



**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE  
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÇOKLU İLACA DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII* SUŞUNUN  
NEDEN OLDUĞU İNFEKSİYONUN TEDAVİSİNDE KOLİSTİN VE  
KOLİSTİNİN RİFAMPİSİN, TRİMETOPRİM  
SULFAMETOKSAZOL, TEİKOPLANİN İLE BİRLİKTE KULLANIMININ  
ETKİNLİĞİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Cihan YEŞİL**

**ANTALYA, 2018**



T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE  
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇOKLU İLACA DİRENÇLİ *ACINETOBACTER BAUMANNII* SUŞUNUN  
NEDEN OLDUĞU İNFEKSİYONUN TEDAVİSİNDE KOLİSTİN VE  
KOLİSTİNİN RİFAMPİSİN, TRİMETOPRİM  
SULFAMETOKSAZOL, TEİKOPLANİN İLE BİRLİKTE KULLANIMININ  
ETKİNLİĞİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Cihan YEŞİL

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ata Nevzat YALÇIN

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

ANTALYA, 2018

## TEŐEKKÜR

Bu tez çalışmasında araőtırmayı yöneten ve çalıőmalarımnda desteğini esirgemeyen tez danıőmanım sayın hocam Prof. Dr. Ata Nevzat Yalçın'a, katkılarından dolayı Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın hocam Prof. Dr. Meral Dilara Öğün'e, uzmanlık eğitimimin her aőamasında yol göstericiliği ve yardımları için değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Latife Mamıkoğlu'na, sayın Prof. Dr. Filiz Günseren'e, sayın Prof. Dr. Dilara İnan'a ve sayın Prof. Dr. Özge Turhan'a teőekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte görev yaptığım tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma, deney hayvanları bakım ve temini sürecinde yardım eden sayın Erol Nizamoğlu ve sayın Doğa Besne'ye teőekkür ederim.

Çocukları olduğum için kendimi dünyanın en őanslı insanı olarak hissettiğim, üzerimde sonsuz emekleri olan, varlıklarıyla hayatımın her anında bana güven ve huzur veren anneme ve babama çok teőekkür ederim.

Dr. Cihan YEŞİL

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	5
Şekiller Dizini	6
Çizelgeler Dizini	7
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇLAR</b>	<b>8</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>10</b>
<b>2.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> Mikrobiyolojik Özellikleri</b>	<b>10</b>
<b>2.2. <i>Acinetobacter</i> Rezervuarları ve Yayılımı</b>	<b>12</b>
<b>2.3. <i>Acinetobacter baumannii</i> İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi</b>	<b>13</b>
<b>2.4. <i>Acinetobacter baumannii</i> İnfeksiyonlarının Klinik Önemi</b>	<b>15</b>
<b>2.5. <i>Acinetobacter baumannii</i> Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları</b>	<b>15</b>
<b>2.5.1. Enzimatik Modifikasyon</b>	<b>16</b>
<b>2.5.2. Atım pompaları</b>	<b>18</b>
<b>2.5.3. Porin kaybı</b>	<b>18</b>
<b>2.5.4. Hedef Modifikasyonları</b>	<b>19</b>
<b>2.6. <i>Acinetobacter baumannii</i> İnfeksiyonlarının Tedavisi</b>	<b>20</b>
<b>2.6.1. Beta-Laktam Antibiyotikler</b>	<b>20</b>
<b>2.6.1.1. Antipsödomonal Penisilinler</b>	<b>22</b>
<b>2.6.1.2 Sefalosporinler</b>	<b>23</b>
<b>2.6.1.3. Karbapenemler</b>	<b>24</b>
<b>2.6.2. Protein Sentezini İnhibe Eden Antibiyotikler</b>	<b>26</b>
<b>2.6.2.1. Aminoglikozidler</b>	<b>26</b>

<b>2.6.2.2. Tetrasiklinler</b>	27
<b>2.6.2.3. Tigesiklin</b>	28
<b>2.6.2.4. Minosiklin</b>	29
<b>2.6.3. Folat Sentezini Etkileyen Antibakteriyeller</b>	30
<b>2.6.3.1. Sülfonamidler ve trimetoprim</b>	30
<b>2.6.4. Nükleik Asit Sentezini İnhibe Eden Antibiyotikler</b>	31
<b>2.6.4.1. Florokinolonlar</b>	31
<b>2.6.4.2. Rifampisin</b>	32
<b>2.6.5. Fosfomisin</b>	32
<b>2.6.6. Glikopeptitler</b>	33
<b>2.6.7. Polimiksinler</b>	33
<b>2.7. Tedavide Kombinasyonun Rolü</b>	39
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER</b>	40
<b>4. BULGULAR</b>	45
<b>5. TARTIŞMA</b>	49
<b>6. SONUÇLAR</b>	55
<b>7. ÖZET</b>	56
<b>8. ABSTRACT</b>	57
<b>9. KAYNAKLAR</b>	58

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

*A. baumannii* Acinetobacter Baumannii

ABD Amerika Birleşik Devletleri

ADC Acinetobacter derived cephalosporinase

AMPCES Aeromonas Morganella morganii Providencia stuartii  
Providencia rettgeri, P.Aeruginosa, Proteus,, Citrobacter freundii,  
Enterobacter Serratia

ATP Adenozin trifosfat

CBA Colistin base activity

CLSI Clinic and laboratory standards institute

DHP-1 Dihidropeptidaz-1

DNA Deoksiribonükleik asit

EUCAST European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

GSBL Geniş Spektrumlu  $\beta$ -laktamazlar

IDSA Amerika İnfeksiyöz Hastalıklar Derneği

MBL Metallo- $\beta$ -laktamazlar

MDR Multidrug resistant

MIK Minimum inhibitör konsantrasyon

NNIS National Nosocomial Infectious Surveillance

PBP Penisilin bağlayan proteinler

PDR Pan-Drug resistant

QRDR Kinolon direnci belirleyici bölgesi

RNA Ribonükleik asit

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. <i>A. Baumannii</i>	10
2.2. Hastanelerdeki potansiyel <i>A. baumannii</i> kaynakları	13
3.1. Balb-C Fareler	41
3.2. Columbia kanlı agar	42
3.3. Farede intraperitoneal enjeksiyon	42
4.1. Karaciğer kültürü logaritmik sonuçları	47
4.2. Akciğer kültürü logaritmik sonuçları	48

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
3.1. Çalışmamızda kullanılan A.baumannii izolatının antibiyogramı	44
4.1. Deney gruplarının akciğer ve karaciğer kültürlerinin kantitatif sonuçları	45
4.2. Deney gruplarının 24. 48. ve 72. saatlerde akciğer ve karaciğer dokularındaki bakteri yükü	46





## 1. GİRİŞ VE AMAÇLAR

Son yıllarda çoklu ilaca dirençli gram-negatif patojenlerin neden olduğu hastane kaynaklı infeksiyonların sıklığındaki artış dünya çapında önemli bir sorun haline gelmiştir. Hastane ortamında yaygın olarak bulunan ve hastane infeksiyonlarına yol açtığı için son yıllarda önemi giderek artan *Acinetobacter baumannii*, pek çok ilaca karşı direnç geliştirmiş gram-negatif bir kokobasildir [1]. Hastanede, özellikle de yoğun bakım ünitelerinde tedavisinde güçlük çekilen ventilatörle ilişkili pnömoniye, üriner infeksiyonlara, kateter infeksiyonlarına ve kan dolaşımı infeksiyonlarına neden olabilmektedir. *A. baumannii*, dünya genelinde pek çok hastane salgınından sorumlu tutulmaktadır. *Acinetobacter* türleri hastane havalandırmasından, nemlendiricilerden, peritoneal diyalizat banyolarından, yatak başındaki idrar kaplarından, havlulardan, anjiyografi kateterlerinden, ventilatörlerden, yeniden kullanılan iğnelere, plazma protein fraksiyonundan, hastane yataklarından, sabunluklardan ve kuru ortamlardan da izole edilebilmektedir. *A. baumannii* yatan hastaların hemen yakınlarındaki yüzeylerde uzun süre canlı kalabildiğinden doğrudan bu yüzeylerden veya dolaylı olarak hastane çalışanlarının elleriyle hastalara bulaşabilmektedir [2].

Son yıllarda yoğun antibiyotik kullanımı ve yoğun bakımda yatış sürelerinin uzaması sonucunda, dirençli suşların neden olduğu infeksiyonların sayısında artış görülmektedir [3]. Nozokomiyal infeksiyonların takibinde, hastanın ve birimlerin risk faktörlerine ve direnç profiline göre antibiyotik seçimlerini düzenlenmesi önem kazanmıştır. Yoğun bakım ünitelerinde çoklu antibiyotik direncine sahip organizmalar ile oluşan infeksiyonlar sık karşılaşılan problemler haline gelmiştir. Çoklu ilaca dirençli *A.baumannii* suşları özellikle yoğun bakım ünitelerinde %50-%92 oranında izole edilmektedir [4, 5]. Tedavi seçeneklerinin kısıtlı olmasının yanı sıra sebep olduğu infeksiyon tablolarında morbidite ve mortalite oranlarını ciddi bir biçimde artırmaktadır. Çeşitli çalışmalarda *Acinetobacter* ile ilişkili nozokomiyal infeksiyonların %43'ünden, mortalitenin %55'inden sorumlu olduğu gösterilmiştir. Bu patojen ile enfekte hastaların mortalite ve morbidite oranlarını azaltabilmek adına en doğru antibiyotik tedavisinin başlanması gerekmektedir [5].

Günümüzde, *Acinetobacter* türlerinin büyük bir bölümü yaygın olarak kullanılan aminopenisilinler, üreidopenisilinler, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler, sefamisinler, aminoglikozidler, kloramfenikol ve tetrasiklin gibi antibiyotiklerin çoğuna yüksek oranda direnç göstermektedir [6]. Antibiyotik kullanım alışkanlıklarındaki ve çevresel faktörlerdeki farklılıkların etkisiyle ülkeler arasında direnç farklılıkları gözlenmektedir [7-9]. İmipenem en duyarlı olduğu bilinen antibiyotik olmasına rağmen son yıllarda imipeneme de direnç gösteren nozokomiyal izolatlarla rastlanmaktadır. Karbapenem direnci beta-laktamazlarla enzimatik inaktivasyon, dış membran proteinlerinde kayıp, penisilin bağlayan proteinlerde değişme ve atım pompaları ile ortaya çıkmaktadır. Pek çok karbapeneme dirençli *Acinetobacter* bünyesinde OXA-tip beta-laktamazları barındırmaktadır [2].

Kolistin, geçmişte sıkça kullanılmış bir antibiyotik olup, nefrotoksisite nedeni ile kullanımına bir süre ara verilmiştir. Ancak, dirençli *Acinetobacter* infeksiyonlarında tedavi seçeneği olarak yeniden kullanıma girmiştir. Kolistin, *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde kilit bir ilaç olmasına rağmen, öngörülemeyen ve suboptimal farmakokinetiği ve tedavi sırasında kolistin direnci geliştiğinin gösterilmiş olması nedeniyle kullanımıyla ilgili endişeler bulunmakta ve etkili kombine tedavi arayışları sürmektedir [10, 11].

Bu çalışmada karbapenem dirençli *A. baumannii* suşunun neden olduğu infeksiyon modelinde kolistin monoterapisiyle; kolistin+rifampisin, kolistin+trimetoprim sulfametoksazol ve kolistin+teikoplanin kombinasyon tedavilerinin etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızdan elde edilecek verilerle, tedavi sürecinde *A. baumannii* ile enfekte olan hastalar için etkin bir tedavi planının oluşturulmasına yönelik katkı sağlanabilecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *Acinetobacter baumannii* Mikrobiyolojik Özellikleri

İlk olarak 1930'lu yıllarda tanımlanmış olan *Acinetobacter* türleri, dünya genelinde hastane ve sağlık merkezleriyle ilişkili infeksiyonlarda majör rol oynayan patojenlerdir [12]. İnfeksiyonlarının sıkça rastlanan prezentasyonları ventilatörle ilişkili pnömoni, kan dolaşımı infeksiyonu, yara yeri infeksiyonu ve idrar yolu infeksiyonudur [13]. Amerika Birleşik Devletleri'nde ventilatörle ilişkili pnömoniyeye neden olan en yaygın etiyolojik patojenlerden biridir [4]. *Acinetobacter* türleri gram-negatif kokobasil, 1-1.5 µm x 1.5-2.5 µm boyutlarında, oksidaz negatif, katalaz pozitif, laktozu fermente etmeyen, hareketsiz (non-motil), zorunlu aerob bakterilerdir. 37-44°C aralığında çoğalabilmekte ve MacConkey besi yerinde üreyebilmektedirler [14]. Taze kültürlerinde koloni çapı 1-3 mm'dir . Doku izolasyonu ve ilk kültür pasajlarında kokobasil, daha sonraki pasajlarda ve penisilinli ortamda çomak şeklinde görülmektedirler [15]. *Acinetobacter* kolonileri besi yeri özelliğine göre değişim göstermekle beraber çoğunlukla 1-2 mm, opak mukoid, yüzeyi düz veya oyuk kabarcıklar şeklinde gözlenmektedir (Şekil 2.1.) [16].



Şekil 2.1. *A. Baumannii*

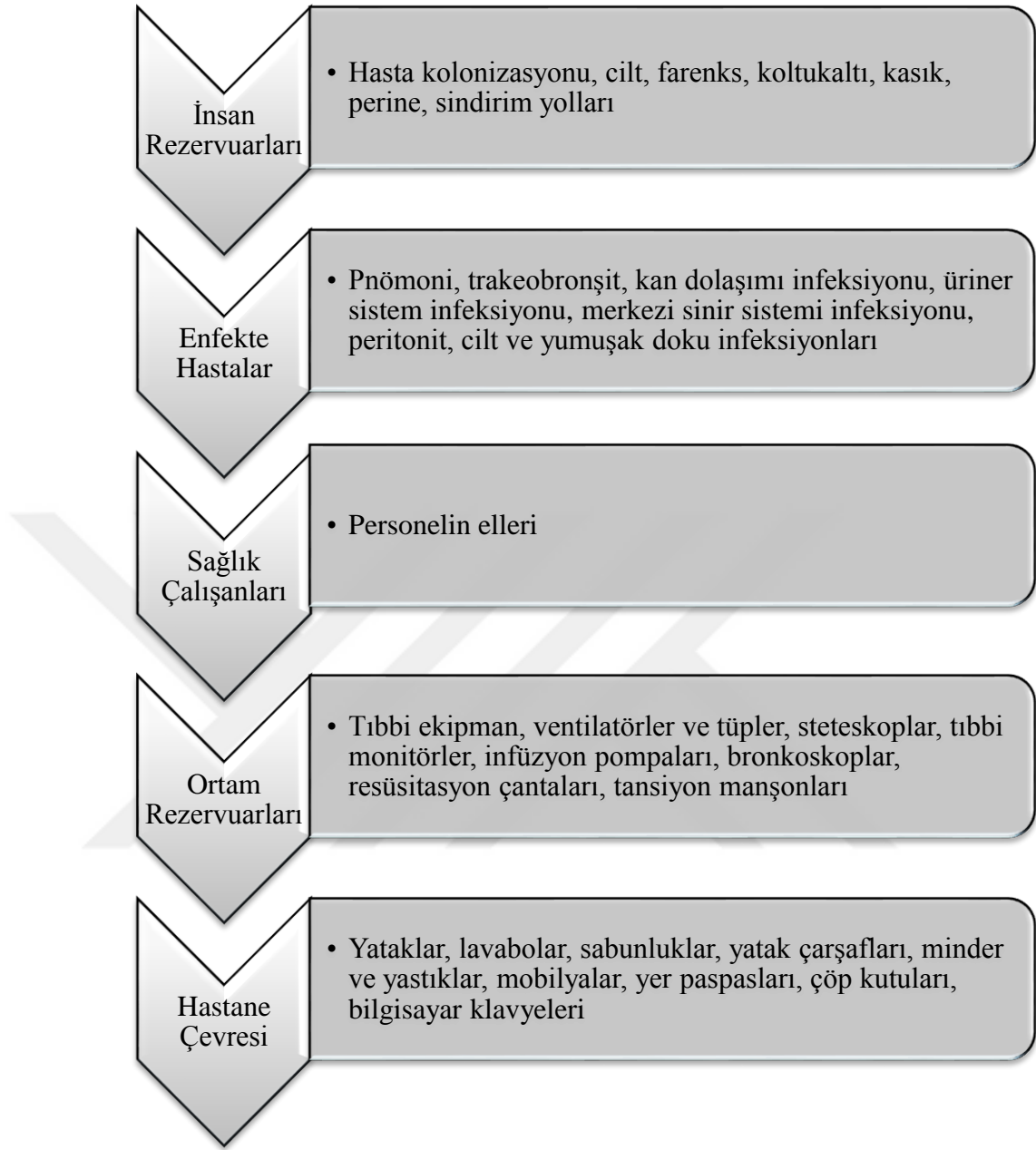
*Acinetobacter* genusunun günümüze kadar 33 genotipi tespit edilmiştir. Bu genotiplerden klinik öneme sahip olanlar: Genotip 1 (*Acinetobacter calcoaceticus*), genotip 2 (*Acinetobacter baumannii*), genotip 3 (*Acinetobacter pittii*) ve genotip 13 (*Acinetobacter nosocomialis*) den oluşan ve *A. calcoaceticus*–*A. baumannii* kompleksi olarak adlandırılan gruplardır [17]. *A. baumannii*, *Acinetobacter* infeksiyonlarının %90'ından fazlasından sorumlu olan ve genotipler içinde en dirençli olan genotiptir [18]. İnsanlarda *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter ursingii*, *Acinetobacter genotip 3* ve *Acinetobacter genotip 13* türlerinden kaynaklanan infeksiyon vakaları da rapor edilmiştir [19]. Ancak, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan standart biyokimyasal tespit yöntemleri *A. baumannii*'yi *A. nosocomialis*, *A. pittii* veya *Acinetobacter calcoaceticus*'tan ayırt etmemektedir; bunların sonuncusu çok az klinik önem taşıyan bir çevresel patojen olarak düşünülmektedir. *Acinetobacter* türlerinin virulans kapasiteleri oldukça düşük olduğundan normal konak savunma mekanizmasına sahip olan kişilerde infeksiyon oluşturma olasılıkları oldukça kısıtlı kalmaktadır. Genellikle hastane kaynaklı fırsatçı infeksiyonlara neden olmaktadır. Asidik pH'da ve düşük sıcaklıkta üreyebilme özelliklerine ilaveten bilinen sitotoksin üretimi bulunmamaktadır [18, 19].

*A. baumannii*'nin en belirgin özelliği, birden çok antimikrobiyal ajan sınıfına karşı direnç geliştirme yeteneğidir. Bu olguyu tanımlamak için sıklıkla çoklu ilaç direnci (Multidrug Resistance: MDR) ifadesi kullanılırken MDR, teknik olarak üç veya daha fazla antimikrobiyal kategoride bir veya daha fazla ajana karşı duyarlı olmama durumunun ifadesidir [20]. Örnek olarak bir izolatın MDR olarak tanımlanması için seftriakson, siprofloksasin ve trimetoprim-sulfametoksazol direnci yeterli olmaktadır ve bu durumda halen birçok tedavi seçeneği bulunmaktadır. Buna karşılık, kapsamlı ilaç direnci (Extensive drug resistance: XDR), iki veya daha az antimikrobiyal kategori dışındaki tüm kategorilerde bir veya daha fazla ajan için duyarlılık göstermemektedir ve klinik açıdan anlamlıdır [20]. Örneğin, kolistin ve tigesikline duyarlı ancak test edilen diğer tüm kategorilere dirençli bir izolat, XDR olarak tanımlanmaktadır. Dünya genelindeki klinik uygulamalarda XDR izolatlarıyla karşılaşma sıklığı giderek artmaktadır [7]. Test edilmiş tüm antimikrobiyal ajanlara duyarlı olmama ise, tüm

ilaç direnci (Pan-drug Resistance: PDR) olarak tanımlanmıştır. Buna ek olarak, karbapenem direnci, *A. baumannii*'ye karşı güvenilir bir etkinliğe sahip olduğu için özel önem arz etmektedir. Karbapenem direnci, ikinci basamak tedavi seçeneklerinin oldukça az etkinlik göstermesi ve genellikle toksisite söz konusu olması nedeniyle sorun oluşturmaktadır. Karbapeneme dirençli izolatlar her zaman olmamakla beraber çoğunlukla XDR'dir ve yine aynı şekilde XDR'lerin çoğunda da karbapenem direnci görülmektedir. *A. baumannii*'nin bir diğer önemli özelliği de, kuru yüzeylerde uzun süre hayatta kalma yeteneğidir. Bu eşsiz özellik, hastane ve sağlık merkezi gibi ortamlarda yaygınlaşmasını kolaylaştırmakta, sıklıkla da salgına neden olmaktadır [21].

## **2.2. *Acinetobacter* Rezervuarları ve Yayılımı**

*Acinetobacter* cinsi bakteriler doğada, toprakta, sularda, atık sularda ve meyve, sebze, et ve balık gibi gıdalarda da bulunabilmektedir [22, 23]. Nozokomiyal infeksiyonlarda ise hastalar arası bulaş görülebilmekte, kolonize hastalar rezervuar rolü oynayabilmektedir [5, 14, 24]. Solunum yolu kolonizasyonuna sahip ventilatördeki hastalardan dört metrelik mesafe uzaktaki hastalara yayılım olabildiği literatürde gösterilmiştir [25]. Çevresel kontaminasyon, infeksiyonun yayılmasında büyük önem taşımaktadır. Zira, *Acinetobacter* türleri kontamine olan yüzeylerde uzun süre canlı kalarak bulaşabilmektedir [26]. Sağlık çalışanlarının ellerinden direkt geçiş de olabilmektedir. Hastanelerdeki perdelerde, laringoskop bıçaklarında, hasta taşıma ekipmanlarında, kapı kollarında, bilgisayar klavyelerinde ve paspaslardaki *Acinetobacter* suşlarının çevresel kontaminasyona bağlı sepsise neden olduğu yine literatürde çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir [22, 23]. Hastanelerdeki potansiyel *A. baumannii* kaynakları Şekil 2.2.'de sunulmuştur.



**Şekil 2.2.** Hastanelerdeki potansiyel *A. baumannii* kaynakları

### 2.3. *Acinetobacter baumannii* İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

*Acinetobacter* türleri bir dizi infeksiyona neden olabilmektedir, ancak en yaygın olarak alt solunum yollarını, daha sonra da kanı ve yaraları etkilemektedir [13]. 2010 yılında ABD genelinde hastanelerden rastgele toplanan *Acinetobacter* izolatların çoğunun (% 57.6) solunum yollarından, geri kalanının da kan dolaşımından (% 23.9), deriden veya yaralardan (% 9.1) geldiği gösterilmiştir [4].

*Acinetobacter* infeksiyonununun tedavisi ile ilgili birçok klinik veri, pnömoni ve kan dolaşımı infeksiyonları vakalarından üretilmiştir. Ancak, pnömoni ve diğer steril olmayan bölgelerin infeksiyonlarında; kolonizasyonu, gerçek *Acinetobacter* infeksiyonundan ayırt etmek ve etkilenen hastaların bu patojene yönelik tedaviye ihtiyaç duyup duymadıklarını belirlemek genellikle zordur. Direnç açısından, ABD Ulusal Sağlık Güvenliği Ağı'ndaki *Acinetobacter* izolatlarının %34'ünün penisilinlere, sefalosporinlere, karbapenemlere, florokinolonlara ve aminoglikozidlere dirençli olduğu tespit edilmiştir [27]. 2010 yılında ABD'de yapılan başka bir anket çalışmasında ise *Acinetobacter* izolatlarının % 44,7'sinde imipeneme ve %49,0'unda meropeneme karşı direnç bulunmuştur [7]. Karbapenem direnci yaşla birlikte artış göstermektedir. Yaşlılarda (65 yaşın üzerindeki) izolatların %60-64'ünde, genç yetişkinlerde izolatların %46-51'inde, çocuk izolatlarının ise sadece %13-17'sinde karbapenem direnci tespit edilmiştir. Yine bu izolatlar için % 52,1 oranında seftazidim, %52,3 oranında levofloksasin ve %38,9 oranında tobramisin direnci bulunurken; izolatların %53,9'unun MDR olduğu görülmüştür. Ayrıca önemli olarak, %5,3 oranında kolistin direnci izlenmiştir. Son on yılda, *Acinetobacter* türleri, özellikle de *A. baumannii*, günümüzde mevcut olan antimikrobiyal ajanlara, özellikle de karbapenemlere giderek daha dirençli hale gelmektedir [28].

*A. baumannii* klinik izolatlarının arasında genomik türlerin dağılımında geniş bir coğrafi ve zamansal farklılık göze çarpmaktadır. 2005-2009 yılları arasında Almanya'daki hastanelerden toplanan klinik izolatları inceleyen bir çalışmada, *A. baumannii* kompleks izolatlarının %51'i *A. pittii*, %37'si *A. baumannii*, %3'ü *A. calcoaceticus* ve %2'si *A. nosocomialis* olarak saptanmıştır. Bu çalışmada imipeneme duyarlı olmayan tüm izolatlar *A. baumannii* olarak bulunmuştur [29]. Diğer yandan, Tayvan'da 2006 yılında yapılan benzer bir çalışmada ise *A. baumannii* kompleks izolatlarının % 89'u *A. baumannii*, % 8'i *A. pittii* ve %3 *A. nosocomialis* olarak belirlenmiştir [2].

*A. baumannii* kompleksi kan dolaşımı infeksiyonlarının incelendiği bir vaka serisinde bir genomtür olarak *A. baumannii*, mortalite için başlı başına bir risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. İlgili mortalite oranları *A. baumannii*

için %59, *A. nosocomialis* için % 17 ve *A. pittii* için % 33 olarak belirtilmiştir [30]. Bu nedenle *A. baumannii*, antimikrobiyal direnç ve olumsuz klinik sonuçlar açısından en sorunlu genomotürdür.

#### **2.4. *Acinetobacter baumannii* İnfeksiyonlarının Klinik Önemi**

*A. baumannii* öncelikle sağlık merkezleriyle ilişkili bir patojendir ve bu nedenle *A. baumannii*'nin kolonizasyon ve infeksiyon için risk faktörleri de sağlık hizmetleriyle ilişkilidir. XDR ve karbapeneme dirençli izolatlarda edinime yönelik risk faktörleri araştırılmış ve yakın zamanda antimikrobiyal ajanlara (özellikle karbapenemlere) maruz kalmış olmak, santral venöz kateter veya üriner kateter varlığı, hastalığın ciddiyeti, hastanede kalış süresi, yoğun bakım ünitesinde yatış yeri, hastane büyüklüğü ve yakın zamanda operasyon geçirmiş olmak risk faktörleri olarak belirlenmiştir [31-34].

İnvaziv *A. baumannii* infeksiyonuna bağlı mortalite, özellikle karbapeneme dirençli vakalarda yüksektir. Karbapeneme dirençli *A. baumannii* infeksiyonları için mortalite %16 - %76 arasında değişirken, karbapeneme duyarlı infeksiyonlarda bu oran %5 - %53 olarak karşımıza çıkmaktadır [35]. Son zamanlarda, imipeneme dirençli *A. baumannii*'ye bağlı kan dolaşımı infeksiyonlarında mortalite oranı % 70, imipenem duyarlı *A. baumannii* için ise bu oran %24,5 olarak bildirilmiştir [1]. Karbapeneme dirençli *A. baumannii* kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalarda mortalite için bağımsız risk faktörleri arasında hastalığın şiddeti, altta yatan malignite, transplantasyon öyküsü, ileri yaş, septik şok, eş zamanlı pnömoni, uygun olmayan antimikrobiyal tedavi, yoğun bakımda kalış süresi ve renal yetmezlik bulunmaktadır [1, 36-39]. Karbapeneme dirençli *A. baumannii* infeksiyonu bulunan hastalarda yüksek mortalite oranları, çoğunlukla hastalığın şiddetine ve erkenden uygun olmayan antimikrobiyal tedavi alma riskine bağlanmaktadır [35]. Örneğin, *A. baumannii* kan dolaşımı infeksiyonu bulunan 274 hastanın analizinde, karbapenem ve ampisilin-sulbaktam dirençli infeksiyonlarda daha duyarlı olanlara kıyasla hastane içi mortalite önemli derecede yüksek bulunmuştur (%42'ye karşın %29,  $p < 0,001$ ) [40].

#### **2.5. *Acinetobacter baumannii* Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları**



Dünya genelinde hızlı direnç gelişimi görülen bakteriyel infeksiyonlar için ihtiyaç duyulan acil tedavi, yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi için zaman ve para gereksinimlerinden dolayı, arayışların eski antibiyotiklere yönelmesine neden olmuştur. Antibiyotiklere karşı bakteriyel direnç ile ilgili veriler günümüzde iki önemli kaynaktan sağlanmaktadır. Birinci kaynak, Ulusal Nozokomiyal İnfeksiyon Sürveyans Sistem Raporu (National Nosocomial Infectious Surveillance [NNIS] System Report), diğer kaynak ise SENTRY Antimikrobiyal Sürveyans Sistemi (SENTRY Antimicrobial Surveillance System)'dir [41]. Bu sürveyans sistemleri, son yıllarda nozokomiyal infeksiyonların sıklıkla gram-negatif kaynaklı oldukları ve geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı hızla direnç geliştiğini ifade etmektedirler. Amerika Birleşik Devletleri'nde senede iki milyonun üzerinde görülen nozokomiyal infeksiyonların %50-60'ından antimikrobiyal direnç geliştirmiş bakterilerin sorumlu olduğu tespit edilmiştir. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türleri, karbapenemlere karşı giderek artan bir oranda direnç göstermeleri açısından antimikrobiyal direnci geliştiren diğer türlerden ayrı tutulmaktadır [41].

Geçen on yılda *Acinetobacter* türlerinin antibiyotik dirençlerinde hızlı bir artış izlenmektedir. Yaygın antibiyotik direnci, geçirgen olmayan dış membran yapısı ve organizmanın sahip olduğu geniş direnç geni rezervuarına bağlanabilmektedir. Özellikle karbapenem dirençli suşlardaki artış, tedavi seçeneklerini sınırlı kılmaktadır [42]. *Acinetobacter* türlerinde direnç mekanizmaları enzimatik modifikasyon, antibiyotiğin dış ortama atılması, porin kaybı ve hedef modifikasyonları olarak karşımıza çıkmaktadır [43].

### **2.5.1. Enzimatik Modifikasyon**

*Acinetobacter* türleri içerdikleri AmpC tipi  $\beta$ -laktamaz, Geniş Spektrumlu  $\beta$ -laktamaz, Karbapenemaz enzimleri ve diğer modifiye edici enzimler sayesinde penisilin, sefalosporin, aztreonam ve karbapenemlerin hidrolizi aracılığıyla direnç geliştirmektedirler [43].

AmpC tipi  $\beta$ -laktamazlar, gram-negatif olan ve AMPCES olarak kısaltılan *Aeromonas*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*,

*P.Aeruginosa*, *Proteus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* ve *Serratia* türlerinde kromozomal olarak kodlanmaktadır. AmpC sefalosporinazlar, geniş spektrumlu sefalosporinleri, aztreonamı ve  $\beta$  laktamaz inhibitörlerini hidrolize etmektedirler [2, 43].

Geniş Spektrumlu  $\beta$ -laktamazlar (GSBL), en çok *Klebsiella* ve *E.coli* olmak üzere oldukça sık rastlanan yapılardır. Penisiline ve dar spektrumlu sefalosporinlere karşı oluşan direncin yanı sıra üçüncü kuşak sefalosporinler ve aztreonam dirençlerinin gelişimini de sağlamaktadırlar. Sefatoksim ve sefotetanı veya karbapenemi yıkamamakla beraber AmpC tipi  $\beta$ -laktamazlardan farklı olarak kluvulanik asit gibi  $\beta$ -laktamaz inhibitörleri ile inhibe olmaktadır [43].

Karbapenemazlar, serin tipi ve metallo  $\beta$ -laktamazlar olmak üzere iki büyük gruba ayrılabilirler. Serin grubunda sınıf A ve D mevcut iken metallo  $\beta$ -laktamaz grubunda sınıf D bulunmaktadır. *Acinetobacter*in karbapeneme karşı etkili sınıf D OXA-tip enzimlerle direnç geliştirdiği pek çok farklı ülkede yapılmış çalışmalarla gösterilmiştir (95,96). OXA grubunun, diğer metallo  $\beta$ -laktamazlara göre daha düşük hidroliz kapasitesine sahip olmasına rağmen *Acinetobacter*de bulunma oranı klinik önemini arttırmaktadır [17]. Diğer yandan, İmipeneme karşı oluşan direncin OXA-23 ve OXA-58 karbapenemazların üretimiyle oluştuğu rapor edilmiştir [44]. Kimi *Acinetobacter* türleri ise karbapenemler dahil pek çok antimikrobiyal ajanı hidrolize eden metallo- $\beta$ -laktamazları (MBL) sentezleyebilmektedir [2].

$\beta$ -laktamazların yanı sıra, özellikle de aminoglikozidlerle ilgili olarak, antimikrobiyal dirençten sorumlu olan ve klinik açıdan eş öneme sahip olan enzimler metilaz, asetiltransferaz, nükleotidiltransferaz ve fosfotransferaz enzimleridir. Bu enzimler arasında kanamisin, amikasin ve tobramisin gibi pek çok ajana karşı direnç gelişiminde rol aldığı için 16S rRNA metilaz ayrı bir öneme sahiptir. Daha dramatik bir bulgu ise aynı enzimin sentetik antibiyotik sınıfı olan florokinolonlara karşı gelişen dirençle de ilişkilendirilmiş olmasıdır [45]. *A. baumannii*'de tüm parenteral aminoglikozidlere karşı direnç gelişimi ise aminoglikozid modifiye edici enzimlerin aracılığıyla oluşmaktadır [17, 43, 46].

### 2.5.2. Atım pompaları

Atım pompaları, varlığı uzun yıllardır bilinen ve her hücrede bulunan proteinlerdir. Bu proteinler dış membranı aralayarak metabolik atıklar, deterjanlar, organik solventler ve antibiyotikler gibi pek çok molekülü ATP hidrolizinden veya iyon-antiport mekanizmasından elde edilen enerjiyi kullanarak aktif olarak hücre dışına atmaktadırlar. Bu mekanizmanın temel amacı toksik bileşenlerin hücredeki akümülyasyonunu sınırlamaktır. Atım pompaları ilaca spesifik olabilmektedirler ki bunların sentez şifreleri genellikle plazmid aracılı olduğundan taşınabilir yapılardır. Nonspesifik pompalar ise normalde kromozomda kodlanmaktadır. Atım pompalarının antibiyotik direncindeki rolü tek başına MIK değerinde bir miktar artıştan ileri gidemezken diğer mekanizmalarla birlikte durum dramatik bir hal almaktadır. *Acinetobacter* türleri birçok antimikrobiyal ajanı hücre dışına atan atım pompalarına sahiptir [15]. *Acinetobacter*'in yüksek direnç geliştirme özelliği açıklanmaya çalışıldığında bu direnç mekanizmalarının tek tek değil bir orkestra gibi birlikte çalıştığında sonuç verdiği görüşü yaygınlaşmaktadır [17, 47]. *A. baumannii*'de kolistin direncinde atım pompalarının aktivasyonunun sağlandığı, tigesiklin direncinde de bu pompaların sayısında artışın söz konusu olabileceği düşünülmektedir [48].

### 2.5.3. Porin kaybı

Porinler, permeabilite bariyerinde bir filtre olarak çalışan dış membran kanallarıdır ve antimikrobial ajanların bakteriyel hedeflerine ulaşmalarında önemli rol oynamaktadırlar. *A. baumannii*, diğer gram-negatif organizmalarla ilişkilendirilmiş olandan daha fazla intrensek membran impermeabilitesine sahiptir. *A. baumannii* diğer gram-negatiflere göre muhtemelen az sayıda ve daha dar olan porin yapısının sızıntı pompaları ile ahengi sayesinde çok daha sıkı bir membran yapısına sahiptir [49]. Karbapenem dirençli *Acinetobacter* 'lerde porin kanallarının kaybı söz konusudur. [47, 50].  $\beta$ -laktam antibiyotik direncinde hem  $\beta$ -laktamazların hem de dış membran değişikliklerinin etkisi bulunmaktadır [15]. Kolistin direncinde dış membrandaki lipopolisakkarit yapının Lipid A komponentinde oluşan bir değişiklik ile ilacın proteolitik özelliği değişmektedir [48].

#### 2.5.4. Hedef Modifikasyonları

Antibiyotiklerin bağlandığı selüler yapılardaki bir modifikasyon bir diğer bakteriyal direnç mekanizmasıdır. Örneğin tüm  $\beta$ -laktam antibiyotikler hücre membranındaki protein sentezini bozarak etki göstermektedirler. Hedefteki transpeptidaz genlerinin mutasyonları veya antibiyotiklere olan afinitelerinin azalması ile direnç gelişimi ortaya çıkmaktadır. Kinolon grubu antibiyotiklerin hedefi hücre içindeki DNA sentezi üzerinedir. *Acinetobacter*'lerin kinolonlara olan direncinde kinolonların hedeflediği DNA giraz (topoizomeraz II) ve topoizomeraz IV enzimleri mutasyona uğratılmaktadır [15, 43]. Aminoglikozidler, tetrasiklinler, kloramfenikol, makrolidler ve klindamisin hücre içinde protein sentezi üzerine etki etmektedirler. *Acinetobacter*'de görülen nokta mutasyonları da direnç gelişimine yol açabilmektedir. Antimikrobiyal ajanın hedef noktasını değişime uğratarak afinitesini düşürebilmekte veya pompaların, diğer protein yapıların sentezini artırarak koruyucu bir etki sağlayabilmektedir. Kolistin direncinin bakteriyel hücre membranında kolistin bağlanmasını azaltacak yönde oluşan değişikliklerle ortaya çıktığı görüşü bulunmaktadır [51].

Önemli bir nokta ise *Acinetobacter* türlerinin diğer organizmalardan gen transferi ile de direnç geliştirebilmeleridir. Kazanılan mutasyonlar zamanla direnç gelişimine yol açabilmekte veya önceden direnç geliştirme özelliğine sahip alt tipler antibiyotik baskısı altında baskın hale gelebilmektedir [52]. Bu nedenle *Acinetobacter* tedavisinde öncelikle psödobakteriyemiye ekarte etmek ve gereksiz tedaviden kaçınmak gerekmektedir. Rodriguez ve ark [53] heterorezistan suşlar ve kolistin dirençli suşların gelişimini engellemede kolistin-rifampisin ve kolistin-imipenem gibi kombine tedavilerin sinerjistik etki ile bu istenmeyen durumdan korunma sağladığını belirtmişlerdir. Fransa'da epidemik MDR *Acinetobacter* türleri üzerinde yapılmış genomik bir çalışmada, *Acinetobacter* içinde *Pseudomonas*, *Salmonella* veya *Escherichia* genomuna ait 45 farklı direnç geni tespit edilmiştir [54]. Antimikrobiyal dirençli *Acinetobacter*'lerin ortaya çıkışının geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı ve türlerin hastadan hastaya geçişine bağlı olabileceği düşünülmekle beraber mekanizmalar halen tam olarak aydınlatılamamıştır [43, 44].

*A. baumannii*, XDR olmak için antimikrobiyal ilaç direnci mekanizmalarının donanımına sahiptir. Belirli XDR suşları antimikrobiyal direnç derecesine ve çevre şartlarına rağmen hayatta kalma kabiliyetine bağlı olarak hastanelerde epidemiktir [55]. *A. baumannii*'nin ilgili antibiyotik ilaç sınıflarına direncinin altında yatan kilit mekanizmalar literatürde yerini almıştır.

## **2.6. *A. baumannii* İnfeksiyonlarının Tedavisi**

Antibiyotiklerin fazla, kontrolsüz ve hatalı kullanımı nedeniyle, özellikle yoğun bakım ünitelerinde dirençli suşların sayısında ve dağılımında dünya genelinde ciddi bir artış görülmektedir [3]. Etkenin üretildiği hastaların çoğu kültür örneğinin alındığı sırada geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi altındaki hastalardır. Dolayısıyla her hastanenin ve her birimin kendi izolatlarını periyodik olarak tespit etmesi, risk faktörlerine ve duyarlılık/direnç profiline göre antibiyotik rejimlerinin düzenlenmesi büyük önem taşımaktadır [52]. Artan antimikrobiyal direnç seviyeleri nedeniyle elde az sayıda tedavi seçeneği kalmış olup MDR olan *Acinetobacter* infeksiyonlarında tedavi seçenekleri konusundaki çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Literatürdeki veriler, in vitro çalışmalar, hayvan çalışmaları ve klinik verilere dayanılarak yapılmış çalışmalardan elde edilmektedir. *Acinetobacter* kaynaklı infeksiyonların tedavisinde genellikle geniş spektrumlu sefalosporinler,  $\beta$ -laktam mono veya kombine terapisi, karbapenem monoterapisi veya aminoglikozidlerle kombine karbapenem terapileri kullanılabilir. Dirençli suşların artışı ile beraber polimiksinler ve tigesiklin de tedavide mono veya kombine terapi bileşeni olarak kullanılmaktadır [2, 5, 43].

### **2.6.1. Beta-Laktam Antibiyotikler**

Bakterilerin hücre duvarındaki penisilin bağlayan proteinlere (PBP) bağlanarak etki göstermektedirler. Karboksipeptidaz ve transpeptidazları inhibe ederek hücre duvarı yapımının önüne geçmektedirler. Bu antibiyotik grubunda penisilinler, sefalosporinler, karbapenem ve aztreonam bulunmaktadır [56]. Beta-laktamlara karşı üç şekilde direnç gelişebilmektedir: PBP afinitelerinde değişiklik, porin kaybı ve beta laktamaz inhibitörlerinin etkisi. *Acinetobacter*'lerde beta laktam antibiyotiklerin bağlanacağı PBP nokta mutasyonu ile değişikliğe

uğrattığında direnç ortaya çıkabilmektedir [57]. Porinlerin direnç mekanizmasındaki rolü ise çoğu beta laktam antibiyotiğin hidrofilitik özelliklere sahip olması nedeniyle gram-negatif bakterilerin lipid yapıdaki membranından, membrandaki porinler aracılığı ile yük, molekül büyüklüğü ve çözünürlüğe bağlı geçişine dayanmaktadır. Membrandaki porin miktarı ve porinlerin yapılarındaki değişiklikler antibiyotiklerin hücre içine geçiş dinamiklerini bozabilmektedir. Bu antibiyotik grubu için en sık rastlanan mekanizma ise beta laktamaz inhibitörleri ile antibiyotiğin inaktive edilmesidir ve özellikle transpozon ve plazmidler aracılığı ile direnç genlerini alabilen gram-negatif bakterilerde kullanılmaktadır [43].

### **Beta Laktamazlar**

Bu grubun klinikteki kullanım amacı beta laktam antibiyotiklerin beta laktamazlar ile hidrolizini engellemektir. İstisnai olarak *B.fragilis* ve *Acinetobacter* türlerine karşı antimikrobiyal etkinliği bulunmaktadır. Klavulanik asitle kombine edilmiş amoksisilin ve tikarsilin, sulbaktamla kombine edilmiş ampisilin ve sefoperazon, tazobaktam ile kombine edilmiş piperasilin pratikte kullanılmaktadır. Beta laktamaz enzimleri kromozomal veya plazmid kaynaklı olmakla beraber *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarında bulunan kromozomal beta-laktamazları inhibe edemeyip, daha çok plazmid kökenli enzimleri inhibe etmektedirler [16]. Beta laktamazlar ilk olarak 1970'li yıllarda penisilinleri hidrolize etme özellikleriyle tespit edilmişlerdir. 1980'lerin başında sefalosporinlerle birlikte geniş spektrumlu beta laktamazlar keşfedilmiştir. [58].

### **Sulbaktam**

Sulbaktam,  $\beta$ -laktamaz aracılı direncin üstesinden gelmek ve birlikte formüle edilmiş  $\beta$ -laktamların aktivitesini düzeltmek için ampisilin veya sefoperazon ile birlikte formüle edilmiş sentetik bir  $\beta$ -laktamaz inhibitörüdür. Buna ek olarak, sulbaktamın kendisi de, özellikle 1a ve 2 türlerinde, PBP'lere karşı afinite sahibidir. Sonuç olarak, *Acinetobacter* türlerine karşı intrinsek aktiviteye sahiptir [59, 60]. 1 g intravenöz dozdan (ampisilin-sulbaktam 3 g

formülasyonunda standart doz) sonra, 40 - 60 mg/L'lik bir pik serum konsantrasyonu elde edilmektedir ve yarılanma ömrü yaklaşık 1 saattir [61]. Sulbaktam duyarlılığı ile ilgili sınırlı sayıda veri bulunmakla beraber 2000'li yılların başında ABD hastanelerinden toplanan *Acinetobacter* türlerinin izolatları için %63,6 oranında ampisilin-sulbaktam duyarlılığı bildirilmiştir [62].

*A. baumannii*'nin pnömonisi fare modellerinde çalışmada yer verilmiş ajanlara karşı dirençli olmayan suşlar kullanıldığında, sulbaktam tedavisiyle, imipeneme benzer şekilde ve kolistinden daha iyi olmak üzere, sağkalım ele edilmiş ve akciğerlerden bakterilerin temizlenmesi sağlanmıştır [63, 64] .

### **Sulbaktam Direnci**

Sulbaktam, *A. baumannii*'nin penisilin-bağlayıcı proteini PBP2'ye bağlanarak anti-*Acinetobacter* aktivitesini uygulamaktadır. Azalmış PBP2 ekspresyonu, sulbaktam direnci ile ilişkilendirilmiştir [51]. Buna ek olarak, GSBL olmayan  $\beta$ -laktamaz TEM-1 üretiminin de *A. baumannii*'nin sulbaktam direncine katkı sağladığı gösterilmiştir [65].

#### **2.6.1.1. Antipsödomonal Penisilinler**

Beta laktam halkası ve tiazolidin halkasına eklenen yan gruba göre sınıflandırılmaktadırlar. Antibakteriyel etki beta laktam halkası ile sağlanmaktadır. Karboksipenisilinler (karbesilin ve tikarsilin) yan zincirde karboksil grubu taşımaktadırlar. Hücre duvarından göreceli olarak rahat geçebildikleri için gram-negatifler, *Enterobacter*, *Providencia*, *Morganella*, indol pozitif *Proteus* türleri gibi bakterileri de etkilemektedirler. Ayrıca antipsödomonal etkinlikleri de vardır. Tikarsilinin beta laktam inhibitörlü kombinasyonları *Acinetobacter* suşlarına karşı etki gösterebilmektedir. Üreidopenisilinlere (azlosilin, mezlosilin ve piperasilin) bakıldığında antipsödomonal etkinliklerinin karboksipenisilinlerden fazla olduğu görülmektedir. Piperasilinin tazobaktam ile kombinasyonu *Acinetobacter* karşı da etkinlik göstermektedir [58].

### 2.6.1.2. Sefalosporinler

Sefalosporinler, PBP'lere bağlanarak hücre duvarı sentezini önleyerek bakterisidal etki göstermektedirler. Yapı ve etkinliklerine göre dört gruba ayrılmaktadırlar. Aminotiazolil grubu yarı sentetik bir üçüncü kuşak sefalosporin olan seftazidim, duyarlı *Acinetobacter* infeksiyonlarında kullanılabilir ancak, son yıllarda yüksek direnç oranları bildirilmektedir. Dördüncü kuşak, yarı sentetik, aminotiazolil grubu bir sefalosporin olan sefepim, diğer parenteral sefalosporinlerden farklı olarak, C-3 pozisyonunda pozitif yüklü bir kuaterner-amonyum grubu içermektedir. Bu yapısal özelliği gram-negatif bakterilerin dış membranından daha kolay ve daha hızlı penetrasyonunu sağlamaktadır ve C-7 pozisyonundaki yan zincire bir 2-aminotiazolilasetamido grubunun girmesi de sefepimi beta-laktamazlara karşı daha dayanıklı bir hale getirmektedir. *Pseudomonas* dahil tüm gram-negatif basillere, gram-pozitiflere ve anaeroblara karşı etkilidir. Vücut sıvılarına ve dokulara geçişi iyidir. Gram-pozitif koklara karşı etkisi üçüncü kuşak sefalosporinlerden fazlayken, ikinci kuşaktan azdır. Gram-negatiflere karşı en etkili sefalosporin grubudur [66]. Sefepim, 12 saatte bir 1-2 gram uygulanmakta ve ağır infeksiyonlarda doz aralığı 8 saate kadar düşürülebilmektedir. Kreatinin klirensi < 60 ml/dakika olanlarda doz aralığı 24 saate çıkarılmakta ve doz azaltılmaktadır [67].

### Sefalosporin Direnci

A. baumannii'nin çoğu klinik izolatu sefalosporinlere karşı dirençlidir. *Acinetobacter* ADC (*Acinetobacter* kaynaklı sefalosporinaz) olarak adlandırılan AmpC  $\beta$ -laktamaz üretmektedir [68, 69]. Gram-negatif patojenlerde kromozomal olarak en çok üretilen AmpC  $\beta$ -laktamazların aksine ADC'nin indükte edilemeyeceği düşünülmektedir [69]. Ancak, ekleme sekansı ISAbal veya ISAbal25, ADC geninin alt akışında elde edildiğinde, ADC ekspresyonu artmaktadır ve ADC geninin doğal promotör dizisi ile karşılaştırıldığında daha kuvvetli bir promotör aktivite sağlamaktadır [70, 71]. Bu durum, ADC de dahil olmak üzere AmpC  $\beta$ -laktamazların bir substratı olmayan sefepim dışındaki sefalosporinlerin MİK değerinin yükselmesine neden olmaktadır. Fakat, bazı A.



*baumannii* izolatlarının diğer sefalosporinler ile birlikte sefepime de direnç gösterebilen geniş spektrumlu AmpC  $\beta$ -laktamaz ürettiği de gözlemlenmiştir [72].

*A. baumannii*, geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz (GSBL) üreterek sefalosporinlere karşı dirençli hale gelebilmektedir. PER-tipi GSBL, *A. baumannii*'de en yaygın bulunan GSBL 'dir [73, 74], ancak en yaygın olarak *E. coli*'de bulunduğu bilinen GSBL olan VEB tipi GSBL ve CTX-M tipi GSBL 'nin üretimi de bildirilmiştir [75, 76].

### 2.6.1.3. Karbapenemler

1976 yılında kullanıma girmiş olan karbapenemler beta-laktam ailesinin en geniş spektrumlu üyeleridir. Günümüzde kullanımda olan karbapenem deriveleri imipenem ve meropenemdir. Karbapenemler sentetik veya yarı sentetik beta-laktam deriveleridir. C1 atomuna bir kükürt atomu buna da bir tiazolidin halkası bağlanmıştır. Yapısında 6-transhidroksimetil grubunun olması birçok beta-laktamaz türüne karşı dirençli olmasını sağlamaktadır. Karbapenemler öncelikle PBP2 olmak üzere, PBP1A, PBP1B, PBP3, PBP4 ve PBP5'e bağlanarak hücre duvar sentezini engellemektedir [16].

Gram-negatif basiller ve koklar, Gram-pozitif koklar ve anaeroblar üzerinde etki göstermektedirler. PBP afinitelerindeki azalma önemli bir direnç geliştirme mekanizmasıdır. Karbapenem direncinin en önemli nedeni beta-laktamaz aktivitesidir. Karbapenemazlar sadece kromozomal ve plazmid kontrolünde üretilebilirlerken, metallo-beta-laktamazlara karşı duyarlıdırlar ve bu enzimler tarafından hidrolize edilmektedirler. Karbapenemler, beta-laktamazların çoğundan etkilenmiyor olmalarına rağmen, kromozomal beta-laktamazları indükleyebilmektedirler.

İmipenemin, penisilin ve sefalosporinlerden farklı olarak, alfa halkasındaki sülfür atomunda metilen bulunmaktadır ve bu yapı bakteri hücreindeki hedef proteinlere bağlanmasını arttırmaktadır. Bu şekilde etki spektrumu genişlemekte ve antibakteriyel gücü artmaktadır. İmipenemin düşük molekül ağırlığına sahip olması hücre membranından geçişini kolaylaştırmaktadır. İmipenem böbreklerden

dihidropeptidaz-1 (DHP-1) enzimi tarafından metabolize edilmektedir ve metaboliti nefrotoksik bir ajandır. Bu sebeple de 1:1 oranında silastatin ile kombine edilerek kullanılmaktadır [77].

### **Karbapenem Direnci**

Karbapenem direncinde çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır. Karbapenem-hidrolize edici  $\beta$ -laktamaz ("karbapenemaz") üretimi, dış zarın geçirgenliğinin azalması ve aktif atımı içermektedir [78, 79]. Bunlardan en önemlisi, intrensek veya kazanılmış karbapenemaz üretimidir.

*A. baumannii* doğal biçimde düşük seviyede kromozomal kodlanmış OXA-51-grup karbapenemaz üretmektedir. OXA-51 grubunun bu bazal üretimi klinik olarak karbapenem direncine yol açmazken, OXA-51 grubu geninin ISAbal veya ISAbal9 transpozisyonu ile daha güçlü bir promotör edinilmesi, orta derecede ve klinik olarak anlamlı karbapenem direncine yol açabilmektedir [80, 81].

Kazanılmış karbapenemazlar arasında, OXA grubu enzimleri, dünya genelinde en sık karşılaşılan enzimlerdir. *A. baumannii*'de OXA-23, -40, -58, -143 ve -235 grupları da dahil olmak üzere beş grup kazanılmış OXA grubu karbapenemaz bulunmaktadır [82]. Bunlardan özellikle OXA-23 grubu yaygındır ve klinik olarak *A. baumannii*'deki karbapenem direncinin en sık nedenidir [83]. Belirtmek gerekir ki, OXA grubu karbapenemazlar, sefalosporinlere değil, oksasiline ve karbapenemlere direnç kazandırmaktadır. Ancak, OXA grubu karbapenemaz edinen izolatlar bahsedilen mekanizmalar nedeniyle genellikle sefalosporinlere karşı dirençli bir şekilde karşımıza çıkmaktadır.

Enterobacteriaceae'de yaygın olan OXA-olmayan karbapenemazlar da *A. baumannii* tarafından kazanılabilmektedir. Bu türe ait en önemli metallo- $\beta$ -laktamaz, NDM grubudur. Karbapenem dirençli *A. baumannii* üreten NDM-1, 2011 yılından beri dünya genelinde tespit edilmektedir [84, 85]. Nadiren bu türün IMP, VIM ve SIM-grubu metallo- $\beta$ -laktamaz ürettiği de bildirilmiştir [86-88]. Son olarak, *A. baumannii*'nin KPC ve GES-grubu karbapenemazları da ürettiği

rapor edilmiş olmakla beraber, bunların sporadik olaylar olabileceği kanısı mevcuttur [8, 89].

## **2.6.2. Protein Sentezini İnhibe Eden Antibiyotikler**

### **2.6.2.1. Aminoglikozidler**

Aminoglikozidler, gram-negatif aerob basiller üzerinde oldukça etkiliyken gram-pozitif bakterilere yönelik etkinlikleri kısıtlıdır. Tobramisin ve amikasin gibi aminoglikozid ajanlar, duyarlılığın tespit edildiği MDR *Acinetobacter* infeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilir. Bu grubun ajanları çoğunlukla başka antimikrobiyal ajanlarla kombine olarak kullanılmaktadır. Mesajcı RNA'daki genetik bilginin okunmasını indükleyerek etkin olmayan proteinlerin sentezi vasıtasıyla bakterisidal etki göstermektedirler. Doz bağımlı etkinliğe sahiptirler. Tek ve yüksek doz uygulamanın başarılı sonuçlar getirebildiği ve önemli bir toksik etki oluşturmadığı bildirilmiştir [77].

### **Aminoglikozid Direnci**

Aminoglikozidler, 30S ribozomal subunitinin 16S ribozomal RNA'sına bağlanmakta ve protein sentezini engellemektedir. *A. baumannii*'de aminoglikozid direncinin altında yatan en yaygın mekanizma, çeşitli aminoglikosit modifiye edici enzimlerin üretilmesidir. Aminoglikozid asetiltransferazları (örneğin AAC (6') - Ib), aminoglikozid fosfotransferazları (örn. APH (3') - Ia) ve aminoglikozid adenililtransferazları (örn., ANT (2") - Ia) içeren üç modifiye edici enzim grubu bulunmaktadır [90]. *A. baumannii*'de yaygın olarak bulunan aminoglikozid değiştirici enzimler AAC (6') - Ib, AAC (6') - Ih (tobramisin ve amikasin direnci kazandırmaktadır), AAC (3) -Ia, ANT (2") - Ia ve APH (3') - Ia (gentamisin direnci kazandırmaktadır) enzimleridir [91, 92]. Ortaya çıkan bir diğer aminoglikozid direnci mekanizması ise 16S ribozomal RNA metil transferaz, özellikle de ArmA üretimidir. ArmA, 16S rRNA'nın aminoglikozid bağlama alanındaki (A-alanı) bir guanin rezidüsünü metillemektedir [93]. ArmA üreten *A. baumannii*, yaygın biçimde sistemik olarak kullanılan aminoglikozidlere (örneğin,

gentamisin, tobramisin ve amikasin) karşı yüksek ve aynı düzeyde direnç göstermektedir [94, 95].

#### **2.6.2.2. Tetrasiklinler**

Gram-pozitif bakteriler, gram-negatif bakteriler, riketsiyalar, clamidyalar, mikoplazmalar ve amipler gibi pek çok mikroorganizma sınıfı için etkilidirler. Spektrumları çok geniş olmasına rağmen en az selektiviteye sahip antibiyotik gruplarından. Tetrasiklinler, karaciğer tarafından kan dolaşımından alındıktan sonra konsantre edilip safra yoluyla barsağa gönderilmektedir. Barsakta tekrar emilip kana geçmekte ve daha sonra böbrekler tarafından atılmaktadırlar. Tetrasiklinler hücre büyümesini, protein sentezi (translasyon) blokajıyla önlemektedir. Bakteri ribozomlarının, 30S subunitlerine bağlanıp tRNA'nın ribozoma bağlanmasını engellemektedir. Bakteriyostatik etki göstermektedirler. Böbrek hastalığı olan kişilerde, gebelerde ve sekiz yaş altı çocuklarda kullanımı kontrendikedir [96].

#### ***Tetrasiklin Direnci***

Tetrasiklin grubu ajanlara direnç primer olarak 70S ribozomuna bağlanan Tet proteinlerinin üretilmesiyle aktif atılım veya hedefin korunması aracılığıyla oluşmaktadır [97]. Bu mekanizmaların çoğunluğuna direnecek şekilde tasarlanmış olan tigesiklin, *A. baumannii* klinik izolatlarının çoğunluğu tarafından üretilen Ade tipi atım pompaları tarafından atılma eğilimindedir. Dolayısıyla, bu pompaların aşırı ekspresyonu, tigesiklin direncine yol açmaktadır [98].

Kısmen antimikrobiyal duyarlılığı bulunan *A. baumannii* suşlarının neden olduğu infeksiyonlar için, elde tedavide kullanılabilecek yeterli sayıda güvenli ve etkili ajan bulunmaktadır. Bu nedenle araştırmalar öncelikle XDR ve karbapenem dirençli *A. baumannii* infeksiyonlarını etkili bir şekilde tedavi etmeye odaklanmıştır (Tablo 1 ve 2). In vitro, in vivo ve klinik araştırmalar yoluyla çeşitli tedavi yaklaşımları öne sürülürken, kolistine duyarlı izolatların ve olası olarak kolistine dirençli izolatların neden olduğu infeksiyonlar için herhangi bir tedavi rejimine polimiksinin (kolistin [polimiksin E] veya polimiksin B) dahil edilmesi

konusunda bir görüş birliği bulunmamaktadır [99, 100]. Polimiksinlere doğru son yönelimlere rağmen, kullanımları konusunda çekinceler mevcuttur. Polimiksinler, 1980'lerdeki toksisite profili nedeniyle diğer infeksiyonların çoğunda terk edilmiştir. Bu nedenle, birçok merkez ve klinisyen, karbapenem dirençli izolatlar için sulbaktam ve tigesiklin gibi diğer ajanlara dayalı tekli veya kombinasyon halindeki tedavi yaklaşımını tercih etmektedir.

### 2.6.2.3. Tigesiklin

Tigesiklin, glisilsiklin sınıfında klinik kullanım için tedavi seçenekleri arasına girmiş ilk ajandır. Bir minosiklinin türevidir ve 30S ribozomal subunitine bağlanarak protein sentezinin inhibisyonuyla etkisini göstermektedir. Tigesiklinin, komplike batın içi infeksiyonlar, komplike yumuşak doku infeksiyonlarında ve ayrıca toplumdan kazanılan bakteriyel pnömonide kullanımı onaylanmıştır. Tetrasiklin direncinin altında yatan effluks ve ribozomal koruma mekanizmalarının çoğundan kaçınabildiğinden önceki tetrasiklinlerle karşılaştırıldığında daha geniş bir spektruma sahiptir [101]. *A. baumannii*, tür olarak tigesikline duyarlıdır [100]. Tigesiklin direnci nispeten nadir olmakla beraber pompaların aşırı ekspresyonu ile, özellikle de bu ajana maruz kaldıklarında gelişebilmektedir [78, 102, 103].

Tigesiklin, büyük distribüsyon hacminin geniş doku dağılımı sağlaması, ancak standart yükleme dozu olan 100 mg'dan sonra 0.7 - 0.8 mg/L düşük serum pik konsantrasyonu elde edilmesiyle benzersiz bir farmakokinetiğe sahiptir [104]. Bu ajanın kan dolaşımı infeksiyonu için kullanımı, düşük serum konsantrasyonlarına bağlı olarak tartışmalıdır ve tedavi sırasında bakteriyemi ortaya çıkabildiği bildirilmiştir [102]. In vitro yatkinlığa rağmen, tigesiklin ile tedavi edilmiş karbapeneme dirençli *A. baumannii* kan dolaşımı infeksiyonu olan hastalarda suboptimal klinik sonuçlar (%56 infeksiyonla ilişkili mortalite) bildirilmiştir [105]. Buna ek olarak, sadece %15-22'si değişime uğramadan idrarla atıldığı için üriner sistem infeksiyonunda kullanılması genellikle önerilmemektedir [106].

Tigesiklin bazlı tedavi rejiminin, imipenem bazlı tedavi rejimleriyle karşılaştırıldığında daha başarısız klinik sonuçlarla ilişkilendirildiği faz III onay çalışması nedeniyle hastane kaynaklı pnömonide kullanımı onaylanmamıştır [107]. Başarısızlık, ventilatörle ilişkili pnömoni olan hastalarda düşük klinik yanıt oranlarından ileri gelmiştir. *A. baumannii* kaynaklı ventilatör ilişkili pnömoni bulunan küçük hasta alt grubunda tigesiklin grubu ve imipenem grubunun klinik yanıt oranları sırasıyla %57.1 ve %94.7 olarak bulunmuştur. Bu klinik sonuç verileri, imipenem ve tigesiklini karşılaştıran bir fare pnömoni modelindeki bulgular ile tutarlılık göstermiştir. Akciğerlerden bakterilerin temizlenmesi de tigesikline kıyasla imipenem ile daha üstün bulunmuştur [108].

### **Tigesiklin direnci**

Tigesiklin direnç gelişimi henüz yeterince aydınlatılamamıştır. Tetrasiklinlere karşı direnç gelişimindeki en önemli mekanizma, genetik olarak aktarılabilen tetrasiklin direnç genlerinin antibiyotiği dışarı atan atım pompalarının yapımını sağlanması ve ribozomal korumadır. Tigesiklin de tetrasiklinlerin ribozomlardaki bağlanma noktasına bağlanmaktadır. Ancak, tigesiklin bu bağlanma bölgesine beş kat daha kuvvetli bağlar yapmaktadır. Bu kuvvetli bağlanma, tetrasiklinlere karşı gelişen ribozomal korunmadan tigesiklinlerin etkilenmemesini sağlamaktadır. Atım pompası da tigesiklinleri hücreden dışarı atamamaktadır. Tüm antimikrobiyalde olduğu gibi tigesiklin kullanımının yaygınlaşmasıyla bu antibiyotiğe dirençli bakteri gelişimi söz konusu olabilecektir. Mutasyonlarla oluşacak yeni efluks pompaları ve ribozomal korunma genleri direnç gelişimine aracılık edebilmektedir [2].

### **2.6.3.4. Minosiklin**

Minosiklin, bir tetrasiklin türevidir. Tigesiklin gibi, etkisi 30S ribozomal subunitlerin inhibisyonuyla gerçekleşmektedir. *A. baumannii*'ye karşı, tetrasiklin veya doksisisikline kıyasla daha iyi etkinlik göstermektedir; çünkü genellikle atım aracılı dirence daha az eğilim göstermektedir [109]. Oral alımda hemen hemen büyük bir kısmı emilmektedir ve 200 mg'lık doz sonrasında 12 - 18 saatlik bir

serum yarılanma ömrüyle yaklaşık 3 mg/L'lik bir pik serum konsantrasyonu oluşmaktadır [110].

Minosiklin, *A. baumannii*'nin güncel izolatlarına karşı iyi korunmuş in vitro aktivitesini sürdürmektedir. 2005 ve 2011 yılları arasında ABD'de toplanan MDR *A. baumannii* izolatlarının bir sürveyans çalışmasında, %72.1 oranında minosiklin duyarlılığına karşın karbapenemlere duyarlı izolatların oranı %8.7 ile sınırlı kalmıştır [111]. Ayrıca, karbapenem dirençli *A. baumannii* için minoksiklin ile kolistin, meropenem ve sulbaktam arasında yüksek in vitro sinerji tespit edilmiştir [112, 113]. Ancak, sınırlı sayıda klinik deneyim raporu bulunmaktadır.

İyi korunmuş in vitro aktiviteye rağmen, minosiklinin bakteriyostatik etkisi ve karbapenem dirençli ve XDR *A. baumannii*'nin daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu tigesiklinin varlığı, *A. baumannii* infeksiyonlarında minosiklinin klinik kullanımını sınırlandırmaktadır. Ancak, kombinasyon terapisi bağlamında hem intravenöz hem de oral kullanımda rol alabilmektedir. Açıkçası, *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisindeki rolünün daha iyi değerlendirilmesi için bu ajanın kullanımı hakkında daha fazla klinik bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır.

### **2.6.3 Folat Sentezini Etkileyen Antibakteriyeller**

#### **2.6.3.1. Sülfonamidler ve trimetoprim**

Sülfonamidler, folik asit sentezinde paraaminobenzoik asit yerine geçerek nükleik asit sentezini inhibe etmektedir. Bakteriyostatik etki göstermektedir ve etki sürelerine göre sınıflandırılabilirler [124].

#### **Sülfonamidler ve trimetoprim Direnci**

Sülfonamidlere karşı direnç sıklıkla kromozomal mutasyonlar sonucunda paraaminobenzoik asit sentezinin artırılması ile gelişmektedir. Bunun yanı sıra kromozomal mutasyonlar ile dihidropteroat sentetaz enziminin artırılması veya düşük afinitede olan varyasyonun sentezlenmesi de mümkündür. Trimetoprime geçirgenliğin azalması ile de direnç gelişebilmektedir. *A. Baumannii* türleri de trimetoprim-sülfametoksazole karşı oldukça yüksek dirence sahiptir ancak, direnç

gelişim mekanizmaları tam bilinmiyor olmakla beraber plazmid DNA'sı tarafından taşınan dhfr geninin kodladığı dihidrofolat redüktaz enziminin sorumlu olabileceği rapor edilmiştir [9].

#### **2.6.4. Nükleik Asit Sentezini İnhibe Eden Antibiyotikler**

##### **2.6.4.1. Florokinolonlar**

Florokinolonlar, geniş spektrumlu sentetik antibiyotiklerdir. DNA replikasyonunda gram-negatif bakterilerde rol alan DNA-giraz (topoizomeraz II) ve gram-pozitif bakterilerde rol oynayan topoizomeraz IV enzimlerini inhibe ederek DNA'nın replikasyonu ve mRNA oluşumunu engellemektedir [130]. Moksifloksasin ek olarak anaerob bakterilere karşı da güçlü etki göstermektedir. *Acinetobacter* türlerine ofloksasin ve siprofloksasin de etki edebilmektedir. Otuz yıl öncesine kadar *A.baumannii* tedavisinde tercih edilmişse de hızlı direnç gelişimi nedeniyle kullanımı azalmıştır. Florokinolonlara karşı direnç gelişimi kromozomal mutasyonlar ile oluşan enzim subuniti antibiyotik bağlantı noktalarında afinite azalması, permeabilite azalması ve artmış antibiyotik dışarı atımı ile ortaya çıkmaktadır. Ofloksasinin L-izofomu olan levofloksasinin oral biyoyararlanımı %99'un üzerindedir. Hem DNA giraz hem de topoizomeraz IV enzimlerini inhibe etmektedir. Ancak, *Acinetobacter* türlerinde etkinliği daha düşüktür [130-132].

##### **Florokinolon Direnci**

*A. baumannii*'de görülen florokinolon direncinin primer mekanizması, DNA giraz ve topoizomeraz IV'ün kinolon direnci belirleyici bölgesindeki (QRDR) amino asit yer değiştirmeleridir ve bu durum flukinolonların bu hedef proteinlere bağlanmasıyla etkileşmektedir [76]. Aktif atım pompalarının aşırı ekspresyonu orta düzeyde florokinolon direncine yol açabilmekte ve QRDR değişimleri olan suşlarda direnç düzeyini artırabilmektedir [133].



#### 2.6.4.2. Rifampisin

XDR *A. baumannii* için rifampisin sıklıkla düşük MİK değerlerini korumaktadır. Rifampisin, direncin hızlı bir şekilde ortaya çıkması nedeniyle tedavi için tek başına kullanılamazken, diğer ajanlarla, özellikle kolistin ile kombinasyonundaki potansiyel rolü araştırılmıştır. MDR ve karbapenemlere dirençli *A. baumannii* için, kendi MİK değerlerinde kolistin ve rifampisin arasındaki in vitro sinerji gösterilmiştir [114, 115]. Rifampisin tek başına veya kolistin, imipenem, sulbaktamla kombine etkinliği, karbapenem dirençli *A. Baumannii*'nin neden olduğu pnömoni ve menenjit modellerinde gösterilmiştir [116]. Bir klinik vaka serisinde, XDR *A. baumannii* nozokomiyal pnömoni veya kan dolaşımı infeksiyonu olan ve rifampisin kolistin kombinasyonla tedavi edilmiş hastalarda düşük bir infeksiyon ilişkili mortalite (%21) gösterilmiştir [117].

XDR *A. baumannii* infeksiyonunun tedavisinde rifampisinin eklenmesinin yararlı etkisi in vitro çalışmalar ve hayvan çalışmaları ile defalarca önerilmiş olsa da, iki randomize kontrollü çalışmada bu etki gösterilmemiştir. İlavenen, sitokrom P450 3A4'ün indüklenmesi nedeniyle hepatotoksisite ve önemli ilaç etkileşimleri potansiyeli göz önüne alındığında, *A. baumannii* infeksiyonunun tedavisinde rifampisin sınırlı bir kullanıma sahiptir [2].

#### Rifampisin Direnci

Rifampisin, bakteriyel RNA polimerazın aktif merkezine bağlanmakta ve transkripsiyonun başlamasını engellemektedir. Rifampisin direncinin altında yatan ana mekanizma, bu hedef proteinin  $\beta$ -subunitindeki amino asit değişimleridir [118]. Ek olarak, rifampisin ADP riboziltransferaz (ör. Arr-2) ile enzimatik modifikasyon ve aktif eflaks da *A. baumannii* klinik izolatlarının rifampisin direnci ile ilişkilendirilmiştir [118, 119].

#### 2.6.5. Fosfomisin

Fosfomisin, peptidoglikan biyosentezinin bir inhibitörüdür ve gram-pozitif ve negatif patojenler arasında geniş bir aktivite spektrumuna sahipken *A.*

*baumannii* söz konusu olduğunda bunu söylemek mümkün değildir [120]. Ancak, karbapenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında fosfomisin ve kolistin veya sulbaktam arasında in vitro sinerji olduğu bildirilmiştir [121].

### **Fosfomisin Direnci**

Kimyasal yapısı ve etkilediği bölgenin farklılığı nedeniyle fosfomisinin diğer antibakteriyel ajanlar ile arasında çapraz direnç yoktur ya da çok nadir gelişmektedir [122]. Gelişmiş ülkelerde uzun süredir yaygın olarak klinik kullanımda olan fosfomisine karşı bakterilerde direnç gelişimi, halen nadir izlenmektedir. Direnç mekanizmaları, çoğunlukla kromozomal kaynaklı veya nadir olarak plazmid aracılıdır [123].

### **2.6.6. Glikopeptitler**

Vankomisin, teikoplanin ve telavansin gibi glikopeptidler peptidoglikan sentezini inhibe ederek etkinliklerini göstermektedir ancak, gram-negatif bakterilerin dış membranına penetre olamamaktadırlar ve gram-negatif patojenlere karşı inaktif oldukları düşünülmektedir. Fakat, dış membranın bozulması, gram-negatif bakterilerde de hedeflerine ulaşmalarına izin verebilmektedir. Bu durum ilk olarak kolistine dirençli *A. baumannii*'de ileri sürülmüştür [125]. Daha sonra hem in vitro hem de waxworm enfeksiyon modelleri kullanarak yapılan bir dizi araştırmada da glikopeptidler ve kolistin arasında güçlü bir sinerji bildirilmiştir [126-128]. *A. baumannii* klinik izolatlarını değerlendiren yakın tarihli bir çalışmada, kolistine duyarlı 10 izolatın 7'sinin zamana bağlı öldürme (time-kill) yöntemi aracılığıyla daptomisin ile kolistinin sinerjiye sahip olduğu bulunmuştur. Dolayısıyla, vankomisinin yanı sıra daptomisinin de kolistinle kombine edildiğinde kullanışlı olabileceği düşünülmektedir [129].

### **2.6.7. Polimiksinler**

Polimiksinler kimyasal yapılarına göre 5 farklı bileşikten oluşan (polimiksin A-E) polipeptid antibiyotiklerdir. Klinik pratikte sadece polimiksin B ve polimiksin E (kolistin) kullanılmaktadır [134].

## Kolistin

Kolistin (polimiksin E), klinik kullanımı onaylanmış iki polimiksin sınıfı ajanından biridir. Polimiksinler katyonik polipeptidlerdir ve katyonik polipeptidler bakteriyel dış membranı oluşturan lipopolisakkaritin lipit A bileşeni ile etkileşerek bakterisidal aktivitelerini uygulamaktadırlar [2]. İntravenöz kullanım için, kolistin, inaktif proilaç kolistin metansülfonat veya kolistimetat olarak uygulanmaktadır. Kolistin, dünya çapında polimiksin B'den çok daha yaygın bir kullanıma sahiptir ve sonuç olarak *A. baumannii*'nin tedavisine ilişkin literatürdeki çoğu veri, polimiksin B'den ziyade kolistin ile sunulmuştur. Kolistin uygulamalarında kolistimetatın miktarını belirtmek için Avrupa ve diğer ülkelerde uluslararası birim (IU) kullanılırken Amerika ve diğer ülkelerde miligram kolistin baz aktivitesi (CBA) tercih edilmektedir. Bir milyon IU yaklaşık 30 mg CBA'ya eşdeğerdir, bu da yaklaşık 80 mg kimyasal kolistimetata karşılık gelmektedir [135].

Kolistin, gram-negatif bakterilere karşı aktiftir ve *A. baumannii* izolatlarının çoğu bu ajana duyarlı kalmıştır. 2010 yılında ABD hastanelerinden toplanan *Acinetobacter* klinik izolatlarında, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) tarafından onaylanmış  $\leq 2$  µg/ml hassasiyet kırılma noktası kullanıldığında, % 94,7 oranında kolistin duyarlılığı tespit edilmiştir [7]. Zamana bağlı öldürme çalışmalarında kolistin hızlı bir bakterisid etki yapmaktadır, ancak çoğalma yaygın olarak MİK değerlerini aşan kolistin konsantrasyonunda görülmektedir [136]. Buna ek olarak, yüksek inokulumlar test için kullanıldığında, MİK değerlerinden daha yüksek kolistin konsantrasyonlarına karşı artmış toleransa sahip alt popülasyonlar gözlemlenebilmektedir [137]. Bu hetero-direnç fenomeni, açıkça kolistine duyarlı olan bir izolatta kolistin tarafından yeterince hedeflenmemiş alt popülasyonlarla ilgili kaygı uyandırmaktadır. Kolistinle yürütülen tedavide direnç oluşması, seçimin hetero-dirençli alt popülasyonlar için yapılmış olmasıyla ilişkilendirilebilmektedir [138].

Kolistin ve proilaç kolistimetatının kendine özgü farmakokinetik özellikleri bulunmaktadır [139]. Kolistimetat, yüksek böbrek klirensi nedeniyle

normal fizyolojik koşullarda nispeten kısa terminal yarılanma ömrüne sahiptir ve serumda yavaş bir biçimde kolistine dönüşmektedir. Bazı kaynaklar 2,2 saatlik kolistimetat yarılanma ömrü hesaplamışken bazılarında daha yüksek olarak 4,9'a yakın bir tahmin görölmektedir. Diğer yandan, kolistin, tübüler geri emilime uğramaktadır ve daha uzun terminal yarı ömre (14.4 – 18,5 saat) sahiptir [140]. Klirensi azalmış olan hastalarda, kolistimetatın yarılanma ömrü, kolistinin yarılanma ömründen orantılı olarak daha uzun olmaktadır [141]. Sonuç olarak, 90 mg CBA eşdeğer dozdan sonra kolistinin tahmin edilen maksimum plazma konsantrasyonu yalnızca 0,6 mg / L'dir ve kritik hastalarda 8 saatte bir tekrarlanan uygulamalardan sonra sadece 2,3 mg / L'ye ulaşmaktadır [142]. *A. baumannii* klinik izolatlarının çoğunluğu için kolistin MİK değerleri 0.25 ila 2 µg/ml arasında yoğunlaşmaktadır, bu da hastaların uzun süre boyunca tedavi konsantrasyonlarının altında kolistine maruz kalabileceğini ima etmektedir. Bu veriler, yükleme dozunun kolistin alan hastalara klinik yarar sağlayabileceğini düşündürmektedir. 180 mg'lık bir yükleme dozu (CBA eşdeğeri) uygulandığında, kolistin konsantrasyonları ortalama 1,34 mg/L olacak şekilde geniş bir aralıkta bulunmuştur [140]. Değişken renal fonksiyonu olan 105 kritik hastayı içeren başka bir çalışmada kolistinin ortalama kararlı durum plazma konsantrasyonu 0,48 - 9,38 mg/L arasında değişmiş ve ortalaması 2,36 mg/L olarak rapor edilmiştir [141]. Yükleme dozu olmadığında tedavinin ilk bir veya iki gününde aktif kolistinin yeterli plazma düzeyinin yakalanamadığı ve enfekte edici organizmaların kolistin MİK değerleri ile plazma kolistin konsantrasyonu arasındaki tedavi penceresinin kararlı durumda bile düşük kaldığı bu çalışmalar, sadece kolistin içerikli tedaviye yönelik farmakokinetik uyarıları vurgulamıştır. Ancak, kolistinin nefrotoksitesisi, dozları aynı anda artırma potansiyelini sınırlamaktadır. Kolistin monoterapisinin bu sınırlı yanı nedeniyle, kolistinin, klinik etkinliğin yakalanması ve direncin önlenmesi için kombinasyon rejimlerinin bir parçası olarak kullanılması önerilmektedir [2].

Kolistin genellikle iyi alternatifler olmadığında kullanıldığından, XDR *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde kolistinin etkinliği hakkında oldukça az klinik deneyim bulunmaktadır. Dahası, çalışmalar, uygun karşılaştırmacı bulunmaması, hastaların tıbbi koşullarının heterojen ve kompleks olmasının yanı

sıra aynı zamanda tutarsız dozlam yaklaşımları gibi doğal sınırlamalara sahiptir. *A. baumannii*'ye bağlı ventilatör ilişkili pnömoni olan ve kolistin veya imipenem duyarlılığına göre tedavi edilen 35 hastayı içeren retrospektif bir çalışmada 21 hasta kolistin (2,5 - 5 mg/kg/gün), 14 hasta imipenem (2 - 3 g/gün) almıştır [143]. Klinikte iyileşme benzer şekilde yaklaşık %57 bulunurken hastane içi mortalite oranlarının sırasıyla %61,9 ve %64,2 olduğu görülmüştür. Küçük bir çalışma olmasına rağmen bulgular *A. baumannii* imipenem'e dirençli olduğunda kolistin imipenem için makul bir alternatif olabileceğini düşündürmüştür. Öte yandan, karbapeneme dirençli *A. baumannii*'nin neden olduğu invaziv infeksiyonları olan ve bir polimiksin veya ampisilin-sulbaktam ile tedavi edilen 167 hastanın dahil edildiği bir başka çalışmada, polimiksin ile tedavinin, hastane içi mortalite için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir [144]. *A. baumannii* kaynaklı, ventilatörle ilişkili pnömoni hastalarında kolistin ve ampisilin-sulbaktam'ın etkinliğinin karşılaştırıldığı tek bir prospektif randomize çalışma bulunmaktadır [145]. 28 hastanın katılmış olduğu bu küçük çalışmada, kabul edilebilir bir dozda kolistin (270 mg CBA/gün, yükleme dozu olmadan) verilmiş ancak bu doz, önerilen dozun alt uç noktasında kalırken yüksek doz ampisilin-sulbaktam (27 g/gün) kullanılmıştır [141]. Klinik etkinlik açısından benzer sonuçlar bulunmuştur (%60,0 - %61,5). Genel olarak, *A. baumannii* infeksiyonuna karşı kullanıldığında kolistin bir miktar etkinliğe sahip olduğu görülmekle birlikte, bu miktarın kantifiye edilmesi zordur. Kolistin farmakokinetik sınırlamaları ve tedavi sırasında direnç gelişimiyle ilgili endişeler göz önüne alındığında, giderek daha fazla kombinasyon tedavisinin bir parçası olarak kullanılmaktadır [2].

### **Kolistin Direnci**

Kolistin, aktivitesi için lipopolisakkarid A lipidini hedef almaktadır ve bu hedefin modifikasyonlarına bağlı olarak kolistine karşı direnç ortaya çıkmaktadır. *A. baumannii*'de en sık rapor edilen direnç geliştirme yolu, hepta-açile A'ya bir fosfoetanolamin kısmı eklenmesiyle lipid A'nın negatif yükünün azalması ve kolistin afinitesinin düşmesidir [146-148]. Önerilen bir diğer mekanizma ise, lipopolisakkarit kaybı ile *A. baumannii*'nin hedeften çıkmasıdır [149].

## Kolistin direnci prevalansı

Günümüzde, kolistin direncinin prevalansı düşük olduğu sınırlı sayıda çalışma ile bildirilmiştir. MDR-GNB infeksiyonları için artan kolistin kullanımı, dünyadaki birçok ülkede kolistin direncinin ortaya çıkmasına yol açmıştır [150]. Mevcut raporların çoğunda direnç oranlarının %10'un altında olmasına rağmen, yüksek direnç oranlarının yer aldığı çalışmalar da bulunmaktadır. Bu varyasyonların metodolojideki farklılıklardan kaynaklanabileceğini belirtmek gerekmektedir. Bazı laboratuvarlarda disk difüzyonu kullanılmaktadır ve polimiksinler, yüksek moleküler ağırlık nedeniyle iyi difüze olamayabilmektedirler. Dolayısıyla, disk difüzyon kullanıldığında direnci olduğundan düşük tespit edilebilmektedir [151]. Dünya çapında gram-negatif patojenlerin toplandığı SENTRY antimikrobiyal süveyans programından Gales ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, polimiksenlere karşı direncin Asya-Pasifik ve Latin Amerika bölgelerinden toplanan *Klebsiella* izolatları hariç test edilen tüm organizmalarda değişmemiş olduğu rapor edilmiştir. Nitekim, *P. aeruginosa*'nın sadece %0.4'ü, *Acinetobacter* türlerinin %0.9'u ve *Klebsiella* türlerinin %1.5'i kolistine dirençli bulunmuştur. Bir diğer çalışma 2008 yılında SENTRY antimikrobiyal süveyans programında Batı Pasifik bölgesinden toplanmış MDR *A. baumannii*'nin kolistin duyarlılığını incelemiş ve tüm izolatların çoklu direnç sahibi olduğunu ve 128 mg / L MIK'e sahip bir izolat haricinde, kolistin MIK değerlerinin 0.5- 2 mg / L olduğu rapor edilmiştir [152]. Kolistin direncinin yanı sıra, çeşitli Gram-negatif patojenlerde heterodirenç saptanmıştır (4, 87). Heterodirenç geniş olarak, antibiyotiğe duyarlı büyük bir popülasyonda, antibiyotiklere dirençli alt kümelerin varlığı olarak tanımlanmaktadır. Heterodirenç, belirli bir antibiyotik için MIK değerinin belirlenmesini zorlaştırabilmektedir ve in vivo antibiyotik direnci gelişimini destekleyebildiğinden tanısal testleri ve tedaviyi etkileyebilmektedir [153]. Ancak, heterodirencin belirlenebilmesi için standartlar olmadığından, farklı bölgelerden bildirilen oranlar büyük varyasyon göstermektedir.

## **Kolistin Heterodirenci**

Kolistin heterodirenci, MIK değerlerine göre duyarlı olarak değerlendirilen bir grubun içinde kolistin dirençli alt grupların bulunması olarak tanımlanmaktadır [125, 154]. Kolistin heterodirençli MDR *Acinetobacter* izolatı ilk kez 2006 yılında Li ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir [137]. Kolistin heterodirenci saptanmış gruplara, özellikle kolistin uygulanmış hastalardan elde edilmiş klinik örneklerde daha fazla rastlanmaktadır [154]. Kolistin heterodirenci olan gruplar, in vitro olarak tek başına kolistine maruz kaldıklarında hızla direnç geliştirmektedirler [155]. Bu nedenle *A.baumannii* infeksiyonlarında kolistin monoterapisi potansiyel olarak direnç gelişimine açık kalmaktadır. Ayrıca suboptimal dozlarda kolistin kullanımı da heterodirenç açısından kritik bir risk faktörüdür [156]. *A.baumannii*'de kolistin heterodirencine, kolistin direncinden daha fazla rastlanmaktadır [100].

## **Kolistin Direnci Risk Faktörleri**

Çoklu ilaç direnci olan bakteriler, enfekte hastaların farklı antibiyotiklerle tedavi edildiği süreçte ortaya çıkmaktadır. Çoklu ilaç direnci herbiri belirli bir antibiyotik ajana karşı dirençle ilişkili olan sıralı mutasyonlarla oluşabilmekte [157] ve hastadan hastaya geçebilen bir bakteri klonunda yer edebilmektedir [158]. Alternatif olarak, çeşitli antibiyotik sınıflarına karşı etkili pek çok direnç mekanizmasını kodlayan genetik kompleksler, farklı bakteri suşları hatta farklı türleri arasında iletilebilmektedir [159-162]. Bunların dışında, atım pompası regülasyonunu kodlayan genlerdeki mutasyonlar gibi bazı direnç mekanizmaları, birden fazla antibiyotiğe karşı eşzamanlı direnç kazandırmakta ve çapraz direnç denen bu olgu sayesinde bakteriyel MDR de aktarılabilmektedir [163]. Çapraz direnç, kolistin direnci oluşumunu sağlayan etmenlerden biridir ve kolistin ile Polimiksin B arasında hemen hemen tam bir çapraz direnç olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir [164-166]. Çapraz direnç dışında, önceden kolistin kullanmış olmanın [167] ve karbapenem kullanımının [168] da kolistin direnci için predispozan faktörler olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, suboptimal dozda veya uzamış kolistin tedavisinin [169] ve selektif sindirim sistemi

dekontaminasyonunun [170] kolistin direnci için risk faktörleri olabileceği gösterilmiştir.

## 2.7. Tedavide Kombinasyonun Rolü

Kolistin, XDR *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde kilit bir ilaç olmasına rağmen, öngörülemeyen ve suboptimal farmakokinetiği ve tedavi sırasında kolistin direnci geliştiğinin gösterilmiş olması nedeniyle kullanımıyla ilgili endişeler bulunmaktadır [10, 11]. Tigesiklin için de suboptimal farmakokinetik ve dirençle ilgili benzer endişeler mevcuttur [171-173]. Sulbaktam ile ilgili olarak ise optimal dozaj belirsizdir ve in vitro etkinliğin klinik sonuçların öngörülmesini sağlayamaması ile ilgili kaygılar bulunmaktadır [174]. Bu endişeler göz önüne alınarak, çoğunlukla ajanlardan biri kolistin olmak üzere, çeşitli kombinasyon rejimleriyle ilgili çalışmalar yürütülmektedir.

Türkiye'deki 27 hastanenin işbirliğiyle yapılan kapsamlı retrospektif bir çalışmada XDR *A. baumannii* kan dolaşımı infeksiyonu olan hastaların klinik sonuçları araştırılmıştır [175]. Tüm izolatların kolistine duyarlı olduğu bu çalışmada hiçbir hasta yükleme dozu almamış olup standart dozda 5 mg CBA/kg/gün kolistin uygulanmıştır. Hastane içi mortalite oranının kombinasyon grubunda monoterapi grubuna göre anlamlı derecede düşük kaldığı ve mikrobiyolojik eradikasyon oranının kombinasyon grubunda monoterapi grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir [2].

Solid organ transplantasyonu yapılmış ve çoğu ventilatörle ilişkili pnömoni olmakla beraber XDR *A. baumannii* infeksiyonu gelişmiş hastaların yer aldığı gözlemsel bir başka çalışmada, kolistin ve karbapenem kombinasyon tedavisi, bağımsız bir sağkalım prediktörü olarak bulunmuşken, herhangi bir monoterapi almış hastalardan hiçbiri sağ kalmamıştır. Önemli olarak kolistin, çalışmada bir monoterapi ajanı olarak kullanılmamıştır [176]. Kolistin alan tüm hastaların klinik iyileşmeye karşı klinik kötüleşme açısından değerlendirildiği bir başka tek merkez çalışmasında, *A. baumannii* infeksiyonu için iyileşme oranı kolistin monoterapisi alan hastalarda %87, kolistin ve meropenem kombinasyonu alan hastalarda %84, kolistin ve piperasilin-tazobactam alanlarda %68, kolistin ve sulbaktam tedavisi



görenlerde ise % 73 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, bu çalışmada düşük doz kolistin, yüksek doza kıyasla kötü sonuçlarla ilişkilendirilmiştir [151]. Dirençli *A. baumannii* infeksiyonlarında monoterapinin yetersizliği, yüksek etkinliğe sahip ilaçların olmaması ve/veya ilaçların yeterli düzey konsantrasyonlarının bulunmaması nedeniyle görülebilmektedir. Sinerji olasılığı, örneğin glikopeptidler ile, ilk varsayımı zayıf hale getirmektedir. Ayrıca, kolistin ve tigesiklin tedavisi sırasında direnç gelişimiyle ilgili kaygılar farmakokinetik zorlukları olan ilaçların kombinasyon tedavisiyle hafifletilebilmektedir. Bu endişeler, bir proilaç olarak uygulanan kolistin benzersiz farmakokinetik özellikleri ile birlikte, invaziv XDR *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde kombinasyon tedavilerinin kullanımını desteklemektedir [2].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada deneysel *A. baumannii* infeksiyonunda kolistin, kolistin + rifampisin, kolistin + trimetoprim sulfometoksazol ve kolistin + teikoplanin tedavilerinin etkinliklerinin değerlendirilmesi planlanmıştır. Deney hayvanlarıyla ilgili tüm işlemler Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde, mikrobiyolojik incelemeler ise Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmaya ait 03.10.2016 tarih ve 77 sayılı etik kurul kararı, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırmaları Yerel Etik Kurulundan alınmıştır.

#### Deney Grupları

Çalışmada, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edilmiş olan 150 adet, 14 haftalık, 25 - 30 g ağırlığında erkek Balb-C cinsi fare kullanılmıştır. Fareler, 24°C oda sıcaklığında, her kafeste 10 fare olacak şekilde 12 saatlik aydınlık/karanlık siklusunda tutulmuşlardır. Ticari fare yemiyle *Ad libitum* beslenme uygulanmış ve kısıtlama yapılmaksızın musluk suyu verilmiştir. Deney hayvanları rastgele biçimde 5 ana tedavi grubuna, ana gruplar da kendi içinde grup başına 10 fare olacak şekilde 24., 48. ve 72. saatte sakrifikasyon alt gruplarına ayrılmıştır.

## Ana Gruplar:

- I. Grup: Kontrol (K) (n = 30)
- II. Grup: Kolistin (C) (n = 30)
- III. Grup: Kolistin + Rifampisin (CR) (n = 30)



Şekil 3.1. Balb-C Fareler.

- IV. Grup: Kolistin + Trimetoprim sulfametoksazol (CB) (n = 30)
- V. Grup: Kolistin + Teikoplanin (CT) (n = 30)

### A. *baumannii* İnfeksiyon Modeli ve Tedavi Süreci

Bu çalışmada 2017 yılında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Anestezi Yoğun Bakım Ünitesinde trakeal aspirat kültüründen elde edilmiş Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde, OXA-23 karbapenemaz ürettiği tespit edilmiş olan *A.baumannii* suşu kullanılmıştır.

Transtrakeal aspirat kültür örneğinden izole edildikten sonra  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmış *A. baumannii* suşu Columbia kanlı ağara 1 kez pasajlanmış, aktif çoğalma fazında genç koloniler elde edilmiştir. Üreyen kolonilerden 3-4 adet alınarak buyyon içinde süspanse edilmiş ve vortekslenerek 0.5 McFarland olacak şekilde inokulum hazırlanmıştır. 10ml salin için 4 koloniyle izolat hazırlandıktan sonra her bir fareye 0,2 mL intraperitoneal olarak inoküle edilmiştir.



**Şekil 3.2.** Columbia kanlı agar.

*A. baumannii* inokulumu içeren süspansiyonun farelere verilmesinden 2 saat sonra K grubuna hiçbir şey verilmeyip, C grubuna 5mg/kg kolistin, CR grubuna 5mg/kg kolistin ve 10mg/kg rifampisin, CB grubuna 5mg/kg kolistin ve 25mg/kg trimetoprim sulfametoksazol, CT grubuna ise 5mg/kg kolistin ve 10mg/kg teikoplanin i.p. olarak verilmiştir. Kolistin dozu 12 saat arayla 2 defada verilirken diğer ajanlar tek uygulamada verilmiştir.

İnokülasyondan 24, 48 ve 72 saat sonra fetal doz ketamin ve ksilazin uygulanarak feda edilen, steril şartlarda batin boşlukları açılan deney hayvanlarının akciğer ve karaciğerleri yine steril olarak çıkarılmıştır. Çıkarılan akciğer ve karaciğer dokuları steril kaplara alınmıştır. Hassas terazide tartılıp



**Şekil 3.3.** Farede intraperitoneal enjeksiyon

ağırlıkları kayıt altına alınan dokular 10ml steril SF içine konulmuştur. Ağırlığı belirlenmiş dokular bakteriyolojik incelemelere tabi tutulmuştur

### **Bakteriyolojik Çalışmalar ve Koloni Sayımı**

Ağırlığı önceden belirlenmiş 10 ml steril serum fizyolojik içindeki dokular cam havan içerisine konularak ezilmiş ve homojen doku süspansiyonları elde edilmiştir. Her bir süspansiyona, içerdiği canlı bakteri sayısının tespit edilmesi amacıyla koloni sayım işlemi yapılmıştır. Bunun için homojen doku süspansiyonları, steril uçlu otomatik pipet (Eppendorf, Almanya) yardımıyla sırasıyla 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 oranlarında dilüsyon serisi hazırlanmıştır. Seri dilüsyonlardaki süspansiyonlardan 100 µl (0.1 ml) alınarak agar plak yüzeyine ekim yapılmıştır. Her bir plağa damlatılan doku süspansiyonu besiyerinin tüm yüzeyine steril drigalski spatülü ile dağıtılmıştır. Ekim yapılan tüm besiyeri plakları, 37 °C'lik etüvde 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda üreme saptanan plaklarda mikroorganizma tiplendirmesi ve koloni sayımı yapılmıştır. Koloni sayımı yapılırken 30–300 arasında koloniye sahip *A. baumannii* üremesi olan plaklar çalışmada kullanılmış olup bu değerlerin dışında koloni sayılarına sahip plaklar dikkate alınmamıştır.

Bir mililitrelik doku süspansiyonunda bulunan canlı bakteri sayısı, plaktaki koloni sayısının, o plağa ait dilüsyon oranı ve 10 (0.1 ml süspansiyon damlatıldığı için) ile çarpımıyla belirlenmiştir. Elde edilen değer doku ağırlığına bölünmesiyle gram doku başına düşen koloni sayısı cfu/gr cinsinden bulunmuştur. Koloni sayımı için kullanılan bağıntı:

$$N_n \times D_n \times 10/W \quad (\text{cfu/g})$$

N: plaktaki koloni sayısı, D: dilüsyon katsayısı:  $10^{-n}$ , W: doku ağırlığı (g), 10: sabit katsayı (0.1 ml plak ekimi), n: plak numarası

**Çizelge 3.1.** Çalışmamızda kullanılan *A.baumannii* izolatının antibiyogramı

<b>İlaçlar</b>	<b>MİK</b>	<b>SİR</b>
<b>Amikasin</b>	<b>&gt;16</b>	<b>R</b>
<b>Siprofloksasin</b>	<b>&gt;2</b>	<b>R</b>
<b>Kolistin</b>	<b>2</b>	<b>S</b>
<b>Gentamisin</b>	<b>&gt;4</b>	<b>R</b>
<b>İmipenem</b>	<b>&gt;8</b>	<b>R</b>
<b>Meropenem</b>	<b>&gt;8</b>	<b>R</b>
<b>Netilmisin</b>	<b>&gt;4</b>	<b>R</b>
<b>Trimetoprim sulfametoksazol</b>	<b>&gt;4/76</b>	<b>R</b>

S: Duyarlı, R: Dirençli

### **İstatistiksel Analiz**

Çalışmada deneysel *A. baumannii* infeksiyon modelinde kolistin monoterapisinin ve kombine tedavilerin etkinlikleri, koloni sayımları kıyaslanarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 20.0 paket programı kullanılarak yapılmış ve istatistiksel anlamlılık değeri  $p<0,05$  olarak kabul edilmiştir. Her bir bağımsız grupta yeterli denek sayısı olmasına rağmen normallik ve homojen dağılım olmadığından çoklu gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal-Wallis, ikili karşılaştırmalar ise Mann-Whitney U testleriyle gerçekleştirilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden 150 adet 12 haftalık erkek Balb-c fare temin edilmiş ve *A. baumannii* infeksiyonu üzerine kolistin monoterapisiyle kolistin+rifampisin, kolistin+trimetoprim sulfametoksazol, kolistin+teikoplanin kombine terapiler etkinlikleri açısından hayvanların akciğer ve karaciğer doku kültürlerinde koloni sayımı yapılarak karşılaştırılmıştır.

Karaciğer ve akciğer kültürlerinde koloni sayımları açısından benzer tedavi yanıtları alınmıştır. Kontrol grubundaki bakteri yükü tüm sakrifikasyon zamanlarında tüm tedavi protokollerine göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur. Tedavi grupları kıyaslandığında ise kolistin grubu ile kolistin+teikoplanin grupları arasında hiçbir sakrifikasyon zamanında bakteri yükü açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir. Diğer yandan, kolistin+rifampisin kombine terapi grubu tüm sakrifikasyon zamanlarında kolistin ve kolistin+teikoplanin gruplarından daha düşük bakteri yüküne sahip olmuştur. Benzer şekilde kolistin+trimetoprim sulfametoksazol grubunda da kolistin ve kolistin+teikoplanin gruplarından daha düşük bakteri yükü tespit edilmişken kolistin+rifampisin grubuyla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir. Farelerin kantitatif kültür sonuçları Çizelge 4.2'de, gruplara ait veriler ise ortalama±standart hata şeklinde Çizelge 4.1'de sunulmuştur.

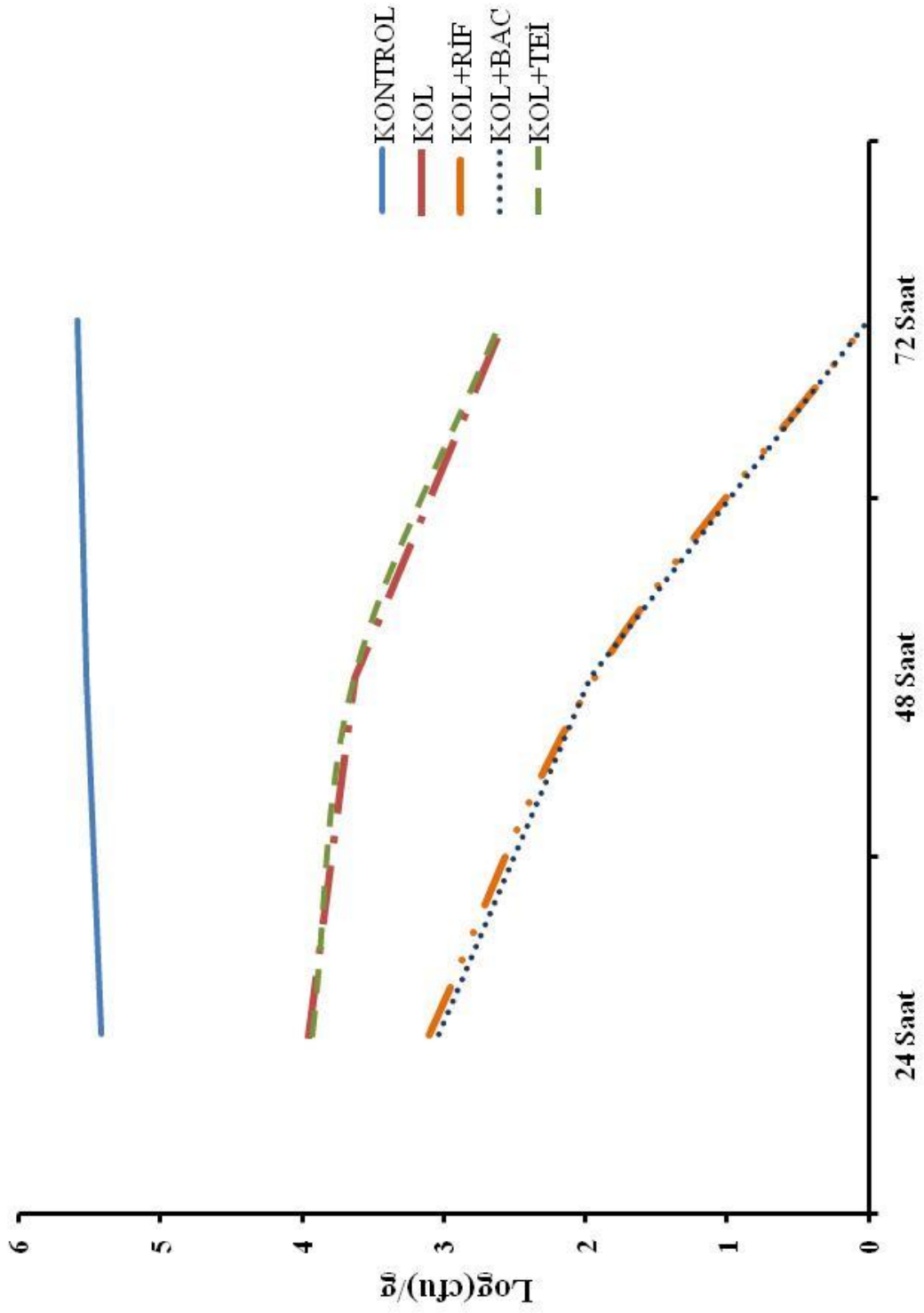
**Çizelge 4.1.** Deney gruplarının akciğer ve karaciğer kültürlerinin kantitatif sonuçları.

Grup	Karaciğer Kültürü Kantitatif Sonuçları (cfu/gr)			Akciğer Kültürü Kantitatif Sonuçları (cfu/gr)			
	n=10/grup	24.saat	48.saat	72.saat	24.saat	48.saat	72.saat
<b>K</b>		258723,3± 30229,6	329411,0± 27834,1	380886,4± 27979,5	245940,1± 29960,2	277991,9± 29509,5	326329,9± 27848
<b>C</b>		9014,2± 353,8*	4253,5± 259,9*	369,0± 26,5*	8407,4± 505,0*	3245,5± 310,2*	275,2± 27,2*
<b>CR</b>		1261,9± 122,7*#,+	85,6± 24,4*#,+	0±0*#,+	1103,2± 75,8*#,+	42,1± 17,2*#,+	0±0*#,+
<b>CB</b>		1095,5± 102,7*#,+	91,9± 31,9*#,+	0±0*#,+	914,6± 53,8*#,+	147,6± 43,9*#,+	0±0*#,+
<b>CT</b>		8389,7± 542,5*	4247,6± 279,7*	388,6± 25,5*	8800,6± 463,6*	3269,3± 215*	252,0± 29,1*

\*K grubuna göre p<0,001, #C grubuna göre p<0,001, +CT grubuna göre p<0,001

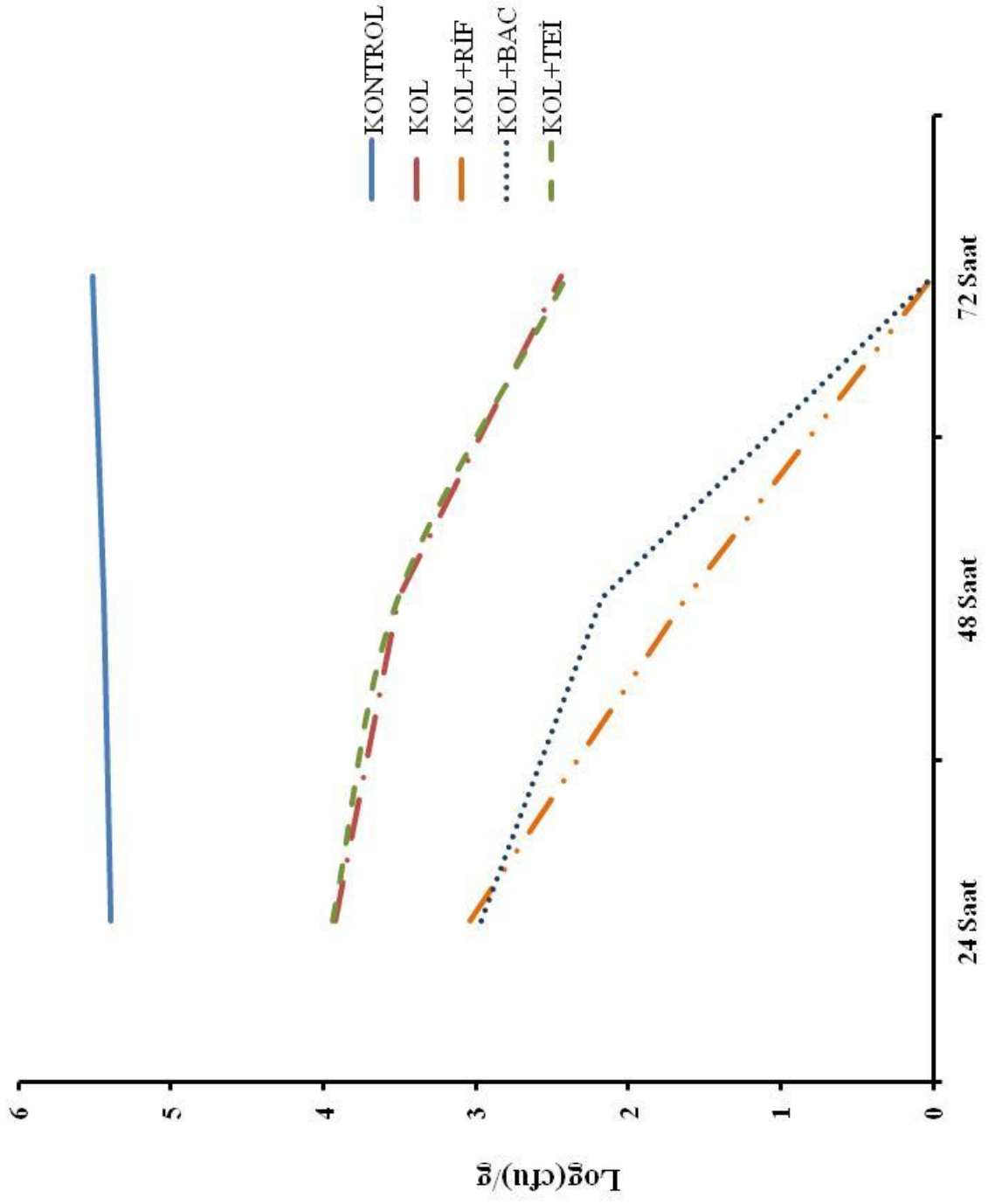
Çizelge 4.2. Gruplarının 24., 48. ve 72. saatlerde akciğer ve karaciğer dokularındaki bakteri yükü.

	Akciğer Doku Kültürü (cfu/g)			Karaciğer Doku Kültürü (cfu/g)		
	24.Saat	48.Saat	72.Saat	24.Saat	48.Saat	72.Saat
K1	187236,4	280521,3	323945,1	195216,7	212785,8	315743,1
K2	145326,7	198657,5	200360,2	125795,1	196528,7	238546,4
K3	274835,1	395384,1	454786,2	323856,1	372561,8	402358,7
K4	356914,5	392756,2	408596,4	254187,2	286452,4	305246,7
K5	162457,9	245681,2	293485,7	157489,5	185694,6	256894,4
K6	315842,8	361842,9	445876,4	115247,9	136854,2	176958,8
K7	417548,3	484651,2	497564,2	312574,6	346582,9	407861,4
K8	324385,4	351869,4	424657,9	265739,1	284561,7	327594,3
K9	254834,1	347561,8	402168,8	308452,6	329457,3	361843,5
K10	147851,6	235184,6	357423,1	400842,4	428439,2	470251,9
C1	9015,2	4785,1	386,7	8536,1	2956	194,3
C2	7514,3	3584,9	278,5	10426,8	4935,7	351,4
C3	8694,7	4362,4	400,6	6826,4	2837,1	209,4
C4	10824	4989,7	457,3	9431,6	3814,5	401,7
C5	7931,5	3975,2	249,5	10338,2	3917,5	186,2
C6	8567,9	4481,2	305,7	7362,9	2482,8	234,7
C7	7826	2485,6	294,7	7914,3	3080,1	366,9
C8	10351	5314,8	492,6	8357,1	4159,5	284,6
C9	9482,6	4735,1	452,3	9486,4	2795,2	349,5
C10	9934,5	3821,4	372,4	5394	1476,6	173,5
CR1	1685,3	157,3	0	1358,2	0	0
CR2	1975,6	179,4	0	1009,7	0	0
CR3	1405,9	106,8	0	1385,4	101,4	0
CR4	1003,4	0	0	1183,6	0	0
CR5	1268,8	0	0	943,8	0	0
CR6	1384,6	101,7	0	1475,4	113,7	0
CR7	937,5	146,9	0	986,3	0	0
CR8	695,2	0	0	1054,5	99,5	0
CR9	904,8	0	0	899,9	106,1	0
CR10	1358,1	163,5	0	735,2	0	0
CB1	1035,9	0	0	925,7	301,8	0
CB2	1284,6	154,6	0	1065,2	194,5	0
CB3	1796,2	184,6	0	762,4	276,3	0
CB4	945,7	0	0	846,2	0	0
CB5	813,4	0	0	793,5	0	0
CB6	1392,8	248,6	0	901,6	0	0
CB7	1183,2	137,5	0	1283,4	342,8	0
CB8	739,2	0	0	1007,1	136,9	0
CB9	924,6	193,4	0	695,7	0	0
CB10	839,5	0	0	865,3	224,1	0
CT1	8762	5006,4	296,1	9362,4	3915,2	182,7
CT2	7928,4	3948,1	415,7	10248,3	2945,7	284,6
CT3	10583	4095,4	294,6	9351,3	3682,4	195,4
CT4	9384,2	5076,4	368,4	7816,2	3975,2	129,3
CT5	5009,6	3548,6	549,3	9426,7	4295,1	201,5
CT6	6826,4	4438,9	395,7	8341,8	2793,4	348,2
CT7	9784,6	2375,6	468,2	10492,5	2248,6	364,8
CT8	8729,5	5483,2	378,5	6821,3	3298,4	248,5
CT9	9927,6	4486,5	413,6	9972,6	2496,7	395,4
CT10	6961,5	4016,5	305,6	6172,9	3042,5	169,4



Şekil 4.1. Karaciğer kültürü logaritmik sonuçları





Şekil 4.2. Akciğer kültürü logaritmik sonuçları

## 5. TARTIŞMA

*Acinetobacter baumannii*, bakteriyemi, pnömoni, menenjit ve idrar yolu infeksiyonları da dahil olmak üzere hastane kökenli infeksiyonlarla sıklıkla ilişkilendirilen gram-negatif bir patojendir. *A. baumannii* aynı zamanda dünya genelinde ortaya çıkan hastane kaynaklı salgınların primer sebebi olarak kabul edilmiştir ve Amerika İnfeksiyöz Hastalıklar Derneği (IDSA) tarafından en önemli önceliğe sahip altı tehlikeli mikroorganizmadan biri olarak listelenmiştir [177]. Özel olarak endişe verici olan kısım, *A. baumannii*'nin  $\beta$ -laktamlar, florokinolonlar, tetrasiklinler ve aminoglikozidler dahil olmak üzere mevcut tüm antibiyotiklere karşı direnç olarak tanımlanan çoklu ilaç direnci sahibi olmasıdır [178].

Yoğun bakım ünitelerinde endikasyon dışı ve sık bir şekilde geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, antibiyotik direnci gelişimine en büyük katkıyı sağlayan faktörler olarak gösterilmektedir [179]. *Acinetobacter* türleri, epidemiyolojik şartlardan, lokal antibiyotik kullanım profillerinden ve antibiyotik kontrol politikalarından kaynaklanan farklılıkların bir sonucu olarak ülkeler, hastaneler ve tıbbi birimler arasında farklı duyarlılık profillerine sahip olabilmektedir [180].

Çalışmamızda *A.baumannii* infeksiyonu modeli oluşturmak için OXA-23 karbapenemaz ürettiği saptanmış olan bir suş kullanılmış olup ilgili suşun amikasin, siprofloksasin, gentamisin, imipenem, meropenem, netilmisin ve trimetoprim sulfametoksazol için farklı oranlarda direnç geliştirmiş olduğu tespit edilmiştir. Kolistine karşı ise direnç saptanmamıştır.

Ülkemizde yapılmış olan bir çalışmada 2012 yılında farklı kliniklerden toplanmış olan örneklerden izole edilmiş 143 *Acinetobacter* suşunun antibiyotik duyarlılık oranları incelendiğinde en yüksek duyarlılığın kolistin için geçerli olduğu saptanmıştır. Duyarlılık oranı kolistin için %99 iken, tigesiklin için %53, imipenem için %8, amikasin için %69, gentamisin için %46, trimetoprim-sulfametoksazol için %35, sefaperazon/sulbaktam için % 9, siprofloksasin için %8, sefepim için %7, piperasilin/tazobaktam için % 7, seftazidim için %6,

ampisilin/sulbaktam için %6 olarak rapor edilmiştir. Çalışmada, ülkemizde tırmanan antibiyotik direnç oranlarına dikkat çekilmiştir [181].

Acinetobacter infeksiyonlarının tedavisindeki en büyük problem, çoklu ilaca direnç geliştirmiş suşların sayısındaki artış ve buna bağlı olarak da tedavide kullanılacak antibiyotik seçeneklerinin ciddi oranda azalmasıdır [182]. Bugün, *A. baumannii* infeksiyonlarında kolistin ve tigesiklin tek aktif antibiyotik olarak kalmış, çoklu ilaç dirençi geliştirmiş olan *A. baumannii* için son tedavi yöntemi haline gelmiştir. Her ne kadar komplike batın içi infeksiyonlar, komplike yumuşak doku infeksiyonları ve toplum kökenli pnömoni için tigesiklin onaylanmış olsa da, kapsamlı bir meta-analizle tigesiklinin genel kullanımda olan antimikrobiyal ajanlardan da daha iyi olmadığı gösterilmiştir [183]. Daha hayal kırıcı olarak ise pek çok ülkede tigesiklinin ticari olarak bulunmadığı zamanlarda dahi, çoklu ilaç dirençli *A. baumannii* izolatlarında direnç hiç de nadir görülmemiştir [184-186]. Sonuç olarak, klinisyenler 1950'lerin sonlarında daha önceden klinik kullanımı bulunan 'eski' bir ilaç olan kolistine dönmeye mecbur kalmışlardır [134].

Kolistin, lipid A'nın dış zar bozulmasına neden olan lipopolisakkarit ile etkileşerek gram-negatif bakterilere karşı hızlı bakterisidal etki göstermektedir [187]. Nefrotoksisite ve nörotoksisite bildirimleri ve aminoglikozidler gibi daha az toksik antibiyotiklerin ortaya çıkması nedeniyle, kolistin klinik kullanımı neredeyse terk edilmişti. Araştırmacılar, kolistin toksisitesini yeniden değerlendirmiş ve kolistin kullanımından kaynaklanan toksisite insidansının, daha önce bildirilmiş olanlara kıyasla daha seyrek ve ciddi olduğunu bulmuştur. Olası nedenler arasında kolistimetat sodyum formülasyonunun geliştirilmesi, nefrotoksik ve/veya nörotoksik ajanların eşzamanlı uygulanmasından kaçınma, dikkatli dozlam ve kritik bakım hizmetleri yer almaktadır [188].

Son yıllarda, çoklu ilaç direnci olan bakterileri tedavi etmek için yaygın olarak kolistin kullanılmaktadır. Ne yazık ki *A. baumannii*'de kolistin heterozistansı ve kolistin direnci tanımlanmıştır. *A. baumannii*'nin kullandığı çoklu direnç mekanizmaları sayesinde direnç gelişimi güçlü ve hızlı bir şekilde oluşmaktadır. Vücut dışındaki ortamlarda dayanıklılığı, hastane personeli ve tıbbi

ekipman aracılığıyla ve hatta hastadan hastaya hava yoluyla bulaş mümkün olduğundan epidemilere yol açabilmektedir [25]. Acinetobacter infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan karbapenem grubu antibiyotiklere karşı direnç gelişimi ve direnç sıklığının artışı, bu infeksiyonların tedavisine yönelik seçeneklerin azalmasına ve tedavinin güçleşmesine neden olmaktadır. Karbapenem dirençli suşların yaygınlaşmasının ardından rifampisin, sulbaktam, kolistin, tigesiklin gibi antibiyotikler kullanılmaya başlanmıştır. Literatürde karbapenem dirençli Acinetobacter suşlarından kaynaklanan infeksiyonların tedavi seçeneklerinin tek başına veya kombinasyon halinde kullanıldığı olgu sunumları ve vaka serileri bulunmaktadır. *In vitro* ortamda bu organizmaların duyarlı olarak gözlemlendiği ajanların *in vivo* şartlarda aynı etkiyi gösterememesi ve/veya *in vivo* koşullardaki etkin dozların insanlarda terapötik sınırlar içinde kalan etkin serum düzeyini oluşturamaması tedavide karşılaşılan sorunlar arasında yer almaktadır. Bu yaklaşımların etkinliği ve sonuçlarıyla ilgili çelişkili raporlar mevcutken tedavi yaklaşımlarını karşılaştıran randomize kontrollü çalışmalara rastlanmamaktadır [189].

Acinetobacter türleri hastane kaynaklı pnömoninin ve ventilatör ilişkili pnömoninin en sık karşılaşılan etkenleri arasında yer almaktadır. Solunum yollarındaki infeksiyon etkeninin tespit edilmesi ve antibiyotiklerin bu bölgedeki etkinlikleri, özellikle yoğun bakım ünitelerinde immün sistemi baskılanmış hastalarda oluşan ventilatör ilişkili pnömoni için büyük önem taşımaktadır. Dolayısıyla *A.baumannii* infeksiyonlarında kullanılacak etkin, kombine tedavi arayışları bu hastalar için de oldukça kritiktir.

Kolistin, XDR *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan kilit bir ilaç olmasına rağmen, öngörülemeyen, suboptimal farmakokinetiği ve tedavi sırasında kolistin direnci geliştiğinin gösterilmiş olması nedeniyle kullanımı ile ilgili endişeler bulunmaktadır [141, 142]. Tigesiklin için de suboptimal farmakokinetik ve dirençle ilgili benzer endişeler mevcuttur. Bu endişeler göz önüne alınarak, çoğunlukla ajanlardan biri kolistin olmak üzere, çeşitli kombinasyon rejimleriyle ilgili çalışmalar yürütülmektedir. Kolistin ile kombinasyonunun etkinliğinin araştırıldığı antibiyotik ajanlar arasında rifampisin,

trimetoprim-sülfametoksazol, teikoplanin, sulbaktam, aztreonam, meropenem, vankomisin ve tigesiklin bulunmaktadır [2].

Bizim çalışmamızda da karbapenem dirençli *A.baumannii* suşunda kolistin monoterapisinin, kolistin-rifampisin, kolistin-trimetoprim sülfametoksazol, kolistin-teikoplanin kombine tedavilerinin etkinlikleri deneysel *A.baumannii* fare modelinde karşılaştırılmıştır. Kolistin monoterapisi ile kolistin+teikoplanin kombine tedavisi arasında bakteri yükü açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir. Diğer yandan, kolistin+rifampisin kombinasyonu kolistin monoterapisi ve kolistin+teikoplanin kombinasyonundan daha düşük bakteri yüküyle ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde kolistin+trimetoprim sulfametoksazol kombinasyonu da kolistin monoterapisi ve kolistin+teikoplanin kombinasyonundan daha düşük bakteri yüküyle ilişkilendirilmiş ve kolistin+rifampisin kombinasyonu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir. Elde edilen bu verilerden yola çıkarak çalışmamızda hem kolistin monoterapisinin hem de kombine terapilerin karaciğer ve akciğerde *A.baumannii* yükünü azalttığı tespit edilmiştir. Kombine terapiler kendi içinde değerlendirildiğinde ise kolistin+rifampisin ve kolistin+trimetoprim sulfametoksazol kombine terapilerinin 72. saatte hem karaciğer hem de akciğer kültüründe bakteri yükünü tamamen ortadan kaldırdığı göze çarpmıştır. Dolayısıyla, kolistin+rifampisin ve trimetoprim sulfametoksazol ile oluşturulan kombine terapilerinin, kolistin monoterapisi ve kolistin-teikoplanin kombine terapisine göre daha yüksek etkinliğe sahip olabileceği çıkarımını yapmak mümkündür.

Literatürde kolistin monoterapisinin ve çoklu terapilerin *A.baumannii* üzerindeki etkinliklerinin incelendiği pek çok deneysel çalışma mevcuttur. Kolistin monoterapisinin incelenmiş olduğu Montero ve ark. tarafından fare pnömoni modeli kullanılarak yapılmış çalışmada 2 karbapenem dirençli *A.baumannii* suşu kullanılmış ve kolistin mortaliteyi azaltma, kan ve akciğerlerde bakteri eradikasyonunda etkili olmadığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da bu bulguyu destekleyecek şekilde, tek başına kolistin tedavisinin karaciğer ve akciğerde bakteri eradikasyonu için yeterli olmadığı gözlenmiştir [63].

Cirioni ve ark. [190] *A.baumannii* fare modelinde kolistin monoterapisiyle kolistin-teikoplanin kombine terapisinin etkinliklerini karşılaştırmış ve kolistin tek başına iyi bir antimikrobiyal etkinliğe sahip olmasına rağmen kolistin-teikoplanin kombinasyonunun çoklu ilaç dirençli *A.baumannii* enfeksiyonu tedavisini daha iyi bir noktaya taşıyabileceğini saptamıştır. Fan ve ark. [191] ise 12 çoklu ilaç dirençli *A.baumannii* suşunda kolistin çeşitli ajanlarla kombinasyonunda sinerjistik etkileri incelediğinde tedavi sonrası 24. saatte kolistin rifampisinle suşların %100'ünde sinerjistik aktivite gösterdiğini, çoklu ilaç dirençli *A.baumannii* enfeksiyonlarında en etkili kombinasyonun kolistin-rifampisin olduğunu vurgulamıştır. Bae ve ark. [192] tarafından yapılmış bir çalışmada da etkinliği 9 kolistin dirençli *A.baumannii* suşunda in vitro olarak karşılaştırılmış kolistin kombinasyon terapilerinin içinde %100 sinerjistik etkiyle kolistin-rifampisin kombinasyonu ön plana çıkmış ve klinik kullanımda en yararlı olabilecek kombinasyon olduğu vurgulanmıştır.

Klinik çalışmalara bakıldığında ise Kasiakou ve ark. [193] kolistin kullanımı ile ciddi Acinetobacter veya Pseudomonas enfeksiyonu olan 50 hastanın %67 sinde klinik düzelme veya tam iyileşme sağlandığını rapor etmişlerdir. Benzer olarak Sobieszczyk ve ark. [194] kolistin kombinasyonu ile Acinetobacter veya pseudomonasa bağlı pnömonisi olan 25 hastanın %79 unda tedavi son bulana kadar sağkalım bildirmiştir. Kolistin, çoklu ilaç dirençli Acinetobacter kaynaklı menenjitlerdeki etkinliği üzerine Katragkou ve ark. yaptığı değerlendirmede tedavi oranının %93 olduğu görülmüş, ancak çalışma sistematik derleme formatında olup, başarılı olguların yayınlandığı düşüncesi ile rakamın net olmadığı bildirilmiştir. Levin ve ark. [195] yaptığı ve MDR *Pseudomonas aeruginosa* ve *A.baumannii* enfeksiyonu olan hastalarda kolistin etkinliği %58 olarak bulunmuş ancak hasta grupları arasında en kötü sonuç %20 iyileşme oranı ile pnömoni grubunda saptanmıştır. Bu durum kolistin akciğer dokusuna daha az geçiyor olması ile açıklanmıştır. Buna karşılık çalışmamızda kolistin tek başına dahi akciğer örneklerinde koloni sayısı üzerinde belirgin bir etki sahibi olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, verilerimize dayanarak, kolistin+rifampisin ve kolistin+ trimetoprim sulfametoksazol kombinasyonlarının *A.baumannii* kaynaklı

pnömonilerin tedavi süresini kısaltabileceği ve daha yüksek iyileşme oranı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Literatürde deneysel modellerde ve klinik çalışmalarda kullanılan, direnç olarak benzerlik gösteren suşlarda birbiriyle çelişen sonuçlar göze çarpmaktadır. *A.baumannii* direnç mekanizmaları ve genetik özellikleri ile ilgili bilgi artışı bu farklılıkların gelecekte açıklanmasına katkı sağlayabilecektir. Bakterilerin direnç gelişiminde kullanacağı enzimi ve diğer intrasellüler değişiklikleri baskın bir şekilde genetik özellikler belirlemektedir. Bu durum tedavide kullanılacak ajanların başarısı için sadece antibiyogramda gözlenen ilaç dirençlerinin değil, genetik direnç potansiyelinin belirlenmesinin de önemli olduğuna işaret etmektedir. Dolayısıyla, kombine tedavi protokollerinin yanı sıra, gelecekte yapılacak genetik araştırmalar doğrultusunda farklı Acinetobacter suşlarının antibiyoterapilere ne hızda ve hangi mekanizmalarla direnç geliştireceğinin tespit edilmesiyle infeksiyon tipi ve dönemine göre en etkin tedavi protokollerinin oluşturulması da mümkün olabilecektir.

## 6. SONUÇLAR

Son yıllarda çoklu ilaca dirençli gram-negatif patojenlerin neden olduğu hastane kaynaklı infeksiyonların sıklığındaki artış dünya çapında önemli bir soruna haline gelmiştir. Hastane ortamında yaygın olarak bulunan ve hastane infeksiyonlarına yol açtığı için son yıllarda önemi giderek artan *A.baumannii*, pek çok ilaca karşı direnç geliştirmiş gram-negatif bir kokobasildir.

Çoklu ilaç direnci geliştirmiş Acinetobacter suşlarından kaynaklanan infeksiyonların tedavisinin klinisyenler için oldukça güç bir süreç olduğu bir gerçektir. Yakın zamanda rutin kullanıma girmiş veya girme ihtimali olan antibiyotik ajanların eser miktarda olması yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Bu doğrultuda, kombine antibiyotik tedavileri, daha etkin sonuç almak ve direnç oranlarını azaltmak adına uygun bir yaklaşım olarak görülmektedir. Bu aşamada in-vivo çalışmalara öncülük eden in-vitro araştırmalar, tedavi yönteminin belirlenebilmesinde büyük rol oynamaktadır.

Çalışmamızda bugün *A.baumannii* tedavisinde etkinliği olduğu bilinen kolistin monoterapisinin etkinliği, OXA-23 karbapenemaz üreten, kolistin duyarlı *A.baumannii* suşu kullanılarak farelerde oluşturulmuş infeksiyon modelinde kolistin+rifampisin, kolistin+teikoplanin, kolistin+trimetoprim sulfametoksazol kombine terapileriyle akciğer ve karaciğer kültürlerinde ölçülen bakteri yükü ile karşılaştırılmıştır. Elde etmiş olduğumuz veriler kolistin+rifampisin ve kolistin+trimetoprim sulfametoksazol kombine terapilerinin çoklu ilaç direnci geliştirmiş *A.baumannii* infeksiyonlarının tedavisi için uygun seçenekler olabileceğini göstermektedir.

Direnç gelişimini önleme ve tedavi etkinliğini artırma açısından kombine antibiyotik terapilerinin önemli bir alternatif olduğunun bir kez daha vurgulanması gerektiği kanısındayız. *A. baumannii* suşlarından kaynaklanan infeksiyonların uygun ve etkin biçimde tedavi edilebilmesi için daha fazla suş ve farklı antibiyotik kombinasyonları kullanılarak ileri çalışmalar yapılması gerektiğine inanmaktayız.



## ÖZET

Çoklu ilaca dirençli gram-negatif patojenlerin neden olduğu hastane kaynaklı infeksiyonların sıklığındaki artış dünya çapında önemli bir sorun haline gelmiştir. Hastane ortamında yaygın olarak bulunan ve hastane infeksiyonlarına yol açtığı için son yıllarda önemi giderek artan *Acinetobacter baumannii*, pek çok ilaca karşı direnç geliştirmiş gram-negatif bir kokobasildir.

Son yıllarda yoğun antibiyotik kullanımı ve yoğun bakımda yatış sürelerinin uzaması sonucunda, dirençli suşların neden olduğu infeksiyonların sayısında artış görülmektedir. Çoklu ilaca dirençli *A.baumannii* suşları özellikle yoğun bakım ünitelerinde yüksek oranda izole edilmektedir.

Kolistin, geçmişte sıkça kullanılmış bir antibiyotik olup, nefrotoksisite nedeni ile kullanımına bir süre ara verilmiştir. Ancak, dirençli *Acinetobacter* infeksiyonlarında tedavi seçeneği olarak yeniden kullanıma girmiştir. Kolistin, *A. baumannii* infeksiyonlarının tedavisinde kilit bir ilaç olmasına rağmen, ortaya çıkabilen kolistin direnci nedeniyle etkili kombine tedavi arayışları sürmektedir.

Bu çalışmada karbapenem dirençli *A. baumannii* infeksiyonu fare modelinde kolistin monoterapisiyle; kolistin+rifampisin, kolistin+trimetoprim sulfametoksazol ve kolistin+teikoplanin kombinasyon tedavilerinin etkinliği farelerde karşılaştırılmıştır.

Elde edilen veriler doğrultusunda hem kolistin monoterapisinin hem de kombine terapilerin karaciğer ve akciğerde *A.baumannii* yükünü azalttığı tespit edilmiştir. Kombine terapilere bakıldığında ise kolistin+rifampisin ve kolistin+trimetoprim sulfametoksazol terapilerinin 72. saatte hem karaciğer hem de akciğer kültüründe bakteri yükünü tamamen ortadan kaldırdığı göze çarpmıştır. Dolayısıyla, kolistinin rifampisin ve trimetoprim sulfametoksazol ile oluşturulan kombine terapilerinin, kolistin monoterapisi ve kolistin-teikoplanin kombine terapisine göre daha yüksek etkinliğe sahip olması mümkündür.

**Anahtar Kelimeler:** *A.Baumannii*, Kolistin, Antibiyoterapi, Monoterapi, Kombinasyon tedavisi

## ABSTRACT

The increase in the frequency of hospital-acquired infections caused by multiresistant gram-negative pathogens has become an important problem worldwide. *Acinetobacter baumannii*, widespread in the hospital environment and increasingly prevalent in recent years as it causes hospital infections, is a gram negative cocobacia which has developed resistance for several drugs.

In recent years, intensive antibiotic use and prolonged stay in intensive care unit have led to an increase in the number of infections caused by resistant strains. Multiple, resistant strains of *A.baumannii* are isolated at high rates, especially in intensive care units.

Colistin is a commonly used antibiotic in the past and has been abandoned for a while due to nephrotoxicity. However, in resistant *Acinetobacter* infections, it has been re-used as a treatment option. Although colistin is a key drug in the treatment of *A. baumannii* infections, effective combination therapies are underway due to the emerging colistin resistance.

In this study, the efficacy of colistin monotherapy was compared with combination treatments of colistin+rifampicin, colistin+trimetoprim sulfamethoxazole and colistin+teicoplanin in carbapenem resistant *A. baumannii* infection mouse model.

It has been determined that both colistin monotherapy and combined therapies reduce *A. baumannii* burden in the liver and lung in the light of the obtained data. Combined therapies showed that colistin + rifampicin and colistin + trimetoprim sulfamethoxazole therapies completely removed the bacterial burden in both liver and lung cultures at 72 hours. Thus, it is possible that combination of colistin with rifampicin and trimetoprim sulfamethoxazole have higher efficacy than colistin monotherapy and combined therapy with colistin-teicoplanin.

**Keywords:** *A.Baumannii*, Colistin, Antibiotherapy, Monotherapy, Combination therapy

## KAYNAKLAR

1. Lee, H.Y., ve ark., Risk factors and outcome analysis of acinetobacter baumannii complex bacteremia in critical patients. Crit Care Med, 2014. 42(5): p. 1081-8.
2. Viehman, J.A., M.H. Nguyen ve Y. Doi, Treatment options for carbapenem-resistant and extensively drug-resistant Acinetobacter baumannii infections. Drugs, 2014. 74(12): p. 1315-33.
3. AN, Y., Yoğun Bakım Ünitesinde Antibiyotik Kullanımı ve Direnç Sorununa Genel Bakış. Ankem Derg, 2009. 23 (Ek 2): p. 136-42.
4. Sievert, D.M., ve ark., Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. Infect Control Hosp Epidemiol, 2013. 34(1): p. 1-14.
5. Maragakis, L.L. ve T.M. Perl, Acinetobacter baumannii: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. Clin Infect Dis, 2008. 46(8): p. 1254-63.
6. Yavuz MT, S.D., Behçet M, Öztürk E, Kaya D, Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Acinetobacter baumannii suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg., 2006. 20(107-110).
7. Queenan, A.M., ve ark., Multidrug resistance among Acinetobacter spp. in the USA and activity profile of key agents: results from CAPITAL Surveillance 2010. Diagn Microbiol Infect Dis, 2012. 73(3): p. 267-70.
8. Robledo, I.E., ve ark., Detection of KPC in Acinetobacter spp. in Puerto Rico. Antimicrob Agents Chemother, 2010. 54(3): p. 1354-7.
9. Van Looveren, M. ve H. Goossens, Antimicrobial resistance of Acinetobacter spp. in Europe. Clin Microbiol Infect, 2004. 10(8): p. 684-704.
10. Lesho, E., ve ark., Emergence of colistin-resistance in extremely drug-resistant Acinetobacter baumannii containing a novel pmrCAB operon

- during colistin therapy of wound infections. *J Infect Dis*, 2013. 208(7): p. 1142-51.
11. Snitkin, E.S., ve ark., Genomic insights into the fate of colistin resistance and *Acinetobacter baumannii* during patient treatment. *Genome Res*, 2013. 23(7): p. 1155-62.
  12. O, Ö., Hastane Kökenli Pnömoni. In: Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M, eds. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 3 ed2008, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
  13. Peleg, A.Y., H. SeifertveD.L. Paterson, *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev*, 2008. 21(3): p. 538-82.
  14. Ayan, M., ve ark., Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital-acquired *Acinetobacter baumannii* infection in a teaching hospital. *J Hosp Infect*, 2003. 54(1): p. 39-45.
  15. Bonomo, R.A.veD. Szabo, Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis*, 2006. 43 Suppl 2: p. S49-56.
  16. Allen DM, H.B., *Principles and Practice of Infectious Diseases*. *Acinetobacter* species, ed. B.J. Mandel GL, Dolin R, Mandell, Douglas, and Bennett2005, Philadelphia.
  17. Garnacho-Montero, J.veR. Amaya-Villar, Multiresistant *Acinetobacter baumannii* infections: epidemiology and management. *Curr Opin Infect Dis*, 2010. 23(4): p. 332-9.
  18. Alp, E., ve ark., Genotypic analysis of *Acinetobacter* bloodstream infection isolates in a Turkish university hospital. *Scand J Infect Dis*, 2006. 38(5): p. 335-40.
  19. Jeena, P., ve ark., Emergence of multi-drug-resistant *Acinetobacter anitratus* species in neonatal and paediatric intensive care units in a developing country: concern about antimicrobial policies. *Ann Trop Paediatr*, 2001. 21(3): p. 245-51.
  20. Magiorakos, A.P., ve ark., 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(3): p. 268-81.
21. Pogue, J.M., ve ark., Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, surveillance and management. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2013. 11(4): p. 383-93.
  22. Seifert, H., A. StrateveG. Pulverer, Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*. Clinical features, epidemiology, and predictors of mortality. *Medicine (Baltimore)*, 1995. 74(6): p. 340-9.
  23. Mulin, B., ve ark., Risk factors for nosocomial colonization with multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1995. 14(7): p. 569-76.
  24. Cisneros, J.M., ve ark., Bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical findings, and prognostic features. *Clin Infect Dis*, 1996. 22(6): p. 1026-32.
  25. Brooks, S.E., M.A. WalczakveH. Rizwanullah, Are we doing enough to contain *Acinetobacter* infections? *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2000. 21(5): p. 304.
  26. Yüce A, Ç.N., Hastane İnfeksiyonları.2009, İzmir: İzmir Güven Kitabevi.
  27. Kallen, A.J., ve ark., Multidrug resistance among gram-negative pathogens that caused healthcare-associated infections reported to the National Healthcare Safety Network, 2006-2008. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2010. 31(5): p. 528-31.
  28. Mera, R.M., ve ark., *Acinetobacter baumannii* 2002-2008: increase of carbapenem-associated multiclass resistance in the United States. *Microb Drug Resist*, 2010. 16(3): p. 209-15.
  29. Schleicher, X., ve ark., Molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter nosocomialis* in Germany over a 5-year period (2005-2009). *Clin Microbiol Infect*, 2013. 19(8): p. 737-42.
  30. Chuang, Y.C., ve ark., Influence of genospecies of *Acinetobacter baumannii* complex on clinical outcomes of patients with *acinetobacter* bacteremia. *Clin Infect Dis*, 2011. 52(3): p. 352-60.

31. Ng, T.M., ve ark., A multicenter case-case control study for risk factors and outcomes of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2014. 35(1): p. 49-55.
32. Sheng, W.H., ve ark., A multicenter study of risk factors and outcome of hospitalized patients with infections due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Int J Infect Dis*, 2010. 14(9): p. e764-9.
33. Cisneros, J.M., ve ark., Risk-factors for the acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Spain: a nationwide study. *Clin Microbiol Infect*, 2005. 11(11): p. 874-9.
34. Lee, S.O., ve ark., Risk factors for acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: a case-control study. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004. 48(1): p. 224-8.
35. Lemos, E.V., ve ark., Carbapenem resistance and mortality in patients with *Acinetobacter baumannii* infection: systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*, 2014. 20(5): p. 416-23.
36. Kim, S.Y., ve ark., Risk factors for occurrence and 30-day mortality for carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia in an intensive care unit. *J Korean Med Sci*, 2012. 27(8): p. 939-47.
37. Kim, Y.J., ve ark., Risk factors for mortality in patients with carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia: impact of appropriate antimicrobial therapy. *J Korean Med Sci*, 2012. 27(5): p. 471-5.
38. Esterly, J.S., ve ark., Impact of carbapenem resistance and receipt of active antimicrobial therapy on clinical outcomes of *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011. 55(10): p. 4844-9.
39. Munoz-Price, L.S., ve ark., Clinical outcomes of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections: study of a 2-state monoclonal outbreak. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2010. 31(10): p. 1057-62.
40. Chopra, T., ve ark., Epidemiology of bloodstream infections caused by *Acinetobacter baumannii* and impact of drug resistance to both

- carbapenems and ampicillin-sulbactam on clinical outcomes. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013. 57(12): p. 6270-5.
41. Castanheira, M., ve ark., Emergence and clonal dissemination of OXA-24- and OXA-58-producing *Acinetobacter baumannii* strains in Houston, Texas: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *J Clin Microbiol*, 2008. 46(9): p. 3179-80.
  42. Dijkshoorn, L., A. NemeceveH. Seifert, An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol*, 2007. 5(12): p. 939-51.
  43. Torres, J.A., M.V. VillegasveJ.P. Quinn, Current concepts in antibiotic-resistant gram-negative bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2007. 5(5): p. 833-43.
  44. Bradford, P.A., What's New in beta-lactamases? *Curr Infect Dis Rep*, 2001. 3(1): p. 13-19.
  45. Robicsek, A., ve ark., Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat Med*, 2006. 12(1): p. 83-8.
  46. Park, C.H., ve ark., Prevalence in the United States of aac(6')-Ib-cr encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006. 50(11): p. 3953-5.
  47. Bou, G., ve ark., Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of beta-lactamases. *J Clin Microbiol*, 2000. 38(9): p. 3299-305.
  48. Peleg, A.Y., J. AdamsveD.L. Paterson, Tigecycline Efflux as a Mechanism for Nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007. 51(6): p. 2065-9.
  49. Vila, J., S. MartiveJ. Sanchez-Cespedes, Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, 2007. 59(6): p. 1210-5.

50. Mussi, M.A., A.S. LimanskyveA.M. Viale, Acquisition of resistance to carbapenems in multidrug-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of beta-barrel outer membrane proteins. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005. 49(4): p. 1432-40.
51. Li, J., ve ark., Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents*, 2005. 25(1): p. 11-25.
52. Wisplinghoff, H., ve ark., Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*, 2004. 39(3): p. 309-17.
53. Rodriguez Guardado, A., ve ark., Multidrug-resistant *Acinetobacter meningitis* in neurosurgical patients with intraventricular catheters: assessment of different treatments. *J Antimicrob Chemother*, 2008. 61(4): p. 908-13.
54. Fournier, P.E., ve ark., Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Genet*, 2006. 2(1): p. e7.
55. Woodford, N., J.F. TurtonveD.M. Livermore, Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev*, 2011. 35(5): p. 736-55.
56. Livermore, D.M., beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev*, 1995. 8(4): p. 557-84.
57. Bush, K., G.A. JacobyveA.A. Medeiros, A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995. 39(6): p. 1211-33.
58. Opal SM, M.A., Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. *Principles and Practice of Infectious Diseases.*, ed. B.J. Mandell GL, Dolin R.2005, Churchill Livingstone;
59. Noguchi, J.K.veM.A. Gill, Sulbactam: a beta-lactamase inhibitor. *Clin Pharm*, 1988. 7(1): p. 37-51.
60. Rafailidis, P.I., E.N. IoannidouveM.E. Falagas, Ampicillin/sulbactam: current status in severe bacterial infections. *Drugs*, 2007. 67(13): p. 1829-49.



61. Meyers, B.R., ve ark., Pharmacokinetics of ampicillin-sulbactam in healthy elderly and young volunteers. *Antimicrob Agents Chemother*, 1991. 35(10): p. 2098-101.
62. Swenson, J.M., G.E. Killgore ve F.C. Tenover, Antimicrobial susceptibility testing of *Acinetobacter* spp. by NCCLS broth microdilution and disk diffusion methods. *J Clin Microbiol*, 2004. 42(11): p. 5102-8.
63. Montero, A., ve ark., Efficacy of colistin versus beta-lactams, aminoglycosides, and rifampicin as monotherapy in a mouse model of pneumonia caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002. 46(6): p. 1946-52.
64. Rodriguez-Hernandez, M.J., ve ark., Sulbactam efficacy in experimental models caused by susceptible and intermediate *Acinetobacter baumannii* strains. *J Antimicrob Chemother*, 2001. 47(4): p. 479-82.
65. Krizova, L., ve ark., TEM-1 beta-lactamase as a source of resistance to sulbactam in clinical strains of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, 2013. 68(12): p. 2786-91.
66. Taneja, N. ve H. Kaur, Insights into Newer Antimicrobial Agents Against Gram-negative Bacteria. *Microbiol Insights*, 2016. 9: p. 9-19.
67. Ferrara, A.M., Potentially multidrug-resistant non-fermentative Gram-negative pathogens causing nosocomial pneumonia. *Int J Antimicrob Agents*, 2006. 27(3): p. 183-95.
68. Hujer, K.M., ve ark., Identification of a new allelic variant of the *Acinetobacter baumannii* cephalosporinase, ADC-7 beta-lactamase: defining a unique family of class C enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005. 49(7): p. 2941-8.
69. Bou, G. ve J. Martinez-Beltran, Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000. 44(2): p. 428-32.
70. Heritier, C., L. Poirel ve P. Nordmann, Cephalosporinase over-expression resulting from insertion of ISAbal in *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect*, 2006. 12(2): p. 123-30.

71. Lopes, B.S. ve S.G. Amyes, Role of ISAbal and ISAbal25 in governing the expression of blaADC in clinically relevant *Acinetobacter baumannii* strains resistant to cephalosporins. *J Med Microbiol*, 2012. 61(Pt 8): p. 1103-8.
72. Tian, G.B., ve ark., Extended-spectrum AmpC cephalosporinase in *Acinetobacter baumannii*: ADC-56 confers resistance to cefepime. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011. 55(10): p. 4922-5.
73. Vahaboglu, H., ve ark., Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997. 41(10): p. 2265-9.
74. Lee, Y., ve ark., Dissemination of ceftazidime-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal complex 92 in Korea. *J Appl Microbiol*, 2012. 112(6): p. 1207-11.
75. Naas, T., ve ark., VEB-1 Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*, France. *Emerg Infect Dis*, 2006. 12(8): p. 1214-22.
76. Adams-Haduch, J.M., ve ark., Genetic basis of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates at a tertiary medical center in Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008. 52(11): p. 3837-43.
77. Lee, C.R., ve ark., Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Front Cell Infect Microbiol*, 2017. 7: p. 55.
78. Rumbo, C., ve ark., Contribution of efflux pumps, porins, and beta-lactamases to multidrug resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013. 57(11): p. 5247-57.
79. Heritier, C., ve ark., Contribution of acquired carbapenem-hydrolyzing oxacillinases to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005. 49(8): p. 3198-202.
80. Turton, J.F., ve ark., The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett*, 2006. 258(1): p. 72-7.

81. Figueiredo, S., ve ark., Overexpression of the naturally occurring blaOXA-51 gene in *Acinetobacter baumannii* mediated by novel insertion sequence ISAb9. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009. 53(9): p. 4045-7.
82. Higgins, P.G., ve ark., OXA-235, a novel class D beta-lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013. 57(5): p. 2121-6.
83. Mugnier, P.D., ve ark., Worldwide dissemination of the blaOXA-23 carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis*, 2010. 16(1): p. 35-40.
84. Chen, Y., ve ark., Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China. *J Antimicrob Chemother*, 2011. 66(6): p. 1255-9.
85. Decousser, J.W., ve ark., Outbreak of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in France, January to May 2013. *Euro Surveill*, 2013. 18(31).
86. Tsakris, A., ve ark., VIM-1 metallo-beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis*, 2006. 12(6): p. 981-3.
87. Kouyama, Y., ve ark., Molecular characterization of carbapenem-non-susceptible *Acinetobacter* spp. in Japan: predominance of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal complex 92 and IMP-type metallo-beta-lactamase-producing non-*baumannii* *Acinetobacter* species. *J Infect Chemother*, 2012. 18(4): p. 522-8.
88. Lee, K., ve ark., Novel acquired metallo-beta-lactamase gene, bla(SIM-1), in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005. 49(11): p. 4485-91.
89. Moubareck, C., ve ark., GES-11, a novel integron-associated GES variant in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009. 53(8): p. 3579-81.
90. Shaw, K.J., ve ark., Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol Rev*, 1993. 57(1): p. 138-63.
91. Landman, D., ve ark., Antimicrobial activity of a novel aminoglycoside, ACHN-490, against *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas*

- aeruginosa from New York City. *J Antimicrob Chemother*, 2011. 66(2): p. 332-4.
92. Akers, K.S., ve ark., Aminoglycoside resistance and susceptibility testing errors in *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus complex. *J Clin Microbiol*, 2010. 48(4): p. 1132-8.
  93. Liou, G.F., ve ark., Aminoglycoside resistance by ArmA-mediated ribosomal 16S methylation in human bacterial pathogens. *J Mol Biol*, 2006. 359(2): p. 358-64.
  94. Yu, Y.S., ve ark., Widespread occurrence of aminoglycoside resistance due to ArmA methylase in imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in China. *J Antimicrob Chemother*, 2007. 60(2): p. 454-5.
  95. Doi, Y., ve ark., Identification of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* clinical strains in North America. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007. 51(11): p. 4209-10.
  96. Marosevic, D., M. KaevskaveZ. Jaglic, Resistance to the tetracyclines and macrolide-lincosamide-streptogramin group of antibiotics and its genetic linkage - a review. *Ann Agric Environ Med*, 2017. 24(2): p. 338-344.
  97. Chopra, I., P.M. HawkeyveM. Hinton, Tetracyclines, molecular and clinical aspects. *J Antimicrob Chemother*, 1992. 29(3): p. 245-77.
  98. Coyne, S., P. CourvalinveB. Perichon, Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011. 55(3): p. 947-53.
  99. Abbott, I., ve ark., Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: laboratory challenges, mechanistic insights and therapeutic strategies. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2013. 11(4): p. 395-409.
  100. Cai, Y., ve ark., Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *J Antimicrob Chemother*, 2012. 67(7): p. 1607-15.
  101. Livermore, D.M., Tigecycline: what is it, and where should it be used? *J Antimicrob Chemother*, 2005. 56(4): p. 611-4.

102. Peleg, A.Y., ve ark., Acinetobacter baumannii bloodstream infection while receiving tigecycline: a cautionary report. *J Antimicrob Chemother*, 2007. 59(1): p. 128-31.
103. Ruzin, A., D. KeeneyveP.A. Bradford, AdeABC multidrug efflux pump is associated with decreased susceptibility to tigecycline in Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii complex. *J Antimicrob Chemother*, 2007. 59(5): p. 1001-4.
104. Muralidharan, G., ve ark., Pharmacokinetics of tigecycline after single and multiple doses in healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005. 49(1): p. 220-9.
105. Kim, N.H., ve ark., Tigecycline in carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii bacteraemia: susceptibility and clinical outcome. *Scand J Infect Dis*, 2013. 45(4): p. 315-9.
106. Nix, D.E.veK.R. Matthias, Should tigecycline be considered for urinary tract infections? A pharmacokinetic re-evaluation. *J Antimicrob Chemother*, 2010. 65(6): p. 1311-2.
107. Freire, A.T., ve ark., Comparison of tigecycline with imipenem/cilastatin for the treatment of hospital-acquired pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2010. 68(2): p. 140-51.
108. Pichardo, C., ve ark., Efficacy of tigecycline vs. imipenem in the treatment of experimental Acinetobacter baumannii murine pneumonia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2010. 29(5): p. 527-31.
109. Testa, R.T., ve ark., In vitro and in vivo antibacterial activities of the glycylicyclines, a new class of semisynthetic tetracyclines. *Antimicrob Agents Chemother*, 1993. 37(11): p. 2270-7.
110. Agwuh, K.N.veA. MacGowan, Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tetracyclines including glycylicyclines. *J Antimicrob Chemother*, 2006. 58(2): p. 256-65.
111. Denys, G.A., S.M. CallisterveM.J. Dowzicky, Antimicrobial susceptibility among gram-negative isolates collected in the USA between 2005 and 2011 as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (T.E.S.T.). *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2013. 12: p. 24.

112. Pei, G., Y. MaoveY. Sun, In vitro activity of minocycline alone and in combination with cefoperazone-sulbactam against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microb Drug Resist*, 2012. 18(6): p. 574-7.
113. Liang, W., ve ark., Activities of colistin- and minocycline-based combinations against extensive drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from intensive care unit patients. *BMC Infect Dis*, 2011. 11: p. 109.
114. Song, J.Y., ve ark., In vitro activities of carbapenem/sulbactam combination, colistin, colistin/rifampicin combination and tigecycline against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, 2007. 60(2): p. 317-22.
115. Giamarellos-Bourboulis, E.J., E. XirouchakiveH. Giamarellou, Interactions of colistin and rifampisin on multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2001. 40(3): p. 117-20.
116. Pachon-Ibanez, M.E., ve ark., Efficacy of rifampisin and its combinations with imipenem, sulbactam, and colistin in experimental models of infection caused by imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010. 54(3): p. 1165-72.
117. Bassetti, M., ve ark., Colistin and rifampicin in the treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *J Antimicrob Chemother*, 2008. 61(2): p. 417-20.
118. Giannouli, M., ve ark., Molecular epidemiology and mechanisms of rifampicin resistance in *Acinetobacter baumannii* isolates from Italy. *Int J Antimicrob Agents*, 2012. 39(1): p. 58-63.
119. Houang, E.T., ve ark., Epidemiology of rifampisin ADP-ribosyltransferase (*arr-2*) and metallo-beta-lactamase (*blaIMP-4*) gene cassettes in class 1 integrons in *Acinetobacter* strains isolated from blood cultures in 1997 to 2000. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003. 47(4): p. 1382-90.
120. Falagas, M.E., ve ark., Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant Gram negative bacteria to fosfomycin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2008. 27(6): p. 439-43.

121. Santimaleeworagun, W., ve ark., In vitro activity of colistin or sulbactam in combination with fosfomycin or imipenem against clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 carbapenemases. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2011. 42(4): p. 890-900.
122. Patel, S.S., J.A. BalfourveH.M. Bryson, Fosfomycin tromethamine. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy as a single-dose oral treatment for acute uncomplicated lower urinary tract infections. *Drugs*, 1997. 53(4): p. 637-56.
123. Falagas, M.E.veP. Kopterides, Old antibiotics for infections in critically ill patients. *Curr Opin Crit Care*, 2007. 13(5): p. 592-7.
124. Leblebicioğlu H, U.G., Ulusoy S., Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Sülfonamidler, Trimetoprim, Trimetoprim-Sülfametoksazol, ed. A. A.2008, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi.
125. Li, J., ve ark., Antibiograms of multidrug-resistant clinical *Acinetobacter baumannii*: promising therapeutic options for treatment of infection with colistin-resistant strains. *Clin Infect Dis*, 2007. 45(5): p. 594-8.
126. Hornsey, M.veD.W. Wareham, In vivo efficacy of glycopeptide-colistin combination therapies in a *Galleria mellonella* model of *Acinetobacter baumannii* infection. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011. 55(7): p. 3534-7.
127. Hornsey, M., ve ark., In vivo efficacy of telavancin/colistin combination therapy in a *Galleria mellonella* model of *Acinetobacter baumannii* infection. *Int J Antimicrob Agents*, 2013. 41(3): p. 285-7.
128. O'Hara, J.A., ve ark., Activities of vancomycin-containing regimens against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical strains. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013. 57(5): p. 2103-8.
129. Galani, I., ve ark., Colistin/daptomycin: an unconventional antimicrobial combination synergistic in vitro against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents*, 2014. 43(4): p. 370-4.

130. Hooper, D.C., Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis*, 2001. 7(2): p. 337-41.
131. Ruiz, J., Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *J Antimicrob Chemother*, 2003. 51(5): p. 1109-17.
132. Vila, J., ve ark., Quinolone-resistance mutations in the topoisomerase IV parC gene of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, 1997. 39(6): p. 757-62.
133. Coyne, S., ve ark., Overexpression of resistance-nodulation-cell division pump AdeFGH confers multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010. 54(10): p. 4389-93.
134. Falagas, M.E. ve S.K. Kasiakou, Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis*, 2005. 40(9): p. 1333-41.
135. Nation, R.L., ve ark., Consistent global approach on reporting of colistin doses to promote safe and effective use. *Clin Infect Dis*, 2014. 58(1): p. 139-41.
136. Owen, R.J., ve ark., In vitro pharmacodynamics of colistin against *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother*, 2007. 59(3): p. 473-7.
137. Li, J., ve ark., Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006. 50(9): p. 2946-50.
138. Köksal İ, Ö.O., Korten V, Ulusoy S, Ünal S, Güncel Bilgiler Işığında Kolistin. *Flora Dergisi.*, 2012. 17(4): p. 156-60.
139. Bergen, P.J., ve ark., Pharmacokinetics and pharmacodynamics of 'old' polymyxins: what is new? *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2012. 74(3): p. 213-23.
140. Mohamed, A.F., ve ark., Application of a loading dose of colistin methanesulfonate in critically ill patients: population pharmacokinetics, protein binding, and prediction of bacterial kill. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012. 56(8): p. 4241-9.



141. Garonzik, S.M., ve ark., Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011. 55(7): p. 3284-94.
142. Plachouras, D., ve ark., Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009. 53(8): p. 3430-6.
143. Garnacho-Montero, J., ve ark., Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem-susceptible VAP. *Clin Infect Dis*, 2003. 36(9): p. 1111-8.
144. Oliveira, M.S., ve ark., Ampicillin/sulbactam compared with polymyxins for the treatment of infections caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. *J Antimicrob Chemother*, 2008. 61(6): p. 1369-75.
145. Betrosian, A.P., ve ark., Efficacy and safety of high-dose ampicillin/sulbactam vs. colistin as monotherapy for the treatment of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *J Infect*, 2008. 56(6): p. 432-6.
146. Beceiro, A., ve ark., Phosphoethanolamine modification of lipid A in colistin-resistant variants of *Acinetobacter baumannii* mediated by the pmrAB two-component regulatory system. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011. 55(7): p. 3370-9.
147. Pelletier, M.R., ve ark., Unique structural modifications are present in the lipopolysaccharide from colistin-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013. 57(10): p. 4831-40.
148. Arroyo, L.A., ve ark., The pmrCAB operon mediates polymyxin resistance in *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 and clinical isolates through phosphoethanolamine modification of lipid A. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011. 55(8): p. 3743-51.

149. Moffatt, J.H., ve ark., Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010. 54(12): p. 4971-7.
150. Bialvaei, A.Z.veH. Samadi Kafil, Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin*, 2015. 31(4): p. 707-21.
151. Falagas, M.E., P.I. RafailidisveD.K. Matthaiou, Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resist Updat*, 2010. 13(4-5): p. 132-8.
152. Yau, W., ve ark., Colistin hetero-resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from the Western Pacific region in the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J Infect*, 2009. 58(2): p. 138-44.
153. Napier, B.A., ve ark., Colistin heteroresistance in *Enterobacter cloacae* is associated with cross-resistance to the host antimicrobial lysozyme. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014. 58(9): p. 5594-7.
154. Hawley, J.S., C.K. MurrayveJ.H. Jorgensen, Colistin heteroresistance in *acinetobacter* and its association with previous colistin therapy. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008. 52(1): p. 351-2.
155. Tan, C.H., J. LiveR.L. Nation, Activity of colistin against heteroresistant *Acinetobacter baumannii* and emergence of resistance in an in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007. 51(9): p. 3413-5.
156. Rolain, J.M., ve ark., *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin with impaired virulence: a case report from France. *J Infect Dis*, 2011. 204(7): p. 1146-7.
157. Livermore, D.M., Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? *Clin Infect Dis*, 2002. 34(5): p. 634-40.
158. Rogers, B.A., ve ark., Country-to-country transfer of patients and the risk of multi-resistant bacterial infection. *Clin Infect Dis*, 2011. 53(1): p. 49-56.

159. Barlow, M., What antimicrobial resistance has taught us about horizontal gene transfer. *Methods Mol Biol*, 2009. 532: p. 397-411.
160. Courvalin, P., Transfer of antibiotic resistance genes between gram-positive and gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994. 38(7): p. 1447-51.
161. Dzidic, S.veV. Bedekovic, Horizontal gene transfer-emerging multidrug resistance in hospital bacteria. *Acta Pharmacol Sin*, 2003. 24(6): p. 519-26.
162. Ochman, H., J.G. LawrenceveE.A. Groisman, Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. *Nature*, 2000. 405(6784): p. 299-304.
163. Piddock, L.J., Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. *Clin Microbiol Rev*, 2006. 19(2): p. 382-402.
164. Groisman, E.A., J. KayserveF.C. Soncini, Regulation of polymyxin resistance and adaptation to low-Mg<sup>2+</sup> environments. *J Bacteriol*, 1997. 179(22): p. 7040-5.
165. Gunn, J.S., ve ark., PmrA-PmrB-regulated genes necessary for 4-aminoarabinose lipid A modification and polymyxin resistance. *Mol Microbiol*, 1998. 27(6): p. 1171-82.
166. Moore, R.A., L. ChanveR.E. Hancock, Evidence for two distinct mechanisms of resistance to polymyxin B in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1984. 26(4): p. 539-45.
167. Kontopidou, F., ve ark., Colonization and infection by colistin-resistant Gram-negative bacteria in a cohort of critically ill patients. *Clin Microbiol Infect*, 2011. 17(11): p. E9-E11.
168. Gundogdu, A., ve ark., Could Frequent Carbapenem Use Be a Risk Factor for Colistin Resistance? *Microb Drug Resist*, 2017.
169. A, K., ve ark., Simultaneous determination of pioglitazone and glimepiride in bulk drug and pharmaceutical dosage form by RP-HPLC method. *Pak J Pharm Sci*, 2008. 21(4): p. 421-5.

170. Halaby, T., ve ark., Emergence of colistin resistance in Enterobacteriaceae after the introduction of selective digestive tract decontamination in an intensive care unit. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013. 57(7): p. 3224-9.
171. Ramirez, J., ve ark., Randomized phase 2 trial to evaluate the clinical efficacy of two high-dosage tigecycline regimens versus imipenem-cilastatin for treatment of hospital-acquired pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013. 57(4): p. 1756-62.
172. Anthony, K.B., ve ark., Clinical and microbiological outcomes of serious infections with multidrug-resistant gram-negative organisms treated with tigecycline. *Clin Infect Dis*, 2008. 46(4): p. 567-70.
173. Reid, G.E., ve ark., Rapid development of *Acinetobacter baumannii* resistance to tigecycline. *Pharmacotherapy*, 2007. 27(8): p. 1198-201.
174. Oliveira, M.S., ve ark., The minimal inhibitory concentration for sulbactam was not associated with the outcome of infections caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter* sp. treated with ampicillin/sulbactam. *Clinics (Sao Paulo)*, 2013. 68(4): p. 569-73.
175. Batirel, A., ve ark., Comparison of colistin-carbapenem, colistin-sulbactam, and colistin plus other antibacterial agents for the treatment of extremely drug-resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014. 33(8): p. 1311-22.
176. Shields, R.K., ve ark., Epidemiology, clinical characteristics and outcomes of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections among solid organ transplant recipients. *PLoS One*, 2012. 7(12): p. e52349.
177. Boucher, H.W., ve ark., Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, 2009. 48(1): p. 1-12.
178. Gordon, N.C.veD.W. Wareham, Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *Int J Antimicrob Agents*, 2010. 35(3): p. 219-26.
179. Enoch, J.M., Astigmatism, its measurement, and fundamental optical properties. *Hindsight*, 2007. 38(2): p. 33-9.

180. N., S., *Acinetobacter baumannii* İnfeksiyonları ve tedavisi., in *XIII. Türk Klimik Kongresi (14-18 Mart 2007 Antalya), Kongre Kitabı. İstanbul: 2007; 20(özel sayı): 204-207.2007.*
181. Iraz M, C.A., Akkoyunlu Y., Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde antibiyotik direnç oranlarının incelenmesi. *ANKEM Derg*, 2012. 26(2): p. 80-85.
182. KJ., T., The Genus *Acinetobacter*. . *Prokaryotes*, 2006. 6: p. 746-758.
183. Tasina, E., ve ark., Efficacy and safety of tigecycline for the treatment of infectious diseases: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*, 2011. 11(11): p. 834-44.
184. Hornsey, M., ve ark., AdeABC-mediated efflux and tigecycline MICs for epidemic clones of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, 2010. 65(8): p. 1589-93.
185. Dizbay, M., ve ark., Colistin and tigecycline susceptibility among multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from ventilator-associated pneumonia. *Int J Antimicrob Agents*, 2008. 32(1): p. 29-32.
186. Kulah, C., ve ark., Unexpected tigecycline resistance among *Acinetobacter baumannii* Isolates: high minor error rate by Etest. *J Chemother*, 2009. 21(4): p. 390-5.
187. Hancock, R.E., Peptide antibiotics. *Lancet*, 1997. 349(9049): p. 418-22.
188. Falagas, M.E.veS.K. Kasiakou, Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Crit Care*, 2006. 10(1): p. R27.
189. TEMUR, H.E., *Çoğul İlaç Dirençli (Mdr) Acinetobacter Baumannii İle Oluşturulan Deneysel Sepsis Modelinde Kolistin Sülfat, Tigesiklin Ve Sefoperazon-Sulbaktam Etkinliği*, İn *Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları*2010, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi: Eskişehir.
190. Cirioni, O., ve ark., Colistin enhances therapeutic efficacy of daptomycin or teicoplanin in a murine model of multiresistant *Acinetobacter baumannii* sepsis. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2016. 86(4): p. 392-398.
191. Fan, B., ve ark., Activity of Colistin in Combination with Meropenem, Tigecycline, Fosfomycin, Fusidic Acid, Rifampisin or Sulbactam against

Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in a Murine Thigh-Infection Model. *PLoS One*, 2016. 11(6): p. e0157757.

192. Bae, S., ve ark., In Vitro Synergistic Activity of Antimicrobial Agents in Combination against Clinical Isolates of Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016. 60(11): p. 6774-6779.
193. Kasiakou, S.K., ve ark., Combination therapy with intravenous colistin for management of infections due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria in patients without cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005. 49(8): p. 3136-46.
194. Sobieszczyk, M.E., ve ark., Combination therapy with polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant Gram-negative respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother*, 2004. 54(2): p. 566-9.
195. Levin, A.S., ve ark., Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis*, 1999. 28(5): p. 1008-11.