



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ACINETOBACTER BAUMANNII*'de KOLİSTİNE  
DİRENÇ GELİŞİMİNİN ANTİBİYOTİK  
DUYARLILIK PROFİLİ ÜZERİNE ETKİSİ**

MEHMET RAMAZAN AYAŞ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN  
Doç.Dr. Zeynep Arzu İlki

İSTANBUL-2014

## TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Programın seviyesi : Yüksek Lisans  
Anabilim Dalı : Tıbbi Mikrobiyoloji  
Tez Sahibi : M.Ramazan Ayaş  
Tez Başlığı : *Acinetobacter Baumannii*'de Kolistine Direnç Gelişiminin Antibiyotik Duyarlılık Profili Üzerine Etkisi  
Sınav Yeri : Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Sınav Tarihi : 02/09/2014

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

### Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Doç.Dr. Zeynep Arzu İlki

### Kurumu

M.Ü. Tıp Fak.

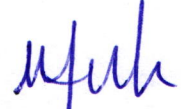
### İmza



### Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof. Dr. M.Ufuk HASDEMİR

M.Ü. Tıp Fak.



Yard.Doç.Dr. Onur Karatuna

Acıbadem Üniv. Tıp Fak.



Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 17.09/2014 tarih ve 93 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

-Sınav evrakları 3 iş günü içinde ıslak imzalı tek kopya halinde Enstitüye teslim edilmelidir.

## **BEYAN FORMU**

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

15/09/2014

Mehmet Ramazan Ayaş

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimime başladığım ilk günden beri engin bilgi, görüş ve deneyimleriyle yoluma ışık tutan, manevi desteğini esirgemeyen, ağabeyim gibi gördüğüm, değerli eş danışman hocam Öğr. Gör. Dr. Burak AKSU'ya,

Eğitimim süresince başta bilimsel fikir ve düşünceleri olmak üzere her konuda yardımcı olan değerli hocalarım Prof. Dr. Güner SÖYLETİR'e, Prof. Dr. Ufuk HASDEMİR'e, Prof. Dr. Ayşegül KARAHASAN'a, Prof. Dr. Nurver ÜLGER'e, Prof. Dr. Nilgün ÇERİKÇİOĞLU'na , Doç. Dr. Arzu İLKİ' ye

Tez çalışmam boyunca desteklerini ve güler yüzlerini esirgemeyen Ar. Gör. Dr. Gülşen ALTINKANAT GELMEZ ve Ar. Gör. Dr. Deniz Güneşer MERDAN'a,

Hastanemizin tüm çalışanlarına ve asistan arkadaşlarıma,

Yüksek lisans eğitimine beraber başladığım, birlikte çalışmaktan sonsuz mutluluk duyduğum sevgili arkadaşlarım Meltem KAYA ve Sevim ÖZSOY'a,

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, beni daima cesaretlendiren sevgili aileme,

Sonsuz teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
KISALTMA VE SİMGELER.....	v
ŞEKİL, RESİM VE TABLO LİSTESİ .....	vi
ÖZET .....	1
SUMMARY .....	2
1.GİRİŞ .....	3
2.GENEL BİLGİLER .....	5
2.1. <i>Acinetobacter</i> Genusu .....	5
2.1.1. <i>Acinetobacter</i> Genusunun Türleri ve Tarihçesi .....	5
2.1.2. <i>Acinetobacter</i> Genusunun Mikrobiyolojik Özellikleri ve Laboratuvar Tanısı.....	8
2.1.3. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi .....	10
2.1.4. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarının Patogenezi .....	12
2.2. <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	13
2.2.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> 'de Patogenez ve Virülans Faktörleri.....	13
2.2.2. <i>Acinetobacter baumannii</i> ve Nozokomiyal Enfeksiyonlar .....	14
2.3. Çoklu İlaça Dirençli (ÇİD) <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	16
2.3.1. ÇİD Tanımı ve Epidemiyolojisi .....	16
2.3.2. Türkiye’de ÇİD <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	16
2.3.3. Dünya’da ÇİD <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	17
2.4. <i>Acinetobacter baumannii</i> Salgınları ve Tiplendirme Yöntemleri.....	19
2.4.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> İçin Kullanılan Epidemiyolojik Tiplendirme Yöntemleri .....	20
2.4.1.1. Fenotipik Tiplendirme Yöntemleri .....	20
2.4.1.2. Biyotiplendirme .....	20
2.4.1.3. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi.....	21
2.4.1.4. Serotiplendirme .....	21
2.4.1.5. Bakteriyofaj ve Bakteriyosin Tiplendirmesi .....	21
2.4.2. Genotipik Tiplendirme Yöntemleri.....	21
2.4.2.1. Repetitive Extragenic Palindromic Elements PCR (REP-PCR).....	22
2.5. <i>Acinetobacter baumannii</i> ’de Antimikrobiyal Direnç .....	24
2.5.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> ’de Antibiyotik Direnç Mekanizmaları .....	25
2.5.1.1. Beta-Laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizması .....	25

2.5.1.2. Kinolonlara Karşı Direnç .....	26
2.5.1.3. Aminoglikozidlere Karşı Direnç Mekanizmaları.....	27
2.5.1.4. Tetrasiklinlere Karşı Direnç Mekanizmaları.....	27
2.5.1.5. Tigesiklin Direnci .....	28
2.6. <i>Acinetobacter</i> Enfeksiyonlarının Tedavisi.....	28
2.6.1. Beta–Laktamaz İnhibitörleri ile Kombine Antibiyotikler.....	28
2.6.2. Penisilinler .....	29
2.6.3. Sefalosporinler .....	29
2.6.4. Karbapenemler .....	29
2.6.5. Kinolonlar .....	30
2.6.6. Aminoglikozidler .....	30
2.6.7. Tigesiklin .....	30
2.7. Polimiksinler .....	31
2.7.1. Polimiksin B.....	31
2.7.2. Polimiksin E (Kolistin) .....	32
2.7.2.1. Yapı-Aktivite İlişkisi.....	32
2.7.2.2. Etki Mekanizması .....	33
2.7.2.3. Direnç Mekanizması .....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	36
3.1. Bakteri İzolatları .....	36
3.2. Bakteri İzolatlarının Tanımlanması .....	36
3.3. Kolistin MİK Düzeyinin Saptanması.....	36
3.3.1. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi .....	37
3.3.2. Antimikrobiyal İlaçlar.....	37
3.3.3. Antimikrobiyal Tozların Tartılması:.....	37
3.3.4. Stok Çözeltilerin Hazırlanması .....	37
3.3.5. Duyarlılık Testlerinde Kullanılacak Besiyerinin Hazırlanması.....	38
3.3.6. Dilüsyon Testleri İçin İnokulumun Hazırlanması.....	38
3.3.8. Hazırlanan Mikroplaklara Bakteri İnokülasyonu.....	39
3.4. İzolatların Klonal İlişkisinin Saptanması.....	40
3.4.1. Bakteri DNA İzolasyonu.....	40
3.4.2. REP-PCR .....	40
3.5. Aynı Klona ait Kolistin Dirençli ve Kolistin Duyarlı Kökenlerin Diğer Antibiyotiklere Karşı Duyarlılıklarının Saptanması .....	41
4. BULGULAR.....	43
4.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> Kökenlerinin Kolistin MİK Değerleri .....	43

4.2. İzolatların Klonal İlişkisinin Saptanması .....	44
4.4. Aynı Klondan Olan Kökenlerin Antibiyotik Duyarlılık Profilleri.....	46
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	52
6.KAYNAKLAR .....	57
EKLER.....	70
EK-1 .....	70
ÖZGEÇMİŞ .....	71

## KISALTMA VE SİMGELER

- AFLP: Amplified fragment length polymorphism
- AIF: Apoptozis indükleyici faktör
- ARDRA: Amplified ribosomal DNA restriction analysis
- ATCC. : American Type Culture Collection
- BİP: Biyofilm ilişkili protein
- CFU : Colony-forming unit
- CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute
- CR-AB: Karbapenem dirençli *A.baumannii*
- ÇİD: Çoklu ilaca direnci
- EMB : Eozin Metilen Mavisi Agar
- GSBL: Geniş spektrumlu beta- laktamaz
- ISAbal1: *A.baumannii*'de yaygın olarak bulunan bir insersiyon dizisi
- KAMHB: Katyon ayarlı MHB
- kb: Kilo baz
- LPS : Lipopolisakkarit
- MHB: Mueller-Hinton sıvı besiyeri
- MİK : Minimum İnhibitör Konsantrasyon
- MLST: Multilokus dizi tiplendirmesi
- mm : milimetre
- OmpA : Outer Membrane Protein A
- PBP: Penisilin bağlayan protein
- PCR : Polymerase Chain Reaction
- PCR/ESI-MS: PCR-Electrospray iyonizasyon/kütle spektrometre
- PFGE: Pulsed field jel elektroforezi
- RAPD: Random polimorfik DNA amplifikasyon
- Rep-PCR : Repetitive Extragenic Palindromic Elements PCR
- UHESA: Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı
- µg/ml : mikrogram / mililitre
- µl :mikrolitre
- µm : mikrometre



## ŞEKİL, RESİM VE TABLO LİSTESİ

- Resim 1. İlk onbeş kökenin REP-PCR jel elektroforez görüntüsü ..... 44
- Resim 2. Diğer yirmi üç kökenin Rep-PCR jel elektroforez görüntüsü ..... 44
  
- Tablo 1. Kullanılan antibiyotiklerin potens ve konsantrasyon değerleri ..... 38
- Tablo 2. *A. baumannii* Kökenlerinin Kolistin MİK değerleri ..... 43
- Tablo 3. *Acinetobacter* spp. Antibiyogramında kullanılan MİK sınır değerleri ..... 46
- Tablo 4. Aynı klondan olan dirençli ve duyarlı kökenlerin tüm antibiyotiklere MİK ( $\mu\text{g/mL}$ ) değerleri ..... 47
  
- Şekil 1. Genom içerisindeki tekrarlayan dizilere REP primerlerinin tutunması ve farklı uzunlukta parçaların çoğaltılması ..... 23
- Şekil 2. Kolistin açık kimyasal yapısı ..... 32
- Şekil 3. Kolistinin etki mekanizması ..... 33
- Şekil 4. Beta-laktam gurubu antibiyotiklerdeki MİK değişimi ..... 48
- Şekil 5. Sefelasporin gurubu antibiyotiklerdeki MİK değişimi ..... 49
- Şekil 6. Karbapenem gurubu antibiyotiklerdeki MİK değişimi ..... 50
- Şekil 7. Aminoglikozit gurubu antibiyotiklerin MİK değişimi ..... 51

## ÖZET

### ***Acinetobacter Baumannii*'de Kolistine Direnç Gelişiminin Antibiyotik Duyarlılık Profili Üzerine Etkisi**

Mehmet Ramazan Ayaş, Zeynep Arzu İlki, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Amaç:** Çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter baumannii* kökenlerinde, kolistin direnci gelişimi ile diğer antibiyotiklere karşı sergilenen direnç profilindeki değişimlerin belirlenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan izole edilen ve aynı hastaya ait ardışık *Acinetobacter baumannii* kökenleri taranarak kolistine duyarlı ve dirençli saptananlar seçildi. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) saptandı. Kökenlere Rep-PCR yapılarak aynı klona ait olan kökenler belirlendi. Klonal ilişkili saptanan kökenlerde, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile imipenem, meropenem, seftazidim, sefepim, piperasilin, piperasilin-tazobaktam, seftriakson, sefotaksim, ampisilin-sulbaktam, siprofloksasin, levofloksasin, gentamisin, amikasin, tobramisin, trimetoprim-sülfometaksazol MİK değerleri saptandı. Daha sonra kolistin direnci varlığı ile diğer antibiyotiklere ait MİK değerleri arasındaki ilişki yorumlandı.

**Bulgular:** Toplam 57 *A.baumannii* kökeninin %67'si (n:38) kolistine dirençli, %33'ü (n:19) kolistine duyarlı bulundu. Kolistine karşı değişen direnç fenotipi gösteren (önce kolistine duyarlı sonra dirençli olarak saptanan, veya tersi) on hastaya ait toplam 37 köken klonal ilişki açısından incelendi. Sekiz hastada aynı genotipe sahip olan duyarlı ve dirençli kökenler saptandı. Bu kökenlerde yapılan sıvı mikrodilüsyon testlerinde elde edilen MİK değişimlerinde; kolistine direnç kazanan kökenlerde, çalışılan 15 antibiyotiğin 13'üne ait MİK düzeylerinin azaldığı, kolistin direncini kaybeden kökenlerde ise çalışılan 15 antibiyotiğin 11'ine ait MİK düzeylerinin yükseldiği gözlemlendi.

**Sonuç:** Bu veriler ışığında, *A.baumannii* kökenlerinde kolistin direncindeki değişimin diğer antibiyotiklere karşı duyarlılığı da etkilediği belirlenmiştir. Bu tür kökenlerde son seçenek ilaç kabul edilen kolistine karşı direnç gelişimi durumunda; diğer antibiyotiklerin kullanım açısından tekrar değerlendirilmesini gerektirmektedir. Çalışmamızın, benzer kökenlerde yapılacak daha geniş çaplı çalışmalar için bir ilk basamak oluşturacağına inanıyoruz.

**Anahtar Sözcükler:** *Acinetobacter baumannii*, antibiyotik, kolistin, direnç.

## SUMMARY

### **The Effect of Development of Colistin Resistance in *Acinetobacter baumannii* on Antibiotic Susceptibility Profile**

**Aim:** Determination of the change in antibiotic resistance profiles related with colistin resistance development in multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates is aimed.

**Material and Methods:** Consecutive isolates belonging to the same patient from intensive care unit are scanned and their colistin susceptible/resistant ones are chosen. Colistin minimum inhibitor concentrations (MIC) are detected using broth microdilution method. Rep-PCR is used to determinate the clonal relationship. MIC values of antibiotics; including imipenem, meropenem, ceftazidime, cefepime, piperacillin, piperacillin-tazobactam, ceftriaxone, cefotaxime, ampicillin/sulbactam, ciprofloxacin, levofloxacin, gentamicin, amikacin, tobramycin, trimethoprim/sulfamethoxazole are detected. The linkage between colistin resistance and other antibiotic MIC values are interpreted.

**Results:** Among 57 *A.baumannii* isolates, 67 % (n: 38) of the strains are found to be resistant to colistin while 33 % (n: 19) are susceptible. Thirty seven isolates from 10 patients with changing colistin resistance profiles (from susceptible to resistant and vice versa) are investigated for clonal relationship and isolates from 8 patients were found to be clonally related. Broth microdilution showed that the isolates which became resistant to colistin had lower MICs for 13 of 15 antibiotics; while the isolates which became susceptible to colistin had higher MICs for 11 of 15 antibiotics.

**Conclusion:** Our data indicates that the change in colistin MIC values affects susceptibility to other antibiotics in *A.baumannii* isolates. The resistance development for colistin which is the last choice of treatment necessitates the re-evaluation of antibiotic usage. We think that our study will set a pattern to further studies which will have expanded collection of similar isolates.

**Key words:** *Acinetobacter baumannii*, antibiotic, colistin, resistance.

## 1.GİRİŞ

*Acinetobacter baumannii* özellikle yoğun bakım altındaki hastalarda gelişen enfeksiyonlarda ön sırada yer alan patojen bir bakteridir. Bunun en önemli nedeni bakterinin değişen yaşam koşullarına hızla uyum sağlayabilme yeteneğidir. Bu yetenekleri sayesinde kendilerine karşı geliştirilen her yeni antibiyotiğe karşı bir çıkış yolu bulmaktadırlar(107).

*Acinetobacter baumannii* hastanede ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde(YBÜ) ventilatörle ilişkili pnömoni, üriner enfeksiyon, kateter ilişkili enfeksiyonlar, kan dolaşımı enfeksiyonları ve menenjitlere yol açabilir (107).

*Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının tedavisi, bu mikroorganizmanın birçok antibiyotiğe dirençli olmasından dolayı oldukça sorunludur. Tedavide kullanılacak antibiyotik sınıflarından en az 3'ünde yer alan bir veya birden fazla antibiyotiğe karşı direnç gösteren kökenler, çoklu ilaç dirençli (ÇİD) olarak kabul edilmektedir (64). Son yirmi yıldır, çoklu ilaç dirençli *Acinetobacter baumannii* klinik izolatları küresel ölçekte giderek artan oranlarda bildirilmektedir; bu durumun başlıca nedeni geniş spektrumlu antibiyotiklerin yoğun kullanılmasıdır. Bu kökenler açısından en etkili antibiyotikler, başta karbapenemler olmak üzere sulbaktam, tigesiklin ve kolistin olarak belirtilmektedir (107).

1990'lı yıllardan itibaren, karbapenem dirençli *A.baumannii* izolatları bildirilmeye başlamıştır ve günümüzde bu sorun, dünyayı ilgilendiren bir tehdit haline gelmiştir. Avrupa'da geçen on yıl içerisinde, Fransa, İngiltere, İspanya, Portekiz, Hollanda, Çek Cumhuriyeti, Polonya, Bulgaristan, Yunanistan ve İtalya'da karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii*'ye bağlı hastane salgınları rapor bildirilmiştir (51).

2011 yılında yayımlanan bir çalışmada, 14'ü Avrupa'dan olmak üzere 16 ülkeden toplanan 274 *A.baumannii* izolatında imipenem direnç oranı %48.9 olarak belirtilmiştir. En yüksek direnç oranlarının görüldüğü ülkeler Türkiye, Yunanistan ve İtalya'dır (79).

Polimiksin grubunda yer alan kolistin, dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan eski, ancak önemi her geçen gün

giderek artan spesifik ajanlardan biridir. Kolistin çoklu antibiyotik direnci geliştiren *A.baumannii* ve karbapenemaz üreten enterik bakteriler gibi sorunlu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen antibiyotiklerden birisidir (81).

Çeşitli Avrupa ülkelerinde yapılan sörveyans çalışmalarında, karbapenemlere karşı artan dirençle beraber yaklaşık %3 oranında kolistin direnci de bildirilmiştir(81).

2011 yılında İspanya'dan , yapılan bir olgu sunumunda, Y.B.Ü de yatan ve kolistin duyarlı *A. baumannii* üremesi olan bir hastada, kolistin tedavisi başladıktan sonra, kolistin dirençli izolatın rapor edildiği bildirilmiştir. Başka bir deyişle, hastanın Y.B.Ü'de kaldığı süre içinde bakterinin antibiyotik direnç profili değişmiştir. Kolistine karşı direnç gelişimi ile beraber, bu izolatın diğer bazı antibiyotikler açısından duyarlılığının ters yönde (dirençliden duyarlıya) değişiklik gösterdiği gözlenmiştir (90).

Araştırmamızda, Y.B.Ü'de yatan hastalardan ardışık olarak izole edilen klonal olarak ilişkili olup kolistine direnç profili değişiklik gösteren (duyarlıdan dirençliye dönen veya tersi) *A. baumannii* kökenlerinde kolistin duyarlılığındaki değişim ile diğer antibiyotiklere karşı sergilenen duyarlılık profillerinin arasındaki ilişki incelenmiştir.

Bu amaçla, aynı klona ait olduğu saptanan duyarlı ve dirençli kökenlerde imipenem, meropenem, seftazidim, sefepim, piperasilin, piperasilin-tazobaktam, seftriakson, sefotaksim, ampisilin-sulbaktam, siprofloksasin, levofloksasin, gentamisin, amikasin, tobramisin, trimetoprim-sülfometaksazol için antibiyotik duyarlılık profilleri saptanmıştır.

Böylece *A. baumannii*'de kolistin direncine neden olan mekanizmanın gelişimine paralel olarak, diğer antibiyotiklere karşı duyarlılık durumundaki değişimin saptanması hedeflenmiştir.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Acinetobacter Genusu

*Acinetobacter* türleri; toprak, su, atık sularda ve sıklıkla hastane ortamı florasında bulunurlar. İnsanda ise derinin bakteriyel florasında, özellikle nemli bölgelerde bulunmakla beraber oral kavite ve solunum yolundan da izole edilebilirler (70).

*Acinetobacter* cinsi Moraxellaceae ailesi içinde sınıflandırılmıştır. *Acinetobacter* cinsine ait taksonomik sıralama;

Bakteri

Proteobakteriler

Gamma proteobakteriler

Pseudomonadales

Moraxellaceae

*Acinetobacter*

şeklindedir (11).

*Acinetobacter* cinsinde yer alan bakteriler; gram negatif, aerobik, non-fermentatif, hareketsiz, katalaz pozitif, oksidaz negatif, kokobasil şeklinde organizmalardır. Morfolojik karakterleri büyüme fazına bağlı olarak, Gram boyalı preparatlarda değişiklik gösterir (87).

*Acinetobacter* türleri arasında en sık ve en önemli klinik tablolara yol açan etken *Acinetobacter baumannii*'dir (102).

#### 2.1.1.Acinetobacter Genusunun Türleri ve Tarihçesi

*Acinetobacter* türleri ilk olarak mikrobiyolog Beijerinck tarafından 1911 yılında, kalsiyum asetatlı bir besiyerinde, topraktan izole edilmiş ve bilim adamı bu mikroorganizmaları *Micrococcus calcoaceticus* olarak adlandırmıştır (87). Sonraki yıllarda benzer mikroorganizmalar farklı araştırmacılar tarafından 15'ten fazla farklı cins ve tür düzeyinde isimlendirilmiştir (18, 87).

*Acinetobacter* kelimesi; Yunanca ‘akinetos’ kelimesinden köken alır ve hareketsiz anlamına gelmektedir. 1954 yılında Brisou ve Prevot, *Achromobacter* cinsindeki hareketsiz mikroorganizmaları, hareketli mikroorganizmalardan ayırmak için *Acinetobacter* ismini cins ismi olarak önermiş, ancak bu öneri 1968 yılında Baumann ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan sonra kabul görmüştür (87).

1968 yılında Baumann ve ark., daha önce tanımlanmış farklı türlerin tek bir cinse ait olduğunu ve daha detaylı bir sınıflandırmanın fenotipik özelliklerine göre olamayacağını vurgulamışlardır (10).

1974 yılında yayınlanan, Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology’de *Acinetobacter* cinsi içerisinde *Acinetobacter calcoaceticus* tek tür olarak yer bulmuştur (87).

1986 yılında Bouvet ve Grimont, DNA hibridizasyon yöntemi ile *Acinetobacter* cinsini 12 gruba (genospecies) ayırmıştır. Elde ettikleri 12 DNA grubundan 6’sını fenotipik özelliklere göre de gruplandırmışlardır (17). Fenotipik testler ve DNA hibridizasyonu sonucunda ortaya çıkan *Acinetobacter* türleri:

- *Acinetobacter calcoaceticus* (*Acinetobacter* gen. sp. 1),
- *Acinetobacter baumannii* (*Acinetobacter* gen. sp. 2),
- *Acinetobacter haemolyticus* (*Acinetobacter* gen. sp. 4),
- *Acinetobacter junii* (*Acinetobacter* gen. sp. 5),
- *Acinetobacter johnsonii* (*Acinetobacter* gen. sp. 7),
- *Acinetobacter lwoffii* (*Acinetobacter* gen. sp. 8).

*Acinetobacter* gen. sp. 8 ile *Acinetobacter* gen. sp. 9’un fenotipik testler ile ayrımı yapılamamıştır.

1989’da Bouvet ve Jeanjean; proteolitik *Acinetobacter* genomik türlerinden oluşan ve 13–17 arasında numaralandırılan 5 DNA grubu (*Acinetobacter* gen. sp.) daha tanımlamışlardır (16).

Bunun ardından Tjernberg ve Ursing; 13–15 (*Acinetobacter* gen. sp.) olarak numaralandırılan 3 DNA grubu tanımlamışlar ve 12 numaralı DNA grubunun *Acinetobacter radioresistens* ile aynı olduğunu göstermişlerdir (106).

Ancak, daha sonra yapılan çalışmalarda, Tjernberg ve Ursing'in tanımladığı DNA grubu 14 (*Acinetobacter* gen. sp. 14TU) ile Bouvet ve Jeanjean'ın tanımladığı DNA grubu 13'ün (*Acinetobacter* gen. sp. 13BJ) aynı olduğu gösterilmiştir (37).

*Acinetobacter* türlerinden *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *Acinetobacter* gen. sp. 3 ve *Acinetobacter* gen. sp. 13TU'nun birbirlerine genetik benzerlikleri ve fenotipik testlerle tür düzeyinde ayırmanın zor olduğu için bu türler *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks olarak isimlendirilmiştir (37).

2001 ve 2003 yıllarında Nemec ve ark., klinik örneklerden izole edilen örneklerden 3 yeni *Acinetobacter* türü (*Acinetobacter ursingii*, *Acinetobacter schindleri* ve *Acinetobacter parvus*) tanımlamışlardır. Aynı zamanda atık su arıtma tesislerinden izole edilen sulu çamur örneklerinden de 7 yeni *Acinetobacter* türü (*Acinetobacter baylyi*, *Acinetobacter bouvetii*, *Acinetobacter grimontii*, *Acinetobacter tjernbergiae*, *Acinetobacter townneri*, *Acinetobacter tandoii* ve *Acinetobacter gernerii*) tanımlandığı bildirilmiştir (75, 76).

Yapılan moleküler çalışmalarla *Acinetobacter grimontii* ile *Acinetobacter junii* suşunun aynı olduğu tespit edilmiş ve sinonim olarak sınıflandırılmıştır (111).

2008 yılında orman toprağından izole edilen (*Acinetobacter soli*) bir tür ve 2009 yılında ise insan ve hayvan örneklerinden izole edilen 2 yeni tür (*A. beijerinckii* ve *A. gyllenbergii*) daha bildirilmiştir (50, 78).

DNA hibridizasyonu ile numaralandırılan kökenler fenotipik olarak diğer *Acinetobacter* türlerinden ayrılarak isimlendirilmiştir (77);

- *Acinetobacter* gen. sp. 10 → *Acinetobacter berezinae*,
- *Acinetobacter* gen. sp. 11 → *Acinetobacter guillouiae*,
- *Acinetobacter* gen. sp. 3 → *Acinetobacter pittii*
- *Acinetobacter* gen. sp. 13TU → *Acinetobacter nosocomialis*



## 2.1.2. *Acinetobacter* Genusunun Mikrobiyolojik Özellikleri ve Laboratuvar Tanısı

*Acinetobacter* cinsi bakteri hücreleri tipik olarak 1-2.5 µm ölçülerinde, genellikle çiftler halinde yerleşim gösterirler. *Acinetobacter*ler logaritmik üreme fazında basil şeklinde görülürken, sabit fazda kokobasil ya da kok şeklinde de görünebilirler (87).

*Acinetobacter* sp. koyun kanlı agar, nutrient agar ve triptik soy agar gibi genel besiyerlerinde 35-37°C'de kolayca üreyebilir (70). *Acinetobacter* kolonileri opak ve *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerine göre daha küçük, düzgün, S tipi kolonilerdir. MacConkey agarda renksiz veya hafif pembe renkte, Eosin Methylene Blue (EMB) agarda mor renkte koloniler oluşturur. Bazı *Acinetobacter* suşları kanlı agarda ortası delik görünümde, beyaz koloniler meydana getirirler (87).

*Acinetobacter*'leri diğer gram negatif nonfermentatif bakterilerden ayıran kesin bir metabolik test yoktur (87).

Bunun dışında klinik örneklerden doğrudan *Acinetobacter* izolasyonunu sağlayan seçici besiyerleri mevcuttur. *Acinetobacter*'lerin klinik ve çevresel örneklerden izolasyonunda kolaylık sağlayan seçici ve ayırt edici besiyerlerinin başlıcaları 'Leeds *Acinetobacter* Medium' ve 'Herellea Medium'dur (47).

*Acinetobacter* sayısının az olabileceği örneklerde veya çevre tarama örneklerinde sıvı besiyerinde zenginleştirme yapılarak kültür yapılması önerilir. Örnekler, tek karbon kaynağı, enerji kaynağı ve nitrat tuzu içeren mineralli sıvı besiyerlerinde 35-37°C'de 24 ile 48 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonunda katı besiyerlerine pasajlanarak üreyen kolonilerden tür identifikasyonu yapılır (70).

*Acinetobacter* türlerinden *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks koyun kanlı agarda hemoliz oluşturmazken, *A. haemolyticus* ve *Acinetobacter* gen. sp. 6, 13BJ, 14BJ, 15BJ, 16 ve 17 koyun kanlı agarda hemoliz oluşturlar (87).

*A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks olarak adlandırılan dört *Acinetobacter* türünün (*A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *Acinetobacter* genomic species 3 ve *Acinetobacter* genomic species 13TU) fenotipik olarak benzer özelliklere sahip olmasından dolayı morfolojik ve biyokimyasal testlerle ayırt edilmesi zordur (87). Bu kompleks içerisinde yer alan türlerden *A.baumannii*, *Acinetobacter* gen. sp. 3 ve *Acinetobacter* gen. sp. 13TU, klinik örneklerden izole edildiklerinde nozokomiyal

enfeksiyon etkeni olabileceği düşünülmektedir. Kompleks içerisinde yer alan *A.calcoaceticus* ise çevre kaynaklıdır (87).

*Acinetobacter*'lerin tür düzeyinde sınıflandırılmasında referans yöntem DNA-DNA hibridizasyon yöntemidir. Ancak, hem DNA-DNA hibridizasyon yöntemi hem de fenotipik yöntemler zahmetli yöntemlerdir ve rutin laboratuvar uygulamaları için elverişli değildir (87).

*Acinetobacter*'lerin tür düzeyinde tanımlanmasını sağlayacak çok sayıda moleküler yöntem geliştirilmiştir.

- Genom parmak izi analizi: Amplified fragment length polymorphism (AFLP)
- Genom DNA-DNA hibridizasyonu
- Restriksiyon enzim analizi: Amplified ribosomal DNA (16S rDNA) restriction analysis (ARDRA)
- Restriksiyon enzim analizi: *16S-23S rRNA* intergenic spacer sequences
- Ribotiplendirme
- Sekans analizi: *16S-23S rRNA* Gene Spacer Region
- Sekans analizi: RNA polimeraz B alt unitesi geni (*rpoB*) ve flanking spacers
- Bazı gen kompozisyonlarının amplicon analizi: Multilocus PCR, electrospray ionization mass spectrometry (PCR/ESI-MS)

Bu yöntemler arasında ARDRA ve AFLP analizi *Acinetobacter* türlerinin identifikasyonunda yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir.

Geliştirilen moleküler yöntemler *Acinetobacter* türlerinin epidemiyolojisinin ve klinik öneminin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamıştır. Ancak, bu yöntemlerin tanısal mikrobiyolojide günlük uygulaması çok zahmetlidir ve bu nedenle yöntemlerin kullanımı sadece araştırma ve referans laboratuvarlarıyla sınırlıdır (87).

Tür identifikasyonu için kullanılan API 20 NE (Biomerieux, Fransa), Vitek 2 (Biomerieux, Fransa), Phoenix (BD Biosciences, Amerika) ve MicroScan WalkAway(Simens, Almanya) gibi ticari identifikasyon sistemlerinin halen eksiklikleri vardır. Ticari sistemler özellikle klinik olarak önemli olan ve *A. calcoaceticus-A. baumannii* kompleks içerisinde yer alan *A. baumannii*, *Acinetobacter* gen. sp. 3 ve *Acinetobacter* gen. sp. 13TU yu tanımlamada zorluk çekmektedir (87).

### 2.1.3. *Acinetobacter* Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

*Acinetobacter* türleri hayvanlarda ve cansız varlıklarda yaşamlarını sürdürebilen, sıklıkla topraktan izole edilen, toplumdan kazanılmış enfeksiyonlarda ender rastlanılan ancak nozokomiyal enfeksiyonlardan sıklıkla izole edilen, bazıları antibiyotiklere dirençli bakterilerdir (11). Sağlıklı insanlarda normal deri florasında genelde düşük yoğunlukta, kısa süreli olarak bulunabildikleri çalışmalar ile gösterilmiştir (11).

Hastanede yatan hastalarda *A. baumannii* ile deri kolonizasyonunun %40'ın üzerinde olduğu dünyanın pek çok ülkesinden bildirilmiştir. Hastane personelinin, deri kolonizasyonu olan hastalarla teması mikroorganizmanın yayılımında önemli rol oynamaktadır (65).

1997'de Seifert ve ark., deri ve mukozal membranlarda *Acinetobacter* spp. taşıyıcılığının hastalarda (%75) ve kontrol grubunda (%42,5) yüksek oranlarda olduğunu bildirmiştir (11). Çalışmada örnekleme, vücudun dokuz farklı bölgesinden yapılmış, ellerde %26, kasıkta %25, ayak parmak arasında %24, alında %23 ve kulakta %21 oranında *Acinetobacter* spp. izole edilmiştir. Çalışmada izole edilen türler ise %47 *Acinetobacter lwoffii*, %21 *A. johnsonii*, %12 *A. radioresistens* ve %11 *Acinetobacter* gen. sp. 3 olarak bulunmuştur. Ancak, klinik olarak önemli olan türler, *A. baumannii* %0,5 ve *A. nosocomialis*'in (DNA grup 13TU) %1 oranlarıyla nadiren kolonizasyon yaptıkları bildirilmiştir (11).

1999'da Berlau ve ark., sağlıklı gönüllülerde *Acinetobacter* spp. taşıyıcılığını %44 olarak belirlemiştir. Çalışmada, bakterilerin en sık izole edildiği vücut bölgeleri olarak ön kol %51, alın %47 ve ayak parmak arası %34 saptanmış, izole edilen türleri ise *A. lwoffii* %61, *Acinetobacter* Gen. sp. 15BJ %12,5 ve *A. radioresistens* %8 şeklinde bildirilmiştir. *A. baumannii*-*A. calcoaceticus* kompleks ise sadece bir sağlıklı gönüllüden izole edilmiştir (12).

1999'da Hong Kong'tan Chu ve ark., deri ve mukozal membran taşıyıcılığının Avrupa'dan farklı olarak *A. pittii* %32, *A. nosocomialis* %14 ve *A. baumannii* %4 ile geliştiğini bildirmiştir. Ayrıca, *Acinetobacter* spp. taşıyıcılığının mevsimlere göre değiştiğini ve yaz mevsiminde taşıyıcılığın anlamlı bir şekilde arttığını belirtmiştir (21).

2005'de Dijkshoorn ve ark., sağlıklı bireylerde dışkıda *Acinetobacter spp* bulunma oranını Hollanda'da %24,6, İngiltere'de ise %3 oranında bildirmiştir. Hollanda'dan izole edilen türler sırasıyla; %17,5 *A. johnsonii*, %4 *A. guillouiae*, %1,6 *A. junii*, %1,6 *A. ursingii*, %0,8 *A. baumannii*, %0,8 *A. lwoffii*, %0,8 *A. berezinae* ve %0,8 *A. pittii* olarak bildirilmiştir. *A. johnsonii* insan sindirim sisteminde baskın tür olarak görülürken, klinik olarak önemli olan *A. baumannii* önemli bir yer teşkil etmemiş, toplumsal bir kaynak oluşturmamıştır (29).

1996 yılında İspanya'dan Corbella ve ark., yoğun bakım ünitesinde çoklu ilaç direnci olan *A. baumannii* fekal-intestinal kolonizasyonunu %41 olarak bildirmişlerdir. Çoklu ilaç direncine sahip *A. baumannii* ile fekal-intestinal kolonizasyonu olan hastalarda, kolonizasyon olmayanlara göre enfeksiyon sıklığının daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda, sindirim sisteminin dirençli *A. baumannii* için epidemiyolojik rezervuar görevi oluşturabileceğini vurgulamışlardır (23).

2006 yılında Thom ve ark., bir çalışmada, imipenem dirençli *A. baumannii* bakteriyemisi olan 7 hastanın 6'sından elde edilen perirektal kolonizasyon izolatlarının, kan kültür izolatları ile genetik olarak benzer olduğunu tespit etmişlerdir (105).

1999 yılında Berlau ve ark., *Acinetobacter* türlerinin sebzelerdeki dağılımını araştırmışlar ve 177 örnekten 30'unda (%17) pozitif sonuç elde etmişlerdir. Elde ettikleri verilerle, *A. baumannii* ve *A. guillouiae*'nin baskın türler olduğunu, *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* kompleks içerisinde bulunan *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. pittii* ve *A. nosocomialis*'in izole edilen diğer türlere göre siprofloksasin ve gentamisine daha dirençli olduğunu ayrıca, sebzelerin *A. baumannii* için rezervuar olduğu gösterilmiştir (13).

2008 yılında Hong Kong'dan Houang ve ark., 41 sebze örneğinin 21'inde (%51) pozitif sonuç elde etmişler ve en sık *A. pittii* (15 izolat) izole edildiğini ve *A. baumannii*'nin sadece bir örnekte görüldüğünü bildirmişlerdir. Balık ve etlerden yapılan kültürlerde (53/74) %74 oranında pozitiflik saptanmış; bu örneklerden de sadece birinde *A. baumannii* izole edilmiştir (43).

*Acinetobacter* türleri doğada geniş bir yayılım alanına sahiptir (87).

- *A. calcoaceticus*: Su, toprak ve sebzeler
- *A. pittii*: Su, toprak, sebzeler ve insan cildi
- *A. johnsonii*: Su, toprak, insan cildi ve dışkı
- *A. lwoffii*: İnsan cildi
- *A. radioresistens*: İnsan cildi
- *A. guillouiae*: Su, toprak, sebzeler ve insan sindirim sistemi
- *A. nosocomialis*: İnsan cildi
- *A. baumannii*: Toplumda taşıyıcılık oranı azdır. Toprakta ve sebzelerden izole edilmiş olmasına rağmen tipik bir çevresel organizma değildir.

#### 2.1.4. *Acinetobacter* Enfeksiyonlarının Patogenezi

*Acinetobacter* cinsi bakteriler genel olarak virülansı düşük patojenlerdir. Konak savunma mekanizmaları normal olan bireylerde enfeksiyon oluşturmaları zordur. Genellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olmaktadır (71). Asidik pH ve düşük ısıda üreyebilme özellikleri yanında bilinen sitotoksin üretimleri yoktur. Hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit molekülünün insan için endotoksijenik potansiyeli çok fazla bilinmemektedir (70). Enfeksiyon gelişimi için başlıca risk faktörleri; uzun süre yoğun bakım ünitesinde kalma, uzun süreli antibiyotik kullanımı, ağır cerrahi girişimler, uzun süre mekanik ventilatöre bağlı kalma, damar içi kateterizasyon, enteral beslenme, idrar sondası ve trakeostomi varlığıdır (71).

Son 30 yıldır hastane ortamında yeni, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın ve uygunsuz kullanımı, hem *Acinetobacter* türleri ile gelişen hastane enfeksiyonu oranlarını artırmış, hem de bu bakterilerde birçok antibiyotiğe karşı direnç gelişmesine neden olmuştur. Antibiyotik direnci hastaneler, şehirler ve ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir (70, 71).

*Acinetobacter* cinsi bakterilerin genelde düşük virülansa sahip olduğu kabul edilir, sınırlı da olsa virülanstan sorumlu faktörleri mevcuttur;

- **Lipopolisakkarit ve lipid A**: Hücre duvarında bulunan lipid A potansiyel toksik etki göstererek patojeniteyi artırır.
- **Fimbria ve/veya kapsül polisakkariti**: İnsan epitel hücrelerinde yapışmayı güçlendirir.

- **Aerobaktin ve siderofor** gibi demir tutucu dış membran reseptör proteinleri ile bakterinin üremesi için gerekli demir ihtiyacı temin edilmektedir (50).

## **2.2. *Acinetobacter baumannii***

*Acinetobacter baumannii* fırsatçı bir patojendir ve nozokomiyal enfeksiyonlara neden olur. *A. baumannii* kolonizasyon sıklığı neden olduğu enfeksiyonlarla karşılaştırıldığında daha yüksektir ve sağlıklı hasta gruplarında bakterinin patojenitesi düşüktür. Ancak, enfeksiyon gelişirse genellikle ciddi seyredir (87).

### **2.2.1. *Acinetobacter baumannii*'de Patogenez ve Virülans Faktörleri**

Dezenfektanlara, kuruluğa ve antibiyotiklere karşı dayanıklılık bakterilerin çevresel şartlarda hayatta kalmasını sağlar. *Acinetobacter baumannii* olağanüstü metabolik değişkenliği sayesinde hastalarda ve hastane ortamında canlılığını sürdürür.

*Acinetobacter baumannii* virülansı ile ilgili DNA dizi analizi çalışmalarında 16 gen adacığı tanımlanmıştır. Burada yer alan genler arasında, antibiyotik direnci, hücre-kapsül biyogenezi, pilus biyogenezi, otoindüktör üretimi ve lipid metabolizması ile ilgili genler bulunmaktadır (28).

Dış membran proteini A (OmpA)'nın sitotoksik etkisi, demir kazanma mekanizması ve serum direnci bakterinin dolaşım sisteminde hayatta kalmasını sağlayan özelliklerden bazılarıdır (28).

*Acinetobacter baumannii*'nin dış membran proteini (OMP38) OmpA'nın, bakterinin hastalık oluşturabilmesinde önemli etkisi vardır. İnsan laringeal epitel hücresi *Hep-2* ve *A. baumannii* ile yapılan çalışmada, OmpA'nın hücre mitokondrisini parçalayarak sitokrom C ve apoptozis indükleyici faktörün (AIF) sitozole geçişine neden olduğu ve hücre apoptozisinin indüklendiği bildirilmiştir. OmpA, hücre yüzeyinde en fazla bulunan proteindir ve biyofilm oluşumunu ile dirençte rol alır (44).

*Acinetobacter baumannii*'nin cam malzemeler ve yoğun bakım ünitesinde kullanılan ekipmanlar gibi cansız yüzeylerde ya da epitel hücreleri gibi canlı yüzeylerde biyofilm oluşturabildiği gösterilmiştir (5). Biyofilm oluşumunu kontrol eden faktörler pili varlığı, besin durumu, dış membran proteini ve makromoleküler

salgıdır. *Acinetobacter baumannii*'nin bir yüzeye tutunmasından sonra pili ve biyofilm ilişkili protein (BİP) biyofilm oluşumunu başlatır. Çevrede bulunan metal kasyonlar da *A. baumannii*'nin yüzeylere tutunma yeteneğini arttırarak biyofilm sürecinde rol oynar (44).

### **2.2.2. *Acinetobacter baumannii* ve Nozokomiyal Enfeksiyonlar**

*Acinetobacter baumannii*, yoğun bakım ünitesinde ciddi hastane enfeksiyonlarından sorumlu, önemli bir fırsatçı patojen bakteridir. Hastane kökenli *Acinetobacter* enfeksiyonlarının en önde gelenleri, ventilatör ilişkili pnömoni, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, sekonder menenjit ve dolaşım sistemi enfeksiyonlarıdır. Her ne kadar *A.pittii* ve *A. nosocomialis* türleri de bu enfeksiyonlara neden olsa da hastane enfeksiyonları ile ilişkili öne çıkan tür *A. baumannii*'dir (39). Genitoüriner sistem enfeksiyonları (kateter uygulamasına bağlı sistit ve piyelonefrit gibi), intrakraniyel enfeksiyonlar (cerrahi girişimlerden sonra görülen menenjit gibi), solunum sistemi enfeksiyonları (entübasyon ve trakeostomi sonrası), yumuşak doku enfeksiyonları oluşturduğu fırsatçı enfeksiyonlardandır (60). Bu bakterilerin yatak çarşafı, perdeler, hasta dosyaları, kapı kolu, sedye gibi ortamlarda uzun süre canlı kalabilmeleri hastane enfeksiyonları açısından önemli bir risk faktörüdür (39). Yapılan çalışmalarla *Acinetobacter* türlerinin hastane personelinin %15 ila %33'ünün ellerinde kolonize olduğu, bu kökenleri hastalara ve ekipmanlara aktardıkları gösterilmiştir (104).

*Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının gelişmesine ya da bakterinin bulaşmasına neden olan risk faktörleri :

1. Hastanın durumu ile ilgili faktörler arasında; altta yatan bir hastalığın olması ve immün sistemin baskılanması, cerrahi operasyon geçirmiş olması, majör travma (özellikle yanıklar) bulunması ve premature yenidoğanlar, solunum yetmezliği ve organ yetmezliği olanlar sayılabilir.
2. Bakteri ile karşılaşma; yoğun bakım ünitesinde kalmış olmak, hastanede ya da yoğun bakım ünitesinde kalış süresinin uzunluğu, enfeksiyon kontrol önlemlerinin yetersiz olması, *A. baumannii*'nin endemik olarak hastanede bulunması ve kontamine tıbbi ekipmanlara maruz kalmak bakteri bulaşını arttıran risk faktörleridir.

3. Tedavi ile ilgili faktörler; mekanik ventilasyon, intravasküler kateter, idrar kateteri ve drenaj tüpleri gibi tıbbi ekipman uygulamaları, invaziv prosedürlerin sayısı ve daha önce uygulanan antimikrobiyal tedavi varlığı risk faktörleri arasındadır (36, 96).

*Acinetobacter baumannii* nozokomiyal enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan klinik tablolar, dolaşım yolu ve solunum yolu enfeksiyonlarıdır. Her iki durum da ciddi morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Y.B.Ü'deki intravasküler kateter uygulamaları, geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi, mekanik ventilasyon varlığı yanısıra yanıklar ve cerrahi işlemler bu enfeksiyonlara duyarlılığı arttırmaktadır. Enfeksiyonun başlangıcında gelişen septik şok, altta yatan hastalık varlığı, hastalığın şiddeti ve mekanik ventilasyon ölüm nedeni olan risk faktörlerdir (36, 96).

*Acinetobacter baumannii* ile ilişkili yara enfeksiyonları, ciddi yanıkları ya da travmaları olan hastalarda ve kurşun yaralanmalarında bildirilmiştir (36).

İdrar yolu enfeksiyonları, kalıcı idrar yolu kateterleri ile ilişkilidir ve klinik seyri daha iyidir. Ayrıca rehabilitasyon merkezlerinde görülen enfeksiyon sıklığı yoğun bakımlardakinden daha yüksektir (28).

Nozokomiyal *A. baumannii* enfeksiyonlarının klinik sonuçları tartışılmaya devam eden bir konudur. Birçok çalışmada, *A. baumannii* bakteriyemisi ya da pnömonisine bağlı yüksek mortalite oranları bildirilmiştir. *Acinetobacter baumannii* altta yatan ciddi hastalığı olan ve kötü prognoz gösteren hastalarda önemli bir patojendir. Bu yüzden *A. baumannii* enfeksiyonuna bağlı olarak belirtilen mortalite oranları nozokomiyal olmaktan çok altta yatan hastalıkların sonucudur (28).



### **2.3. Çoklu İlaça Dirençli (ÇİD) *Acinetobacter baumannii***

#### **2.3.1. ÇİD Tanımı ve Epidemiyolojisi**

Hastanelerde enfeksiyon kontrolü açısından, ÇİD veya tüm ilaçlara dirençli *A. baumannii* ile kolonize hastaların tespit edilmesi çok önemlidir(14).

Çoklu ilaca dirençli *A. baumannii*, sefalosporinler (seftazidim veya sefepim), karbapenemler (imipenem veya meropenem), ampicilin-sulbaktam, florokinolonlar (siprofloksasin veya levofloksasin) ve aminoglikozidler (gentamisin, tobramisin veya amikasin) arasından en az üç ilaca veya ilaç grubuna direnç geliştiren izolatlar çoklu ilaç dirençli olarak tanımlanır (64).

Pandrugrezistan (pan:tümü) *A. baumannii* tanımı; terapötik potansiyeli olan, beta-laktamlar, florokinolonlar ve aminoglikozid grubu ilaçların hepsine karşı direnç durumunda kullanılan terimdir (64).

#### **2.3.2. Türkiye’de ÇİD *Acinetobacter baumannii***

Giderek artan direnç gelişimi ile Türkiye’de de *A. baumannii* üzerine odaklanılmış ve bu konuda daha fazla çalışma yapılmaya başlanılmıştır.

Çok merkezli bir çalışma olan MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) 1997-2000 verilerine göre *A. baumannii*'de, çoğu ülkede meropenem direnci %10’un altında iken, İngiltere ve İtalya’da %30 civarı bulunmuştur. Türkiye ise %35 ile en fazla direncin görüldüğü ülkelerden birisi olarak konumlanmıştır (5).

Aynı çalışmanın 2000-2003 arası yapılan bölümüne ait Türkiye verilerinde ise meropenem direnci %42, imipenem direnci ise %48 olarak bulunmuştur. Direncin kısa süredeki bu artışının nedeni olarak, ülkemizde enfeksiyon kontrol önlemlerinin yeterince uygulanamaması ve dirençli suşların buna bağlı olarak yayılımı olabileceği öngörülmektedir (26).

2010 yılında Çelebi ve ark., *Acinetobacter* suşlarında ÇİD izolat oranı %33,6 bildirmiştir. ÇİD *Acinetobacter* spp. enfeksiyonlarında mortalite oranı %50 iken, ÇİD olmayan izolatlarla gerçekleşen enfeksiyonlara bağlı mortalite oranı %11 olarak saptanmıştır (85).

### 2.3.3. Dünya'da ÇİD *Acinetobacter baumannii*

Çoklu ilaca dirençli *A. baumannii* dünyanın birçok bölgesinde büyük bir sorundur. 1980'lerden beri İngiltere, Fransa, Almanya, İtalya, İspanya ve Hollanda'da *A. baumannii*'nin neden olduğu hastane salgınları moleküler yöntemlerle izlenmektedir. Çalışmalarda tespit edilen epidemik suşların hastaneler arasında kolonize hastalar aracılığıyla taşınması söz konusudur (84, 109).

Japonya'da 2009 yılında elde edilen *A. baumannii* suşlarında meropenem %18, siprofloksasin %41, amikasin %14 dirençli bulunmuş ve suşların % 4,3'ü ÇİD olarak tespit edilmiştir (45).

Kore'de Lee ve ark., *A. baumannii* suşlarında 2003 yılında imipenem için %13 direnç tespit ederken, 2009 yılında direncin %51'e çıktığını bildirmişlerdir. Ancak, amikasin direncini 2003 yılında %55, 2009 yılında %48 olarak saptamışlardır (59).

Hindistan'da 2008-2010 yılında izole edilen *A. baumannii* suşlarında %89,6 oranında imipenem ve meropenem direnci tespit edilmiştir. Ayrıca, polimiksin B için %1,9, kolistin için %1,2 ve tigesiklin için %74 oranında direnç tespit edilmiş ve diğer antibiyotikler için de yüksek direnç oranları bildirilmiştir (46).

2012 yılında bildirilen Asya-Pasifik bölgesinde 5 ülkeyi kapsayan ve karbapenemlerin karşılaştırmalı aktivitesinin incelendiği çalışmada (COMPACT), *A. baumannii* suşlarının %73'ü en az bir karbapeneme (doripenem, imipenem, meropenem) dirençli bulunmuştur(53).

İran'dan 2007-2009 yıllarında elde edilen *A. baumannii* suşlarında, amikasin direnci %58, gentamisin direnci %68, imipenem direnci %19 olarak tespit edilmiştir (110).

Latin Amerika'da 2004-2010 yılları arasında 12 ülkeyi kapsayan çalışmada *A.baumannii* suşlarında meropenem direnci %66,1 imipenem direnci %37,5 oranında tespit edilmiştir (33).

İsrail'de 2003-2008 yılları arasında *A.baumannii* antimikrobiyal duyarlılık oranları; imipenem 2003 yılında %99 oranında duyarlı bulunurken, 2007'de %65 oranında duyarlı, 2008'de ise %42 duyarlılık ile artan bir direnç oranı göstermiştir. Amikasin duyarlılığı %90'dan %30'a, ampisilin sulbaktam duyarlılığı %89'dan %40'a

gerileyerek direnç oranları artmıştır. Tobramisin duyarlılığı %41'den %65'e çıkararak direnç oranında azalma bildirilmiştir (91).

SENTRY 2001-2004 sonucuna göre *A. baumannii* suşlarında imipenem %17 ve meropenem %15,8 dirençli bulunmuştur, karbapenemlerin dışındaki antibiyotiklerden amikasin %35,8 direnç oranı ile etkili antibiyotik olarak tespit edilmiştir. Sonuçların bölgelere göre dağılımına bakıldığında; Avrupa'da imipenem %73,7, meropenem %70,4 duyarlı; Kuzey Amerika'da imipenem %89,4, meropenem %83,7 duyarlı; Latin Amerika'da imipenem %86,4, meropenem 83,6 duyarlı; Asya-Pasifik'te imipenem %73,7, meropenem %73 duyarlı bulunmuştur. Karbapenemler dışındaki en etkili bulunan antibiyotik Kuzey Amerika'da ve Asya-Pasifikte amikasin (%83,2; %64) olmuştur. SENTRY sürveyans sistemi sonucunda polimiksin duyarlılığı Asya-Pasifik'te %98,1, Avrupa'da %97,3, Latin Amerika'da ve Kuzey Amerika'da %98,3 olarak bulunurken; küresel oran %97,9 duyarlılık oranı ile etkili bulunmuştur (34).

Bazen ÇİD *A. baumannii* dağılımı İngiltere, Fransa ve Portekiz'de olduğu gibi tüm ülkeyi kapsayacak şekilde olabilmektedir. Klon I, II ve III diye isimlendirilen, üç uluslar arası *A. baumannii* klonu Avrupa çapında birçok ülkeden bildirilmiştir (25).

Karbapenem direnci birçok Avrupa ülkesinin güncel sorunudur. Türkiye, Yunanistan, İtalya, İspanya ve İngiltere'de karbapenem dirençli kökenlerin oranı diğer ülkelere göre daha yüksek bulunmuştur. Avrupa'da dirençli kökenlerin oranı Doğu Avrupa'da en yüksek, İskandinavya'da en düşük saptanmıştır (85).

2002-2004 yılları arası yapılan, Avrupa ülkelerinin katıldığı MYSTIC çalışmasına göre, izolatların %73,1'i meropeneme, %69,8'i imipeneme, %32,4'ü seftazidime, %34'ü siprofloksasine ve %47,6'sı gentamisine duyarlı bulunmuştur (94).

#### 2.4. *Acinetobacter baumannii* Salgınları ve Tiplendirme Yöntemleri

Nozokomiyal *A. baumannii* enfeksiyonları genellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda görülmektedir. Salgınların temelini, *Acinetobacter*'lerin kuruluk dahil dış ortam koşullarına dayanıklılığı ve birçok antibiyotiğe dirençli olması oluşturur (8).

Ventilatör ekipmanları, spirometre, resüsitasyon çantası, kontamine sıvılar, nemli eşyalar gibi genel kaynakların kontaminasyonunu *Acinetobacter* salgınları takip eder. Solunum cihazına bağlı hastalarda ventilatör ekipmanlarının kontaminasyonu, sağlık personelinin elleri ile kolonize, enfekte hastalardan ya da kontamine eşyalardan taşınan mikroorganizmalarla ilişkili çapraz enfeksiyonlar sonucu salgınlar oluşur (112).

*Acinetobacter* cinsi bakteriler bir kez hastane ortamında görüldükten sonra, genellikle çoklu ilaç direnci olan suşlar, seri halde birbiriyle örtüşen epidemiyolojik paternler gösterirler. Birçok *Acinetobacter* suşunun endemikliğini takiben sonraki dönemlerde tek bir suşun baskın olduğu endemik suşlar ortaya çıkar(8).

2007 yılında Marchaim ve ark., hastalarda *Acinetobacter* taşıyıcılığının 42 aya kadar uzayabildiği bu durumun salgınlardan sonra endemik suşların oluşmasının tetiklendiğini göstermiştir. Hastanın yatağa bağlı olması, oryantasyon bozukluğu ya da koroner by-pass operasyonu geçirmiş olmasının taşıyıcılık süresini arttırdığı tespit edilmiştir. *Acinetobacter* taşıyıcılığının tespit edilmesinde; burun, farinks, deri (aksilla, antekubital fossa ve kasık bölgesi), rektum, yara ve endotrakeal aspirat gibi farklı vücut bölgelerinden alınan çoklu örneklerin izole edilme duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir (67).

2006 yılında Lolans ve ark., Şikago ve Indiana'nın kuzey batı bölgesindeki 8 merkezden elde ettikleri, OXA-40  $\beta$ -laktamaz aktivitesine sahip *A. baumannii* izolatlarının PFGE ile tiplendirilmesi sonucunda %97'sinin aynı klona ait olduğunu (monoklonal) yani tek suşun salgına neden olduğunu göstermişler ve *Acinetobacter*'lerin geniş coğrafik dağılım gösteren salgınlara neden olabileceğini vurgulamışlardır (116).

2006 yılında Naas ve ark., Fransa'da çoklu ilaç direncine sahip *A. baumannii* izolatlarının bildirildiği Nisan 2003 ile Haziran 2004 döneminde, 15 farklı bölgeye

ait 53 hastaneden 290 *A. baumannii* izolatu elde etmişler. İzolatların %95'inin (275) VEB-1 geniş spektrumlu beta-laktamaz aktivitesine sahip olduğunu ve epidemik olarak ilişkili suşlar olduğunu göstermişlerdir. En fazla etkilenen hastaların yoğun bakım ünitelerinde, tıbbi servislerde ve sağlık merkezlerinde uzun süre kalan hastalar olduğu belirtilmiştir (72).

#### **2.4.1. *Acinetobacter baumannii* İçin Kullanılan Epidemiyolojik Tiplendirme Yöntemleri**

*Acinetobacter baumannii* suşlarının hastanelerdeki yayılımını kontrol edebilmek için mikroorganizmanın taşınma yollarının ve rezervuarlarının tanımlanması gereklidir. Salgın suşlarının epidemiyolojik olarak ilişkisiz olan diğer *Acinetobacter* suşlarından ayrılabilmesi için izolatların alt tür (subspecies) düzeyinde karşılaştırılması gerekir, bu amaçla kullanılan yöntemler, epidemiyolojik tiplendirme yöntemleri olarak tanımlanır ve fenotipik ile genotipik yöntemler olarak ayrımsanabilir (87).

##### **2.4.1.1. Fenotipik Tiplendirme Yöntemleri**

Fenotipik tiplendirme; antibiyotik duyarlılık paternlerine, biyokimyasal özelliklere, serotiplerine, faj tiplendirmesine ve protein profillerine dayanır (87).

##### **2.4.1.2. Biyotiplendirme**

En çok kullanılan tekniklerden birisidir. Suşların koloni morfolojilerine, farklı biyokimyasal reaksiyonlarına ve çevre şartlarına dayanıklılıklarına göre ayırımına dayanır. Biyotiplendirme yönteminde, mikroorganizma türleri farklı büyüme ortamlarındaki bileşenleri kullanabilmesine ve bazı kimyasal reaksiyonları gerçekleştirebilmesine göre tanımlanır. Günümüzde tür identifikasyonu için tasarlanmış otomatize sistemler sayesinde laboratuvarlarda rutin olarak biyotiplendirme yapılmaktadır (97).

#### **2.4.1.3. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi**

Mikrobiyoloji laboratuvarında rutin olarak uygulanan bir testtir. Antimikrobiyal duyarlılık testi sıvı mikrodilüsyon, agar dilüsyon ya da disk difüzyon yöntemleri kullanılarak yapılır. Testlerden elde edilen MİK değerleri ya da inhibisyon zon çapları epidemik küme analizlerinde, diğer epidemiyolojik testlerle uyumlu sonuçlar verir. Ancak, genetik ve epidemiyolojik olarak ilişkili olmayan izolatlar da aynı duyarlılık paternini gösterebilirler, bu yüzden epidemiyolojik çalışmalarda antibiyogram tiplendirmesinin değeri sınırlıdır (11, 97).

#### **2.4.1.4. Serotiplendirme**

Bir seri farklı antikor kullanılarak bakterilerin yüzeyindeki antijenlerin tespit edilmesi sonucu antijenik çeşitliliğin gösterilmesine ve suşlar arasındaki antijenik farkların ortaya konulmasına dayanır (97).

#### **2.4.1.5. Bakteriyofaj ve Bakteriyosin Tiplendirmesi**

Bakteriyofaj tiplendirmesi, bakterilerin belirli bir grup faja karşı gösterdiği duyarlılık paternine göre sınıflandırılmasına dayanır. Bakteriyofaj tiplendirme, yoğun emek gerektiren bir yöntemdir ve tekrarlanabilirliğinin düşük olması, standardizasyonunun yetersiz olması nedeni ile kullanımını sınırlıdır (97).

#### **2.4.2. Genotipik Tiplendirme Yöntemleri**

Sıklıkla kullanılan genotiplendirme yaklaşımları,

- Plazmid profilleme,
- Ribotipleme,
- Pulsed field jel elektroforezi (PFGE),
- Random polimorfik DNA amplifikasyon (RAPD) analizi,
- Rep- PCR
- Amplifiye fragment uzunluk polimorfizm (AFLP) analizi,
- Multilokus sekans tiplendirmesi (MLST) ve
- PCR-Electrospray iyonizasyon/kütle spektrometre (PCR- E SIM S)

olarak sıralanabilir (57).

Moleküler tiplendirme yöntemleri arasında PFGE altın standart kabul edilmektedir. Bu yöntemde kromozomal DNA'nın nadir kesim yapan restriksiyon enzimleri ile kesilmesi sonucu oluşan farklı boyutlardaki parçacıklar, agaroz jel elektroforezi ile analiz edilerek elde edilen paternler karşılaştırılır (89).

Klasik sürekli agaroz jel elektroforezinde ancak 30–50 kb uzunluğundaki DNA moleküllerinin ayrımı yapılabilmektedir. PFGE tekniğinde elektriksel akımın yönü ve açısı periyodik olarak değiştirilir, 1000 kb'dan daha uzun DNA parçacıklarının jelde ayrımı sağlanır (89).

PFGE ile elde edilen DNA parçacık profilinin, salgın suşu ile diğer suşlar arasında karşılaştırılması ile bu suşların arasındaki benzerlik ve farklılıklar ortaya konmaktadır (88).

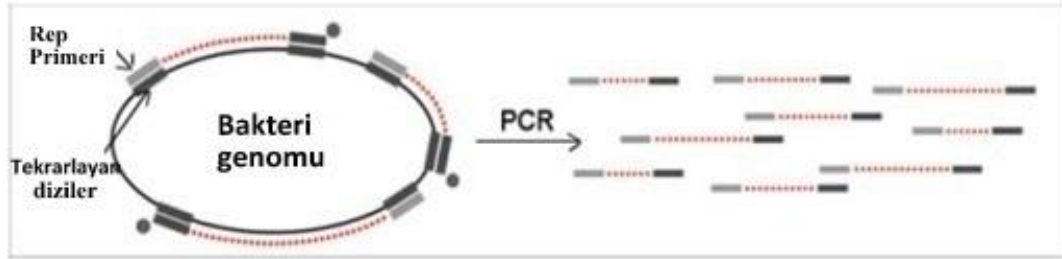
#### **2.4.2.1. Repetitive Extragenic Palindromic Elements PCR (REP-PCR)**

REP-PCR, çeşitli prokaryotik ve ökaryotik mikroorganizmalarda, genom içinde bir çok bölgede yerleşen ve tekrarlayan bölgeleri hedefleyen primerler kullanılarak uygulanan bir polimeraz zincir reaksiyonu tekniğidir. Amplifikasyon basamağında farklı büyüklükte fragmanlar oluşur ve bu fragmanların ayrımı, agaroz jel elektroforeziyle gerçekleştirilir (48).

1991 yılında ilk kez REP-PCR parmak izi paternleri kullanılarak bakterilerde alt tür sınıflamasında ve suş tanımlaması yapılmış ve kabul görmüştür (47).

REP-PCR primerleri, genom içinde dağılmış birçok tekrarlayan dizilere bağlanır ve farklı uzunluklarda birçok fragman amplifiye ederler. Bu fragmanlar büyüklük ve yüklerine göre elektroforezde ayrılır, farklı büyüklük ve yoğunlukta, çok sayıda bant içeren bir DNA parmak izi profili oluştururlar REP-PCR ile tiplendirmesi yapılan mikroorganizmaların, DNA parmak izi profilleri arasındaki farklılıklar ile suş seviyesinde ayrım sağlanır (15) (Şekil 1).

Bir epidemiyolojik araç olarak REP-PCR ile suş tiplendirmesi; hastane kaynaklı enfeksiyonlarda, kirli su ve gıda salgınlarında ve veterinerlikte oluşan salgınlarda kullanılabilir. Klinik kullanımının yanı sıra araştırma ve endüstri alanlarında da kullanılmaktadır (15).



Şekil 1.Genom içerisindeki tekrarlayan dizilere REP primerlerinin tutunması ve farklı uzunlukta parçaların çoğaltılması (<http://microbeinotech.com/Default.aspx?tabid=178>)

İzololatlar analiz sonrası farfsız (ayrıt edilemez şekilde benzer), benzer veya farklı olarak kategorize edilmektedir.

- Genel olarak 'farklı' kategorisi; <math><95</math> benzerlik ve homojen organizmalar için  $\geq 2$  bant farklılığı veya heterojen organizmalar için  $\geq 3$  bant farklılığı olarak tanımlanır;
- 'Benzer' kategorisi; <math><97</math> benzerlik ve homojen organizmalar için 1 bant farklılığı veya heterojen organizmalar için 2 bant farklılığı olarak tanımlanır;
- 'Farksız' kategorisi  $>95</math> benzerlik ve hiç farklı bant olmadığı yani bireysel bantların yoğunluğunda hiçbir varyasyon olmadığı durumlar olarak belirlenmiştir (95).$

REP-PCR, genetik tiplendirmede hızla yaygın kullanım alanı bulan bir teknik haline gelmiştir. Bu yöntem ile *Bartonella*, *Bacillus subtilis*, *Citrobacter diversus*, *Enterobacter aerogenes*, *Rhizobiummeliloti*, metisilin dirençli *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *A. baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Legionella pneumophila*, *Helicobacter pylori*, *Neisseria gonorrhoeae* ve *Neisseria meningitidis* gibi suşların ayırımında başarılı bir şekilde kullanılmıştır (80).

REP-PCR çok sayıda farklı bakteri türüne uygulanabilirliğe sahiptir ve diğer genomik ya da plazmid profili analizlerine göre daha iyi bir ayırım gücü gösterir (93). Yapılan çalışmalarda, REP-PCR yönteminin 16S-23S spacer region ya da 16S



rRNA restriksiyon analizine göre daha iyi ayırım sağladığı ortaya konmuştur (80). REP-PCR, multilokus enzim elektroforezi, biyokimyasal karakterizasyon ve ribotiplendirme gibi diğer tiplendirme yöntemleri ile karşılaştırıldığında daha üstün bir yöntemdir (95). REP-PCR'nin altın standart kabul edilen PFGE yöntemiyle de uyumlu sonuç verdiği gösterilmiştir (97).

Bou ve ark., klinik örneklerden izole ettikleri 30 imipenem dirençli *A. baumannii* ile 10 imipenem duyarlı *A. baumannii* suşlarında klonal ilişkiyi araştırmak için Rep-PCR, AP-PCR ve PFGE yöntemlerini kullanmışlar. REP-PCR ve AP-PCR yöntemlerini referans yöntem olan PFGE ile karşılaştırmışlardır. Her üç yöntem ile de dirençli suşlar klonal olarak ilişkili bulunmuştur. Çalışmaya göre REP-PCR yönteminin PFGE yöntemi ile uyumlu sonuç verdiği belirtilmiştir (35).

## **2.5. *Acinetobacter baumannii*'de Antimikrobiyal Direnç**

*Acinetobacter baumannii* suşlarına bağlı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı giderek artan direnç tüm dünyada olduğu gibi, ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. *A. baumannii*, neredeyse mevcut tüm antibiyotiklere karşı dirençli hale gelmesi ve dirençli suşların tüm coğrafyalarda yaygınlaşması ile dikkatleri üzerine çekmektedir. Bu mikroorganizma genellikle yaygın olarak kullanılan aminopenisilinlere, birinci ve ikinci kuşak sefalosporinlere ve kloramfenikole karşı doğal direnç gösterir. Geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamlara, aminoglikozidlere, florokinolonlara ve tetrasiklinlere karşı direnç geliştirme mekanizmalarını elde etmeye yönelik olağanüstü bir yeteneğe sahiptir. Birçok çalışmada bu antibiyotiklere dirençli *A. baumannii* suşlarının sayısının arttığı gösterilmiştir. Direnç oranları, ülkelere göre ya da hastaneden hastaneye, kullanılan antibiyotik çeşidi ve miktarına bağlı olarak değişebilir (28).

*Acinetobacter* enfeksiyonları 1970'li yıllarda ikinci jenerasyon sefalosporinler, minosiklin, kolistin veya gentamisin gibi antimikrobiyallerle kolaylıkla tedavi edilebilmekteydi. 1980 ile 1990 yılları arasında ÇİD *A. baumannii* ve karbapenem-dirençli *A. baumannii* (CR-AB) insidansının artması ile beraber *A. baumannii* enfeksiyonlarında tedavinin zorlaştığı kabul edilmiştir (20). Geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamlar 1985 yılında kullanıma girmiş ve yıllarca ÇİD *A. baumannii* enfeksiyonları için en önemli tedavi seçeneği olmuştur. İlk yıllarda klinik *A. baumannii* izolatları,

bu ilaçlara karşı değişmeyen bir duyarlılık profili göstermesine rağmen, 1990'lı yılların başından itibaren hastane salgınlarında karbapenem dirençli suşlar izole edilir hale gelmiştir. Daha sonraları, polimiksinlere ve tigesikline karşı da direnç geliştiği bildirilmiştir (28).

*Acinetobacter* türleri birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençlidir. Bu cinsin en önemli özelliği sulbaktam başta olmak üzere beta-laktam inhibitörlerine karşı duyarlı enzimlere sahip olmasıdır. *Acinetobacter* kökenlerinde bulunan geniş spektrumlu bir beta-laktamaz (GSBL) olan PER-1 enzimi ilk kez Türkiye'de tanımlanmıştır (4). GSBL tipi direnç *Acinetobacter* türleri arasında çok az bildirilmekle beraber ülkemizde, izolatların yaklaşık %40'ında PER-1 enzimi (GSBL) bulunmaktadır. *A. baumannii* kökenlerinin sulbaktam içeren kombinasyonlara duyarlılığı da giderek azalmaktadır (55). *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde günümüzde en etkili antibiyotikler, karbapenemler, sulbaktam ve kolistin olarak kabul edilmektedir (4).

### **2.5.1. *Acinetobacter baumannii*'de Antibiyotik Direnç Mekanizmaları**

Direnç gelişimi genellikle nozokomiyal *A. baumannii* kökenlerinde sık görülür. En yaygın rastlanan direnç mekanizmaları;

1. Antimikrobik ilacın hedef bölgesinde modifikasyon,
2. Porin proteinlerinin değişimi,
3. Antimikrobik ilaçların enzimatik inaktivasyonu,
4. İlaçların dışa atım (efluks) pompası ile hücre dışına atılması ve ilaçların hücreye girişinin azaltılması şeklinde sıralanır (28).

#### **2.5.1.1. Beta-Laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizması**

Bu grup antibiyotikler, bakteri hücre duvarının sentezini bozarak bakterisidal bir etki oluştururlar. Başlıca beta-laktam antibiyotikler: Penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler ve monobaktamlardır. Etkileri bakteri duvarında ayrı ayrı duran peptidoglikan komponentlerin birleşmesini sağlayan transpeptidasyon olayının aktivatör enzimi transpeptidazın aktivitesini bloke etmektir (82).

Beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç dört farklı mekanizma ile gelişmektedir;

1. Beta-laktamaz enzimleriyle antibiyotiğin parçalanması,
2. Beta-laktam antibiyotiğin hücre içine girişinin engellenmesi,
3. Penisilin bağlayan proteinlerde (PBP) oluşan değişiklikler ve
4. Efluks pompasının aktive olması.

Genellikle bu mekanizmaların bir arada işlemesi sonucu direnç gelişimi gözlenmektedir. *Acinetobacter* kökenlerinde kromozomal beta-laktamazlar sefalosporinaz aktivitesi gösteren enzimlerdir. Yapılan çalışmalarda *A. baumannii* izolatlarının %98'inde sefalosporinaz aktivitesi gösterilmiştir (31).

Karbapenem direncinin ise en önemli nedeni beta-laktamaz aktivitesidir. *A. baumannii* suşlarında en sık bildirilen metallo-beta-laktamazlar; IMP-1, IMP-2, IMP-4, IMP-5, IMP-9 ve oksasilinazlar; OXA-58, OXA-24 olarak belirtilmiştir (9).

### **2.5.1.2. Kinolonlara Karşı Direnç**

Kinolon türü antibiyotikler geniş spektrumlu ajanlardır. Toplum kökenli enfeksiyonlarda ve hastane kökenli enfeksiyonlarda sıkça kullanılmaktadırlar. Ancak bu ajana karşı da hızla direnç gelişmektedir (42). Diğer birçok antibiyotik grubunun aksine, kinolonlara karşı plazmid yoluyla direnç gelişimi pek rastlanmamaktadır. Direnç kromozomal mutasyonla gelişebilmektedir ve iki farklı temel mekanizma ile ortaya çıkmaktadır:

1. Hedef enzimde değişiklik oluşması
2. İlacın hücre içine geçişinin azaltılması şeklindedir.

Florokinolonların genel olarak gram negatif bakterilerde birincil hedefi DNA giraz, gram pozitif bakterilerde ise topoizomerez IV'tür. Mekanizma tam olarak bilinmemesine rağmen *Acinetobacter*'lerde kinolonlara kolaylıkla direnç gelişmektedir (42, 14).

Kinolonlara karşı başka bir direnç mekanizması ise, *Acinetobacter* hücre duvarlarının antibiyotiklere karşı az geçirgen olmasıdır. Ancak dış membrandaki değişiklikler sonucu kinolonların içeriye girememesi dirençten sorumlu tutulmaktadır (42, 14).

### 2.5.1.3. Aminoglikozidlere Karşı Direnç Mekanizmaları

Aminoglikozidler, *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinsi mantarlardan elde edilen doğal ya da yarı sentetik antibiyotiklerdir. Son yıllarda *Acinetobacter* türleri arasında aminoglikozidlere direnç artmaktadır.

*Acinetobacter* türlerinde aminoglikozid direnci üç farklı mekanizma ile açıklanır:

1. İlacın hücreye girişi ve birikiminde azalma ve efluks pompaları yolu ile direnç gelişebilir.
2. En önemli direnç mekanizması ise aminoglikozidleri değiştiren enzimlerle, bu antibiyotiklerin amino yada hidroksil gruplarının enzimatik olarak değiştirilmesidir.
3. Ribozomlarda oluşan mutasyonlar sonucu ribozomal hedeflerde değişiklik oluşabilir (11, 14, 63).

### 2.5.1.4. Tetrasiklinlere Karşı Direnç Mekanizmaları

Tetrasiklinler naftasenkarboksamid türevi yapılardır. Yapılarında dört halka içerdiklerinden tetrasiklin adını almışlardır. Hepsinde ortak olarak karboksamid yapısı vardır.

Bakteriyostatik etkisi, bakteri hücreesindeki ribozomların 30S alt ünitelerine geri dönüşümlü bir şekilde bağlanarak, protein sentezini inhibe eder. Bu bağlanma sonucu, tRNA-aminoasit kompleksinin, ribozom-mRNA kompleksiyle birleşmesi engellenir. Böylece protein sentezinde peptid zincirine yeni aminoasitlerin eklenmesi önlenmiş olur (30).

*A. baumannii*'de yaygın olan tetrasiklin direncinde iki farklı mekanizma bilinmektedir:

1. TetA ve TetB spesifik transpozon aracılı efluks pompaları
2. Ribozomal koruyucu proteinler, ribozomları tetrasiklinin etkisinden korur.

### 2.5.1.5. Tigesiklin Direnci

Tetrasiklin grubundan bir glisilsiklin olan tigesiklin, monosiklinin sentetik bir türevidir. Tigesiklin protein sentezini ribozom düzeyinde inhibe ederek etki gösterir. Tigesiklin de tetrasiklinlerin ribozomlardaki bağlanma noktasına bağlanmaktadır. Tigesiklin bu bağlanma bölgesine tetrasiklinden 5 kat daha kuvvetli bağlanır. Bu kuvvetli bağlanma sayesinde tetrasiklinlere karşı geliştirilen ribozomal korunmadan tigesiklin etkilenmemektedir. Glisilsiklinleri, efluks pompası ile hücreden dışarı atmadığı için tigesiklin bu direnç mekanizmasının da üstesinden gelmektedir (18, 24).

### 2.6. *Acinetobacter* Enfeksiyonlarının Tedavisi

Ciddi nozokomiyal *Acinetobacter* enfeksiyonlarının, özellikle yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların tedavisinde güvenilir ve etkili antibiyotik seçeneği çok kısıtlıdır. Duyarlı *Acinetobacter* izolatlarının tedavisinde genellikle geniş spektrumlu sefalosporinler,  $\beta$ -laktam- $\beta$ -laktamaz inhibitör kombinasyonları, karbapenem grubu antibiyotikler ve kombinasyon içinde veya tek başına aminoglikozidler kullanılmaktadır (11).

Çoklu ilaç direnci olan *Acinetobacter* izolatlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde seçilecek antibiyotikler sınırlıdır; aktivitesi en iyi olan antibiyotikler polimiksinlerdir (polimiksin B ve polimiksin E). Tigesiklin bazı ÇİD *A. baumannii* izolatlarına karşı in vitro ve klinik olarak aktif olan yeni geliştirilmiş glisilsiklin yapılı bir antibiyotiktir, fakat son zamanlarda tigesikline karşı da direnç geliştiği bildirilmiştir (11).

#### 2.6.1. Beta-Laktamaz İnhibitörleri ile Kombine Antibiyotikler

*Acinetobacter* enfeksiyonlarında sulbaktam ve tazobaktam etkilidir (27). Sulbaktamın, *Acinetobacter* türleri üzerine bakterisidal etkisi vardır. Beta laktam antibiyotiklerle kombine edilmiş sulbaktam (ampisilin+sulbaktam, sefoperazon+sulbaktam) tedavide etkili bir seçenektir (113).

*Acinetobacter* tedavisinde ampisilin/sulbaktama duyarlılık oranının ampisilinden daha fazla olması ve bu kombinasyonun diğer beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör

kombinasyonlarından daha etkili olmasının nedeni sulbaktamın in vitro olarak kanıtlanmış içsel antimikrobiyal etkisine bağlanmaktadır (63).

### **2.6.2. Penisilinler**

Karboksipenisilin ve üreidopenisilin yapısındaki bu antibiyotiklerin gram negatif basiller üzerine etkinliği aminopenisilinlerden daha fazladır. Tikarsilin ile karbenisilinin etkisi benzerdir, fakat tikarsilinin etkin dozu daha düşüktür. Bu antibiyotikler bakterinin hücre duvar sentezinin son basamağını inhibe ederek etki gösterirler (115).

### **2.6.3. Sefalosporinler**

Sefalosporinler gram negatiflerde penisilinlerden daha etkilidirler. Bu grupta yer alan antibiyotikler, PBP'lere bağlanarak hücre duvar sentezini bozar ve dozdan bağımsız olarak bakterisidal etki gösterirler. Sefalosporinler dört kuşak altında sınıflandırılırlar. Birinci kuşaktan dördüncü kuşağa uzandıkça gram negatif bakterilere karşı etkinlik artmaktadır. Özellikle üçüncü kuşak sefalosporinlerden, sefaperazon ile sulbaktam kombinasyonu, seftazidim ve dördüncü kuşak sefalosporinlerden sefepim *Acinetobacter* enfeksiyonlarında çok etkilidir (115).

### **2.6.4. Karbapenemler**

Karbapenemler önemli ve geniş spektrumlu antibiyotiklerdendir ve birkaç istisna dışında neredeyse bütün bakteri gruplarına etkilidir. Bu grubun içerisinde imipenem, doripenem, meropenem ve ertapenem bulunmaktadır (71). Karbapenemler ÇİD *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan güncel antibiyotiklerdir (73). Bununla birlikte karbapenem direnci giderek artan oranlarda bildirilmekte ve günümüzün önemli bir sorunu haline gelmiştir. *Acinetobacter* türlerinde karbapenem direncine yol açan en önemli faktör, dış membran geçirgenliğinin azalması ve Amp C beta-laktamaz üretmeleridir (71).

### 2.6.5. Kinolonlar

Kinolonlar en yaygın kullanılan antibiyotiklerdendir. Bakteride DNA replikasyonu ve tamiri için gereken DNA topoizomeraz tip-2 (giraz) veya topoizomeraz IV enzimlerini inhibe ederek etki göstermektedirler (71). Kinolon türü antibiyotikler geniş spektrumlu olup hem toplum kökenli enfeksiyonlarda hem de hastane kökenli enfeksiyonlarda kullanılmaktadırlar. Ancak yoğun kullanım sonucu bu ajanlara karşı hızla direnç gelişmektedir (71).

Kinolon grubu antibiyotiklere karşı direnç, antibiyotiğin hedef enzimlerindeki mutasyonlara, geçirgenlikte azalmaya veya antibiyotiğin aktif atımına bağlıdır. Bu mekanizmaların tümü kromozom kontrolündedir (86).

Dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonlarında siprofloksasin kombine tedavide sıklıkla kullanılan bir antibiyotiktir (86).

### 2.6.6. Aminoglikozidler

Aminoglikozid antibiyotikler bakteri dış membranı, hücre duvarı ve sitoplazma zarını geçip sitoplazmada 30S ribozomal proteinlere geri dönüşümsüz bağlanarak protein sentezini inhibe ederler.

Ribozomal proteinlere bu bağlanma mRNA'nın ribozomdan erken ayrılmasına yol açar ve bunun iki farklı sonucu gelişir;

- mRNA yanlış okunacağı için anormal proteinler sentezlenir ve protein sentezi kesilir.
- Aminoglikozidler ribozomlara geri dönüşümsüz bağlandıkları için bakterisidal etkilidir ve *Acinetobacter* türlerine bağlı ciddi enfeksiyonların tedavisinde çoğunlukla kullanılabilirler (71).

### 2.6.7. Tigesiklin

Tigesiklin, tetrasiklinler ile aynı şekilde protein sentezini inhibe eder. Tigesiklinin ribozoma bağlanma afinitesi tetrasiklinlerden daha yüksektir ve hücreden atım ve enzimatik modifikasyon mekanizmalarından daha az etkilenir (71). Tigesiklin *A. baumannii*'de tetrasiklin direncinden sorumlu tet(A-E) pompalarından etkilenmediği için tetrasiklinlerden daha etkilidir (108). Tigesiklin, geri dönüşümlü

olarak 30S ribozomal alt birimine bağlanır ve protein sentezini inhibe eder. Bağlanma noktası tetrasiklinlerden farklı olduğu için tet(M) proteininden etkilenmez ve tetrasiklinden beş kat daha güçlü olarak bağlanır (24).

## 2.7. Polimiksinler

Polimiksinler 1947 yılında bulunan bir antibiyotik grubu olup, bu grupta polimiksin A, B, C, D ve E olmak üzere beş farklı kimyasal bileşik yer almaktadır. Klinikte kullanılan polimiksin grubu antibiyotikler polimiksin B ve polimiksin E (kolistin)'dir.

Polimiksinler, polipeptid katyonik yapıda olan antibiyotiklerdir. Bu grubun toksik potansiyelleri nedeni ile yerlerine kullanılabilecek daha düşük toksisiteli ve etkili yeni antibiyotiklerin bulunmasından sonra klinik kullanımları bırakılmıştır. Ancak son yıllarda çoklu ilaç direnci gösteren gram negatif bakteri suşlarının ortaya çıkması ve bu suşların karbapenemler dahil birçok antibiyotiğe dirençli iken kolistin ve polimiksin B'ye direnç oranlarının çok düşük düzeylerde olması nedeniyle polimiksinler tekrar tedavi seçeneği olarak gündeme gelmiştir (2).

Polimiksin B ve polimiksin E arasında tek bir aminoasit farkı vardır. Polimiksinin B'nin etki spektrumu kolistine benzerdir. Diğer tüm antibiyotik gruplara dirençli olan ÇİD *Acinetobacter* izolatları polimiksin B'ye intrensek olarak duyarlıdır (2).

### 2.7.1. Polimiksin B

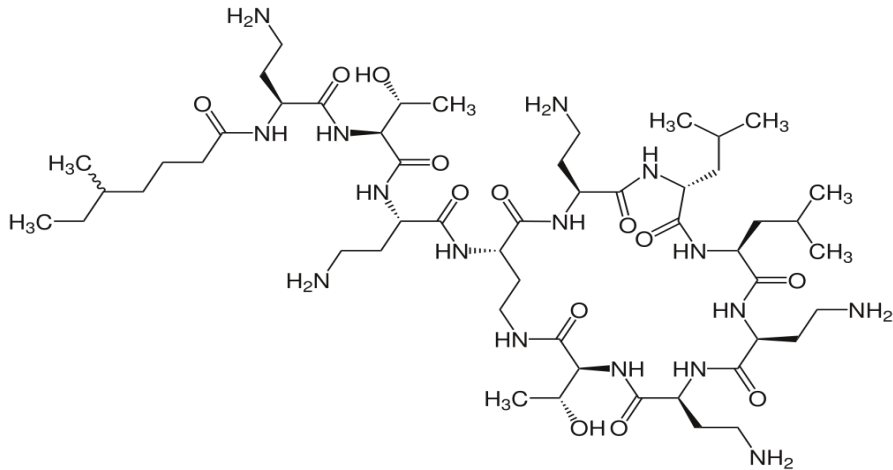
Polimiksin B'nin gram pozitif bakterilere karşı etkinliği yoktur, ama gram negatif bakterilere karşı farklı düzeylerde etkilidir. Polimiksin B'nin etki spektrumu kolistine benzerdir (54). Diğer tüm antibiyotik gruplara dirençli olan ÇİD *P. aeruginosa* ve ÇİD *Acinetobacter* izolatları polimiksin B'ye intrensek olarak duyarlıdır (117).



## 2.7.2. Polimiksin E (Kolistin)

### 2.7.2.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

Siklik katyonik peptidler olan polimiksinler, ilk kez 1947 yılında, sporlu bir toprak bakterisi olan *Bacillus polymyxa*'dan izole edilmiştir. *Bacillus polymyxa* var *colistinus*'dan elde edilen bir polimiksin E türevi olan kolistin ise Koyama tarafından 1949 yılında Japonya'da elde edilmiştir (56). Ancak sahip olduğu toksisite ve dar etki spektrumu kullanımının sınırlı kalmasına neden olmuştur. Günümüzde kolistinin yan etkisi daha sınırlı olan iki ticari formu mevcuttur (3, 54). Bu formlardan kolistin metan sulfonat, kolistin sülfata göre daha az toksisiteye sahip olmasına rağmen antibakteriyal aktivitesinin kolistin sülfata göre 3-4 kat daha düşük olması nedeniyle rutin uygulamalarda ve klinik çalışmalarda kolistinin sülfat tuzunun tercih edilmesine neden olmuştur (74).

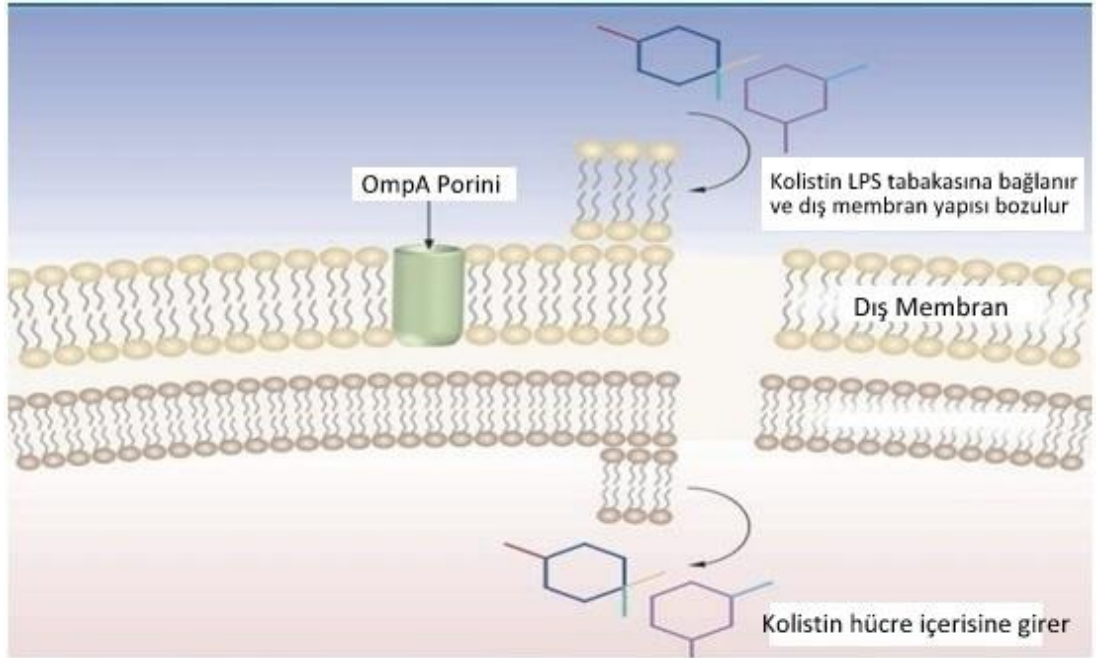


Şekil 2. Kolistin açık kimyasal yapısı (<http://en.wikipedia.org/wiki/Colistin>)

Kolistin metanosülfonatın yarılanma ömrü 124 dakika iken, kolitsinin yarılanma ömrü 251 dakikadır. Kolistin metanosülfonatın vücutta atılım yolu idrardır ve uygulama dozu intravenöz (İV) olarak her 8 saatte bir 3 milyon ünedir. Kolistinin kemiğe, plevral kaviteye, akciğer parankimine ve BOS'a geçişi zayıftır. Bununla birlikte, intratekal kolistin tedavisi ile başarıyla tedavi edilmiş, santral sinir sistemi enfeksiyonları da bildirilmiştir (2).

### 2.7.2.2. Etki Mekanizması

Polimiksinler katyonik deterjanlara benzer şekilde, hücre membranının lipid içeren kısımlarını etkileyen antibiyotiklerdir. Katyonik bir peptid olan kolistin ile gram negatif bakterilerin dış membranlarındaki anyonik lipopolisakkarid molekülleri elektrostatik etkileşime girerler ve bu durum bakteri hücre membranında düzensizliğe yol açar (2). Polimiksinler hücre zarının geçirgenliğini artırır, hücre içeriğinin dışarıya sızmasına böylece hücrenin ölümüne neden olurlar (58). Kolistin, lipopolisakkarid (LPS) moleküllerini stabil halde tutan magnezyum ve kalsiyum iyonlarının yerini değiştirerek dış membranda bozulmaya neden olur; geçirgenliğin bozulması sonuçta bakterinin ölümüne neden olur (58) (Şekil 3).



Şekil 3. Kolistin'in etki mekanizması (Expert Rev. Anti. Infect. Ther. 2012 Expert Reviews Ltd, [http://www.medscape.com/viewarticle/772588\\_6](http://www.medscape.com/viewarticle/772588_6))

Kolistin, antibakteriyel etkisine ek olarak LPS'yi nötralize ederek antiendotoksin aktivitesi de göstermektedir (2). Molekülün endotoksine tutunması sonucu, gram negatif bakterilerde bulunan LPS molekülünün bir bölümü olan lipid A ve LPS nötralize olur. Bununla beraber, kolistin'in septik şoku önlenmesindeki asıl mekanizma henüz anlaşılamamıştır (58).

Gram negatif bakterilerde kolistin parenteral bakterisidal aktiviteye sahip iken, gram pozitif bakteriler bu antibiyotiğe dirençlidir (2).

### 2.7.2.3. Direnç Mekanizması

Gram negatif bakterilerde adaptasyon yolu ya da mutasyon ile kolistine karşı direnç geliştirebilmektedir (2). Bu mekanizmalar;

- *Acinetobacter baumannii*'de ortam şartlarından etkilenen iki kompartımanlı bir sinyal sistemi olan PmrAB sistemi ile LPS tabakasının Lipit A yapısının değiştirilmesi böylece hücre zarının Mg<sup>2+</sup> ve Ca<sup>2+</sup> içeriklerine bağlı dış zar net negatif yükünün azalması
- Antibiyotiğin proteolitik olarak yıkımı
- Geniş spektrumlu dışa atım pompalarının varlığı şeklinde sıralanabilir(1).

Ayrıca kolistine heterodirenç gösteren *Acinetobacter* izolatları da rapor edilmiştir (2).

Kolistine direncin daha yavaş gelişmesinin nedeni, antibiyotiğin öldürme sürecinin, bakterinin metabolik aktivitesinden bağımsız olmasıdır. Örneğin, kolistin direnci tobramisine göre daha yavaş gelişmektedir (61).

Bir diğer önemli etken polimiksinlerin bakterisidal etkilerini çok hızlı oluşturmalarıdır. Yine kolistin dirençli *A. baumannii* suşlarının ortaya çıkışında en önemli risk faktörü olarak önceden kolistin kullanımı tanımlanmıştır (61).

Kolistin konsantrasyona bağımlı olarak etki göstermektedir (32).

Gram negatif bakterilerde mutasyon ya da adaptasyon yolu ile kolistine karşı direnç de geliştirebilmektedir. Yapılan araştırmalar duyarlı ve dirençli hale gelmiş aynı *Acinetobacter* suşlarında da belirgin morfolojik değişiklikler oluştuğunu göstermiştir (32).

2009 yılında Soon ve ark., yaptıkları bir çalışmada, kolistin duyarlı ve kolistin dirençli hale getirilmiş aynı atasal kökenden gelen *Acinetobacter* suşlarındaki morfolojik farklılıkları göstermişlerdir (99).

- Buna göre kolistin duyarlı suşlar, elektron mikroskopunda tüm üreme fazlarında çomak şeklinde ve duraklama fazında uzamış hücreler şeklinde gözlenmiş iken,
- Kolistin dirençli kökenler; erken ve orta logaritmik fazda küresel, duraklama fazında ise kok, çomak ve uzamış morfotipler bir arada olacak şekilde gözlenmiştir.

Ayrıca yine dirençli suşlarda dış yüzeyde oluklu yapıların artmış olduğu görülmüş, pililerde sayı ve uzunluk azalması saptanmış, yüzey dokularının daha incelendiği gözlemlenmiştir (99).

2010'da Gordon ve ark., yaptıkları benzer bir çalışmada kolistine maruz kalmış suşlarda, artmış şekilsel varyasyonlar, yüzeyde oyuklar, hücrelerin etrafında birikintiler ve pürtüklü bir morfoloji bildirmişlerdir (38).

*Acinetobacter baumannii*'de kolistin direnci hakkında göreceli olarak az çalışma bulunmakla beraber, kolistin-lipid A etkileşimini açıklamaya çalışan iki ana hipotez vardır (19).

Birinci hipotez; Moffat, Henry ve ark., tarafından öngörülmüş LPS kaybı hipotezidir.

Bu grup, ilk olarak lipid A biyosentez geninin inaktivasyonunu gerçekleştirmiştir. Sonuçta *lpxA*, *lpxC* ve *lpxD* üzerinden *A. baumannii*'de LPS üretiminin tamamen kaybolduğunu saptamışlardır. Bu LPS kaybına uğramış olan suşlar kolistine karşı dirençli hale gelmişlerdir (69). Araştırmacılar daha sonra *lpxA* ya da *lpxC*'de *ISAbal1* elemanının insersiyon yaptığını bulmuşlardır. Bu değişikliğin de LPS üretiminin tamamen kaybına ve yüksek düzey kolistin direncine yol açtığını belirlemişlerdir (68). LPS kaybına uğrayan kolistin dirençli *A. baumannii* suşunun hücre yüzeyinde oluşan daha az negatif yük, kolistine karşı affinite kaybının sebebi olabileceği ve kolistin bakteriyeye tutunamaz hale geldiği düşünülmektedir (41).

İkinci hipotez, 2009 yılında Adams ve ark., tarafından geliştirilen PmrAB iki bileşenli sistem ile ilişkilidir. Kolistin dirençli ve kolistin duyarlı suşlarda PmrA ve PmrB proteinlerini kodlayan genleri karşılaştıran bu çalışmacılar, *pmrA* ve *pmrB* genlerindeki mutasyonun *A. baumannii*'nin kolistin direnci ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (1).

Bu iki hipotez günümüzde en geçerli hipotezlerdir.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Bakteri İzolatları**

Bakteri izolatlarımız Mart-Ağustos 2012 döneminde Marmara Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi YBÜ'de yatan, hasta örneklerinden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen ve rutin antibiyogram testlerinde karbapenemler dahil ÇİD *Acinetobacter baumannii* olduğu saptanan kökenlerden seçildi. Çalışmaya aynı hastaya ait, tedavi altında iken izole edilen kolistin duyarlı ve dirençli kökenler seçildi. Seçilen kökenler stok koleksiyonundan alınarak, doğru tanımlama açısından kontrol edilip, çalışmada kullanılıncaya kadar, skim-milk (BioMérieux, Fransa) besiyeri içerisinde derin dondurucuda, -80°C'de saklandı.

#### **3.2. Bakteri İzolatlarının Tanımlanması**

20 hastadan izole edilen ve rutin antibiyotik duyarlılık testlerinde çoklu antibiyotik direnci saptanan toplam 107 *A. baumannii* izolatu çalışmaya alındı. İzolatların tanımlanması VITEK/MS sistemi (BioMérieux, Fransa) ile yapıldı. Kökenlerin hepsi %99.9 benzerlikle *Acinetobacter baumannii* olarak tanımlandı.

#### **3.3. Kolistin MİK Düzeyinin Saptanması**

Çoklu ilaç direncine sahip olan *A. baumannii* izolatlarında, E-Test (BioMérieux, Fransa) ile belirlenen kolistin minimum inhibitör konsantrasyonlarının (MİK) doğrulanması amacıyla sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin duyarlılıkları çalışıldı.

E-test (BioMérieux, Fransa) ile kolistine dirençli kökenleri saptanmış olan hastaların, aynı zaman dilimi içerisinde izole edilmiş kolistine duyarlı kökenleri seçilerek, bunlarda da sıvı mikrodilüsyon ile kolistin duyarlılıkları çalışıldı. Çalışmalarda, kalite kontrolü için *E.coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923 kullanıldı (22).

### 3.3.1. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

### 3.3.2. Antimikrobiyal İlaçlar

Çalışılacak ilaç, doğrudan ilaç üretici firmadan sağlandı. Bu amaca uygun hazırlanmış ilaç hammadde tozlarında;

- İlacın jenerik adı
- Seri numarası
- Potensi (genellikle her mg toz için µg ve IU olarak gösterilir)
- Son kullanım tarihi yer almaktadır.

Antimikrobiyal hammaddeler, her bir üretici firmanın önerisi doğrultusunda 4°C/-20°C’de saklandı. Desikatör, buzdolabı ya da derin dondurucudan çıkarılınca kullanılmadan önce oda sıcaklığına gelmesi sağlandı.

### 3.3.3. Antimikrobiyal Tozların Tartılması:

Üretici tarafından sağlanan hammaddenin yüzde veya µg/ml (w/w) (ağırlık/ağırlık) şeklinde ifade edilen potens değeri formüldeki yerine konularak tartılması gereken miktar hesaplandı. Antimikrobiyal tozlar kalibre edilmiş hassas terazide tartıldı.

$$Hacim (ml) = \frac{\text{ağırlık (mg)} \times \text{potens } (\mu\text{g/ml})}{\text{konsantrasyon } (\mu\text{g/ml})}$$

### 3.3.4. Stok Çözeltilerin Hazırlanması

Antimikrobiyal ilaç stok solüsyonu en az 1000 µg/ml konsantrasyonda veya test edilecek konsantrasyondan en az 10 kat fazla olacak şekilde hazırlandı(örn: 1280 µg/ml). Çözülen antimikrobiyal tozlar -20°C’de saklandı.

Antibiyotiklerin stok konsantrasyondaki çözeltileri CLSI rehberlerinde yer alan uygun sulandırıcılar kullanılarak hazırlandı (Tablo 1) (22).

Tablo 1. Kullanılan antibiyotiklerin potens ve konsantrasyon değerleri

Antibiyotik	Potens (IU/mg)	Stok derişimi	Hazırlanan MİK aralığı
Kolistin	664	2048 µg/ml	0,05-1024 µg/ml
Ampisilin-Sulbaktam	613	2048 µg/ml	0,5-1024µg/ml
Piperasilin-Tazobaktam	780	2048 µg/ml	0,5-1024µg/ml
Seftazidim	990	2048 µg/ml	0,5-1024µg/ml
Sefepim	998	2048 µg/ml	0,5-1024µg/ml
Sefotaksim	996	2048 µg/ml	0,5-1024µg/ml
Seftriakson	1000	2048 µg/ml	0,5-1024µg/ml
Meropenem	980	2048 µg/ml	0,125-512µg/ml
İmipenem	990	2048 µg/ml	0,125-512µg/ml
Amikasin	990	2048 µg/ml	0,125-512 µg/ml
Tobramisin	988	2048 µg/ml	0,5-1024µg/ml
Gentamisin	669	2048 µg/ml	0,5-1024µg/ml
Siprofloksasin	980	2048 µg/ml	0,5-1024µg/ml
Trimetoprim-Sülfametaksazol	788	2048 µg/ml	0,5-1024 µg/ml

### 3.3.5. Duyarlılık Testlerinde Kullanılacak Besiyerinin Hazırlanması

Kolay izole edilen ve hızlı üreyen ve fakültatif anaerop mikroorganizmalar için yapılacak antibiyotik duyarlılık testlerinde doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar için katyon ayarlı Mueller-Hinton sıvı besiyeri (KAMHB) önerilmektedir. (22). Ticari olarak satılan KAMHB (Biolife, İtalya) sıvı mikrodilüsyon duyarlılık testlerinde kullanıldı.

### 3.3.6. Dilüsyon Testleri İçin İnokulumun Hazırlanması

İnokulumun yoğunluğunun standardizasyonu için McFarland 0.5 standardına ( $1 \times 10^8$  KOB/ml) eşit BaSO<sub>4</sub> bulanıklık standardı veya onun optik eşdegeri kullanıldı.

#### Doğrudan koloni süspansiyon yöntemi:

- MacConkey agar kullanıldı
- 37°C’de 18-24 saat inkübe edilmiş plaktan tek düşmüş koloniler seçildi
- Doğrudan KAMHB ile McFarland 0.5 bulanıklığı standardına ayarlandı
- İnokulum hazırlandıktan sonra en geç 15 dakika içinde sıvı besiyerinde sulandırıldı

Sulandırım sonrası yapılacak olan inokülasyon her kuyucukta bakteri yoğunluğu  $5 \times 10^5$  KOB/ ml olacak şekilde ayarlandı. Bunun için;

- Kuyucuktaki hacim 100 µl olduğundan 0.5 McFarland süspansiyonu ( $1 \times 10^8$  KOB/ ml) 1/10 dilüe edilerek  $10^7$  KOB/ ml olması sağlandı

- Bundan 5 µL 100 µl içeren kuyucuğa inoküle edildiğinde bakterinin test konsantrasyonu  $5 \times 10^5$  KOB/ ml oldu.

Sıvı mikrodilüsyon yönteminde KAMHB kullanıldı. Test 96 kuyucuklu U-tabanlı mikroplaklarda yapıldı.

Antibiyotik konsantrasyonları iki kat dilüsyon yapılacak şekilde hazırlandı;

1. Mikroplağın tüm kuyucuklarına 100 µl KAMHB konuldu.
2. Başlanmak istenilen antibiyotik konsantrasyonunun iki kat üst konsantrasyonu hazırlandı. Örneğin; 256 µg/ml'den başlaması isteniyorsa 512 µg/ml konsantrasyon hazırlandı.
3. İlk kuyucuğa 100 µl antibiyotik konuldu ve daha sonra pipetaj ile seri dilüsyonlar yapılarak istenilen konsantrasyonlar hazırlandı (en son 100 µl dışarı atıldı).
4. Her plakta bir sterilit kontrol kuyucuğu ve bir de üreme kontrol kuyucuğu bulunduruldu.

### **3.3.8. Hazırlanan Mikroplaklara Bakteri İnokülasyonu**

McFarland 0.5 standart bulanıklığında hazırlanan inokulum steril, taze besiyeri ile 1:10 dilüe edildikten sonra 96 kuyucuklu mikroplakta, sterilit kontrol kuyucuğu hariç diğer tüm kuyucuklara 5 µl olarak dağıtıldı.

- ✓ İnokulum miktarının kuyucuktaki toplam hacmin %10'undan fazla olmamasına dikkat edildi.
- ✓ Kurumayı önlemek için mikroplaklar kapakları kapatılarak 37°C'de inkübasyona bırakıldı.



### 3.4. İzolatların Klonal İlişkisinin Saptanması

Çalışmaya alınan *A. baumannii* izolatları arasındaki genetik yakınlığın belirlenmesi için, REP-PCR yöntemi kullanıldı. Bu yaklaşımda, MacConkey agara iki kez ardışık pasajları yapılarak elde edilen saf koloniler, dört aşamalı yöntem kullanılarak genotiplendirildi.

İlk basamakta, tüm suşlardan genomik DNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen DNA özütlerine REP-PCR yapıldı. REP-PCR amplifikasyonu sonrasında elde edilen bant profilleri jel elektroforezi ile değerlendirilerek, izolatların klonal yakınlığı saptandı (95). Aynı hastaya ait kolistine duyarlı ve dirençli olduğu belirlenen *A. baumannii* kökenleri REP-PCR ile genotiplendirilerek klonal ilişkileri analiz edildi.

#### 3.4.1. Bakteri DNA İzolasyonu

Bakteri izolatlarına ait genomik DNA kaynatma metodu ile izole edildi. Bu amaçla, MacConkey agarda 37°C’de gecelik inkübasyon sonrasında üreyen tek bir koloni alınarak, 100 µl steril distile su içeren mikrotüp içinde süspanse edildi. Önceden 95°C’ye ısıtılmış ısı bloğunda 15 dakika bekletildi. Mikrotüp daha sonra 10.000 rpm devirde 1 dakika santrifüjlendi. Elde edilen DNA miktarı ve kalitesi, jel elektroforezi ile kontrol edildi. Genomik DNA içeren üst sıvı başka bir mikrotüpe alınarak kullanacağı zamana dek -20°C’de saklandı.

#### 3.4.2. REP-PCR

REP-PCR için aşağıdaki basamaklar izlendi;

1. Temiz odada PCR master karışımı hazırlandı. PCR mikrotüplerinin herbirinin içerisine;
  - 5 µl 10x konsantrasyonda PCR tamponu (Fermentas),
  - 0,25 µL taq polimeraz (Fermentas),
  - 200 µM (5 µl) dNTP karışımı(Fermentas),
  - 0,5 µl forward primer (100 pmol) (IDT),
  - 0,5 µl reverse primer (100 pmol) (IDT),
  - 4 µl PCR grade su,
  - 2,5 µl DMSO (Sigma)

2. REP-PCR primerlerin nükleotid dizilimleri:
  - REP-1 5'- III GCG CCG ICA TCA GGC -3'
  - REP-2 5'-ACG TCT TAT CAG GCC TAC -3'
3. İçerisinde PCR master karışımı bulunan mikrotüplere 5µl bakteri DNA'sı eklendi.
4. Termal döngü cihazında REP-PCR reaksiyonu için aşağıdaki döngüler ayarlandı;
  - başlangıç denatürasyonu 94°C'de 2 dakika,
  - 94°C'de 1 dakika, 40°C'de 1 dakika ve 65°C'de 8 dakikadan oluşan 30 döngü PCR,
  - son uzama fazı 65°C'de 16 dakika olarak gerçekleştirildi.
5. Elde edilen PCR ürünleri aynı hastalara ait izolatlar yanyana gelecek şekilde, 20 µl EtBr içeren 100 ml, %1.5 luk agaroz jelde 85 volt altında, 2 saat jel elektroforezine alındı ve daha sonra UV tablada fotoğraflandı.

PCR ürünlerinin jel elektroforezi sonucu oluşturdukları bant profilleri incelenerek, çıplak gözle ve web tabanlı TotalLab Quant (<http://http://www.totallab.com/download/tlquant/>) yazılımı ile klonal ilişki analizi yapıldı. Oluşan bant profillerinde, birbiriyle tamamen aynı profili veya 1 bant farklı profili gösteren kökenlerin aynı klonda, 2 ve üzeri sayıda farklı bant profili sergileyen kökenlerin ise farklı klonda yer aldığı kabul edildi (95).

### **3.5. Aynı Klona ait Kolistin Dirençli ve Kolistin Duyarlı Kökenlerin Diğer Antibiyotiklere Karşı Duyarlılıklarının Saptanması**

Klonal olarak ilişkili olduğu saptanan kökenlerin, imipenem, meropenem, seftazidim, sefepim, piperasilin, piperasilin-tazobaktam, seftriakson, sefotaksim, ampisilin-sulbaktam, siprofloksasin, levofloksasin, gentamisin, amikasin, tobramisin, trimetoprim-sülfametaksazol'e karşı antibiyotik duyarlılık profili, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi ve CLSI kriterlerine göre değerlendirildi (22).

Her antibiyotik için CLSI'de belirtilen referans ATCC kökeni (*e. coli* 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* 25923) kullanılarak sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile MİK belirlendi.

Sıvı mikrodilüsyon sonuçları CLSI kılavuzunda yer aldığı şekilde 16-20 saat inkübasyon sonrası okunarak elde edilen MİK değerleri, CLSI'nın belirttiği ölçütler doğrultusunda değerlendirildi (22). Tüm deneyler en az üç kez tekrarlandı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. *Acinetobacter baumannii* Kökenlerinin Kolistin MİK Değerleri

Çalışmaya alınan 57 *A. baumannii* kökeninin kolistin için sıvı mikrodilüsyon duyarlılık testi sonuçları Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. *A. baumannii* Kökenlerinin Kolistin MİK değerleri

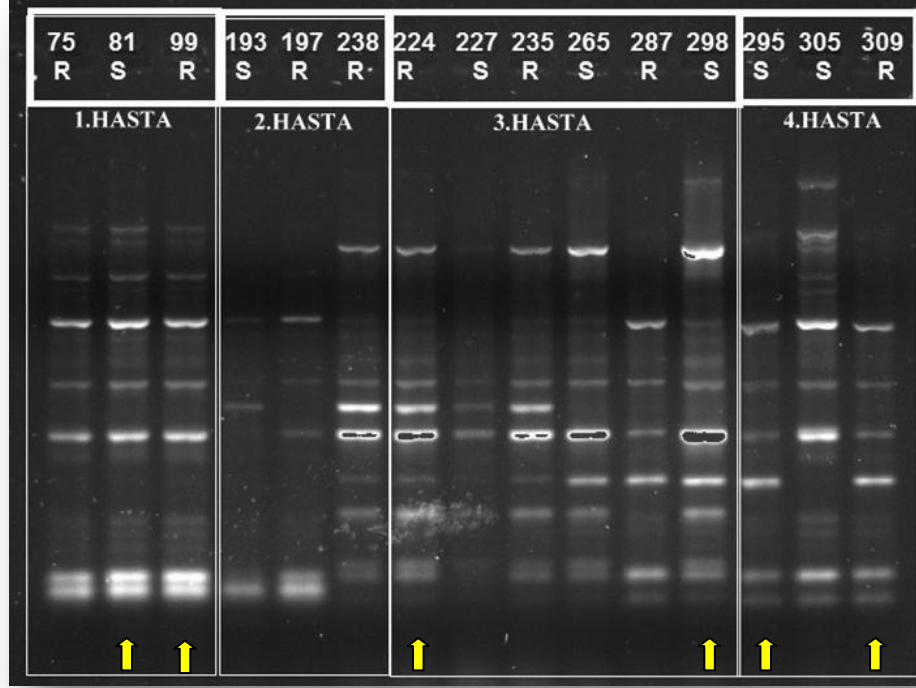
	İZOLAT NO	MİK (µg/mL)		İZOLAT NO	MİK (µg/mL)		İZOLAT NO	MİK (µg/mL)
1	DN 73	1	20	DN 347	8	39	DN 305	2
2	DN 83	2	21	DN 348	4	40	DN 309	8
3	DN 57	8	22	DN 358	4	41	DN 277	4
4	DN 52	8	23	DN 70	8	42	DN 280	2
5	DN 75	4	24	DN 167	16	43	DN 292	8
6	DN 81	2	25	DN 178	1	44	DN 299	8
7	DN 99	16	26	DN 198	4	45	DN 294	4
8	DN 259	2	27	DN 514	4	46	DN 600	>128
9	DN 296	1	28	DN 515	4	47	DN 276	8
10	DN 193	2	29	DN 524	2	48	DN 350	4
11	DN 197	8	30	DN 224	32	49	DN 570	>128
12	DN 238	4	31	DN 227	2	50	DN 571	1
13	DN 236	8	32	DN 235	8	51	DN 226	8
14	DN 241	4	33	DN 265	2	52	DN 229	4
15	DN 247	4	34	DN 287	4	53	DN 232	4
16	DN 248	2	35	DN 298	1	54	DN 234	8
17	DN 225	4	36	DN 315	2	55	DN 267	4
18	DN 279	4	37	DN 319	1	56	DN 293	4
19	DN 284	2	38	DN 295	2	57	DN 307	8

Kolistin Mik değerleri, Duyarlı: ≤2µg/mL; Dirençli: ≥4µg/mL (CLSI 2014)

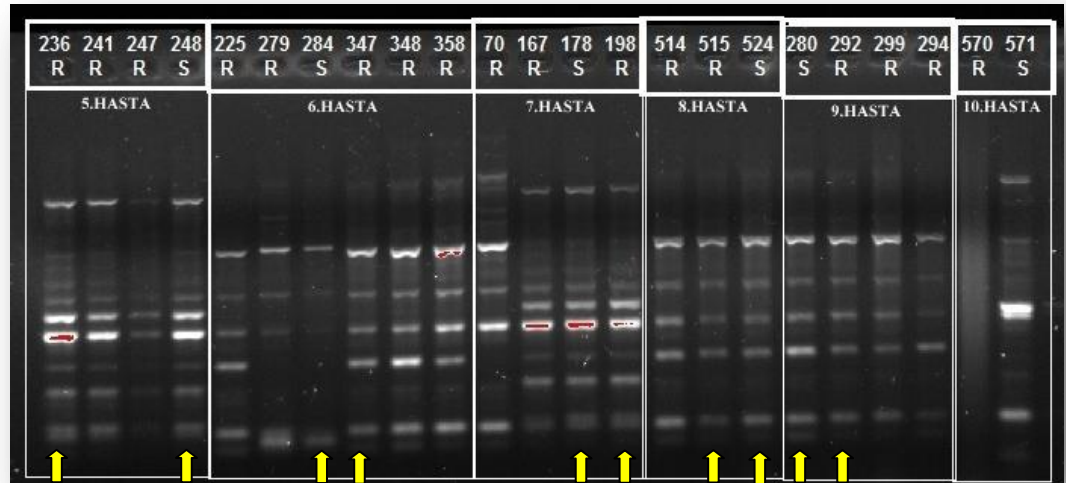
Kolistin Dirençli Kökenler Sarı Renk ile İşaretlenmiştir.

## 4.2. İzolatların Klonal İlişkisinin Saptanması

Kolistin MİK değerleri doğrultusunda çalışmaya alınan kökenlerin akrabalık ilişkileri REP-PCR ile değerlendirildi (Resim 1 ve Resim 2).



Resim 1. İlk onbeş kökenin REP-PCR jel elektroferez görüntüsü (R:Kolistin Dirençli Kökenler - S:Kolistin Duyarlı Kökenler. Aynı klondan olan kökenler sarı oklarla gösterilmiştir.)



Resim 2. Diğer yirmi üç kökenin Rep-PCR jel elektroferez görüntüsü (R:Kolistin dirençli kökenler - S:Kolistin duyarlı kökenler. Aynı klondan olan kökenler sarı oklarla gösterilmiştir.)

REP-PCR jel görüntüleri değerlendirildiğinde;

- 1.hastanın, bütün kökenlerinin bant patrenleri farksız benzerliktedir (aynı klon). Diğer antibiyotiklerin MİK'lerini çalışmak için 81-S ve 99-R kökenleri seçildi.
- 2.hastanın, kökenleri arasında benzerlik gözlenemedi, bu hastanın hiçbir kökeni diğer antibiyotikler açısından değerlendirmeye alınmadı.
- 3.hastanın, 224-R ile 235-R kökenleri farksız benzerlikte (aynı klon), 265-S ve 298-S kökenleri bir bant farklılığı ile benzer, 227-S ve 287-R ise bu kökenlerden farklı klondan olarak sınıflandırıldı. Diğer antibiyotiklerin MİK'lerini çalışmak için 224-R ve 298-R kökenleri seçildi.
- 4.hastanın, 295-S ve 309-R kökenleri farksız benzerlikte (aynı klon), 305-S kökeni ise farklı klondan olarak sınıflandırıldı. Diğer antibiyotiklerin MİK'lerini çalışmak için 295-S ve 309-R kökenleri seçildi.
- 5.hastanın, 236-R, 241-R ve 248-S farksız benzerlikte (aynı klon), 247-R ise farklı klondan olarak sınıflandırıldı. Diğer antibiyotiklerin MİK'lerini çalışmak için 236-R ve 248-S kökenleri seçildi.
- 6.hastanın, 347-R, 348-R, 358-R farksız benzerlikte (aynı klon), 284-S, 279-R, 225-R benzer olarak sınıflandırıldı. Diğer antibiyotiklerin MİK'lerini çalışmak için 284-S ve 347-R kökenleri seçildi.
- 7.hastanın, 167-R, 178-S, 198-R farksız benzerlikte (aynı klon), 70-R ise farklı klondan olarak sınıflandırıldı. Diğer antibiyotiklerin MİK'lerini çalışmak için 178-S ve 198-R kökenleri seçildi.
- 8.hastanın, 514-R, 515-R, 524-S kökenleri farksız benzerlikte (aynı klon), aynı klondan olarak sınıflandırıldı. Diğer antibiyotiklerin MİK'lerini çalışmak için 515-R ve 524-S kökenleri seçildi.
- 9.hastanın, 280-S ve 292-R farksız benzerlikte (aynı klon), 299-R ve 294-R ise benzer klondan olarak sınıflandırıldı. Diğer antibiyotiklerin MİK'lerini çalışmak için 280-S ve 292-R kökenleri seçildi.
- 10.hastanın, 570-R kökeni jel üzerinde kayma gösterdiği ve bantlar belirli olmadığı için çalışmaya alınmadı.

#### 4.4. Aynı Klondan Olan Kökenlerin Antibiyotik Duyarlılık Profilleri

REP-PCR sonucunda aynı klondan olduğu belirlenen kolistin duyarlı ve dirençli kökenlerin diğer antibiyotikler açısından duyarlılık değişimlerini incelemek için kullanılan MİK aralıkları Tablo 3’de gösterilmiştir (22).

Tablo 3. *Acinetobacter* spp. Antibiyogramında kullanılan MİK sınır değerleri(CLSI 2014)

Antibiyotik	MİK Değerleri (µg/mL)		
	S	I	R
Ampisilin-Sulbaktam	≤8/4	16	≥32/16
Piperasilin-Tazobaktam	≤16/4	32/4-64/4	≥128/4
Sefepim	≤8	16	≥32
Seftazidim	≤8	16	≥32
Sefotaksim	≤8	16-32	≥64
Seftriakson	≤8	16-32	≥64
İmipenem	≤2	4	≥8
Meropenem	≤2	4	≥8
Kolistin	≤2	-	≥4
Gentamisin	≤4	8	≥16
Tobramisin	≤4	8	≥16
Amikasin	≤16	32	≥64
Siprofloksasin	≤1	2	≥4
Trimetoprim-Sülfametaksazol	≤2/38	-	≥4/76

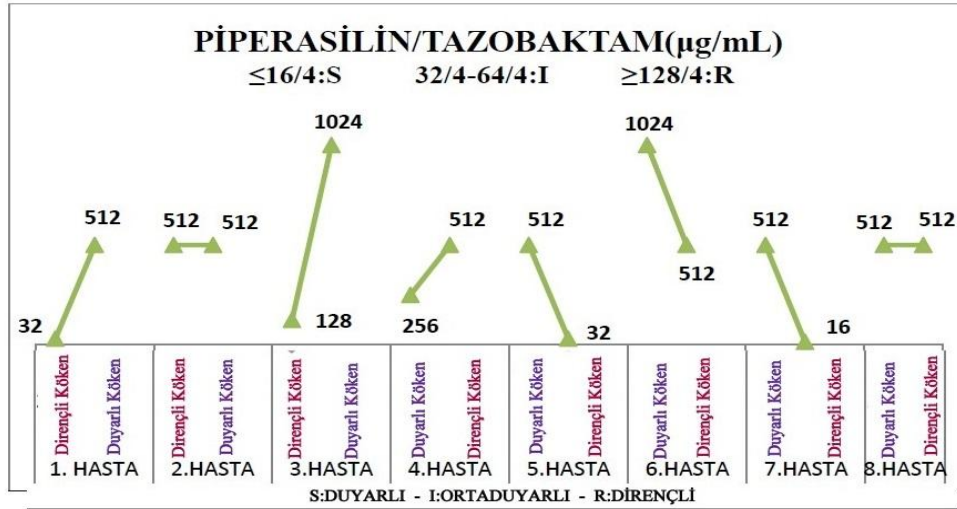
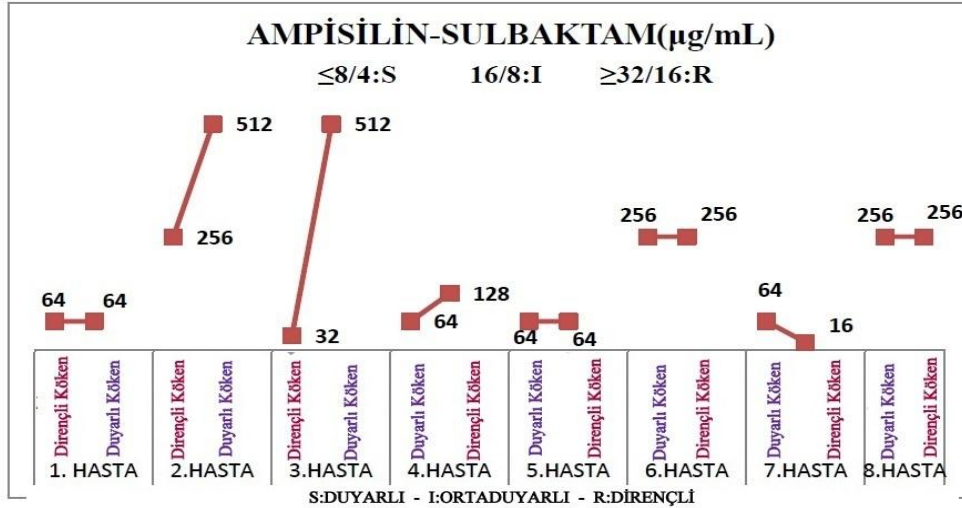
S: Duyarlı I: Orta duyarlı R: Dirençli

Çalışmaya alınan kolistin duyarlı ve dirençli *A.baumannii* kökenlerinin kolistin dışındaki diğer antibiyotikler için saptanan MİK değişimlerini gösteren grafikler aşağıda yer almaktadır.

Tablo 4. Aynı klondan olan dirençli ve duyarlı kökenlerin tüm antibiyotiklere MİK ( $\mu\text{g/mL}$ ) değerleri

Antibiyotikler	1. Hasta		2. Hasta		3. Hasta		4. Hasta		5. Hasta		6. Hasta		7. Hasta		8. Hasta	
Kolistin	8	2	4	2	32	1	2	8	1	4	2	8	2	16	2	8
Ampisilin-Sulbaktam	64	64	256	512	32	512	64	128	64	64	256	256	64	16	256	256
Piperasilin-Tazobaktam	32	512	512	512	128	1024	256	512	512	32	1024	512	512	16	512	512
Seftazidim	>1024	32	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	16	>1024	>1024	>1024	128	>1024	>1024
Sefotaksim	128	256	1024	1024	128	1024	512	512	256	64	1024	1024	512	256	1024	1024
Sefepim	16	16	512	512	32	256	32	256	256	16	512	512	32	32	512	512
Seftriakson	128	128	1024	1024	128	512	256	1024	512	256	1024	1024	512	256	1024	>1024
Meropenem	32	32	32	16	16	32	32	32	32	32	512	32	16	32	32	32
İmipenem	64	64	32	32	32	64	32	32	64	32	32	32	32	16	64	32
Amikasin	64	64	64	64	1	32	128	64	16	2	64	32	64	32	64	64
Tobramisin	1	<0,5	2	2	<0,5	2	<0,5	2	<0,5	<0,5	4	2	<0,5	<0,5	4	4
Gentamisin	<0,5	<0,5	32	16	<0,5	<0,5	128	64	<0,5	1	32	16	128	32	64	32
Siprofloksasin	16	16	64	64	16	32	64	64	16	16	64	64	64	64	64	64
Trimetoprim-Sülfametaksazol	32	32	1024	1024	1024	>1024	512	1024	64	64	1024	1024	1024	512	1024	1024
Sulbaktam	32	64	128	128	16	256	32	128	32	16	128	128	32	16	128	128



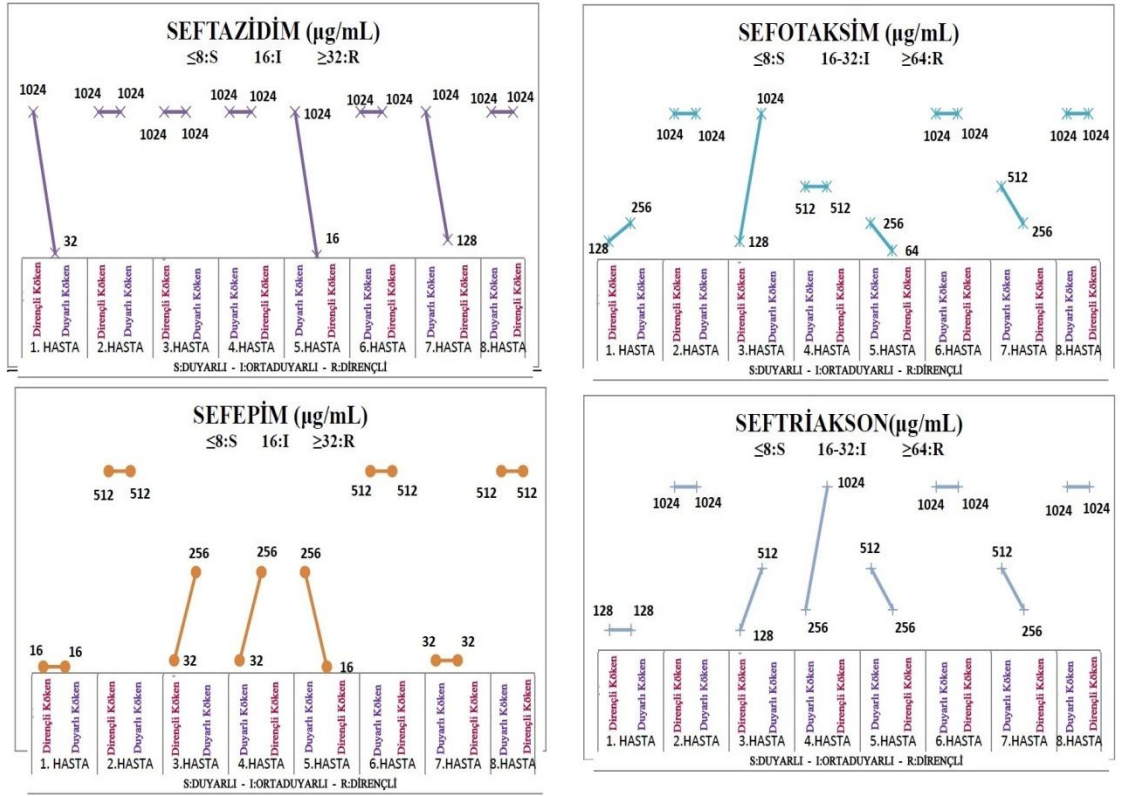


Şekil 4. Beta-laktam gurubu antibiyotiklerdeki MİK değişimi

Beta-laktam gurubu antibiyotiklerdeki MİK değişimleri incelendiğinde, 3 ve 7 numaralı hasta gruplarında MİK değişimi her iki antibiyotik içinde beklenen yönde gözlemlendi.

Kolistin dirençliden duyarlıya geçen hasta gruplarında, ampicilin-sulbaktam için 3. hastada dört dilisyonluk, Piperasilin-tazobaktamda ise 1.hastada dört, 3.hastada üç dilisyonluk MİK artışı gözlemlendi.

Kolistin duyarlıdan dirençliye geçen hasta gruplarında, ampicilin-sulbaktam kombinasyonunda anlamlı MİK azalması görülmedi. Piperasilin-tazobaktam da 5.hastada dört, 7.hastada beş dilisyonluk beklenen MİK azalması gözlemlendi.

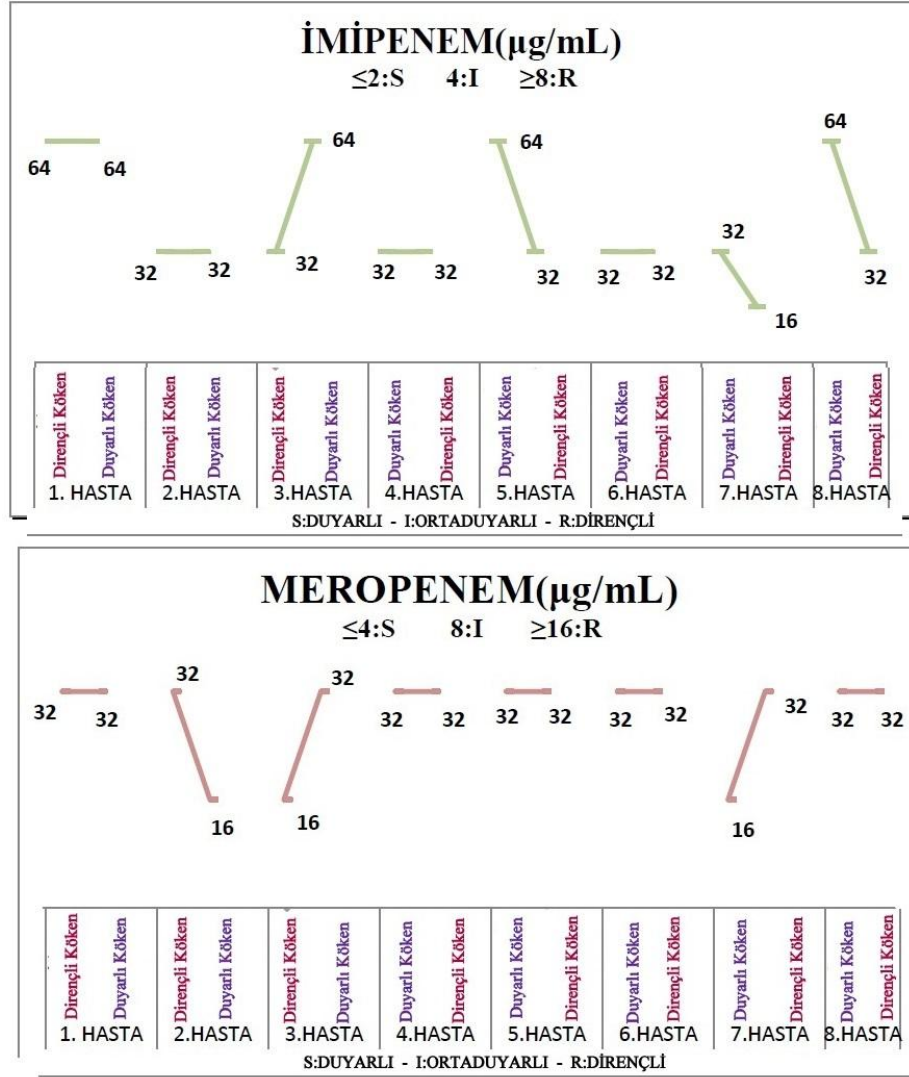


Şekil 5. Sefelasporin gurubu antibiyotiklerdeki MİK değişimi

Sefelasporin gurubu antibiyotiklerdeki MİK değişimleri incelendiğinde, 3 ve 5 numaralı hasta gruplarında MİK değişimi bu gruptaki antibiyotiklerden üçünde beklenen yönde gözlemlendi.

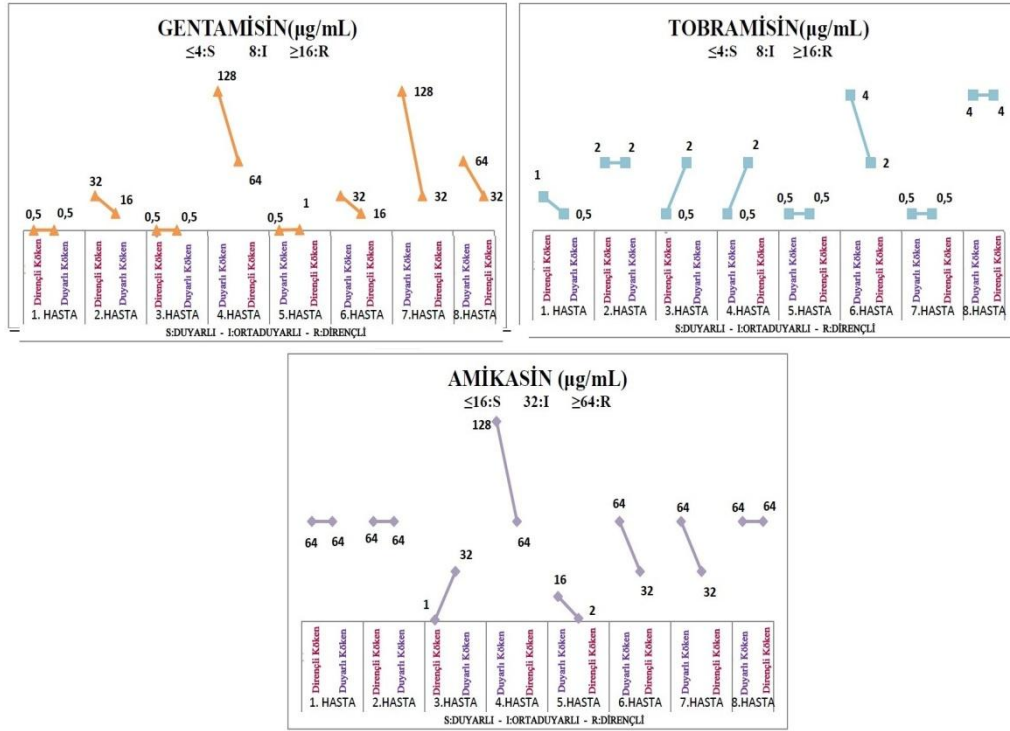
Kolistin dirençliden duyarlıya geçen hasta gruplarında, seftazidimde beklenen yönde bir MİK değişimi gözlemlenmedi. Sefotaksim ve sefepimde 3. hastada üç, seftriaksonda ise iki dilisyonluk MİK artışı gözlemlendi.

Kolistin duyarlıdan dirençliye geçen hasta gruplarında, seftazidimde 5. hastada altı, 7. hastada üç dilisyonluk MİK azalması gözlemlendi. Sefotaksim ve seftriakson da bu hasta gruplarında anlamlı bir MİK azalması görülmedi. Sefepim de 5. hastada dört dilisyonluk MİK azalması gözlemlendi.



Şekil 6. Karbapenem gurubu antibiyotiklerdeki MİK değişimi

Karbapenem gurubu antibiyotiklerdeki MİK değişimleri incelendiğinde, 3 ve 7 numaralı hasta gruplarında MİK değişimi bu gruptaki antibiyotik içinde beklenen yönde gözlemlendi ancak MİK değişiminin birer dilisyonluk olmasından dolayı anlamlı kabul edilemedi.



Şekil 7. Aminoglikozit gurubu antibiyotiklerin MİK değişimi

Aminoglikozit gurubu antibiyotiklerdeki MİK değişimleri incelendiğinde, 3 numaralı hastada MİK değişimi bu gruptaki antibiyotiklerden amikasin ve tobramisinde beklenen yönde gözlemlendi.

Kolistin dirençliden duyarlıya geçen hasta gruplarında, sadece amikasinde 3.hastada beş dilisyonluk bir artış gözlemlendi.

Kolistin duyarlıdan dirençliye geçen hasta gruplarında, gentamisin de 7.hastada beş dilisyonluk MİK azalması gözlemlendi. Tobramisinde bu hasta grubunda anlamlı olabilecek MİK azalması görülmedi. Amikasin de 5. hastada üç dilisyonluk MİK azalması gözlemlendi.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

*Acinetobacter baumannii*, tüm dünyada sık karşılaşılan bir patojen ve kontrol altına alınması zor bir hastane enfeksiyonu etkenidir.

*Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının tedavisi, bu mikroorganizmanın birçok antibiyotiğe hızla direnç kazanma yeteneğinden dolayı oldukça sorunludur. Son yirmi yıldır çoklu ilaç dirençli (ÇİD) klinik *A. baumannii* izolatları küresel ölçekte giderek artan oranlarda bildirilmektedir; bu durumun başlıca nedeni geniş spektrumlu antibiyotiklerin özellikle hastane ortamında yoğun kullanımındadır. Bugün için, ÇİD kökenler açısından en etkili antibiyotikler, başta karbapenemler olmak üzere sulbaktam ve kolistin olarak öne çıkmaktadır (81, 12).

2011 yılında yayımlanan ve çok sayıda ülkede yapılan bir çalışmada, *A. baumannii* izolatlarında imipenem direnç oranı %48.9 olarak belirtilmiştir; en yüksek direnç oranlarının görüldüğü ülkeler Türkiye, Yunanistan ve İtalya'dır (79). Türkiye'de durumu değerlendirmek için, Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı (UHESA), 2008-2009 raporu incelendiğinde, karbapenem dirençli *A. baumannii* kökenlerinin oranı, 2008 yılı için %47, 2009 yılı için ise %62.8 olarak bildirilmiştir. 2010 yılı UHESA raporunda ise bu oran %69'a yükselmiştir (79).

İstanbul'dan Iraz ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları çalışmada, klinik örneklerden elde edilen 142 *A. baumannii* izolatının antibiyotik duyarlılıkları araştırılmış; imipenem ve meropeneme dirençli kökenlerin oranının %92 olduğu saptanmıştır (39).

Benzer şekilde, Öksüz ve Gürler'in 2012 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada, ÇİD 75 *A. baumannii* kökeninde, imipenem ve meropeneme direnç oranları sırasıyla %93 ve %92 olarak bulunmuştur (83).

Bu veriler ışığında, ülkemizde karbapenemler dahil ÇİD *A. baumannii* kökenlerinin yıllar içinde giderek önemi artan bir tehdit haline geldiğini söylemek yanlış olmayacaktır.

Karbapenem gurubu antibiyotikler dahil ÇİD *A. baumannii* kökenlerinin tedavisinde polimiksin türevi bir ajan olan kolistin, elde kalan son tedavi seçenekleri arasında kabul edilmektedir. Kolistin toksisitesi nedeniyle kullanımı sınırlanmış bir ilaç olarak kabul edilmişken, son yıllarda, dirençli bakterilerin neden olduğu

enfeksiyonların giderek artması ve bu alanda kullanılabilir antibiyotiklerin az olması, bu ilacın tekrar tedavi tercihleri arasına girmesine yol açmıştır; fakat uygunsuz antibiyotik kullanımı bu ajana karşı direnç gelişimini de tetiklemektedir (39).

2012 yılında hastanemiz yoğun bakım ünitesinde yatan 210 farklı hastadan elde edilen 464 *A. baumannii* izolatının %81'i karbapenem dirençlidir. Mart - Eylül 2012 döneminde gelişen kısa süreli salgında kolistin dahil çoklu ilaç dirençli kökenler izole edilmiştir.

*A. baumannii*'de kolistin direnci ile ilgili literatür tarandığında; heterojen dirençli ilk izolatın 2006 yılında Li ve ark. tarafından saptandığı görülmektedir; daha sonra bu konudaki bildirimler artmıştır(62). 2008 yılında Hawley ve ark., kolistin heterodirencinin geçmişte uygulanan kolistin tedavisi ile ilişkili olduğunu bildirilmiştir (40).

2007 yılında Tan ve ark., uygulama stratejilerinden bağımsız olarak, kolistine maruziyet sonrası bakteride direnç gelişimini deneysel olarak göstermişlerdir (103).

2009'da Rodriguez ve ark. gerçekleştirdikleri bir olgu sunumunda kolistin tedavisi alan menenjitli bir hastanın BOS örneğinden kolistin dirençli hale gelmiş *A. baumannii* izole etmişler ve etken, kolistin + rifampisin kombinasyonu ile tedavi edildiğini bildirmişlerdir (92).

Bugün için coğrafik olarak farklı bölgelerde, kolistin direnç oranların da belirgin değişiklikler göstermektedir. 2006 yılında Souli ve ark., Atina civarındaki 17 hastaneden izole edilen *Acinetobacter* kökenlerinde kolistine karşı direnç oranını %3 olarak bildirmiştir (100). 2009'da Yau ve ark., araştırdıkları 30 *A. baumannii* izolatının, %23'ünü kolistin heterodirençli ve %3.3'ünü ise dirençli bulmuşlardır (114). 2011 yılında Tayvan ve Kuveyt'de, devlet hastanelerinde klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* suşlarında yapılan çalışmalarda kolistine karşı direnç oranları %10 ve %12 civarında saptanmıştır (55, 7). 2007'de Ko ve ark., iki Kore hastanesinden elde edilen 265 klinik izolatta çalışmış ve kolistine karşı direnç oranını %27.9 gibi oldukça yüksek bir oranda bulmuşlardır (39).

Avrupa'da 30 merkezi içeren bir çalışmada %2,7 oranında polimiksin B direnci bildirilmiştir (101). Yunanistan'da 2004-2009 yılları arasında izole edilen ÇİD *A.*

*baumannii* suşlarının büyük kısmının kolistine (%94) duyarlı olduğu bildirilmiştir (66).

2010 yılında Türkiye'den yapılan bir bildiriye, Aycengel ve Dizbay kolistin dirençli *A. baumannii* izole edilen bir olguyu raporlamışlardır(7).

Geçmişteki deneyimlere bakılarak, bu tür olguların sayısının ve kolistin direnç oranlarının giderek artacağı öngörülebilir.

2011'de İspanya'da yapılan bir olgu bildiriminde, yoğun bakımda yatan bir hastada *A.baumannii* üremesi nedeniyle kolistin tedavisi başlanmış ve daha sonrasında yapılan kültürlerde başta duyarlı olan izolatin, kolistine direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Kolistine karşı direnç gelişimine paralel olarak bu izolatin bazı antibiyotiklere karşı duyarlılığının değiştiği gözlenmiştir. Kolistin tedavisi başlamadan önce izole edilen, kolistine duyarlı, sefepim ve sulbaktama dirençli olan köken, tedavinin başlangıcından 14 gün sonra kolistine direnç geliştirirken, sefepim ve sulbaktama duyarlı hale gelmiştir (90).

*Acinetobacter baumannii* tedavisinde kullanılan ve son seçenek ilaçlardan birisi olarak kabul edilen kolistine karşıda direnç gelişebildiği kendi kökenlerimizde gösterilmiştir. Bu örnekte de görüldüğü üzere, *A. baumannii*'de kolistine direnç gelişimi ile bakteri hücre yapısında meydana gelen değişikliklerin, bakterinin farklı gruplardaki antibiyotiklere karşı duyarlılığını etkileyebileceği akla gelmektedir. Bu hipotez ile hastanemizde 8 farklı hastadan izole edilmiş 16 kökenin (8 kolistin duyarlı, 8 kolistin dirençli) sıvı mikrodilüsyon metodu ile elde edilen MİK değerleri incelendiğinde; 6 kökenin (3 hasta) kolistin dirençli profilden duyarlı profile geçtiği (1,2 ve 3 numaralı hastalar) belirlenmiştir. Bu kökenlerin antibiyotik duyarlılık profilinde, bakterinin kolistine direnç özelliğini kaybetmesinden sonra diğer antibiyotiklere duyarlılığında azalma olabileceği öngörülmüştür. Elde ettiğimiz veriler, bu kökenlerde çalıştığımız onbeş antibiyotiğin onbirine karşı duyarlılıkların azaldığını ortaya koymaktadır.

Başlangıçta duyarlı iken kolistin kullanımı ile dirençli hale geçtiği saptanan klonal ilişkili 10 kökende (5 hasta) benzer şekilde ayrıntılı antibiyotik duyarlılık profili incelemesi gerçekleştirilmiştir. Sonuçlarımız bu grupta da hipotezi destekler yönde kolistin direncinin gelişmesiyle diğer antibiyotiklere karşı olan duyarlılığın

arttığını ortaya koymuştur; çalışılan 15 antibiyotiğin onüç tanesine karşı bir duyarlılık artışı saptanmıştır.

Bugün için kolistin direncine neden olabilecek iki farklı mekanizma ileri sürülmektedir: *lpxABC* genlerindeki mutasyonlara bağlı lipidA yapısının kaybı/değişimi ve *pmrAB* sistemindeki değişiklikler. Bizim kökenlerimizdeki farklı davranışa neden olan durumun, kolistin direncinden sorumlu altta yatan mekanizma ile ilişkisi olabileceğini düşünmekteyiz.

Kolistine karşı gelişen dirençten sorumlu mekanizmalar içinde bugün için en iyi bilineni lipidA tabakasındaki değişimlerden kaynaklı ortaya çıkan dirençtir. Bu değişim sonucu, LPS'nin anyonik özelliği kaybolarak katyonik yapıdaki antibiyotik ile arasındaki elektrostatik etkileşim ortadan kalkar ve kolistin bakteriye bağlanamadığı için etkisini gösteremez. LPS'nin anyonik yapısını kaybetmesi ya bu tabakanın tamamen ortadan kalkması ile ya da *pmrAB* düzenleyici sistemin devreye girmesi ile oluşmaktadır. Sonuçta farklı mekanizmalarla oluşan LPS üzerindeki modifikasyonlar, bakterinin diğer antibiyotikler için geliştirdiği direnç mekanizmalarının kaybetmesine neden olabilir.

Kendi kökenlerimizde hangi mekanizmanın mevcut olduğuna dair bir çalışma yapmadık, ama bizim kökenlerimizde de dış membranda oluşan değişimlerden kaynaklı bir direnç olduğunu düşünüyoruz.

Aynı klondan kolistin dirençli ve duyarlı olan kökenlerde, karşılaştırmalı MİK kaymalarına bakarak, tedavide kullanılan antibiyotiklerin etkinliğinin ne yönde değiştiği gözlemlenebilmiştir. Buna karşın, kökenlerimizin MİK artış/azalış durumlarına bakarak, etkinliği değişmiş ya da en etkili hale gelmiş antibiyotikler şeklinde genel bir yorum yapmak mümkün olamamıştır. Ancak hasta bazında değerlendirme yaptığımızda iki hastaya ait kökenlerin oldukça ilgi çekici sonuçlar sergilediği görülmüştür.

Kolistin direnci ortadan kalkan 3. hastanın kökeninde, beklenen yönde bir MİK değişimi gözlenmiş fakat MİK artışının diğer hiçbir kökende olmadığı kadar belirgin olduğu izlenmiştir. Bu hastanın kökenlerinde kolistin MİK değeri 32 µg/ml'den 1 µg/ml'e düşmektedir. Bu kökende aminoglikozitlere, beta-laktam inhibitör kombinasyonlarına, sefalosporinlere ve sulbaktama anlamlı kabul edilebileceğimiz üç ve üzeri dilüsyonluk bir MİK artışı olduğu saptanmıştır. Karbapenem gurubunda



ise anlamlı bir artış gözlenmemiştir. Bu gözlemden ve diğer kökenlerde saptadığımız profillerden yola çıkarak, karbapenem grubu antibiyotiklerin LPS'deki modifikasyondan belirgin biçimde etkilenmediğini düşünmekteyiz.

Çalışmaya aldığımız kökenler kolistine direncin kaybolması ile ilişkili olarak diğer antibiyotikler açısından veri sağladığı gibi, tam tersi yönde yani kolistine direnç kazanımı (duyarlıdan dirençliye geçme durumu) için de yorum yapmamıza olanak sağlamıştır.

Kolistin duyarlıdan dirençliye geçen kökenlere baktığımızda; 5. ve 7. hastaların kökenlerinde anlamlı kabul edebileceğimiz ve beklenen yönde MİK azalmaları gözlemlenmiştir. Her 2 kökende de beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörlerinden piperasilin-tazobaktamda sırasıyla 4 ve 5 dilüsyonluk, sefelasporin grubunda yer alan seftazidimde sırasıyla üç ve dört dilüsyonluk MİK azalmaları olduğu belirlenmiştir.

Bu iki kökenin kolistin direnç durumunu kendi arasında da kıyasladığımızda, 5. hastanın kolistin MİK değerinde 2 dilüsyonluk artış var iken (1 µg/ml den 4 µg/ml'ye değişim), 7. hastanın kolistin MİK değerinde ise 3 dilüsyonluk artış (2 µg/ml den 16 µg/ml'ye değişim) saptanmıştır. Bu MİK artışının diğer antibiyotikler açısından nasıl bir sonuç oluşturduğuna baktığımız zaman, iki dilüsyonluk artış gözlenen 5. hastanın kökenlerindeki MİK değişiminin, üç dilüsyonluk MİK artışı gösteren 7. hastaninkinden daha belirgin olduğu gözlemlendi.

Bizim kökenlerimizdeki farklı davranışa neden olan durumun, kolistin direncinden sorumlu altta yatan mekanizma ile ilişkisi olabilir. Kolistine direnç gelişimi sonucu bakteride LPS tabakasının kaybolması ya da incilmesi ile diğer antibiyotiklerin membranı geçişinin kolaylaşmış olabileceği; dolayısıyla bakteri üzerinde daha etkili oldukları düşünülebilir. Çalışma izolatlarımızda kolistin direncine neden olan mekanizmaların aydınlatılması ve bu bilginin elde ettiğimiz duyarlılık verileri ile birlikte değerlendirilmesi bu konuda yeni bir ufuk açabilir. Literatürde bu şekilde direnç değişimi ile ilgili yapılan çalışmaların çok sınırlı olması nedeniyle, bu çalışmanın benzer kökenlerde yapılacak daha geniş çaplı araştırmalar için bir ilk basamak oluşturacağına inanıyoruz.

## 6.KAYNAKLAR

1. Adams M D, Nickel G C, Bajaksouzian S, et al. Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the PmrAB two component system. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53: 3628–3634.
2. Akalın H. Kolistin. *ANKEM Derg.* 2007; 21:26-28.
3. Akalın H. Yoğun Bakım Ünitesinde Antibiyotik Direncini Azaltma ve Önleme. *ANKEM Derg.* 2009; 23: 157-161.
4. Akalın H. Çoğul dirençli Gram negatif bakteriler içinde: Doğanay M, Ünal S (editörler). *Hastane infeksiyonları 1. baskı.* Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2003, s.269–89.
5. Akan Ö, Uysal S. Çoklu dirençli *Acinetobacter baumannii* ve karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında tigesiklinin in vitro etkinlik durumu. *Mikrobiyol Bült.* 2008; 2: 209-215.
6. Al-Sweih N A, Al-Hubail M A., Rotimi V O. Emergence of tigecycline and colistin resistance in *Acinetobacter* species isolated from patients in Kuwait hospitals. *J. Chemother.* 2011; 23:13-16.
7. Aygencel G, Dizbay M, Çiftçi A, Türkoğlu M. Ventilatör-ilişkili pnömoniden izole edilen kolistin dirençli *Acinetobacter baumannii*: Türkiye'den Bir Olgu Sunumu. *Yoğun Bakım Dergisi.* 2010. 9: 164-167
8. Azap Ö. MDR-*Acinetobacter* İnfeksiyonlarında Epidemiyolojik Anlamda Güncel Durum. *ANKEM Derg.* 2012; 26: 283-286.
9. Başustaoğlu A, Özyurt M. Nozokomiyal patojen olarak *Acinetobacter*'lerin mikrobiyolojik, klinik ve epidemiyolojik özellikleri. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi.* 1998; 2: 88-93.
10. Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY. A study of the *Moraxella* group II. Oxidative-negative Species (Genus *Acinetobacter*). *J Bacteriol,* 1968; 95: 1520–1541.
11. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev,* 1996; 9: 148-165.

12. Berlau J, Aucken H, Malnick H, Pitt T. Distribution of *Acinetobacter* species on skin of healthy humans. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1999; 18:179-183
13. Berlau J, Aucken H M, Houang E, Pitt T L. Isolation of *Acinetobacter* spp. including *baumannii* from vegetables: implication for hospital acquired infections. *J Hosp Infect*, 1999; 42: 201-204
14. Bonomo A R, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis*. 2006; 43: 49-56.
15. Bou G, Cervero G, Dominguez, M A, et al. PCR-based DNA fingerprinting (REP-PCR, AP-PCR) and pulsed-field gel electrophoresis characterization of a nosocomial outbreak caused by imipenem and meropenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect*. 2000; 6: 635–643.
16. Bouvet P J, Jeanjean S. Delineation of new proteolytic genomic species in the genus *Acinetobacter*. *Res Microbiol*, 1989; 140 : 291-299.
17. Bouvet P J M, Grimont P A D. Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov. and emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. *International Journal Of Systematic Bacteriology*.1986;36: 228-240.
18. Bradford P A. Tigecycline: a first class glycylcycline. *Clin Microbiol Newsletter*, 2004; 26: 163- 168
19. Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2012; 67:1607-1615.
20. Chaiwarith R, Mahatthanaphak S, Boonchoo M, Supparatpinyo K, Sirisanthana T. Pandrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* at Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital. *J Infect Dis Antimicrob Agents*. 2005; 22:2-8.
21. Chu Y W, Leung C M, Houang E T, Ng K C, Leung C B, Leung H Y, Cheng AF. Skin Carriage of *Acinetobacters* in Hong Kong. *J. Clin Microbiol*.1999; 37: 2962-2967.

22. Clinical and Laboratory Standards Institute Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow Aerobically; Approved Standard: 8th ed. M07-A9. CLSI, Wayne, PA, USA, 2012.
23. Corbella X, Pujol M, Ayats J, Sendra M, Ardanuy C, Dominguez MA, Linares J, Ariza J, Gudiol F. Relevance of Digestive Tract Colonization in the Epidemiology of Nosocomial Infections Due to Multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis*. 1996; 23:329- 334.
24. Çalık N, Akova M. Tigesiklin. *Ankem Dergisi*, 2007; 21:29-33
25. Demiraslan H, Yıldız O, Kaynar L, Altuntaş F, Eser B, Aygen B. Febril Nötropenik Hastalardan İzole Edilen Mikroorganizmalar ve Antimikrobiyal Duyarlılıkları: 2005 Yılı Verileri. *Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal)* 2007; 29:376-380.
26. Demirbakan H, Dalar D, Yıldırım Ç, Öztürk F, Ongut G, Yaman M ve ark. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Bakteriler ve Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*. 2005; 35:183-188.
27. Demirtürk N, Demirdal T. Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 2004; 5: 17-21.
28. Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol*, 2007; 5: 939-951.
29. Dijkshoorn L, van Aken E, Shunburne L, van der Reijden TJ, Bernards AT, Nemec A, Towner KJ. Prevalence of *Acinetobacter baumannii* and other *Acinetobacter* spp. in faecal samples from non-hospitalised individuals. *Clin Microbiol Infect*, 2005; 11:329-332 .
30. Dökmeci, İ. Kemoterapötik ilaçlar. İçinde: Dökmeci İ (editör). *Farmakoloji ilaç uygulamalarında temel kavramlar*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 1992, s.705–786.
31. Erben N, Kiremitçi A, Özgüneş İ. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter* Türlerinde Genişletilmiş Spektrumlu Beta-laktamaz ve İndüklenebilir Beta-laktamaz Sıklığının ve Antimikrobiyal Duyarlılığın Değerlendirmesi. *Osmangazi Tıp Dergisi*, 2006; 28:135-146.

32. Falagas, M.E., Kasiakou, S.K. Colistin: The Revival of Polymyxins for the Management of Multidrug-Resistant Gram Negative Bacterial Infections. *Clin Infect Dis.* 2005; 40: 1333–41.
33. Fernández-Canigia L, Dowzicky MJ. Susceptibility of important Gram-negative pathogens to tigecycline and other antibiotics in Latin America between 2004 and 2010. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2012; 11: 29.
34. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54 731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001-2004). *Clin Microbiol Infect.* 2006;12: 315-321.
35. Gan HM, Lean SS, Suhaili Z, Thong KL, Yeo CC. Genome sequence of *Acinetobacter baumannii* AC12, a polymyxin-resistant strain isolated from Terengganu, Malaysia. *JBacteriol.* 2012; 194: 5979-5980.
36. García-Garmendia JL, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J, Jiménez-Jiménez FJ, Pérez-Paredes C, Barrero-Almodóvar AE, Gili-Miner M. Risk factors for *Acinetobacter baumannii* nosocomial bacteremia in critically ill patients: a cohort study. *Clin Infect Dis.* 2001; 33: 939-946.
37. Gerner-Smidt P, Tjernberg I, Ursing J. Reliability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. *J Clin Microbiol.* 1991; 29:277-282.
38. Gordon N C, Png K, Wareham D W. Potent Synergy and Sustained Bactericidal Activity of a Vancomycin-Colistin Combination versus Multidrug-Resistant Strains of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2010; 54: 5316–5322.
39. Gür, D. Hastane İnfeksiyonu etkeni Gram negatif non fermantatif basiller ve antibiyotiklere direnç sorunu. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 1999; 3: 33–39.
40. Hawley J S, Murray C K, Jorgensen, J H. Colistin heteroresistance in *Acinetobacter* and its association with previous colistin therapy. *Antimicrobial agents and Chemotherapy.* 2008; 52: 351-352.
41. Henry R, Vithanage N, Harrison P, et al. Colistin-resistant, lipopolysaccharide-deficient *Acinetobacter baumannii* responds to lipopolysaccharide loss through increased expression of genes involved in the

- synthesis and transport of lipoproteins, phospholipids, and poly-b-1,6-N-acetylglucosamine. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*.2012; 56: 59-69.
42. Hooper D C. Emerging mechanism of fluoroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis*. 2001; 7: 337-41.
  43. Houang E T, Chu Y W, Leung C M, Chu K Y, Berlau J, Ng K C, Cheng A F. Epidemiology and Infection Control Implications of *Acinetobacter* spp. in Hong Kong. *J Clin Microbiol*, 2001; Jan;39: 228-234.
  44. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*. 2012; 3: 243-250.
  45. Ikeda F, Amano A, Iyoda T, Matsuzaki K, Hasegawa M, Saika T, Kanayama A, Kobayashi I. Antimicrobial susceptibility profile of *Acinetobacter baumannii* complex isolates in Japan. *Kansenshogaku Zasshi*, 2011; 85:501-507.
  46. Jaggi N, Sissodia P, Sharma L. *Acinetobacter baumannii* isolates in a tertiary care hospital: Antimicrobial resistance and clinical significance. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*.2012; 2 : 57-63.
  47. James V, Thearith K, James R. L. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research*. 1991; 19: 6823-6831.
  48. James V, Vivek K, Edward O M, Uma S, Thearith K, James R, Lupski J, Musser M. Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* strains recovered in Houston: Identification and molecular characterization of multiple clones. *J. Infect. Dis*. 1993; 167: 850-856.
  49. Jawad A, Hawkey P M, Heritage J, Snelling A M. Description of Leeds *Acinetobacter* Medium, a new selective and differential medium for isolation of clinically important *Acinetobacter* spp. and comparison with Herellea agar and Holton's agar. *J Clin Microbiol*. 1994; 32: 2353- 2358.
  50. Karagöl Ç, Hastane kökenli *A.baumannii* izolatlarında antibiyotik duyarlılıkları ve imipenem dirençli izolatların genotiplemeşi. Uzmanlık Tezi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi. 2008 Edirne (Danışman: Doç.Dr. Müşerref Tatman).

51. Kempf M, Rolain J M. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *Int J Antimicrob Agents*. 2012; Feb; 39:105-14.
52. Kim D, Baik K S, Kim MS, Park S C, Kim S S, Rhee M S, Kwak Y S, Seong C N. *Acinetobacter soli* sp. nov. isolated from forest soil. *J Microbiol*, 2008; 46: 396-401.
53. Kiratisin P, Chongthaleong A, Tan T Y, Lagamayo E, Roberts S, Garcia J, Davies T. Comparative in vitro activity of carbapenems against major Gram-negative pathogens: results of Asia-Pacific surveillance from the COMPACT II study. *Int J Antimicrob Agents*. 2012; 39: 311-316.
54. Ko K S, Suh J S, Kwon K T, Jung S, Park K, Kang C I, Chung D R, Peck K R, Song J. High rates of resistance to colistin and polymyxin B in subgroups of *Acinetobacter baumannii* isolates from Korea. *J. Antimicrob. Chemother.* 2007;60: 1163-1167.
55. Koneman E W, Allen S D, Janda W M, Schreckenberger P C, Winn W C, Woods G. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*; 6<sup>th</sup> ed. Lippincott Philadelphia. 2006; s.316–355 .
56. Koyama Y, Kurosasa A, Tsuchiya A, Takakuta K. A new antibiotic “colistin” produced by spore-forming soil bacteria. *J Antibiot*. 1950; 3:457-458.
57. Köksal F. Moleküler Epidemiyolojik Tiplendirme Yöntemlerinin Hastane Enfeksiyonlarında Kullanımı. İçinde: Doğanay M., Ünal S. *Hastane Enfeksiyonları*. 1. Baskı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2003:235-246.
58. Kwa A L, Tam V H, Falagas M E. Polymyxins: A Review of The Current Including Recent Developments. *Rev Ann Acad Med* 2008; 37: 870-883.
59. Lee K, Yong D, Jeong SH, Chong Y. Multidrug-resistant *Acinetobacter* spp.: increasingly problematic nosocomial pathogens. *Yonsei Med J*, 2011; 52:879-891.
60. Lee S C, Huang, S S, See L C, Tsai M H, Shieh, W B. In vitro activities of nine current antibiotics against culprit bacteria in nosocomial infections in an institution in Northern Taiwan. *Chang Gung Med J*. 2011; 34: 580-589.

61. Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents*. 2005; 25: 11-25.
62. Li J, Rainer R C, Nation, L R, Oven R J, Spelman D, Tan K E, Liolios L. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2006; 50: 2946-2950.
63. Looveren V M, Goossens H, the ARPAC Steering Group. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2004; 10: 684–704.
64. Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydna E, Lal H, Quale J. Endemic carbapenem resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: Citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis*. 2000; 31:101-6.
65. Maragakis L L, Perl T M. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance and treatment options. *Clin Infect Dis*. 2008; 46:1254-1263.
66. Maraki S, Mavros MN, Kofteridis DP, Samonis G, Falagas ME. Epidemiology and antimicrobial sensitivities of 536 multi-drug-resistant gram negative bacilli isolated from patients treated on surgical wards. *Surg Infect (Larchmt)*. 2012; 13(5):326-331.
67. Marchaim D, Navon-Venezia S, Schwartz D, Tarabeia J, Fefer I, Schwaber MJ, Carmeli Y. Surveillance cultures and duration of carriage of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*. 2007; 45(5):1551-1555.
68. Moffatt J H., Harper M, Adler B. et al. Insertion sequence ISAb11 is involved in colistin resistance and loss of lipopolysaccharide in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:3022–3024.
69. Moffatt J H, Harper M, Harrison P, Hale J D, Vinogradov E, Seemann, T, Henry R, Crane B, Michael F, Cox AD, Adler B, Nation R L, Li J, Boyce JD . Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother*.2010; 54:4971-4977.



70. Munoz-Price L, Weinstein R. *Acinetobacter* Infection. N Engl J Med. 2008; 358:1271-81.
71. Murray P R, Rosenthal K S, Pfaller M A. Tıbbi Mikrobiyoloji (Editör: Başustaoğlu). Atlas Kitapçılık, Ankara. 2010; s.199-210.
72. Naas T, Coignard B, Carbonne A, Blanckaert K, Bajolet O, Bernet C, Verdeil X, Astagneau P, Desenclos JC, Nordmann P. VEB-1 Extended-spectrum beta-lactamaseproducing *Acinetobacter baumannii*, France. *Emerg Infect Dis*, 2006; 12(8):1214-1222.
73. Navon-Venezia S, Ben-Ami R, Carmeli Y. Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2005; 8: 306– 313.
74. O'Neil M J, Smith A, Haeckelman PE, Obenchain JR, Gallipeau JAR, D'Arecca MA, Colistin. *Editörler;An Encyclopedia of Chemical, Drugs and Biologicals*. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co Inc. 13th ed. 2001; pp. 433-4.
75. Nemeč A, De Baere T, Tjernberg I, Vaneechoutte M, van der Reijden TJ, Dijkshoorn L. *Acinetobacter ursingii* sp. nov. and *Acinetobacter schindleri* sp.nov., isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001;51:1891-1899.
76. Nemeč A, Dijkshoorn L, Cleenwerck I, De Baere T, Janssens D, Van Der Reijden T J, Jezek P, Vaneechoutte M. *Acinetobacter parvus* sp. nov, a small-colony-forming species isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2003; 53:1563-1567.
77. Nemeč A, Krizova L, Maixnerova M, van der Reijden T J, Deschaght P, Passet V, Vaneechoutte M, Brisse S, Dijkshoorn L. Genotypic and phenotypic characterization of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex with the proposal of *Acinetobacter pittii* sp. nov. (formerly *Acinetobacter* genomic species 3) and *Acinetobacter nosocomialis* sp. nov.(formerly *Acinetobacter* genomic species 13TU). *Res Microbiol.* 2011;162:393-404.
78. Nemeč A, Musilek M, Maixnerova M, De Baere T, van der Reijden TJ, Vaneechoutte M, Dijkshoorn L. *Acinetobacter beijerinckii* sp. nov. and

- Acinetobacter gyllenbergii* sp. nov., haemolytic organisms isolated from humans. Int J Syst Evol Microbiol, 2009; 59: 118-124.
79. Nordmann P, Picazo JJ, Mutters R, Korten V, Quintana A, Laeuffer JM, et al. Comparative activity of carbapenem testing: the COMPACT study. J Antimicrob Chemother 2011; 66:1070–8.
80. Olive D M, Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. J Clin Microbiol. 1999; 37:1661-1669.
81. Oral ÖNCÜL, Kolistin: Endikasyon Ve Klinik Kullanımı, GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi, Üsküdar, ANKEM Derg. 2012; 26:12-18.
82. Otkun, M., Akata, F., Teker, B., Aka, F., Tatman-Otkun, M., Tuğrul, M. Trakya Üniversitesi Hastanesi'nde Hastane infeksiyonları: 1995 yılı sonuçları. İnfeksiyon Derg. 1997; 11: 23–7.
83. Öksüz L, Gürler N, Klinik Örneklerden İzole Edilen Çoğul Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Kolistin, Polimiksin B ve Tigesiklinin İn Vitro Etkinliği. Türk Mikrobiyoloji Cem. Derg. 2012; 42:32-38.
84. Özer B, Tatman-Otkun M, Memiş D, Otkun M. Yoğun Bakım Ünitesinde Hastane İnfeksiyonu Etkenleri, Antibiyotik Duyarlılıkları ve Antibiyotik Kullanımı. İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection).2006; 20:165-170.
85. Özlü N. Hastanemizde İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Moleküler Epidemiyolojik Değerlendirmesi. Uzmanlık Tezi. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi. Zonguldak. 2007; s 35-36.
86. Öztürk, R. Antimikrobik İlaçlara Karşı Direnç Gelişme Mekanizmaları ve Günümüzde Direnç Durumu. Akılcı Antibiyotik Kullanım ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi, 2002; 31: s.83-100 .
87. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev.2008; 21(3): 538-582.
88. Perez F, Hujer A M, Hujer K M, Decker B K, Rather P N, Bonomo R A, et al. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2007; 51:3471-84.

89. Quale J, Bratu S, Landman D, Heddurshetti R. Molecular epidemiology and mechanisms of Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* endemic in New York City. Clin Infect Dis. 2003; 37: 214-20.
90. Rafael Lo'pez-Rojas, Manuel Enrique Jime' nez-Mej\_as, Jose' Antonio Lepe, and Jero'nimo Pacho'n, *Acinetobacter baumannii* Resistant to Colistin Alters Its Antibiotic Resistance Profile: A Case Report From Spain, The Journal of Infectious Diseases. 2011; 204:1147-48.
91. Reddy T, Chopra T, Marchaim D, Pogue JM, Alangaden G, Salimnia H, Boikov D, Navon- Venezia S, Akins R, Selman P, Dhar S, Kaye KS Trends in antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* isolates from a metropolitan Detroit health system. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54: 2235-2238.
92. Rodriguez, C.H., Bombocino, K., Granados, G., Nastro, M., Vay, C., Famiglietti, A. Selection of colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in post neurosurgical meningitis in an intensive care unit with high presence of heteroresistance to colistin. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2009; 65: 188-191.
93. Ruiz J. Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. J Antimicrob Chemother, 2003; 51: 1109-1117.
94. Sesli Çetin E, Kaya S, Tetik T, Cicioğlu Arıdoğan B. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Örneklere Göre Dağılımı ve Antibiyotik Duyarlılıkları. Ankem Dergisi. 2006; 20: 202-205.
95. Shutt C K, Pounder J I, Page S R, Schaecher B J, Woods G L. Clinical evaluation of the Diversilab microbial typing system using repetitive-sequence-based PCR for characterization of *Staphylococcus aureus* strains. J Clin Microbiol, 2005; 43: 1187-1192.
96. Seifert H, Strate A, Pulverer G. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*. Clinical features, epidemiology and predictors of mortality. Medicine (Baltimore), 1995; 74(6):340-349


97. Singh A, Goering R V, Simjee S, Foley S L, Zervos M J. Application of molecular techniques to the study of hospital infection. *Clin Microbiol Rev*, 2006; 19: 512-530.
98. Soon R L, Nation R L, Cockram S. et al. Different surface charge of colistin-susceptible and -resistant *Acinetobacter baumannii* cells measured with zeta potential as a function of growth phase and colistin treatment. *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66: 126–133.
99. Soon R L, Nation R L, Hartley P G, Larson I, Li J. Atomic force microscopy investigation of the morphology and topography of colistin-heteroresistant *Acinetobacter baumannii* strains as a function of growth phase and in response to colistin treatment. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53:4979-4986.
100. Souli M, Kontopidou F V, Koratzanis E, Antoniadou A, Giannitsioti E, Evangelopoulou, P, Kannavaki S, Giamarellou H. In vitro activity of tygecycline against multiple-drug resistant, including pan-resistant, Gram-negative and Gram-positive clinical isolates from Greek Hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50: 3166-3169.
101. Souli M, Galani I, Giamarellou H. Emergence of extensively drug-resistant and pandrugresistant Gram-negative bacilli in Europe. *Euro Surveill*. 2008;13.
102. Speller, D.C.E., Humphreys, H. Hospital-acquired infection. In: Collier L, Balows A, Sussman M (Eds.). *Topley & Wilson's Microbiology and microbial infections*. 9th ed. London: Arnold; 1998; s.187–229.
103. Tan, C.H., Li, J., Nation, R.L. Activity of colistin against heteroresistant *Acinetobacter baumannii* and emergence of resistance in an in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2007; 51: 3413-3415.
104. Taşova Y, Akgün Y, Saltoğlu N, Yılmaz G, Kara O, Dündar İ H. Nozokomiyal *Acinetobacter* infeksiyonları. *Flora Dergisi*, 1999; 4: 170–6.
105. Thom K A, Hsiao W W, Harris A D, Stine O C, Rasko D A, Johnson J K. Patients with *Acinetobacter baumannii* bloodstream infections are colonized

- in the gastrointestinal tract with identical strains. *Am J Infect Control*, 2010; 38:751-753.
106. Tjernberg I, Ursing J. Clinical strains of *Acinetobacter* classified by DNA-DNA hybridization. *APMIS*.1989; 97: 595-605.
107. Towner K J. *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *J HospInfect*. 2009; 73(4):355-63.
108. Ulusoy S. Tigesiklin. *Ankem Dergisi*, 2006; 20(2):117-119
109. Urban C, Segal-Maurer S, Rahal J J. Consideration in control and treatment of nosocomial infections due to multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Inf Dis*.2003; 36: 1268-74
110. Vahdani P, Yaghoubi T, Aminzadeh Z. Hospital acquired antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in a 400-bed hospital in Tehran, Iran. *Int J Prev Med*.2011; 2(3):127-130.
111. Vaneechoutte M, De Baere T, Nemec A, Musilek M, van der Reijden TJ, Dijkshoorn L. Reclassification of *Acinetobacter grimontii* Carr *et al.* 2003 as a later synonym of *Acinetobacter junii* Bouvet and Grimont 1986. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2008; 58: 937-940.
112. Villegas MV, Hartstein AI. *Acinetobacter* outbreaks, 1977-2000. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2003; 24: 284-295.
113. Willams, J D. Beta laktamase inhibition and in vitro activity of sulbactam and sulbactam/cefaperazon. *Clin Infect Dis*. 1997; 24: 494-497.
114. Yau W, Owen, R J, Paudyal, A, Bell, J M, Turnidje, J D, Yu H H, Nation, R L, Li, J Colistin hetero resistance in multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from the Western Pacific region in the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *Journal of Infection*: 2009; 58: 138-144.
115. Yıldırım İ H. Sefoperazon-Sulbaktam, İmipenem ve Sefepimin Antibiyoterapi Etkinliklerinin Çoğul Dirençli ve Duyarlı *Acinetobacter baumannii* ile Oluşturulan Deneysel İkili Apse Modelinde Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi. Edirne 2006; s.57(Danışman: Prof. Dr. H. Murat Tuğrul).

116. Zanetti G, Blanc D S, Federli I, Raffoul W, Petignat C, Maravic P, Francioli P, Berger M M. Importation of *Acinetobacter baumannii* into a burn unit: a recurrent outbreak of infection associated with widespread environmental contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2007; 28: 723-725.
117. Zavascki A P, Goldani L Z, Li J, Nation R L. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J Antimicrob Chemother*. 2007; 60:1206–1215.

## EKLER


### EK-1


  
T.C.  
**MARMARA ÜNİVERSİTESİ**  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu


**PROJENİN ADI:** Acinetobacter Baumannii'de Kolistine Direnç Gelişiminin Antibiyotik Profili Üzerine Etkisi  
**PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ:** Doç.Dr. Zeynep Arzu İLKİ  
**PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR:** Mehmet Ramazan Ayaş  
**ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI:** 05.04.2013-10

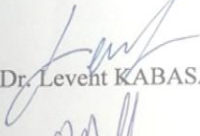
**Sayın Doç.Dr. Zeynep Arzu İLKİ**


46 protokol nolu "Acinetobacter Baumannii'de Kolistine Direnç Gelişiminin Antibiyotik Profili Üzerine Etkisi" isimli projeniz Enstitümüzün Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve etik yönden uygunluğuna karar verilmiştir.


  
Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU  
Komisyon Başkanı


  
Prof. Dr. İnci ALİCAN

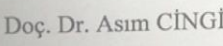
  
Prof. Dr. Serap AKYÜZ

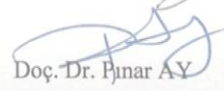
  
Prof. Dr. Levent KABASAKAL

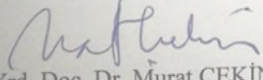
  
Prof. Dr. Aysel PEHLİVAN

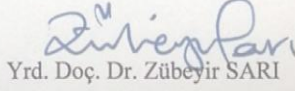
  
Doç. Dr. Neftise BAHÇECİK

  
Doç. Dr. Oğuzhan DEYNELİ

  
Doç. Dr. Asım CİNGİ

  
Doç. Dr. Pınar AY

  
Yrd. Doç. Dr. Murat ÇEKİN

  
Yrd. Doç. Dr. Zübeyir SARI

Yrd. Doç. Dr. Tolga GÜVEN

## ÖZGEÇMİŞ

<b>Adı</b>	Mehmet Ramazan	<b>Soyadı</b>	Ayaş
<b>Doğum Yeri</b>	Gaziantep	<b>Doğum Tarihi</b>	23/03/1988
<b>Uyruğu</b>	T.C	<b>Tel</b>	05065186257
<b>E-mail</b>	ramcorm@gmail.com		

### Eğitim Düzeyi

	<b>Mezun Olduğu Kurumun Adı</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
<b>Doktora/Uzmanlık</b>		
<b>Yüksek Lisans</b>	Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	2014
<b>Lisans</b>	Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2010
<b>Lise</b>	Gaziantep Hasan Ali Yücel Lisesi	2005

### İş Deneyimi

	<b>Görevi</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre (Yıl - Yıl)</b>
	Biyolog (Mikrobiyoloji laboratuvarı)	Hipokrat Laboratuvarları	2010-2011
	Biyolog (Patoloji Labratuvarı)	Acıbadem Sağlık Grubu	2011-2013
	Biyolog(Mikrobiyoloji Laboratuvarı)	Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi	2013-2014

<b>Yabancı Dilleri</b>	<b>Okuduğunu Anlama*</b>	<b>Konuşma*</b>	<b>Yazma*</b>
İngilizce	İyi	Zayıf	Zayıf

### Yabancı Dil Sınav Notu #

YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
28,75								

	<b>Sayısal</b>	<b>Eşit Ağırlık</b>	<b>Sözel</b>
<b>ALES Puanı</b>	79		

### Bilgisayar Bilgisi

<b>Program</b>	<b>Kullanma becerisi</b>
Microsoft Office	Çok iyi
SPSS	İyi

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.