



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
UFUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ÇOKLU ANTİBİYOTİK DİRENÇLİ ASİNETOBAKTER
İZOLATLARINDA KOLİSTİN İLE TİGESİKLİN
KOMBİNASYONUNDA SİNERJİ VARLIĞI

Dr. İlkem ACAR KAYA

ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Semra TUNÇBİLEK

ANKARA

2014

Çalışmamıza Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından 02.05.2012 tarihinde 020520128 sayılı Etik Kurul onayı verilmiştir.

ÖNSÖZ

Asistanı olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum, hoşgörüsünü her zaman hissettiren anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. M. Emin Tekeli'ye;

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimin çalışma aşamasında bilgi, deneyim, destek ve yakınlığını esirgemeyen, mesleki başarılarını ve güçlü duruşunu her zaman örnek aldığım tez hocam sayın Prof. Dr. Semra Tunçbilek'e;

Tez çalışmam sırasında vermiş olduğu destek için sayın Prof. Dr. Ziya Cibali Açıköz'e;

Tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen sayın Yrd. Doç. Dr. Gülçin Akça'ya ve tezimin istatistiksel analizindeki yardımları için Aslıhan Alhan'a;

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım, bana her zaman destek ve dost olan Banu Yalçın'a, yardımlarını eksik etmeyen laboratuvar teknisyenimiz Özge Kaya'ya;

Yetişmemde büyük emekleri olan, sonsuz desteklerini, sabırlarını ve sevgilerini her zaman hissettirdiğim annem ve babama;

Canım kardeşime ve halama;

Sevgili eşim Murat Kaya'ya ve hayatımızın biricik neşesi oğlum Ömer Deniz Kaya'ya;

Teşekkürlerimi, saygılarımı ve şükranlarımı sunarım.

Dr. İlkem Acar Kaya

Ankara, 2014

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Asinetobakter Türleri	3
2.1.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> 'nin Tarihçesi ve Sınıflandırmadaki Yeri	3
2.1.2. Mikrobiyolojik ve Morfolojik Özellikler	4
2.1.3. <i>A.baumannii</i> 'de Hücre Duvarı	5
2.1.4. Virulans Faktörleri	6
2.1.5. Epidemiyoloji.....	7
2.2. Asinetobakter Enfeksiyonları.....	9
2.2.1. Solunum Sistemi Enfeksiyonları.....	10
2.2.2. Bakteriyemi	11
2.2.3. İntrakraniyal Enfeksiyonlar.....	11
2.2.4. Yumuşak Doku Enfeksiyonları.....	12
2.2.5. Üriner Enfeksiyonlar.....	12
2.2.6. Diğer Enfeksiyonlar	12
2.3. Morbidite ve Mortalite Üzerine Etkisi	13
2.4. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları	13
2.4.1. <i>A.baumannii</i> 'nin Çoklu İlaç Direnç Mekanizmaları	16
2.5. Asinetobakter Enfeksiyonlarında Tedavi.....	16
2.5.1. Tigesiklin	17
2.5.1.1. Yapısal ve Kimyasal Özellikler	18
2.5.1.2. Etki Mekanizması ve Direnç Gelişimi	18

2.5.1.3. Antibakteriyel Aktivite	19
2.5.1.4. Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikler	19
2.5.1.5. Dozaj ve Uygulama.....	20
2.5.1.6. Yan Etkiler	20
2.5.2. Kolistin.....	20
2.5.2.1. Etki Mekanizması	21
2.5.2.2. Farmakokinetik Özellikler	21
2.5.2.3. Etki Spektrumu	22
2.5.2.4. Direnç.....	22
2.5.2.5. Doz ve Uygulama	23
2.5.2.6. Yan Etkiler	24
2.5.3. Kombinasyon Tedavisi	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	27
3.1. Bakterilerin İzolasyon ve İdentifikasyonu	27
3.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	27
3.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi	27
3.2.2. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi (Broth Mikrodilüsyon Yöntemi, BMD).....	28
3.2.3. E Test Yöntemi	31
4. BULGULAR.....	35
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ.....	61
ÖZET	62
SUMMARY	64
KAYNAKLAR.....	66

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- ABD: Amerika Birleşik Devletleri
BMD: Broth mikrodilüsyon
BOS: Beyin omurilik sıvısı
CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
EMB: Eozin metilen blue
FDA: Food and Drug Administration
FİK: Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon
FİKİ: Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon İndeksi
GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar
HMP: Heat-modifiable protein
IM: İntramusküler
IV: İntravenöz
KAMHB: Katyon Ayarlı Mueller Hinton Broth
KHO: Karbapenem hidrolize eden oksasilinazlar
KMS: Kolistin metanosülfat
MBL: Metallobetalaktamaz
MDR: Multidrug resistant
MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon
MRSA: Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*
MRSE: Metisilin dirençli *Staphylococcus epidermidis*
PBP: Penisilin bağlayıcı proteinler
PDR: Pan-drug resistant
RNA: Ribonükleik asit
TSI: Triple sugar iron agar (üç şekerli demirli besiyeri)
XDR: Extreme-drug resistant
VİP: Ventilatör ilişkili pnömoni
VRE: Vankomisin dirençli enterokok
YBÜ: Yoğun Bakım Ünitesi

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1: <i>Acinetobacter</i> 'lerin İsimlendirmesi.....	4
Tablo 2.2: Hastane Ortamında <i>A. baumannii</i> 'nin Potansiyel Rezervuarları.....	8
Tablo 2.3: <i>Acinetobacter spp.</i> 'de “multidrug resistant”, “extreme-drug resistant”, “pan-drug resistant” Tanımı.....	15
Tablo 4.1: <i>Acinetobacter baumannii</i> İzolatlarının Klinik Örneklere Göre Dağılımı.....	35
Tablo 4.2: <i>Acinetobacter baumannii</i> İzolatlarının Kliniklere Göre Dağılımı.....	36
Tablo 4.3: Disk Difüzyon Yöntemi ile Duyarlılık Sonuçları.....	37
Tablo 4.4: Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile Duyarlılık Sonuçları.....	38
Tablo 4.5: E test Yöntemi ile Duyarlılık Sonuçları.....	38
Tablo 4.6: <i>A.baumannii</i> Suşlarının Sıvı Mikrodilüsyon Testi ile Bulunan Kolistin Minimal İnhibitör Konsantrasyon Sonuçları.....	39
Tablo 4.7: <i>A.baumannii</i> Suşlarının Sıvı Mikrodilüsyon Testi ile Bulunan Tigesiklin Minimal İnhibitör Konsantrasyon Sonuçları.....	40
Tablo 4.8: <i>A. baumannii</i> suşlarının E test Yöntemiyle Kolistin, Tigesiklin Antibiyotiklerinin ve Kombinasyonlarının Minimal İnhibitör Konsantrasyon Değerleri (µg/mL).....	41-42
Tablo 4.9: Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon Değerlerine Göre Kolistin/Tigesiklin Etkileşim Sonuçları.....	43
Tablo 4.10: Kolistin ve Tigesiklin Kombinasyonunun E test Yöntemiyle Etkileşim Sonuçları.....	44-45
Tablo 4.11: E test Yöntemi ile Belirlenen Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon ve Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon İndeksi Değer Aralıkları.....	46
Tablo 4.12: Sıvı Mikrodilüsyon ve E test ile Minimal İnhibitör Konsantrasyon Değerleri (µg/mL).....	46-48

Tablo 4.13: Kolistin ve Tigesiklin İçin Sıvı Mikrodilüsyon ve E test Yöntemiyle Belirlenen Minimal İnhibitör Konsantrasyon Değer Aralıkları.....	49
---	----

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1: Çoklu İlaç Dirençli <i>A. baumannii</i> Suşunun Kolistin ve Tigesiklin Duyarlılıklarının Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemiyle Belirlenmesi.....	31
Resim 3.2: Çoklu İlaç Dirençli <i>A. baumannii</i> Suşunda Kolistin ve Tigesiklin Duyarlılıklarının E test Yöntemiyle Belirlenmesi.....	33
Resim 3.3: Kolistin/Tigesiklin Kombinasyonunda Gözlenen Etkileşim.....	34

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Asinetobakterler doğada ve hastane ortamında yaygın olarak bulunan, gram negatif, aerop, oksidaz negatif, katalaz pozitif, indol negatif, hareketsiz, nonfermentatif, kokobasil ve diplokok görünümünde mikroorganizmalardır. En sık izole edilen tür *Acinetobacter baumannii*'dir (1). Asinetobakterler pnömoni, kan dolaşım enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları, yumuşak doku enfeksiyonları, menenjit ve endokardit gibi birçok sistemi ilgilendiren enfeksiyonlara neden olabilirler (2).

Asinetobakterler kuru ve nemli ortamlarda uzun süre canlı kalabilmeleri ve antibiyotiklere dirençli olmaları nedeniyle yoğun bakım ünitelerinde enfeksiyon etkeni olan en önemli bakteriler arasında sayılmaktadır (1). *A. baumannii* hastanede yatan, özellikle immünsupresif hastalarda enfeksiyonlara neden olabilen, yüksek mortalite oranları ile ilişkili bir mikroorganizmadır (3).

Asinetobakter türleri birçok sınıf antibiyotiğe hızla direnç geliştirebilme yeteneğine sahiptir (4). Aminoglikozidler, sefalosporinler, kinolonlar ve karbapenemlere çeşitli mekanizmalarla kazanılan direnç bu enfeksiyonların tedavisinde güçlükler yol açmaktadır. Son yıllarda çoklu ilaç dirençli *A. baumannii*'nin neden olduğu hastane enfeksiyonlarından sıklıkla söz edilmektedir (5,6). Çoklu ilaç dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarının yaygınlaşması tedavi seçeneklerini kısıtlamış, yeni antibiyotiklere olan ihtiyacın artmasına ve eski antibiyotiklerin yeniden gündeme gelmesine neden olmuştur.

Kolistin polimiksin grubu, gram negatif bakterilere karşı bakterisidal etkili eski bir antibiyotiktir (7). Son yıllarda artan karbapenem direnci, uzun yıllar önce yan etkileri nedeniyle kullanımı kısıtlanan kolistini çoklu ilaç dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarında önemli bir tedavi seçeneği haline getirmiştir.

Tigesiklin, tetrasiklinlerin yarı-sentetik analogları olan glisilsiklinlerin ilk üyesidir. Çoklu ilaç dirençli asinetobakter türlerine karşı bakteriyostatik etkilidir (8). *A. baumannii*'nin neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde tigesiklinle ilgili deneyimler kısıtlıdır. Tek başına verildiğinde etkinliği yeterli değildir. Çeşitli

antibiyotik kombinasyonları önerilmektedir ve uygun antibiyotikle kombine verildiğinde etkili olabilmektedir (9).

Kombinasyon tedavileri özellikle çoklu ilaç dirençli asinetobakter suşlarıyla meydana gelen enfeksiyonların tedavisinde önem kazanmaktadır. Tedavi başarısının artırılması ve direnç gelişimini önlemek amacıyla kombine antibiyotik kullanımı önerilmektedir (10). Ancak kombinasyon tedavileriyle ilgili klinik bilgiler yeterli değildir.

Bizim çalışmamızda, farklı kliniklerde yatmakta olan hastalardan izole edilen ve enfeksiyon etkeni olduğu belirlenen, en az üç antibiyotik sınıfına dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında; kolistin, tigesiklin duyarlılığının sıvı mikrodilüsyon ve E test yöntemleriyle belirlenmesi, bu yöntemlerin birbiriyle uyumunun karşılaştırılması, kolistin/tigesiklin kombinasyonunun in vitro aktivitesinin E test yöntemiyle araştırılması ve çoklu ilaç dirençli asinetobakter suşlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Asinetobakter Türleri

2.1.1. *Acinetobacter baumannii*'nin Tarihçesi ve Sınıflandırmadaki Yeri

Asinetobakterler 1800'lü yılların sonunda, morfolojik özelliklerine ilk kez dikkat çeken iki bilim adamının adlarına ithafen 'Morax-Axenfeld basilleri' olarak adlandırılmışlardır (11). *Diplococcus mucosus*, *Micrococcus calcoaceticus*, *Alcaligenes haemolysans*, *Mima polymorpha*, *Moraxella lwoffii*, *Herellea vaginicola*, *Bacterium anitratum*, *Moraxella lwoffii* var. *glucidolytica*, *Neisseria winogradskyi*, *Achromobacter anitratus*, *Achromobacter mucosus* daha sonraki yıllarda asinetobakterlere verilen diğer isimlerdir (12).

Brisou ve Pre'vot 1954'de benzer morfolojik özellikler gösteren bu mikroorganizmalar arasında bazılarının hareketsiz olduklarını göstermişler ve yunanca hareketsiz anlamına gelen 'Akinetos' sözcüğünden esinlenerek bu bakterilere 'Acinetobacter' adını vermişlerdir (11,12). Baumann ve ark. 1968 yılında asinetobakterlerin biyokimyasal ve morfolojik özelliklerini ayrıntılı olarak ortaya koymuşlar, ardından 1971'de bu bakteriler *Moraxellaceae* ailesi içinde asinetobakter cinsi olarak sınıflandırmadaki yerlerini almışlardır (11,13). Bu cins içinde tanımlanan ilk tür *Acinetobacter calcoaceticus* olmuştur (11). Bouvet ve Grimont 1986'da DNA-DNA hibridizasyon yöntemini kullanarak asinetobakter cinsi üyelerini 12 türe ayırmışlardır (14) (Tablo 2.1). Takip eden yıllarda bu türlere yenileri eklenmiş ve 21 farklı asinetobakter genomik türü tanımlanmıştır (15). Ancak klinik pratik uygulamalarda genomik tür tanımlaması gerekli değildir.

Tablo 2.1: Asinetobakterlerin İsimlendirmesi (16)

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (genomic species 1)
<i>A.baumannii</i> (genomic species 2)
<i>A.haemolyticus</i> (genomic species 4)
<i>A.junii</i> (genomic species 5)
<i>A.johnsonii</i> (genomic species 7)
<i>A.lwoffii</i> (genomic species 8/9)
<i>A.radioresistens</i> (genomic species 12)
<i>A.baylyi</i>
<i>A.bouvetii</i>
<i>A.gernerii</i>
<i>A.grimontii</i>
<i>A.parvus</i>
<i>A.schindleri</i>
<i>A.tandoii</i>
<i>A.tjernbergiae</i>
<i>A.towneri</i>
<i>A.ursingii</i>
<i>A.venetianus</i>

2.1.2. Mikrobiyolojik ve Morfolojik Özellikler

Asinetobakterler *Moraxellaceae* ailesinde yer almaktadır (17). Oksidaz negatif, katalaz pozitif, indol negatif, hareketsiz, nitratları redükte etmeyen, zorunlu aerop gram negatif mikroorganizmalardır. Asinetobakterler genellikle 35-37°C de ürerler. MacConkey agar besiyerinde renksiz veya hafif pembe renkte koloniler oluştururlar. Üç şekerli demirli besiyeri (Triple sugar iron agar, TSI) ve oksidatif fermentatif besiyerinde asit oluşturmazlar. Asinetobakterler üremenin logaritmik fazında 1-1.5 x 1.5-2.5 µm boyutlarında basil, duraklama fazında ise kok veya kokobasil şeklinde görülmektedir (18). %5'lik koyun kanlı agarda ve çikolatalı agarda üreyebilirler. Gram boyamada dekolorizasyona direnç göstermeleri nedeniyle *Neisseria* türleri ve *S. maltophilia* ile karıştırılabilirler. *Neisseria* veya *Moraxella* gibi diğer nonfermentatif bakterilerden oksidaz negatif olmalarıyla ayrılırlar. Kapsül ve fimbriaları ile epitelyum hücrelerine tutunurlar (1). İnsanlardan en sık izole edilen tür,

A. baumannii'dir. *Acinetobacter iwoffii*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter haemolyticus* ve diğ er türleri daha az izole edilmektedir (1)

2.1.3. *A.baumannii*'de Hücre Duvarı

Asinetobakter cinsi bakterilerin hücre duvar yapısı diğ er gram negatif bakterilere benzerlik göstermektedir. *A. baumannii*'de L-ramnoz, D-glikoz, D-glukronik asit, D-mannozdan oluş an polisakkarit yapıda bir kapsül bulunmakta ve bu kapsül bakterinin fagositozdan korunmasında rol oynayarak bakterinin virülansına katkıda bulunmaktadır (12). Kapsülün hücre yüzeyi hidrofobitesini artırdığı ve medikal aletlere yapışmada rol oynadığı gösterilmiştir (11).

Dış membrandaki lipopolisakkarit tabaka; hidrofobik lipit A, polisakkarit yapıdaki kor tabakası ve hidrofilik O antijeninden oluşmaktadır. Doymuş yağ asitlerinden meydana gelen lipit A endotoksin aktivitesine sahiptir. Kor polisakkariti, lipit A ve O antijeni arasında yer almaktadır. Polisakkarit tabaka hapten niteliğ inde olup antijenik özellik göstermekte ve ayrıca bakteriyofajlara özgü reseptörler taşımaktadır. O antijeni tekrarlayan karbonhidratlardan oluşmuştur. *A.baumannii*'nin dış membranında çeşitli proteinler (porinler, integral proteinler) yer almaktadır. Bu proteinler hücre duvarına seçicilik kazandırmakta, bazı moleküllerin hücre içine girişini; bazılarının da (hidrolitik enzimler vb.) hücre dışına çıkışını engellemektedir (19).

Dış membranda bulunan bu proteinlerin kaybı antimikrobiyal direncin ortaya çıkışında önemli bir mekanizmadır. *A. baumannii*'nin ana porini, dış membranda yer alan 35.6 kDa'lık ısıya duyarlı bir protein olan "heat-modifiable protein" (HMP-AB)'dir (20).

A.baumannii'nin HMP-AB porini, beta-laktam antibiyotiklerin hücre içine girişine izin veren bir porin olup bu porinin kaybı penisilin ve sefalosporinlere karşı direnç gelişmesine neden olmaktadır. Bu porinin aşırı ekspresyonu sefalosporinlerin hücre içine girişini artırarak, ampC enzimi varlığında bile sefalosporinlere karşı duyarlılık artışına neden olmaktadır. *A.baumannii*'deki diğ er dış membran proteinleri arasında

33-36 kDa'lık protein, 29 kDa'lık porin yapısında CarO proteini, bu porinle birlikte bulunan 25 kDa'lık protein ve 43 kDa'lık bir protein yer almaktadır (20).

Fosfolipid yapıdaki sitoplazmik membranda da farklı protein ailelerine mensup çeşitli transport proteinleri yer almakta olup bunlar arasında bazılarının (AdeB) antimikrobialeri ve toksik bileşikleri hücre dışına aktif olarak pompalayarak *A. baumannii*'nin doğal ve kazanılmış ilaç direncine katkıda buldukları gösterilmiştir (21).

2.1.4. Virulans Faktörleri

Asinetobakter cinsi bakterilerin virulans potansiyelleri düşük olduğundan konak savunma mekanizması normal olan kişilerde enfeksiyon oluşturması oldukça kısıtlıdır. Genellikle fırsatçı enfeksiyonlara neden olurlar.

Asinetobakter cinsi bakteriler genel olarak düşük virulanslı olarak kabul edilse de virulanstan sorumlu faktörler vardır. Bu faktörler:

- 1- Polisakkarit kapsül: L-ramnoz, D-glukoz, D-mannoz ve D-glukronik asitten oluşur, bakteri yüzeyinin daha fazla hidrofilik olmasını sağlar ve fagositozdan korur. Ek olarak intravenöz (IV) kateter, trakeal kanül gibi yüzeylere tutunmayı kolaylaştırır.
- 2- İnsan epitel hücrelerine bağlanmayı sağlayan fimbria ve/veya kapsüller polisakkarit.
- 3- Lipopolisakkarit ve lipid A: Hücre duvarında bulunan lipopolisakkaritin potansiyel toksik etkisi ve lipid A'nın varlığı.
- 4- Dokulardaki yağlara zarar verebilen enzimlerin üretimi.
- 5- Bakterinin insan vücudunda üreyebilmesi için gerekli olan demiri sağlayabilme özelliği. Bazı asinetobakterlerin aerobaktin ve demirle baskılanabilen dış membran reseptör proteinleri gibi sideroforları ürettikleri gösterilmiştir (4).

2.1.5. Epidemiyoloji

Asinetobakter türleri, doğada ve hastane ortamında yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bakteriler hastanede yatak örtüleri, giysiler, ventilatörler, kapı kolları, lavabolar vb. gibi çevresel yüzeylerde aylarca canlı kalabilirler. Nemli ve kuru ortamda yaşayabilir, gıdalarda ve sağlıklı insan cildinde uzun süre bulunabilirler (22-24). Sağlıklı kişilerin cildinde %25 oranında kolonize olduğu bildirilmektedir (25). *A. baumannii*'nin yayılımı direkt temas ve sağlık personelinin elleri aracılığıyla olur (26, 27). Ek olarak hava yolu ile de yayılabildiği gösterilmiştir ve bu nedenle solunum yoluna kolonizasyon var ise hasta 4 m ya da daha fazla uzakta izole edilmelidir (28) (Tablo 2.2). Hastanede yatan hastalarda taşıyıcılık oranı, özellikle salgınlar sırasında çok yüksek oranlara ulaşır. *A. baumannii*, hastane kaynaklı enfeksiyonlardan en sık sorumlu olan türdür. Bu mikroorganizmanın antimikrobiyal çoğul direnç kazanma yeteneği, dış ortamda birçok yüzeyde canlı kalma kapasitesi, hastane enfeksiyonları açısından önemini artırmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde her yıl 12.000 nozokomiyal asinetobakter enfeksiyonu meydana gelmekte ve bu enfeksiyonların %63'ü çoklu ilaç dirençli suşlarla gelişmektedir (29). Avrupa'da yapılan bir prevelans çalışmasında (EPIC) yoğun bakım ünitesi (YBÜ)'nde görülen enfeksiyon etkenleri arasında *A. baumannii*'nin *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'dan sonra en yaygın üçüncü patojen olduğu belirlenmiştir (30). Aynı çalışma "EPIC II" adıyla 2007 yılında beş kıtada yetmiş beş ülkede tekrar edilmiş ve *A. baumannii*'nin en yaygın beşinci patojen olduğu görülmüştür (31).

A. baumannii düşük besin gereksinimi ve biyofilm oluşturma yeteneği ile kolay direnç geliştirir. Hem kuru hem de ıslak yüzeylerde canlı kalabilir (22). Kuru yüzeylerden izole edilen suşlar, ıslak yüzeylerden izole edilen suşlara göre daha yüksek oranda canlı kalabilirler (32). Asinetobakter kuru yüzeylerde aylarca canlı kalabilir (33). Asinetobakter hastane personelinin cildinde taşınan en yaygın gram negatif mikroorganizmadır (34). Farklı çalışmalarda sağlık çalışanlarının bulaştaki rolleri araştırılmış, hekim ve hemşirelerin %3-23'ünün ellerinde asinetobakter tespit edilmiştir. Bu taşıyıcılığın genellikle geçici kolonizasyon şeklinde olduğu belirtilmektedir (35,36).

Tablo 2.2: Hastane Ortamında *A .baumnannii*'nin Potansiyel Rezervuarları (37)

Kolonize hasta Cilt Farenks Aksilla Kasık Perine Sindirim sistemi	Medikal aletler Ventilatörler ve entübasyon tüpleri Steteskoplar Monitörler İnfüzyon pompaları Resusitasyon çantaları Tansiyon aleti manşonları
Enfekte hasta Pnömoni Trakeobronşit Kan dolaşımı enfeksiyonu Üriner sistem enfeksiyonu Santral sinir sistemi enfeksiyonu Peritonit Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu Sağlık çalışanları Sağlık personelinin elleri	Hastane çevresi Yatak çerçeveleri Lavabolar Yatak çarşafı Şilteler Yastıklar Perdeler Yer bezleri Çöp bidonları Bilgisayar klavyeleri

Nozokomiyal asinetobakter enfeksiyonlarının diğer mevsimlere göre yaz aylarında daha yüksek oranda görüldüğü bildirilmiştir (38,39). Retailiau ve arkadaşları çalışmalarında asinetobakter enfeksiyonlarının insidansının mevsimlere göre değişebileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada yaz sonu ve kışın erken dönemlerinde asinetobakter enfeksiyonlarının arttığı görülmüş, bu da sıcaklık ve nem değişikliklerine bağlanmıştır (40). Yine Fransa'dan bildirilen bir çalışmada üç yıllık bir dönemde görülen 656 asinetobakter enfeksiyonunun en sık Temmuz-Eylül

döneminde görüldüğü bildirilmiştir (41). ABD’de 10 yıllık veriler incelenmiş ve kan dolaşımı enfeksiyonları ve pnömoniler başta olmak üzere enfeksiyonların Temmuz-Ekim döneminde diğer aylara göre daha sık olduğu bildirilmiştir (42).

2.2. Asinetobakter Enfeksiyonları

Asinetobakter, tüm dünyada sık görülen ve kontrol altına alınması zor olan bir hastane enfeksiyonu etkeni haline gelmiştir. Dış ortam koşullarına dayanıklı olması ve geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı hızla direnç geliştirebilmesi, asinetobakter türlerinin yaygınlaşmasını önemli hale getirmiştir.

Acinetobacter spp. pnömoni, kan dolaşım enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları, yumuşak doku enfeksiyonları, menenjit ve endokardit gibi hemen tüm organ sistemlerinde süperatif enfeksiyonlara neden olabilir (8, 43).

Asinetobakter cinsi bakteriler genel olarak virülansı düşük bakterilerdir. Konak savunma mekanizmaları normal olan bireylerde enfeksiyon oluşturmaları oldukça güçtür. *Acinetobacter spp.* genellikle immüsupresif kişilerde enfeksiyona neden olabilen bir patojendir (44). Malignite, yanık, konağın savunma sistemini baskılayan durumlar ve konağın yaşı enfeksiyon gelişimini kolaylaştıran bazı faktörlerdir.

Toplum kökenli asinetobakter enfeksiyonları için risk faktörleri; alkolizm, sigara içmek, kronik akciğer hastalığı, diabetes mellitus, tropikal bir bölgede yaşamak olarak bildirilmiştir (45).

Asinetobakter türleri YBÜ’nde önemli bir mikroorganizma olarak karşımıza çıkmaktadır bu da son yirmi yıldır YBÜ’lerinde artan tanı ve tedavi işlemleriyle ilişkilendirilmektedir (4, 46). Hastane kaynaklı salgınlardan sıklıkla solunum ekipmanları, nemlendirme cihazları, hasta bakım gereçleri ve hastane personelinin elleri sorumlu tutulmuştur. Salgınlardan yaklaşık yarısında ise kaynak saptanamadığı bildirilmiştir (47-49).

Asinetobakter türleri özellikle YBÜ'leri ve yanık üniteleri gibi antibiyotik kullanımının fazla olduğu yerlerde başlıca nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak ortaya çıkmaktadır (50). Uzun süre hastanede yatmak, yoğun bakım ünitesinde yatmak, mekanik ventilasyon, antibiyotik kullanımı, geçirilmiş cerrahi operasyon, invaziv işlemler, altta yatan hastalığın şiddeti, çoklu antibiyotik dirençli asinetobakter enfeksiyonları veya kolonizasyonu için risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (41,51).

Acinetobacter spp.'ye bağlı olarak gelişen nozokomiyal enfeksiyonların gerçek sıklığını belirlemek kolay değildir. Çünkü klinik örneklerden izole edilen mikroorganizmaların sadece enfeksiyonu değil kolonizasyonu da gösteriyor olabileceği belirtilmektedir (44,52).

2.2.1. Solunum Sistemi Enfeksiyonları

Asinetobakter enfeksiyonları vücutta en sık solunum sistemi enfeksiyonu şeklinde ortaya çıkar, bu da sağlıklı kişilerde geçici faringeal kolonizasyona ve trakeostomi kolonizasyon oranlarının yüksek olmasına bağlanmıştır (43).

Erişkinlerde toplum kökenli asinetobakter pnömonisi genellikle alkolizm, sigara içme, diabetes mellitus, böbrek yetmezliği ve altta yatan akciğer hastalığı gibi nedenlerle konak savunması azalmış kişilerde ortaya çıkar (53,54). Tropikal iklimlerde ılıman iklimlere göre toplum kökenli asinetobakter pnömonisinin daha sık ortaya çıktığı bildirilmiştir. Kuzey Avustralya'da yapılan bir çalışmada toplum kökenli asinetobakter pnömonisi, tüm toplum kökenli bakteriyel pnömonilerin %10'u ve tüm gram negatif pnömonilerin de %21'i olarak bulunmuştur (45). Toplum kökenli asinetobakter pnömonilerinde mortalite oranları %40-64 arasında değişmektedir (54).

Asinetobakter nozokomiyal pnömoniye özellikle de ventilatör ilişkili pnömoniye neden olan başlıca etkendir (55). Genel olarak tüm hastane kökenli pnömonilerde saptanma oranı %3-5 olarak bildirilmektedir. Nozokomiyal bulaştan kolonize sağlık çalışanları, ventilatörler, eldivenler ve kontamine parenteral beslenme sıvıları

sorumlu bulunmuştur. Nozokomiyal asinetobakter pnömonisinde predispozan faktörler; endotrakeal entübasyon, trakeostomi, önceki antibiyotik kullanımı, YBÜ'nde kalmak, önceki cerrahi, yüksek APACHE II skoru, altta yatan akciğer hastalığı olarak sıralanmaktadır (16).

Asinetobakter pnömonileri genellikle multiloberdir. Kavitasyon, plevral efüzyon ve bronkopulmoner fistül gelişebilir (16).

Acinetobacter baumannii çoklu ilaç direnci nedeniyle ventilatör ilişkili pnömonide yüksek mortaliteye yol açar (56). Üç gün içinde uygun antibiyotik tedavisi verilmiş olanlarda mortalite azalmakta, sekonder bakteriyemi ve septik şok gelişenlerde mortalite yükselmektedir. Yoğun bakım hastalarında asinetobakter kolonizasyonu ya da enfeksiyonu aynı zamanda hastanın altta yatan hastalığının kötüye gidişinin de bir göstergesidir (1).

2.2.2. Bakteriyemi

Nozokomiyal asinetobakter bakteriyemisi çoğunlukla solunum sistemi enfeksiyonları ve IV kateter kullanımı ile ilişkilidir. Üriner sistem, yara ve cilt enfeksiyonları ve abdominal enfeksiyonlar diğer daha az görülen bakteriyemi kaynaklarıdır (55).

Malignite, travma ve yanık en önemli risk faktörleridir.

Asinetobakter bakteriyemisinde mortalite oranları %17-46 arasında bildirilmiştir (43,57).

2.2.3. İntrakraniyal Enfeksiyonlar

Genellikle kafa travmasına bağlı olarak ya da lomber ponksiyon, miyelografi ve ventrikülografi gibi nöroşirürjikal girişimler sonucu gelişen menenjitlere yol açar (58). Asinetobakter menenjitli olan hastaların %30'unda peteşiyal döküntü bildirilmiştir (59).

2.2.4. Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Venöz kateterlerle ilişkili selülit görülebilir. Travmatik yaralar (savaş yaraları gibi), yanık ve postoperatif insizyon bölgelerinin kolonizasyonu sık görülür (16).

Vietnam savaşında travmatik ekstremitte yaralarından en çok izole edilen gram negatif patojen *Acinetobacter* spp.'dir (60). Benzer bulgular Afganistan ve Irak savaşlarında da bildirilmiştir (61,62).

2.2.5. Üriner Enfeksiyonlar

Asinetobaktere bağlı üriner sistem enfeksiyonları genelde immün sistemi baskılanmış, yaşlı, kalıcı üriner kateteri olan ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda görülmektedir. Asinetobakter kaynaklı üriner sistem enfeksiyonu gelişen hastaların %80'i erkektir. Bunun muhtemel sebebi erkeklerde prostatizme bağlı üriner kateter bulundurma oranlarının daha yüksek olmasıdır. Üriner kateter taşıyan hastalardan izole edilen her asinetobakter gerçek enfeksiyon etkeni olmadığından kolonizasyonu göz ardı etmemek gerekir (4).

2.2.6. Diğer Enfeksiyonlar

Endoftalmit, konjonktivit (63), korneal ülser, korneal perforasyon (64), doğal ve protez kalp kapağı endokarditi (65), periton diyalizi ile ilişkili peritonit, perkütan transhepatik kolanjiyografi ve perkütan biliyer drenajla ilişkili kolanjit, pankreas ve karaciğer absesi, otolog kemik iliği transplantasyonundan sonra tiflit, osteomyelit ve septik artrit bildirilen diğer hastane kökenli enfeksiyonlardır (1).

2.3. Morbidite ve Mortalite Üzerine Etkisi

Çoklu antibiyotik dirençli asinetobakter enfeksiyonları genellikle yoğun bakım ünitelerinde durumu kritik hastalarda ortaya çıkar ve yüksek mortalite oranlarına (%26-%68) neden olmaktadır (66, 67). Falagas ve arkadaşlarının çalışmalarında *A. baumannii* ile enfekte yatan hastalarda mortalite oranları %8-23, YBÜ'lerinde ise %10-43 olarak bulunmuştur (68).

Asinetobakter enfeksiyonları artan morbidite ve uzun süreli hastanede yatış ile de ilişkili bulunmuştur. Hastanede kalış süresine etkisi enfeksiyonun tipi ve antimikrobiyal direncin derecesine göre değişir (8). Blot ve arkadaşlarının yaptığı retrospektif, karşılaştırmalı bir kohort çalışmada asinetobakter bakteriyemisi olan hastalarda, durumu kritik ancak asinetobakter enfeksiyonu olmayan hastalara göre YBÜ'nde ve mekanik ventilasyonda kalış süresinin beş gün uzadığı görülmüştür (69). Farklı çalışmalarda da çoklu antibiyotik dirençli asinetobakter enfeksiyonlarının YBÜ'nde ve hastanede kalış süresini anlamlı ölçüde uzattığı bulunmuştur (66, 70).

2.4. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Geçmişte pek çok asinetobakter suşuna ampisilin, gentamisin, kloramfenikol ve nalidiksik asit gibi sık kullanılan antimikrobiyal ajanlar duyarlı bulunurken günümüzde direnç oranlarında artış gözlenmiştir. Antibiyotiklere karşı doğal ve kazanılmış direnç mekanizmalarının artışı ile birlikte *Acinetobacter* spp. son yıllarda hastane enfeksiyonlarında endişe duyulan bir etken olmuştur (15, 71). Artan antibiyotik direnci enfeksiyonun tedavisini güçleştirmekte ve enfeksiyon kontrol önlemlerini öne çıkarmaktadır. Asinetobakter türlerinde antimikrobiyal direnç türlerine, ülkelere ve bölgelere göre değişmektedir (72). Asinetobakter ile ilgili esas tehlike bakterinin virülansından değil birçok direnç mekanizmasını aynı anda edinebilmesinden kaynaklandığı belirtilmektedir (41).

Aminoglikozidler, üreidopenisilinler, florokinolonlar ve üçüncü kuşak sefalosporinler gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı, asinetobakter türlerini antibiyotiklere dirençli hale getirmiştir (73). *A.baumannii* ampisilin,

amoksisilin ve birinci kuşak sefalosporinlere doğal direnç özelliği gösterir (74). *A.baumannii* diğer türlere göre daha dirençlidir. Son yıllarda *Acinetobacter* türlerinde ortaya çıkan çoklu antibiyotik direnci (Multidrug resistant, MDR) üç ya da daha fazla antibiyotik grubuna dirençli olmayı ifade etmektedir. Bu grup antibiyotikler geniş spektrumlu sefalosporinler (sefotaksim, seftriakson, seftazidim, sefepim), antipsödomonal karbapenemler (imipenem, meropenem, doripenem), ampisilin/sulbaktam, piperasilin/tazobaktam, tikarsilin/klavulonik asit, antipsödomonal kinolonlar (siprofloksasin, levofloksasin), aminoglikozidler (gentamisin, tobramisin, amikasin, netilmisin), trimetoprim/sulfametaksazol, polimiksinler (kolistin, polimiksin B), tetrasiklinler (tetrasiklin, doksisisiklin, minosiklin)'dir. Yaygın ilaca dirençli (Extreme-drug resistant, XDR) iki ya da daha az grup antibiyotiğe duyarlı olmak anlamına gelmektedir. Tüm ilaca dirençli (Pan-drug resistant, PDR) ise polimiksinler dahil tüm antimikrobiyal grubuna direnç olarak tanımlanmıştır (Tablo 2.3) (75).

PDR *A. baumannii* ilk kez 1998 yılında Tayvan'dan bildirilmiştir (76). Bundan sonra da PDR suşlar bildirilmiştir. Bu enfeksiyonları tedavi etmenin oldukça zor, bazı vakalarda ise imkansız olduğu belirtilmektedir (77, 78).

Tablo 2. 3: *Acinetobacter spp.*'de “multidrug resistant”, “extreme-drug resistant”, “pan-drug resistant” Tanımı:

MDR: ≥ 1 ajana / ≥ 3 antimikrobiyal kategoride

XDR: ≥ 1 ajana / ≤ 2 dışındaki tüm antimikrobiyal kategorilerde

PDR: tüm ajanlar / tüm kategoriler (75)

Antibiyotik sınıfı	Antibiyotik
Aminoglikozidler	Gentamisin Tobramisin Amikasin Netilmisin
Antipseudomonal karbapenemler	İmipenem Meropenem Doripenem
Antipseudomonal florokinolonlar	Siprofloksasin Levofloksasin
Antipseudomonal penisilinler + beta-laktamaz inhibitörleri	Piperasilin-tazobaktam Tikarsilin-klavulonik asit
Geniş spektrumlu sefalosporinler	Sefotaksim Seftriakson Seftazidim Sefepim
Folat redüktaz inhibitörleri	Trimetoprim/sulfametaksazol
Penisilinler + beta-laktamaz inhibitörleri	Ampisilin-sulbaktam
Polimiksinler	Kolistin Polimiksin B
Tetrasiklinler	Tetrasiklin Doksisiklin Minosiklin

2.4.1. *A.baumannii*'nin Çoklu İlaç Direnç Mekanizmaları

Son yıllarda yapılan çalışmalar diğer gram negatif bakterilerdekine benzer şekilde *A.baumannii*'nin çoklu ilaç direncinden esas olarak aktif ilaç pompa sistemlerinin sorumlu olduğuna dikkat çekmektedir (79).

AdeABC pompa sistemi: *A.baumannii*'nin çoklu ilaç direncinde, AdeABC denilen efluks pompa sisteminin etkili olduğu belirtilmektedir. AdeABC pompa sistemi, yapısal düzeyde sentezlendiğinde *A.baumannii*'nin doğal direncine katkıda bulunurken aşırı derecede sentezlendiğinde tek bir adımda birçok antibiyotiğe karşı direnç gelişimine neden olmaktadır (20, 80). AdeABC aktif ilaç pompasının substrat profili oldukça geniş olup aminoglikozidler, florokinolonlar, tetrasiklinler, tigesiklin, kloramfenikol, eritromisin, trimetoprim, bazı beta-laktam antibiyotikler ve çok sayıda toksik maddeyi kapsamaktadır (81, 82).

AbeM pompa sistemi: AbeM pompa proteinleri de çoklu ilaç direncine yol açmaktadır. AbeM pompasının substrat profili, AdeABC'ye kıyasla daha kısıtlıdır. Florokinolonlar ve gentamisin substratları arasındadır. Bu pompanın, *A.baumannii*'nin klinik izolatlarının çoklu direncindeki rolü tam olarak bilinmemektedir (83).

Diğer ilaç pompa sistemleri: *A.baumannii*'de AdeABC ve AbeM dışında son yıllarda varlığı gösterilen diğer bir ilaç pompa sistemi, bakterinin daha çok doğal direncinde rolü olduğu ileri sürülen RND ailesinin bir üyesi olan AdeIJK pompasıdır (84). AdeDE ve AdeXYZ, *A.baumannii*'de yeni tanımlanan diğer pompa sistemleridir (85, 86).

2.5. Asinetobakter Enfeksiyonlarında Tedavi

Yıllarca asinetobakter enfeksiyonları tedavisinde beta-laktamlar; özellikle üçüncü kuşak sefalosporinler, geniş spektrumlu penisilinler, penisilin/beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar ve karbapenemler sıklıkla aminoglikozidlerle kombine olarak kullanılmıştır. Fakat günümüzde birçok nozokomiyal *A.baumannii* suşu çoğu

sınıf antibiyotiğe dirençlidir. Florokinolonlar, tigesiklin, seftazidim, trimetoprim-sulfametaksazol, doksisisiklin, imipenem, meropenem, doripenem, polimiksin B ve kolistin ise bazı nozokomiyal izolatlarla karşı etkilidir (87).

Asinetobakter enfeksiyonlarında etkin tedavi bölgesel farklılıklara ve hastane direnç oranlarına göre değişmektedir.

Asinetobakter türlerinde antimikrobiyal direncin araştırıldığı 25 ülke ve 99 merkezin yer aldığı “MYSTIC” çalışmasında meropenem, imipenem, gentamisin, siprofloksasin, piperasilin-tazobaktam ve seftazidime direnç oranları sırasıyla %24, %25, %48, %60, %60 ve %72 olarak bulunmuştur (88). Ülkemizden bir çalışmada ise imipenem, amikasin, piperasilin-tazobaktam, sefepim, seftriakson, tetrasiklin ve trimetoprim-sulfametaksazol için direnç oranları sırasıyla %65, %80, %98, %92, %100 ve %86 olarak bildirilmiştir (89).

Çoklu ilaç direnci olan asinetobakter izolatlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde seçilecek antibiyotikler sınırlıdır; aktivitesi en iyi olan ajanlar polimiksinlerdir (polimiksin B ve polimiksin E). Tigesiklin bazı MDR *A. baumannii* izolatlarına karşı in vitro ve klinik olarak aktif olan, glisilsiklin sınıfında yer alan yeni bir antibiyotiktir, fakat son zamanlarda tigesikline karşı da direnç rapor edilmiştir (27).

2.5.1. Tigesiklin

Tigesiklin, tetrasiklinlerin yarı-sentetik analogları olan glisilsiklinlerin ilk üyesidir. Minosiklinin temel çekirdeğindeki dokuzuncu pozisyonunda bulunan karbon atomuna t-bütilglisilamido grubunun eklenmesiyle elde edilmiştir. Bu sayede geniş bir antibakteriyel spektrum ve tetrasiklin grubu antibiyotiklere karşı oluşturulan direnç mekanizmasından korunma sağlanmıştır. Tigesiklin, minosiklinin yarı-sentetik bir derivativesi olmakla birlikte ribozomlara (30S alt ünite) beş kat daha güçlü bağlanabilmekte ve protein sentezini bu düzeyde inhibe etmektedir (90, 91).

Tigesiklin, birçok gram pozitif, gram negatif, atipik ve anaerob bakteriye etkinliği nedeniyle çoklu ilaca dirençli bakterilerle oluşmuş enfeksiyonların tedavisinde bir alternatif olarak görülmektedir.

2.5.1.1. Yapısal ve Kimyasal Özellikler

Tigesiklin, glisilsiklinler sınıfının ilk üyesidir (92). Spesifik olarak glisilsiklinler tetrasiklinlerin temel çekirdeğindeki dokuzuncu karbon atomuna bağlı bir 9-glisilamido grubu içerir. Tetrasiklin ailesi gibi tigesiklin de dört karbon halkası çekirdeğine sahiptir. Moleküler ağırlığı 585.65 Da, kimyasal formülü C₂₉H₃₉N₅O₈'dir. Glisil ünitesindeki küçük alkilamino grubu optimal aktiviteyi sağlamaktadır. Alkilamino grupları (propil, bütül, pentil, heksil gibi) in vitro aktiviteyi artırmaktadır. Çekirdek halkadaki dokuzuncu karbon atomuna t-bütülgilamido grubu eklenmesiyle elde edilen tigesiklinin geniş spektrumlu antibakteriyel aktivitesini, eklenen gruptaki temel nitrojen atomu sağlamaktadır (93, 94).

2.5.1.2. Etki Mekanizması ve Direnç Gelişimi

Duyarlı mikroorganizmalara karşı bakteriyostatik etki gösterir. Tigesiklin bakterilerde protein sentezini ribozom düzeyinde inhibe eder. 30S ribozomal alt üniteye A bölgesine bağlanarak aminoasit transfer RNA (ribonükleik asit)'nin ribozom içine girişini önler. Böylece protein sentezinde zincir uzaması engellenmiş olur. Protein sentezinin sonlanmasıyla bakteriyel üreme durur (93, 94).

Tetrasiklin ve glisilsiklinlerdeki gibi tigesiklin de ribozomda ortak bir bölgeye bağlanır. Ancak tigesiklinin in vitro aktivitesi, bu bağlanmanın tetrasiklin ve minosiklininkinden beş kat daha kuvvetli olduğunu göstermiştir (93). Bu kuvvetli bağlanma tetrasikline dirence neden olan ribozomal korunmadan tigesiklinin etkilenmemesini de sağlamaktadır.

Direnç gelişimindeki en önemli mekanizma, genetik olarak aktarılabilen tetrasiklin direnç genlerinin (*tet*) antibiyotiği dışarı atan efluks pompası proteinlerinin yapımını sağlaması ve ribozomal korunmadır (95, 96). Diğer direnç mekanizmaları ise ribozomal RNA'da nokta mutasyonların olması ve endojen bakteriyel efluks proteinlerinin bulunmasıdır (97-99).

2.5.1.3. Antibakteriyel Aktivite

Tigesiklin, gram pozitif, gram negatif, atipik ve anaerobik bakterilere karşı etkilidir. Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), metisiline dirençli *Staphylococcus epidermidis* (MRSE), penisilin dirençli *Streptococcus pneumoniae*, vankomisin dirençli *Enterococcus* (VRE) ile genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi bakterilere de etkilidir (92, 93, 100-102). *Proteus mirabilis*, indol pozitif *Proteus* türleri, *Morganella morgagni* ve *Providencia spp.*'ye karşı etkili değildir. Tigesiklin *A.baumannii*'ye karşı etkilidir (103-104), ancak dirençli suşların bildirimi artmaktadır (105-106).

Solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan atipik etkenlere karşı tigesiklinin etkinliği ise minosiklin, makrolidler ve florokinolonlara benzer şekilde ya da biraz daha fazla bulunmuştur (107-108).

2.5.1.4. Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikler

Oral yoldan biyoyararlanımı kötü olduğu için sadece IV yolla uygulanmaktadır. Proteinlere %71-89 oranında bağlanır. Diğer tetrasiklinlere göre geniş dağılım hacmine sahiptir, özellikle dokulara dağılımı iyidir. Doku içine ve vücut sıvılarına iyi penetre olur. Vücutta primer olarak değişikliğe uğramadan dolaşır. Bir kısmı karaciğerde konjuge olur. Eliminasyonu büyük oranda safra yoluyla atılım sonucu feçesle olur (109). Tigesiklinin yarı ömrü 36-37 saattir. Böbrek yetmezliği olan hastalarda doz ayarlanmasına gerek yoktur. Hemodiyaliz ile etkin bir şekilde

uzaklaştırılmayan tigesiklinin, hemodiyaliz öncesi ve sonrasında uygulanması arasında fark yoktur.

Tigesiklin zamana bağlı öldürme ve uzamış postantibiyotik etkiye sahiptir (91, 94, 110).

2.5.1.5. Dozaj ve Uygulama

Önerilen doz 100 mg yükleme dozunu takiben 12 saatte bir 50 mg'dır. Her doz ortalama 30-60 dakika içinde damar içine infüzyon yoluyla verilir. Böbrek yetmezliğinde, orta ve hafif karaciğer yetmezliğinde doz ayarlamasına gerek yoktur. Ağır karaciğer yetmezliğinde doz ayarlaması yapılmalıdır. Bu hastalarda 100 mg yükleme dozunu takiben uygulama dozu 12 saatte bir 25 mg'dır. Onsekiz yaş altında ve laktasyonda kullanımı hakkında yeterli bilgi yoktur.

2.5.1.6. Yan Etkiler

Bazı hastalarda alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz ve alkalen fosfataz düzeylerinde geçici hafif artışlar görülmüştür. En önemli yan etkisi bulantı ve kusmadır. Az oranda görülen diğer yan etkiler deri ve yumuşak doku (kaşıntı, ürtiker, makülopapüler döküntü) ile santral sinir sistemine (baş dönmesi, ataksi) ait yan etkilerdir (94).

2.5.2. Kolistin

Kolistin, polimiksin grubu antibiyotiklerdendir. 1947 yılında İngiltere'de *Bacillus polymyxa* kültürlerinden çeşitli polimiksinler elde edilmiştir. Bu grupta A'dan E'ye kadar beş farklı kimyasal bileşik yer almaktadır. Bunlardan sadece polimiksin B ve polimiksin E (kolistin) terapötik etkinliğe sahiptir (111).

Kolistin gram negatif enfeksiyonların tedavisinde 1950’li yıllarda önce Japonya ve Avrupa’da kullanılmış ve 1959 yılında kolistin metansülfonat sodyum formu ABD’nde kullanılmaya başlanmıştır (112). 1970’li yılların başlarında daha az toksik ve kullanımı daha kolay antibiyotiklerin keşfedilmesiyle terk edilmiştir. Günümüzde dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan eski, ancak önemi giderek artan ajanlardan birisidir (113).

2.5.2.1. Etki Mekanizması

Gram negatif bakterilerin dış hücre duvarında bulunan lipopolisakkaridlere ve fosfolipidlere bağlanarak etki gösteren bakterisidal bir antibiyotiktir. İki bağlı katyonların membran lipidlerinin fosfat gruplarında yerlerinin değişmesine neden olur. Böylece dış membranın parçalanmasına, hücre içi içeriğin dışarı sızmasına ve bakterinin ölümüne neden olur (114, 115). Çok hızlı bakterisidal etkisi vardır. Lipopolisakkaridlere bağlanarak nötralize eder ve dolaşımdaki endotoksinlerin patofizyolojik etkilerinden korur (116). Yalnızca gram negatif mikroorganizmalara etkilidir.

2.5.2.2. Farmakokinetik Özellikler

Kolistin, hem kolistin sülfat hem de kolistin metanosülfat (KMS) şeklinde kullanılmaktadır. Kolistin sülfat ve kolistimetat sodyum gastrointestinal sistemden absorbe olmaz. Oral veya topikal yolla verildiğinde anlamlı şekilde absorbe edilmez. Kolistin sülfat sadece bağırsaklardaki lokal antibakteriyel etki için oral yoldan kullanılabilir. KMS, intravenöz uygulama sonrası hidrolize edilir ve aktif ilaç olan kolistin haline döner. Plevral kavite, akciğer parankimi, kemikler ve BOS geçişi iyi değildir. BOS’da bakterisidal konsantrasyonu yetersizdir ve bu durum santral sinir sistemi enfeksiyonlarının tedavisinde başarısızlığa yol açar. KMS’nin yarılanma ömrü 124 dakika iken, kolistinin yarılanma ömrü 251 dakikadır. Dağılım hacmi ise 0,34 L/kg’dır. Kolistinin önemli bir kısmı böbrekler yolu ile atılır bu nedenle böbrek yetmezliğinde doz ayarlanması gerekir (112, 117).

2.5.2.3. Etki Spektrumu

Dar bir etki spektrumuna sahiptir. Esas olarak *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır. Duyarlı mikroorganizmalar arasında *Escherichia coli*, bazı *Enterobacter* spp., *Haemophilus influenza*, *Bordetella pertussis*, *Legionella pneumophila*, *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ve çoğu *Stenotrophomonas maltophila* kökenleri yer almaktadır (118). Bununla birlikte *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens*, *Moraxella catarrhalis*, *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella morganii* kökenleri, tüm gram pozitif bakteriler ve gram negatif koklar da kolistine tamamen dirençlidir. *Aeromonas*, *Vibrio*, *Prevotella* ve *Fusobacterium* spp. kökenlerinde ise kolistine karşı çeşitli direnç paternleri vardır (111, 119).

2.5.2.4. Direnç

Kolistin direnci sık rastlanılan bir durum değildir ve bu konudaki çalışmalar yetersizdir. *A. baumannii* suşlarında kolistin direnci gelişmesiyle ilgili iki hipotez ortaya atılmıştır. Birincisi lipid A sentezleyen genlerde (*lpxA*, *lpxC* ve *lpxD*) oluşan mutasyon sonucu bakterinin lipopolisakkarid tabakasının kaybıdır. Bu kolistin direncine yol açar (120, 121). İkincisi ise, *PmrA* ve *PmrB* genlerinde gelişen mutasyonun bakterinin lipid A yapısında değişikliğe yol açarak kolistin direncine neden olmasıdır (122). Asidik ve düşük magnezyumlu ortamların indüklemesiyle Oprh gibi dış membran proteinlerinin aşırı üretilmesinin de direnç gelişiminde belirgin rol oynadığı düşünülmektedir (123, 124). Asinetobakter suşlarında kolistin direnci ilk kez 1999 yılında Çek Cumhuriyeti'nden bildirilmiştir (125) ve o tarihten bu yana birçok ülkede dirençli suş görülmüştür (77, 78, 113, 126). Dirençli suşlar en fazla Asya ülkelerinden bildirilmektedir, onu da Avrupa ülkeleri izlemektedir (127).

Kolistin Heterorezistansı

Kolistin heterorezistansı, minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri göz önüne alınarak duyarlı olarak değerlendirilen bir kökenin içinde kolistine dirençli alt grupların olmasıdır (128, 129). Kolistine heterorezistan çoklu ilaç dirençli asinetobakter izolatı ilk kez 2006 yılında Li ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (130). Kolistin heterorezistansı saptanan kökenlere, özellikle kolistin kullanılmış olan hastalardan elde edilmiş klinik örneklerde daha fazla rastlanmaktadır (129). Kolistin heterorezistansı olan kökenler, in vitro olarak tek başına kolistine maruz kaldıklarında hızla direnç geliştirir (131). Dolayısıyla *A.baumannii* enfeksiyonlarında kolistin monoterapisi potansiyel olarak dirence açıktır. Ayrıca suboptimal dozlarda kolistin kullanımı da heterorezistans açısından önemli bir risk faktörüdür (132).

A.baumannii'de kolistin heterorezistans oranı, kolistin direncine göre daha fazladır (127).

Kolistin heterorezistansı olan kökenlere, bazı antimikrobiyaller etkili olabilir. Normalde gram pozitif bakterilere etkili olması beklenen rifampisin gibi ajanların kolistin dirençli alt gruba etkili olduğunun gözlenmesi yeni bir sinerji konseptinin oluşmasına neden olmuştur. Kolistin, duyarlı grupları hedef alırken, rifampisin de dirençli olan alt grup için verilebilmektedir (133, 134).

2.5.2.5. Doz ve Uygulama

Kolistimetat sodyumun parenteral yoldan kullanılan iki ticari formu mevcuttur. ABD ve ülkemizde bir şişede 150 mg kolistin baz içeren toz, Avrupa ülkelerinde ise 1-2 MIU kolistimetat sodyuma eşdeğer toz vardır. 150 mg kolistin bazın etkinliği 5 MIU kolistimetat sodyuma eşdeğerdir. Kolistin IV, intramusküler (IM), intratekal/vetriküler, inhaler yoldan verilebilir (135) ayrıca intravezikal yolla verildiği olgu bildirimleri vardır (136).

Kolistimetat sodyum dozu böbrek fonksiyonları normal olan hastalarda 2,5-5 mg/kg/gün (2-4'e bölünmüş şekilde) şeklindedir. Ancak ciddi enfeksiyonlarda ve

direnç varlığında antibiyotiğin kararlı durum konsantrasyonuna göre doz ayarlanmalıdır. Kolistinin konsantrasyona bağlı öldürme özelliği olmasına rağmen postantibiyotik etkisi yok denecek kadar azdır. Kolistinin başlangıçta 5 mg/kg yükleme dozunun tedavi etkinliğini artırdığı belirtilmektedir. İdame doza yükleme dozundan 12 saat sonra geçilmelidir ve idame doz 8-12 saat arayla uygulanmaktadır.

Kolistinin inhaler olarak kullanılan formu kolistimetat sodyumdur. İnhaler form IV antibiyotiklere ek olarak çoklu ilaç dirençli gram negatif bakterilere bağlı gelişen ventilatör ilişkili pnömoni tedavisinde önerilmektedir (137). İnhaler kolistin dozu böbrek fonksiyonu normal olan hastalarda 2x75 mg olarak kullanılmaktadır (138). Yunanistan'da yapılan bir çalışmada çoklu ilaca dirençli *P.aeruginosa/A.baumannii/K.pneumoniae*'ya bağlı gelişen ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) olgularında IV ve inhaler yoldan kolistimetat sodyum ile birlikte başka bir antibiyotiğin verilmesi ile %83 bakteriyolojik ve klinik yanıt elde edilmiştir (139). Yine farklı çalışmalarda kolistinin hem inhaler hem de intravenöz yoldan verildiği VİP olgularında sadece intravenöz yoldan verilenlere göre daha yüksek kür oranları elde edilmiştir (140, 141).

Menenjitte intratekal ya da intraventriküler kullanım dozu 10mg/gündür (142). *A.baumannii*'ye bağlı gelişen menenjit tedavisinde IV ve intratekal kolistinin kombine kullanımını önerilmektedir. Günlük dozun 20 mg'a kadar çıktığı olgular bildirilmiştir, ancak tek bir uygulamada verilecek doz 10 mg'ı aşmamalıdır (143, 144).

Karaciğer yetmezliğinde doz ayarlanmasına gerek yoktur (145).

2.5.2.6. Yan Etkiler

Nefrotoksisite

Kolistinin en önemli yan etkisi nefrotoksisitedir. Kolistin renal epitelyum hücrelerin membran geçirgenliğini artırarak tübüler hasara ve hücre ölümüne neden olur. Akut tübüler nekroza bağlı hematüri, proteinüri, oligüri ve akut böbrek yetmezliği görülebilir. Bu etki ilaç konsantrasyonu ve tedavi süresiyle ilişkilidir. Böbrek

toksisitesi gelişme oranı %8-58 arasında değişmektedir ve toksisite geri dönüşümlüdür (146, 147, 148). Kolistinin renal toksisitesine yaş, komorbid durumlar, hastalığın ciddiyeti, hemodinamik durum, birlikte kullanılan diğer olası nefrotoksik ilaçlar ve radyokontrast maddeler de katkıda bulunabilmektedir (149).

Nörotoksisite

Nörolojik toksisiteler arasında fasiyal ve periferal parestezi, vertigo, görme bozukluğu, konfüzyon, ataksi, solunum yetmezliği ve apneye neden olabilecek nöromusküler blok sayılabilir (148). Kolistin ilişkili nörotoksisiteye yaklaşık %7 oranında rastlanılır ve en sık gözlenen yan etki de parestezi olarak bildirilmiştir (150).

Diğer Yan Etkiler

Hipersensitivite reaksiyonları (döküntü, kaşıntı, ürtiker ve ateş) hastaların %2'sinde gözlenmektedir (151). Kolistinin inhaler kullanımı sonucu bronkospazm görülebilmektedir (131).

2.5.3. Kombinasyon Tedavisi

Günümüzde, *A.baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı giderek artan direnç, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Ciddi hastane enfeksiyonlarına ve epidemilere neden olmaları ve tedavi sırasında birçok antibiyotiğe karşı kısa sürede direnç geliştirmeleri nedeniyle bu etkenlerle oluşan enfeksiyonların tedavisinde farklı antibiyotik kombinasyonlarının kullanımı gündeme gelmiştir. Kombine antibiyotik tedavisi ile dirençli izolatlarla karşı sinerjistik etki sağlanabilmekte, ilaçların doza bağlı toksisitesi azalmaktadır (12). İlave olarak direnç gelişiminin önlenmesi sağlanmaktadır.

Klinik çalışmalarda farklı kombinasyonlar kullanılmıştır. İmipenem veya meropenemin bir aminoglikozid ile kombinasyonu ve beta-laktam/beta-laktamaz

inhibitörünün aminoglikozid ile kombinasyonu çoklu ilaç dirençli *A.baumannii* izolatlarına karşı sinerjistik etkili bulunmuştur (152). İmipenem veya seftazidim ile florokinolon kombinasyonu da öneriler arasında yer almaktadır (153). Lee ve arkadaşları ise çoklu ilaç dirençli *A. baumannii* bakteriyemisi olan dört hastayı karbapenem/sulbaktam kombinasyonu ile başarıyla tedavi ettiklerini bildirmişlerdir (154).

Çoklu ilaç dirençli asinetobakter enfeksiyonlarında polimiksin B'nin rifampisin veya imipenem ile kombinasyonu sıklıkla kullanılmaktadır (16). Kolistin/rifampisin kombinasyonu heterorezistan suşlara karşı sinerjistik etkili bulunmuştur ve kolistin dirençli suşların gelişmesini önlemektedir. Kolistin/imipenem kombinasyonu da heterorezistan *A.baumannii* izolatlarına karşı sinerjistik etkili bulunmuştur (134). Kolistin ve rifampisin kombinasyonu ile tedavi edilen *A.baumannii* ile enfekte 26 hastada başarılı sonuçlar elde edilmiştir (155). Bassetti ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada da çoklu dirençli *A.baumannii*'nin etken olduğu 19 nozokomiyal pnömoni, 10 bakteriyemi tanılı olmak üzere toplam 29 hasta da IV kolistimetat sodyum ve IV rifampisin kombine edilmiş, klinik ve mikrobiyolojik yanıt oranı %76 olarak bulunmuştur (156).

Kolistin duyarlı ve dirençli suşların yer aldığı bir çalışmada kolistin/meropenem kombinasyonunda 52 *A.baumannii*'nin 49'unda sinerji elde edilmiştir (157).

Falagas ve arkadaşlarının çalışmasında ise çoklu ilaç dirençli gram negatif bakteri enfeksiyonu olan çoğu nozokomiyal pnömoni tanılı 71 hastada kolistin ile kolistin/meropenem kombinasyonu karşılaştırılmış ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bildirilmiştir (158).

Glikopeptid/kolistin kombinasyon çalışmaları da yapılmaktadır. Karbapenem dirençli *A.baumannii*'nin etken olduğu bakteriyemi ve pnömonili hastalarda kolistin ve kolistin/vankomisin kombinasyonu karşılaştırılmış, klinik iyileşme, mortalite ve mikrobiyolojik eradikasyon oranları benzer bulunmuştur (159). Kombinasyon tedavisinde öneriler net değildir. İn vitro olarak sinerji testleri ile kombinasyon tedavilerinin araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

2009-2014 tarihleri arasında Ufuk Üniversitesi Dr. Rıdvan Ege Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen, enfeksiyon etkeni olduğu belirlenen ve çoklu antibiyotik dirençli olarak tespit edilen 50 adet *A.baumannii* suşu çalışmaya alınmıştır.

3.1. Bakterilerin İzolasyon ve İdentifikasyonu

Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örnekler %5 Koyun Kanlı Agar ve Eozin Metilen Blue (EMB) agar besiyerlerine ekilerek 37 °C etüvde 24-48 saat inkübe edildi. Besiyerinde saf olarak üreyen gram negatif, aerob, gram boyamada diplokok ya da kokobasil morfolojisinde saptanan, katalaz pozitif, oksidaz negatif, glukoz ve laktozu fermante etmeyen bakterilere asinetobakter şüphesiyle ileri identifikasyon testi yapıldı. Bakterilerin tamamı BD BBL Crystal E/NF yarı otomatize identifikasyon sistemi ile *A.baumannii* olarak tiplendirildi.

3.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

3.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Bakterilerin antibiyotiklere karşı duyarlılığı Kirby – Bauer disk difüzyon tekniği ile CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) Ocak-2011 önerileri dikkate alınarak Mueller-Hinton agarda (BD BBL, Fransa) yapıldı (160). Steril, tek kullanımlık, 15 cm çaplı petri plaklarına 4 mm yükseklikte besiyeri olacak şekilde Mueller-Hinton agar kullanıldı. Kültür plaklarında saf koloni halinde üremiş olan bakteri kolonilerinden steril öze ile bir miktar alınarak steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 Mc Farland bulanıklık sağlanacak şekilde süspanse edildi. Bu

süspansiyondan steril eküvyon ile Mueller-Hinton agar besiyeri üzerine yaygın ekim yapıldı. Plakların kurumasından sonra üretici firmalardan sağlanan antibiyotik diskleri plaklara aplike edildi. Çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri ampisilin/sulbaktam 10 µg (BD BBL), imipenem 10 µg (BD BBL), seftazidim 30 µg (BD BBL), gentamisin 10 µg (BD BBL), siprofloksasin 5 µg (BD BBL), sefepim 30 µg (BD BBL), amikasin 30 µg (BD BBL), trimetoprim/sülfametoksazol 1,25/23,75 µg (BD BBL), seftriakson 30 µg (BD BBL), piperasilin tazobaktam 100/10 µg (BD BBL), tigesiklin 15 µg (BD BBL), kolistin 10 µg (BD BBL) idi. Antibiyotik diskleri kenarlardan 15 mm ve birbirlerinden 25-30 mm uzaklıkta olacak şekilde plağa yerleştirildi ve 37 °C etüvde 18-24 saat inkübe edildikten sonra inhibisyon zon çapları ölçüldü. Elde edilen sonuçlar CLSI ve tigesiklin için Food and Drug Administration (FDA) kriterlerine göre belirtildiği şekilde duyarlı (S), orta duyarlı (I) veya dirençli (R) olarak yorumlandı.

En az üç antibiyotik sınıfının tipik antibiyotiklerine dirençli olan *A. baumannii* izolatları çoğul dirençli *A. baumannii* olarak tanımlandı. Bu amaçla kullanılan antibiyotik sınıfları; aminoglikozidler (gentamisin, amikasin, tobramisin), antipseudomonal penisilinler (piperasilin, tikarsilin), karbapenemler (imipenem, meropenem), sefalosporinler (sefepim, seftazidim, seftriakson, sefotaksim) ve kinolonlar (siprofloksasin, levofloksasin) ve buna ek olarak kolistin, ampisilin/sulbaktam ve/veya tetrasiklinlerdir (tetrasiklin, doksisisiklin).

Yukarıda sayılan antibiyotik sınıflarından en az üçüne dirençli olan *A. baumannii* izolatları çoğul dirençli *A. baumannii* olarak tanımlandı. Buna göre MDR olarak tespit edilen ve tamamı karbapenemlere dirençli bulunan toplam 50 adet *A.baumannii* izolatu çalışmamızda kullanılmak üzere seçildi ve Nutrient Broth (Oxoid, İngiltere) besiyeri içeren ependorflara pasajlanarak -80°C de saklandı.

3.2.2. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi (Broth Mikrodilüsyon Yöntemi, BMD)

Çalışmamızda kolistin ve tigesiklin için MİK değerlerini sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle saptamak üzere antibiyotiklerin toz şekilleri üretici firmalarından temin edildi. Antibiyotiklerin potens değerleri yine üretici firmalarından öğrenildi. Toz

halindeki antibiyotiklerin ml'de elde edilmek istenen konsantrasyonuna göre sulandırım yapılacak sıvı hacimleri aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\text{Hacim(ml)} = \text{Ağırlık(mg)} \times \text{Potens}(\mu\text{g/mg}) / \text{Konsantrasyon}(\mu\text{g/ml})$$

Çalışmada kullanılacak kolistin ve tigesiklinin toz formları için CLSI'nin önerdiği şekilde steril distile su kullanılarak antibiyotik stok solüsyonları hazırlandı. Distile su, ticari firmalarca üretilen hazır steril stoklardan kullanıldı.

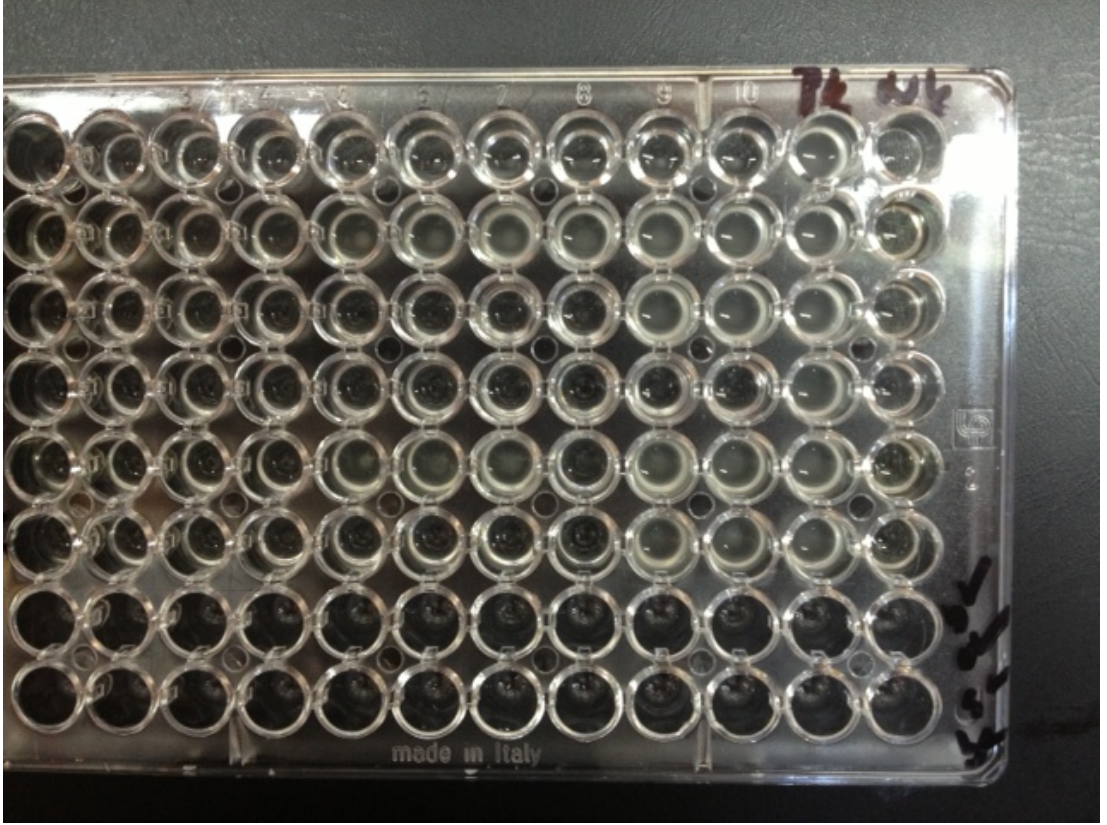
Antibiyotik tozları, darası alınmış steril kaplarda, hassas terazide tartıldı ve her antibiyotik için yukarıdaki formülle hesaplanan sıvı hacimleri kullanılarak uygun çözücü ve sulandırıcıda karıştırarak eritilip, dilüe hale getirildi.

Tüm antimikrobialerin hazırlanan stok solüsyonları, her bir bakteri suşu için gereken miktarda olacak şekilde steril ependorflara aktararak -80 °C'de saklandı.

CLSI'nin sıvı mikrodilüsyon yöntemi için standardize ettiği Katyon Ayarlı (20-25 mg/l Ca⁺⁺ ve 10-12,5 mg/l Mg⁺⁺ içeren) Mueller Hinton Broth (KAMHB) besiyeri, üretici firmadan (BD BBL Mueller Hinton II Broth) hazır olarak temin edildi ve çalışmamızda kullanıldı. Toz halindeki besiyeri, üretici firmanın kullanım talimatları doğrultusunda önerilen miktarda hassas terazide tartılarak yine önerilen miktarda distile su ile 10 dakika çalkalanarak iyice karıştırılıp, homojenize halde otoklavda steril edildi ve taze olarak kullanıldı.

Her bir bakteri ve antibiyotik için 96 kuyucuklu steril U tabanlı plaklar kullanıldı. Her antibiyotik için plağın 1'den 10'a kadar olan bir satırı kullanıldı. Kullanılan bu kuyucukların hepsine KAMHB besiyeri 100 µL ve ilk kuyucuğa test edilecek antibiyotiğin başlangıç konsantrasyonunu içeren çözeltisinden 100 µl eklendi. İlk kuyucuktaki antibiyotik başlangıç konsantrasyonu ve ilacın test edilecek MİK aralığı, CLSI'nin *A.baumannii* 'de kolistin için ve FDA'nın tigesiklin için belirlediği, duyarlı ve dirençli MİK değerleri esas alınarak belirlendi. Test edilecek en yüksek ilaç konsantrasyonunun eklendiği ilk kuyucuktan 100 µl alınıp 2. kuyucuğa aktarım ve pipetaj, 2. kuyucuktan 100 µl alınıp 3. kuyucuğa aktarım ve pipetaj şeklinde son kuyucuğa kadar (10. kuyucuk), ilacın çift kat seri dilüsyonları yapıldı ve son kuyucuktan 100 µl alınıp dışarı atıldı. Plak üzerindeki 11. kuyucuk üreme kontrolü, 12. kuyucuk ise besiyeri kontrolü için kullanıldı. Bu iki kuyucuğa antibiyotik

pipetlenmedi. Daha sonra, testin 48 saat öncesinde, -80°C’de muhafaza edilen bakteriler çıkarılıp oda ısısına gelmesi beklendi, %5 koyun kanlı ve EMB agar besiyerlerine pasajlandı, 37 °C’de 24 saat inkübe edilip üreyen saf kolonilerden %5 koyun kanlı agar besiyerine ikinci kez taze pasajı yapıldı ve bu bakteri kolonilerinden 3cc steril distile su içinde 0,5 McFarland bulanıklığa eşit olacak şekilde bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyon, 1/10 oranında KAMHB ile sulandırılarak, son bakteri inokulum konsantrasyonu 5×10^5 CFU/ml olacak şekilde üreme kontrol kuyucuğu da dahil olmak üzere her bir kuyucuğa 10 µl eklendi. Besiyeri kontrol kuyucuğuna bakteri süspansiyonu pipetlenmedi. Daha sonra plağın üstü kapatılarak 37 °C’de inkübasyona bırakıldı. 18-24 saatlik inkübasyondan sonra plak etüvden çıkarıldı, kuyucuklar gözle değerlendirildi ve üreme görülmeyen en düşük antibiyotik konsantrasyonu o ilacın çalışılan bakteri için MİK değeri olarak saptandı (Resim 3.1). Kolistin için elde edilen MİK değerleri CLSI’nin önerileri doğrultusunda değerlendirildi. Buna göre MİK değeri ≥ 4 µg/ml olduğunda dirençli, ≤ 2 µg/ml olduğunda duyarlı olarak değerlendirildi. Tigesiklin için CLSI standartları olmadığından FDA standartları kriter alındı. Tigesiklin için MİK değeri FDA kriterlerine göre; ≥ 8 µg/ml ise dirençli, 4-6 µg/ml ise orta derecede duyarlı ve ≤ 2 µg/ml ise duyarlı olarak değerlendirildi. Çalışmamızda standart suş olarak *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 kullanıldı.



Resim 3.1: Çoklu İlaç Dirençli *A. baumannii* Suşunun Kolistin ve Tigesiklin Duyarlılıklarının Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemiyle Belirlenmesi

3.2.3. E Test Yöntemi

Disk difüzyon yöntemi ile çoğul dirençli olarak değerlendirilen *A.baumannii* izolatlarının kolistin ve tigesiklin MİK değerlerinin saptanması için E test yöntemi kullanıldı. Yine iki antibiyotiğin in vitro sinerjistik aktivitesi üreticinin önerileri doğrultusunda E test yöntemi ile araştırıldı.

Çalışmamızda kullanılmak üzere hazır toz besiyerinden kullanma talimatına uygun şekilde Mueller-Hinton agar hazırlandı, otoklavda 1 atmosfer basınçta 121 °C’ de 15 dakika tutularak steril edildi. Otoklavdan çıkarıldıktan sonra oda sıcaklığında soğutularak 4 mm kalınlığında olacak şekilde petri kutularına döküldü ve buzdolabına kaldırıldı. On iki saati geçmeyecek şekilde taze olarak kullanıldı.

Çalışmaya alınan 50 çoğul dirençli *A. baumannii* izolatının her biri ile steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 Mc Farland bulanıklıkta süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyondan steril eküvyon ile Mueller-Hinton besiyeri içeren 15 cm çapındaki 2

adet plak yüzeyine yaygın ekim yapıldı. Plaklar kuruduktan sonra kolistin ve tigesiklin stripleri (Bioanalyse, Türkiye) yerleştirildi. Plaklar 37 °C’de, 20-24 saat inkübe edildikten sonra E test striplerinin inhibisyon elipsleri ile kesiştiği noktalardaki MİK değerleri okunarak kaydedildi. Kolistin için elde edilen MİK değerleri CLSI’nin önerileri doğrultusunda değerlendirildi. Buna göre E test striplerinin inhibisyon elipsleri ile kesiştiği noktalardaki MİK değeri ≥ 4 µg/ml olduğunda dirençli, ≤ 2 µg/ml olduğunda duyarlı olarak değerlendirildi.

Tigesiklin için CLSI standartları olmadığından FDA standartları kriter alındı. Tigesiklin için E test MİK değeri FDA kriterlerine göre; ≥ 8 µg/ml ise dirençli, 4-6 µg/ml ise orta derecede duyarlı ve ≤ 2 µg/ml ise duyarlı olarak değerlendirildi.

Kombinasyon çalışması için her bir plağa iki antibiyotiğin E test stripleri konuldu. Bir saat sonra plaklardan birindeki strip kaldırıldı ve aynı yere diğer antibiyotiğe ait strip yerleştirildi. Plaklar 37°C’de 18-24 saat bekletildikten sonra her bir ilaç ve kombinasyon için MİK değerleri okundu. (Resim 3.2, 3.3)

Kombinasyon çalışmamızdan elde edilen veriler değerlendirilirken kombinasyondaki her ilacın Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu (FİK) ve kombinasyonun Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon İndeksi (Σ FİK, FİKİ) tespit edilmesi esas alındı. Bu amaçla; kombine edilen A ve B ilaçları için aşağıdaki formüller kullanıldı.

$$\Sigma FİK = FİK A + FİK B$$

$$FİK A = A \text{ ilacının kombinasyondaki MİK değeri} / A \text{ ilacının tek başına MİK değeri}$$

$$FİK B = B \text{ ilacının kombinasyondaki MİK değeri} / B \text{ ilacının tek başına MİK değeri}$$

Daha sonra her iki ilacın FİK değerleri toplanarak FİK indeksi bulunmuştur.

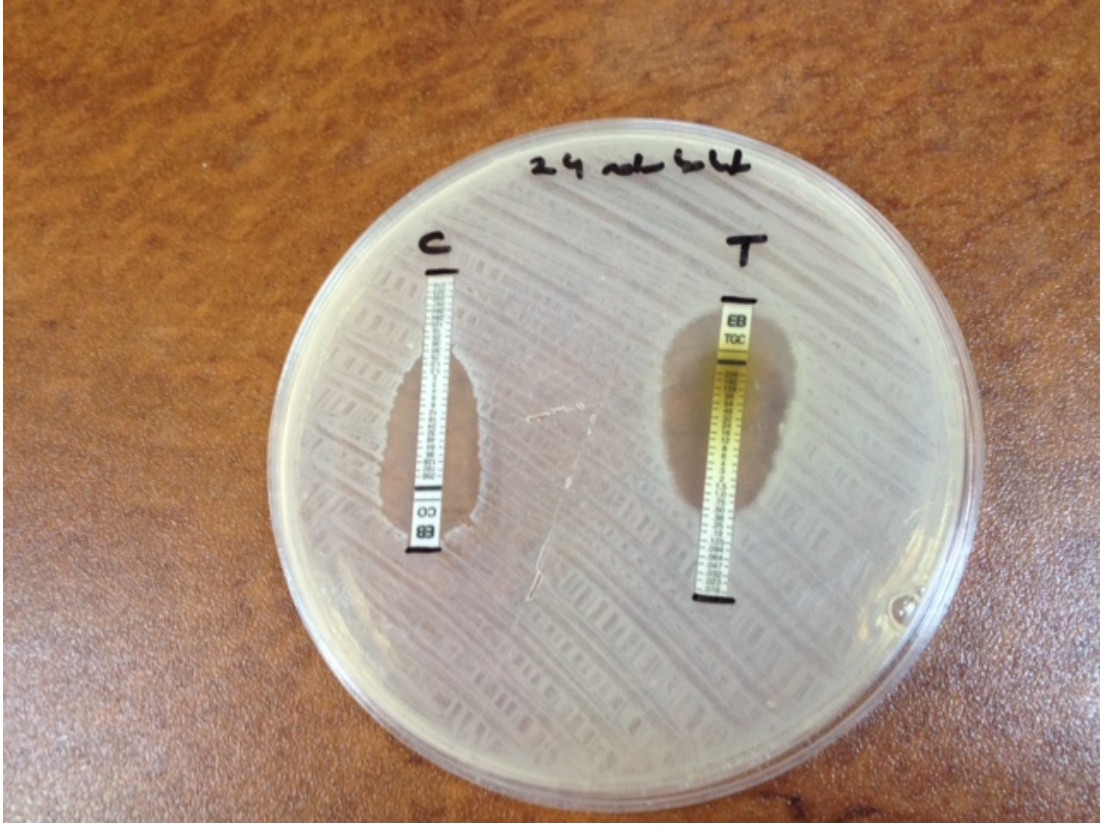
Σ FİK sonuçları şu şekilde yorumlandı:

$\leq 0,5$ sinerjistik,

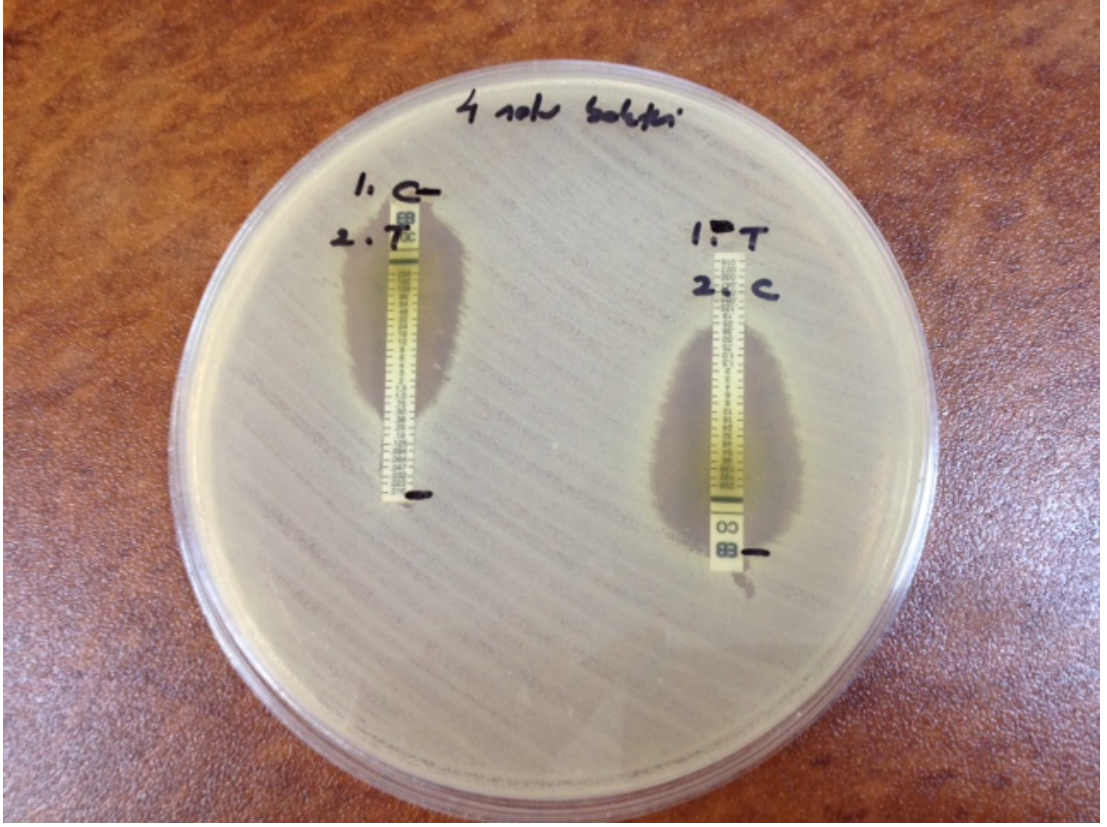
$>0,5 - \leq 1$ additif,

$>1 - \leq 4$ indiferent,

>4 antagonistik (161).



Resim 3.2: Çoklu İlaç Dirençli *A. baumannii* Suşunda Kolistin ve Tigesiklin Duyarlılıklarının E test Yöntemiyle Belirlenmesi



Resim 3.3: Kolistin/tigesiklin Kombinasyonunda Gözlenen Etkileşim

İstatistiksel analiz

Kolmogorov-Smirrov testi ile normallik testi yapıldı. Veriler normal dağılımlı olmadığı için ikili karşılaştırmada Mann-Whitney U testi kullanıldı. Korelasyon için Spearman korelasyon katsayısı kullanıldı. $P < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda izole edilen çoklu ilaç dirençli *A. baumannii* suşlarının kliniklere ve klinik örneklere göre dağılımı Tablo 4.1 ve 4.2’de gösterilmektedir.

Tablo 4.1: *A. baumannii* İzolatlarının Klinik Örneklere Göre Dağılımı

Klinik örnekler	Sayı	Yüzde
Trakeal aspirat	32	64
İdrar	3	6
Yara	1	2
Eklem sıvısı	1	2
Bronkoalveolar lavaj sıvısı	1	2
Balgam	3	6
Kan	8	16
Dren sıvısı	1	2
Toplam	50	100

Tablo 4.2: *A. baumannii* İzolatlarının Kliniklere Göre Dağılımı

Servis	Sayı	Yüzde
Yoğun bakım	47	94
Genel cerrahi	1	2
Ortopedi	2	4
Toplam	50	100

A.baumannii izolatlarında ampicilin/sulbaktam, piperasilin/tazobaktam, seftazidim, seftriakson, siprofloksasin antibiyotiklerinden her birisine %100, sulbaktam/sefaperazona %68, sefepime %98, amikasine %68, gentamisine %72, trimetoprim/sulfametoksazole %78, imipeneme %96, tigesikline karşı %58 oranlarında direnç saptanmıştır. Kolistine karşı direnç saptanmamıştır ve bütün izolatlar kolistine duyarlıdır. *A.baumannii* izolatlarının disk difüzyon yöntemiyle duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak belirlenen antibiyotik duyarlılık test sonuçları Tablo 4.3’de gösterilmektedir.

Tablo 4.3: Disk Difüzyon Yöntemi ile Duyarlılık Sonuçları

Antibiyotik	S n (%)	I n (%)	R n (%)
Ampisilin/sulbaktam	-	-	50(100)
Piperasilin/tazobaktam	-	-	50(100)
Seftriakson	-	-	50(100)
Seftazidim	-	-	50(100)
Sulbaktam/sefaperazon	3(6)	13(26)	34(68)
Sefepim	-	1(2)	49(98)
Siprofloksasin	-	-	50(100)
Amikasin	13(26)	3(6)	34(68)
Gentamisin	12(24)	2(4)	36(72)
Trimetoprim/sulfametaksazol	5(10)	6(12)	39(78)
İmipenem	2(4)	-	48(96)
Tigesiklin	29(58)	-	21(42)
Kolistin	50(100)	-	-

Çoklu ilaç dirençli 50 *A.baumannii* izolatının tigesiklin ve kolistin direnci sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldığında dirençli suş tespit edilmemiştir. Suşların %100'ü tigesiklin ve kolistine karşı duyarlıdır. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile tespit edilen antibiyotik duyarlılık test sonuçları Tablo 4.4'de gösterilmiştir

Tablo 4.4: Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Duyarlılık Sonuçları

Antibiyotik	S n (%)	I n (%)	R n (%)
Kolistin	50 (100)	-	-
Tigesiklin	50 (100)	-	-

Çoklu ilaç dirençli 50 *A.baumannii* izolatının tigesiklin ve kolistin direnci E test yöntemi ile araştırıldığında dirençli suş tespit edilmemiştir. Suşların %100'ü tigesiklin ve kolistine karşı duyarlıdır. E test ile tespit edilen antibiyotik duyarlılık test sonuçları Tablo 4.5'de gösterilmiştir

Tablo 4.5: E test Yöntemi ile Duyarlılık Sonuçları

Antibiyotik	S n (%)	I n (%)	R n (%)
Kolistin	50 (100)	-	-
Tigesiklin	50 (100)	-	-

Çalışmamızda kullanılan çoklu ilaç dirençli 50 *A.baumannii* izolatının her birinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak tigesiklin ve kolistin için MİK değerleri saptanmıştır. Buna göre çalışmada kullanılan suşların %100'ü tigesiklin ve kolistine karşı duyarlıdır. Sıvı mikrodilüsyon ile tespit edilen MİK değerlerinin dağılımı Tablo 4.6 ve 4.7'de gösterilmiştir.

Tablo 4.6: *A.baumannii* Suşlarının Sıvı Mikrodilüsyon Testi ile Bulunan Kolistin Minimal İnhibitör Konsantrasyon Sonuçları

İlaç konsantrasyonu (µg/mL)	Kolistin (n/%)
32	-
16	-
8	-
4	-
2	-
1	5(10)
0,5	7(14)
0,25	13(26)
0,125	10(20)
0,0625	10(20)
0,03	5(10)

Tablo 4.7: *A.baumannii* Suşlarının Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi ile Bulunan Tigesiklin Minimal İnhibitör Konsantrasyon Sonuçları

İlaç konsantrasyonu (µg/mL)	Tigesiklin (n/%)
128	-
64	-
32	-
16	-
8	-
4	-
2	-
1	9(18)
0,5	30(60)
0,25	11(22)

A. baumannii suşlarına karşı E test yöntemiyle elde edilen kolistin, tigesiklin ve kolistin/tigesiklin kombinasyonundan elde edilen MİK değerleri ve sonuçları tablo 4.8'de gösterilmiştir:

Tablo 4.8: *A. baumannii* Suşlarının E test Yöntemiyle Kolistin, Tigesiklin Antibiyotiklerinin ve Kombinasyonlarının Minimal İnhibitör Konsantrasyon Değerleri (µg/mL)

Suş no	Kolistin	Tigesiklin	Tigesiklin + Kolistin	Kolistin +Tigesiklin
1	0,5	0,38	0,19	0,25
2	0,75	0,75	0,25	0,38
3	0,25	0,25	0,25	0,5
4	0,5	0,38	0,75	0,25
5	1,5	0,5	0,5	0,75
6	0,75	0,5	0,5	0,5
7	1,5	0,25	0,5	0,5
8	0,5	0,5	0,5	0,38
9	1	0,25	0,19	0,5
10	0,25	0,06	0,38	0,19
11	1	1,25	0,12	0,09
12	0,38	0,38	0,75	0,5
13	1,5	0,5	0,75	0,5
14	0,5	0,5	0,5	0,75
15	0,5	0,5	0,02	0,75
16	0,5	0,5	0,38	0,38
17	0,75	0,5	0,75	0,5
18	0,75	0,5	0,38	0,38
19	0,06	0,38	0,38	0,38
20	0,5	0,5	0,5	0,5
21	0,5	0,38	0,38	0,38
22	0,5	0,25	0,5	0,19
23	0,5	0,38	0,5	0,75
24	0,5	0,38	0,38	0,38
25	0,25	0,38	0,38	0,5

Tablo 4.8 (Devamı): *A. baumannii* Suşlarının E test Yöntemiyle Kolistin, Tigesiklin Antibiyotiklerinin ve Kombinasyonlarının Minimal İnhibitör Konsantrasyon Değerleri (µg/mL)

26	0,5	0,5	0,38	0,38
27	0,38	0,5	0,5	0,5
28	0,5	0,38	0,5	0,5
29	0,75	0,38	0,38	0,25
30	1,5	0,5	0,38	0,38
31	0,38	0,75	0,5	0,02
32	0,25	0,38	0,38	0,5
33	0,5	0,75	0,75	0,5
34	0,75	0,5	0,02	0,5
35	0,75	0,25	0,5	0,5
36	0,5	0,5	0,38	0,5
37	0,19	0,75	0,5	0,38
38	0,75	0,75	0,75	0,38
39	0,38	0,5	0,38	0,25
40	1	0,75	0,38	0,25
41	0,75	0,25	0,38	0,5
42	0,75	0,75	0,5	0,5
43	0,75	0,5	0,5	0,75
44	0,75	0,5	0,5	0,5
45	1	0,38	0,38	0,5
46	0,5	0,19	0,09	0,25
47	0,5	0,38	0,5	0,38
48	0,5	0,38	0,5	0,38
49	0,75	0,38	0,38	0,06
50	0,75	0,5	0,38	0,5

Çalışmamızda kolistin/tigesiklin kombinasyonunda %2 oranında sinerji, %6 oranında additif etkileşim, %88 oranında indiferent etkileşim, %4 oranında antagonizma saptanmıştır. Tablo 4.9’da kolistin/tigesiklin kombinasyonundan elde edilen etkileşimlerin sayısı ve oranları görülmektedir.

Tablo 4.9: Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon Değerlerine Göre Kolistin/Tigesiklin Etkileşim Sonuçları

Etki	Sayı	Yüzde
Sinerji	1	2
Additif	3	6
İndiferent	44	88
Antagonizma	2	4
Toplam	50	100

Tablo 4.10’da kolistin ve tigesiklin kombinasyonu ile elde edilen FİK A, FİK B, FİK indeksi ve etkileşim sonuçları görülmektedir. Buna göre FİK A 0,03-5,90 µg/mL , FİK B 0,03-2,96 µg/mL , FİK indeksi 0,19-6,90 µg/mL arasındadır.

Tablo 4.10: Kolistin ve Tigesiklin Kombinasyonunun E test Yöntemiyle Ekileşim Sonuçları

Kombinasyon A +B	FİK A	FİK B	FİK indeks	Etkileşim
1	0,38	0,65	1,03	indiferent
2	0,33	0,5	0,83	additif
3	1	2	3	indiferent
4	1,5	0,65	2,15	indiferent
5	0,33	1,5	1,83	indiferent
6	0,66	1	1,66	indiferent
7	0,33	2	2,33	indiferent
8	1	0,76	1,76	indiferent
9	0,19	2	2,19	indiferent
10	1,52	2,96	4,48	antagonist
11	0,12	0,07	0,19	sinerjistik
12	1,97	1,31	3,28	indiferent
13	0,5	1	1,5	indiferent
14	1	1,5	2,5	indiferent
15	0,04	1,5	1,54	indiferent
16	0,76	0,76	1,52	indiferent
17	1	1	2	indiferent
18	0,5	0,76	1,26	indiferent
19	5,9	1	6,9	antagonist
20	1	1	2	indiferent
21	0,76	1	1,76	indiferent
22	1	0,76	1,76	indiferent
23	1	1,97	2,97	indiferent
24	0,76	1	1,76	indiferent
25	1,52	1,31	2,83	indiferent
26	0,76	0,76	1,52	indiferent

Tablo 4.10 (Devamı): Kolistin ve Tigesiklin Kombinasyonunun E test Yöntemiyle Ekileşim Sonuçları

27	1,31	1	2,31	indiferent
28	1	1,31	2,31	indiferent
29	0,5	0,65	1,15	indiferent
30	0,25	0,76	1,01	indiferent
31	1,31	0,03	1,34	indiferent
32	1,52	1,31	2,83	indiferent
33	1,5	0,66	2,16	indiferent
34	0,03	1	1,03	indiferent
35	0,66	2	2,66	indiferent
36	0,76	1	1,76	indiferent
37	2,63	0,5	3,13	indiferent
38	1	0,5	1,5	indiferent
39	1	0,5	1,5	indiferent
40	0,38	0,33	0,71	additif
41	0,5	2	2,5	indiferent
42	0,66	0,66	1,32	indiferent
43	0,66	1,5	2,16	indiferent
44	0,66	1	1,66	indiferent
45	0,38	1,31	1,69	indiferent
46	0,18	1,31	1,49	indiferent
47	1	1	2	indiferent
48	1	1	2	indiferent
49	0,5	0,16	0,66	additif
50	0,5	1	1,5	indiferent

Tablo 4.11: E test Yöntemi ile Belirlenen Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon ve Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon İndeksi Değer Aralıkları

	FIK A ($\mu\text{g/mL}$)	FIK B ($\mu\text{g/mL}$)	FIK indeksi ($\mu\text{g/mL}$)
E test	0,03-5,90	0,03-2,96	0,19-6,90

Sıvı mikrodilüsyon ve E test yöntemiyle kolistin ve tigesiklin için elde edilen MİK değerleri Tablo 4.12'de görülmektedir.

Tablo 4.12: Sıvı Mikrodilüsyon ve E test ile Minimal İnhibitör Konsantrasyon Değerleri ($\mu\text{g/mL}$)

Suş no	Kolistin		Tigesiklin	
	BMD	E test	BMD	E test
1	0,12	0,5	0,5	0,38
2	0,12	0,75	1	0,75
3	0,25	0,25	0,5	0,25
4	0,5	0,5	0,5	0,38
5	1	1,5	0,5	0,5
6	0,5	0,75	1	0,5
7	0,25	1,5	0,5	0,25
8	0,25	0,5	0,5	0,5
9	1	1	0,5	0,25
10	0,06	0,25	0,25	0,06

Tablo 4.12 (Devamı): Sıvı Mikrodilüsyon ve E test ile Minimal İnhibitör Konsantrasyon Değerleri (µg/mL)

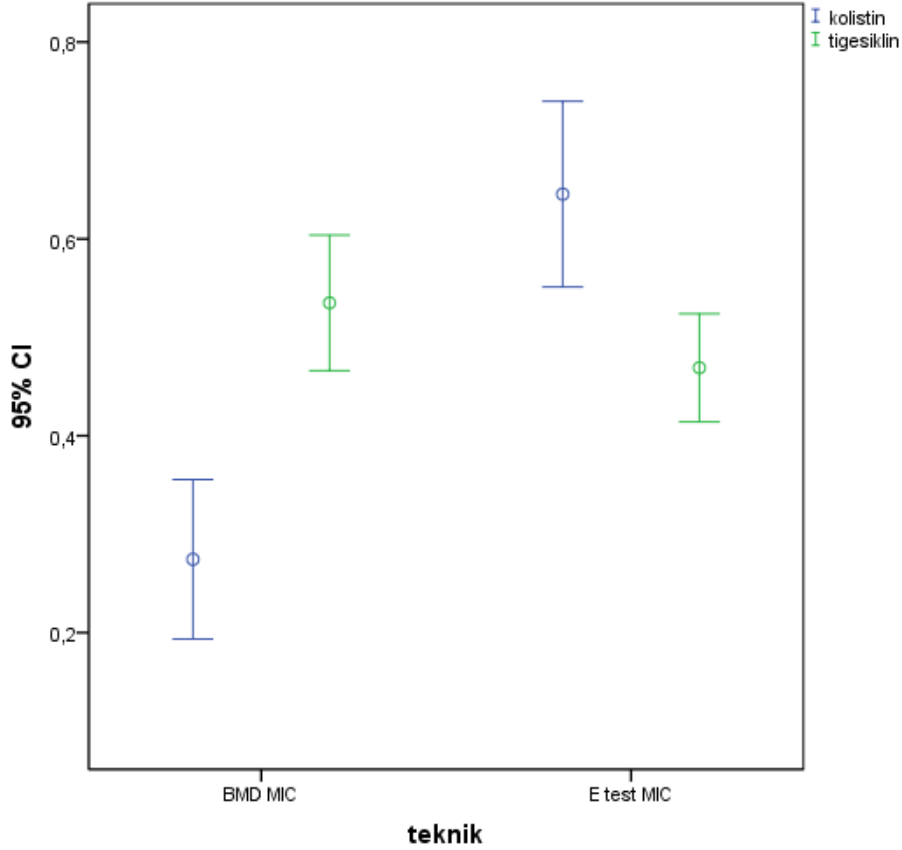
11	0,5	1	0,25	1,25
12	0,25	0,38	0,5	0,38
13	0,12	1,5	0,5	0,5
14	0,25	0,5	0,5	0,5
15	1	0,5	0,5	0,5
16	0,25	0,5	0,5	0,5
17	0,25	0,75	0,5	0,5
18	0,06	0,75	0,25	0,5
19	0,25	0,06	0,5	0,38
20	0,25	0,5	0,5	0,5
21	0,03	0,5	0,25	0,38
22	0,25	0,5	0,25	0,25
23	1	0,5	1	0,38
24	1	0,5	0,5	0,38
25	0,03	0,25	0,5	0,38
26	0,06	0,5	0,5	0,5
27	0,12	0,38	0,5	0,5
28	0,5	0,5	0,5	0,38
29	0,25	0,75	0,5	0,38
30	0,12	1,5	1	0,5
31	0,12	0,38	0,5	0,75
32	0,06	0,25	0,5	0,38
33	0,12	0,5	0,5	0,75
34	0,06	0,75	0,25	0,5
35	0,06	0,75	0,5	0,25
36	0,06	0,5	0,25	0,5

Tablo 4.12 (Devamı): Sıvı Mikrodilüsyon ve E test ile Minimal İnhibitör Konsantrasyon Değerleri (µg/mL)

37	0,03	0,19	1	0,75
38	0,25	0,75	0,5	0,75
39	0,06	0,38	1	0,5
40	0,06	1	0,5	0,75
41	0,06	0,75	0,25	0,25
42	0,12	0,75	0,5	0,75
43	0,12	0,75	1	0,5
44	0,5	0,75	0,25	0,5
45	0,5	1	0,5	0,38
46	0,03	0,5	0,25	0,19
47	0,03	0,5	1	0,38
48	0,12	0,5	1	0,38
49	0,5	0,75	0,25	0,38
50	0,25	0,75	0,5	0,5

Sıvı mikrodilüsyon ve E test yöntemleriyle *A. baumannii* suşlarında kolistin için MİK değer aralığı sırasıyla 0,03-1,0 µg/mL ve 0,06-1,5 µg/mL, tigesiklin için MİK değer aralığı sırasıyla 0,25-1,0 µg/mL ve 0,03-1,25 µg/mL olarak belirlenmiştir (Tablo 4.13)

Tablo 4.13: Kolistin ve Tigesiklin İçin Sıvı Mikrodilüsyon ve E test Yöntemiyle Belirlenen Minimal İnhibitör Konsantrasyon Değer Aralıkları



Sıvı mikrodilüsyon ve E test yöntemleri birbirleriyle karşılaştırıldığında kolistin için p değeri 0,128, tigesiklin için p değeri 0,051 bulunmuştur ve istatistiksel olarak iki yöntem sonuçları arasında korelasyon saptanmamıştır.

5. TARTIŞMA

Acinetobacter baumannii, özellikle yoğun bakım ünitelerinde nozokomiyal enfeksiyonlara ve epidemilere yol açan önemli bir patojendir (27). *A. baumannii*'nin yoğun bakımlarda mekanik aletlerin yüzeylerine, hastaların ve personelin ellerine kolonize olması, bakterinin bu birimlerden sıklıkla izole edilmesinin en önemli nedenlerindendir (162). Bu mikroorganizmanın epidemiyolojik ve klinik önemi, geniş spektrumlu beta-laktamlar, aminoglikozidler ve florokinolonlar gibi birçok antibiyotiğe direnç geliştirmeye eğiliminin olmasıyla ilişkilidir (163).

Ülkemizde YBÜ'lerinde en önemli gram negatif enfeksiyon etkenleri arasında bulunan *Acinetobacter baumannii*, giderek artan sıklıkta gözlenmekte olup, antibiyotiklere de yüksek oranda dirençli duruma gelmektedir. Dirençli gram negatif bakteri enfeksiyonlarında yaygın olarak kullanılan karbapenemler, *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde halen seçenekler arasında yer almaktadır. Ancak sınıf D karbapenemazların yayılımı ile birlikte etkinlikleri tehlikeye girmektedir (164, 165). Ülkemizde yapılan çalışmalarda imipeneme %65,3-92 arasında farklı merkezlere göre değişen direnç oranları saptanırken (166-170), Avrupa ülkelerinden bildirilen daha düşük oranlar bulunmaktadır (171).

YBÜ'lerinde uygunsuz ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı antibiyotik direnç oranlarının artmasında önemli bir etken olarak gösterilmektedir (172). Epidemiyolojik koşulların, antibiyotik kullanımı ve antibiyotik kontrol politikalarındaki farklılıkların bir sonucu olarak ülkeler, hastaneler ve hastane bölümleri arasında *Acinetobacter spp.*'lerin antibiyotik duyarlılık profilleri arasında farklılıklar gözlenmektedir (173).

Bizim çalışmamızda incelenen *A. baumannii* suşlarında imipenem de dahil olmak üzere, birçok antibiyotiğe yüksek oranda direnç tespit edilmiştir. Disk difüzyon yöntemiyle ampisilin/sulbaktama, piperasilin/tazobaktama, seftazidime, seftriaksona, ve siprofloksasine %100, sulbaktam/sefaperazona %68, sefepime %98, amikasine %68, gentamisine %72, trimetoprim/sulfametoksazole %78, imipeneme %96,

tigesikline %42 oranında direnç saptanırken, tüm suşlar kolistine duyarlı bulunmuştur. Sıvı mikrodilüsyon ve E test yöntemlerinde ise tigesiklin ve kolistine direnç saptanmamıştır. Disk difüzyon yönteminin tigesiklin için güvenilir olmadığı bildirildiğinden (174), bu yöntemle belirlenen direnç oranı dikkate alınmamış ve tigesiklin tüm suşlara duyarlı kabul edilmiştir.

Ülkemizden Iraz ve arkadaşlarının 2012 yılında yayınladıkları çalışmalarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 143 asinetobakter suşunun antibiyotik duyarlılık oranları araştırılmış ve bizim çalışmamıza benzer şekilde en yüksek duyarlılık kolistin için saptanmıştır. Kolistin duyarlılık oranı %99, tigesiklin duyarlılık oranı ise %53 olarak bulunmuştur. Diğer antibiyotiklere duyarlılık oranları ise imipenem %8, amikasin %69, gentamisin %46, trimetoprim-sulfametaksazol %35, sefaperazon/sulbaktam %9, siprofloksasin %8, sefepim %7, piperasilin/tazobaktam %7, seftazidim %6, ampisilin/sulbaktam %6 şeklinde bildirilmiştir. Araştırmacılar hastanelerinde artan antibiyotik direnç oranlarına dikkat çekmişlerdir (170).

Hakyemez ve arkadaşları ise çalışmalarında nozokomiyal enfeksiyon etkeni olan *A. baumannii* izolatlarında kolistin ve tigesiklini en etkili antibiyotikler olarak bulmuşlar ve bizim çalışmamıza benzer şekilde kolistin ve tigesiklin direnci saptamamışlardır. Hastanelerinde yıllar içinde *A. baumannii* suşlarında antibiyotik direnç oranlarının arttığını belirtmişler ve 2011 yılındaki direnç oranlarını, amikasin %81,2, sefepim %90, siprofloksasin %83,3, gentamisin %83,3, imipenem %88,4, piperasilin/tazobaktam %93,3, tetrasiklin %72, trimetoprim/sulfametaksazol %76 şeklinde bildirmişlerdir (169).

Özdemir ve arkadaşları 217 asinetobakter suşunda çeşitli antibiyotiklerin duyarlılıklarını disk difüzyon yöntemiyle araştırmışlardır. Suşların %100'ü kolistine, %99'u tigesikline, %75'i netilmisine, %30'u imipeneme duyarlı bulunmuştur. Karbapenem direncinin arttığına dikkat çekilmiş ve bu durum karbapenemlerin çok fazla kullanılmasıyla ilişkilendirilmiştir (167).

Çalışmamızda elde ettiğimiz antibiyotik duyarlılık sonuçlarına benzer şekilde, Hindistan'da yapılan bir çalışmada ise, *A. baumannii* izolatlarında amikasin, gentamisin, sefepim, seftazidim, sefaperazon/sulbaktam, piperasilin/tazobaktam, siprofloksasin, imipenem, tigesiklin, polimiksin B ve kolistin direnç oranlarını sırasıyla %90, %85, %90, %92, %92, %89, %91, %89, %74, %1,9 ve %1,2 olarak bildirmişlerdir (175).

Sieniawski ve arkadaşlarının çalışmasında enfeksiyon etkeni olduğu belirlenen *A. baumannii* suşlarında duyarlılık oranları; kolistin %90, imipenem %64, ampisilin/sulbaktam %28, amikasin %27, gentamisin %24, piperasilin/sulbaktam %16, trimetoprim/sulfametaksazol %11, sefepim %9, seftazidim ve siprofloksasin %7 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada duyarlılık oranlarının yüksek olması nedeniyle kolistin asinetobakter enfeksiyonlarında tedavide beta-laktam grubu antibiyotiklere alternatif olabileceği belirtilmiştir (171).

Capone ve arkadaşlarının çalışmasında 80 MDR *A. baumannii* izolatında antibiyotik duyarlılıkları araştırılmış, izolatların %90 ve daha fazlası piperasilin, piperasilin/tazobaktam, sefepim, seftazidim, aztreonam, siprofloksasin ve levofloksasine dirençli bulunmuştur. İmipenem, meropenem, gentamisin, ampisilin/sulbaktam, tigesiklin ve kolistin direnç oranları sırasıyla %77,5, %43,7, %46,2, %22,5, %3,7 ve %1,2 olarak bildirilmiştir. Tigesiklin için izolatların %72,5'i duyarlı, %23,7'i orta duyarlı olarak belirlenmiştir (176).

Navon-Venezia ve arkadaşları 82 MDR *A. baumannii* izolatında duyarlılık sonuçlarını çalışmalarında belirtmişlerdir. Buna göre tüm izolatlar disk difüzyon yöntemiyle aminoglikozidlere, sefalosporinlere ve florokinolonlara dirençli bulunmuştur. İmipenem direnç oranı %24,4 olarak belirlenmiştir. Tigesiklin için ise ilave olarak E test yöntemi kullanılmış ve izolatların %66'sı dirençli belirlenmiştir. E test ve disk difüzyon yöntemleriyle elde edilen direnç oranlarının korelasyon gösterdiği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise E test ve disk difüzyon yöntemleriyle kolistin için elde edilen sonuçlar korelasyon gösterirken, tigesiklin için aynı uyum görülmemiştir. Araştırmacılar çalışmalarının sonucunda tigesiklinin dirençli

asinetobakter enfeksiyonları tedavisinde sınırlı da olsa bir klinik yarar sağlayabileceğini belirtilmişlerdir (177).

Asinetobakter enfeksiyonlarının tedavisinde en önemli problem, çoğul dirençli kökenlerin sayısında artma ve buna bağlı olarak da tedavide kullanılabilirlik seçeneklerinin azalmasıdır (4, 178). Asinetobakter enfeksiyonlarında kolistin ve tigesiklin günümüzde tedavide kullanılabilirlik kısıtlı sayıda iki antibiyotik olarak görülmektedir.

Kolistin, dirençli suşların bildirilmesine rağmen, çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter baumannii*'ye oldukça etkili olan, polimiksin sınıfında yer alan eski bir antibiyotiktir (130). Çok merkezli bir çalışmada karbapenem dirençli *Acinetobacter* spp. suşlarında kolistin direnç oranı %2.8, çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter* spp. suşlarında ise %3.2 olarak bildirilmiş ve kolistin *Acinetobacter* spp. üzerine etkinliğinin oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir (77).

Tigesiklin ise glisilsiklin grubu antibiyotiklerin ilk üyesidir. Gram negatiflere, gram pozitiflere, anaeroblara ve atipik bakterilere etkili geniş spektrumlu bir antibiyotiktir (179). Tigesiklin asinetobakter suşlarına karşı etkili olup (3), MDR *A. baumannii* enfeksiyonlarında halen seçenekler arasında bulunmaktadır. Ancak direnç oranlarının yakından takip edilmesi önerilmektedir. Bununla birlikte *A. baumannii*'nin neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde, tigesiklin ile ilgili klinik deneyimin azlığı ve sıklıkla kombinasyon tedavisinde kullanıldığı retrospektif çalışmalarda görülmüştür (37).

Bizim çalışmamızda BMD ve E test yöntemleriyle kolistin MİK değer aralığı sırasıyla 0,03-1µg/mL, 0,06-1,5 µg/mL iken, tigesiklin MİK değer aralığı 0,25-1 µg/mL ve 0,19-1,25 µg/mL'dir. Yöntemler arasında istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. BMD yöntemiyle kolistin için MİK 50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla 0,12 µg/mL ve 0,50 µg/mL iken, tigesiklin için 0,50 µg/mL ve 1 µg/mL bulunmuştur. E test yöntemiyle ise kolistin için MİK 50 ve MİK 90 değerleri

sırasıyla 0,50 µg/mL ve 1 µg/mL iken, tigesiklin için 0,50 µg/mL ve 0,75 µg/mL olarak bulunmuştur.

Mezzatesta ve arkadaşlarının çalışmasında sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle *A. baumannii*'nin kolistine %99, tigesikline %93 oranında duyarlı olduğu bulunmuştur. Kolistin MİK değeri 0,015-16 mg/L, tigesiklin MİK değeri ise 0,25-8 arasında saptanmıştır (180).

Livermore ve arkadaşlarının çalışmalarında karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında kolistin MİK değer aralığı (0,5-1 mg/L) bizim sonuçlarımızla benzerlik gösterirken, tigesiklin MİK değer aralığı (0,25-16 mg/L) için bu uyum belirlenememiştir (181).

Sheng ve arkadaşları çalışmalarında karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında E test yöntemiyle kolistin duyarlılık oranını %97 (MİK değer aralığını 0,125-4 mg/L), tigesiklin duyarlılık oranını %88 (MİK değer aralığını 0,25-8 mg/L) olarak bildirmişlerdir. Kolistin MİK 50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla 0,25 mg/L ve 1 mg/L, tigesiklin MİK 50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla 2 mg/L ve 4 mg/L olarak bulunmuştur (182). E test yöntemiyle ülkemizden Dizbay ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise MDR *A. baumannii* izolatlarında kolistin MİK değer aralığı 0,019-2 µg/mL, tigesiklin MİK değer aralığı 1-16 µg/mL, kolistin MİK 50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla 0,19 µg/mL ve 0,5 µg/mL, tigesiklin MİK 50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla 2 µg/mL ve 2 µg/mL olarak bulunmuştur (168). Her iki çalışmada elde edilen kolistin MİK değerleri bizim sonuçlarımızla paralellik gösterirken, tigesiklin MİK değer aralığı farklılık göstermektedir.

Chuang ve arkadaşları *A. baumannii* izolatlarında kolistin MİK değer aralığını 0,5-2 mg/L, tigesiklin MİK değer aralığını 0,125-16 mg/L olarak bildirmişlerdir. Kolistin MİK 50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla 1 mg/L ve 2 mg/L, tigesiklin MİK 50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla 2 mg/L ve 4 mg/L olarak bulunmuştur (183).

Sarıgüzel ve arkadaşları kan kültürlerinden izole edilen 100 *A. baumannii* suşunu dahil ettikleri çalışmalarında 99 tane suşun çoklu ilaç direncine sahip olduğunu, disk difüzyon yöntemiyle %100 duyarlılık oranı ile kolistin en etkili antibiyotik olduğunu bulmuşlardır. E test yöntemiyle tigesiklin MİK değer aralığını ise 0,125-2 µg/mL, MİK 50 değerini 1 µg/mL, MİK 90 değerini 2 µg/mL olarak saptamışlardır (184).

Sader ve arkadaşları çalışmalarında *Acinetobacter* spp. suşlarının %100'ünü polimiksin B'ye, %93,3'ünü tigesikline duyarlı bulmuşlardır. Polimiksin B ve tigesiklinin MİK değer aralıkları sırasıyla ≤1-2; 0,06-8 µg/mL olarak bulunmuştur. Tigesiklin için MİK 50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla 1 µg/mL ve 2 µg/mL, polimiksin B için ≤ 1 µg/mL ve ≤ 1 µg/mL olarak belirtilmiştir (185).

Hawley ve arkadaşları ABD askeri personelinden izole ettikleri asinetobakter suşlarının duyarlılıklarını BMD yöntemiyle araştırmışlar ve MİK değer aralıklarını kolistin için 0,25-8 µg/mL, polimiksin B için 0,5-4 µg/mL, tigesiklin için 0,12->8 µg/mL olarak bulmuşlardır. MİK 50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla kolistin için 1 µg/mL ve 1 µg/mL ; tigesiklin için 2 µg/mL ve 8 µg/mL olarak belirlenmiştir. Çalışmada en etkili antibiyotikler kolistin, polimiksin B ve minosiklin olarak bulunurken, minosiklinin tigesiklinden daha etkili olduğu dikkat çekmiştir (62).

2007 yılında çeşitli klinik örneklerden elde edilen gram negatif bakterilerin kolistin duyarlılık oranlarının araştırıldığı bir çalışmada *A. baumannii* izolatlarında MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle <0,5- >64 µg/mL arasında bulunmuştur. Bu çalışmada araştırmacılar kolistin duyarlılığını farklı yöntemlerle araştırarak, sıvı mikrodilüsyon yöntemini referans metod olarak önermişlerdir. Ayrıca, E test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle elde edilen sonuçların korelasyon gösterdiğini belirtmişlerdir (186). Bizim çalışmamızda da E test ve sıvı mikrodilüsyon ile elde edilen sonuçlar paralellik göstermektedir.

Akın ve arkadaşları çalışmalarında *A. baumannii* izolatlarında tigesiklin, kolistin ve polimiksin B duyarlılıklarını disk difüzyon, E test ve sıvı mikrodilüsyon

yöntemleriyle araştırmışlardır. Her üç yöntemle de izolatların tümü kolistine duyarlı bulunmuştur. Tigesiklin duyarlılığında disk difüzyon ile sıvı mikrodilüsyon yöntemleri arasında anlamlı fark bulunmaz iken, sıvı mikrodilüsyon ile E test yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür. E testin duyarlılık oranları daha düşük tespit edilmiştir. Polimiksin B duyarlılığının saptanmasında ise yöntemler arasında anlamlı fark bulunmamıştır (187). Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak tigesiklin için disk difüzyon yöntemiyle sıvı mikrodilüsyon yöntemi arasında farklılık tespit edilmiştir. Sıvı mikrodilüsyon ve E test ile elde edilen sonuçlar ise uyumludur.

Tiengrim ve arkadaşları, 148 çoklu ilaç dirençli *A. baumannii* suşuna karşı tigesiklin aktivitesini disk difüzyon, E test ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile araştırmışlar ve suşların %97'sinin tigesikline duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir. E test yöntemi ile belirlenen MİK değerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemine göre 4 kat yüksek bulunduğu belirtilmiştir (188).

Arroyo ve arkadaşları, 115 adet *A. baumannii* suşu üzerinde sıvı mikrodilüsyon ve E test yöntemleri ile kolistinin etkinliğini araştırmışlar, sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle suşların %81'ini duyarlı bulmuşlardır. Bu çalışmada sıvı mikrodilüsyon ile kolistine dirençli olduğu saptanan 22 *A. baumannii* suşunun 20'si E test ile de dirençli bulunmuş ve sonuç olarak E test yönteminin, kolistin için referans yöntem olan sıvı mikrodilüsyon yöntemine güvenilir bir alternatif olduğu belirtilmiştir (189).

Kombinasyon tedavisi ciddi gram negatif bakteri enfeksiyonlarında sıklıkla kullanılmaktadır ancak tartışmalı bir konudur. Kombinasyon tedavisinin monoterapiye üstünlüğü, antibakteriyel etki spektrumunun genişlemesi, sinerjistik etkileşimlerin oluşması ve tedavi sırasında direnç ortaya çıkmasının engellenmesidir. Kanıta dayalı tedavi seçeneklerinin yokluğuna rağmen çoklu ilaç dirençli suşlara karşı mevcut ilaçların antibakteriyel etkisini artırmak için kombinasyon tedavisi kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Bununla birlikte gereksiz kombinasyonlardan kaçınmak, toksisite riskini, süperenfeksiyonları, dirençli suşların seçilmesini ve maliyeti azaltacaktır (190).

Çoklu ilaç dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarında tedavi seçeneklerinin yetersizliği, yeni antibiyotiklerin eksikliği kombinasyon tedavisinin monoterapiye üstünlüğünü ve önemini ortaya çıkarmaktadır. Kombinasyon tedavisi son çarelerden biri gibi görünmektedir (79) ancak en uygun kombinasyon tedavi seçeneği belirsizdir, bu konudaki klinik veriler yetersizdir.

Sadece antibiyotiklerin duyarlılık sonuçlarını değerlendirerek kombinasyondaki etkileşimi ve sinerjizmi yorumlamak doğru bir yaklaşım değildir. İn vitro veriler göstermiştir ki bakteri dirençli bile olsa kombinasyon tedavisi etkili olabilir (190).

Antibiyotik kombinasyonlarının in vivo etkisini saptamak üzere uygulanan in vitro testler, sinerji testleri adını alır. Bu testlerin sonuçlarına göre kombinasyonun etkisi, antibiyotikler tek başlarına kullanıldıklarında elde edilen etkilerin toplamından daha yüksekse sinerjizmden, düşükse antagonizmden, toplamına eşitse indiferent etkiden söz edilir. Sinerjinin bir diğer tanımı olarak tek başına bir antibiyotiğin MİK değerine oranla, aynı antibiyotiğin kombinasyon MİK değerinde en az dört kat düşüş de kullanılmaktadır (161, 191).

Bir antibiyotik kombinasyonunun bakteri üzerine olan in-vitro etkisi; dilüsyon “checkerboard”, “time-kill”, disk difüzyon ve E test yöntemleri ile saptanabilir (192). Karşılaştırmalı çalışmalarda E test yöntemi ile elde edilen sinerji sonuçlarının “checkerboard” ve “time kill” yöntemi ile uyumlu olduğu belirtilmiştir (193, 194).

Sopirala ve arkadaşları çalışmalarında 8 adet PDR *A. baumannii* izolatında kolistin/tigesiklin etkileşimini iki farklı yöntemle araştırmışlardır. Bu çalışmada E test yöntemiyle sinerji saptanmamış, izolatların tümünde indiferent etkileşim bulunmuştur. “Checkerboard” yöntemiyle ise iki izolatta additif, diğerlerinde indiferent etkileşim belirlenmiştir (195).

Dizbay ve arkadaşları çalışmalarında 25 XDR *A. baumannii* izolatında kolistin ve tigesiklin kombinasyonunda E test yöntemiyle sinerjistik aktivite araştırmışlardır. İzolatların %72'sinde sinerji, %24'ünde additif ve %16'sında indiferent etkileşim bulunan çalışmada, antagonizma saptanmamıştır. Kolistin MİK değerleri 0,064-1 mg/L, tigesiklin MİK değerleri ise 0,38-16 mg/L arasında bulunmuştur (196).

Giske ve arkadaşları karbapenem dirençli *A. baumannii-calcoaceticus* izolatlarında tigesiklin/kolistin kombinasyonunda sinerji varlığını E test yöntemiyle araştırmışlardır. İzolatların tamamında indiferent etkileşim saptanmış, antagonizma, additif etkileşim ve sinerji saptanmamıştır (197).

Principe ve arkadaşları 24 MDR *A. baumannii* izolatında çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının etkileşimlerini “checkerboard” ve “time kill” yöntemiyle araştırmışlar ve kolistin/tigesiklin kombinasyonunda %8,3 sinerji, %87,5 indiferent ve %4,1 antagonistik etki bulmuşlardır. BMD yöntemiyle araştırdıkları MİK değerleri sonucunda, kolistin direncini %4,2, tigesiklin direncini ise %75 olarak belirlemişlerdir (198).

Petersen ve arkadaşları klinik örneklerden elde edilen gram pozitif ve gram negatif bakterileri dahil ettikleri çalışmalarında, çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının etkileşimlerini “checkerboard” ve “time kill” yöntemiyle araştırmışlar ve 9 *A. baumannii* izolatından birinde kolistin/tigesiklin sinerjisi bulmuşlardır. Polimiksin B/tigesiklin kombinasyonunda ise 2 izolatta sinerji bulunurken, hiçbir kombinasyonda antagonistik etki saptanmamıştır (199).

Sands ve arkadaşları klinik örneklerden elde edilen 19 MDR *A. baumannii* izolatında tigesiklin ve polimiksin B arasında sinerjiyi E test yöntemiyle araştırmışlardır. Tigesiklin/polimiksin B FİKİ değerlerini 0,88-2,0 µg/mL arasında bulmuşlardır. İzolatların tamamında tigesiklin/polimiksin B kombinasyonunu indiferent olarak yorumlamışlar, sinerji ya da antagonizma saptamamışlardır. Bu çalışmada izolatların % 58'i (11/19) tigesiklin duyarlı, %100'ü (19/19) polimiksin B duyarlı olarak bulunmuştur (200).

Yılmaz ve arkadaşları çalışmalarında *A. baumannii* izolatlarında kolistin ve tigesiklin ile kombinasyonun etkinliğini hayvan pnömoni modelinde in vivo olarak araştırmışlardır. Bu çalışmada antibiyotik tedavisi ile 24 ve 48. saatlerde akciğer dokusunda bakteri sayısındaki logaritmik düşüş karşılaştırılmış ve tigesiklin alan grupta kolistin alan gruba göre bakteri sayısında anlamlı fark saptanmıştır ve tigesiklin, kolistine göre daha etkili bulunmuştur. Kombinasyon tedavisi alan grupta ise 48. saatte belirgin fark saptanmış ve kombinasyon tedavisi en etkili yaklaşım

olarak belirlenmiştir. Özellikle mortalite riski yüksek enfeksiyonlarda ilk 48 saat kombinasyon tedavisi verilip sonrasında tigesiklin ya da kolistinle biriyle tedaviye devam etmenin olumlu sonuçlar sağlayabileceği bu çalışma sonucunda belirtilmiştir (201).

Karaođlan ve arkadaşları, karbapenem dirençli 50 *A. baumannii* izolatında çeşitli antibiyotik kombinasyonlarında sinerjistik etkiyi E test yöntemiyle araştırdıkları çalışmalarında, kolistin/tigesiklin kombinasyonunda %12 oranında sinerji bulmuşlardır. İzolatların hiçbirinde antagonizma saptanmamış, indifferent etkileşim oranı %88 olarak bulunmuştur. Çalışmada kolistin duyarlılığı %96, tigesiklin duyarlılığı ise %64 olarak bulunmuştur (202).

Moland ve arkadaşları *A. baumannii* izolatlarında “time-kill” yöntemiyle tigesiklin/polimiksin B kombinasyonunda 1 izolatta sinerjistik etkileşim saptamışlar, 2 izolatta ise sinerji saptanmamasına rağmen tigesiklin/polimiksin B kombinasyon tedavisinin monoterapiden daha etkili bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda tigesiklinin, kombinasyon tedavisinde daha etkili olabileceğini belirtmişlerdir. Tigesiklin’in MİK değeri aralığını $\leq 0,06-64$ $\mu\text{g/mL}$, polimiksin B’nin MİK değeri aralığını $0,5-4$ $\mu\text{g/mL}$ olarak bildirmişlerdir (203).

Arroyo ve arkadaşları sinerjistik etkileşimi “checkerboard” yöntemiyle araştırmışlar ve MİK değeri aralığı $0,12-4$ $\mu\text{g/mL}$ arasında olan 35 *A. baumannii* izolatının tamamında kolistin/tigesiklin kombinasyonunda indifferent etkileşim bulmuşlardır. FİKİ değeri aralığını $0,75-2$ $\mu\text{g/mL}$ arasında saptamışlardır (104).

2011 yılında yapılan bir diğer çalışmada 31 MDR *A. baumannii* izolatının antibiyotik duyarlılıkları ve “time kill” yöntemiyle MİK değeri belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda polimiksin B MİK değeri aralığı $0,5-2$ mg/L , tigesiklin MİK değeri aralığı ise $0,5- \geq 32$ mg/L olarak saptanmıştır. Polimiksin B ve tigesiklin kombinasyonu izolatların %29’unda bakterisidal etki göstermiştir (204).

Özbek ve arkadaşları çalışmalarında 6 adet *A. baumannii* izolatında çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının etkileşimlerini “checkerboard” yöntemiyle araştırmışlar ve

kolistin/tigesiklin kombinasyonunda bir izolatta sinerji saptamışlardır. Diğer izolatlarda ise indiferent etkileşim bulmuşlardır. Kolistin MİK değeri aralığı 0,25-1 mg/L, tigesiklin MİK değeri aralığı 0,06-0,25 mg/L olarak bildirilmiştir (205).

Peck ve arkadaşları “time kill” yöntemiyle kolistin dirençli ve duyarlı *A. baumannii* izolatlarında kolistin/tigesiklin kombinasyonunda sinerji araştırmışlar, dört izolatta sinerjistik ve bakterisidal etki saptamışlardır (206).

Bizim çalışmamızda ise E test yöntemiyle yaptığımız araştırma sonucunda kolistin/tigesiklin kombinasyonunda %2 sinerji, %6 additif, %88 indiferent, %4 oranında antagonistik etkinlik bulunmuştur. Tigesiklin ve kolistine dirençli suş saptanmamıştır. Sinerji sonuçlarımızın (%2 sinerjistik etki) ülkemizden Dizbay ve arkadaşlarının sonuçlarına (%72 sinerjistik etki) benzerlik göstermediği görülmektedir. Çalışılan suş sayısının kısıtlı olması sonuçlarla ilgili yorum yapmayı güçleştirmektedir. Ülkemizden ve değişik ülkelerden bildirilen birçok kombinasyon çalışma sonucu (%0-%25) ise bizim sonuçlarımızı desteklemektedir (104, 195, 197-199, 202, 205). Çalışmalarda kullanılan değişik yöntemler ve kullanılan metod için üretici firma önerilerine tam uyulmaması farklı sonuçların muhtemel nedenleri olabilir (207).

6. SONUÇ

MDR asinetobakter enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotiklere karşı artan direnç oranları belirlenmesi tedavide kolistin ve tigesiklin kullanımını gündeme getirmiştir. Yapılan çalışmalarda kolistin MDR *A. baumannii* enfeksiyonlarında oldukça etkin olduğu, ancak tek başına kullanılamayacağı, mutlaka başka bir antibiyotikle birlikte kullanılması gerektiği belirtilmiştir. Tigesiklin ise asinetobakter suşlarına karşı etkili olmasına rağmen direnç oranlarında artış bildirilmektedir.

Çalışmamızda, disk difüzyon yöntemiyle kolistin direnci belirlenmemiş, tigesikline ise %42 oranında direnç saptanmıştır. E test ve BMD yöntemleriyle ise her iki antibiyotiğe direnç belirlenmemiştir. Bu veriler tigesiklin duyarlılığını saptamada disk difüzyon yönteminin yanıltıcı olabileceğini bildiren çalışmalarla paralellik göstermiştir.

Klinik kullanıma yeni giren ve girme umudu olan antibiyotiklerin oldukça az olması MDR asinetobakter enfeksiyonlarında yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesini zorunlu hale getirmiştir. Bu amaçla kombine antibiyotik kullanımı, hem daha etkin sonuç almak, hem de direnç oranlarını düşürmek açısından doğru bir strateji olabilir. Çalışmamızda kolistin/tigesiklin kombinasyonunun in vitro etkinliği araştırılmış ve %6 additif, %88 indifere, %4 antagonistik ve %2 sinerjistik etki bulunmuştur. Bu sonuçlar daha geniş kapsamlı çalışmalara gereksinim olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak, çoklu ilaç dirençli *A. baumannii*'ye bağlı gelişen enfeksiyonların tedavisinde yeni antibiyotiklere ve farklı antibiyotik kombinasyonlarına gereksinim olduğu görülmektedir. Çoklu antibiyotik direncine sahip kökenlerin yayılımının önlenmesi için in vitro duyarlılık profillerinin sürekli takip edilerek antibiyotik seçiminde yerel verilerin gözönünde bulundurulması, antibiyotiklerin uygunsuz kullanımının önlenmesi ve etkin tedavi protokollerinin belirlenmesi ile enfeksiyon kontrolü sağlanabilecektir.

ÖZET

Çoklu Antibiyotik Dirençli Asinetobakter İzolatlarında Kolistin ile Tigesiklin Kombinasyonunda Sinerji Varlığı

Asinetobakterler doğada ve hastane ortamında yaygın olarak bulunan, gram negatif, aerob, oksidaz negatif, nonfermentatif patojen mikroorganizmalardır. En sık izole edilen tür *A. baumannii*'dir. Nemli ve kuru ortamda yaşayabilir, sağlıklı insan cildine kolonize olabilirler. Son yıllarda özellikle yoğun bakım ünitelerinde başta olmak üzere nozokomiyal enfeksiyonlarda en sık izole edilen etkenlerin başında *A.baumannii* cinsi bakteriler gelmektedir. Asinetobakterler özellikle immünsupresif hastalarda nozokomiyal enfeksiyonlara neden olmakta, toplum kaynaklı enfeksiyonlar daha nadir görülmektedir. *A. baumannii* nozokomiyal pnömoni, bakteriyemi, sekonder menenjit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, endokardit ve üriner sistem enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Bu mikroorganizmanın antimikrobiklere çoklu direnç kazanma yeteneği, dış ortamda birçok yüzeyde canlı bulunabilme kapasitesi nozokomiyal enfeksiyonlar açısından önemini artırmaktadır. Dünya genelinde çoklu ilaç dirençli *A. baumannii* suşlarının ortaya çıkması ve bu enfeksiyonların yüksek mortalite ve morbidite ile ilişkili olması klinisyenler için sorun teşkil etmektedir.

Gram negatif bakterilerde gelişen çoklu antibiyotik direnci eski bir antibiyotik olan kolistin kullanımını yeniden gündeme getirmiştir. Tigesiklin *A. baumannii* suşlarına da etkili geniş spektrumlu, tetrasiklinlerin yarı-sentetik analogları olan glisilsiklinlerin ilk üyesidir.

Çalışmamıza 2009-2014 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen çoklu ilaç dirençli 50 adet *A. baumannii* suşu dahil edildi. Bakterilerin tanımlanması konvansiyonel yöntemler ve BD BBL Crystal E/NF yarı otomatize identifikasyon sistemi kullanılarak yapıldı. Antibiyotik duyarlılık testleri, Mueller-Hinton agarda disk difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi ve sonuçlar Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) standartlarına göre değerlendirildi. Bakteriler çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı. Kontrol suşu olarak *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 kullanıldı.

Bu çalışmada MDR *A. baumannii* suşlarında kolistin, tigesiklin duyarlılıkları disk difüzyon, sıvı mikrodilüsyon (BMD) ve E test yöntemleriyle belirlendi. Kolistin ve tigesiklin kombinasyonunun etkileşimi ise E test yöntemiyle araştırıldı. Kombinasyon testlerinde etkileşim, fraksiyonel inhibisyon konsantrasyon (FİK) indeksi kullanılarak belirlendi ve ilaç ilişkileri, $\leq 0,5$ sinerjistik, $>0,5 - \leq 1$ additif, $>1 - \leq 4$ indiferent, >4 antagonistik etkileşim olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda disk difüzyon yöntemiyle tigesikline %42 oranında direnç saptanırken, BMD ve E test yöntemleriyle direnç tespit edilmedi. Disk difüzyon, BMD ve E test yöntemleriyle kolistin direnci belirlenmedi. Kolistin/tigesiklin kombinasyonunda %2 sinerjistik, %6 additif, %88 indiferent etkileşim, %4

antagonizma saptandı. BMD ve E test yöntemleriyle *A. baumannii* suşlarında kolistin için MİK değeri aralığı sırasıyla 0,03-1,0 µg/mL, 0,06-1,5 µg/mL iken, tigesiklin için 0,25-1,0 µg/mL, 0,03-1,5 µg/mL olarak belirlendi.

Sonuç olarak *A. baumannii* suşlarındaki yüksek antibiyotik direnç oranları, bu bakterinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde alternatif tedavi seçeneklerine ihtiyaç göstermektedir. Kolistin bu enfeksiyonların tedavisinde halen son çare gibi görünmektedir. Tigesiklin ise farklı duyarlılık oranları gösteren ve kombinasyon tedavisinde tercih edilen bir ajandır. MDR *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavilerinde, kombinasyon önerilmekle birlikte, ideal seçenekler için veriler yeterli değildir.

Anahtar kelimeler: Asinetobakter, *Acinetobacter baumannii*, direnç, kolistin, sinerji, tigesiklin

SUMMARY

Presence of Synergistic Effect of Colistin and Tigecycline on Multidrug Resistant *Acinetobacter* Isolates

Acinetobacter is a gram negative, aerobe, oxidase negative non-fermentative pathogen microorganism which is commonly found in nature and hospitals. The most frequent strain isolated is *A. baumannii*. It can live both in humid and dry conditions and can colonize on the human skin. *A. baumannii* is the most common pathogen isolated from nosocomial infections, especially in intensive care units. Acinetobacteriaceae causes nosocomial infections particularly in immunosuppressive patients; community-acquired infections are uncommon. *A. baumannii* can cause nosocomial pneumonia, bacteraemia, secondary meningitis, skin and soft tissue infections, endocarditis and urinary system infections. Its capability to develop multidrug resistance and its ability to stay alive on most surfaces enhances the importance of this microorganism for nosocomial infections. Multidrug resistant *A. baumannii* strains began to arise worldwide that cause infections with a high mortality and morbidity rate, which is a serious problems for clinicians.

Multidrug resistance emerging in gram negative bacteria brought to mind the use of colistin, an old antibiotic. Tigecycline is a broad spectrum antibiotic that is the first-in-class glycylcycline, a semi-synthetic tetracycline analogue. It can be used to treat *A. baumannii* strains effectively.

Fifty *A. baumannii* strains which are isolated from diverse clinical specimens between 2009 and 2014 were included in our study. Identification of the bacteria were made by conventional methods and by using BD BBL Crystal E/NF semi-automatic identification system. Antibiotic sensitivity test were made by disc diffusion method using Mueller-Hinton Agar and the results were assessed according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standards. Bacteria were kept at -80°C until the study. *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 was used as control strain.

In this study, colistin and tigecycline sensitivity of MDR *A. baumannii* strains were determined using disc diffusion, broth microdilution (BMD) and E test methods. Interaction of colistin and tigecycline combination was evaluated by E test method. Interaction in combination tests was determined by fractional inhibition concentration (FIC) index and drug interactions were estimated as flows: $\text{FIC} \leq 0.5$ synergistic interaction; $\text{FIC} 0,5 - \leq 1$ additive interaction; $1 < \text{FIC} \leq 4$ indifferent interaction; $\text{FIC} > 4$ antagonistic interaction.

In our study resistance to tigecycline by disc diffusion method was found to be 42% but no resistance could be detected by BMD and E test methods. No resistance to colistin was observed using disc diffusion, BMD and E test methods. Colistin/tigecycline combination showed 2% synergistic, 6% additive, 88% indifferent and 4% antagonistic interaction. Minimal inhibitor concentration range

values for *A. baumannii* strains using BMD and E test methods were found to be 0.03-1.0 µg/mL and 0.06-1.5 µg/mL for colistin, and 0.25-1.0 µg/mL and 0.03-1.5 µg/mL for tigecycline respectively.

In conclusion, high antibiotic resistance rates for *A. baumannii* strains makes us think that treatment of infections caused by this bacteria demands alternative therapy options. Colistin still appears to be the last resort for the treatment of these infections. But tigecycline shows different sensitivity ratios and it is preferred to be used in combination therapies. Although combination therapy is suggested for treatment of MDR *A. baumannii* infections, there is not enough data for ideal selection.

Keywords: *Acinetobacter*, *Acinetobacter baumannii*, resistance, colistin, synergy, tigecycline.

KAYNAKLAR

1. Ulusoy S, Leblebiciođlu H, Arman D (editörler). Önemli ve Sorunlu Gram-negatif Bakteri İnfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2012.
2. Peleg A. Y., and D. L. Paterson. Multidrug-resistant *Acinetobacter*: a threat to the antibiotic era. *Intern. Med. J.* 2006;36:479-482.
3. Pachon-Ibanez ME, Jimenez-Mejias ME, Pichardo C, Llanos AC, Pachon J. Activity of tigecycline (GAR-936) against *Acinetobacter baumannii* strains, including those resistant to imipenem. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:4479-4481.
4. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp as nosocomial pathogens: microbiological, clinical and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev.* 1996;9:148-65.
5. Hsueh PR, Liu YC, Yand D, et al. Multicenter surveillance of antimicrobial resistance of major bacterial pathogens in intensive care units in 2000 in Taiwan. *Drug Resist.* 2001;7:373-82.
6. Go ES, Urban C, Burns J, et al. Clinical and molecular epidemiology of *Acinetobacter* infections sensitive only to polymyxin B and sulbactam. *Lancet.* 1994;344:1329-32.
7. Yahav D, Farbman L, Leibovici L, Paul M. Colistin: new lessons on an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18:18-29.
8. Lisa L. Maragakis and Trish M. Perl. *Acinetobacter baumannii*: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Treatment Options. *Clin Infect Dis* 2008; 46:1254-1262.
9. Ellen S. Moland, David W. Craft, et al. In Vitro Activity of Tigecycline against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* and Selection of Tigecycline-Amikacin Synergy. *Antimicrob Agents Chemotherapy.* 2008;52(8):2940-42.
10. Marques MB, Brookings ES, Moser SA, et al. Comparative in-vitro antimicrobial susceptibilities of nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* and synergistic activities of nine antimicrobial combinations. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41:881-5.
11. Bergogne-Berezin E. Importance of *Acinetobacter* spp. Ed: Bergogne-Berezin E. *Acinetobacter Biology and Pathogenesis*; 1-85, Springer, Paris, France 2008. Seifert H, Strate A, Pulverer G. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*. Clinical features, epidemiology, and predictors of mortality. *Medicine* 1995; 74:340-349.
12. Winn J, Stephen A, William J, Elmer K, Gary P, Schreckenberger P. Gail Woods Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology Washington. Altıncı baskı, Lippincott Williams & Wilkins 2006: 353-355.
13. Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY. A study of the Moraxella group. II. Oxidative-negativespecies (genus *Acinetobacter*). *J Bacteriol* 1968; 95:1520-154.
14. Bouvet PJ, Grimont PA. Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter*

- johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov., and emended description of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. *Int J Syst Bacteriol* 1986; 36:228-240.
15. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clin Micro Rev.* 2008;21:538-582.
 16. Allen DM, Hartman BJ. *Acinetobacter* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds). *Principles and Practise of Infectious Diseases*. 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2010 p 2881-2885.
 17. Rossau, R., A. Van Landschoot, M. Gillis ve J. de Ley. 1991. Taxonomy of *Moraxellaceae* fam. nov., a new bacterial family to accommodate the genera *Moraxella*, *Acinetobacter*, and *Psychrobacter* and related organisms. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41:310-319.
 18. Ayşe Wilke Topçu, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Etkenlere Göre Enfeksiyonlar. *Nobel Tıp Kitabevleri* 2008:168;2195-2201.
 19. Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G. The distribution of *Acinetobacter* species in clinical culture materials. *Zentralbl Bakteriol.* 1993; 279:544-552.
 20. Vila J, Martí S, Sánchez-Céspedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 2007; 59:1210-1215
 21. Wieczorek P, Sacha P, Hauschild T, et al. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*; the role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 2008; 46:257-267.
 22. Getchell-White, S. L, L. G. Donowitz ve D. H. M. Groschel. 1989. The inanimate environment of an intensive care unit as a potential source of nosocomial bacteria: evidence for long survival of *Acinetobacter calcoaceticus*. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 10:402-407.
 23. Houang, E. T. S., Y. W. Chu, C. M. Leung, K. Y. Chu, J. Berlau, K. C. Ng ve A. F. B. Cheng. 2001. Epidemiology and infection control implications of *Acinetobacter spp.* in Hong Kong. *J. Clin. Microbiol.* 39:228-234.
 24. Seifert, H., L. Dijkshoorn, P. Gemer-Smidt, N. Pelzer, L Tjemberg ve M. Vaneechoutte. 1997. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenotypic and genotypic identification methods. *J. Clin. Microbiol.* 35:2819-2825.
 25. Al-Khoja MS, Darrell JH. The skin as the source of *Acinetobacter* and *Moraxella* species occurring in blood cultures. *J Clin Pathol.* 1979;32:497-499
 26. Wagenvoort JH. Epidemic *Acinetobacter baumannii* strain with MRSA-like behaviour carried by healthcare staff. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2002;21:326-327)
 27. Munoz-Price LS, Weinstein RA. *Acinetobacter* infection. *N Engl J Med.* 2008;358:1271-1281.
 28. Brooks SE, Walczak MA, Rizwanullah H. Are we doing enough to contain *Acinetobacter* infections. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2000;21:304.
 29. <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013>

30. Spencer RC. Predominant pathogens found in the european prevalence of infection in intensive care study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996;15:281-285.
31. Vincent JL, Rello J, Marshall J, et al. EPIC II Group of Investigators. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009;302:2323-2329.
32. Wendt C, Dietze B, Dietz E et al.: Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J Clinical Microbiol* 1997; 35: 1394-97.
33. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systemic review. *BMC Infect Dis.* 2006;6:130-137.
34. Larson EL. Persistent carriage of gram-negative bacteria on hands. *Am J Infect Control.* 1981;9:112-119.
35. Bayuga S, Zeana C, Sahni J, Della-Latta P, el-Sadr W, Larson E. Prevalence and antimicrobial patterns of *A.baumannii* on hands and nares of hospital personel and patients: the iceberg phenomenon again. *Heart Lung.* 2002;31(5):382-90.
36. Huang YC, Su LH, Wu TL et al. Outbreak of *Acinetobacter baumannii* bacteremia in a neonatal intensive care unit: clinical implications and genotyping analysis. *Pediatr Infect Dis.* 2002;21(12):1105-9.
37. Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R. Multiresistant *Acinetobacter baumannii* infections: epidemiology and management. *Current Opinion in Infectious Diseases.* 2010;23:332-339.
38. McDonald LC, Banerjee SN, Jarvis WR. Seasonal variation of *Acinetobacter* infections:1987-1996. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 1133-7.
39. Cordes LG, Brink EW, Checko PJ, et al. A cluster of *Acinetobacter* pneumonia in foundry workers. *Ann Intern Med* 1981; 95:688-93.
40. Retailiau, H. F., A. W. Hightower, R. E. Dixon, and J. R. Allen. 1979. *Acinetobacter calcoaceticus*: a nosocomial pathogen with an unusual pattern. *J. Infect. Dis.* 139:371-375.
41. Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in healthcare facilities. *Clin Infect Dis.* 2006;42(5):692-9.
42. Cetin ES, Durmaz R, Tetik T, Otlu B, Kaya S, Caliřkan A. Epidemiologic characterization of nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections in a Turkish university hospital by pulsed-field gel electrophoresis. *Am J Infect Control.* 2009;37(1):56-64.
43. Glew RH, Moellering RC Jr, Kunz LJ. Infections with *Acinetobacter calcoaceticus* (*Herellea vaginicola*): Clinical and laboratory studies. *Medicine (Baltimore).* 1977;56:79-97
44. Kyungwon L, Yong D, Jeong SH, Chong Y. Multidrug-Resistant *Acinetobacter* spp.: Increasingly Problematic Nosocomial Pathogens. *Yonsei Med J* 2011; 52(6):879-891.
45. Anstey NM, Currie BJ, Withnall KM. Community-acquired *Acinetobacter pneumonia* in the northern territory of Australia. *Clin Infect Dis.* 1992; 14:83-91.
46. Bergogne-Berezin, E., and M. L. Joly-Guillou. 1991. Hospital infection with *Acinetobacter* spp: an increasing problem. *J Hosp Infect.* 18(Suppl A): 250-255.

47. Villegas MV, Hartstein AI. *Acinetobacter* outbreaks, 1977-2000. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003;24:284-95.
48. Bernards AT, Harinck HI, Dijkshoorn L, van der Reijden TJ, van der Broek PJ. Persistent *Acinetobacter baumannii*? Look inside your medical equipment. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004;25:1002-4.
49. Aygün G, Demirkiran O, Utku T, et al. Environmental contamination during a carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreak in an intensive care unit. *J Hosp Infect* 2002;52:259-62.
50. Tilley, P. A., and F. J. Roberts. 1994. Bacteremia with *Acinetobacter* species: risk factors and prognosis in different clinical settings. *Clin. Infect. Dis.* 18:896-900.
51. Playford EG, Craig JC, Iredell JR. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in intensive care unit patients: risk factors for acquisition, infection and their consequences. *J Hosp Infect* 2007; 65:204-11.
52. Struelens, M. J., E. Carlier. N. Maes. E. Serruys. W. G. V. Quint, and A. van Belkum. 1993. Nosocomial colonisation and infection with multiresistant *Acinetobacter baumannii*: outbreak delineation using DNA macrorestriction analysis and PCR-fingerprinting. *J. Hosp. Infect.* 25:15-32.
53. Goodhart GL, Abrutyn E, Watson R, et al. Community-acquired *Acinetobacter calcoaceticus* var *anitratus* pneumonia. *JAMA.* 1977;238:1516-1518.
54. Leung WS, Chu CM, Tsang KY, et al. Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. *Chest.* 2006;120:102-109.
55. National Nosocomial Infections Surveillance System. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Reports, data summary from January 1992 through June 2004, issued Oct 2004. *Am J Infect Control.* 2004;32:470-485.
56. Garnacho J, Sole-Violan J, Sa-Borges M, Diaz E, Rello J. Clinical impact of pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii* in intubated patients: a matched cohort study. *Crit Care Med* 2003;31:2478-82.
57. Seifert H, Strate A, Pulverer G. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*. Clinical features, epidemiology, and predictors of mortality. *Medicine (Baltimore).* 1995;74:340-349.
58. Allen DM, Wong SY. *Acinetobacter*: A perspective. *Singapore Med J.* 1990;31:511-514.
59. O'Connell CJ, Hamilton R. Gram-negative rod infections: 2. *Acinetobacter* infections in general hospital. *N Y State J Med.* 1981;81:750-753.
60. Tong MJ. Septic complications of war wounds. *JAMA.* 1972;222:1044-1047.
61. Sebeny PJ, Riddle MS, Peterson K. *Acinetobacter baumannii* skin and soft tissue infections associated with war trauma. *Clin Infect Dis.* 2008;48:444-449.
62. Hawley JS, Murray CK, Griffith ME, et al. Susceptibility of *Acinetobacter* strains isolated from deployed US military personel. *Antimicrob Agents Chemother,* 2007;51:376-378.

63. Peyman GA, Vastine DW, Diamond JG. Vitrectomy and intraocular gentamicin management of *Herellea* endophthalmitis after incomplete phacoemulsification. *Am J Ophthalmol.* 1975;80:764-765.
64. Wand M, Olive GM, Mangiaracine AB. Corneal perforation and iris prolapse due to *Mima* polymorpha. *Arch Ophthalmol.* 1975;93:239-241.
65. Gradon JD, Chapnick EK, Lutwick LI. Infective endocarditis of a native valve due to *Acinetobacter*: Case report and review. *Clin Infect Dis.* 1992;14:1145-1148.
66. Sunenshine RH, Wright MO, Maragakis LL, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter* infection mortality rate and length of hospitalization. *Emerg Infect Dis* 2007;13:97-103.
67. Kwon KT, Oh WS, Song JH, et al. Impact of imipenem resistance on mortality in patients with *Acinetobacter* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 2007;59:525-30.
68. Falagas ME, Bliziotis IA, Siempos II: Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *Critical Care* 2006:10.
69. Blot S, Vandewoude K, Colardyn F. Nosocomial bacteremia involving *Acinetobacter baumannii* in critically ill patients: a matched cohort study. *Intensive Care Med* 2003; 29:471-5.
70. The cost of antibiotic resistance: effect of resistance among *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa* on length of hospital stay. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;23:106-8.
71. Kunz AN, Brook I. Emerging resistant gram negative aerobic bacilli in hospital-acquired infections. *Chemotherapy.* 2010;56:492-500.
72. Landman D, Quale JM, Mayorga, et al. Citywide clonal outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in Brooklyn, NY: The preantibiotic era has returned. *Arc Intern Med.* 2002;162:1515-1520.
73. Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydna E, Lal H, Quale J. Endemic carbapenem resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: Citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis* 2000;31:101-6.
74. Gür D. Gram negatif bakterilerde antibiyogram yorumu. *ANKEM Derg.* 2002; 16(no:3):174-177.
75. A.-P. Magiorakos et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim Standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012; 18:268-281.
76. Kuo LC, Teng LJ, Yu CJ, Ho SW, Hsueh PR. Dissemination of a clone of unusual phenotype of pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* at a university hospital in Taiwan. *J Clin Microbiol.* 2004;42:1759-1763.
77. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54 731 clinical isolates of gram-negative bacilli: report from the

- SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). Clin Microbiol Infect 2006;12:315-21.
78. Urban C, Mariano N, Rahal JJ, et al. Polymyxin B-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolate susceptible to recombinant BPI and cecropin PI. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:994-5.
 79. Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. J Antimicrob Chemother. 2005;56:20-51) (Nikaido H, Zgurskaya HI. AcrAB and related multidrug efflux pump of *Escherichia coli*. J Mol Microbiol Biotechnol. 2001;3:215-218.
 80. Marchand I, Damier-Piolle L, Courvalin P, Lambert T. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the AdeRS two-component system. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48:3298-3304.
 81. Pannek S, Higgins PG, Steinke P, et al. Multidrug efflux inhibition in *Acinetobacter baumannii* comparison between 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine and phenyl-arginine-beta-naphthylamide. J Antimicrob Chemother. 2006;57:970-974.
 82. Ruzin A, Keeney D, Bradford PA. AdeABC multidrug efflux pump is associated with decreased susceptibility to tigecycline in *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. J Antimicrob Chemother. 2007;59:1001-1004.
 83. Su X-Z, Chen J, Mizushima T, Kuroda T, Tsuchiya T. Abe-M an H coupled *Acinetobacter baumannii* multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49:4362-4364.
 84. Damier-Piolle L, Magnet S, Bremont S, Lambert T, Courvalin P. Ade IJK a resistance nodulation cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52:557-562.
 85. Chau S-L, Chu Y-W, Elizabeth TS. Houang Novel Resistance-Nodulation-Cell Division Efflux System AdeDE in *Acinetobacter* Genomic DNA Group 3. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48:4054-55.
 86. Tseng TT, Gratwick KS, Kollman J, et al. The RND permease superfamily: an ancient, ubiquitous and diverse family that includes human disease and development proteins. J Mol Microbiol Biotechnol. 1999;1:107-125.
 87. Seifert H, Bagainski R, Schulze A, et al. Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* species. Antimicrob Agents Chemother. 1993;37:750-753.
 88. Ünal S, Rodriguez JAG. Activity of meropenem and comparators against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp isolated in the MYSTIC Program, 2002-2004. Diag Microbiol Infect Dis. 2005;53:265-271.
 89. Eser ÖK, Ergin A, Hasçelik G. Antimicrobial resistance and existence of metallo-beta-lactamase in *Acinetobacter* species isolated from adult patients. Mikrobiyol Bul. 2009;43:383-390.

90. Bradford PA. Tigecycline: A first in class tygecycline. *Clin Microbiol Newsletter*. 2004;26:163-8)
91. Nathwani D. Tigecycline: Clinical evidence and formulary positioning. *Int J Antimicrob Agents*. 2005;25:185-92.
92. Frampton JE, Curran MP. Tigecycline. *Drugs*. 2005;18:2623-35.
93. Zhanel GG, Karlowsky JA, Rubinstein E, Hoban D. Tigecycline: A novel glycylycycline antibiotic. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2006;4:9-25.
94. Zhanel GG, Homenuik K, Nichol K, et al. The glycylycyclines: A comperative review with the tetryacyclines. *Drugs*. 2004;64:63-88.
95. Projan SJ. Preclinical pharmacology of GAR-936, a novel glycylycycline antibacterial agent. *Pharmacotherapy*. 2000;20:219-23.
96. Sum PE, Sum FW, Projan SJ. Recent developments in tetracycline antibiotics. *Curr Pharm Des*. 1998;4:119-32.
97. Chopra I. Glycylycyclines: Third-generation tetracycline antibiotics. *Curr Opin Pharmacol*. 2011;1:464-9)
98. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2001;65:232-60.
99. Ross JI, Eady EA, Cove JH, Cunliffe WJ. 16S rRNA mutation associated with tetracycline resistance in a gram-positive bacterium. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998;42:1702-5.
100. Noskin AG. Tigecycline: A new glycylycycline for treatment of serious infections. *Clin Infect Dis*. 2005;41(Suppl 5):303-14.
101. Greer ND. Tigecycline (Tygacil): The first in the glycylycycline class of antibiotics. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2006;19:155-61.
102. Hoban JD, Bouchillon SK, Johnson BM, Johnson JL, Dowzicky MJ and Tigecycline evaluation and surveillance trial (TEST program) group. In vitro activity of tigecycline against 6792 gram-negative and gram-positive clinical isolates from the global tigecycline evaluation and surveillance trial (TEST program, 2004). *Diagn Micobiol Infect Dis*. 2005;52:215-27.
103. Dowzicky MJ, Park CH. Update on antimicrobial susceptibility rates among gram-negative and gram-positive organisms in the United States: results from the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST). 2005 to 2007. *Clin Ther*. 2008;30:2040-2050.
104. Arroyo LA, Mateos I, Gonzalez V, et al. In vitro activities of tigecycline, minocycline and colistine-tigecycline combination against multi- and pan-drug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* group. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:1295-1296.
105. Peleg AY, Adams J, Paterson DL. Tigecycline efflux as a mechanism for nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:2065-2069.
106. Peleg AY, Potoski BA, Rea R, et al. *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection while receiving tigecycline: a cautionary report. *J Antimicrob Chemother*. 2007;59:128-131.

107. Wallace RJ Jr, Brown-Elliot BA, Crist CJ, Mann L, Wilson RW. Comparison of the in vitro activities of the glycylicycline tigecycline (formerly GAR 936) with those of tetracycline, minocycline and doxycycline against isolates of nontuberculous mycobacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46:3164-7.
108. Roblin PM, Hammerschlag MR. In vitro activity of GAR-936 against *Chlamydia pneumoniae* and *Chlamydia trachomatis*. *Int J Antimicrob Agents.* 2000;16:61-3.
109. Meagher AK, Ambrose PG, Grasela TH, Grosse EJE. The pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of Tigecycline. *Clin Infect Dis.* 2005;41(Suppl 5):333-40.
110. Guay GG, Tuckman M, Rothstein DM. Mutation in the tetA (B) gene that cause a change in substrate specificity of the tetracycline efflux pump. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994;38:857-860.
111. Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents.* 2005;25:11-25.
112. Reed MD, Stern RC, O'Riordan MA, Blumer JL. The pharmacokinetics of colistin in patients with cystic fibrosis. *J Clin Pharmacol.* 2001;41:645-54.
113. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis.* 2006;6:589-601.
114. Evans ME, Feola DJ, Rapp RP. Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics for emerging multiresistant gram-negative bacteria. *Ann Pharmacother.* 1999;33:960-7.
115. Li J, Turnidge J, Milne R, Nation RL, Coulthard K. In vitro pharmacodynamic properties of colistin and colistin methanesulfonate against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:781-5.
116. Warren HS, Kania SA, Siber GR. Binding and neutralization of bacterial lipopolysaccharide by colistin nonapeptide. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985;28:107-12.
117. Li J, Coulthard K, Milne R, Nation RL, Conway S, Peckham D, et al. Steady-state pharmacokinetics of intravenous colistin methanesulphonate in patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52:987-92.
118. Gales AC, Reis AO, Jones RN. Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: review of available interpretative criteria and quality control guidelines. *J Clin Microbiol.* 2001;39:183-90.
119. Karabinis A, Paramythiotou E, Mylona-Petropoulou D, Kalogeromitros A, Katsarelis N, Kontopidou F. Colistin for *Klebsiella pneumoniae*-associated sepsis. *Clin Infect Dis.* 2004;38:7-9.
120. 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.

121. 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.
122. Park YK, Choi JY, Shin D et al. Correlation between overexpression and amino acid substitution of the PmrAB locus and colistin resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents*. 2011; 37:525-30.
123. Groisman EA, Kayser J, Soncini FC. Regulation of polymyxin resistance and adaptation to low-Mg²⁺ environments. *J Bacteriol*. 1997;179:7040-5.
124. Young ML, Bains M, Bell A, Hancock RE. Role of *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane protein OprH in polymyxin and gentamicin resistance: isolation of an OprH-deficient mutant by gene replacement techniques. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;36:2566-8.
125. Hejnar P, Kolar M, Hajek V. Characteristics of *Acinetobacter* strains (phenotype classification, antibiotic susceptibility and production of beta-lactamases) isolated from haemocultures from patients at the Teaching Hospital in Olomouc. *Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med*. 1999; 142:73-7.
126. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram negative bacterial infections. *Clin Infect Dis*. 2005;40:1333-41.
127. Cai Y, Chai D, Wang Rui, et al. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67:1607-15.
128. Li J, Nation RL, Owen RJ, et al. Antibiograms of multidrug-resistant clinical *Acinetobacter baumannii*: promising therapeutic options for treatment of infection with colistin-resistant strains. *Clin Infect Dis*. 2007;45:594-8.
129. Hawley JS, Murray CK, Jorgensen JH. Colistin heteroresistance in *Acinetobacter* and its association with previous colistin therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:351-2.
130. Li J, Rayner CR, Nation RL et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:2946-50.
131. Tan CH, Li J, Nation RL. Activity of colistin against heteroresistant *Acinetobacter baumannii* and emergence of resistance in an in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:3413-5.
132. Rolain JM, et al. *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin with impaired virulence: a case report from France. *J Infect Dis*. 2011;204:1146-7.
133. Ünal S (ed). Kolistin. *Flora Dergisi*. 2001;16(3).
134. 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.
135. Deryke CA, Crawford AJ, Uddin N, Wallace MR. Colistin dosing and nephrotoxicity in a large community teaching hospital. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:4503-5.

136. Volkow-Fernandez P, Rodriguez CF, Cornejo-Juarez P. Intravesical colistin irrigation to treat multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* urinary tract infection: a case report. *J Med Case Rep*. 2012;6(1):426.
137. Michalopoulos A, Papadakis E. Inhaled anti-infective agents: emphasis on colistin. *Infection*. 2010;38:81-8.
138. Shirk MB, Donahue KR, Shirvani J. Unlabeled uses of nebulized medications. *Am J of Health-System Pharmacy*. 2006;63:1704-16.
139. Michalopoulos A, Fotakis D, Vrtzili S, Vletsas C, Raftopoulou S, Mastora Z, Falagas ME. Aerosolized colistin as adjunctive treatment of ventilator-associated pneumonia due to multidrug-resistant gram negative bacteria: a prospective study. *Respir Med*. 2008 Mar;102(3):407-412.
140. Kofteridis DP, Alexopoulou C, Valachis A, Maraki S, Dimopoulou D, Georgopoulos D, Samonis G. Aerosolized plus intravenous colistin versus intravenous colistin alone for the treatment of ventilator-associated pneumonia: a matched case-control study. *Clin Infect Dis*. 2010;51(11):1238-1244.
141. Korbila IP, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Nikita D, Samonis G, Falagas ME. Inhaled colistin as adjunctive therapy to intravenous colistin for the treatment of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia: a comparative cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(8):1230-1236.
142. Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, Kaufman BA, Ross KL, Scheld WM, et al. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis*. 2004;39:1267-84.
143. Rodriguez Guardado A, Blanco A, Asensi V, Perez F, Rial JC, Pintado V. Multidrug-resistant *Acinetobacter meningitis* in neurosurgical patients with intraventricular catheters: assessment of different treatments. *J Antimicrob Chemother*. 2008;61:908-13.
144. Katragkou A, Roilides E. Successful treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* central nervous system infections with colistin. *J Clin Microbiol*. 2005;43:4916-7.
145. Falagas ME, Kasiakou SK, Tsiodras SK, Michalopoulos A. The use of intravenous and aerosolized polymyxins for the treatment of infections in critically ill patients: a review of the recent literature. *Clin Med Res*. 2006;4:138-46.
146. Lewis JR, Lewis SA. Colistin interactions with the mammalian urothelium. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2004;286:C913-22.
147. Hartzell JD, Neff R, Ake J, Howard R, Olson S, Paolino K, et al. Nephrotoxicity associated with intravenous colistin (colistimethate sodium) treatment at a tertiary care medical center. *Clin Infect Dis*. 2009;48:1724-8.
148. McLaren G, Spelman D. Colistin, an overview. *UpToDate Online* 18.3.
149. Pogue JM, Lee J, Marchaim D, Yee V, Zhao JJ, Chopra T, et al. Incidence of and risk factors for colistin-associated nephrotoxicity in a large academic health system. *Clin Infect Dis*. 2011;53:879-84.

150. Koch-Weser J, Sidel VW, Federman EB, et al. Adverse effects of sodium colistimethate. Manifestations and specific reaction rates during 317 courses of therapy. *Ann Intern Med.* 1970;72:857.
151. Beringer P. The clinical use of colistin in patients with cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2001;7:434.
152. Margues MB, Brookings ES, Moser SA, et al. Comparative in vitro antimicrobial susceptibilities of nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* and synergistic activities of nine antimicrobial combinations. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41:881-885.
153. Bouze E, Munoz P. Monotherapy versus combination therapy for bacterial infections. *Med Clin North Am.* 2000;84:1357-89.
154. Lee NY, Wang CL, Chuang YC, et al. Combination carbapenem-sulbactam therapy for critically ill patients with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia: four case reports and in vitro combination synergy study. *Pharmacotherapy.* 2007;27:1506-1511.
155. Motaouakkil S, Charra B, Hachimi A et al. Colistin and rifampicin in the treatment of nosocomial infections from multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J Infect.* 2006;53(4):274-8.
156. Bassetti M, Repetto E, Righi E, Boni S, Diverio M, Molinari MP, et al. Colistin and rifampicin in the treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61:417-20.
157. Pankuch GA, Lin G, Seifert et al. Activity of meropenem with and without ciprofloxacin and colistin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52:333-6.
158. Falagas ME, Rafailidis PI, Kasiakou SK, Hatzopoulou P, Michalopoulos A. Effectiveness and nephrotoxicity of colistin monotherapy vs. colistin-meropenem combination therapy for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 2006;12(12):1227-1230.
159. Garnacho Montero J, Amaya-Villar R, et al. Clinical efficacy and safety of the combination of colistin plus vancomycin for the treatment of severe infections caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Chemotherapy.* 2013; 59(3):225-31.
160. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. CLSI document M100-S21. Wayne, Pa 2011.
161. Eliopoulos GM, Moellering RC. Antimicrobial combinations. In: Lorian V, editor. *Antibiotics in laboratory medicine.* 4th ed. Baltimore, MD: Williams & Wilkins;1996.
162. Mulin, B., Talon, D., Viel, J.F. et al: Risk factors for nosocomial colonization with multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1995; 14(7):569–576.
163. Abbo A, Navon-Venezia S, Hammer-Muntz O, Krichali T, Seigman-Igra Y, Carmeli Y. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11:22-29.

164. Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect*. 2006;12:826-836
165. Nemeč A, Krizová L, Maixnerová M, Diancourt L, Reijden TJ van der, Brisse S, Broek P van den, Dijkshoorn L. Emergence of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* in the Czech Republic is associated with the spread of multidrug-resistant strains of European clone II. *J Antimicrob Chemother*. 2008;62:484-489.
166. Eser ÖK, Ergin A, Haşçelik G. Erişkin hastalardan izole edilen *Acinetobacter* türlerinde antimikrobiyal direnç ve metallo-beta-laktamaz varlığı. *Mikrobiyol Bul*. 2009;43:383-390.
167. Özdemir M, Erayman İ, Gündem NS, Baykan M, Baysal B. Hastane Enfeksiyonu Etkeni *Acinetobacter* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. *ANKEM Derg*. 2009;23(3):127-132.
168. Dizbay M, Altunçekic A, Sezer BE, Özdemir, Arman D. Colistin and tigecycline susceptibility among multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from ventilator-associated pneumonia. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2008;32:29-32
169. Hakyemez İN, Kucukbayrak A, Tas T, Yıkılğan AB, Akkaya A, Yasayacak A, Akdeniz H. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections and changing antibiotic resistance. *Pak J Med Sci*. 2013;29(5): 1245-1248
170. İraz M, Ceylan A, Akkoyunlu Y. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde antibiyotik direnç oranlarının incelenmesi. *ANKEM Derg*. 2012;26(2):80-85.
171. Sieniawski K, Kaczka K, Rucinska M, Gagis L, Pomorski L. *Acinetobacter baumannii* nosocomial infections. 2013;85(9):483-490.
172. Enoch DA, Birkett CI, Ludlam HA. Non-Fermentative Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 3: 33–41.
173. Saltoğlu N. *Acinetobacter baumannii* İnfeksiyonları ve tedavisi. In. XIII. Türk Klimik Kongresi (14-18 Mart 2007 Antalya), Kongre Kitabı. İstanbul: 2007; 20(özel sayı): 204-207.
174. Jones RN, Ferraro MJ, Reller LB, Schreckenberger PC, Swenson JM, Sader HS. Multicenter studies of tigecycline disk diffusion susceptibility results for *Acinetobacter* spp. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007;45(1):227-230.
175. Jaggi N, Sissodia P, Sharma L. *Acinetobacter baumannii* isolates in a tertiary care hospital: Antimicrobial resistance and clinical significance. *JMID*. 2012;2(2):57-63.
176. Capone A, D'Arezzo S, Visca P, Petrosillo N. In vitro activity of tigecycline against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *JAC*. 2008;62:422-425.
177. Navon-Venezia S, Leavitt A, Carmeli Y. High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *JAC*. 2007;59:772-774.
178. Towner, K. The Genus *Acinetobacter*. *Prokaryotes*. 2006; 6:746–758.
179. Pankey GA. Tigecycline. *J Antimicrob Chemother*. 2005;56:470-480.
180. Mezzatesta ML, Trovato G, Gona F, Nicolosi VM, Nicolosi D, Carattoli A, Fadda G, Nicoletti G, Stefani S. In vitro activity of tigecycline and comparators against carbapenem-

- susceptible and resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Italy. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2008;7(4):1-7.
181. Livermore DM, et al. Antimicrobial treatment and clinical outcome for infections with carbapenem- and multiply-resistant *Acinetobacter baumannii* around London. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2010;35:19-24.
182. Sheng W-H, Wang J-T, Li S-Y, Lin Y-C, Cheng A, Chen Y-C, Chang S-C. Comparative in vitro antimicrobial susceptibilities and synergistic activities of antimicrobial combinations against carbapenem-resistant *Acinetobacter* species: *Acinetobacter baumannii* versus *Acinetobacter* genospecies 3 and 13TU. *Diag Microbiol and Infect Dis*. 2011;70:380-386.
183. Chuang Y-C, Sheng W-H, Lauderdale T-L, Li S-Y, Wang J-T, Chen Y-C, Chang S-C. Molecular epidemiology, antimicrobial susceptibility and carbapenemase resistance determinants among *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2013, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmii.2013.03.008>.
184. Sarıgüzel FM, Metan G, Sümerkan B. *Acinetobacter baumannii* suşlarında metallo-beta-laktamaz üretiminin ve IMP-1 ve VIM-1 tipi genlerin araştırılması. *FLORA*. 2013;18(1):11-19.
185. 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. *Diag Microbiol and Infect Dis*. 2005;52:203-208.
186. Jerome R. Lo-Ten-Foe, Anne Marie G. A. de Smet, Bram M. W. Diederens, Jan A. J. W. Kluytmans, and Peter H. J. van Keulen. Comparative evaluation of the VITEK 2, disk diffusion, E test, broth microdilution and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant *Enterobacter cloacae* and *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrob Agents and Chemotherapy*. 2007;51(10):3726-3730.
187. Özgür Akın FE, Bayram A, Balcı İ. Çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında kolistin, polimiksin B ve tigesiklin direncinin saptanmasında disk difüzyon, E test ve buyyon mikrodilüsyon yöntemlerinin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul*. 2010;44:203-210.
188. Tiengrim S, Tribuddharat C, Thamlikitkul V. In vitro activity of tigecycline against clinical isolates of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in Siriraj Hospital, Thailand. *J Med Assoc Thai*. 2006;89:102-5.
189. Arroyo LA, Garcia-Curiel A, Pachon-Ibanez MA, et al. Reliability of the E test method for detection of colistin resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*. 2005;43:903-5.
190. Thomas Tangden. Combination antibiotic therapy for multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Upsala Journal of Medical Sciences*. 2014. Early Online, 1-5.
191. Stratton CW, Cooksey RC. Susceptibility tests: Special test. In: Balows A, Hausler WJ Jr, Herrmann KL, Isenberg ND, Shadomy HJ (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 5th edition, Washington: ASM, 1991:1153-65.

192. Gulay Z. Antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkinliğini ölçen testler. "ADTS Çalışma Grubu (ed). Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı". İstanbul: Turk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No: 33, 1998: 85-100.
193. White RL, Burgess DS, Manduru M, Bosso JA. Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: Time-kill, checkerboard and E test. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40:1914-1918.
194. Bonapace CR, White RL, Friedrich LV, Bosso JA. Evaluation of antibiotic synergy against *Acinetobacter baumannii*: a comparison with E test, time kill and checkerboard method. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2000;38:43-50.
195. Sopirala MM, Mangino JE, Gebreyes WA, et al. Synergy testing by E test, microdilution checkerboard, and time kill methods for pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2010;54(11):4678-4683.
196. Dizbay M, Tozlu DK, Cirak MY, Isik Y, Ozdemir K, Arman D. In vitro synergistic activity of tigecycline and colistin against XDR-*Acinetobacter baumannii*. *The Journal of Antibiotics.* 2010;63:51-53.
197. Giske CG, Karlsson A, Petersson J, Bolmstrom A. Combination testing of *Acinetobacter* isolates with OXA-carbapenemases using E test. In: Program and Abstracts of the 45th Interscience Conference on Antimicrobials and Chemotherapy (ICAAC); 16-19 December 2005; Washington, DC. Washington, DC: ASM Press;2005; Abstract D-1707,p.148.
198. Principe L, D'Arezzo S, Capone A, Petrosillo N, Visca P. In vitro activity of tigecycline in combination with various antimicrobials against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials.* 2009;8:18.
199. Petersen PJ, Labthavikul P, Jones CH, Bradford PA. In vitro antibacterial activities of tigecycline in combination with other antimicrobial agents determined by checkerboard and time-kill kinetic analysis. *JAC.* 2006;57:573-576.
200. Sands M, McCarter Y, Sanchez W. Synergy testing of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* against tigecycline and polymyxin using an E test methodology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007;26:521-522.
201. Yilmaz EM, Sunbul M, Aksoy A, Yilmaz H, Guney AK, Guvenc T. Efficacy of tigecycline/colistin combination in a pneumonia model caused by extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2012;40:332-336.
202. Karaoglan I, Zer Y, Bosnak VK, Mete AÖ, Namiduru M. In vitro synergistic activity of colistin with tigecycline or beta-lactam antibiotic/beta-lactamase inhibitor combinations against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of International Medical Research.* 2013;41:1830.
203. Ellen S. Moland, David W. Craft, et al. In Vitro Activity of Tigecycline against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* and Selection of Tigecycline-Amikacin Synergy. *Antimicrob Agents Chemotherapy.* 2008;52(8):2940-42.

204. Lim T-P, Tan T-Y, Lee W, Sasikala S, Tan T-T, Hsu LY, Kwa AL. In vitro activity of polymyxin B, rifampicin, tigecycline alone and in combination against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Singapore. PLoS ONE. 2011;6(4): e18485.
205. Özbek B, Sentürk A. Postantibiotic effects of tigecycline, colistin sulfate and levofloxacin alone or tigecycline-colistin sulfate and tigecycline-levofloxacin combinations against *Acinetobacter baumannii*. Chemotherapy. 2010;56:466-471.
206. Peck KR, Kim MJ, Choi JY, et al. In vitro time-kill studies of antimicrobial agents against blood isolates of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*, including colistin- or tigecycline-resistant isolates. Journal of Medical Microbiology. 2012;61:353-360.
207. Deveci A, Coban AY, Acicbe O, Tanyel E, Yaman G, Durupinar B. In vitro effects of sulbactam combinations with different antibiotic groups against clinical *Acinetobacter baumannii* isolates. J Chemother. 2012; 24(5): 247-52.