligamentum gastrosplenicum ile devam eder. Mide ile colon transversum arasındaki bölümüne ligamentum gastrocolicum adı verilir. Ligamentum phrenicocolicum, gastrophrenicum ve lienorenale de omentum majos ile ilgili diğer ligamentlerdir. Omentum majos abdominal organların darbelere karşı korunmasında önemlidir. Ayrıca karın boşluğu içerisinde ki enfeksiyon durumlarında, barsakların peristaltizmi sayesinde pasif olarak enfekte bölgeye ulaşarak plastron'lar oluşturur²¹.

2.1.1.2.3. Periton Resesusları

Peritonun bazı kısımlarında, çıkmaz kesecikler oluşmuştur. Buralarda barsak herniyasyonları gelişebileceği için cerrahi bakımdan önemlidirler. En önemlileri duodenumun dördüncü parçasında, çekum bölgesinde ve ileoçekal birleşme bölgesinde bulunurlar¹⁹.

2.1.2. Peritonitin Sınıflandırılması

İntraabdominal enfeksiyonlar şüphesiz özellikle az gelişmiş ülkelerde genel olarak cerrahlar açısından tedavisi en zor enfeksiyonlardan biridir. Tanı için birçok yardımcı teknolojik tanı yöntemleri olmasına rağmen hala peritonitin tanısı klinik kriterlere bağlıdır. Ameliyat süreci laparotominin tekrar edilmesini gerektirebilir, deneyimli cerrahların yeteneklerini sınavabilir²².

Cerrahi müdahaleyle beraber, kritik hastaların yoğun bakım desteğine multi-disipliner bir yaklaşım hastanın hayatta kalması için önemlidir³. Peritonit herhangi bir sebeple peritonun inflamasyonudur. Peritonitler primer, sekonder ve tersiyer peritonit olarak sınıflandırılır²³.

Tablo 2.1. Peritonitlerin sınıflandırılması

PERİTONLARIN SINIFLANDIRILMASI		
Tipi	Tanımı	Mikrobiyolojisi
Primer	Gastrointestinal bütünlüğün bozulmadığı monomikrobiyal bir periton enfeksiyonudur.	Gram negatif Enterobacteriaceae veya streptokoklar.
Sekonder	İntraabdominal bir patolojiye bağlı olarak, gastrointestinal kanal bütünlüğünün bozulması ve mikrobiyal kirlenme nedeniyle ortaya çıkan akut periton enfeksiyonudur	Gram negative basiller, gram-positif koklar ve enterik anaeroblar. Polimikrobiyaldir
Tersiyer	Sekonder peritonitin ileri bir evresi olarak kabul edilir ve en az 48 saat tedaviye rağmen klinik olarak peritonit bulgularının devam etmesi veya tedavi ile iyileşme görüldükten sonra yeniden gelişmesidir	Dirençli gram negatif basiller, enterokoklar, stafilokoklar ve mayalar gibi nosokomiyal organizmlar

2.1.2.1. Primer Peritonit

Primer peritonit monomikrobiyal bir enfeksiyondur ve bu enfeksiyonda gastrointestinal sistemin bütünlüğü bozulmamıştır. En genel klinik tablosu spontan bakteriyel peritonittir ve karaciğer hastalığının son aşamasındaki hastalarda tipik olarak tanımlanmıştır⁵.

Enfeksiyon kaynağı cerrahi olarak tedavi edilebilen herhangi bir intraabdominal apsedeki iltihaplı akıntının enfeksiyonu 1971'de Harold Conn tarafından spontan

bakteriyal peritonit (SBP) olarak isimlendirilmiştir. Klinik deneyimlerin artması, tanının gelişmesi ve daha etkili antibiyotiklerin ortaya çıkmasıyla birlikte primer peritonitle ilişkili enfeksiyonlarda ölüm oranı % 90'lardan % 20'lere düşmüştür. Fakat uygun yapılmayan ve ertelenen tedavilerden dolayı bu oran yaklaşık % 50'dir. Kronik karın iltihaplı hastalarda yıllık insidans % 7 ile % 30 arasındadır²⁰.

1970'ler de primer peritonitin fizyopatolojisi bilinmiyordu. Ama yapılan yoğun çalışmalar sonunda, karın sıvısı içindeki barsak bakterilerinin yer değiştirmesi primer peritonit için birinci etken olduğu görülür. Sağlıklı kişilerde mezenterik lenf düğümlerinde bakteri translokasyonu düşükken; sirozlu hastalarda barsak bariyer fonksiyonlarında bozulma ve yavaş barsak hareketlerinden dolayı aşırı bakteri ürer ve bakteri translokasyonu artar. SBP'li hastalarda ateş, kusam, karın ağrısı, barsak tıkanması ve idrarda azalma görülür. SBP için tanımlanmış tek teşhis yolu abdominal paracentez (vücut boşluklarına birikmiş sıvının boşaltılması) ile alınan sıvının analiz edilmesidir. Sıvıda mikrolitrede 500 lökosit ya da 250 polimorfnükleer lökosit anlamlıdır²⁴.

Sıklıkla ascites sıvısının kültürü negatiftir. Ama kültürde en yaygın olarak gram negatif bakteriler görülür. Çoğunlukla da *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* görülür. Erken antibiyotik tedavisi ciddi hastalıklardan kaçınmak için esastır. Eğer ascites sıvısındaki hücre miktarı artarsa, üçüncü nesil sefalosporin yada kinolonla ampirik tedaviye başlanmalıdır²⁵. SBP'nin tedavisinde sefalosporinler %75-90 oranında etkilidir. Tedavinin hücre sayısı normale dönene kadar devam ettirilmesi tavsiye edilir²⁰. Primer peritonit başlıca bebeklikte, erken çocuklukta ve sirozlu hastalarda meydana gelir²⁶. Peritonit peritonal diyaliz kataterleri gibi kalıcı peritonal katater kullananlarda gelişebilir; peritonitin bu tipi primer peritonit olabileceği gibi ayrı bir form da olabilir²⁷.

2.1.2.2. Sekonder Peritonit

Peritonitin en yaygın formudur. Bir organ enfeksiyonu, barsak perforasyonu, iç organ boşluklarının perforasyonunu ve ameliyat sonrası gelişen komplike intra-abdominal enfeksiyonlarla ilişkilidir^{27,5}.

Tedavinin köşe taşları kaynak kontrolü ve antibiyotik tedavisidir. Pieracci ve Barie'ye göre kaynak kontrolü barsak içeriğinin devam eden sızıntısını önlemek gibi

faktörleri değiştirmenin yanısıra; enfeksiyonun odak noktasını eradike etmek için gerekli herhangi bir fiziksel araçtır²⁷. Operasyon başlangıcında yetersiz kaynak kontrolü kötü sonuçlarla ilişkilidir. Apandisit ve diverkült gibi spesifik organ enfeksiyonları için doğrudan cerrahi müdahale mümkün olduğu kadar çok peritonal kontaminasyonu ve organ enfeksiyonunu ortadan kaldırır. Peritonal kontaminasyonun şiddetli durumlarında, peritonitin kaynak kontrolünü yapmak için yeniden operasyon planlaması ya da peritonal irrigasyonun (yıkama) devam etmesi gerekebilir. Bu yaklaşım “hasar kontrol” cerrahisi olarak bilinir²⁸. Kaynak kontrolünden sonra sistemik antibiyotik başlanması tedavinin hayati bir parçasıdır²⁹. Surgical Infection Society (SIS)’ e göre peritonal kontaminasyonu ilerlemiş yüksek riskli hastalarda genişlemiş spektrumlu -β-laktamaz, karbapenemler ve üçüncü yada dördüncü nesil sefalosporinler + metronidazol tedavide kullanılmalıdır³⁰. Gittikçe artan önemli bir problemde çoklu ilaç dirençli gram negatif bakterilerin ortaya çıkmasıdır. Almanya’da yapılan bir çalışmaya göre peritonitli hastaların %25’inde bir ya da daha fazla sayıda antibiyotiğe direnç gözlenmiştir³¹. Buna göre peritonitin tedavisinde intraabdominal enfeksiyonun kaynak kontrolü yapıldıktan sonra antibiyotik tedavisinin devam etmesi gereklidir. Klinik belirtilerin tamamı ortadan kalkana kadar; yani lökosit sayısı ve gastrointestinal fonksiyonlar normale dönene kadar tedavi devam eder. Araştırma kurumlarına göre antibiyotik tedavisi 14 günden fazla devam etmesi gerekirken tipik olarak yaklaşık 7 günde tedavi gerçekleşir²⁰. Şiddetli sepsis yada septik şoklu sekonder peritonitli hastalarda mortalite oranı yaklaşık olarak % 30’dur³².

2.1.2.3. Tersiyer Peritonit

Tersiyer peritonit, primer ve sekonder peritonit yeterli tedavi yapıldıktan sonra intraabdominal enfeksiyonun yeniden tekrar etmesi ya da kalıcılığıdır^{9,5}. Bu hastaların çoğunda devam eden bir enfeksiyondan dolayı veya önceden var olan bir hastalıktan dolayı konak savunması bozulmuştur⁵.

Sekonder peritonitin standart tedavisi 5 ile 7 gün antibiyotik tedavisi uygulayarak yeniden püy birikimini engellemek ve nekrotik materyalin ortadan kaldırılması için drenaj yapılmasıdır. Yeterli cerrahi işlemler ve antibiyotik tedavisi yapıldıktan 48 saat sonra devam eden ya da yeniden oluşan enfeksiyon tersiyer peritoniti düşündürür. Bu enfeksiyonun mikrobiyolojisi steril peritonitle yada düşük

virölansli mikroorganizmalarla karakterizedir. Zamanla flora değişir ve abdominal kavitedeki savunmanın lokal mekanizmaları yok olur. Organ fonksiyon bozukluğunun devam etmesi bilinmeyen odak noktasını ya da yetersiz drenajı gösterir. Bu tablo klasik olarak immün sistemi baskılanmış hastalarda görülür. Bu hastalarda kilo alamama, ateş ve hiperdinamik kardiyovasküler durum gözlenir. Ameliyatla ilgili bulgular; apse oluşumunun azlığı, fibrinopürülan membranlar olmaksızın eksüdanın diffüze olması ile karakterizedir; ve görünen oldukça temiz bir sıvıdır. Bu akıntının kültüründe koagülaz negatif *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, maya ve *Enterobacter* türleri tanımlanır. Septik odak noktaları nadiren perkütan drenajdan etkilenir ve onların karın içine lokasyonu zordur. Deneyimsiz bir cerrah serosanguinöz (kan ve seros sıvıları içeren) akıntı olarak tanımlayabilir; ve abdominal boşluğun temiz olduğu sonucuna vararak laparotomy yapmayabilir. Böyle hastalarda taşikardi, hipotansiyon ve bakteriyemi gibi şiddetli sistemik cevap meydana gelir. Bundan dolayı operasyon sonrası yoğun bakım ünitesinde acilen inotropik ve vasopressor destekli kombine sıvılarla canlandırma işlemi yapılmalıdır. Eğer bu siklus kontrol edilmezse çoklu organ yetmezliği sebebiyle hasta kaybedilir⁹.

Tersiyer peritonitli hastaların tedavisi multidisipliner bir takım tarafından ve yoğun bakım ünitesinde yapılmalıdır. Hastaya metabolik ve besin desteğinin yanında hemodinamik ve solunum desteğide gerekecektir. Kan ve abdominal kavitenin en son kültür raporlarına göre; kullanılacak antibiyotiklerin, cerrah ve yoğun bakım ünitesi uzmanlarının birlikte alacakları karara göre uygun miktarı ve zamanı ayarlanmalıdır. Cerrahi açıdan bakıldığında gerekirse relaparotomy yapılmalı ve yeni operasyonlar için kararlar ertelenmemelidir. Abdominal kaviteye tekrar lavaj uygulanmayacaksa laparotomy ile açık karın yapılır. Çünkü bunların beşinci ya da altıncıdan sonra faydadan çok zararı olmaktadır. Antibiyotik tedavisi mantar hastaları dışındakilerde 14 günü geçmemelidir³³⁻³⁶.

İntraabdominal enfeksiyonlar toplum kaynaklı intraabdominal enfeksiyonlar (TK-İAE) ve hastane kaynaklı intraabdominal enfeksiyonlar (HK-İAE) olarak da sınıflandırılır. TK-İAE 'lar toplumdan edinilirken, HK-İAE 'lar uzun süreli bakım hizmeti veren yerlerde bulunanlarda ya da hastanede yatan hastalarda gelişir. Onlar artan mortalite oranlarıyla karakterizedir. Bunun sebebi altta yatan başka

rahatsızlıklardan ve Çoklu ilaç dirençli (ÇİD) mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyonların artan olasılığından dolayıdır³⁷.

Komplike intraabdominal enfeksiyonlarda erken prognostik değerlendirme hastalığın şiddetini ve seyrini belirlemede önemlidir. Komplike intraabdominal enfeksiyonlu hastaların hastalık seyirlerini yaş, cinsiyet, immunodepresyon, önceden varolan hastalıklar, kötü beslenme, organ yetmezliği, septik şokun meydana gelmesi, tedaviden önce uzun süre hastanede yatış, zayıf kaynak kontrolü ve nosokomiyal patojenlerin enfeksiyonları gibi faktörler etkiler^{38,39}.

2.1.3. Peritonitle İlişkili Spesifik Hastalık Durumları

2.1.3.1. Apandisit

Akut apandisit cerrahi gerektiren en yaygın intraabdominal durumdur. Çalışmalar gösteriyor ki; nüksetme durumu olsa bile perfore olmamış apandisit tedavisi sadece antibiyotikle yapılabilir⁴⁰.

Eriksson and Granstrom 1995'te apandisit tedavisinde cerrahiye karşı antibiyotiklerin rasgele kullanılmasının sonuçlarını yayınladı. Geleneksel olarak tedavi edilen tüm hastalar iki gün içinde taburcu edildi; sadece perfore olmuş apandisit sonucu gelişen sekonder peritonitten dolayı cerrahi gerektiren hasta hariç tutuldu. Geleneksel olarak tedavi edilen hastaların %14'ünde bir yıl içinde tekrar eden apandisit sebebiyle yeniden tedaviye başlandı⁴¹.

Peritonitin diğer abdominal enfeksiyonlara göre mortalite ve morbidite oranı düşük; hastanede kalış süresi de daha kısadır⁴². Laparoscopic appendectomy'nin akut apandisit tedavisinde kullanımı oldukça artmıştır. Laparoscopic appendectomy'nin sonuçları cerrahi tedavi sonuçlarına göre daha iyidir. Özellikle gangrenous appendicitisli ve öncesinde abdominal apsesi olan hastalarda kullanılmaktadır. Difüze peritonite sahip hastalarda bu yöntem tavsiye edilmez. Çünkü infekte akıntıyı peritoneal kaviteden temizlemek bu yöntemle daha zordur⁴³.

Genel olarak komplike apandisitleri antibiyotikle ve appendectomy ile tedavisi % 90 oranında başarılıdır. Mortalite oranı % 1' den daha azdır. Son çalışmalar perfore olmamış apandisitlerin sadece antibiyotikle tedavi edilebildiğini gösterdi. Ameliyatsız olarak tedavi edilen hastaların % 15 oranında yeniden enfeksiyon gelişmiştir. Bölgesel

sağ alt kadranda apsesi ve perforated apandisitli hastalar perkütan apse drenajı ve antibiyotikle başarılı şekilde tedavi edilmektedir⁴¹.

2.1.3.2. Kolon

Kolon perforasyonu batıda ikinci en yaygın sekonder peritonit sebebidir ve kolonik divertikülit perforasyonla sonuçlanan en yaygın hastalık sürecidir. Perforated kolon kanseri, iskemik kolit ve yabancı cisim perforasyonu intraabdominal enfeksiyonlara yol açabilir⁴¹.

2.1.3.3. Gastroduodenal

Son yıllarda kritik hastalar arasında peptik ülser hastalığı ve stres ülserden korunmak için kullanılan ilaçlardan dolayı gastroduodenal perforasyonu artmıştır. Duodenal ülserler ve perforated gastrik'in başarılı laparoskopik tamiri bildirilmiştir; ama henüz evrensel olarak kabul görmemiştir⁴¹.

2.2. Etiyoloji / Epidemiyoloji

Çoğu intraabdominal enfeksiyonun sebebi gastrointestinal floradır. Gastrointestinal sistemin mikrobiyolojisinde değişiklikler, enfeksiyonlara çeşitli tipte mikroorganizmaların sebep olması ve enfeksiyon kaynağı önemlidir. Normal kişilerde gastrointestinal sistemde aşağıya doğru ilerledikçe mikroorganizmaların sayısı artar ve karakteri değişir. Mide ve proksimal ince barsakta birçok mikroorganizma bulunur. İçeriğin herbir gramında 10^3 ile 10^4 mikroorganizma bulunur. Bunların çoğu gram pozitif koklardır; özellikle streptokoklar ve laktobasillerdir. Distal ince barsakta gram pozitif koklar bulunmaya devam ederken gram negatif aerobik/fakültatif anaerobik enterik basiller de görülmeye başlar. Terminal ileumda bakteri sayısı içeriğin gramında 10^8 bakteriye ulaşır ve birçok aerobik organizmalara ek olarak anaerobik organizmalarda eklenir. Kolonda içeriğin gramında 10^{10} ile 10^{11} mikroorganizma bulunur ve zorunlu anaerobik mikroorganizmalar baskındır⁵.

Gastrointestinal sistem ya da onun uzantısının perforasyonu sonucu oluşan çoğu intraabdominal enfeksiyonlar polimikrobiyaldir. Enterik gram negatif basille, gram pozitif koklar ve anaerobik mikroorganizmalar hakim patojenlerdir. Bu mikroorganizmaların sadece birkaçı klinik laboratuvarlarda identifiye edilir^{44,45}.

İntraabdominal enfeksiyonlu hastalardan en yaygın olarak izole edilen mikroorganizma *E. coli*'dir. Genellikle hastaların yarısı ya da daha fazlası bu mikroorganizma ile enfekte olmuştur. *Klebsiella sp.* ve *Enterobacter sp.* diğer en yaygın gram negatif enteriklerdir. Noncoliform gram negatif basiller, özellikle *Pseudomonas aeruginosa* bu enfeksiyonların bazılarında izole edilebilir. Gram pozitif koklar sıklıkla intraabdominal enfeksiyonlara yol açar. En yaygın gram pozitif organizmalar viridans tiplerin hakim olduğu streptokoklardır. Streptokoklardan daha az olarak Enterokoklar izole edilir^{3,45}.

Toplum kaynaklı intra-abdominal enfeksiyonlar *Enterococcus faecalis*'in penisiline duyarlı suşlarıdır. Zorunlu anaerobik organizmalar laboratuvarlarda izole edilememelerine rağmen bir çok intraabdominal enfeksiyonların önemli unsurudur. Bunlardan en yaygın olanı *Bacterioides fragilis*'tir (*B. fragilis*) ve anaerobik intraabdominal enfeksiyonların % 30-50'sinden sorumlu tutulmaktadır. *B. fragilis*'in diğer türleri; *B. thetaiotaomicron*, *B. distasonis*, *B. vulgatus*, *B. ovatus*, and *B. uniformis*'tir. Bu enfeksiyonlara yol açan diğer anaerobik mikroorganizmalarda; *Peptostreptococcus*, *Peptococcus*, *Eubacteria*, *Fusobacterium* ve *Clostridia spp.*'dir⁵.

Sağlık hizmeti alan hastalarda intraabdominal enfeksiyonun mikrobiyolojisi önemli derecede değişmiştir. Bu değişim nosokomiyal enfeksiyonlardan kaynaklanabildiği gibi, dirençli mikroorganizmalar için kullanılan antibiyotik tedavisinden de olabilir. Hastanede yatan hastaların normal gastrointestinal florası bile değişir. TK-İAE hastalarla, ameliyat sonrası intraabdominal enfeksiyon gelişen hastalar karşılaştırdığında; ameliyat sonrası enterobakter ve pseudomonas daha sık; *E. coli* daha seyrek görülmekle birlikte gram negatif bakteriler çok daha fazla görülmüştür. Benzer şekilde bu hastalarda enterokokların izole edilmesi artarken; streptokoklar azalmıştır^{46,47}.

Hastanede yatan intra-abdominal enfeksiyonlu hastalarda *Candida albicans* hakim olmakla birlikte fungal organizmalara da rastlanır⁴⁸. Tersiyer peritonitli hastalarda daha dirençli mikroorganizmaların görülmesinin sebebi çoklu antibiyotik tedavisidir. Çok çeşitli hastalıklar intraabdominal enfeksiyonlara yol açabilir. Yaş, cinsiyet ve coğrafyaya göre çeşitlilik göstermesine karşılık, az gelişmiş ülkelerde peritonite sebep olan en önemli üç etken; apandisit, perfore olmuş incebarsak ülseri ve tifo perforasyonudur⁴⁹.

Nijerya’da yapılan bir çalışmada hasta çocukların yarısında tifoid perforasyona rastlanmıştır. Kadınlarda pelvik inflamatuvar hastalıkların komplikasyonu hakimdir. Barsak yaralanmaları sonucu gelişen abdominal trauma az gelişmiş ülkelerde peritonitin en önemli sebebidir. Batı da peritonitin başlıca etkeni apandisitken; bunu genellikle divertikülitin sebep olduğu kalınbarsak perforasyonu takip eder⁵⁰.

Bunlara ek olarak doktor hataları, incebarsak anastomozundaki başarısızlıklar ve barsak yaralanmaları da peritonite sebep olur. Primer peritonit ve apandisit çocuklarda daha yaygındır. İntraabdominal enfeksiyonlar yaşlılarda kendine has özelliklere sahiptir^{51,52}.

Sekonder peritonitte mortalite oranı son yüzyılda % 90’ dan % 20’ ye düşmüştür. Kontaminasyonun derecesine ve kaynak kontrolünün başarısına göre bu oran değişmektedir⁵³.

2.3. Patogenezi

Peritonit periton hasarına inflamatuvar bir cevaptır. Hasar proteince zengin bir sıvının girmesi, bütün basamakların aktivasyonu, periton mezotel hücre aktivitesindeki artış ve polimorfnükleer nötrofiller ve makrofajlarla peritonun invazyonu sonucu meydana gelir. Burda sitokin ve kemokin üretimi uyarılmıştır. Bakteriler beyaz kan hücreleri ve lenfatik yolla temizlenerek öldürülür ve opsonize edilir. Bakteri kontaminasyonun anatomik orjini ve mikrobiyolojik bulgular sonucu öngördürmez. Ama ameliyat öncesi fizyolojik değişiklikler, enfeksiyon noktasının cerrahi olarak temizlenmesi ve tedaviye cevap hastalığın seyrini oluşturur. İntraabdominal enfeksiyonların patogenezi kontaminasyondan enfeksiyona geçişi etkileyen bakteriyal faktörler belirler. Bakteriyal uyarılar, özellikle endotoksin mezotel hücrelerin reaksiyonu tarafından tetiklenen nerdeyse standart aktivasyon cevaba yol açar. Bu aktivasyonun lokal sonuçları peritoneal kapillerden mezotel yüzeye granülositlerin göç etmesi, geçirgenliğin artması sonucu periton kan damarlarının genişlemesi, peritoneal ödem ve son olarak proteince zengin periton sıvısının dışarı sızmasıdır. Savunmanın ilk basamağı parietal periton, diyafram ve omentumun lenf damarları vasıtasıyla zehirli maddelerden temizlenmesidir⁵⁴. İntraabdominal enfeksiyonlara cevap beş ana faktöre bağlıdır:

- a) İnokülüm ölçüsü
- b) Kontamine organizmaların virulansı
- c) Periton boşluğundaki adjuvanların varlığı
- d) Lokal, bölgesel ve sistemik konak savunmasının yeterliliği
- e) İlk tedavinin yeterliliği⁵³

2.4. Sekonder ve Tersiyer Peritonitten Sorumlu Başlıca Gram Negatif Bakteriler

Yapısal olarak gram negatif hücre duvarı stoplazmik zar etrafında iki tabakalı bir yapı içermektedir. Stoplazmik membranın dışında gram negatif hücre ağırlığının % 5 ile % 10'unu oluşturan ince bir peptidoglikan tabaka bulunur. Gram negatif hücre duvarında teikoik veya lipoteikoik asit bulunmamaktadır. Peptidoglikan tabakanın dış kısmı gram negatif için spesifiktir. Bu alan dış membranın iç yüzeyi ve stoplazmik membranın dış yüzeyi arasındadır ve periplazmik aralık olarak adlandırılır. Bu alan asıl olarak demir, proteinler, şeker ve diğer metabolitler için transport elemanlarını ve bakteri metabolizmasında büyük makromoleküllerin yıkılmasını sağlayan hücre için önemli olan enzimleri içermektedir. Bu enzimler tipik olarak proteaz, fosfataz, lipaz, nükleaz ve karbonhidrat yıkan enzimlerdir. Patojen gram negatif vakalarında beta-laktamaz, proteaz, kollejenaz ve hyalüronidaz gibi litik virülans faktörlerinin çoğu periplazmik mesafede bulunmaktadır⁵⁵.

Gram negatif hücre duvarı aynı zamanda Tip I, II, III, IV ve V sekresyon aygıtlarını içeren farklı transport sistemleri tarafından geçiş yeri olarak kullanılmaktadır. Transport sistemleri farklı metabolitlerin ve diğer bileşiklerin alınması ve salınması için mekanizmalar oluşturmaktadır. Tip III sekresyon sistemi hem dış hem de iç membrana geçiş yapan kompleks yapı ile bazı bakteriler için ana virülans faktörü olarak görev yapar ve diğer hücrelere proteinleri enjekte etmek için şırınga gibi etkili olmaktadır⁵⁵.

Dış membran, bakteri yapısının devamlılığını sağlar ve büyük moleküller (lizozim gibi proteinler) ve hidrofobik moleküller (bazı antimikrobiyaller: daptomisin, rifampisin gibi) için bir geçirgenlik engeli oluşturur^{54,55}. Dış membran aynı zamanda konağın sindirim sistemi gibi farklı çevre koşullarından korunmayı da sağlar (Enterobacteriaceae'lar için önemlidir). Dış membran asimetric bir ikili tabakaya

sahiptir. İç bölümün yapısı genellikle bakteri membranında bulunan fosfolipit içermektedir. Ancak dış bölümü ana olarak lipopolisakkaritten (LPS) oluşmaktadır. LPS aynı zamanda doğal ve kazanılmış immün cevabın güçlü bir aktivatörü olan endotoksin olarak adlandırılır. LPS bakteriden konağa ve ortama yayılır. B hücrelerini aktive eder ve makrofaj, dentritik ve interlökin-1, interlökin-6, tümör nekroz faktör ve diğer faktörleri salan hücreleri uyarır. LPS ateşi artırır ve şoka sebep olabilir⁵⁵.

Gram negatif hücre duvarında bulunan proteinlerin çoğu lipit tabakaya geçer ve böylece transmembran proteini olurlar. Bu proteinlerin bir grubu membran boyunca 700 Da kütesinden daha küçük olan hidrofilik proteinlerin difüzyonuna izin veren por denen delik formları içeren porin proteinleri olarak bilinirler. Porin kanalları küçük hidrofilik antibiyotikler ve metabolitlerin geçişine izin vermektedir⁵⁵.

Dış membran LPS ve proteinler arasındaki hidrofobik ilişki ile birlikte LPS moleküllerinde bulunan fosfatlar arasındaki iki değerli katyonların (Mg^{+2} ve Ca^{+2}) bağlantıları tarafından tutulmaktadır. Bu ilişki polimiksin gibi antibiyotikler veya Mg ve Ca iyonlarının uzaklaştırılması ile (etilen diamin tetraasetik asit - EDTA veya tetrasiklin) harap edilebilen katı, güçlü bir membran yapısı oluşturmaktadır. Dış membranın harabiyeti bakterinin gücünü azaltır ve büyük, hidrofobik moleküllerin geçirgenliğine izin verir⁵⁵.

2.4.1. *Pseudomonas*

Pseudomonas cinsi, morfolojik özellikleri nedeniyle birlikte gruplandırılan, büyük ve heterojen nonfermantatif bakteri topluluğudur. Genellikle tek hücreliye benzer şekilde çift hücreli olarak düzenlendikleri için pseudomonadlar olarak adlandırılırlar. Pseudomonasların 200'den fazla türü olmasına karşın en önemli tür *P. aeruginosa* 'dır.

P. aeruginosa özellikle yoğun bakım ünitelerinde nosokomiyal enfeksiyonlara sebep olan patojenlerdir. *P. aeruginosa* antibiyotiklere doğal olarak dirençlidir. Bunun yanı sıra olağanüstü derecede antibiyotik direnci kazanma yeteneği vardır.^{56,57}

Yaygın olarak tanımlanan pseudomonaslara karşı antibiyotikler sınırlıdır. Karbapenemler, piperasilin/tazobaktam, seftazidim, sefepim, florokinolonlar, aminoglikozidler ve aztreonam gibi. ÇİD *Pseudomonas* suşlarının tedavisinde yüksek toksisitesine rağmen polimiksin A ve polimiksin E'nin oluşturduğu polimiksin grubu ilaçlar kullanılır⁵⁸.

SMART (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends) verilerine göre 2005 ile 2007 yıllarında pseudomonasların antibiyotik duyarlılığı %9 0'dan fazladır. En aktif antibiyotikler olan amikasin ve piperasilin/tazobaktam'a duyarlılığı da % 86,5'tir. Açık veriler olmamakla birlikte hastane kaynaklı intraabdominal enfeksiyonların sebebi olarak *P. aeruginosa* kabul edilir. Bazı toplum ve topluluklarda görülme sıklığının yüksek olması açıklanamaz⁵⁹. Bu toplum kaynaklı apandisit ile ilişkili olabilir ve uygun ampirik antibiyotik tedavisi etkili olabilir⁶⁰.

Pseudomonas türleri genellikle hareketli, düz ve hafif kıvrımlı, gram negatif çomaklardır. Karakteristik olarak çiftler halinde bulunurlar. Bu organizmalar karbonhidratları son elektron alıcısının oksijen olduğu aerob solunumla kullanırlar. Zorunlu aerob olarak tanımlanmasına rağmen, alternatif olarak elektron alıcısının nitrat ya da arjinin olduğu durumlarda anaerob olarakta üreyebilirler. Sitokrom oksidaz varlığı sebebiyle de *Enterobacteriaceae* türlerinden ayrılırlar. Bazı kökenler polisakkarit kapsül fazlalığı sonucu mukoid görünürler; bu kökenler genellikle kistik fibrozlu hastalarda gözlenir. Bazı türler kültürde karakteristik görünümde, yayılabilen pigmentler üretirler (pyosyanin–mavi, pyoverdin-sarı, yeşil ve pyorubin–kırmızı, kahverengi)⁵⁵.

Bu türün üyeleri toprak, çürümekte olan organik materyaller, bitki ve sular gibi her ortamda bulunurlar. Ne yazık ki, hastane ortamında nemli bölgelerde, yiyeceklerde, çiçeklerde, lavabolarda, tuvaletlerde, yer temizlik bezlerinde, solunum cihazları ve diyaliz ekipmanlarında ve hatta dezenfektan solüsyonlarında bile bulunabilirler. Hastanede yatan, ayakta tedavi gören ve immün supresif hastalar dışında sağlıklı kişilerde, normal mikrobiyal floranın bir parçası olarak nadiren bulunurlar. Üreme için basit ortamlar ve besin gereksinimleri, Pseudomonasların yaygın çevresel dağılımını mümkün kılmaktadır. Birçok organik bileşiği karbon ve azot kaynağı olarak kullanabilirler ve bazı kökenler eser elementleri kullanarak distile suda bile üreyebilirler. Geniş ısı aralıklarını (4°C- 42°C) tolere edebilirler. Bu organizmaların birçok yapısal faktör, enzim ve toksinleri vardır. Toksinleri virülanstan ve sık kullanılan antibiyotikler dirençten sorumludur⁵⁵.

Enfeksiyon oluşumunda konak hücreye yapışma önemlidir. *P. aeruginosa*'nın yüzeyindeki en az dört yapısal bileşen yapışmayı kolaylaştırır. Flagel, pili, lipopolisakkarit ve aljinat. Flagel ve pili hareketi sağlar. Lipopolisakkaritin lipid-A bileşeni endotoksik aktiviteden sorumludur. Bakteri yüzeyinde kapsülde bulunan

mukoid ekzopolisakkarit yapıdaki aljinat organizmayı fagositozdan ve antibiyotik etkisinden korur⁵⁵.

Ekzotoksin A, *Corynebacterium diphtheriae* tarafından salgılanan difteri toksinine benzer bir etki ile ökaryotik hücrelerde peptit zincirlerinin uzamasını engelleyerek protein sentezini bozmaktadır. Bu toksin yanık yaralarında olan dermatonekroz, oküler enfeksiyonlardaki korneal hasar ve kronik pulmoner enfeksiyonlardaki doku hasarında rol oynamaktadır. Ayrıca bağışıklık sisteminde baskılar⁵⁵.

Pyosiyenin pigmenti oksijenin toksik formu olan hidrojen peroksit ve süperoksidin üretimini katalizler. Ayrıca nötrofil aktivasyonunun artmasına öncülük eden interlökin-8 salınımını uyarır. Pyoverdin demiri bağlayan bir siderefordur. Bu pigment ayrıca ekzotoksin A ve diğer virülans faktörlerin salınımını düzenler⁵⁵.

Elastini sinerjistik olarak indirgeyen iki enzim LasA (serin proteaz) ve LasB (çinko metalloproteaz), elastin içeren dokularda ve akciğer parankim dokusunda hasar ve yaygın *P. aeruginosa* enfeksiyonu sonucu olan hemorajik lezyonlarla ilgilidir⁵⁵.

Alkalın proteaz doku hasarına ve *P. aeruginosa* enfeksiyonunun yayılımına sebep olur. Ayrıca konak bağışık yanıtını da etkiler. Fosfolipaz C ısıya duyarlı bir hemolizindir. Lipid ve lesitin bağlarını kırarak doku hasarını kolaylaştırır⁵⁵.

Ekzoenzim T ve S *P. aeruginosa*'nın hücre dışı ürettiği enzimlerdir. Tip 3 salınım sistemi, proteinleri hedef ökaryot hücreye sunduğunda, bakteri yayılımını sağlayan epitel hücrelerde hasar, doku invazyonu ve nekrozu oluşturmaktadır⁵⁵.

2.4.2. *Acinetobacter*

Acinetobacter zorunlu aerob, oksidaz negatif, gram negatif kokobasildir. Saprofit olarak her yerde bulunabilirler. Doğada, hastane ortamında, mekanik solunum cihazları gibi nemli yüzeylerde, deri gibi kuru yüzeylerde yaşayabilirler. Normal sağlıklı popülasyonda orofarangeal florada az sayıda bulunabilirken; hospitalizasyon sonrası sayıları artabilir. *Acinetobacter* cinsi iki gruba ayrılır. Glikozu okside eden türler (en sık *A. baumannii*) ve glikozu okside etmeyen türler (en sık *A. lwoffii* ve *A. haemolyticus*) olmak üzere. İnsan enfeksiyonlarının en sık etkeni *A. baumannii*'dir⁵⁵.

A. baumannii bakteriyemi, pneumoni, menenjit ve üriner sistem enfeksiyonlarını içeren; nosokomiyal enfeksiyonlarla sıklıkla ilişkili olan gram negatif bir patojendir⁶¹.

Acinetobacter izolatlarında genel olarak belirlenmiş antibiyotiklere karşı direnç artmıştır. ÇİD *A. baumannii* sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyonların içinde kontrol ve tedavisi en zor olan mikroorganizmadır⁶²⁻⁶⁴. *A. baumannii* enfeksiyonlarının yönetimi; birçok antibiyotik grubuna direncin artması sebebiyle zordur^{65,66}.

Acinetobacter türleri solunum yolunda, üriner sistemde ve yaralarda enfeksiyona neden olan fırsatçı patojenlerdir. Ayrıca sepsisemiye de sebep olurlar. Geniş spektrumlu antibiyotik kullanan, cerrahi operasyon geçirmiş veya respiratuvar ventilasyon altındaki hastalar *Acinetobacter* enfeksiyonları için risk altındadır. *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisi, özellikle *A. baumannii*, karbapenemleri de içeren antibiyotiklere dirençli olduğundan oldukça zordur⁵⁵. B-laktamları, florokinolonları, tetrasiklinleri ve aminoglikozitleri içeren neredeyse mevcut bütün antibiyotiklere dirençlidir ÇİD *A. baumannii* için tedavide son seçenek kolistin ve tigesiklidir. Tigesiklin komplike intraabdominal enfeksiyonlar için uygun olsa da; komplike deri enfeksiyonları ve toplum kaynaklı pneumoni için genelde kullanılan antibiyotiklerden daha iyi değildir. Daha kötüsü tigesiklin ticari olarak birçok ülkede bulunmamasına rağmen, ÇİD *A. baumannii*'de direnç oldukça fazladır. Bu durum 1950'lerin sonunda kullanılan kolistine dönüşü zorunlu kılmıştır. Kolistin gram negatiflere karşı hızlı bir bakterisittir. Dış membran bütünlüğünü bozmak için lipopolisakkaritin lipid A kısmı ile etkileşime girer⁶¹.

Nefrotoksik ve nörotoksik olması sebebiyle ve aminoglikozitler gibi daha az toksik antibiyotiklerin ortaya çıkmasıyla kolistin kullanımı kaldırılmıştı. Araştırmacılar kolistinin toksisitesini yeniden değerlendirdiler. Kolistin kullanımı sonucu oluşan toksisitenin insidansının ilk raporlara göre oldukça düştüğü görüldü. Olası sebepler kolistinmeta sodyumun geliştirilmiş formülüydü, yoğun bakım ünitelerinde nefrotoksik ve nörotoksik ilaçların eş zamanlı uygulanmasından kaçınıldı⁶⁷.

Son yıllarda kolistin ÇİD bakterilerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Maalesef kolistin heteroresistans ve kolistin direnci *A. baumannii*'de de tanımlanmıştır. Kolistin dirençli *Acinetobacter* türleri ilk kez 1999'da Çek Cumhuriyetinde rapor edilmiştir. O günden beri direnç tüm dünyada artmıştır. 2006'da Li ve arkadaşları *A. baumannii*'nin kolistin heteroresistansını tanımladı. Heteroresistans başka duyarlı bir popülasyondan bir alt popülasyona kolistine direncin ortaya çıkmasıdır. Heteroresistansı belirlemek için özel bir metod (popülasyon analiz profili) ve otomatik spiral plater gereklidir; ve bu

laboratuvarlarda rutin olarak yapılmaz. Son altı yılda sadece altı ilişkili raporda *A. baumannii* heteroresistans kolistin oranının dirençli kolistinden çok daha yüksek olduğu görüldü⁶⁸⁻⁷².

Bu raporlardaki oranlar birbirinden farklıdır. Oran %18,7 ile %100 arasında değişiyor. Bu durum heteroresistanslığı belirlemek için farklı örnekler ve farklı metodlar kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Kolistin heteroresistanslığının belirlenmesi çok önemlidir. Eğer uygun olarak kolistin kullanılmazsa hızlı bir şekilde direnç gelişir ve tedavi başarısızlıkla sonuçlanır⁷³.

Daha önceki kolistin kullanımı da heteroresistanslığın oranını artırabilir⁷⁴. SENTRY Antimicrobial Surveillance 2001- 2011 yılları arasında Amerika, Avrupa, Latin Amerika ve Asya Pasifik bölgelerinden gelen raporlarda *A. baumannii* kolistin heteroresistanslığı oranının düşük olduğunu bildirdiler (%0,9 - %3,3)⁷². Asya, Avrupa, Kuzey Amerika, Güney Amerika'dan gelen diğer raporlarda *A. baumannii*'nin kolistin direnci bildirildi. Avrupa' dan gelen on raporda iki farklı durum vardı^{75,76}. Çoğu raporda oran %7 'den düşük olmasına rağmen; Bulgaristan ve İspanya'dan gelen oranlar oldukça yüksektir (Bulgaristan % 16,7; İspanya % 19,1). İspanyadan gelen diğer oranlar da % 40,7 gibi yüksek orandadır⁷⁷. Asya'dan gelen sekiz raporun yedisinde oran % 12' den düşüktü⁷⁸⁻⁸⁴. En yüksek direnç oranları Asya ve Avrupa'da görülürken Kuzey ve Güney Amerikada bu oran düşüktür⁸⁴.

2.4.3. *Klebsiella*

Klebsiella cinsinin üyeleri kolonilerinin mukoid görünümünden ve in-vivo olarak mikroorganizmanın artmış virülansından sorumlu olan belirgin bir kapsüle sahiptirler. Bu takımın en sık izole edilen formları toplum veya hastane kaynaklı lobar pnömoniye sebep olan *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*'dır. *Klebsiella* türlerinden kaynaklanan pnömoniler sıklıkla alveolar boşlukların nekrotik yıkımına, kavite ve kanlı balgam oluşumuna sebep olurlar. Yara, yumuşak doku enfeksiyonlarına da sebep olurlar.⁵⁵ *Klebsiella* cinsi bakteriler büyük, hareketsiz ve kapsüllü bakterilerdir. Laktozu fermente ederler. *K. pneumoniae* özellikle hastanada yatan hastalarda olmak üzere, idrar yolları enfeksiyonlarının ve bakteriyemisinin de etkenidir^{85,86}.

Klebsiellanın geniş polisakkarit kapsülü, bakteri hücrelerini fagositozdan koruyan önemli bir virülans faktördür. Ayrıca enfekte bölgeye lökosit göçünü geciktirir.

Klebsiellalarda kapsül ve lipopolisakkaritlerde bulunan endotoksin dışında herhangi bir virülans faktörü tanımlanmamıştır. Konak organizmadan demir iyonu sağlayabilen sideroforları vardır. Sideroforlar yayılcı sistemik enfeksiyon oluşturmada temel bir faktör olan demir sağlayarak, mikroorganizmaların işini kolaylaştırmaktadır. Sağlıklı bireylerin solunum yolunda ve gaitada %5-10 oranında *K. pneumoniae* bulunur. Ayrıca doğada çok yaygındır⁸⁷.

Klebsiellalar hastane enfeksiyonlarının %8'den sorumludur. Bu tip enfeksiyonlar için en sık rastlanılan odak üriner yol, alt solunum yolu, safra kesesi, cerrahi kesi yeri ve diğer bölgelerdir. Hastanede yatan hastalarda bulunan özellikle üriner katater, endotrakeal tüp, damar içi katater gibi invaziv araçlar özellikle GNB'le oluşan hastane enfeksiyonlarına belirgin derecede yatkınlığı artırır. Çoğu gram negatif basiller hastane ortamında bulunur ve Klebsiellaların özelliği çoklu ilaç dirençlerinin olmasıdır. Klebsiellalar için ampirik antibiyotik kullanımı, hastanenin lokal ilaç direnci durumuna göre yapılmalıdır⁸⁷.

2.4.4. *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) *Escherichia* cinsinin en önemli ve en sık görülen üyesidir^{55,88}. İnsan için önemli bir fırsatçı patojendir. *E. coli*, doğumdan birkaç saat ya da birkaç gün içinde, sıcak kanlı hayvanların gastrointestinal yoluna yerleşir. Çoğu *E. coli* suşları kalın barsak ve ince barsak distal yüzeyi kaplayan mukusa tutunabilir. Kalın barsak florası içinde, en yaygın fakültatif anaerob türdür. Barsakların normal flora üyesi olan *E. coli*, barsakların patojen mikroorganizmalar tarafından kolonizasyonunu önlemeye çalışır. Aynı zamanda birçok bakteriyel enfeksiyonun sorumlusudur⁸⁷. Gastroenterit, idrar yolu enfeksiyonu, menenjit ve sepsis gibi birçok hastalıkla ilişkilidir. Çok sayıda suş hastalık yapabilir ancak bazı serotiplerin (*E. coli* 0157 en fazla hemorajik kolit yapan etkendir) virülansı daha fazladır⁵⁵. *E. coli* yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda, 1.0-1,5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak basil şeklinde, gram negatif mikroorganizmalardır. Peritriş kirpikleriyle hareketlidir, fakat hareketleri yavaştır. Hareketsiz suşları da vardır. Bazı suşları kapsüllüdür⁸⁷.

Kan, serum, asit sıvısı, glikoz gibi maddeler ilave edilmemiş adi besiyerinde kolay ürerler. En iyi üreme ısısı 37°C ve pH 7 - 7,2'dir. Fakat 20°C - 44°C'de ve pH 5-8 arasında da ürer. Adi agarda 2-3 mm çapında hafif kabarık, yuvarlak, kenarları düzgün,

gri-beyaz koloniler oluşur. Kanlı agarda hafif nemli görünümlü, 1-2 mm çapında gri koloniler yapar. Bazı suşlar beta hemolitiklidir. Mac Conkey de etrafında presipite safra tuzlarının oluşturduğu pembe alanlarla çevrili kuru, pembe-kırmızı (laktoz pozitif), 2-3 mm çapında koloniler yapar. EMB agarda laktoz pozitif, metalik koloniler oluşur. Pigmentsizdir. Glikoz, laktoz, trehaloz ve ksilozu fermente eder. Potasyum siyanid (KNC) varlığında üremez. Karbon kaynağı olarak sitratı kullanmaz, asetatı kullanabilir. IMVIC (Indol, Metil kırmızısı, Voges Proskauer, Citrat) testi (++--)'dir⁸⁷.

Gastrointestinal kanalda çok sayıda *E. coli* vardır. Her ne kadar bu bakteriler fırsatçı patojen olsalar da barsak perfore olup bakteri peritona geçtiği zaman çoğu *E. coli* gastrointestinal ve ekstraintestinal hastalık yapabilir. Bu özellikleri plazmid aracılı, patojenite adacığı ya da bakteriyofaj DNA'sı kökenli özel virülans faktörü edinmelerine bağlıdır. *E. coli*'nin patojen olarak etkinliği şu faktörlerle açıklanabilir:

1. Sepsiste en sık izole edilen gram negatif bakteridir.
2. Toplumdan kazanılmış idrar yolu enfeksiyonlarının %80'den fazlasının ve çoğu hastanede kazanılmış idrar yolu enfeksiyonunun etkenidir.
3. Gelişmekte olan ülkelerde en önemli gastroenterit etkenlerinden biridir.

Neonatal menenjit ve gastroenterit dışındaki enfeksiyonlar endojendir, kişinin normal florasındaki *E. coli* suşları savunma mekanizmaları ortadan kalkarsa virülan hale gelebilir⁵⁵. *E. coli* normal barsak florasını oluşturan bakterilerden biridir. Barsaklarda diyare oluşturan suşları dışında, kommensal olarak yaşarlar. Ancak vücutta başka bir organa, dokuya geçtiklerinde enfeksiyona sebep olurlar. *E. coli*'nin oluşturduğu hastalıklar barsaklarda oluşan ve barsak dışında oluşan olmak üzere iki gruptur⁴¹.

Barsaklarda hafif diyareden, kolera benzeri ağır sıvı kayıplarıyla seyreden diyareye ya da beraberinde hemolitik üremik sendrom gibi hayatı tehdit eden komplikasyonları olan kanlı diyareye kadar ağırlığı değişen, gastrointestinal hastalıklara beş farklı *E. coli* grubu sebep olmaktadır. Bunlar *Enterotoksijenik E. coli* (ETEC), *Enteropatojenik E. coli* (EPEC), *Enteroagregatif E. coli* (EAEC), *Enterohemorajik E. coli* (EHEC), *Enteroinvaziv E. coli* (EIEC)'dir. Barsak dışında *E. coli* enfeksiyonları üriner yol enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları, menenjit (özellikle yenidoğanda) ve bakteriyemidir. *E. coli* fırsatçı bir patojendir. Yara enfeksiyonlarına,

apendiks yırtılması sonucunda peritonitlere yol açabilir. Diğer fırsatçı patojenlerde olduğu gibi ilk enfeksiyon bölgelerinin herhangi birinden kana karışarak bakteriyemi yapabilir. Nosokomiyal gram negatif bakteri sepsislerine en sık yol açan etkenidir. Endotoksik şoka sebep olabilir. *E. coli* aynı zamanda septik artrit, endoftalmit, karaciğer apsesi, endokardit, osteomyelit, prostatit, sinusit, tromboflebit ve diğer enfeksiyonlarda da görülebilir. *E. coli* kolonda meydana gelen intraabdominal enfeksiyonların birinci fakültatif anaerob etkenidir⁴¹. Genellikle hastaların yarısından fazlası bu mikroorganizma ile enfekte olmuştur⁵⁵.

2.4.5. Proteus

Proteus Enterobacteriaceae familyasının bir üyesidir. *P. vulgaris* ve *P. mirabilis* barsak norma florasında bulunur. En çok idrar yolu enfeksiyonu yapar. Ayrıca menenjit, sepsis, yara, yanık, yumuşak doku enfeksiyonları, yeni doğanda göbrik kordonu enfeksiyonu ve buradan kaynaklanan sepsis başlıca enfeksiyonlardır⁹³.

2.4.6 Achromobacter

Achromobacter aerobik, nonfermantatif, klinik materyallerden nadiren izole edilen gram negatif bir çomaktır. Klinik özelliklerinden dolayı *Pseudomonas spp* ile karıştırıldığı için önemli bir patojen olarak rolü eksik değerlendirilmiştir. İlk kez 1971'de Yabuuchi tarafından tanımlanmıştır. *Achromobacter* genusunda tanımlanmış yedi tür vardır. Bunlar; *A. xylosoxidans*, *A. denitrificans*, *A. insolitus*, *A. marplatensis*, *A. piechaudii*, *A. ruhlandii* ve *A. spanius*'dir. Tür identifikasyonunu konvensiyonel metodlarla yapmak zordur; klinik izolatlarda genellikle *A. xylosoxidans* olarak adlandırılır. *A. xylosoxidans* bakteriyemi, pnömoni, safra yolu enfeksiyonu, üriner yol enfeksiyonu, yara, yumuşak doku enfeksiyonları ve peritonit etkenidir⁹².

2.5. Tanı

2.5.1. Klinik ve Radyolojik Tanı

Komplike intraabdominal enfeksiyonların tanısı başlıca klinik tanıdır. Abdominal ağrı şiddetli ve sinsidir. Başlangıçta az bir bölgede ve zayıf bir ağrı vardır (visceral periton). Sonra bölge genişler ve ağrı şiddetlenir (parietal periton)⁴¹.

Sistemik belirtiler; vücut sıcaklığı 38 °C'den fazla yada 36 °C'den düşüktür. Dakikadaki kalp atımı 90'dan fazla, solunum dakikada 20'den fazladır. WBC 12000'den yüksek ya da 4000'den düşüktür⁴¹. Laktik asidozis, idrar azlığı şiddetli mental durum değişikliği gibi hipotansiyon ve hipoperfüzyon ağır sepsis gelişiminin belirtisidir. Karın sertliği peritoniti gösterir ve acil laparotomiye gerektirir. Septik gelişen hastalarda abdominal enfeksiyonun kaynağını belirlemek hastanın hemodinamik stabilitesine bağlıdır⁸⁸.

Bu hastalarda intraabdominal septik kaynak ultrasonla belirlenebilir. Abdominal ultrason sağ üst kadranın (perihepatik abse, kolesistit, pankreatit gibi), sağ alt kadranın, pelvik patolojinin (apandisit, tubo-ovarian apse, Douglass apseleri gibi) değerlendirilmesinde yardımcı olabilir; ama muayene bazen hastanın rahatsızlığı, karın şişliği, barsak gazı gibi sebeplerden dolayı sınırlıdır⁸⁹. Hastalar stabil olduğunda bilgisayarlı tomografi (BT) çoğu abdominal işlemler için seçilecek görüntüleme yöntemidir. BT az miktardaki akıntıyı, inflamasyon alanlarını ve diğer gastrointestinal yol patolojisini yüksek sensitivite oranlarında belirler⁹⁰.

2.5.2. Mikrobiyolojik Tanı

2.5.2.1 Fenotipik Yöntemler

Mikroorganizmanın mikroskopik morfolojisi ve boyanma özellikleri spesifik tanıda ilk adımdır. Boyanmamış bakterilerin ışık mikroskopuyla görülmesi çok güçtür. Bu nedenle klinik örneklerin çoğu mikroskopik incelemeden önce boyanır. En sık kullanılan boyama yöntemi gram boyama yöntemidir. Bu yöntemle bakterinin hücre duvar yapısına göre boyanmasıyla gram negatifler ve gram pozitifler ayırdılır. Gram boyama yöntemi tedavinin yönlendirilmesi açısından önemlidir. Çünkü gram negatif ve gram pozitiflerin antibiyotik duyarlılıkları birbirinden farklı olduğu için; mikroorganizmanın kesin tanısına kadar tedavinin hızla başlatılmasında yönlendiricidir⁹³.

Kesin tanı için bakterilerin uygun besiyerlerine ekimi yapılarak kültürü yapılır. Kültür için zengin ve selektif besiyeri kullanılır. Kanlı besiyerinde hem gram negatif hem de gram pozitif bakteriler ürerken; MacConkey agar, Endo agar ve Eozin Metilen Blue (EMB) agar gibi selektif besiyerlerinde sadece gram negatifler ürer⁹¹. Bakterilerin metabolizmaları ve enzimlerini gösteren ve onları diğer bakterilerden ayırt etmek için

biyokimyasal testler kullanılır. Oksidaz testi ile oksidaz enzimi olan *Pseudomonas*, *Neisseriae* türleri *Enterobacteriaceae* türlerinden ayırte edilir. IMVIC testi ve TSI (Triple Sugar Iron) agar ile *Enterobacteriaceae* cinsinde bulunan türler identifiye edilir. IMVIC testi *Klebsiella* için (-,-,+,+) iken; *E. coli* için (+,+, -,-)'dir⁹³.

Herhangi bir bakteriyel enfeksiyonda enfeksiyona neden olan etken patojenlerin varlığını, tanımını ve dirençli olduğu antibiyotiği belirlemek amacıyla kültür antibiyogram testleri yapılır. Bu test için hastalardan, enfeksiyon bölgesine uygun olan klinik örnekler alınır ve uygun olan besiyerine ekilerek etken patojen izole edilir. Daha sonra çeşitli konvansiyonel yöntemler ve yarı / tam otomatize bakteri tanımlama antibiyotik duyarlılık sistemlerinin yardımı ile etken patojen tanımlanır ve antibiyotik duyarlılık testleri çalışılır. İlgili patojen bakteriye karşı duyarlı ve dirençli antibiyotikler belirlenerek tedavinin yönü belirlenir⁹³.

2.5.2.2. Moleküler Yöntemler

Hastane enfeksiyonları ve salgın araştırmalarında bulaş yollarının ortaya konabilmesi, salgın varlığının ve kaynağının tespit edilebilmesi için izolatların birbiri ile olan benzerliğinin belirlenmesi önemlidir⁹³.

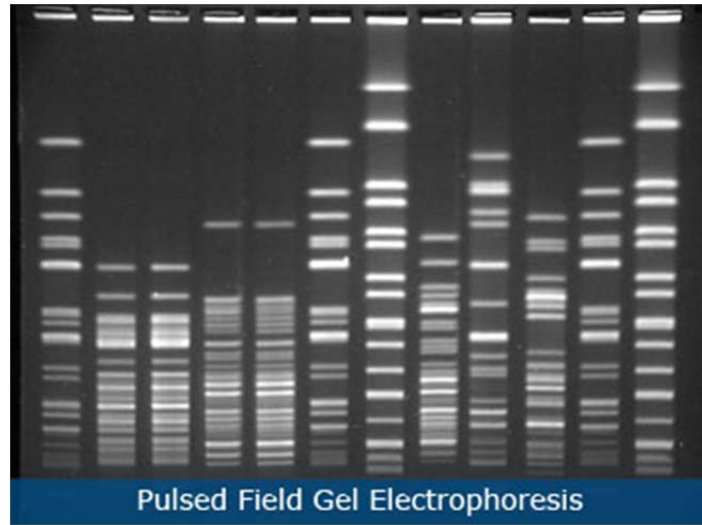
Mikroorganizmalar arasındaki genetik yakınlığı, ilişkiyi belirleyen metotlar moleküler tiplendirme metotlarıdır. Patojen bir mikroorganizma belli bir bölgede normalde izole edildiğinden daha sık izole edildiğinde salgın şüphesi ortaya çıkar. Tiplendirme metotlarının yardımıyla, mesela bir yoğun bakım ünitesinde, belli bir zaman diliminde farklı hastalardan veya çevreden elde edilen, aynı bakteri türüne ait izolatların birbiri ile aynı / yakın ilişkili olduğu ortaya konarak salgın tanımlaması ve kaynak tespiti yapılabilir. Böylelikle gerekli izolasyon önlemlerinin alınması sağlanabilir⁹³.

Moleküler yöntemler amplifikasyona dayalı olmayan ve amplifikasyon temelli metotlar olarak iki gruptur.

Amplifikasyona dayalı olmayan metotlarda çoğunlukla restriksiyon endonükleaz enzimleri kullanılır. Bu enzimler, çift zincirli DNA'yı belli bölgelerden keserek parçalara ayıran enzimlerdir. Restriksiyon enzimleri ile kesim sonrası oluşan DNA bantlarının agaroz jelde yürütülmesiyle oluşan bantların incelenmesiyle kullanılan metot RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)'dir⁹³.

Moleküler tiplendirme için altın standart olarak kabul edilen yöntem PFGE'dir. PFGE' de, agaroz kalıbı içine karıştırılan bakteri hücreleri deterjan ve enzimlerle parçalanarak DNA' ları elde edilir. Agaroz kalıbı içindeki DNA, az sayıda ve büyük parçalar oluşturan bir restriksiyon enzimi ile kesilir. Oluşan DNA parçaları, agaroz jele yüklenerek, belli aralıklarla farklı yönlerden elektririk akımının verildiği özel bir elektroforez işlemine tabi tutulur. Bu özel elektroforez tekniği ile klasik jel elektroforeze göre daha büyük DNA parçalarının hareketi ve tespiti sağlanabilir. DNA parçaları büyüklüklerine göre sıralanır ve her bir izolat için 5-20 bant gözlenir. Bant sayıları ve büyüklükleri karşılaştırılarak izolatlar PFGE profillerine göre genotiplerine ayrılır⁹³.

Amplifikasyon temelli metotlarla moleküler tiplendirme daha hızlı, ucuz ve değerlendirmesi kolaydır. AFLP, PCR bu tip metotlardır⁹³.



Şekil 2.2. PFGE görüntüsü⁹³

2.6. Tedavi

Şiddetli peritonitin tedavisi kompleks ve multidisipliner bir yaklaşım gerektirir. Cerrahlar ve yoğun bakım uzmanları; enfeksiyon uzmanı, radyolog, beslenme uzmanı ve solunum tedavi personeli ile birlikte çalışmalıdır⁹⁴. İntraabdominal enfeksiyonların yönetilmesi cerrahi yöntemleri, kaynak kontrolünü ve antibiyotik tedavisini gerektirir. Bu faktörlerin en önemlisi kaynak kontrolüdür. Kaynak kontrolü devam eden

kontaminasyonu kontrol etmek için ve enfeksiyon kaynağını elimine etmek için alınan tüm önlemleri kapsar⁹⁵.

2.6.1. Cerrahi Yöntemler

Peritonitte cerrahi tedavinin hedefi kontaminasyon kaynağını elimine etmek, bakteri inokülümünü düşürmek ve persistan ya da tekrarlayan sepsisleri önlemektir. Cerrahi tedavide karın boşluğu tamamen incelenir ve karın boşluğundaki pürülan sıvının aspirasyonu yapılır. Gram boyama, fungal çalışmalar ve kültür için örnek alınır. Genel olarak perfore organların çıkarılmasıyla başarıya ulaşılır⁹⁶⁻⁹⁹.

2.6.2. Kaynak Kontrolü

Kaynak kontrolü intraabdominal enfeksiyonların odak noktasını kontrol etmek yada ortadan kaldırmak için kullanılan müdahaleli yöntemlerin genel terimidir. Marshall kaynak kontrolünü enfekte toplanmış sıvının ya da abselerin direnaji, nekrotik enfekte dokunun temizlenmesi, yapı ve fonksiyonları düzenlemek ve devam eden mikrobiyal kaynağı kontrol etmek için alınan kesin önlemler olarak tanımlamıştır. Komplike olmayan intraabdominal enfeksiyonların; perfore olmamış apandisit ve kolesistit gibi; kaynak kontrolü periton boşluğundaki patojen mikroorganizmaların yayılmasını önlemek ve enfekte noktayı tamamen elimine etmek için yapılır. Ama komplike intraabdominal enfeksiyonlarda kaynak kontrolü, hedef enfekte yeri elimine etmeye ek olarak enfeksiyonun tamamen ortadan kalkmasına yol açacak antimikrobiyal tedavi uygulanmasına rağmen; bütün enfekte materyalin ortadan kalkmasını sağlayamamaktadır. İntraabdominal enfeksiyonlarının tedavisinde kaynak kontrolünün önemi gözönüne alındığında yeterli kaynak kontrolünün yapılmasındaki başarısızlık, başarısız tedavilerin ve ölüm oranlarının artışı ile ilişkilidir^{100,101}.

Kaynak kontrolü; devam eden kontaminasyonu kontrol altına almak ve enfeksiyon kaynağını ortadan kaldırmak için alınan tüm önlemleri kapsar. Toplum kaynaklı intraabdominal enfeksiyonların en yaygın kaynağı apandistir. Bunu kalın barsak ve mide takip eder. Barsak anastomozu da mortaliteyi artırmaktadır¹⁰².

Kaynak kontrolünün yeterliliği ve zamanlaması intraabdominal enfeksiyonların yönetilmesinde çok önemlidir. Çünkü ameliyatın geç ve yetersiz olması negatif sonuçlara yolaçabilir. Septik kaynağın erken kontrolü cerrahi veya cerrahi dışı

tedavilerin başarısını artırır. Cerrahi dışı tedaviler apselerin drenajıyla yapılır. Ultrason ve BT(Bilgisayarlı Tomografi) seçilmiş hastalarda abdominal ve ekstraparitoneal apselerin perkutan drenajı etkili ve güvenilirdir.^{103,104} Perkütan drenajın başlıca başarısızlığı apse bölgesinin, büyüklüğünün, genişliğinin, kompleksliğinin yanlış teşhisidir. Cerrahi, intraabdominal enfeksiyonların kontrolü için en önemli tedavi yöntemidir. Genel olarak seçilecek yöntem peritoneal inflamasyonun derecesine, kaynağına ve hastanın genel durumuna göre belirlenir. Amaç peritonitin sebebinin bulunması ve sepsisin orijinin kontrolünü sağlamaktır⁴¹.

2.6.3. Antibiyotikler

İntraabdominal enfeksiyonların antibiyotik tedavisinde genellikle hem gram negatif hem de gram pozitif mikroorganizmalara etki edecek geniş spektrumlu antibiyotikler tavsiye edilir; fakat çeşitli tedavi uygulamaları çoklu ilaç dirençli bakterilere karşı eksiktir. Quinupristin, daptomycin and oxazolidinones gibi yeni geliştirilen dar spektrumlu antibiyotikler MRSA (metisilin dirençli staphylococcus aureus) ve VRE (vankomisin dirençli enterokok) gibi gram pozitif bakterilere etki eder.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷

Bu antibiyotiklerin gram negatiflere karşı etkinliği yoktur. MRSA enfeksiyon oranları sabit kalırken; özellikle GSBL üreten gram negatif bakteriler arasında direnç oranı artmaktadır. Tigesiklin ve 4. kuşak beta laktam antibiyotikler gram pozitif ve GSBL üreten dirençli gram negatiflerin tedavisinde kullanılırken; bu antibiyotiklerin *Pseudomonas aeruginosa*'ya etkisi görülmemektedir^{108,109}. ÇİD için birçok yeni antibiyotik bulunmasına karşın; her birinin zayıf bir noktası vardır ve hiçbir bileşen dirençli patojenlerin hepsine etki edemez^{110,111}. Bundan dolayı nosokomiyal intra-abdominal enfeksiyonlu yüksek riskli hastaların ampirik antibiyotik tedavisi, tedavisi zor izolatların ihtimalleri düşünülerek yapılmalıdır²⁹. Karbapenemler, tigesiklin ve beta laktam antibiyotikler sekonder peritonite sebep olan hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkili antibiyotikler karbapenemler ve piperasilin/sulbaktam kombinasyonudur.

2.6.3.1. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması

Antibiyotikler, vücut sıvılarında oluşturdukları konsantrasyonlarda, mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine göre iki gruba ayrılır.

Bakteriyostatikler: Bunlar bakteri hücrelerinin gelişmesini veya üremesini önlerler. Gelişmesi ve üremesi duran bakteriler, vücudun savunma mekanizmaları tarafından kolaylıkla yok edilirler. Bakteriyostatik etki gücünün göstergesi “*Minimum inhibitör Konsantrasyon* = MİK”dur.

Tetrasiklinler, Makrolitler, Sülfonamidler, Amfenikoller, Linkozamidler, Metronidazol, Mikonazol

Bakterisidler: Bunlar bakteri hücrelerini dolaysız olarak yok ederler. Bakterisid etki gücünün göstergesi “*Minimum Bakterisid Konsantrasyon* = MBK”dur.

Beta-Laktamlar: Penisilinler, Sefalosporinler, Monobaktamlar, Karbapenemler

Beta-laktamaz-inhibitörleri: Sulbaktam, Tazobaktam, Klavulanik Asid, Polipeptidler, Florokinolonlar, Vankomisin, Rifamisin, Teikoplanin

Antimikrobiyaller, etki mekanizmalarına göre beş sınıfta toplanırlar.

2.6.3.1.1. Bakterilerin Hücre Duvar Sentezini İnhibe Edenler

2.6.3.1.1.1. Beta Laktamlar

Bakterisidal etki gösteren bu antimikrobiyaller, bakterilerin hücre duvarında yer alan ve peptidoglikan sentezinin son basamağında görev yapan transpeptidaz ve karboksipeptidaz enzimlerine bağlanarak hücre duvarı sentezini durdururlar.

Penisilinler: Beş grupta toplanırlar. Doğal penisilinler, penisilinaza dirençli penisilinler, aminopenisilinler. Karboksipenisilinler, üreidopenisilinler.

Sefalosporinler: Beta-laktamazlara karşı penisilinlerden daha dirençlidirler. Antimikrobiyal etki spektrumlarına göre 4 gruba ayrılırlar. Birinci kuşaktan dördüncü kuşağa doğru gram pozitif etkinlik azalır, gram negatif etkinlik artar.

Monobaktamlar: Kullanımdaki tek monobaktam aztreonamdır. Sadece gram negatif aerob mikroorganizmalara etkilidir.

Karbapenemler: Bu grupta imipenem, meropenem, ertapenem ve doripenem bulunur. En geniş spektrumlu antimikrobiyallerdir. Gram pozitif ve gram negatif aerob ve anaeroblara etkilidir. İmipenem gram pozitif koklara, meropenem ise gram negatif basillere daha etkilidir.

Beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları: Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasını parçalayarak antimikrobiyal etkisiz hale getiren enzimlerdir. Parçalanmayı önlemek için beta-laktam antimikrobisidler, beta laktamaz inhibitörleri ile kombine edilebilirler. Etki spektrumları taşıdığı beta-laktam antimikrobisidyle benzer. En sık kullanılan beta laktamaz inhibitörleri, klavulanik asid, tazobaktam, ve sulbaktamdır. Klavulanik asit, amoksisilin ile; sulbaktam, ampisilin ve sefoperazon ile; piperasilin ise tazobaktam ile kombine kullanılmaktadır. İçlerinde en geniş spektrumlu beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonu piperasilin/tazobaktamdır.

2.6.3.1.1.2. Glikopeptitler

Bu grupta, büyük polar moleküller olan vankomisin ve teikoplanin yer alır. Gram negatif bakterilerin hücre duvarından penetre olamadıkları için, etki spektrumları aerob ve anaerob gram pozitif bakterilerle sınırlıdır.

2.6.3.1.1.3. Fosfomisin

Hücre duvarı sentezinde gerekli MurA enzimine bağlanarak bakterisidal etki gösterir. Ayrıca, üropatojenitede önemli role sahip bakteri fimbriyalarının sentez ve hareket yeteneğini de azaltır. Gram negatif etkinliği daha fazladır. GSBL üretenler dahil *E. coli* ve *Klebsiella* gibi enterik basillere ve vankomisine dirençli enterokoklara etkilidir.

2.6.3.1.2. Protein Sentezini İnhibe Edenler

Bakterilerin ribozomları 70 S ribozomudur ve insanlardaki 80 S ribozomuna göre antibiyotiklere duyarlılığı daha fazladır. 70S ribozomunda 23 S, 16 S ve 5 S proteinleri bulunur ve 70 S protein sentezi sırasında 30 S ve 50 S alt birimlerine ayrılır.

- 30 S alt ünitesine bağlananlar: Aminoglikozidler, tetrasiklin.
- 50 S alt ünitesine bağlananlar: Kloramfenikol, tiamfenikol, eritromisin, azitromisin, spiramisin, klaritromisin klindamisin, linkomisin.

Aminoglikozidler dışındakiler bakteriyostatiktir. Bu gruptaki ilaçlar memeli hücrelerinin mitokondrilerinde bulunan 55S ribozomları aracılığıyla meydana gelen

protein sentezini inhibe eder (en etkili kloramfenikoldür); ancak sitoplazmada bulunan 80S ribozomlarındaki protein sentezine etkili değildir.

2.6.3.1.3. Sitoplazma Membranının Geçirgenliğini Artırarak Etki Gösterenler

Polimiksinler, siklosporin A, gramisidin, amfoterisin B, nistatin, katyonik deterjanlar.

•Bu ilaçlar sitoplazmada bulunan amino asid ve nukleotidler gibi önemli bileşiklerin hücre dışına çıkmalarına neden olur ve bakterisid etki gösterir¹¹².

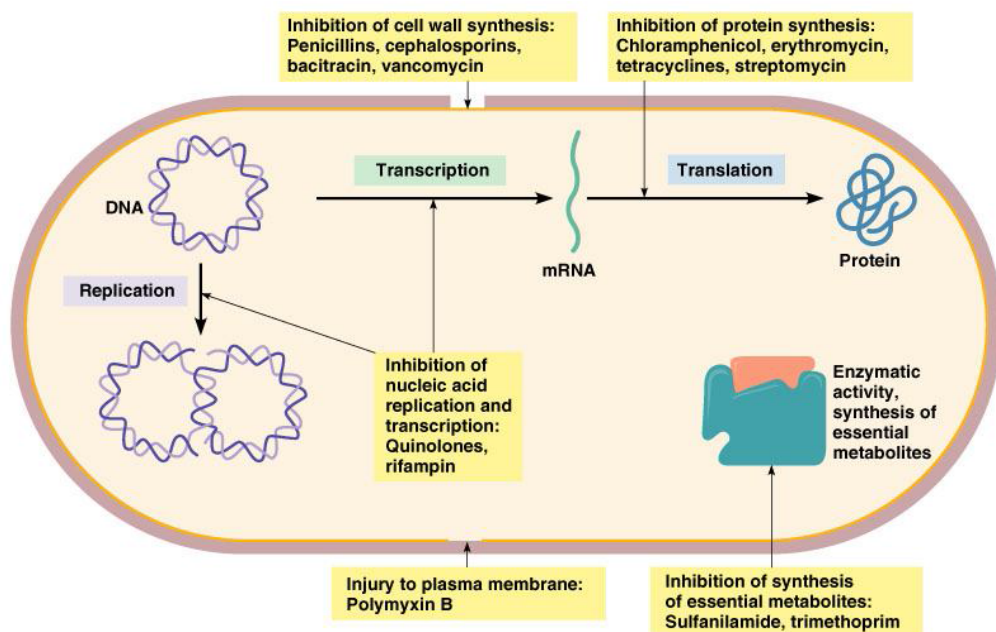
2.6.3.1.4. DNA veya mRNA Sentezini Bozanlar

Antineoplastikler (mitomisin, aktinomisin, daunorubisin, doksorubisin)

Aktinomisinler ve rifamisinler *DNA*'ya *bağımlı RNA polimeraz* enzimini inhibe ederek mRNA sentezini (transkripsiyon) önler.

Kinolonlar (nalidiksik asid, fluorokinolonlar) *DNA giraz* enzimini inhibe ederek, bakterinin ölümüne neden olurlar.

Mitomisinler DNA zincirini alkilleyerek DNA moleküllerinin birbirinden ayrılmasını önler. Böylece DNA replikasyonu durur¹¹².



Şekil 2.3. Antibiyotik etki mekanizması¹¹²

2.6.3.1.5. Bakterinin metabolizması için gerekli maddelerin sentezini önleyenler

Sülfonamidler, sülfonlar, trimetoprim, p-aminosalisilik asid, izoniazid¹¹².

2.6.3.2. Direnç Mekanizmaları

Son birkaç yılda hastanede tedavi gören hastalarda, özellikle kritik hastalarda gram negatif bakterilere karşı antibiyotik direnci önemli derecede artmıştır.¹¹³ GNB'lerin antibiyotiklere karşı birçok direnç mekanizmaları vardır. Bunlar antibiyotiklerin hücre duvarından girişini engelleyen porin kaybı, beta laktamları indirgeyen beta laktamazların varlığı, membranda eflüks pompasının etkinliğinin artması, antibiyotik modifiye edici enzimlerin varlığı, antibiyotiğin hedef bölgesinin değiştirilmesi ve polimiksin grubu antibiyotiklerin hedef bölgeye bağlanmasını engellemek için lipopolisakkaritte mutasyon meydana getirmek gibi mekanizmalardır (Şekil. 2.4)¹⁶.

Son 15-20 yıl boyunca *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* gibi ÇİD GNB'lerin ortaya çıkması ve GSBL üreten *Enterobacteriaceae* büyüyen bir problem haline gelmiştir. İAE'de GSBL tarafından oluşturulan beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç endişe vericidir^{114,11}. Beta-laktam grubu antibiyotiklere direnç üç yolla gelişmektedir. Bunlar; penisilin bağlayan proteinlerde oluşan değişiklikler ile antibiyotiğin bağlanmasının engellenmesi, dış membran proteinlerinde oluşan değişiklikler ile ilacın hücre içine girişinin önlenmesi ve beta-laktamaz enzimleri ile ilacın inaktive edilmesidir¹¹⁵. GSBL'nin varlığını tesbit etmek için doğrulama testleri yapılır. Bu testler klavulanik asidin GSBL enzimlerinin aktivitesini inhibe etmesi temeline dayanır. Bu amaçla çift disk sinerji testi, kombine (modifiye) disk sinerji testi, E-test yöntemi, mikrodilüsyon yöntemi veya üç boyutlu test uygulanabilir ya da otomatize sistemler kullanılır. Mikrodilüsyon yönteminde üçüncü kuşak sefalosporinlerin MİK değerleri, hem tek başına hem de klavulanik asit varlığında ölçülür. Klavulanik asit varlığında MİK değerlerinde $\geq 3 \log_2$ (8 kat) azalma GSBL göstergesi olarak kabul edilir. CLSI'nın fenotipik doğrulama testi olarak önerdiği kombine disk sinerji yönteminde ise Muller Hinton agar besiyerine 0.5 Mc Farland standardına göre hazırlanan bakteri süspansiyonundan sürüntü ekimi yapılır. Ekim yapılan plaklara seftazidim (30 µg), sefotaksim (30 µg), seftazidim-klavulanik asit

(30/10 µg) ve sefotaksim-klavulanik asit (30/10 µg) diskleri yerleştirilir. 35°C’de 18-24 saat inkübasyondan sonra, sefotaksim ve seftazidim diskinin klavulanik asit ile test edildiğinde etrafında gözlenen zon çapının, tek başına test edildiğinde gözlenen zon çapına göre ≥ 5 mm artış göstermesi durumunda GSBL pozitif kabul edilir¹¹⁵.

Beta-laktamaz inhibitörleri penisilinler, birinci- ikinci- üçüncü nesil sefalosporinler, aztreonam gibi antibiyotikleri inhibe ederler. GSBL’ler bakteriler arasında değişebilen genler tarafından kodlanırlar. Beta-laktamaz genleri florokinolonlar ve aminoglikozidler gibi nonbeta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan dirençle ilişkilidir. GSBL üreten suşlar sıklıkla çoklu ilaç direnci ve bazen de panresistant direnç gösterir^{116,117}.

Bundan dolayı GSBL üreten organizmaların tedavisi son derece sınırlıdır. Karbapenemlerin kullanılmasıyla karbapenem dirençli bakteri türleri ortaya çıksa bile, intra-abdominal enfeksiyonlarda GSBL üreten organizmaların sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde karbapenemler kullanılır¹¹⁸.

Tigesiklin GSBL üreten Enterobacteriaceae’ye karşı önemli bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. SMART (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends)’ın 2005 ile 2007 yılları arasında yaptığı araştırmaya göre en sık izole edilen organizmalar *E. coli*, *K.pneumoniae* ve *Enterobacter cloacae*’dır. *E. coli*’nin %18’i ve *K. pneumoniae*’nin % 26,2’si GSBL pozitifdir¹¹⁹. GSBL üreten izolatlar arasındaki direnç 2005 ile 2007 yıllarında devamlı artmıştır ve 2007 yılındaki direnç ilk yıllara göre oldukça fazladır. Karbapenemler GSBL üreten mikroorganizmalara karşı devamlı aktivitesini korumuş olan tek antibiyotiktir. Bu çalışmada tigesiklin test edilmemiştir. İnvaziv medikal araçlar bulunan, uzun süre hastanede yatan ciddi hastalığa sahip hastalar için GSBL üreten mikroorganizmaların enfeksiyonları sık görülür¹²⁰.

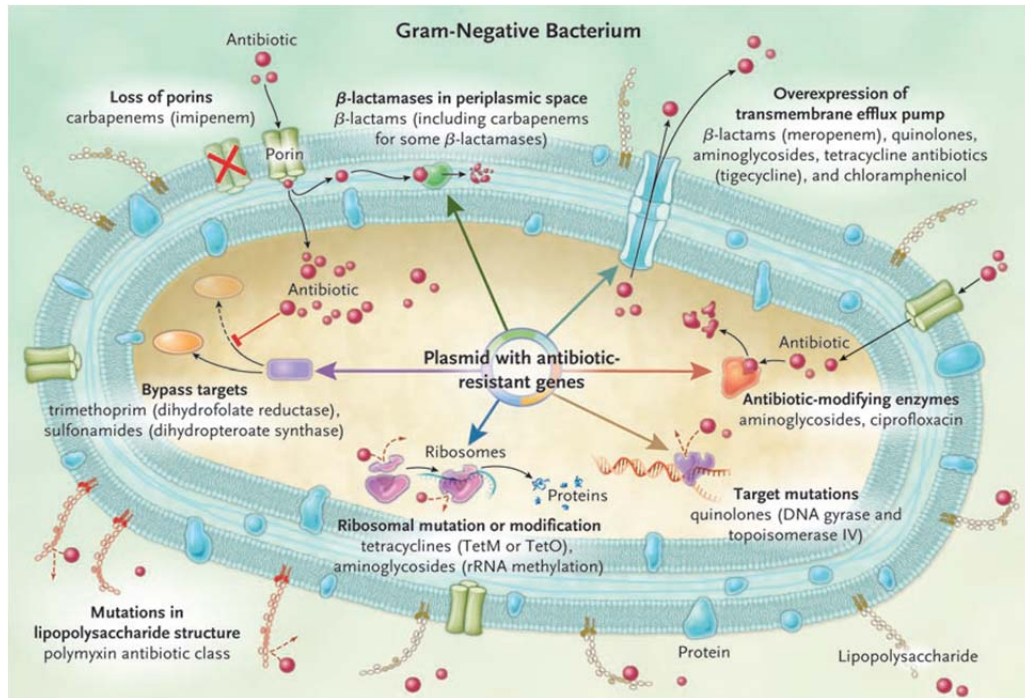
A. baumannii’de kolistin direnç mekanizmasının oluşması 4-amino-4-deoxy-l-arabinose (Ara4N) ve/veya phosphoethanolaminin eklenmesiyle lipopolisakkarit komponenti olan lipid A’nın modifikasyonu ile oluştuğu düşünülmektedir¹²¹. Bu eklenenlerin Lipid A’nın negatif şarjını ortadan kaldırmasıyla; pozitif şarj edilmiş kolistin afinitesi düşer. Fakat ara 4N biyosentez ve aksesuar genler *A. baumannii*’de bulunmadığı için Lipid A’nın Ara4N modifikasyonu *A.baumannii*’deki direnci açıklayamaz¹²².

A. baumannii'deki direnç için iki hipotez vardır.

Birinci hipotez: Moffat ve arkadaşları ile Henry ve arkadaşlarının LPS hasarı hipotezidir^{123,124}. Bunlar başlangıçta *A. baumannii*'deki LPS üretiminin tamamen hasar görmesi sonucunda Lipid A biyosentez genleri IpxA, IpxC veya IpxD'nin inaktive olduğunu buldular. LPS'nin olmadığı bu suşlarda kolistin direnci görüldü. LPS üretiminin tamamen kaybolması ve kolistin direncinin yüksek olmasıyla IpxA veya IpxC'de insersiyon sekansı ISAbal1 bulundu. Zayıf negatif şarjlı, kolistin dirençli suşun kolistine afinitesi zayıflar⁶¹.

İkinci hipotez: PmrAB iki komponentli sistemdir. İlk kez 2009'da Adams ve arkadaşları tarafından önerildi. Onlar kolistin duyarlılığı ve direnç suşları arasında PmrA ve PmrB genlerini kodlayan DNA sekansının karşılaştırılmasıyla, *A. baumannii*'deki kolistin direncinin PmrA ve PmrB genlerindeki mutasyonla bağlantılı olduğunu gösterdiler⁶¹.

ÇİD *A. baumannii*'nin tedavisinde kullanılan kolistine direncin yüksek olmasından dolayı monoterapi yerine kombine tedavi uygulanmaktadır. İn vivo, in vitro ve klinikte en iyi kombinasyonların kolistin-rifampisin ve kolistin-karbapenem olduğu bulunmuştur⁶¹.



Şekil. 2.4. Bakterilerin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları¹⁶

P. aeruginosa birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençlidir ve tedavi sırasında mutasyonla direnç gelişimi de gözlenir. Direnç mekanizması porin proteinlerde mutasyonla olmaktadır. Mikroorganizmaya antibiyotik girişi öncelikle dış membrandaki porlarla olur. Bu porların duvarlarını oluşturan proteinler hücre içine geçişi kısıtladığında birçok antibiyotiğe direnç aynı anda gelişebilmektedir. *P. aeruginosa* ayrıca farklı β laktamazlar üreterek, β laktam antibiyotikleri etkisiz kılmaktadır (Penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemler gibi)⁵⁵. Polimiksinlerin keşfinden sadece yedi yıl sonra, 1954'te ilk kez laboratuvarında polimiksine dirençli *P. aeruginosa* suşları rapor edildi¹²⁵.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Örneklerin Toplanması

Hastanemizde intraabdominal enfeksiyonlu hastalardan sekonder ve tersiyer peritonit etkeni olarak izole edilen gram negatif bakterilerin direnç paternlerinin tespiti ve aralarındaki filogenetik ilişkinin belirlenmesi amacı ile planladığımız çalışmamızda, Ekim–Aralık 2014 tarihleri arasında kalan iki buçuk aylık süre içerisinde Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastane’sinin Genel Cerrahi Servisinde ve Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesinde sekonder ve tersiyer peritonit klinik tanısı ile yatarak takip edilen ardışık hastalar iki grup halinde incelendi. Hastalardan kan kültürü, apse ponksiyonu, opere edilen bölgenin pürülan akıntısından sürüntü, periton sıvısı, dren ucu gibi klinik örnekler alındı. İzolatların fenotipik olarak tür identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılıkları Ç.Ü. Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında bulunan VITEK 2 (BioMerieux, Durham, North Carolina, USA) otomatize sisteminde kullanıcı talimatları doğrultusunda araştırıldı. İzolatlar arasındaki klonal ilişkinin moleküler olarak incelenmesi de Ç.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında Pulse-Field Gel Electrophoresis (PFGE) yöntemi ile yapıldı.

3.1.1. Birinci Grup Hastalar

Hastanemiz dışındaki sağlık merkezlerinde peritonit tanısı ile takip edilip hastanemize sevk edilen hastalardan yattıkları ilk gün örnek alındı. Tedaviye rağmen 3-7 gün içinde hastanın durumunda iyileşme olmazsa ikinci ve üçüncü defa örnek alındı.

3.1.2. İkinci Grup Hastalar

Hastanemize intraabdominal cerrahi planlanarak yatışı yapılan hastalarda, operasyon sonrasında intraabdominal infeksiyon gelişen hastalardan örnek alındı. Tedaviye rağmen 3-7 gün içinde durumunda iyileşme olmayan hastalardan ikinci ve üçüncü defa aynı şekilde örnek alındı.

3.2. Fenotipik İnceleme

Kan kültür şişelerinde gelen kan örnekleri Bactec kan kültür cihazında üreme tespit edildiğinde kanlı, McConkey ve PVX (çikolatamsı agar) besiyerlerine pasajları

yapıldı. Diğer klinik örnekler ise kanlı agar ve McConkey agar besiyerine ekimi yapıp bir gece inkübe edildi.

Besiyerlerine yapılan bütün bu ekimlerden sonra örnekler etüvde 37°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Üreme sonrasında mikroskopik inceleme ile gram negatif olarak tespit edilen izolatların tür identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının tespiti VITEK 2 (BioMerieux, Durham, North Carolina, USA) otomatize sisteminde kullanıcı talimatları doğrultusunda incelendi.

3.2.1. Mikroskopik İnceleme

Hastadan alınan örnekler kanlı ve EMB besiyerlerine ekilip bir gece inkübe edildikten sonra gram boyama yapılarak, gram negatif ve gram pozitif olarak gruplandırıldı.

3.2.2. Kültür Ortamında İzolasyon

18–24 saatlik inkübasyon sonrası Gram negatif olarak identifiye edilen örneklerden aynı cins koloniler seçilerek 0,5 McFarland bulanıklık derecesinde süspanse edildi.

Fenotipik olarak tür identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık tespiti için VITEK 2 otomatize sisteminde kullanılan %3 butilrubber’li kristal polistren yapısındaki identifikasyon kartları gram pozitifler için BOPP ile, gram negatifler için TPX bant çeşidi ile kaplıdır. Kartlarda 64 adet kuyu vardır ve her kuyu 30 µl sıvı alabilir. Bilgisayara hasta girişleri yapıp, sonuçlar, VITEK 2’den LSN’ye (Hasta kayıta) kendiliğinden transfer edilir. İdentifikasyon okuma dalga boyu 365nm ve 445nm’dir. Cihazda çeşitli biyokimyasal testler de otomatik olarak yapılır. İdentifikasyon kartlarından sonuçların okunma süreleri bakterinin gram pozitif ve gram negatif oluşuna göre değişir. Oksidaz, katalaz, beta-hemoliz, koagülaz gibi ilave biyokimyasal testlere ihtiyaç yoktur.

3.2.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri (ADT)

VITEK 2 otomatize sistemle aynı identifikasyon kartında yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinin sonuçları kısıtlı antibiyogram şeklinde alındı. Bazı antibiyotiklerin sonuçları diğerlerinden hızlı çıkar. *Staphylococcus aureus* oxacillin, norfloxacin,

ofloxacin gibi. Gelişmiş expert sistemde 20 000 elementer hücre ve 2 000 fenotipi içeren bir MIC ansiklopedisi bulunmaktadır. *E.coli*- kazanılmış penisilinaz- aztreonam üçlüsü elementer hücreye bir örnektir.

Gelişmiş expert sistemin, SIR sistemine göre karar veren expert sistemlerden üstünlüğü; duyarlı denen aralıkta SIR expert sistem wild (doğal) tipi derken; gelişmiş expert sistem bunu ayırarak direnç mekanizmasını hassas bir şekilde belirler.

3.3. Klonal İlişkinin Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) Yöntemi ile Belirlenmesi

İzolatlar arasındaki klonal ilişkinin Pulse-Field Gel Electrophoresis (PFGE) yöntemi ile belirlenmesi Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı. Bunun için, örnekler laboratuvarımıza gönderilerek, identifiye edilen izolatları saf olarak elde etmek için endo ve %5 koyun kanlı besiyerine ekimleri yapıldı.

Bir gece etüvde inkübe edildikten sonra saklamak üzere yumuşak dik jelöze ekim yapıldı. 24 saat etüvde inkübe edilen örnekler +4°C’de saklandı. Saklamak için aynı zamanda hazırlanan gliserollü kanlı brain heart infusion broth besiyerine bir öze dolusu örnekten alınıp süspanse edilerek -18°C’ de saklandı.

3.3.1. PFGE’ de Kullanılan Solüsyonlar

PFGE analizinde kullanılan solüsyonların hazırlanışı ve yöntemin uygulanışı aşağıdaki gibidir:

Hücre Süspansiyon Tamponu (pH=8.0)

Tris-HCl (SIGMA T-3253): 1,576 gr

EDTA (AMRESCO 0105-500): 3,722 gr

Ultrapure su ile 100ml’ye tamamlandı ve pH 8.0’a ayarlandı.

%10 SDS Solüsyonu

SDS (SIGMA L-5750): 1 gr

Ultrapure su ile 10 ml’ye tamamlandı.

Lizis 1 Solüsyonu (pH=8.0)

Tris-HCl (SIGMA T-3253): 0,788 gr

EDTA (AMRESCO 0105-500): 1,861 gr

Ultrapure su ile 100 ml'ye tamamlandı ve pH 8.0'a ayarlandı. Her örnek solüsyonuna Proteinaz K (1,5 mg/ml) ve Lizozim (2,5 mg/ml) eklendi.

Lizis 2 Solüsyonu (pH=8,5)

0,5 M EDTA (AMRESCO 0105-500): 18,612 gr

N-lauryl-Sarcosine (AMRESCO 0719-500): 1 gr

Ultrapure su ile 100 ml'ye tamamlandı. 0,5 M EDTA pH 8,5'e ulaşana kadar tam olarak çözünmedi. Bu nedenle NaOH pelletleri kullanıldı. Her örnek solüsyonuna Proteinaz K (400 µg/ml) eklendi.

10xTE Solüsyonu (pH=7,6)

Tris-HCl (SIGMA T-3253): 1,576 gr

EDTA (AMRESCO 0105-500): 0,372 gr

Ultrapure su ile 100 ml'ye tamamlandı.

10xTBE Solüsyonu (pH=8,4)

Tris-base (SIGMA T-1503): 108 gr

Borik Asit (MERCK 1.00165.0500): 55 gr

EDTA (AMRESCO 0105-500): 7,44 gr

Ultrapure su ile 1000ml'ye tamamlandı.

Etidyum Bromid

Etidyumbromid (Sigma E8751) (1000X, 5mg/ml): 0,5gr

Distile su: 100ml

Işıktan korumak için aliminyum folyo ile kaplandı. +4⁰C'de saklandı.

3.3.2. Örneklerin Hazırlanması

VITEK 2 otomatize sistemi ile identifiye edilerek toplanan örneklerden taze saf koloni elde etmek için %5 koyun kanlı agar ve endo agar; saklamak için de kanlı brain heart infusion broth ve yumuşak dik jelöz besiyerleri kullanıldı.

%5 Koyun Kanlı Agar Besiyeri

Kanlı agar (LAB M MC2): 45gr

Et ekstresi (MERCK 1.03979): 10gr

Pepton (DIFCO 63928JB): 10gr

NaCl (MERCK 2.06400): 5gr

Agar (LAB M MC2): 15gr

Hazırlanan karışım suda ısıtılarak eritildi ve 950 ml'ye tamamlandı. 121⁰C'de 15 dakika steril edildi. Besiyerinin içine soğumaya yakın 50 ml koyun kanı ilave edildi. 15-18 ml olarak 9cm'lik petri plaklarına dağıtıldı.

EndoBesiyeri

Et ekstresi (MERCK1.03979): 3 gr

Pepton (DIFCO63928JB): 10 gr

NaCl (MERCK1.06400): 5 gr

Agar (LAB M MC2): 20 gr

Distile Su: 1000 ml

(pH 7,3 ± 0,2)

Karışım 121°C'de 15 dakikada otoklavda steril edildi. Soğuduktan sonra üzerine, %20'lik laktozdan (EGAS DMV) 50 ml, %10'luk Na₂SO₃'dan (SIGMA 239321) 24 ml ve %10 fuksinden (SIGMA B0904) 4 ml eklendi. 9 cm'lik plaklara döküldü.

Kanlı Brain Heart InfusionBroth

Calf Brain: 200 gr/L

Beef Heart: 250 gr/L

Proteose Peptone: 10 gr/L

Dextrose: 2gr/L
Sodium Chloride: 5 gr/L
Disodium Phosphate: 2,5 gr/L

Hazır olarak bulunan ve yukardaki maddeleri içeren Brain heart Infusion Broth hazırlandı. Brain Hearth Infusion Broth'un %10'u kadar gliserol hazırlandı. İkisi ayrı ayrı 121⁰C'de 15 dakika otoklavda steril edildi. Otoklavdan çıktıktan sonra ikisi karıştırıldı. Karışıma soğumaya yakın %7 oranında koyun kanı ilave edildi ve karışım ependorflara dağıtılır.

Yumuşak Dik Jelöz

Et ekstresi (MERCK1.03979): 0,3 gr
Pepton (DIFCO63928JB): 1 gr
NaCl (MERCK1.06400): 0,5 gr
Distile su: 100 ml
Agar (LAB M MC2): 1 gr

Karışım 121 ⁰C' de 15 dakika otoklavda steril edildi. Tüplere dik olarak döküldü ve donmaya bırakıldı.

3.3.3. PFGE Yönteminin Uygulanması

1. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* veya *Acinetobacter baumannii* suşları ilk olarak canlandırmak amacı ile stok besiyerinden % 5 koyun kanlı agara pasajlandı.
2. Saf kültür halinde üreyen koloniler öze ile 1 ml hücre süspansiyon tamponu (HST) içinde süspanse edildi. Bakteri yoğunluğu McFarland 4 olarak ayarlandı (Densitometer-Biosan, Letonya).
3. Hücre süspansiyonu, 13.000 g'de 4⁰C'de 3 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında süpernatant atıldı (HERAEUS BiofugePrimo R).
4. Pelletin üzerine tekrar 1ml soğuk HST eklendi ve pipetajla pellet dağıtıldı.
5. HST'den alınan 9 ml içerisinde 0,2 gr low metling agar (BIO-RAD 161-3113EDU) eklendi ve mikrodalga fırında eritildi (BEKO MD1505).

6. Daha sonra üzerine 1ml %10'luk sodyum dodesil sülfat eklenerek karıştırıldı.
7. Agaroz- SDS karışımından 150µl ependorf tüplere dağıtıldı ve 55⁰C'deki kuru ısı bloğunda beklemeye alındı.
8. Daha sonra bakteri süspansiyonundan 150µl alınarak, bekleyen 150µl agaroz- SDS karışımı ile pipetaj aracılığı ile homojen olarak karıştırıldı.
9. Bekletilmeden, hücre-agaroz- SDS karışımından agaroz kalıp aparatına dağıtıldı. Kalıplar agaroz katılaşınca kadar +4⁰C'de bekletildi.
10. Her agaroz kalıp için 0,5 ml Lizis 1 solüsyonu hazırlandı. Lizis 1 solüsyonuna alınan kalıplar 37⁰C'de 1 saat çalkalamalı su banyosunda inkübe edildi (Mammert Wne-14 Waterbath).
11. İnkübasyon sürecinden sonra Lizis 1 solüsyonu dökülerek, yerine 0,5 ml hücre Lizis 2 solüsyonu eklendi. 55⁰C'de 2 saat çalkalamalı su banyosunda bekletildi.
12. Lizis aşamasından sonra yumuşayan agaroz kalıplarının hızlıca soğuması için tüpler buz içerisinde en az 15 dakika bekletildi ve lizis solüsyonu döküldü.
13. Daha sonra kalıplar 50⁰C'de 4ml steril ultra pür su içerisinde çalkalamalı su banyosunda, her yıkama 15 dakika olmak üzere 3 defa yıkama işlemi tekrarlandı.
14. Bu yıkamadan sonra tekrar agaroz kalıpları 50⁰C'de 4ml TE tamponuyla yıkandı. Yıkama işlemi herbiri 15 dakika olmak üzere 3 kez tekrarlandı. Son olarak örnekler +4⁰C'de saklandı.
15. Agaroz kalıbı bir lam üzerine alınarak bir bistürü yardımıyla 1/3 oranında kesildi.
16. Parçalardan biri, 100µl 1x uygun enzim tamponu içine alınarak oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Daha sonra bu tampon boşaltıldı.
17. Her agaroz kalıbı için aşağıdaki enzim karışımı hazırlandı:

***Klebsiella* ve *E.Coli* için;**

10 µl 10x XbaI tamponu

5 µl XbaI enzimi (10U/µl) (Fermentas)

85 µl steril ultra saf su

***Pseudomonas* için;**

10 µl 10x SpeI tamponu

5 µl SpeI enzimi (10U/µl) (Fermentas)

85 µl steril ultra saf su

***Acinetobacter* için;**

10 µl 10x ApaI tamponu

5 µl ApaI enzimi (10U/µl) (Fermentas)

85 µl steril ultra saf su

***Proteus* için;**

10 µl 10x SmaI tamponu

5 µl SmaI enzimi (10U/µl) (Fermentas)

85 µl steril ultra saf su

Achromobacter için SpeI ve XbaI önerilse de çalışmada kullandığımız XbaI, ApaI, SpeI ve SmaI enzimleri denendi.

18. Agaroz kalıbına bu karışım eklenerek çalkalamalı su banyosunda 37⁰C’de 2 saat inkübe edildi.
19. İnkübasyon sonunda tüpler buzdolabında 15 dakika bekletildi.
20. Sonra 2 litre 0,5x TBE buffer hazırlandı. İçerisinden 100 ml ayrılarak kalan tampon elektroforez tankına döküldü.
21. Ayrılan 100 ml tampon içine 1,1 gr pulsed-field certified (Bio-Rad) agaroz eklenerek %1,1’lik agaroz hazırlandı ve mikrodalga fırında eritildi.
22. Agaroz dökülecek kaset hazırlandı. Uygun enzim ile kesilmiş olan agaroz kalıpların her biri tarak dişlerinin uç kısmına yerleştirildi.
23. Tarağın kenar ve ortasındaki dişlerine marker (Lambda Ladder PFGE Marker) kalıplar yüklendi ve agaroz dökülecek kaset içine yerleştirildi.
24. Agaroz dikkatli ve yavaş bir şekilde hava kabarcığı oluşturmada kaset içine döküldü.
25. Oda ısısında 20 dakika katılaşmaya bırakıldı. Dikkatlice tarak çekildi ve elektroforez tankına yerleştirildi.
26. Daha sonra CHEF-DR II sisteminde (Bio-Rad Laboratories, Nazareth, Belgium) elektroforez koşulları ayarlandı.
27. *E. coli*, *Klebsiella*, *Achromobacter* ve *Proteus* için elektroforez şartları: Başlangıç vuruş süresi 5 sn, bitiş vuruş süresi 30 sn, vuruş açısı 120⁰, voltaj gradienti 6v/cm², sıcaklık 14⁰C, elektroforez süresi 20 saat ve akım 150-160 amper. (TBE tamponu pH 8,0).

Pseudomonas için elektroforez şartları iki blok halinde uygulandı. Birinci bloğun şartları: Başlangıç vuruş süresi 5 sn, bitiş vuruş süresi 45 sn, vuruş açısı 120^0 , voltaj gradienti $6\text{v}/\text{cm}^2$, sıcaklık 14^0C , elektroforez süresi 20 saat ve akım 200-210 amper. (TBE tamponu pH 8,0).

İkinci blok şartları: Başlangıç vuruş süresi 30 sn, bitiş vuruş süresi 45 sn, vuruş açısı 120^0 , voltaj gradienti $6\text{v}/\text{cm}^2$, sıcaklık 14^0C , elektroforez süresi 6 saat ve akım 200-210 amper.(TBE tamponu pH = 8,0).

28. Elektroforezden sonra jel, $5\mu\text{g}/\text{ml}$ etidyum bromür içeren 500 ml ultra pür su içine alındı ve 20 dakika boyandı. Boyadan sonra dekolorizasyon için jel, 500 ml saf su içerisinde 10 dakika bekletildi.
29. UV ışığı altında görüntülendi. Gel Logic 1500 Imaging System (ayırım gücü: 1708×1280 pixel, Kodak Company, NY, USA) kullanılarak DNA bant görüntülerinin fotoğrafı çekildi.



Şekil 3.1. PFGE tankı ve soğutucu.



Şekil 3.2. Gel logic 1500 imaging system

3.3.4. PFGE Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Elde edilen PFGE bant profillerinin, Gel Compar II version 5.1 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) yazılım programı kullanılarak, Unweighted pair group method with mathematical averaging (UPGMA) yöntemi ile dendrogramı oluşturuldu. Suşlar arasındaki ilişki bantlara dayalı “Dice” benzerlik katsayısına göre, bant ve profil toleransı % 1.5 alınarak hesaplandı^{126,127}. % 80 bant benzerliği olan suşlar klonal ilişkili bir küme olarak değerlendirildi ve kümeler büyük harf (A, B, C ve s.) ile isimlendirildi¹²⁸.

4. BULGULAR

Ekim–Aralık 2014 tarihleri arasında kalan iki buçuk aylık süre içerisinde Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastane’sinin Genel Cerrahi Servisinde ve Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesinde yatarak takip edilen sekonder ve tersiyer peritonitli 6’sı birinci grup, 15’i de ikinci grup olmak üzere ardışık 21 hastaya ait klinik örneklerden toplam 32 gram negatif bakteri izole edildi. Yaş aralığı 18-76 arasında değişen ve yaş ortalaması 54 olan hastalarımızın 8 (% 38)’i kadın, 13 (% 62)’ü erkekti. VITEK 2 otomatize sistemi ile fenotipik identifikasyon sonucunda bu izolatlardan 20 (% 62,5)’si *E.coli*, 6 (% 18,8)’si *K. pneumoniae*, 3 (% 9,4)’ü *P. aeruginosa*, birer tanesi (% 3,1) de *Proteus mirabilis*, *A. baumannii* ve *Achromobacter xylosoxidans* olarak tanımlandı (Çizelge 4.1).

VITEK 2 cihazı ile yapılan antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına göre 20 *E.coli* izolatından 15’i, 6 *K.pneumoniae* izolatından ise 2’si GSBL pozitif olarak bulundu (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2).

Peritonit etkeni olarak izole edilen bu suşlar arasındaki filogenetik ilişkinin PFGE yöntemi ile incelenmesi sonucunda 20 *E. coli* izolatımızdan 18’i 12 majör küme (A-L) içerisinde gruplandırıldı (Şekil 4.2), ikisi ise kontaminasyon sebebiyle değerlendirilemedi. Altı *K.pneumoniae* izolatı 5 majör küme (A-E) içerisinde gruplandırılırken (Şekil 4.3), üç *P. aeruginosa* izolatı arasında benzerlik bulunamadı (Şekil 4.4). Sonuç olarak, 32 izolatımız arasında anlamlı sayılabilecek bir klonal ilişki tespit edilmedi.

Ancak, peritonit tanısı ile üç hastadan farklı zamanlarda izole edilen *E. coli* suşları arasında ve bir hastadan farklı zamanlarda izole edilen *K. pneumoniae* suşları arasında % 100 benzerlik tespit edildi. Bu sonuca göre, birinci grup hastalarımızı oluşturan altı hastadan hastanemize yatırıldıkları zaman ilk örnek alımından sonra, üçünden iyileşme olmadığı için ikinci kez örnek alındı. Bu üç hastanın ikisinden direnç paternleri de aynı olan suşlar (*E. coli* 1 ve 2 ile *K. pneumoniae* 3 ve 11 izolatları) izole edildi. Üçüncü hastadan ise alınan ilk örnekten *E. coli*, ikinci örnekten ise aynı *E. Coli* ile beraber bütün antibiyotiklere duyarlı *K. pneumoniae* izole edildi. (Çizelge 4.1, Şekil 4.2, 4.3 ve 4.4). Bu sonuç, birinci grup hastaların hiçbirinde hastanemize yatışlarından sonra herhangi bir direnç gelişmediğini göstermektedir.

PFGE yöntemi uygulanırken *Achromobacter xylosoxidans* için dört restriksiyon enzimi (XbaI, ApaI, SpeI, SmaI) kullanıldı. *Achromobacter xylosoxidans* için en uygun enzimin SpeI olduğu görüldü (Şekil 4.5).

Çizelge 4.1. Peritonitli 21 hastadan izole edilen 32 gram(-) bakterinin dağılımı.

Hasta	Yaş	Cinsiyet	Tanı*	Örnek Tipi**	Örnek Tarihi	Hasta Grubu	İzolat	PFGE Tip***	GSBL
1	64	Kadın	SP	püy	09.10.2014	1	<i>E.coli</i> 01	F1	-
1	64	Kadın	SP	püy	14.10.2014	1	<i>E.coli</i> 02	F1	-
3	47	Erkek	TP	apse	10.10.2014	2	<i>E.coli</i> 04	G	+
4	45	Kadın	TP	püy	13.10.2014	2	<i>E.coli</i> 05	A2	+
6	67	Erkek	SP	püy ve kan	17.10.2014	1	<i>E.coli</i> 06		+
5	62	Erkek	SP	apse	13.10.2014	2	<i>E.coli</i> 07	B	-
8	68	Erkek	SP	apse	28.10.2014	2	<i>E.coli</i> 08	I	-
9	38	Erkek	SP	püy	28.10.2014	1	<i>E.coli</i> 09	C2	+
7	44	Erkek	SP	dren ucu	27.10.2014	2	<i>E.coli</i> 10	C1	+
10	52	Erkek	SP	püy	04.11.2014	2	<i>E.coli</i> 12	A1	+
7	44	Erkek	SP	püy	05.11.2014	2	<i>E.coli</i> 13	C1	+
11	65	Erkek	SP	püy	11.11.2014	2	<i>E.coli</i> 14	F2	+
12	44	Erkek	SP	püy	16.11.2014	1	<i>E.coli</i> 16	E	+
12	44	Erkek	SP	apse	19.11.2014	1	<i>E.coli</i> 17	E	+
15	61	Erkek	SP	kan	23.11.2014	2	<i>E.coli</i> 18	H	+
14	21	Kadın	SP	apse	22.11.2014	2	<i>E.coli</i> 20		+
16	76	Erkek	SP	püy	28.11.2014	2	<i>E.coli</i> 21	K	+
18	56	Kadın	SP	apse	15.12.2014	2	<i>E.coli</i> 23	D	-
20	63	Erkek	SP	apse ve periton sıvısı	21.12.2014	2	<i>E.coli</i> 25	L	+
21	65	Kadın	SP	periton sıvısı	23.12.2014	2	<i>E.coli</i> 26	J	+
2	55	Kadın	SP	apse	10.10.2014	1	<i>K.pneumoniae</i> 03	C	+
6	67	Erkek	SP	püy	17.10.2014	1	<i>K.pneumoniae</i> 06	D	-
2	55	Kadın	SP	apse	03.11.2014	1	<i>K.pneumoniae</i> 11	C	+
12	44	Erkek	SP	apse	19.11.2014	1	<i>K.pneumoniae</i> 17	A	-
17	52	Erkek	SP	püy	13.12.2014	1	<i>K.pneumoniae</i> 22	B	-
18	56	Kadın	SP	apse	15.12.2014	2	<i>K.pneumoniae</i> 23	E	-
8	68	Erkek	SP	apse	28.10.2014	2	<i>P.aeruginosa</i> 08	B	
7	44	Erkek	SP	dren ucu	27.10.2014	2	<i>P.aeruginosa</i> 10	A	
7	44	Erkek	SP	dren ucu	13.11.2014	2	<i>P.aeruginosa</i> 15	C	
19	60	Kadın	TP	apse	21.12.2014	2	<i>A.baumannii</i> 24		
20	63	Erkek	SP	apse	21.12.2014	2	<i>P.mirabilis</i> 25		
13	18	Kadın	SP	apse	20.11.2014	2	<i>A.xylosoxidans</i> 19		

*SP=sekonder peritonit; TP=tersiyer peritonit.

**püy=pürülan akıntısından sürüntü; apse=apse ponksiyonu.

***PFGE tipleri *E. coli*, *K.pneumoniae* ve *P.aeruginosa* için ayrı-ayrı belirlenmiştir.

Değerlendirilmeyen sonuçların yeri tabloda boş bırakılmıştır.

Çizelge 4.2. İzolatların PFGE ve antibiyotik duyarlılık test sonuçları.

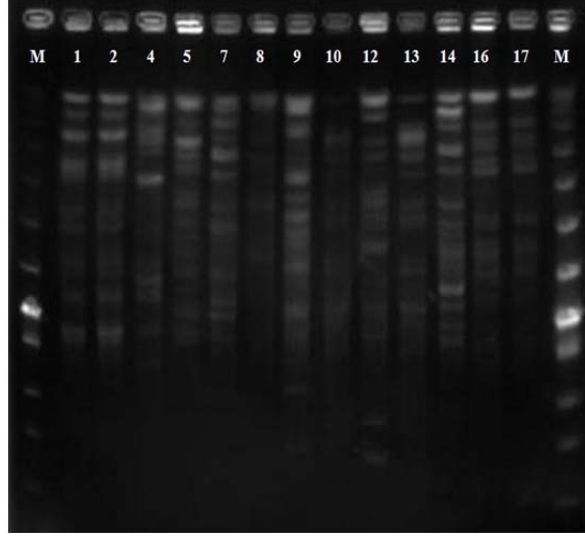
İzolat*	PFGE Sonucuna Göre Tip**	ESBL	Amikacin***	Amoxicillin-Clavulanic acid	Ampicillin	Ampicillin-Sulbactam	Azithromycin	Cefepime	Cefoperazone-Sulbactam	Cefoxitin	Cefotaxime	Ceftazidime	Ceftiozone	Cefuroxime	Cefuroxime Axetil	Ciprofloxacin	Colistin	Ertapenem	Gentamicin	Imipenem	Levofloxacin	Meropenem	Netilmicin	Piperacillin	Piperacillin-Tazobactam	Tetracycline	Tigecycline	Trimethoprim-Sulfamethoxazole
EC01	F1	-	S	R	R	-		S		R		R	R	R	R	R	S	S	S	S		S			R			S
EC02	F1	-	S	R	R			S		R		R	R	R	R	R	S	S	S	S		S			R			S
EC04	G	+	I	I	R			R		S		R	R	R	R	R	S	S	S	S		S			I			R
EC05	A2	+	S	S	R			I		S		R	R	R	R	S	S	S	S	S		S			S			R
EC06		+	S	S	R					S		R	R	R	R	S	S	S	S	S		S			S			
EC07	B	-	S	R	R			R					R	R		S		R	S						R			R
EC08	I	-	S	R	R			S		R		R	R	R	R	S	S	S	S	S		S						S
EC09	C2	+	S	S	R			R		S		R	R	R	R	S	S	S	S	S		S			S			S
EC10	C1	+	S	R	R			R					R	R		R		R	R	I		I			R			R
EC12	A1	+	S	R	R			R					R	R		S		S	S	S		S			R			R
EC13	C1	+	S	R	R			R					R	R		R		R	R	I		I			R			R
EC14	F2	+	S	S	R			I		S		I	R	R	R	S	S	S	S	S		S			S			S
EC16	E	+	S	S	R			I		S		R	R	R	R	S	S	S	S	S		S			S			S
EC17	E	+	S	S	R			I		S		R	R	R	R	S	S	S	S	S		S			S			S
EC18	H	+	S	R	I				S			I				S	S		S	S	S	S	S	R	S	R	S	R
EC20		+	S	I	R			I		R			R	R		R		S	R	S		S			S			R
EC21	K	+	S	R	R			R		S			R	R		R	S	S	S	S		S			I			R
EC23	D	-	I			R		R	R			R				R	S		S	R	R	I	I	R	R	R	S	R
EC25	L	+	I	R	R			I		S		I	R	R	R	R	S	S	S	S		S			S			R
EC26	J	+	I	I	R			I		S			R	R		R		S	R	S		S			S			R
KP03	C	+	S	R	R			R					R	R		R		R	R	I		R			R			R
KP06	D	-	S	S	R									S					S									S
KP11	C	+	S	R	R			R					R	R		R	S	R	R	R		R			R			R
KP17	A	-	S		S			S	S			S				S	S		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
KP22	B	-	S	S	R			S		S		S	S	S	S	S	S	S	S	S		S			I			R
KP23	E	-	R	R	R			R		R		R	R	R	R	S	S	R	S	R		I			R			R
PA08	B		R		R			I	I			I				R	S		R	R	R	I	R	R		R	R	R
PA10	A		S		R	R		I	I			R				S	S		S	S	S	S	S	R		R	R	R
PA15	C		S	R				S	S			S				S	S		S	S	S	S	S	S	S	R	R	R
AB24			R	R				R				R				R	S		R	R	R	R	S	R	R	R	S	R
PM25			S			S		S	S			S				S	R		S	I	S	S	S	R	S	R	R	R
AX19			R	R			R	R			R	R	S			R			R	S		S			S			R

*EC=Escherichia coli; KP=Klebsiella pneumoniae; PA=Pseudomonas aeruginosa; AB=Acinetobacter baumannii; PM=Proteus mirabilis; AX= Achromobacter xylosoxidans.

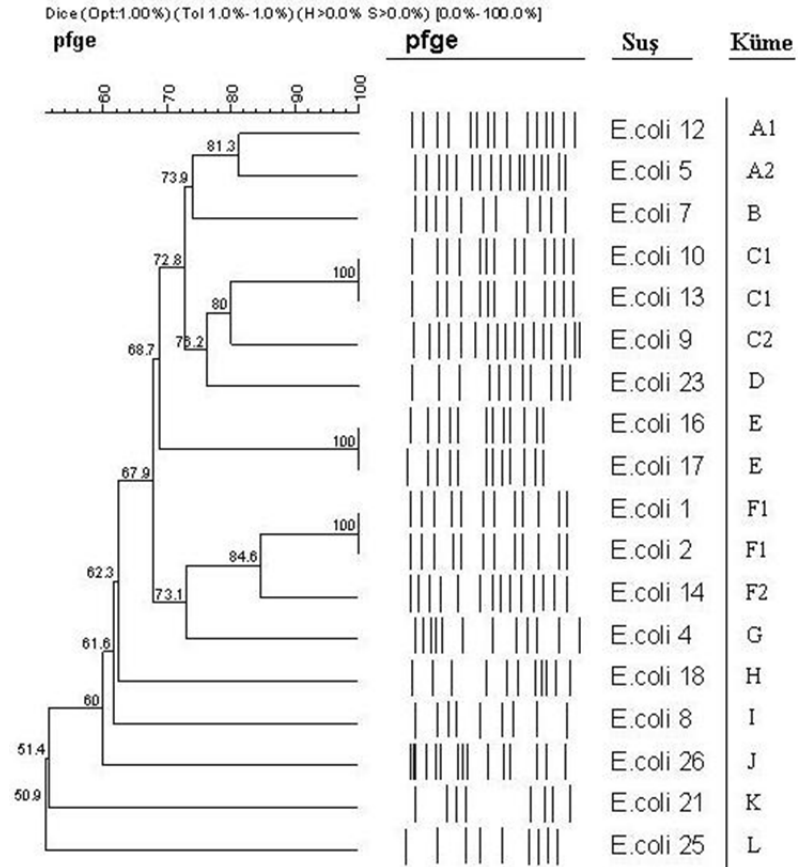
**PFGE tipleri E. coli, K.pneumoniae ve P.aeruginosa için ayrı-ayrı belirlenmiştir.

***R=Dirençli; I=Orta derecede duyarlı; S=Duyarlı.

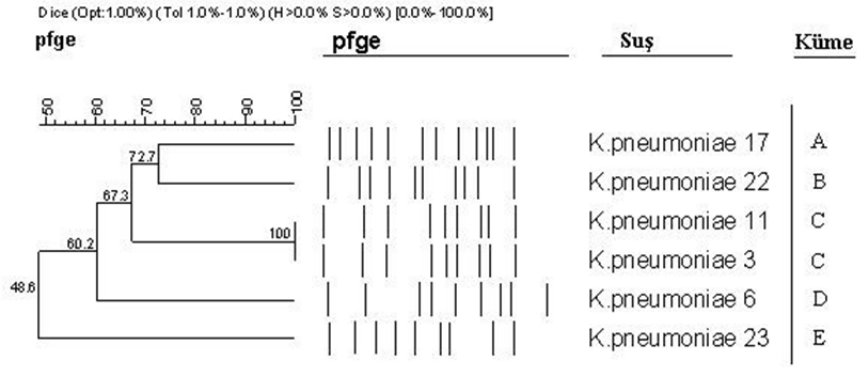
Değerlendirilmeyen sonuçların yeri tabloda boş bırakılmıştır.



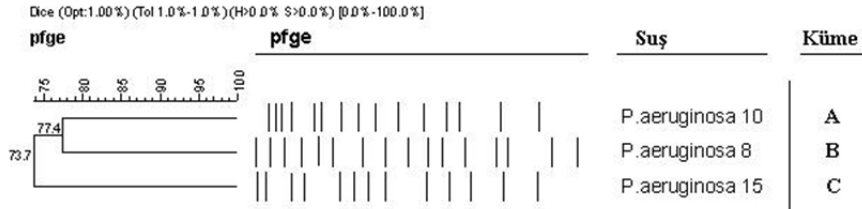
Şekil 4.1. Peritonit etkeni olan *E. coli* izolatlarının PFGE ile elde edilen jel görüntüsü. M harfi ile Lambda Ladder PFGE Marker (New England Biolabs, Ipswich, MA, ABD), rakamlar ile de izolat numaraları gösterilmiştir.



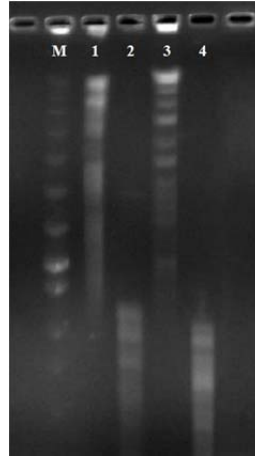
Şekil 4.2. Peritonit etkeni olan *E. coli* izolatlarının PFGE sonucunda elde edilen dendrogramı.



Şekil 4.3. Peritonit etkeni olan *K. pneumoniae* izolatlarının PFGE sonucunda elde edilen dendrogramı.



Şekil 4.4. Peritonit etkeni olan *P. aeruginosa* izolatlarının PFGE sonucunda elde edilen dendrogramı.



Şekil 4.5. Peritonit etkeni olan *A. xylosoxidans* izolatının PFGE ile elde edilen jel görüntüsü. M harfi ile Lambda Ladder PFGE Marker (New England Biolabs, Ipswich, MA, ABD), rakamlar ile de *A. xylosoxidans* izolatının DNA'sından dört farklı restriksiyon enzimi ile elde edilen bantlar gösterilmiştir: 1- XbaI, 2- ApaI, 3- SpeI, 4- SmaI.

5. TARTIŞMA

İntraabdominal enfeksiyonlar özellikle az gelişmiş ülkelerde genel olarak cerrahlar açısından tedavisi en zor enfeksiyonlardan biridir. Tanı için birçok yardımcı teknolojik tanı yöntemleri olmasına rağmen hala peritonitin tanısı klinik kriterlere bağlıdır. Ameliyat süreci laparotominin tekrar edilmesini gerektirebilir, deneyimli cerrahların yeteneklerini sınavabilir².

Cerrahi müdahaleyle beraber, kritik hastaların yoğun bakım desteğine multi-disipliner bir yaklaşım hastanın hayatta kalması için önemlidir³.

Komplike intraabdominal enfeksiyolarındaki mortalite oranı son yüzyılda % 90 idi. Fakat bu oran bugün agresif cerrahi yöntemler, yoğun bakım tedavileri ve çok çeşitli antibiyotiklerin bulunmasıyla % 25'in altına düşmüştür. Yine de komplike intraabdominal enfeksiyonlar mortalite ve morbidite oranlarıyla pnomoniden sonra ikinci sıradadır^{3,5,129-132}.

İntestinal flora, tamamı yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar için patojen olan; *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* gibi nonfermenter ve Enterobacteriaceae familyasının üyelerini içeren Gram negatif basillerin (GNB) majör rezervuarıdır. Bu GNB'lerin antibiyotiklere direnci gün geçtikçe artmaktadır. Özellikle de geniş spektrumlu sefalosporinlere direnç gelişmiştir. Bunun sebebi; genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üreten *Enterobacteriaceae* ve AmpC sefalosporinazları yüksek seviyede üreten *P. aeruginosa* ve *Enterobacteriaceae*' ların küresel olarak yaygınlaşmasıdır¹¹⁻¹³. Bu bakterilere karşı aktif beta laktam etkinliği devam eden tek antibiyotik karbapenemlerdir. Bu durum karbapenemleri sadece tanısı konulmuş enfeksiyonlar için değil; aynı zamanda hastane kaynaklı enfeksiyonları ampiri tedavisinde de kullanılmasına yol açmıştır¹³. Bu şekildeki kullanımda 1990'lardan sonra karbapem direncinin ortaya çıkmasına ve direncin artan bir şekilde devam etmesine sebep olmuştur. Karbapenem direnci bakterilerde dış membran permeabilitesinin selektif kaybıyla ya da karbapenemleri hidrolize eden enzimlerin varlığıyla gerçekleşir. Karbapeneme dirençli olan GNB'ler aminoglikozidler, florokinolonlar gibi diğer antibiyotik sınıflarına da dirençlidir. İmipenem dirençli GNB (IR-GNB)' den dolayı gelişen yoğun bakım ünitesinde edinilen enfeksiyonlarda morbidite ve mortalite oranı daha yüksektir. İntestinal flora dirençli GNB'lerin

epidemiolojisinde merkezi bir rol oynamaktadır; ve birçok yoğun bakım ünitesindeki hastaların enfeksiyonu intestinal yoldan orjin almaktadır¹⁴.

Çalışmamızda, peritonit etkeni olarak izole edilen 32 suşumuzun PFGE yöntemi ile incelenmesi sonucunda aralarında anlamlı sayılabilecek bir klonal ilişki tespit edilmedi. Ancak, peritonit tanısı ile üç hastadan farkı zamanlarda izole edilen *E. coli* suşları arasında ve bir hastadan farkı zamanlarda izole edilen *K. pneumoniae* suşları arasında % 100 benzerlik tespit edildi. Ayrıca, birinci grup hastaların hiçbirinde hastanemize yatışlarından sonra herhangi bir direnç gelişmediği gösterilmiştir.

Yeni standartlarda sınır değerler (breakpoint) aşağı çekilerek, 3. kuşak sefalosporin gibi antibiyotiklere direnç de tespit edilebildiğinden, rutin olarak GSBL saptanması önerilmemektedir. Bu durumda test sonuçları yorum yapma dan bildirilmelidir. Yani suş GSBL yapsa bile, duyarlı olduğu sefalosporin sonucunun dirençli olarak bildirilmemesi önerilmektedir. Önceki yıllarda GSBL saptandığında yorum yapılarak sefalosporinler, penisilinler ve aztreonam dirençli olarak veriliyordu. 2011 yılında yayınlanan CLSI uygulandığında GSBL tespit edise bile beta-laktam antibiyotikler klinik olarak kullanılabilecektir. Ayrıca CLSI’da rutin uygulamada GSBL belirlenmesine gerek olmadığı, GSBL’nin epidemiyolojik olarak incelenmek için ya da enfeksiyon kontrolü amacıyla tanımlanması önerilmiştir¹³⁰.

Sekonder peritonitlerin sebep olduğu intraabdominal enfeksiyonlar barsakların nekrozu, inflamasyonu, tıkanması yada travma sonucu meydana gelen perforasyonla ve bunun sonucunda intestinal floradaki mikroorganizmaların abdominal kaviteye geçmesi ile oluşur. İntestinal florada 400 den fazla tür ve alt tür bulunmaktadır. Mide, duodenum ve jejunum proksimalinde mikroorganizma sayısı 10^4 organizma/gr iken; distal ileumda bu sayı 10^8 organizma/gr’dır. Kolonda ise bu sayı 10^{11} ’ e ulaşır. Gastrointestinal florada distale doğru ilerledikçe mikroorganizmanın hem çeşitliliği hem de sayısı artar. Florayı bilmek sekonder peritonite sebep olabilecek mikroorganizmaya göre uygulanacak ampirik tedavi için önemlidir¹³¹.

Sekonder peritonit gram negatif basillerin baskın olduğu enterik flora kaynaklı polimikrobiyal özellik taşır. Bu etkenlerin direnç paternlerini yıllık olarak uluslararası sürveyans verileriyle değerlendiren bir çalışmada, 2004 yılı için 28 ulkedeki 81 merkezden 5731 hastada etken olan 6156 gram negatif basile ait antibiyotik duyarlılık sonuçları yayınlanmıştır. Bu çalışmadaki etkenlerin %86’sı gram negatif enterik

basillerden (*E. coli* %48,4, *Klebsiella* türleri %16, *Enterobacter* türleri %9) oluşmaktadır. ÇİD'li *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* gibi organizmaların görülme sıklığı değişmemekle birlikte, özellikle florokinolonlar ve β -laktam antibiyotiklere karşı uluslar arası ölçekte artan bir direnç olduğu dikkati çekmektedir¹³².

Yapılan bir çalışmada 115 hastadan alınan peritonal sıvıdan toplam 224 mikroorganizma izole edilmiştir. Bu da her hastadan yaklaşık 2 mikroorganizmanın izole edildiğini gösterir. İzole edilen 224 mikroorganizmanın 112 tanesi yani % 45,9'u aerob gram negatif bakteridir. Gram negatif bakterilerin de % 51'ini *E.coli*, %14' ünü *Enterobacter* türleri. %12'sini *Pseudomonas* türleri. % 6'sını *klebsiella* türleri, % 4 'ünü *Proteus* türleri ve geri kalanını diğer aerob gram negatif bakteriler oluşturur.¹³⁰ Bizim çalışmada ise 21 hastadan alınan peritonal sıvıdan toplam 32 Gram(-) bakteri izole edilmiştir ki, bunların 20 (% 62,5)'sini *E.coli*, 6 (% 18,8)'sını *K. pneumoniae*, 3 (% 9,4)'ünü *P. aeruginosa*, birer tanesini (% 3,1) de *Proteus mirabilis*, *A. baumanii* ve *Achromobacter xylosoxidans* oluşturmuştur. PFGE sonucunda suşlar arasında klonal ilişki görülmemesi enfeksiyonların endojen kaynaklı olduğunu düşündürmektedir.

Ayrıca, Stiefel ve arkadaşları, yaptıkları ilginç çalışmalar sonucunda direnç geliştirmiş *E. coli* ve *B. fragilis* gibi normal barsak flora üyesi olan Gram(-) bakterilerin normal barsak flora üyesi olan diğer bakterileri bile antibiyotiklere karşı koruyabileceğini, ancak bu sayede patojen bakterilerin ve *Candida albicans*'ın barsaklara kolonize olmasını önleyebileceklerini iddia etmişlerdir¹³³⁻¹³⁵.

Bütün bunların ışığında, izolatlarımız arasında klonal ilişki görülmemesi, bunun da enfeksiyonların endojen kaynaklı olduğunu düşündürmesi, dışarıdan gelen birinci grup hastalarda direnç geliştiğinin görülmemesi sebepleriyle, bu iki buçuk aylık kısa süreli çalışmamız sonucunda hastalar arasında bir yayılım söz konusu olamamıştır. Bu da ilgili servisteki ve ameliyathanedeki hijyen şartlarının ve ameliyat tekniklerinin iyileştirilmesi ile ilişkilendirilebilir. Bu da mevcut durumun uzun dönem moleküler süzveyans çalışmaları ile desteklenmesinin ne kadar önemli olacağını göstermektedir.

Bildiğimiz kadarıyla, çalışmamız Ülkemizde peritonit etkeni Gram(-) bakterilerin klonal ilişkisinin PFGE yöntemi ile araştırıldığı ilk çalışmadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ç. Ü. Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarına Ekim – Aralık 2014 tarihleri arasında kalan iki buçuk aylık süre içerisinde, Genel Cerrahi Servisleri ve Genel Cerrahi Yoğun Bakım Ünite'sinden peritonit tanısı ile gönderilen 21 hastaya ait örneklerin incelendiği çalışmamız sonucunda;

1. VITEK 2 otomatize cihazı ile toplam 32 Gram(-) bakteri izole edildiği,
2. İzole edilen bakterilerin 20 (% 62,5)'sinin *E.coli*, 6 (% 18,8)'sının *K. pneumoniae*, 3 (% 9,4)'ünün *P. aeruginosa*, birer tanesinin (% 3,1) de *Proteus mirabilis*, *A. baumannii* ve *Achromobacter xylosoxidans* olduğu,
3. VITEK 2 otomatize cihazı ile ayrıca antibiyotik duyarlılık sonuçlarına bakılarak 20 *E. coli* izolatından 15'inin GSBL pozitif, 6 *K. pneumoniae* izolatından ise 2'sinin GSBL pozitif olduğu,
4. Bu 32 suş arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesi amacıyla uyguladığımız PFGE sonuçlarına göre anlamlı bir klonal ilişki bulunamadığı, ancak üç hastadan peritonit tanısı ile farklı zamanlarda izole edilen *E. coli* suşları ile bir hastadan farklı zamanlarda izole edilen *K. pneumoniae* suşları arasında % 100 benzerlik olduğu tespit edilmiştir.

Bu PFGE sonuçlarına bakılarak hastane kaynaklı bir salgın olmadığı, enfeksiyonların endojen kaynaklı olduğu, yani hastaların kendi florası ile enfekte olabileceğine kanaat getirilmiştir. Ayrıca bu hastalarda GSBL pozitifliğinin yüksek olması toplumda GSBL taşıyıcılığı ve yaygınlığının yüksek olduğunu göstermiştir. GSBL taşıyıcılığını belirlemek amacıyla hastalardan ve sağlıklı gönüllülerden gaita örneği alınarak bir profil çıkarılması önerilebilir. Çalışmamız Ülkemizde peritonit etkeni Gram(-) bakterilerin klonal ilişkisinin PFGE yöntemi ile araştırıldığı ilk çalışma olması da, Gram(-) bakterilerle ilgili uzun süreli moleküler surveys çalışmalarının sağlık hizmeti ile ilişkili hastalıkların kontrolü için ne kadar önemli olduğunu gösterdiği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. **Herzog T, Chromik A.M, Uhl W.** Treatment of complicated intra-abdominal infections in the era of multi-drug resistant bacteria. *Eur J Med Res* **2010**; 15:525-532.
2. **Schein M.** Surgical management of intra-abdominal infection: is there any evidence. *Langenbeck Archives of Surgery* **2002**; 387(1):1-7.
3. **Marshall JC.** Intra-abdominal infections. *Microbes & Infection* **2004**; 6(11):1015-25.
4. **Sartelli M.** A focus on intra-abdominal infections. *Sartelli World Journal of Emergency Surgery* **2010**; 5:9.
5. **Mazuski J E, Solomkin J S.** Intra-Abdominal Infections. *Surg Clin N Am* **2009**; 421–437.
6. **Pieracci FM, Barie PS.** Intra-abdominal enfections. *Curr Opin Cri Care* **2007**; 13:440-9.
7. **Dupont H.** The empiric treatment of nosocomial intra-abdominal infections. *Int J Infect Dis* **2007**; 11:S1 - S6.
8. **Mulier S, Penninckx F, VerwaestC, et al.** Factors affecting mortality in generalized postoperative peritonitis:multivariate analysis in 96 patients.*WorldJSurg* **2003**; 27:379–84.
9. **Ordoñez C.A and Puyana J. C.** Management of Peritonitis in the Critically Ill Patient. *Surg Clin North Am* **2012**.
10. **Rosengart M, Nathens A.** Tertiary peritonitis. *Current treatment options in infectious disease* **2002**; 4:403–09.
11. **Bogaerts P, Rodriguez-Villalobos H, Laurent C, Deplano A, Struelens MJ, Glupczynski Y.** Emergence of extended-spectrum-AmpCexpressing *Escherichia coli* isolates in Belgian hospitals. *J. Antimicrob.Chemother* **2009**; 63:1073–1075.
12. **Pitout JD, Laupland KB.** Extended-spectrum beta-lactamaseproducing *Enterobacteriaceae* an emerging public-health concern. *Lancet Infect. Dis.* **2008**; 8:159 –166.
13. **Meyer E, Schwab F, Schroeren-Boersch B, Gastmeier P.** Dramatic increase of third-generation cephalosporin-resistant *E. coli* in German intensive care units: secular trends in antibiotic drug use and bacterial resistance, 2001 to 2008. *Crit. Care* **2010**; 14:R113.
14. **Armand-Lefèvre L et all.** Emergence of imipenem-resistant gram-negative bacilli in intestinal flora of intensive care patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2014**; 1488–1495.
15. **Gaynes R, Edwards J.R.** Overview of Nosocomial Infections Caused by Gram-Negative Bacilli. *Clinical Infectious Diseases* **2005**; 41:848–54.
16. **Peleg A.Y, Hooper D.C.** Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria. *N Engl J Med* **2010**; 362:1804-13.
17. **Akçimen B, Nağıyev T, Turaç Biçer A, Yula E, Yaman A, Köksal F.** Adana Çukurova Üniversitesi Hastanesinde Hastane İnfeksiyonuna Yol Açan Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* Suşlarının Pulsed Field Jel Elektroforezi Yöntemi İle Genotiplendirilmesi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* **2010**; 30(5):1581-1586.
18. **Ordoñez C.A, Puyana J.** Management of Peritonitis in the Critically Ill Patient. *Surg Clin North Am.* **2006**; 86(6):1323–1349.

19. **Dere F**, *Anatomi atlası ve ders kitabı*. 5.Baskı, Adana: Nobel Tıp Kitapevi. **1999**.
20. **Cima R R**, **Peritonitis**. Talley N J, Sunanda V, Wallace M B, *Practical Gastroenterology and Hepatology: Small and Large Intestine and Pancreas*. USA: A John Walley & Sons, Ltd. Publication, **2010**: 493-498.
21. **Sancak B, Cumhur M, Tuncel M, Sargon M F, Çelik H, Sürücü S**. *Fonksiyonel Anatomi. Baş-boyun ve İç Organlar*. 7.Baskı, Ankara: ODTÜ Yayıncılık, **2013**.
22. **Schein M**. Surgical management of intra-abdominal infection: is there any evidence? *Langenbecks Archives of Surgery*, **2002**; 387(1):1-7.
23. **Malangoni MA, Inui T**. Peritonitis - the Western experience. *World J Emerg Surg* **2006**; 1:25.
24. **Wong CL, Holroyd-Leduc J, Thorpe KE, et al**. Does this patient have bacterial peritonitis or portal hyper tension. How do I perform a paracentesis and analyze the results. *JAMA* **2008**; 299:1166-78.
25. **Koulaouzidis A, Bhat S, Karagiannidis A, et all**. Spontaneous bacterial peritonitis. *Postgrad Med* **2007**; 83:379-83
26. **Mulier S, Penninckx f, Verwaest C, Filez L, Aerts R, Fieuws S, Lauwers P**. Factors affecting mortality in generalized postoperative peritonitis: multivariate analysis in 96 patients. *World J Surg* **2003**; 27:379-384.
27. **Pieracci FM, Barie PS**. Intra-abdominal enfections. *Curr Opin Cri Care* **2007**; 13:440-9.
28. **Sagraves SG, Tosclg AE, Rotondo MF**. Damage contol surgery: the intensivit's role. *J Intensive Care Med* **2006**; 21:5-16.
29. **Dupont H**. The empiric treatment of nosocomial intra-abdominal infections. *Int J Infect Dis* **2007**; 11:S1 - S6.
30. **Mazuski JE, Sawyer RG, Nathens AB, et all**. The surgical infection society guidelines on antimicrobial therapy for intra-abdominal infections: an executive summary. *Surg Infect* **2002**; 3:161-73.
31. **Krobot K, Yin D, Zhang Q, et all**. Effect of inappropriate initial empiric antibiotic therapy on outcome of patients with community-acquired intra-abdominal infections requiring surgery. *Eur J Clin Microbial Infect Dis* **2004**; 23:682-7.
32. **Mulier S, Penninckx f, Verwaest C, Filez L, Aerts R, Fieuws S, Lauwers P**. Factors affecting mortality in generalized postoperative peritonitis: multivariate analysis in 96 patients. *World J Surg* **2003**; 27:379-384.
33. **Reemst PT, Van Goor H, Goris RJ, et al**. SIRS, MODS, and tertiary peritonitis. *Eur J Surg Suppl*.**1996**; (576):47-8.
34. **Schein M, Marshall J**. *LIRS, SIRS, Sepsis, MODS and tertiary peritonitis*. In: Schein, M. Rogers, P. editors. Schein's common sense emergency abdominal surgery. 2nd. New York:Springer; **2005**; 415-23.
35. **Malangoni MA**. Evaluation and management of tertiary peritonitis. *Am Surg*. **2000**; 66(2):157-61.
36. **Rosengart M, Nathens A**. Tertiary peritonitis. *Current treatment options in infectious diseases*.**2002**; 4:403-09.

37. **Pieracci FM, Barie PS.** Management of severe sepsis of abdominal origin. *Scand J Surg* **2007**; 96(3):184-196.
38. **Mulari K, Leppäniemi A.** Severe secondary peritonitis following gastrointestinal tract perforation. *Scand J Surg* **2004**; 93(3):204-208.
39. **Montravers P, Gauzit R, Muller C, Marmuse JP, Fichelle A, Desmonts JM.** Emergence of antibiotic-resistant bacteria in cases of peritonitis after intra-abdominal surgery affects the efficacy of empirical antimicrobial therapy. *Clin Infect Dis* **1996**; 23:486-494.
40. **Mason RJ.** Surgery for appendicitis: is it necessary. *Surg Infect (Larchmt)* **2008**; 9(4):481-488.
41. **Sartelli M.** A focus on intra-abdominal infections. *World Journal of Emergency Surgery* **2010**; 5:9.
42. **Malangoni MA, Inui T.** Peritonitis—the Western experience. *World Journal of Emergency Surgery* **2006**; 1:25.
43. **Liu S, Siewert B, Raptopoulos V.** Factors associated with conversion to laparotomy in patients undergoing laparoscopic appendectomy. *J Am Coll Surg* **2002**; 194:298-305.10.
44. **Brook I.** Microbiology of polymicrobial abscesses and implications for therapy. *J Antimicrob Chemother* **2002**; 50:805–10.
45. **Goldstein EJC, Snyderman DR.** Intra-abdominal infections: review of the bacteriology, antimicrobial susceptibility and the role of ertapenem in their therapy. *J Antimicrob Chemother* **2004**; 53:ii29–36.
46. **Roehrborn A, Thomas L, Potreck O, et al.** The microbiology of postoperative peritonitis. *Clin Infect Dis* **2003**; 33:1513–9.
47. **Sitges-Serra A, Lopez MJ, Girvent M, et al.** Postoperative enterococcal infection after treatment of complicated intra-abdominal sepsis. *Br J Surg* **2002**; 89:361–7.
48. **Sandven P, Giercksky KE.** Colonization in surgical patients with intra-abdominal perforations. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2001**; 20:475–81.
49. **Gupta S, Kaushik R.** Peritonitis-the Eastern experience. *World J Emerg Surg* **2006**; 1:13.
50. **Malangoni M, Inui T.** Peritonitis-the Western experience. *World Journal of Emergency Surgery* **2006**; 1(1):25.
51. **Thompson AE, Marshall JC, Opal SM.** Intraabdominal infections in infants and children: descriptions and definitions. *Pediatric Critical Care Medicine* **2005**; 6(3):S30-5.
52. **Podnos YD, Jimenez JC, Wilson SE.** Intra-abdominal Sepsis in Elderly Persons. *Clinical Infectious Diseases* **2002**; 35(1):62-8.
53. **Malangoni MA.** Contributions to the management of intraabdominal infections. *American Journal of Surgery* **2005**; 190(2):255-259.
54. **Riquelme A, Calvo M, Salech F, Valderrama S, Pattillo A, Arellano M et al.** Value of adenosine deaminase (ADA) in ascitic fluid for the diagnosis of tuberculous peritonitis: a meta-analysis. *Journal of Clinical Gastroenterology* **2006**;40(8):705-10.
55. **Murray P R, Rosenthal K S, Pfaller M A.** *Tıbbi Mikrobiyoloji. Başustaoglu A C, Yıldırım Ş T, Tanyüksel M, Yapar M, Tıbbi mikrobiyoloji.* 6.Baskı, Ankara: Atlas Kitabevi, **2010**.

56. **Burwen DR, Banerjee SN, Gaynes RP.** Ceftazidime resistance among selected nosocomial Gram-negative bacilli in the United States. *J Infect Dis* **1994**; 170:1622-5.
57. **Quinn JP, Dudek EJ, Di Vincenzo CA, DiVincenzo CA, Lucks DA, Lerner SA.** Emergence of resistance to imipenem during therapy for *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Infect Dis* **1986**; 154:289-294.
58. **Giamarellou H, Poulakou G.** Multidrug-resistant Gram-negative infections: What are the treatment options. *Drugs* **2009**; 69(14):1879-1901.
59. **Lin WJ, Lo WT, Chu CC, Chu ML, Wang CC.** Bacteriology and antibiotic susceptibility of community-acquired intra-abdominal infection in children. *J Microbiol Immunol Infect* **2006**; 39:249-254.
60. **Solomkin JS, Mazuski JE et al.** Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children. guidelines by the Surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* **2010**; 50(2):133-64.
61. **Cai Y, Chai D, Wang R, Beibei Liang B, Bai N.** Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **2012**; 10093.
62. **Urban C, Segal-Maurer S, Rahal JJ.** Considerations in control and treatment of nosocomial infections due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis* **2003**; 36(10):1268-1274.
63. **Wisplinghoff H, Edmond MB, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP, Seifert H.** Nosocomial bloodstream infections caused by *Acinetobacter* species in United States hospitals: Clinical features, molecular epidemiology, and antimicrobial susceptibility. *Clin Infect Dis* **2000**; 31(3):690-697.
64. **Landman D, Quale JM, Mayorga D, Adedeji A, Vangala K, Ravishankar J, Flores C, Brooks S.** Citywide clonal outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in Brooklyn. *Arch Intern Med* **2002**; 162(13):1515-1520.
65. **Cisneros JM, Reyes MJ, Pachon J, Becerril B, Caballero FJ, García-Garmendía JL, Ortiz C, Cobacho AR.** Bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, clinical findings, and prognostic features. *Clin Infect Dis* **1996**; 22:1026-1032.
66. **Humphreys H, Towner KJ.** Impact of *Acinetobacter* spp. in intensive care units in Great Britain and Ireland. *J Hosp Infect* **1997**; 37:281-286.
67. **Falagas ME, Kasiakou SK.** Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Crit Care* **2006**; 10:R27.
68. **Li J, Rayner CR, Nation RL et al.** Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* **2006**; 50:2946-50.
69. **Herrera ME, Mobilia LN, Posse GR.** Comparative evaluation of the sensitivity of *Acinetobacter* to colistin, using the prediffusion and minimum inhibitory concentration methods: detection of heteroresistant isolates. *Rev Argent Microbiol* **2011**; 43:115-9.
70. **Rodriguez CH, De Ambrosio A, Bajuk M et al.** In vitro antimicrobials activity against endemic *Acinetobacter baumannii* multiresistant clones. *J Infect Dev Ctries* **2010**; 4:164-7.
71. **Rodriguez CH, Bombicino K, Granados G et al.** Selection of colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in postneurosurgical meningitis in an intensive care unit with high presence of heteroresistance to colistin. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2009**; 65:188-91.

72. **Yau W, Owen RJ, Poudyal A et al.** Colistin hetero-resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from the Western Pacific region in the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J Infect* **2009**; 58:138–44.
73. **Li J, Rayner CR, Nation RL et al.** Pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and colistin in a critically ill patient receiving continuous venovenous hemodiafiltration. *Antimicrob Agents Chemother* **2005**; 49:4814–5.
74. **Hawley JS, Murray CK, Jorgensen JH.** Colistin heteroresistance in *Acinetobacter* and its association with previous colistin therapy. *Antimicrob Agents Chemother* **2008**; 52:351–2.
75. **Rolain JM, Roch A, Castanier M et al.** *Acinetobacter baumannii* Resistant to colistin with impaired virulence: a case report from France. *J Infect Dis* **2011**; 204:1146–7.
76. **Lopez-Rojas R, Jimenez-Mejias ME, Lepe JA et al.** *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin alters its antibiotic resistance profile: a case report from Spain. *J Infect Dis* **2011**; 204:1147–8.
77. **Arroyo LA, Mateos I, Gonzalez V et al.** In vitro activities of tigecycline, minocycline, and colistin-tigecycline combination against multi- and pandrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* group. *Antimicrob Agents Chemother* **2009**; 53:1295–6.
78. **Al-Sweih NA, Al-Hubail MA, Rotimi VO.** Emergence of tigecycline and colistin resistance in *Acinetobacter* species isolated from patients in Kuwait hospitals. *J Chemother* **2011**; 23:13–6.
79. **Eser OK, Ergin A, Hascelik G.** Antimicrobial resistance and existence of metallo- β -lactamase in *Acinetobacter* species isolated from adult patients. *Mikrobiyol Bul* **2009**; 43:383–90.
80. **Lee YT, Huang LY, Chiang DH et al.** Differences in phenotypic and genotypic characteristics among imipenem-non-susceptible *Acinetobacter* isolates belonging to different genomic species in Taiwan. *Int J Antimicrob Agents* **2009**; 34:580–4.
81. **Sung H, Choi SJ, Yoo S et al.** In vitro antimicrobial synergy against imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Korean J Lab Med* **2007**; 27:111–7.
82. **Chang KC, Lin MF, Lin NT et al.** Clonal spread of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in eastern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* **2012**; 45:37–42.
83. **Lee SC, Huang SS, See LC et al.** In vitro activities of nine current antibiotics against culprit bacteria in nosocomial infections in an institution in northern Taiwan. *Chang Gung Med J* **2011**; 34:580.
84. **Doi Y, Husain S, Potoski BA et al.** Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis* **2009**; 15:980–2.
85. **Harvay R A, Champe P A.** *Lippicott Illustrated Reviews*. Anđ Ö, Mikrobiyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2006**: 189.
86. **Harvay R A, Champe P A.** *Lippicott Illustrated Reviews*. Anđ Ö, Mikrobiyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2006**.
87. **Ustaçelebi Ş,** *Temel ve Klinik mikrobiyoloji*, Ankara:Öncü Basımevi, **1999**.
88. **Emmi V, Sganga G.** Diagnosis of intra-abdominal infections: Clinical findings and imaging. *Infez Med* **2008**; 16(Suppl 1):19-30.
89. **Puylaert JB, Zant van der FM, Rijke AM.** Sonography and the acute abdomen: practical considerations. *Am J Roentgenol* **1997**; 168(1):179-86.

90. **Foinant M, Lipiecka E, Buc E, Boire JY, Schmidt J, Garcier JM, Pezet D, Boyer L.** Impact of computed tomography on patient's care in nontraumatic acute abdomen: 90 patients. *J Radiol* **2007**; 88(4):559-566.
91. **Harvey R.A, Champe P.A.** *Lippincott illustrated reviews.* Anđ Ö. Mikrobiyoloji. 2.Baskı, İstanbul: Nobel Tıp kitapçevleri, **2006**: 22-25.
92. **Otta S, Swain B, Panigrahy R, Panda K, Debata NK.** Achromobacter xylosoxidans: a rare pathogen for community-acquired acute pancreatitis. *JMM Case Reports* **2014**.
93. **Altındış M.** *Tıbbi Mikrobiyoloji Labaratuvar Kitabı.*İstanbul: Tıp Kitapevleri, **2013**: 137-138.
94. **Ordoñez CA, Puyana JC.** Management of Peritonitis in the Critically Ill Patient. *Surg Clin North Am.* **2006**; 86(6):1323–1349.
95. **Lopez N, Kobayashi L, Coimbra R.** A Comprehensive review of abdominal infections. *World Journal of Emergency Surgery* **2011**; 6:7.
96. **Wittmann DH, Walker AP, Condon RE.** *Peritonitis, intra-abdominal infection, and intraabdominal abscess.* In: Schwartz, SI.; Shires, GT.; Spencer, FC., editors. Principles of surgery. 6th.New York: McGraw-Hill; **1994**: 1449-84.
97. **Wittmann DH, Shein M, Condon RE, et al.** Management of secondary peritonitis. *Ann Surg.* **1996**; 224(1):10–8.
98. **Schein M. Saadia R.** *Peritonitis: contamination and infection, principles of treatment.* In: Schein, M.; Rogers, P., editors. Schein's common sense emergency abdominal surgery. 2nd. New York: Springer; **2005**: 95-101.
99. **Wittmann, DH.** *Intra abdominal infections: pathophysiology and treatment.* New York: Marcel Dekker Publisher; **1991**: 8-75.
100. **Wacha H, Hau T, Dittmer R, et al.** Risk factors associated with intra-abdominal infections: a prospective multicenter study. *Langenbecks Arch Surg* **1999**; 384:24–32.
101. **Mulier S, Penninckx F, VerwaestC, et al.** Factors affectingmortality in generalized postoperative peritonitis:multivariate analysis in 96patients.*WorldJSurg* **2003**; 27:379–84.
102. **Schoeffel U, Jacobs E, Ruf G, Mierswa F, von Specht BU, Farthmann EH.** Intraperitoneal micro-organisms and the severity of peritonitis. *Eur J Surg* **1995**; 161:501-508.
103. **Azzarello G, Lanteri R, Rapisarda C, Santangelo M, Racalbuto A, Minutolo V, Di Cataldo A, Licata A.** Ultrasound-guided percutaneous treatment of abdominal collections. *Chir Ital* **2009**; 61(3):337-340.
104. **Jaffe TA, Nelson RC, DeLong D, Paulson EK.** Practice Patterns in Percutaneous Image-guided Intra-abdominal Abscess Drainage: *Survey of Academic and Private Practice Centres.* *Radiology* **2004**; 233(3):750-6.
105. **Linden PK, Moellering RC, Wood CJ, et al.** Treatment of vancomycin-resistant Enterococcus faecium infections with quinupristin/dalfopristin. *Clin Infect dis* **2001**; 33(11):1816-23.
106. **Ziglam H.** Daptomycin and tigecycline: a review of clinical efficacy in the antimicrobial era. *Expert opin Pharmacother* **2007**; 8(14):2279-92.
107. **Van Laethem Y, Sternon J.** Linezolid (Zyvoxid)]. *Rev Med brux* **2004**; 25(1):47-50.

108. **Sader HS, Jones RN, Dowzicky MJ, Fritsche TR.** Antimicrobial activity of tigecycline tested against nosocomial bacterial pathogens from patients hospitalized in the intensive care unit. *Diagn Microbiol Infect dis* **2005**; 52(3):203-8.
109. **Biedenbach DJ, beach MI, Jones RN.** In vitro antimicrobial activity of gaR-936 tested against antibiotic-resistant gram-positive blood stream infection isolates and strains producing extended-spectrum beta-lactamases. *Diagn Microbiol Infect dis* **2001**; 40(4):173-7.
110. **Lee C.** Therapeutic challenges in the era of antibiotic resistance. *Int J antimicrob agents* **2008**; 32(4):197-9.
111. **French GL.** What's new and not so new on the antimicrobial horizon? *Clin Microbiol Infect* **2008**; 14 suppl 6:19-29.
112. **Erişim:** (<http://www.dicle.edu.tr/Contents/d114e2c9-7c14-4e01-a410-2dda77d449cd.pdf>)
113. **Fridkin SK, Gaynes RP.** Antimicrobial resistance in intensive care units. *Clin Chest Med* **1999**; 20:303-316.
114. **Paterson DL, Rossi F, Baquero F, Hsueh PR, Woods JL, Satishchandran V, Snyder TA, Harvey CM, Tepler H, Dinubile MJ, Chow JW.** In vitro susceptibilities of aerobic and facultative Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide: *J Antimicrob Chemother* **2005**; 55:965-973.
115. **Gülay Z. Köksal İ.** *ESBL'lerin tanı yöntemleri, Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen Enfeksiyonlar. Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamazlar*, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara: **2004**; 13-26.
116. **Pfaller MA, Segreti J.** Overview of the epidemiological profile and laboratory detection of extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Infect Dis* **2006**; 42 (4):S153-63.
117. **Tenover FC:** Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Med* **2006**; 119:S3-10.
118. **Deshpande LM, Rhomberg PR, Sader HS, Jones RN.** Emergence of serine carbapenemases (KPC and SME) among clinical strains of Enterobacteriaceae isolated in the United States Medical Centers. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2006**; 56:367-72.
119. **Hawser SP, Bouchillon SK, Hoban DJ, Badal RE.** In vitro susceptibilities of aerobic and facultative anaerobic Gram-negative bacilli from patients with intra-abdominal infections worldwide from 2005-2007. *Int J Antimicrob Agents* **2009**; 34(6):585-588.
120. **Paterson DL, Bonomo RA.** Extended-Spectrum b-Lactamases: A Clinical Update. *Clin Microbiol Rev* **2005**; 18(4):657-686.
121. **Raetz CR, Whitfield C.** Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu Rev Biochem* **2002**; 71: 635–700.
122. **Adams MD, Nickel GC, Bajaksouzian S et al.** Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the PmrAB twocomponentsystem. *Antimicrob Agents Chemother* **2009**; 53: 3628–34.
123. **Moffatt JH, Harper M, Harrison P et al.** Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother* **2010**; 54:4971–7.
124. **Moffatt JH, Harper M, Adler B et al.** Insertion sequence ISAbal1 is involved in colistin resistance and loss of lipopolysaccharide in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* **2011**; 55:3022–4.

125. **Moskowitz SM; Garber E, Chen Y., Clock SA, Tabibi S, Miller AK, Doctor M, Saiman L.** Colistin susceptibility testing: evaluation of reliability for cystic fibrosis isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother* **2010**; 65:1416–1423.
126. **Mulvey MR, Chui L, Ismail J, Louie L, Murphy C, Chang N, et al.** Development of a Canadian standardized protocol for subtyping methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol* **2001**; 39(10):3481-85.
127. **Seifert H, Dolzani L, Bressan R, van der Reijden T, van Strijen B, Stefanik D, et al.** Standardization and interlaboratory reproducibility assessment of pulsed-field gel electrophoresis-generated fingerprints of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol* **2005**; 43(9):4328-35.
128. **Struelens MJ, Deplano A, Godard C, Maes N, Serruys E.** Epidemiologic typing and delineation of genetic relatedness of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by macrorestriction analysis of genomic DNA by using pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol* **1992**; 30(10):2599-605.
129. **Sartelli et al.** Complicated intra-abdominal infections in Europe preliminary data from the first three months of the CIAO Study. *World Journal of Emergency Surgery* **2012**; 7:15.
130. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Twenty-first Informational Supplement, CLSI Document M100-S20, CLSI, Wayne PA **2011**.
131. **Seguin P, Yannick Fe'dun, Bruno Laviolle, Nicolas Nesseler, Pierre-Yves Donnio and Yannick alle'dant.** Risk factors for multidrug-resistant bacteria in patients with post-operative peritonitis requiring intensive care. *J Antimicrob Chemother* **2010**; 65: 342–346.
132. **İnal AS.** Sekonder ve Tersiyer Peritonitler. *Turkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics* **2014**; 7(1):6-18.
133. **Stiefel U, Nerandzic MM, Pultz MJ, Donskey CJ.** Gastrointestinal colonization with a cephalosporinase-producing bacteroides species preserves colonization resistance against vancomycin-resistant enterococcus and *Clostridium difficile* in cephalosporin-treated mice. *Antimicrob Agents Chemother* **2014**; 58(8):4535-42.
134. **Stiefel U, Harmoinen J, Koski P, Kääriäinen S, Wickstrand N, Lindevall K, et al.** Orally Administered Recombinant Metallo- β -Lactamase Preserves Colonization Resistance of Piperacillin-Tazobactam-Treated Mice. *Antimicrob Agents Chemother* **2005**; 49(12):5190-1.
135. **Stiefel U, Pultz NJ, Harmoinen J, Koski P, Lindevall K, Helfand MS, and Donskey CJ.** Oral Administration of β -Lactamase Preserves Colonization Resistance of Piperacillin-Treated Mice. *J Infect Dis* **2003**; 188(10):1605-9.)

ÖZGEÇMİŞ

Malatya'nın Darende ilçesinde 10.01.1975 tarihinde doğdu. İlköğrenimini Emine Sapmaz İlkokulunda, orta ve lise öğrenimini Adana Kız Lisesi'nde tamamladı. Lisans eğitimine Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde başlayıp, 1998 yılında mezun oldu. 2012–2013 Eğitim Öğretim yılı Bahar döneminde Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.

Evli ve üç çocuk annesidir.