

37660

T.C

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı


Tez Yöneticisi: Prof Dr Özdem ANÇ

MUAYENE MADDELERİNDEN İZOLE EDİLEN
ACINETOBACTER SUŞLARININ ALT TÜRLERİNE AYRILMASI VE
ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİK VE KEMOTERAPÖTİK MADDELERE
DUYARLIĞININ İNCELENMESİ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Biyolog Oya BALKANLI

İstanbul Tıp Fakültesi Tez Bürosu-1989



Mikrobiyoloji alanında çalışmaya başladığım günden beri her konuda olduğu gibi, tez konumun belirlenmesi ve yürütülmesinde de yakın ilgi ve desteğini gördüğüm hocam Sayın Prof Dr Özdem ANG'a en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimi yapmama olanak sağlayan hocam Sayın Prof Dr Enver Tali ÇETİN'e teşekkür ederim.

Bana her konuda yardımcı ve destek olan, bilgilerinden ve deneyimlerinden yararlandığım, Doç Dr Güven KÜLEKÇİ'ye, Doç Dr Dilek İNANÇ'a ve Yard Doç Dr Zehra GÜVENER'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
GEREÇ ve YÖNTEM	10
BULGULAR	22
TARTIŞMA	27
SONUÇLAR	33
ÖZET	34
SUMMARY	35
KAYNAKLAR	36

G İ R İ Ő

Günümüze kadar birçok araştırıcı tarafından çeşitli isimlerle adlandırılan Acinetobacter cinsi doğada geniş bir yayılım gösterir. Acinetobacter cinsindeki bakteriler, morfolojik olarak Neisseria'lara, koloni ve üreme özellikleri ile non-fermentatif Gram negatif çomaklara benzerler (22,27,30,35). Bu bakterilerin patojeniteleri, infeksiyonlarla ilişkileri, tanı yöntemleri, antibiyotik ve kemoterapötik maddelere duyarlılıkları konusundaki araştırmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Son yıllarda çalışmalar, bu mikroorganizmaların hastane infeksiyonu etkeni olduğunu ortaya çıkarmıştır (5,6,9,33,37). Özellikle vücut direnci kırılmış kimselerde akciğer infeksiyonu, meninjit, idrar yolu infeksiyonları, sepsis etkeni olabilirler (2,6,7,14,18,23,36). Acinetobacter cinsinden bakteriler sağlıklı bireylerin deri, boğaz, tükürük, konjunktiva ve vagina salgılarından da izole edilebilirler (6,17,34,35).

Biz çalışmamızda, idrardan izole edilen non-fermentatif Gram negatif çomak suşlarından Acinetobacter cinsi olarak saptananları alt türlerine ayırmayı, çeşitli antibiyotik ve kemoterapötik maddelere duyarlılıklarını saptamayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

Acinetobacter cinsinde, yıllardan beri büyük sınıflandırma değişiklikleri olmuş, bunun sonucu olarak bu cinsteki bakteriler çeşitli araştırmacılar tarafından çeşitli isimlerle tanımlanmışlardır. Acinetobacter cinsi için önceleri kullanılmış olan isimler Tablo I' de gösterilmiştir.

Tablo I. Acinetobacter cinsi için önceleri kullanılmış olan isimler (4,6,38).

Bacterium anitratum	Diplococcus
Achromobacter anitratum	Lingelshelmia anitrata
Herellea vaginicola	Cytophaga
Achromobacter conjunctivae	Moraxella lwoffii
Achromobacter haemolyticus var.glucidolytica	Achromobacter lwoffii Mima polimorpha
Achromobacter mucosus	Achromobacter haemolyticus var.alcaligenes
Moraxella glucidolytica var.nonliquefaciens	Alcaligenes haemolyticus
Pseudomonas calcoacetica	Achromobacter citroalcaligenes
Neisseria winogradsky	
Micrococcus cerificens	Vibrio O1
Micrococcus calcoaceticus	B5W

Acinetobacter cinsi 1954'de Brisou ve Prévot tarafından oksidaz (+) (Moraxella) ve oksidaz (-) suşları olarak tanımlanmıştır (6). Fakat 1971'de Moraxella alt komitesi Acinetobacter cinsinin sadece oksidaz (-) suşları kapsadığını bildirdiler. Neisseriaceae ailesinin yeni sınıflandırmasına göre ise Acinetobacter cinsi, Acinetobacter calcoaceticus olarak tek bir tür ve Acinetobacter calcoaceticus subsp. anitratus ve Acinetobacter calcoaceticus subsp. lwoffii olarak 2 alt tür içerir (6,24).

Acinetobacter cinsinden bakteriler Neisseriaceae ailesi içinde yer almaktadırlar. Bu aile içinde dört cins bulunmaktadır (22,27).

- Neisseria
- Acinetobacter
- Moraxella
- Kingella

Acinetobacter cinsinden bakteriler morfolojik olarak Neisseria'lara benzerler.

Neisseriaceae ailesi içinde yer alan bakteriler, kok veya kısa çomakçıklar şeklinde, çoğu kez çift çift veya kısa zincirli, sporsuz, kirpiksiz ve hareketsiz bakterilerdir. Gram negatif boyanırlar. Hepsi aerop olup 32-36°C'de ürerler. Acinetobacter cinsi dışında hepsi oksidaz pozitifdir (22,27).

Acinetobacter cinsi koloni ve üreme özellikleri ile non-fermentatif Gram negatif çomaklara benzerler (31,35).

Karbonhidratları etkilemeyen ya da ancak oksida-

tif yoldan etkileyerek gaz oluşturmada asit oluşturan bakteriler non-fermentatif bakteriler olarak isimlendirilirler (19,31,35). Bu grup içinde yer alan bakteriler Tablo II'de gösterilmiştir.

Tablo II. Non-fermentatif grup içinde yer alan bakteriler (35).

Pseudomonas	Eikenella corrodens
Alcaligenes	Agrobacterium radiobacter
Achromobacter	CDC grup IV e, IV c-2
Acinetobacter	CDC grup EO-2
Moraxella	CDC grup EF-4b
Flavobacterium	CDC grup M5-M6

Non-fermentatif bakterilerin ortak özellikleri, Gram negatif, aerop, sporsuz, peptonlu suda iyi üremeleri, indol oluşturmamaları, karbonhidratlara etkisiz olmaları veya oksidatif yoldan etkileyerek gaz oluşturmada asit oluşturmalarıdır (31,35).

Gilardi (19), non-fermentatif bakterileri hücre morfolojisi, oksidaz etkinliği ve kirpik düzenine göre üç grupta toplamıştır.

I- Hareketli, oksidaz pozitif

a) Tek veya çok polar kirpikli olanlar: Pseudomonas

b) Peritrih kirpikli olanlar: Alcaligenes, Achromobacter

2- Hareketsiz, pigmentsiz çomaklar

a) Oksidaz pozitif çift çift duranlar: Moraxella

b) Oksidaz negatif çift çift duran koka benzer çomaklar: Acinetobacter

3- Hareketsiz, oksidaz pozitif, sarı pigmentli çomaklar: Flavobacterium

ACINETOBACTER CİNSİNİN ÖZELLİKLERİ

Acinetobacter cinsinden bakteriler Gram negatif çomakçıklardır. Muayene maddelerinden yapılan ilk preparasyonlarda 1.0-0.7 µm boyutlarında diplokok şeklinde, jeloz veya buyyondaki kültürden yapılan preparasyonlarda 2.0-1.2 µm boyutlarında çomakçık gibi görülür (6,35). Sporsuz ve hareketsizdirler. Fakat polar fimbriyaları ile seğirme hareketi (twitching motility) yaptığı gösterilmiştir (6,21,26). Bu hareket 1961'de ilk kez Lautrop tarafından Acinetobacter calcoaceticus'ta tanımlanmıştır (21). Kirpiksiz olan bu bakterinin koloni çevresindeki yayılma zonu önce "gliding" sanılmış, ancak daha sonraki çalışmalarla bu hareketin farklılığı anlaşılmış ve 1965'te "twitching" "seğirme" olarak adlandırılmıştır (21).

Birçok suşun kapsülü vardır ve kapsül immunfloresan antikor tekniği kullanılarak tiplenede kullanılır. Buna göre 28 tip ayırt edilmiştir (6).

Zorunlu aerop olup, titiz mikroorganizmalar değildirler; adi besiyerlerinde 20-30°C'de iyi ürerler. Suşların çoğu, optimum 33-35°C'de, 18-24 saatte gri-beyaz, 2-3 mm'lik S veya sümüksü koloniler oluştururlar (6,35). DNA'larındaki G+C oranı %38-47'dir.

Acinetobacter cinsinden bakteriler non-fermentatif bakterilerdir ve karbonhidratların çoğunu oksidatif yoldan gaz oluşturmadan asit oluşturarak parçalarlar (31, 35).

Acinetobacter cinsinin tek türü olan Acinetobacter calcoaceticus'da oksidaz negatif, katalaz pozitifdir (19,35).

Gilardi (20) Acinetobacter calcoaceticus'u dört biyotipe ayırmıştır. Bunlar;

- Acinetobacter calcoaceticus b.anitratus
- Acinetobacter calcoaceticus b.lwoffii
- Acinetobacter calcoaceticus b.haemolyticus
- Acinetobacter calcoaceticus b.alcaligenes

Fakat Acinetobacter calcoaceticus b.haemolyticus ve Acinetobacter calcoaceticus b.alcaligenes'in hastalardan ender olarak izole edildiği bildirilmiştir (17). Çoğu araştırmalarda Acinetobacter calcoaceticus 2 alt türe ayrılmış olarak gösterilir. Bazı araştırmacılar alt tür (subsp.) yerine biyotip (17,20), variete (7), biovariete (18,23) terimlerini kullanmışlardır.

1984 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'de Acinetobacter calcoaceticus, Acinetobacter calcoaceticus subsp.anitratus ve Acinetobacter calcoaceticus subsp.lwoffii olarak 2 alt türe ayrılmıştır (24). Her iki alt tür de pigment oluşumu, Voges-Proskauer, koagüle serumu eritme, jelatinaz yapımı, H₂S, indol, nitrattan nitrit oluşumu, lizin dekarboksilaz, arjinin dihidrolaz, ornitin dekarboksilaz, fenilalanin deaminaz, mannitol, dulsitol, rafinoz'a etki, karbonhidratlardan gaz oluşturma, eskülin hidrolizi, azot gazı oluşturma, nişasta hidrolizi negatiftir. Her iki alt türde de Mac Conkey jelozunda üreme pozitifdir (11,20,24,35).

Acinetobacter calcoaceticus subsp.anitratus glukoz, %10'luk laktoz ve diğer bazı karbonhidratlardan asit

oluşturması ile *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *lwoffi*'den kolayca ayrılır. *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *lwoffi* karbonhidratlara etkisizdir (6,24,35).

Epidemiyolojik çalışmalarda *Acinetobacter*'lerin bakteriyosin tipleme, faj tiplemesi ve serolojik tipleme yöntemleri ile tiplendirildiği bildirilmiştir (6). Suşların tiplendirilmesi, bir salgında izole edilen mikroorganizmaların geçiş yolları ve kaynaklarını izlemede yararlıdır.

Acinetobacter cinsinden bakteriler hemen her kaynaktan izole edilebilen ve doğada çok yaygın olarak bulunan bakterilerdir. Toprakta ve suda saprofit olarak bulunur ve sağlıklı bireylerin deri, boğaz, tükürük, konjunktiva ve vagina salgılarından izole edilebilirler (6,17,34,35).

Acinetobacter cinsi bakteriler, sağlıklı kişilerin derilerinin normal florasında yer alabilir. *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus*'un sağlıklı kişilerin %25'inin derisinden ve %7'sinin boğazından izole edildiği bildirilmiştir (6). Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında çoğu *Acinetobacter calcoaceticus* izolasyonlarının gerçek infeksiyonu göstermediği, bunun deri yolu ile kirlenmeden dolayı olduğu düşünülür (33). *Acinetobacter*'lerle olan hastane infeksiyonu salgınlarında hem hasta hem de personelin derisi önemli bir kaynaktır (6).

Her kaynaktan izole edilebilen bu mikroorganizmanın başlangıçta insan için patojen olmadığı düşünülmüşse de (29) son yıllarda *Acinetobacter calcoaceticus*'un hastane infeksiyonu etkeni olduğuna ilişkin bildiriler

artmıştır. Acinetobacter calcoaceticus, özellikle yeni ameliyat olmuş, çeşitli aletlerle uygulanan işlemler geçirmiş (2,18), antibiyotik tedavisi görmüş veya yoğun bakım ünitelerinde yatan yaşlı hastalarda, deri, bronş ve üriner sisteme yerleşir (5,6,37). Acinetobacter cinsi böyle vücut direnci kırılmış hastalarda yanık ve yara cerahatlenmeleri, septisemiler, konjunktivit, kolesistit, barsak infeksiyonu, vajinit, üretrit, idrar yolu infeksiyonları, solunum yolu infeksiyonları, endokardit, pnömoni ve meninjit'e neden olabilirler (2,6,7,9,13,14,36,37).

Yurdumuzda da Acinetobacter cinsi ile infeksiyonların oluştuğu üzerine dikkati 1961'de Çetin ve Töreci çekmişlerdir (13).

Hastane dışından kaynaklanmış yani toplum kaynaklı Acinetobacter infeksiyonlarına seyrek rastlanır. Bunlardan en önemlisi Acinetobacter pnömonisidir (2,36); özellikle alkolik olan ve kronik hastalıklı yaşlı kişilerde görüldüğü ve fulminan seyirli olup mortalite oranının yüksek olduğu bildirilmiştir (36).

Acinetobacter'lere meninjit etkeni olarak ender rastlanır. Kokoid biçimli olması nedeniyle beyin-omurilik sıvısının Gram preparasyonlarında Neisseria meningitidis ile karıştırılabileceğine dikkat çekilmiştir. Özellikle beyinle ilgili cerrahi girişimlerden sonra görülen meninjitlerde gözönünde tutulması gereken bir etkenidir. Acinetobacter suşları Neisseria meningitidis'e etkili olan kemoterapötiklere dirençli olduklarından bu konu önem kazanmıştır (7). Yurdumuzda da hastane infeksiyonu olarak Acinetobacter meninjitleri bildirilmiştir (14).

Acinetobacter cinsi bakteriler birçok antibiyotiğe dirençlidirler (29). Genel olarak Acinetobacter calcoaceticus subsp.anitratus, Acinetobacter calcoaceticus subsp.lwoffii'ye oranla daha dirençlidir (5,10, 17,23).



GEREÇ VE YÖNTEM

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına başvuran hastalardan alınan idrar örneklerinden izole edilen 100 non-fermentatif Gram negatif çomak suşu içinden Acinetobacter cinsinden olduğu saptananlarla çalışılmıştır.

Non-fermentatif Gram negatif çomak suşlarından hareketsiz, oksidaz negatif, katalaz pozitif ve Gram boyamada diplokok veya kokobasil şeklinde görülenler Acinetobacter calcoaceticus olarak isimlendirilmiştir (19). Deneylere başlarken her suş Petri kutusundaki jeloz besiyerine yayılmış, tek koloniden eğri jeloz besiyerinde yeni saf kültür hazırlanmıştır.

Çeşitli kaynaklardan yararlanarak (11,20,24,31,35) Acinetobacter calcoaceticus alt türleri için ayırım tablosu düzenlenmiş (Tablo III) ve elde edilen suşlar üzerinde morfolojik ve fizyolojik incelemeler yapılmıştır.

Suşların Morfolojik İncelemesi

Mikroskop Morfolojisi

Eğri jeloz besiyerinde 24 saatlik üremeden hazırlanan preparasyonun Gram yöntemi ile boyanmasıyla saptanmıştır (12).

Tablo III. *Acinetobacter calcoaceticus*'un alt türle-
rinin biyokimyasal özellikleri (11,20,24,
25,31).

TESTLER	A.CALCO- ACETICUS SUBSP. ANITRATUS	A.CALCO- ACETICUS SUBSP. LWOFFI
Morfoloji	Kokobasil	Kokobasil
<u>Hareket</u>	-	-
<u>Oksidaz</u>	-	-
<u>Katalaz</u>	+	+
<u>Kapsül</u>	d	d
<u>Hemoliz</u>	-/Beta	-/Beta
<u>Jelatinaz yapımı</u>	-	-
Karbonhidratlardan asit oluşumu		
<u>Glukoz</u>	+	-
<u>Ksiloz</u>	+	-
<u>Laktoz %1-%10'luk</u>	+	-
<u>Mannitol</u>	-	-
<u>Sakkaroz</u>	-	-
<u>Maltoz</u>	d	-
<u>Ramnoz</u>	d	-
<u>Trehaloz</u>	d	-
<u>Fruktoz</u>	-	-
<u>Adonitol</u>	-	-
<u>Sorbitol</u>	-	-
<u>Arabinoz</u>	+	-
<u>Dulsitol</u>	d	-
<u>H₂S</u>	-	-
<u>İndol</u>	-	-
<u>Nitrat-Nitrit oluşumu</u>	-	-
<u>Üre Hidrolizi</u>	d	-
<u>Pigment</u>	-	-
<u>Koagule serumu eritme</u>	-	-
<u>Arjinin dehidrolaz</u>	-	-
<u>Lizin dekarboksilaz</u>	-	-
<u>Ornitin dekarboksilaz</u>	-	-
<u>Penilalanin deaminaz</u>	-	-
<u>Sitrat</u>	d	d
<u>Voges-Proskauer</u>	-	-
<u>Mac Conkey'de üreme</u>	+	+
<u>SS agarda üreme</u>	d	d
<u>42°C'de üreme</u>	d	d
<u>%6.5'luk NaCl'lü buyyonda üreme</u>	-	-

Altı çizili özellikler, anahtar özelliklerdir.

d: %11-%89 pozitif.

Hareketin saptanması

24 saatlik buyyon kültüründen lam-lamel arası preparasyonunda hareket aranmıştır (12).

Hemolitik etkinlik

%5 koyun kanlı jeloz besiyerinde suşların koloni yapısı ve hemoliz yapıp yapmadıkları saptanmıştır (12).

Pigment yapımı

Bakteri kültürü Löffler serumuna dip sıvısından başlamak suretiyle çizgi şeklinde ekilmiş ve 5 gün süre ile pigment oluşumu araştırılmıştır (12).

Kapsül oluşumu

Çin mürekkebi ile hazırlanan preparasyon 5 dakika metil alkolle muamele edilerek tespit edilmiş ve sulu fuksin ile 1-2 dakika boyanarak incelenmiştir (12).

Suşların besifizyolojisi özellikleri

Karbonhidratların oksidasyonu

Suşların karbonhidratlara etkisi oksidasyon-fermentasyon besiyerinde (O-F) (32) A ve B besiyerlerinde, karbonhidratlı bromtimollü peptonlu su besiyerlerinde (12) ve purple agar base ve purple broth base besiyerlerinde (16) araştırılmıştır.

O-F Besiveri

Pepton	2 g
NaCl	5 g
K ₂ HPO ₄	0.3 g
Bromtimol mavisi	0.03 g
Agar	3 g
Distile su	1000 cc

Glukozun hangi yoldan parçalandığını saptamak için her suştan, önceden eritilen ve soğutulan, içine %10'luk steril glukoz çözeltisinden eklenmiş 2 tüp oksidasyon-fermentasyon besiyerine batırma kültürü şeklinde ekim yapılmıştır. Tüplerden biri parafin ile kapatılmıştır. 37°C'de 24 saat bekletilen açık ve kapalı tüplerde sararmanın olmaması glukozun kullanılmasına, yalnız açık tüpün üst kısmının sararması glukozun oksidatif yoldan asit oluşturmasına, her iki tüpte de sararma olması glukozdan fermentatif yoldan asit oluşturulmasına, besiyerlerinde parçalanma ayrıca gaz oluşturulmasına işaret sayılmıştır (32).

A besiyerinde laktoz ve sakkarozaya etki, B besiyerinde mannitole etki araştırılmıştır. Bu besiyerlerinde de parçalanma, gaz oluşturulmasına işaret sayılmıştır (12).

Karbonhidratlı bromtimollü
peptonlu su besiyeri

Pepton	10 g	<u>Bromtimol mavisi çözeltisi</u>	
NaCl	5 g	Bromtimol mavisi	0.2 g
Bromtimol mavisi çözeltisi	10 cc	Alkol (%95)	50 cc
Distile su	1000 cc	Distile su	50 cc

Karbonhidratlı bromtimollü peptonlu su besiyerleri, içinde %1 oranında glukoz, laktoz, maltoz, manitol ya da sakkaroz, %0.5 oranında trehaloz ya da ramnoz olacak şekilde hazırlanmıştır. Bu besiyerlerine 24 saatlik kültürlerden ekim yapılmış ve 37°C'de 1 hafta kontrol edilerek kültürlerde sararma olması, besiyerinin içerdiği karbonhidrattan asit oluşturulduğu anlamında değerlendirilmiştir (12).

Özellikle nonsakkarolitik bakterilerce pepton içeren karbonhidratlı basiyerlerinde yapılan asit, pepton yıkım ürünlerince örtülebileceğinden bakterinin karbonhidratlara etki biçimi yanlış değerlendirilebilir (11). Bu nedenle bir indikatörlü besiyeri olan "Purple agar base" ve "Purple broth base" besiyerleri hazırlanarak bromtimollü karbonhidratlı peptonlu su besiyerinde denenen bazı karbonhidratlara etki kontrol edilmiş ayrıca %10'luk laktoza, %0.5'lik adonitol, sorbitol, arabinoz ve dulsitol'e etki incelenmiştir.

Purple agar base besiyeri

Et özeti	1 g	Agar	15 g
Pepton	10 g	Brom krezol moru	0.02 g
NaCl	5 g	Distile su	1000 cc

Bu besiyeri içine %1 oranında glukoz, laktoz, maltoz, mannitol, sakkaroz, %0.5 oranında fruktoz, ksiloz, trehaloz, ramnoz, adonitol, arabinoz, sorbitol, dulsitol, %10 oranında laktoz eklenmiştir.

Besiyeri verilen oranlarda karbonhidratlar ekledikten sonra tüplere bölünmüş ve pH 6.8'e ayarlanmış, otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. Petri kutularına dökülen besiyerleri yüzeyine bakteri kültüründen çizgi şeklinde ekim yapılmıştır. Üreme çevresinde besiyerinin rengindeki sararma pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (16,25).

Purple Broth Base besiyeri de aynı şekilde hazırlanmıştır. Ufak tüplere dağıtılan besiyerine öze ile bakteri kültüründen ekilmiş ve besiyerinin rengindeki sararma pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (16).

Nitratın-nitrite indirgenmesi

Bu reaksiyon %0.1 KNO₃ içeren nitrat buyyonunda incelenmiştir. Ekim yapılan nitrat buyyonu 37°C'de 24 saat bekletildikten sonra kültüre 0.5 cm³ alfa-naftilamin çözeltisi ve 0.5 cm³ sulfonilik asit çözeltisi eklenmiştir. Hemen kırmızı rengin oluşması pozitif sonuç olarak, turuncu veya sarımsı renk negatif olarak değerlendirilmiştir (12).

Alfa naftilamin çözeltisi

Alfa naftilamin	5 g
Sülfürik asit	8 cc
Distile su	1000 cc

Sulfonilik asit çözeltisi

Sulfonilik asit	8 g
Sülfürik asit	48 cc
Distile su	952 cc

Üreaz etkinliği

Bakterinin jeloz kültüründen Christensen'in üre jelozuna ekim yapılmış ve 37°C'de bekletilmiştir. Pozitif sonuçta sarı renkteki besiyeri koyu pembe renge dönüşmüştür. Negatif sonucu belirlemek için suşlar 1 hafta bekletilmiştir (12).

İndol yapımı

Bakterinin triptofanı parçalayarak indol yapması ya uçucu indolu veya besiyeri içindeki indolu ortaya çıkartarak incelenir. Uçucu indol, A besiyerindeki ve TSI (triple sugar iron) besiyerindeki kültüre sarkıtılan oksalik asit emdirilmiş süzgeç kağıdının renginin değişmesi ile gösterilmiştir. Süzgeç kağıdında 4 gün içinde kızarma olması pozitif sayılmıştır. Besiyerinin içindeki indol Ferguson besiyerindeki kültürde gösterilmiştir. Ekim yapılan 24 saatlik Ferguson besiyerindeki kültür üstüne 0.5 cm³ Kovaks ayırıcı konması ve çalkalanması ile koyu kırmızı bir halkanın oluşması indol yapımının işareti olarak değerlendirilmiştir (12).

H₂S yapımı

B besiyerindeki kültüre sarkıtılan 1/10 kurşun asetat emdirilmiş süzgeç kağıdında 3 gün içinde esmerleşme olması pozitif olarak değerlendirilmiştir (12). Ayrıca H₂S yapımı TSI besiyerinde de incelenmiştir. Besiyeri yüzeyinin siyahlaşması pozitif olarak, renginin değişmemesi negatif olarak değerlendirilmiştir (12).

Arjinin dihidrolaz, lizin dekarboksilaz, ornitin dekarboksilaz etkinlikleri

Moeller'in dekarboksilaz besiyeri

Pepton	5 g	Krezol kırmızısı	0.005 g
Et özeti	5 g	Piridoksal	0.005 g
Glukoz	0.5 g	Distile su	1000 cc
Bromkrezol moru	0.01 g		

Besiyeri 4 eşit hacme bölünmüş, birinci kısma %1 L-arjinin monohidroklorür, ikinci kısma %1 L-lizin dihidroklorür, üçüncü kısma %1 L-ornitin dihidroklorür eklenmiş, dördüncü kısma bir ekleme yapılmamıştır. Hazırlanan besiyerlerinin pH'ları 6'ya ayarlanmıştır. Tüplere dağıtılan besiyerleri otoklavda 121°C'de 10 dakika tutularak steril edilmiştir (11,32).

24 saatlik bakteri kültüründen dört besiyerine ekim yapılmış ve her tüp parafin tabakası ile kapatılmıştır. Tüpler 37°C'de 4 gün bekletilmiş ve hergün incelenmiştir. Aminoasitsiz olan kontrol tüplerinde glukozun fermentasyonu ile besiyeri sarı olmuş veya pH'da değişme olmamıştır. Aminoasitli besiyerlerinde kontrol tüplere oranla pH'daki yükselmeyi işaret eden mor renk oluşması özel dekarboksilaz veya dihidrolaz enziminin varlığını göstermiştir.

Fenilalanin deaminaz etkinliği

Fenilalaninli jeloz besiyeri

DL fenilalanin	2 g	Na ₂ HPO ₄	1 g
Maya özeti	3 g	Agar	12 g
NaCl	5 g	Distile su	1000 cc

Fenilalaninli eğri jeloz besiyerindeki 24 saatlik kültür üzerine %10 ferri klorür çözeltisi damlatıldığında koyu yeşil rengin oluşması pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (12).

Ekstrasellüler enzimlerin yapımı

Koagüle serumu eritme

Bakteri kültüründen Löffler serumuna dip sıvısından başlayarak çizgi şeklinde ekim yapılmış ve bir hafta içinde erime olup olmadığına bakılmıştır (12).

Jelatinaz yapımı

24 saatlik buyyon kültüründen bir öze, tüpte %10 jelatin içeren buyyon besiyerine ekilmiş, 48 saat 37°C'de bekletildikten sonra buzdolabına konan besiyerinin katılaşp katılaşmadığı araştırılmıştır. Katılaşan besiyeri tekrar 37°C'ye kaldırılmış ve dört hafta süre ile haftada bir kere buzdolabına konarak gözlenmiştir. Sıvılaşan besiyeri ekilen suşun jelatinaz enziminin bulunduğunu, katı kalan besiyeri ise jelatinaz enziminin bulunmadığını göstermiştir (12).

Oksidaz etkinliği

Bir parça filtre kağıdı üzerine tetra-metil-para-fenildiamin dihidroklorürün sudaki %1'lik yeni hazırlanmış çözeltisinden 1-2 damla damlatılmış ve hemen suşun 24 saatlik jeloz kültüründen iğne ile sürülmüştür. Oksidaz pozitif suşlar 30 saniye içinde koyu mavimsi bir renk oluşturmuşlardır (12).

Katalaz etkinliği

Katalaz enziminin varlığı, bakteri kültürüne H₂O₂ çözeltisi ilave edilerek gösterilebilir ve bu ilave sonucu O₂ meydana gelir. Enzim yoksa H₂O₂ parçalanmaz. Bu deney tüpte ve lamda yapılmıştır.

Tüp deneyinde 24 saatlik jeloz kültürü yüzeyine %3'lük H₂O₂ çözeltisinden 1 cm³ akıtılmış ve tüp eğik

tutulurak izlenmiştir. Gözle görülür bir şekilde sü-
ratli gaz çıkışı pozitif sonuç olarak değerlendiril-
miştir.

Lam deneyinde ise temiz bir lam üzerine %30'luk
H₂O₂ konmuş ve jeloz kültüründen alınan bakteri bunun
içinde süspanse edilmiştir. Gaz kabarcıklarının olu-
şumu pozitif sonucu göstermiştir (12).

Voges-Proskauer deneyi

Clark-Lubs besiyerindeki 48 saatlik kültüründen
1 cm³ alınıp bir tüpe konmuş, üzerine 0.2 cm³ %40'lık
KOH ve 0.6 cm³ %5'lik alfa naftol eklenip reaksiyonun
çabuklaşması için biraz ısıtılmıştır. Birkaç dakika
içinde kırmızı renk oluşması pozitif sonuç olarak de-
ğerlendirilmiştir (12).

Tek karbon kaynağı olarak organik bileşiklerin
kullanımı

Sitrat kullanımı

Simmon's sitrat agar besiyeri

MgSO ₄	0.2 g	NaCl	5 g
Amonyum dihidro- jen fosfat	1 g	Agar	15 g
Dipotasyum fosfat	1 g	Bromtimol mavisi	0.08 g
Sodyum sitrat	2 g	Distile su	1000 cc

24 saatlik bakteri kültüründen iğne ile alınan
bakteriler Simmon's sitrat agar besiyerinin yüzeyine
ekilmiş ve 37°C'de bekletilmiştir. Sitratı kullanan
bakteri besiyerinin yeşil rengini 5 gün içinde mavi-
ye dönüştürmüştür (12,32).

Fiziksel ve kimyasal faktörlere direnç

Değişik sıcaklıklarda üreme

Bakterinin buyyon kültüründen bir öze ekilmiş besiyeri 42°C'de bekletilmiş üreme olup olmadığı kontrol edilmiştir (20,30).

Sodyum Klorür'e direnç

%6.5 NaCl içeren buyyon besiyerine bakteri kültüründen ekilip, üreme olup olmadığı incelenmiştir (20).

Salmonella-Shigella jelozunda üreme

Salmonella-Shigella (Difco) jelozuna bakterinin 24 saatlik buyyon kültüründen ekim yapıp 37°C'de üreme olup olmadığı gözlenmiştir (20).

Mac Conkey jelozunda üreme

Mac Conkey jelozuna (Difco) bakterinin 24 saatlik buyyon kültüründen ekim yapıp üreme olup olmadığı gözlenmiştir (20).

Antibiyotik ve Kemoterapötik maddelere duyarlık

İzole edilen *Acinetobacter calcoaceticus* suşlarının antibiyotik ve kemoterapötik maddelere duyarlığı Mueller Hinton (Oxoid) agarında disk-difüzyon yöntemiyle incelenmiştir (3). Suşların 24 saatlik buyyon kültürlerinin bulanıklığı, steril buyyon ile 0.5 no'lu Mac Farland tüpüne göre ayarlanmıştır. Mueller Hinton agarı dökülmüş petriyeler üzerine bakteri kültüründen 0.2 cc konularak yayılmıştır. Bir petri kutusuna 10 antibiyotik diski konmuştur. 24 saat 37°C'de bekletilmiş ve meydana gelen inhibisyon zonları incelenerek sonuç-

lar değerlendirilmiştir (3). Duyarlık deneyinde kullanılan antibiyotik ve kemoterapötik maddeler Tablo IV' de gösterilmiştir.

Tablo IV. Duyarlık deneyinde kullanılan antibiyotik ve kemoterapötik maddeler

Penisilin	Streptomisin
Metisilin	Kanamisin
Ampisilin	Gentamisin
Amoksisilin	Tobramisin
Karbenisilin	Netilmisin
Azidosilin	Amikasin
Mezlosilin	Aztreonam
Amoksisilin+klavulanik asit	Eritromisin
Sulbaktam+ampisilin	Klindamisin
Sefazolin	Kloramfenikol
Sefalotin	Tetrasiklin
Sefuroksim	Rifampisin
Sefaklor	Ofloksasin
Sefotaksim	Siprofloksasin
Sefoperazon	Nitrofurantoin
Seftriakson	
Seftazidim	

BULGULAR

Bu çalışmada idrardan izole edilen 100 non-fermentatif Gram negatif çomak suşu içinden oksidaz oluşturmayan, katalaz pozitif ve hareketsiz olan, Gram boyamada Gram negatif diplokok veya kokobasil şeklinde görülen 16 suş *Acinetobacter* olarak saptanmıştır.

Acinetobacter cinsi tek bir tür içerdiği için bu 16 suş *Acinetobacter calcoaceticus* olarak adlandırılmıştır.

İzole edilen 16 *A.calcoaceticus* suşu, glukoz ve ksilozdan asit oluşturdukları ve jelatinaz yapımları negatif olduğu için *A.calcoaceticus* subsp.*anitratus* olarak tanımlanmıştır.

Suşların tümü kapsüllü olarak bulunmuştur.Hepsi glukoz, ksiloz, %1 ve %10'luk laktozdan ve arabinozdan asit oluşturmuş, sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanmıştır. *A.calcoaceticus* subsp.*anitratus* olarak saptanan bütün suşlarda 42°C'de ve Mac Conkey agarında üreme pozitif olarak bulunmuştur.

İzole edilen 16 suşta da hareket, oksidaz, jelatinaz yapımı, sakkaroz, mannitol, fruktoz, adonitol, dulsitol, sorbitolden asit oluşturma, H₂S yapımı, indol yapımı, nitrattan nitrit oluşumu, arjinin dihidro-

laz, ornitin dekarboksilaz, lizin dekarboksiloz, fenilalanin deaminaz, %6.5'lük NaCl'li buyyonda üreme, SS agarda üreme, pigment yapımı, koagule serumu eritme, Voges-Proskauer negatif olarak bulunan ortak özelliklerdir.

16 suşun 9'unda üre hidrolizi 24 saatte pozitif, 3 suşta da 1 haftada geç pozitif olmuştur. 4 suşta ise üre hidrolizi negatif bulunmuştur.

Sadece 1 suş koyun kanlı jeloz besiyerinde beta hemoliz oluşturmuştur.

Ayrıca bir suş maltozdan , bir suş ramnozdan, bir suş da trehaloz'dan asit oluşturmuşlardır.

İzole ettiğimiz *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus* suşları hemoliz, maltoz, ramnoz, trehaloza etki ve üreaz oluşturma yönünden farklı özellikler göstermişlerdir. Tablo V'in incelenmesi ile bu farklı özelliklere göre 16 suşun altı değişik özellik kombinasyonu gösterdiği görülmektedir.

Çalışmamızda *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *lwoffii* izole edilmemiştir.

Tablo V'de *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus* olarak saptadığımız suşların ayrıcalıklı ve ortak özellikleri gösterilmiştir.

Acinetobacter calcoaceticus subsp. *anitratus* olarak saptanan 16 suşun 32 antibiyotik ve kemoterapötik maddeye duyarlılığı disk-difüzyon yöntemi ile incelenmiş ve Tablo VI'da sonuçlar gösterilmiştir. Değerlendirme yapılırken orta duyarlı bulunan antibiyotik ve kemoterapötik maddeler duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Acine-

Tablo V. *Acinetobacter calcoaceticus* Subsp. *anitratus* olarak saptanan suşların ayrıcalıklı ve ortak özellikleri

		A. CALCOACETICUS SUBSP. ANITRATUS SUŞLARI SUŞ SAYISI						TOPLAM(+) SONUÇLAR
		9	3	1	1	1	1	16
<u>HAREKET</u>		-	-	-	-	-	-	-
<u>OKSİDAZ</u>		-	-	-	-	-	-	-
<u>KATALAZ</u>		+	+	+	+	+	+	16
<u>KAPSÜL</u>		+	+	+	+	+	+	16
<u>HEMOLİZ</u>		-	-	+β	-	-	-	1
<u>JELATİNAZ YAPIMI</u>		-	-	-	-	-	-	-
KARBONHİDRATLARDAN ASİT OLUŞUMU	<u>GLUKOZ</u>	+	+	+	+	+	+	16
	<u>KSİLOZ</u>	+	+	+	+	+	+	16
	<u>LAKTOZ</u> %1-%10'luk	+	+	+	+	+	+	16
	<u>SAKKAROZ</u>	-	-	-	-	-	-	-
	<u>MALTOZ</u>	-	-	-	+	-	-	1
	<u>MANNİTOL</u>	-	-	-	-	-	-	-
	<u>RAMNOZ</u>	-	-	-	-	+	-	1
	<u>TREHALOZ</u>	-	-	-	-	-	+	1
	<u>FRUKTOZ</u>	-	-	-	-	-	-	-
	<u>ADONİTOL</u>	-	-	-	-	-	-	-
	<u>ARABİNOZ</u>	+	+	+	+	+	+	16
	<u>SORBİTOL</u>	-	-	-	-	-	-	-
	<u>DULSİTOL</u>	-	-	-	-	-	-	-
	<u>H₂S</u>		-	-	-	-	-	-
İNDOL OLUŞUMU	<u>UÇUCU İNDOL</u>	-	-	-	-	-	-	-
	<u>FERGUSON' da</u>	-	-	-	-	-	-	-
<u>NİTRAT-NİTRİT OLUŞUMU</u>		-	-	-	-	-	-	-
<u>ARJİNİN DİHİDROLAZ</u>		-	-	-	-	-	-	-
<u>ORNİTİN DEKARBOKSİLAZ</u>		-	-	-	-	-	-	-
<u>LİZİN DEKARBOKSİLAZ</u>		-	-	-	-	-	-	-
<u>FENİLALİN DEAMİNAZ</u>		-	-	-	-	-	-	-
<u>ÜRE HİDROLİZİ</u>		+	-	+	+	-	+	12
<u>PİGMENT OLUŞUMU</u>		-	-	-	-	-	-	-
<u>KOAGULE SERUMU ERİTME</u>		-	-	-	-	-	-	-
<u>VOGES-PROSKAUER</u>		-	-	-	-	-	-	-
<u>SİTRAT</u>		+	+	+	+	+	+	16
<u>%6.5'luk NaCl'li BUYYONDA ÜREME</u>		-	-	-	-	-	-	-
<u>Mac CONKEY'de ÜREME</u>		+	+	+	+	+	+	16
<u>SS'de ÜREME</u>		-	-	-	-	-	-	-
<u>42°C'de ÜREME</u>		+	+	+	+	+	+	16

Altı çizili olan özellikler anahtar özellik olarak seçilmiştir.

Tablo VI. *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus* olarak saptadığımız suşların antibiyotik ve kemoterapötik maddelere duyarlılıkları

ANTİBİYOTİKLER	Du	O Du	Di
Penisilin			16
Metisilin			16
Ampisilin			16
Amoksisilin			16
Karbenisilin	10	1	5
Azidosilin			16
Mezlosilin		2	14
Amoksisilin-klavulonik asit	8	1	7
Sulbaktam-ampisilin	16		
Sefazolin			16
Sefalotin			16
Sefuroksim	3	3	10
Sefaklor		2	14
Sefotaksim	9	5	2
Sefoperazon	2	5	9
Seftriakson	10	1	5
Seftazidim	9	4	3
Streptomisin		5	11
Kanamisin	7	1	8
Gentamisin	9		7
Tobramisin	14	2	
Netilmisin	10	3	3
Amikasin	11	5	
Aztreonam	4	3	9
Eritromisin			16
Klindamisin			16
Kloramfenikol			16
Tetrasiklin		6	10
Rifampisin			16
Ofloksasin	16		
Siprofloksasin	12	4	
Nitrofurantoin			16

Du : Duyarlı

O Du: Orta duyarlı

Di : Dirençli

tobacter calcoaceticus subsp. *anitratu*s'un duyarlı olduğu antibiyotik ve kemoterapötik maddeler sırası ile sulbaktam-ampisilin, ofloksasin, tobramisin, siprofloksasin, amikasin, netilmisin, karbenisilin, seftriakson olarak bulunmuştur.

Birinci ve ikinci kuşak sefalosporinlerin tüm suşlara etkisinin az olduğu, üçüncü kuşaktan sefoperazon dışındaki antibiyotiklerin etkili olduğu, penisilin, metisilin, ampisilin, amoksisilin, azidosilin, sefazolin, sefalotin, eritromisin, klindamisin, kloramfenikol, rifampisin ve nitrofurantoin'e tüm suşların dirençli olduğu bulunmuştur. Tobramisin en etkili aminoglikozit antibiyotik olarak saptanmıştır.

TARTIŞMA

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarından izole edilen suşların %15'i non-fermentatif Gram negatif bakterilerdir (35). Bunların üçte ikisi *Pseudomonas* türleridir; *Acinetobacter* cinsi ise izole edilen bütün non-fermentatif Gram negatif bakterilerin yaklaşık %1-3'ünü kapsar (35). *Acinetobacter*'ler yüzde oranları az olmasına karşın, hastane kaynaklı infeksiyonlardaki rolleri ve antibiyotik dirençleri nedeni ile önem kazanırlar.

Gram ile boyanan preparatlarda diplokok görünümünde olan *Acinetobacter* cinsi *Neisseriaceae* ailesi içinde yer alır ve *Acinetobacter calcoaceticus* olarak tek bir türden oluşur; bu tür, *A.calcoaceticus* subsp.*anitratus* ve *A.calcoaceticus* subsp.*lwoffii* olarak iki alt türe ayrılmıştır (6,22,24,27,35).

Gilardi(17,20)ise,*Acinetobacter calcoaceticus*'u dört biyotipe ayırmıştır.Bu ayırım jelatinaz,hemoliz yapımı ve glukoza etki özelliklerine dayanır.*A.calcoaceticus* b.*anitratus* ve *A.calcoaceticus* b.*lwoffii* dışında jelatinaz ve hemoliz pozitif,glukoza etki eden suşlar *A.calcoaceticus* b.*haemolyticus*,glukoza etki etmeyenler ise *A.calcoaceticus* b.*alcaligenes* olarak adlandırılmışlardır.

Son yıllarda yapılan DNA hibridizasyon çalışmaları ile, Acinetobacter cinsi 12 türe ayrılmış, bunlardan 1.si A.calcoaeticus, 2.si A.baumanii, 4.sü A.haemolyticus, 5.si A.junii, 6.sı A.johnsonii ve 8.si A.lwoffii olarak adlandırılmıştır (8,28). Bu türlerin fenotipik özellikleri halen incelenmektedir.

Çalışmamızda tanı tablosu düzenlenirken, Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology (24) esas alındığından Acinetobacter cinsi orada belirtildiği gibi tek bir tür ve iki alt tür düzeyinde incelenmiştir.

Acinetobacter cinsini diğer non-fermentatif Gram negatif çomaklardan ayıran özellikler, Gram boyamada diplokok veya kokobasil şeklinde görünmesi, hareketsiz olması, oksidaz negatif ve katalaz pozitif olmasıdır (19,31,35). Diğer bir non-fermentatif Gram negatif çomak olan ve Gram boyamada diplokok görünen Moraxella cinsi, Acinetobacter cinsinden oksidaz pozitif olması ile ayrılır.

Doğada geniş bir yayılım gösteren Acinetobacter cinsinin uygun kültür teknikleri kullanıldığında yüksek oranda topraktan ve su örneklerinden izole edilebildiği bildirilmiştir (6). Ayrıca besinlerden, hayvanlardan ve çok çeşitli klinik materyelden izole edilebilir (1,6,15,17,25,33,34,38).

Acinetobacter cinsi sağlıklı yetişkinlerin %17-20'sinin normal deri florasında bazen de ağız boşluğu ve solunum sisteminde bulunur (6,33). Daha az sıklıkla barsak florasında yer alabilir (6).

Acinetobacter cinsi toplumda nadiren patojendir. Son 10 yıl içinde hastane infeksiyonu etkeni olarak

Acinetobacter calcoaceticus'un öneminin arttığı ve etken olduğu hastane infeksiyonu salgınlarına ilişkin yayınların fazlalaştığı gözlenmektedir (6,9,18,33,37).

Hastane infeksiyonu, hasta veya hastanede çalışan kimselerde hastanede oluşan infeksiyonlar şeklinde tanımlanır. Hastaneye gelen hastanın durumu, hastanede kalış süresi, çeşitli yollarla olan bulaşma, bulaşan mikroorganizmanın virulansı ve miktarı, hastanın bakımı gibi çeşitli faktörler bir hastanede hastane infeksiyonlarının görülüş sıklığı ve hastalığın ciddiyeti üzerine etkilidir.

Hastane infeksiyonunun meydana gelmesinde mikroorganizma, hastaneye gelen hasta veya hastane personeli, çevre ve uygulanan yöntemler rol oynar. Hastane infeksiyonlarının bulaşmasında eller ilk planda yer alır.

Bir hastane infeksiyonu salgınında *Acinetobacter* suşlarının hasta ile temasta olan hemşirelerin elleri aracılığı ile yayıldığı saptanmıştır (6). Deri, hastanede *Acinetobacter*'ler için önemli bir rezervuardır. *Acinetobacter*lerin deri florasına geçici kirlenme olarak değil, daha çok kalıcı olarak yerleştikleri anlaşılmıştır (6).

Hastane infeksiyonlarında *Acinetobacter calcoaceticus* alt türlerinden *A.calcoaceticus* subsp. *anitratus* daha sık izole edilir (6,17,18,23,34,37).

Rosenthal'ın(34)yaptığı bir çalışmada,hastanedeki hastalardan elde edilen bütün *Acinetobacter* suşlarının *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus* ol-

duğu, *A.calcoaceticus* subsp.lwoffii'nin ise hastane dışı hastalardan ve çevresel kaynaklardan izole edildiği bildirilmiştir.

Hoffmann ve arkadaşları (23) da, hastane dışından idrar yolu infeksiyonlu 97 hastadan 14 *A.calcoaceticus* subsp.anitratus ve 93 *A.calcoaceticus* subsp.lwoffii suğu izole etmişlerdir. Çalışmamızda idrardan izole edilen *Acinetobacter calcoaceticus* suşları incelenmiş, tümü *A.calcoaceticus* subsp. anitratus olarak bulunmuştur.

Hastanelerde *A.calcoaceticus* subsp. anitratus'un daha büyük sıklıkla izole edilmesi nedeniyle, insanlar için *A.calcoaceticus* subsp.anitratus'un,*A.calcoaceticus* subsp.lwoffii'den daha çok patojen olduğu ileri sürülmüştür (17).

Acinetobacter cinsinin çok çeşitli klinik materyelden izole edildiği bildirilmiştir (1,6,15,17,25,33,34,38). Yurdumuzda da bu konuda yapılmış çalışmalar vardır. Akalin ve arkadaşları (1) 1980 yılında yaptıkları bir çalışmada çeşitli muayene maddelerinden izole ettikleri 7898 non-fermentatif Gram negatif omak suşundan 93'ünün *Acinetobacter calcoaceticus* olduğunu saptamışlardır.Bu suşların 27'si idrardan,47'si cerahatten,10'u balgamdan, 9'u beyin-omurilik sıvısından izole edilmiştir.

Yeğenoğlu(38),incelediği 100 non-fermentatif Gram negatif omak suğu içinden 62 *A.calcoaceticus* suğu izole etmiş,46'sının *A.calcoaceticus* subsp.anitratus,16'sının *A.calcoaceticus* subsp. lwoffii olduğunu bildirmiştir. *A.calcoaceticus* subsp. anitratus suşlarından 15'i, *A.calcoaceticus* subsp. lwoffii suşlarından da 4'ü idrardan izole edilmiştir.

Çeşitli muayene maddelerinden izole edilen non-fermentatif Gram negatif çomakları inceleyen Derbentli (15), 120 non-fermentatif suştan 40'ını *A.calcoaceticus* subsp.anitratus, 11'ini de *A.calcoaceticus* subsp.lwoffi olarak adlandırmıştır. 15 *A.calcoaceticus* subsp.anitratus ve 4 *A.calcoaceticus* subsp.lwoffi suşunu idrardan izole etmiştir.

Bizim çalışmamızda da idrardan izole edilen 100 non-fermentatif Gram negatif çomak suşu incelenmiş ve 16'sının *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. anitratus olduğu saptanmıştır.

70'li yılların başlarında *Acinetobacter* infeksiyonları gentamisin, minosiklin, nalidiksik asit, ampisilin, karbenisilin, sefalosporinler, kolistin ile tek tek veya kombine olarak tedavi edilebilirken, daha sonraları dirençli suşların hızla arttığı dikkati çekmiştir (5). Antibiyotiklerin yaygın kullanımının dirençteki bu hızlı artışa yol açtığı bildirilmiştir (1,5,14).

Genel olarak *A.calcoaceticus* subsp. anitratus'un, *A.calcoaceticus* subsp.lwoffi'ye oranla daha dirençli olduğu saptanmıştır(5,10,17).Biz çalışmamızda *A.calcoaceticus* subsp.lwoffi izole etmediğimiz için böyle bir karşılaştırma yapma olanağı bulamadık.

Derbentli (15), *A.calcoaceticus* subsp. anitratus suşlarını *A.calcoaceticus* subsp.lwoffi suşlarına oranla, başta penisilin grubu antibiyotiklere olmak üzere genel olarak daha duyarlı bulmuştur.

Çoğu *Acinetobacter* suşu aminoglikozitlere, karbenisiline ve trimetoprim-sulfametoksazol'e duyarlıdır(35).

1988 yılında yapılan bir çalışmada 54 *A.calcoaceticus* subsp. *anitratu*s suşunun 16 antibiyotik ve kemoterapötikçe duyarlığı incelenmiş suşların aminoglikozitlere oldukça dirençli olduğu bildirilmiştir. Siprofloksasin ve imipenem en etkili antibiyotik olarak bulunmuşlardır (10).

Bizim çalışmamızda izole ettiğimiz 16 *A.calcoaceticus* subsp. *anitratu*s suşu, penisilin, metisilin, ampisilin, amoksisilin, azidosilin, sefazolin, sefalotin, eritromisin, klindamisin, kloramfenikol, rifampisin ve nitrofurantoin'e dirençli bulunmuştur. Tobramisin en etkili aminoglikozit antibiyotik, sulbaktam-ampisilin, ofloksasin, amikasin, siprofloksasin suşların tümüne etkili antibiyotikler olarak belirlenmiştir.

Çalışmalarda hastanede yatan hastalardan izole edilen *A.calcoaceticus* subsp. *anitratu*s suşlarının toplum kaynaklı suşlardan daha dirençli olduğu vurgulanmıştır. Bu belli hastane suşlarının varlığını göstermektedir. *A.calcoaceticus* subsp. *lwoffi* suşlarının ise, hastane ya da toplum kaynaklı suşları arasında direnç yönünden fark bulunamamıştır (17).

A.calcoaceticus subsp. *anitratu*s, antibiyotik ve kemoterapötik maddelere dirençli oluşu nedeniyle, hastane infeksiyonları yönünden gün geçtikçe önem kazanmaktadır.

SONUÇLAR

- 1- İdrardan izole edilen 100 non-fermentatif Gram negatif çomak suşu içinden, oksidaz negatif, katalaz pozitif ve hareketsiz oldukları için *Acinetobacter* cinsi olarak saptanan 16 suş ile çalışılmıştır. *Acinetobacter* cinsi tek tür içerdiği için bu suşlar *Acinetobacter calcoaceticus* olarak adlandırılmıştır.
- 2- 16 *Acinetobacter calcoaceticus* suşu da glukoz, ksiloz ve laktozdan asit oluşturdukları için *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus* olarak tanımlanmıştır. 16 *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus* suşunun 6 değişik özellik kombinasyonuna ayrıldığı belirlenmiştir.
- 3- Bu suşların çoğunun duyarlı olduğu antibiyotik ve kemoterapötik maddeler sırası ile sulbaktam-ampisilin, ofloksasin, tobramisin, siprofloksasin, amikasin, netilmisin, karbenisilin, seftriakson olarak bulunmuştur. Sulbaktam-ampisilin, ofloksasin, siprofloksasin, tobramisin ve amikasin'in suşların tümüne etkili antibiyotikler olduğu saptanmıştır. Penisilin, metisilin, ampisilin, amoksisilin, azidosilin, sefalotin, sefazolin, eritromisin, klindamisin, kloramfenikol, rifampisin, nitrofurantoin'e tüm suşlar dirençli bulunmuştur.

Ö Z E T

İdrardan izole edilen 100 non-fermentatif Gram negatif çomak suşundan, oksidaz negatif, katalaz pozitif, hareketsiz olan 16 suş *Acinetobacter* cinsi olarak saptanmıştır.

Acinetobacter cinsi tek tür içerdiği için tüm suşlar *Acinetobacter calcoaceticus* olarak adlandırılmıştır. Alt türlerin ayırımı için çeşitli özellikleri incelenmiş ve suşların tümünün *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus* olduğu belirlenmiştir.

İzole edilen 16 *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus* suşunun da sulbaktam-ampisilin, ofloksasin, siprofloksasin, tobramisin ve amikasin'e duyarlı olduğu saptanmıştır.

SUMMARY

16 strains, non motile, oxidase negative and catalase positive, out of 100 non-fermentative Gram negative bacteria isolated from the urine were identified as the genus of *Acinetobacter*.

All strains were named as *Acinetobacter calcoaceticus* because the genus of *Acinetobacter* consisted of one species. Various characteristics were investigated for the determination of subspecies and all strains were found as *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus*.

All the strains of *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus* isolated were found to be susceptible to sulbactam-ampisilin, ofloxacin, ciprofloxacin, tobramycin and amikacin.

KAYNAKLAR

- 1- Akalın E, Baykal M: Fermentasyon yapmayan Gram negatif bakterilerin kùltùrlere dağılımlı ve antibiyotik duyarlılıkları, Mikrobiyol Bùlt 14:21 (1980).
- 2- Barnes D J, Naraqı S, and Igo J D: Community-acquired Acinetobacter pneumonia in adult in Papua New Guinea, Rev Infect Dis 10:636 (1988).
- 3- Barry A L, Thornsberry C: Susceptibility tests: Diffusion test procedures "E H Lennette, A Balows, W J Hausler, H J Shadomy (eds): Manual of Clinical Microbiology, 4.baskı" kitabında, s.978, American Society for Microbiology, Washington DC (1985).
- 4- Baykal M: Klinik laboratuvarlarda sıklıkla görùlen fermentatif olmayan (non-fermentative) Gram negatif çomakçıkların izolasyon ve identifikasyonu, Mikrobiyol Bùlt 11:563 (1977).
- 5- Bergogne-Berezin E, Joly-Guillou M L: An underestimated nosocomial pathogen, A.calcoaceticus, J Antimicrob Chemother 16:535 (1985).
- 6- Bergogne-Berezin E, Joly-Guillou M L, Vieu J F: Epidemiology of nosocomial infections due to A.calcoaceticus, J Hosp Infect,10:105 (1987).

- 7- Berkowitz F E: Acinetobacter meningitis-a diagnostic pitfall, SA Med J 61:448 (1982).
- 8- Bouret P, Grimont P: Taxonomy of the genus Acinetobacter with recognition of A.baumanii sp.nov., A.haemolyticus sp.nov., A.johnsonii sp.nov. and A.junii sp.nov.and emended descriptions of A.calcoaceticus and A.lwoffii, Int Syst Bacteriol 36: 288 (1986).
- 9- Buxton A E, Anderson R L, Werdegar D, Atlas E: Nosocomial respiratory tract infection and colonization with Acinetobacter calcoaceticus, Am J Med 65:507 (1978).
- 10- Chow A W, Wong J and Bartlett K H: Synergistic interactions of ciprofloxacin and extended spectrum beta-lactams or aminoglycosides against Acinetobacter calcoaceticus ss anitratus, Diagn Microbiol Infect Dis 9:213 (1988).
- 11- Cowan S T, Steel K J:Manual for the identification of medical bacterial 2nd ed., Univ Press, Cambridge (1979).
- 12- Çetin E T: Genel ve Pratik Mikrobiyoloji, Sermet Matbaası, 3.baskı, İstanbul (1973).
- 13- Çetin E T, Töreci K: Etude de cinq souches de Moraxella lwoffii (Acinetobacter lwoffii) isolees de produits pathologiques Ann Inst Pasteur 100:509 (1961).
- 14- Çetin E T, Öneş Ü, Töreci K, Yalçın I, Çelenk A, Acar C: Acinetobacter ve Moraxella meninjitleri, Türk Mikrobiyol Cem Derg, 11:1 (1981).

- 15- Derbentli Ş: Muayene maddelerinden izole edilen non-fermentatif Gram negatif çomakların idantifikasyonu için çeşitli yöntemlerin değerlendirilmesi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü (1988).
- 16- Difco Manual, Dehydrated culture media and reagents for microbiology, 10nd ed. Difco laboratories incorporated, Detroit, Michigan, USA (1984).
- 17- Gerner-Smidt P: The epidemiology of *Acinetobacter calcoaceticus* biotype and resistance-pattern of 328 strains consecutively isolated from clinical specimens, *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand Sect B* 95:5 (1987).
- 18- Gerner-Smidt P: Endemic occurrence of *Acinetobacter calcoaceticus* biovar. *anitratus* in an intensive care unit, *J Hosp Infect* 10:265 (1987).
- 19- Gilardi G L: Nonfermentative Gram negative bacteria encountered in clinical specimens, *Antonie van Leeuwenhook* 39:229 (1973).
- 20- Gilardi G L: Identification of glucose nonfermentative Gram negative bacteria, Department of laboratories Hospital for Joint Diseases and Medical Center, 1919 Madison Avenue, New York, 10035 (1980).
- 21- Henrichsen J: Twitching motility, *Ann Rev Microbiol* 37:81 (1983).
- 22- Howard B J: *Neisseria* " B J Howard, J Klaas II, A S Weisfeld, S J Rubin, R C Tilton (eds): *Clinical and Pathogenic Microbiology*" kitabında s.265. The C V Mosby Company, St Louis, Washington DC, Toronto (1987).

- 23- Hoffmann S, Mabeck C E, Vejlsgaard R: Bacteriuria caused by *Acinetobacter calcoaceticus* biovars in a normal population and in general practice, *J Clin Microbiol* 16: 443 (1982).
- 24- Juni E: Genus III. *Acinetobacter*, Brisou and Prévot 1954, 727" N R Krieg, J G Holt(eds): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Cilt 1*" kitabında s.303, Williams and Wilkinson, Baltimore, London (1984).
- 25- Külekçi G.: Çeşitli ağız hastalıklarında ve sağlıklı ağızlarda *Pseudomonas* cinsi bakteriler, Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi (1981).
- 26- Külekçi G, Gürsu S, Balkanlı O: Bakterilerde seçirme hareketi, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* (Baskıda) (1989).
- 27- Morelle J A, Janda W M, and Bahnhoff M: *Neisseria* and *Branhamella*, "E H Lennette, A Balows, W J Hausler, H J Shadomy(eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 4.baskı" kitabında, s.176, American Society for Microbiology, Washington DC (1985).
- 28- Moss C W, Wallace P L, Hollis D G, Weaver R E: Culture and chemical characterization of CDC groups E02, M-5 and M-6, *Moraxella* (*Moraxella*) species, *Oligella urethralis*, *Acinetobacter* species and *Psychrobacter immobilis*, *J Clin Microbiol* 26: 484 (1988).
- 29- Obana Y, Nishino T, and Tanino T: *In vitro* and *in vivo* activities of antimicrobial agents against *A.calcoaceticus*, *J Antimicrob Chemother* 15:441(1985).

- 30- Oberhofer T R: Growth of nonfermentative bacteria at 42°C, *J Clin Microbiol* 10:800 (1979).
- 31- Oberhofer T R, Howard B J: Nonfermentative Gram negative bacteria, "B J Howard, J Klaas II, A S Weisfeld, S J Rubin, R C Tilton (eds): *Clinical and Pathogenic Microbiology*"kitabinda, s.329, The C V Mosby Company St Louis, Washington DC, Toronto (1987).
- 32- Phillips E, Nash P: Culture media, " E H Lennette, A Balows, W J Hausler, H J Shadomy (eds): *Manual of Clinical Microbiology* 4.baskı"kitabinda, s. 1051, American Society for Microbiology, Washington DC (1985).
- 33- Retailliau H F, Hightower A W, Dixon R E, Allen J R: *Acinetobacter calcoaceticus*: A nosocomial pathogen with an unusual seasonal pattern, *J Infect Dis* 3:371 (1979).
- 34- Rosenthal S L: Sources of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species found in human culture materials, *Am J Clin Pathol* 62:807 (1974).
- 35- Rubin S J, Granato P A and Wasilauskas B L: Glucose non-fermenting Gram negative bacteria, "E H Lennette, A Balows, W J Hausler, H J Shadomy (eds): *Manual of Clinical Microbiology* 4.baskı"kitabinda, p.330, American Society for Microbiology, Washington DC (1985).
- 36- Rudin M L, Michael J R, Huxley E J: Community-acquired *Acinetobacter pneumonia*, *Am J Med* 67: 39 (1979).

- 37- Sherertz R J, Sullivan M L: An outbreak of infections with *A. calcoaceticus* in burn patients: Contamination of patients' mattresses, *Infect Dis* 151:252 (1985).
- 38- Yeğenoğlu Y: Muayene maddelerinden izole edilen non-fermentatif Gram negatif çomakların tanımı, Uzmanlık Tezi. İ Ü İst Tıp Fak Mikrobiyoloji, Tropikal Hastalıklar ve Parazitoloji Kürsüsü (1978).

