



**ACINETOBACTER BAUMANNII İZOLATLARINDA  
KURKUMİNİN FARKLI ANTİBİYOTİKLERLE  
SİNERJİSTİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**ÖZGE TOMBAK  
1158208102**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. AYNUR EREN TOPKAYA**

**Tez No: 2017 / 027**

**2017-TEKİRDAĞ**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***ACINETOBACTER BAUMANNII* İZOLATLARINDA  
KURKUMİNİN FARKLI ANTİBİYOTİKLERLE  
SİNERJİSTİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**ÖZGE TOMBAK**  
**1158208102**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. AYNUR EREN TOPKAYA**

**Tez No: 2017 / 027**

**2017 – TEKİRDAĞ**

## KABUL ve ONAY

Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Prof. Dr. Aynur EREN TOPKAYA danışmanlığında yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

08/09/2017



imza

Prof. Dr. Aynur EREN TOPKAYA

Namık Kemal Üniversitesi

Jüri Başkanı

imza

Doç. Dr. Müşerref OTKUN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi



Üye

imza

Doç. Dr. Dumrul GÜLEN

Namık Kemal Üniversitesi

Üye

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Özge TOMBAK'ın *Acinetobacter baumannii* izolatlarında kurkuminin farklı antibiyotiklerle sinerjistik etkisinin araştırılması başlıklı tezi 08.09.2017 Cuma günü saat 10.00'da Namık Kemal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Nilda TURGUT

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve her konuda yardım ve desteklerini gördüğüm, birlikte çalışmaktan onur duyduğum, aynı zamanda bu çalışmanın planlanması ve yürütülmesinde desteğini esirgemeyen değerli danışman ve Tıbbi Mikrobiyoloji A.B.D. Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Aynur EREN TOPKAYA'ya göstermiş olduğu ilgi ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim dalındaki hocalarım Doç. Dr. Dumrul GÜLEN ve Yrd. Doç. Dr. Berna ERDAL YILDIRIM'a yüksek lisans eğitimim sırasında verdikleri bilgi ve paylaştıkları deneyimler ve her konuda gösterdikleri yardım ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Tezimin istatistik olarak değerlendirilmesinde yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Birol TOPÇU'ya teşekkür ederim. Çalışmamızın istatistik olarak yorumlanmasında gösterdiği yardımlarından dolayı Tuğçe TOPKAYA'ya teşekkür ederim. Tezimde kullandığım antibiyotiklerin hesaplamalarında yardımlarından dolayı Uzm. Dr. Mahluga JAFAROVA DEMİRKAPU çok teşekkür ederim.

Hayatımın hiçbir döneminde benden sevgisini esirgemeyen, maddi ve manevi desteklerini hep yanımda hissettiğim; beni her halimle sevip koruyan ve her türlü başarı ve başarısızlığımda yanımda olan canım annem ve kardeşime sonsuz teşekkür ederim.

## ÖZET

**TOMBAK, Ö. *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Kurkuminin Farklı Antibiyotiklerle Sinerjistik Etkisinin Araştırılması, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, TEKİRDAĞ, 2017.**

*Acinetobacter baumannii*, antibiyotik direncinin en fazla bulunduğu ve tedavisi en zor olan Gram negatif kok-kokobasil yapısındaki bakterilerdendir. *A. baumannii*, çok farklı çevresel şartlarda uzun süre yaşamını devam ettirebilmektedir. Organizma; bakteriyemi, pnömoni, menenjit, üriner sistem ve yara enfeksiyonlarını da içeren yoğun bakımla ilişkili pek çok enfeksiyonun etkenlerindedir. Bu hastalarda özellikle karbapenemaz grubu antibiyotiklere direnç bulunması durumunda tedavi seçenekleri kısıtlanmaktadır. Çoklu ilaca dirençli (ÇİD) *Acinetobacter* spp. enfeksiyonları için yeni tedavilerin geliştirilmesi, yüksek riskli alanlardaki aletlerin dekontaminasyonu, izolasyon yöntemleri ve antibiyotik kullanımının kontrolüne sürekli olarak dikkat edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada 100 *A. baumannii* izolatının kurkuminin kolistin, imipenem ve ciprofloksasin antibiyotikleri ile sinerjistik etkisinin çalışılması amaçlanmıştır. Çalışmaya 25 Haziran 2014 - 25 Nisan 2017 tarihleri arasında klinik ve poliklinik örneklerinden izole edilerek saklanan 100 *A. baumannii* izolatı dahil edildi. Örneklerin % 42'si solunum sekresyonu, % 34'ü kan, % 9'u yara, % 8'i katater ve % 7'si idrar örneklerinden izole edildi. İlk olarak izolatların antibiyotik ve kurkumin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri broth mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi. Sinerji araştırmak için broth mikrodilüsyon checkerboard yöntemi kullanıldı.

Kolistin dirençli 23 (% 23) izolat, imipenem dirençli 10 (% 10) izolat ve ciprofloksasin dirençli 100 (% 100) izolat bulundu. Checkerboard yöntemi için kolistin ve imipenem duyarlı ve dirençli suşlardan 10'ar tane seçildi. Checkerboard

yöntemi sonuçlarında kolistin dirençli 10 izolat, imipenem dirençli 1 izolat ve imipenem duyarlı 1 izolatta sinerjistik etki bulundu.

Sonuç olarak bu çalışma literatürde tarayabildiğimiz kadarıyla *A. baumannii* izolatlarının kurkumin ve antibiyotikler ile kombinasyonunun çalışıldığı ilk araştırmadır. Çalışmamızda invitro koşullarda kurkuminin kolistin dirençli izolatlarda kolistin ile sinerjistik etkisi olduğu görülmüştür. Özellikle ÇİD *A. baumannii* izolatları için yeni tedavi seçenekleri arasında değerlendirilebileceğini düşündürmüştür.

**Anahtar kelimeler:** *A. baumannii*, Kurkumin, Kolistin, Sinerji

## ABSTRACT

**TOMBAK, Ö. INVESTIGATION OF CURCUMIN WITH VARIOUS ANTIBIOTICS IN ACINETOBACTER BAUMANNII ISOLATES, MEDICAL MICROBIOLOGY DEPARTMENT MASTER'S THESIS, TEKİRDAĞ, 2017.**

*A. baumannii* is hardest to control and treat among antimicrobial-resistant gram-negative coc-cocobacilli. *A. baumannii* survives for prolonged periods under a wide range of environmental conditions. The organism causes intensive care unit infections, including bacteremia, pneumonia, meningitis, urinary tract infection, and wound infection. Treatment options are limited for these patients, especially when the carbapenemase group is resistant to antibiotics. Continuous attention should be paid to the development of new therapies for multidrug-resistant *Acinetobacter spp.* infections, decontamination of instruments in high-risk areas, isolation methods and control of antibiotic use.

In this study, it was aimed to search the synergistic effect of 100 *A. baumannii* isolate with curcuminin colistin, imipenem and ciprofloxacin antibiotics. 100 *A. baumannii* isolates isolated from clinical and policlinic samples between June 25, 2014 and April 25, 2017 were included in the study. 42% of the samples were isolated from respiratory secretion, 34% from blood, 9% from wound, 8% from catheter and 7% from urine samples. First, the antibiotic and curcumin minimum inhibitor concentration (MIC) of the isolates were determined by broth microdilution method. Broth microdilution checkerboard method was used to investigate synergy. There were 23 (23%) isolates with colistin resistance, 10 (10%) isolates with imipenem resistance and 100 (100%) isolates resistant to ciprofloxacin. For Checkerboard method, 10 pieces were selected from colistin and imipenem sensitive and resistant strains. In the results of Checkerboard method, there was a synergistic effect on 10 isolates resistant to colistin, 1 isolate resistant to imipenem and 1 isolate sensitive to imipenem.

In conclusion, this study is the first investigation on examining the combination of *A. baumannii* isolates with curcumin and antibiotics in the literature. In our study, in-vitro conditions, curcuminin was found to have synergistic effects with colistin in colistin-resistant isolates. It may be considered as a new treatment option especially for the MDR *A. baumannii* isolates.

**Key words:** *A. baumannii*, Curcumin, Colistin, Synergy





## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	vv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
TABLolar DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2. 1. Taksonomi ve Tarihçe	3
2. 2. Mikrobiyolojik Özellikleri	3
2. 3. Epidemiyolojik Özellikleri	4
2. 4. Patojenez	5
2. 5. Virulans Faktörleri	5
2. 5. 1. Hücre Yüzey Özellikleri	5
2. 5. 2. Litik/Toksik Bileşik Üretimi	6
2. 5. 3. Dokulara Yapışma ve Hasar Oluşturma	6
2. 5. 4. Biyofilm Oluşumu	6
2. 5. 5. Demir Kazanım Mekanizmaları	7
2. 5. 6. Çoğunluğu Algılama 'Quorum Sensing'	7

2. 5. 7. Hastane Ortamında Sağ Kalım	8
2. 6. Antibiyotik direnci	8
2. 6. 1. Beta-Laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları	9
2. 6. 2. Kinolonlara Karşı Direnç Mekanizmaları	11
2. 6. 3. Aminoglikozidlere Direnç Mekanizması	11
2. 6. 4. Polimiksinlere Karşı Direnç Mekanizması	11
2. 6. 5. Tetrasiklin Ve Tigesiklin Direnci	13
2. 7. Kurkumin	13
2. 7. 1. Kurkuminin Etki Mekanizmaları	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
3. 1. Gereç	16
3. 1. 1. Standart Kökenler	16
3. 1. 2. Besiyerleri	16
3. 1. 3. Antibiyotik Tozları	16
3. 1. 4. Kimyasal Maddeler	16
3. 1. 5. Laboratuvar Malzemeleri ve Cihazlar	17
3. 2. Yöntem	18
3. 2. 1. Örneklerin Toplanması	18
3. 2. 2. Besiyerlerin Hazırlanması	18
3. 2. 3. Kurkumin ve Antibiyotik Stok Solüsyonlarının Hazırlanması	19
3. 2. 4. İnokulum Hazırlanması	21
3. 2. 5. Broth Mikrodilüsyon Yöntemi İle MİK Değerlerinin Belirlenmesi	21

3. 2. 6. Broth Mikrodilüsyon Checkerboard Yöntemi	22
3. 2. 7. Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu İndeksi (FİKİ) Değerlendirilmesi	25
3. 2. 8. İstatistiksel Değerlendirme	25
4. BULGULAR	26
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR	40

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<i>A.baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
ADCs	Acinetobacter derived cephalosporinases
AP-1	Aktivatör protein-1
<i>C. longa</i>	<i>Curcuma longa</i>
CFU	Colony forming unit
CLSI	Klinik ve laboratuvar standartları enstitüsü
ÇİD	Çoklu ilaç direnci
DMSO	Dimetilsülfoksitte
FİKİ	Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu İndeksi
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
<i>E. coli</i>	<i>Eschechia coli</i>
G-CSF	Granülosit koloni stimulan faktör
GSBL	Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
IFN- $\gamma$	İnterferon- $\gamma$
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
KAMHB	Kasyon Ayarlı Müeller-Hinton Broth
LPS	Lipopolisakkarit
$\mu\text{g} / \text{mg}$	Mikrogram / miligram
$\mu\text{g}/\text{ml}$	Mikrogram / mililitre
mg	Miligram
ml	Mililitre

MİK	Minimum inhibitör konsantrasyonu
n	İzolat sayısı
NF- Kb	Nüklear faktör kappa-B
PBP	Penisilin bağlayan proteinler
PBS	Phosphate buffered saline
R	Dirençli
S	Duyarlı
TNF-A	Tümör nekroz faktör-A
YBÜ	Yoğun bakım üniteleri

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1	Kurkuminin kimyasal yapısı	14
Şekil 3. 1	İnkübasyon öncesi ELISA okuyucu sonuçları	24
Şekil 3. 2	İnkübasyon sonrası ELISA okuyucu sonuçları	24
Şekil 4. 1	<i>A. baumannii</i> üreyen hastaların kliniklere göre yüzdeleri	27
Şekil 4. 2	<i>A. baumannii</i> izolatlarının örnek tipine göre yüzde oranları	28



**TABLÖLAR DİZİNİ**

<b>Tablo 3. 1</b>	Çözücü ve Sulandırıcılar	20
<b>Tablo 3. 2</b>	Antibiyotiklerin MİK aralıkları	21
<b>Tablo 4. 1</b>	İzolatların kliniklere göre dağılımı	26
<b>Tablo 4. 2</b>	<i>A.baumannii</i> suşlarının izole edilen örneklerin yıllara göre dağılımı	27
<b>Tablo 4. 3</b>	İzolatların antibiyotik duyarlılıkları	28
<b>Tablo 4. 4</b>	Curcumin MİK aralıklarının izolat sayısı ve yüzde olarak dağılımı	29
<b>Tablo 4. 5</b>	Kolistin dirençli izolatların MİK ve $\Sigma$ FİKİ değerler	30
<b>Tablo 4. 6</b>	Kolistin duyarlı izolatların MİK ve $\Sigma$ FİKİ değerleri	30
<b>Tablo 4. 7</b>	İmipenem dirençli izolatların MİK ve $\Sigma$ FİKİ değerleri	31
<b>Tablo 4. 8</b>	İmipenem duyarlı izolatların MİK ve $\Sigma$ FİKİ değerleri	31

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

*Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*), toplum kökenli ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilen bir non-fermentatif bakteridir (Akalin 2006). *Acinetobacter* cinsi bakteriler hastane enfeksiyonları içinde önemli bir yer tutmaktadır (Berezin 1996). Sık olarak saptanmalarının nedenleri, dış ortam koşullarında kolaylıkla yaşayabilmeleri ve antibiyotiklere karşı çoklu direnç kazanabilmeleridir. Hastanelerde gelişen salgınlarda en sık saptanan etken *A. baumannii*'dir (Taşova 1999).

*A. baumannii* doğada, toprak ve sularda yaygın olarak bulunabilen gram negatif kokobasil şeklinde, hareketsiz, pigmentsiz, katalaz pozitif, oksidaz negatif, fermantasyon yapmayan, aerob bir bakteridir. Yoğun Bakım Üniteleri (YBÜ) başta olmak üzere, hastanelerin çeşitli birimlerinde hastane enfeksiyonlarına neden olabilir (Mansur 2009). Hem nemli hem de kuru yüzeylerde uzun süre canlı kalabilir, besin maddeleri ve sağlıklı insan derisinde bulunabilir. Sindirim sisteminde kolonize olabildiği gösterilmiş olan *Acinetobacter* türleri genellikle sağlıklı kişilerde saprofit halde bulunmakla birlikte immün sistemi zayıflamış kişilerde enfeksiyon etkeni olabilmektedir (Gülhan 2009). Bunun yanı sıra *A. baumannii* birçok antimikrobiyal ilaca ve kuruluğa dirençli olması, hastadan hastaya çok kolay yayılabilmesi ve çevrede günlerce canlı kalabilme yeteneği ile salgınlara da neden olabilmektedir (Yavuz 2006). Bütün bu özellikleri nedeniyle, bu bakteri son yıllarda, başta mekanik ventilasyona bağlı pnömoniler olmak üzere hastane kaynaklı enfeksiyonların en önemli nedenlerinden biri haline gelmiştir (Dizbay 2008).

Gram negatif bakterilerdeki çoklu ilaç direncindeki (ÇİD) artışla, bu bakterilere etkili olabilecek yeni antibakteriyel gelişimindeki artış ne yazık ki paralel seyretmemektedir. Bunun sonucunda da bu bakterilerle oluşan enfeksiyonlara uygun tedavi seçenekleri bulmak her geçen gün zorlaşmaktadır (Souli 2008). Gerek nozokomiyal salgınlar oluşturmaları, gerekse tedavi sırasında kullanılan antibiyotiklere direnç geliştirebilmeleri nedeniyle klinisyenlere tedavi seçimi ile ilgili yaşattıkları sıkıntılar nedeniyle, bir yandan kolistin gibi eski antibiyotikler yeniden



gündeme gelirken öte yandan kombine antibiyotik kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır (Motaouakkil 2006).

Antibiyotiklerin kombine kullanılmasının; polimikrobiyal enfeksiyonların tedavisi, tek antibiyotikle tedavi edilemeyen iki ayrı enfeksiyon varlığı, etkeni bilinmeyen enfeksiyonların tedavisi, antibiyotiklere dirençli izolatlarla karşı sinerjistik etki sağlanması, yüksek mortaliteyle seyredebilecek ciddi enfeksiyonların tedavisi, ilaçların doza bağlı yan etkilerinin azaltılması ile ilgili olumlu sonuçları vardır (Öztürk 2008).

Kurkumin, yemeklere sarı renk veren bir baharat olarak kullanılan zerdeçaldan (Hind safranı, *Curcuma longa* (*C. longa*)) elde edilmektedir. Kurkumin antiinflamatuvar, antioksidan, antikanserojenik, antimutajenik, antikoagülan, antidiyabetik, antibakteriyal, antiviral olmak üzere çok geniş bir etki spektrumuna sahiptir (Naik 2011).

Bu çalışmanın amacı, daha önce bazı bakteri türlerinde değişik ilaçlarla sinerjistik etkisi gösterilmiş olan kurkuminin *A. baumannii* izolatlarına karşı çeşitli antibiyotiklerle sinerjistik etkilerini araştırmak ve dolayısıyla sınırlı tedavi seçeneklerine eklenebilecek yeni alternatifleri araştırmak olarak belirlenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2. 1. Taksonomi ve Tarihçe

*Acinetobacter* türleri ilk kez Beijerinck tarafından 1911 yılında kalsiyum asetatlı bir besiyeri kullanılarak topraktan izole edilmiş ve *Micrococcus calcoaceticus* olarak isimlendirilmiştir (Peleg 2008). Daha sonra 1939 yılında DeBord bu gram negatif kokobasilleri üretral örnekten izole etmiştir (Munoz 2008). Yunanca hareketsiz anlamına gelen 'Akinetos' sözcüğünden esinlenerek bu bakterilere '*Acinetobacter*' adı verilmiştir. Baumann 1968 yılında *Acinetobacter*'lerin biyokimyasal ve morfolojik özelliklerini ayrıntılı olarak ortaya koymuş, ardından 1971'de bu bakteriler *Moraxellaceae* ailesi içinde *Acinetobacter* cinsi olarak sınıflandırmadaki yerlerini almıştır (Dal 2012). *Acinetobacter* türleri uzun süre Neisseriaceae ailesinin üyesi olarak kabul edilmiş, ancak DNA/DNA hibridizasyon çalışmaları ile bu bakterilerin *Moraxellaceae* ailesinin üyesi olarak yeniden sınıflandırılmalarına karar verilmiştir (Baumann 1968). Türler arasında insanda en sık ve en önemli klinik tablolara yol açan etken *A. baumannii*'dir (Yıldırım 2006).

*Acinetobacter* cinsinin sınıflandırması (Berezin 1996):

Alem: Bacteria  
 Şube: Proteobacteria  
 Sınıf: Gamma Proteobacteria  
 Takım: Pseudomonadales  
 Familya: Moraxellaceae  
 Cins: *Acinetobacter*

### 2. 2. Mikrobiyolojik Özellikleri

*Acinetobacter* cinsi bakteriler 35-37°C'de üreyen, zorunlu aerobik, pleomorfik yapıda, hareketsiz, laktozu fermente etmeyen, indol negatif, katalaz pozitif, oksidaz negatif, nitratları redükte etmeyen gram negatif kokobasillerdir (Kempf 2012). Mikroskoptaki şekilleri diplokok, kokobasil veya basil morfolojisinde olabilir (Pınar 2012). *Acinetobacter* cinsindeki bakteriler 1-1,5 µm x 1,5-2,5 µm

boyutlarında, gram negatif, üremenin logaritmik fazında basil formunda, üremenin duraklama fazında kok veya kokobasil formunda görülmektedir. Koloniler düzgün, opak, bazen mukoid ve *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer üyelerine göre daha küçüktür. MacConkey agarda renksiz veya hafif pembemsi koloniler oluşturmaktadır. Enterobakterlerden daha küçük, opak, pigmentsiz, S tipi koloniler meydana getirirler. (Schreckenberger 2007).

Geleneksel yöntemlerle *Acinetobacter* tür ayrımı yapılırken glikoza oksidatif etki, hemoliz ve 44°C'de üreyebilme yeteneği değerlendirilir. Glukozu oksitleyen ve hemoliz yapmayan izolatlar genellikle *A. baumannii*'dir. *A. baumannii* 44°C'de üreyebilme yeteneğiyle de diğer türlerden ayırt edilebilir. Glukoz negatif kökenlerden hemoliz yapmayan *A. lwoffii*, hemoliz yapan *A. haemolyticus*'dur. *A. johnsonii* diğer türlerden, 37°C'de üreyememesi ile ayırt edilebilir (Yıldırım 2006).

### 2. 3. Epidemiyolojik Özellikleri

*Acinetobacter* türleri, canlı kalabilmek için oldukça az gereksinimlerinin olması ve çeşitli karbon kaynaklarını kullanabilmesi nedeniyle doğada toprak, su ve yiyeceklerde saprofit olarak serbest yaşayabilmektedir. *Acinetobacter* türleri kuruluğa dayanıklı olmaları, farklı ısı ve pH derecelerinde yaşayabilmeleri nedeniyle cansız yüzeylerde günlerce canlılıklarını sürdürebilmektedirler. Doğada toprak, su ve yiyeceklerde saprofit olarak serbest yaşayabilmektedirler (Allen 2000). *Acinetobacter*'ler sağlıklı erişkinlerin % 8-25'inde normal cilt florasında bulunur. Özellikle koltuk altı, kasık ve parmak arası gibi nemli bölgelere yerleşirken nadiren ağız boşluğu ve solunum yollarında da bulunabilirler (Gündeş 2003). *A. baumannii*, tıbbi cihazlar, yatak/şilte ve yastıklar, eldivenler, elektrikli ekipmanlar ve tıbbi giysiler gibi cansız yüzeylerde günlerce hatta haftalarca yaşama yeteneğine sahiptir (Towner 2009).

Hastanede yatmakta olan hastalarda enfeksiyonların yanı sıra kolonizasyon nedeniyle de mikroorganizma klinik örneklerden izole edilmektedir. YBÜ yatmakta olan hasta dışkılarından ÇİD *Acinetobacter spp.* izole edilmiş ve trakeostomili hastaların % 45'inde kolonizasyon saptanmıştır. Deri taşıyıcılığı oranlarının yüksek olması, hasta bakımı sırasında sağlık personelinin kontamine olmasına ve etkenin

sürekli yayılmasına neden olmaktadır (Bonomo 2006). *A. baumannii*'nin özellikle YBÜ'de yatan hastaların % 71'inde yatışı takip eden birinci haftanın sonunda kolonize olduğu ve bu hastalarda *A. baumannii* ile ilişkili enfeksiyonların arttığı gösterilmiştir. YBÜ'deki değişik risk faktörleri de bu duruma etkili olmaktadır (Dy 1999).

Son 30 yıldır hastane ortamında, yeni geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın ve uygunsuz kullanımı, hem *Acinetobacter* türleri ile gelişen hastane enfeksiyonları oranını arttırmış hem de bu bakterilerde birçok antibiyotiğe karşı direnç gelişmesine neden olmuştur. Antibiyotik kullanma alışkanlıkları ve çevresel faktörlerin katkısı ile antibiyotik direnci diğer bakterilerde olduğu gibi *Acinetobacter* türleri için de hastaneler, şehirler ve ülkeler arasında farklılık göstermektedir (Taşova 1999).

#### **2. 4. Patogenez**

*A.baumannii* nozokomiyal enfeksiyonlara yol açan önemli bir türdür. İmmün sistemi normal olan bireylerde konak savunma mekanizmalarının etkisi nedeniyle kolayca enfeksiyon oluşturmazlar. Genelde hastane kaynaklı fırsatçı enfeksiyonlara neden olur. Enfeksiyon gelişimini kolaylaştıran faktörler konağın savunma sistemini baskılayan durumlar, konağın yaşı, malignite ve yanıktır. Uzun süreli antibiyotik kullanımı, trakeostomi varlığı, endotrakeal tüp, uzun süre YBÜ kalma, ağır cerrahi girişim, damar içi kateterizasyon, enteral beslenme, idrar sondası ve uzun süre mekanik ventilatöre bağlı kalma başlıca risk faktörleridir (Aşık 2011).

Sıklıkla hastane kaynaklı enfeksiyonlardan izole edilmelerine rağmen, toplum kökenli enfeksiyonlardan izole edilen izolatlar da bulunmaktadır (Allen 2011).

#### **2. 5. Virulans Faktörleri**

##### **2. 5. 1. Hücre Yüzey Özellikleri**

Genel olarak bakterilerin yüzey özellikleri, enzim ve toksinleri konak dokularında hasara neden olarak enfeksiyonların patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. *Acinetobacter* cinsindeki lipopolisakkarid O antijeni, yapısında

bulunan tekrarlayan deoksiamino şekerler ve bunların çoğundaki yapısal dallanmalar nedeniyle hidrofobik özellik göstermektedir. Hücre yüzey hidrofobisitesi ile kollajen, 5 fibronektin, fibrinojen ve vitronektin gibi hücrel matris proteinlerine bağlanma arasında ilişki bulunmuştur. Ancak bu faktörlerin enfeksiyon patogenezi ile ilişkisi, hayvan çalışmaları ile kombine moleküler genetik yöntemler kullanılarak henüz doğrulanmamıştır (Aşık 2011).

### **2. 5. 2. Litik/Toksik Bileşik Üretimi**

Pek çok *A.baumannii* izolatu, yapısı ve antijenik özellikleri iyi bilinen ve gerek klinik gerekse tanısasal önemleri kesinleşmiş olan çeşitli lipopolisakkaridler üretmektedir. Bu yapıların serum direnci, konağın endotoksine karşı immün yanıtı ve klinik semptomlar ile ilişkili virülans faktörleri olabileceği düşünülmektedir. *Acinetobacter* türlerinin diğeri bir virülans özelliği ise çok sayıda ekstraselüler enzim üretebilme yetenekleridir. Bu enzimlerin lipid yıkımına neden olduğu, farelerde letal aktivite oluşturduğu ve hem in-vitro hem de in-vivo çalışmalarda nötrofiller üzerinde olumsuz etki gösterdiği belirtilmektedir (Aşık 2011).

### **2. 5. 3. Dokulara Yapışma ve Hasar Oluşturma**

Kolonizasyon ve enfeksiyon ile sonuçlanan konak - patojen arasındaki etkileşimin ilk basamağı, etkenin konak hücrelerine tutunmasıdır. Bu olay, bakteri hücre içinde lokalize olmuş uzun, ince ve mannoza dirençli polisakkarid fimbrialar aracılığıyla gerçekleşmektedir (Aşık 2011).

### **2. 5. 4. Biyofilm Oluşumu**

Birçok bakteri türünde yaygın olan biyofilm üretimi, patojenlerin antimikrobiyal ajanlardan ve konağın immün yanıtından kaçmasına olanak sağlayarak enfeksiyonların patogeneze katkıda bulunmaktadır. Bakterilerin biyofilm oluşturabilmesi için gerekli ilk basamak, biyofilmin oluşacağı bölgeye flajella hareketi ile ulaşabilme özelliğidir. Ancak taksonomik olarak *A. baumannii* flajella içermeyen hareketsiz bir bakteri olarak tanımlanmıştır. *A. baumannii* polistren ve cam gibi cansız yüzeylerde olduğu gibi epitel hücreler ve fungal

filamentler gibi canlı yüzeylerde de biyofilm oluşturmaktadır. Pilus ve Bap yüzey adezyon proteininin üretimi, cansız yüzeye ilk yapışmayı takiben biyofilm oluşumu ve olgunlaşmasında rol oynar (Gaddy 2009). Bazı klinik izolatların adezyon yeteneği ve biyofilm fenotipinin, geniş spektrumlu antibiyotik direnci ile ilişkili olduğu görülmektedir. ÇİD izolatların belirgin bir şekilde fazla biyofilm oluşturduğu ve bunun diğer membran proteinlerinin birikimi ile korele olduğu görülmüştür (Gordon 2010). Ayrıca, aminoglikozid kullanımının biyofilm üreten *A. baumannii* ile kolonizasyonu ve enfeksiyon riskini artırdığı gösterilmiştir (Rodriguez 2008).

### 2. 5. 5. Demir Kazanım Mekanizmaları

Bakterilerin çoğalmaları sırasında gereksinim duydukları demiri konak ile yarışarak sağlayabilmesi, enfeksiyonun devamı açısından önemlidir. Laktoferrin ve transferrin gibi demir bağlayan bileşiklerde de bulunabilen demir, ortamda bol olmasına rağmen bakterinin çoğalması sırasında hazırda mevcut değildir. Bu nedenle konakta varlığını sürdürmek için mikroorganizmalar, öncü demir moleküllerini kullanma yeteneklerini ortaya koyar ve bunu da yüksek afiniteli demir kazanım sistemlerini eksprese ederek sağlar. *A. baumannii* farklı demir kaynaklarını kullanabilme yeteneğine ve konağa kolonize olmayı sağlayan bağımsız demir kazanım sistemine sahiptir (Dorsey 2003).

### 2. 5. 6. Çoğunluğu Algılama ‘Quorum Sensing’

Bir bakterinin patogenezi için gerekli olan şartlardan biri, yeni çevreye uyum sağlamak ve çevreden gelen uyarıyı algılayarak yanıt geliştirmektir. Bakteri birçok farklı mekanizma ile pH, ozmolarite, besin kaynağı ve popülasyon yoğunluğu gibi çevresel şartlardaki değişiklikleri algıladığında, metabolizmasında birtakım değişiklikler yaparak yeni şartlara kendini adapte etmeye çalışır. ‘Minimum popülasyon birimini algılama’ olarak ifade edilen ‘Quorum Sensing’ mekanizması, bakterinin etrafındaki popülasyon yoğunluğunu saptamasına yarayan bir sistem olup, bakteri bu bilgiyi birçok genin regülasyonunu kontrol etmekte kullanır. Bu sistem sayesinde bakteri davranışlarını koordine ederek besin kaynaklarına adaptasyon geliştirir, aynı besin için yarışan diğer bakterilere karşı savaşabilir, enfeksiyon

sırasında virülans faktörlerinin regülasyonu sonucu konağın immün yanıtından kaçabilir (Altunçekiç 2009).

### **2. 5. 7. Hastane Ortamında Sağ Kalım**

Bir bakteriyel patojenin sınırlı besin koşullarında ve kuru yüzeylerde yaşayabilme yeteneği doğal ve tıbbi çevrelerde canlı kalarak yayılmasına yardımcı olmaktadır. Bu bakterinin hastane ortamında ve cihaz yüzeylerinde uzun süreli kolonizasyonu salgınlara neden olmaktadır. *A. baumannii*, tıbbi cihazlar, yatak/şilte ve yastıklar, eldivenler, elektrikli ekipmanlar ve tıbbi giysiler gibi cansız yüzeylerde günlerce hatta haftalarca yaşama yeteneğine sahiptir (Towner 2009). Bakterinin çoklu antibiyotik direncine sahip olabilmemesinin yanı sıra doğal ve nozokomiyal çevrelerde uzun süre canlı kalabilme yeteneği enfeksiyonun kontrolünü ve tedavisini güçleştirmektedir (Aşık 2011).

### **2. 6. Antibiyotik Direnci**

Antibiyotik direnci; bir mikroorganizma türünün bazı izolatlarının antibiyotikten etkilenmemesi ya da antibiyotiğe duyarlı bir süşun çeşitli mekanizmalarından biri ile dirençli hale dönüşmesi olarak tanımlanır (Demirtürk 2004).

*Acinetobacter* enfeksiyonlarında yıllar içinde giderek artan oranlarda görülen antibiyotik direnci nedeniyle tedavide zorluklarla karşılaşılmaktadır. 1970'li yıllarda nozokomiyal *Acinetobacter* enfeksiyonları ampisilin, gentamisin, kloramfenikol ve nalidiksik asit gibi sık kullanılan antimikrobial ajanlara duyarlı bulunmuş, ancak zaman içerisinde *A. baumannii* kompleksine ait klinik izolatların direnç oranlarında artış gözlenmiştir (Çiftçi 2011).

*Acinetobacter* izolatlarının antimikrobiallere bilinen direnç mekanizmaları; enzim üretimi (sefalosporinaz ve karbapenemazlar gibi beta laktamazlar, aminoglikozit modifiye eden enzimler), antibiyotik hedef bölge değişiklikleri (penisilin bağlayıcı proteinler, Topoizomerazlar, DNA giraz), hücre duvar

kanallarındaki dış membran porinlerindeki değişiklikler ve eflüks pompasıdır (Gordon 2010).

## 2. 6. 1. Beta-Laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları

*Acinetobacter* türlerinde karbapenemleri de içeren beta-laktam antibiyotiklere karşı direncin temel mekanizması ya kromozom ya da plazmid tarafından kodlanan beta-laktamaz üretiminin sonucudur. Bunlara ilave olarak direnç, beta-laktam antibiyotiğin hücre içine girişinin engellenmesi, penisilin bağlayan proteinlerde (PBP) oluşan değişiklikler ve eflüks pompasının aktive olması sonucu da oluşabilir (Giamarellou 2008).

Beta-laktamazlar doğal ve kazanılmış olarak ikiye ayrılabilir. Doğal beta-laktamazlar türün temel özelliği olup, cins ya da türün tüm izolatlarında bulunup dikey yolla aktarılabilirler. *A. baumannii* kompleksine ait doğal beta-laktamazlar izolatların neredeyse tamamında tanımlanmış olan OXA-51 benzeri beta-laktamazlar ve ampC-tipi sefaloporinazlardır. Sınıf D oksasilinazlardan biri olan OXA-51 enzim kümesi üyelerinin OXA-tipi enzimlerle kombine olarak bulunduğu ve belirli şartlar altında karbapenem direncinde en azından sinerjik rolü olabileceği öne sürülmüştür (Figueiredo 2009). AmpC β-laktamazlar, tüm *A. baumannii*'lerde kromozom da kodlanmış sefalosporinazlardır. Genelde bu tür β-laktamazlar, klinik olarak fark edilebilir dirence neden olmayan düşük düzeyde bir salgılanmaya sahiptir. Bununla birlikte, *AmpC* geninin yanında bir promotor insersiyon dizisi olan ISAbal1'in eklenmesi, beta-laktamazların üretimini artırarak, sefotaksim ve seftazidim gibi geniş spektrumlu bileşiklere yüksek düzeyde dirence neden olur (Poirel 2006).

Yeni tanımlanan sınıf C enzimler günümüzde *Acinetobacter* kökenli sefalosporinazlar olarak adlandırılırlar (*Acinetobacter*-Derived Cephalosporinase (ADCs) ) ve yeni yapılan çalışmalarda yedi adet ADC AmpC geni tanımlanmıştır (Rodriguez 2010).

*Acinetobacter* türlerindeki plazmid aracılı kazanılmış beta-laktamazlar ilk önce TEM, takiben de SHV enzimlerinin gösterilmesiyle gündeme gelmiştir. Ampisilin, karboksipenisilinler ve üredopenisilinlere direnç bu enzimlerin varlığına



atfedilmiş, ancak bunların geniş spektrumlu sefalosporinler ve karbapenemlere karşı aktif olmadığı vurgulanmıştır. Bu enzimlerle ilgili yapılan ilk çalışmalarda Türkiye’den PER-1, Fransa’dan VEB-1, Çin’den SHV-12 ve Japonya’dan CTX-M tipi enzimler bildirilmiştir (Nagano 2004).

Karbapenemler çoğu beta-laktamazlar tarafından hidrolize edilmezler. *Acinetobacter* türlerinde karbapenem ve yeni kuşak sefalosporinleri hidrolize eden metallo-beta-laktamazlar tanımlanmıştır (IMP, VIM). Bu enzimler plazmidlerce kodlanan sınıf B beta-laktamazlardır. Halen tanımlanmış altı grup kazanılmış MBL vardır (IMP, VIM, SIM, SPM, GIM ve GSO). Bunlardan IMP, VIM, SIM ve GSO *Acinetobacter* türlerinin klinik izolatlarında gösterilmiştir. Günümüzde *A.baumannii*’de üç farklı filogruba ait altı IMP varyantı (IMP-1, IMP-2, IMP-4, IMP-5, IMP-6, IMP-8 ve IMP-11) saptanmıştır. Şu ana kadar *A.baumannii*’de VIM enzimleri oldukça nadir olarak saptanmıştır. Sadece Güney Kore’den VIM-2, Yunanistan’dan da VIM-1 bildirimleri yapılmıştır. SIM’de VIM gibi nadir olup sadece Kore’deki *A. baumannii* klinik izolatlarında bildirilmiştir (Lee 2010).

Bununla birlikte oksasilinazları içeren karbapenem hidrolize eden beta-laktamazlar (karbapenemazlar) *A. baumannii*’de karbapenem direncinin ortaya çıkmasına önemli bir katkıda bulunmaktadır. Bu enzimler Ambler sınıf D’de yer almakta ve karbapenemleri hidrolize etmektedir. OXA-23, *A. baumannii*’de bu enzimlerin tanımlanan ilk temsilcisidir. Diğer bir tanımlanan karbapenemaz ise ilk olarak Fransa’da saptanan OXA-58’dir. Bu enzimler tüm dünyada farklı coğrafi bölgelerde de saptanmıştır (Mugnier 2010).

Beta-laktam gibi küçük hidrofilik moleküller, bakteri içine dış membran porin proteinleri yoluyla girer. Porin proteinlerinde değişim ile hücre geçirgenliğinde azalma, antibiyotiklere direnç gelişiminde rol oynamaktadır. İmipenem ve meropenem direnci CarO adı verilen ısıyla değişebilen 25-29 kDa’luk OMP kaybı ile de ilişkilendirilmiştir (Siroy 2005). PBP sayısında azalma, kromozomal mutasyonlar sonucu PBP’lerin antibiyotiklere afinitelerinin azalması ve beta-laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP’lerin sentezlenmesi ile antibiyotiklere direnç gelişebilir (Kazak 2010).

Esas görevi sitoplazmik zarı bozabilecek kimyasalları dışarı atmak olan eflüks pompaları antimikrobiyal ajanların etkilerinin azaltılmasına ya da etkisizleştirilmesine neden olarak direnç gelişiminde rol oynamaktadır. *A. baumannii*'de *adeABC* eflüks pompaları tanımlanmış ve aminoglikozidlere dirençteki rolü ve kloramfenikol, florokinolonlar, trimetoprim ve sefotaksime azalmış duyarlılıkla ilişkisi açıkça ortaya konmuştur. Ayrıca *adeA*, *adeB* ve *adeC* genlerinin sıklıkla bulunduğu; *adeS* ve *adeR* genleri ile de birliktelik gösterdikleri ifade edilmiştir (Giamarellou 2008).

### 2. 6. 2. Kinolonlara Karşı Direnç Mekanizmaları

1990'a kadar kinolonlar *Acinetobacter* türlerine karşı oldukça iyi aktivite göstermişler, ancak daha sonra klinik izolatlar bu antibiyotiklere hızla direnç geliştirmişlerdir. DNA giraz ve topoizomeras IV enzimlerinin alt birimlerindeki değişiklikler kinolon direncine yol açmaktadır. Değişikliğin *gyrA* ve *parC* genlerindeki mutasyonlara bağlı olduğu düşünülmektedir. *GyrA* mutasyonu tek başına orta düzeyde bir direnç sağlarken, *gyrA* ile birlikte *parC* mutasyonu yüksek düzey direnç sağlamaktadır. Dış membran geçirgenliğinin azalması ve/veya ilacın aktif olarak dışarı atılması da kinolonların hücre içinde azalmasına neden olarak bakterinin bu antibiyotiğe duyarlılığını azaltmaktadır (Peleg 2008).

### 2. 6. 3. Aminoglikozidlere Direnç Mekanizması

*Acinetobacter* türlerinde aminoglikozid direnci çoğunlukla aminoglikozid modifiye edici enzimlerin (asetiltransferaz, adeniltransferaz ve fosfotransferaz) üretiminden kaynaklanır. Aminoglikozid direncinin diğer mekanizmalarının, hedef ribozomal protein değişiklikleri ve aminoglikozidlerin hücre içine taşınması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Gordon 2010).

### 2. 6. 4. Polimiksinlere Karşı Direnç Mekanizması

ÇİD *A. baumannii*'nin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde son seçenek olarak kullanımı artan polimiksin B ve polimiksin E (kolistin), ilk olarak 1947'de izole edilen peptid antibiyotiktir. 1950-1980 arası kullanılmış ve 1980'lerde gelişen

nefrotoksisite, nöromusküler blokaj ve nörotoksisite gibi yan etkiler nedeniyle kullanımını oldukça azalmış ve 2000'li yıllara gelindiğinde, kullanımları sadece kistik fibroz hastalarında çoklu dirençli gram negatif basillerle oluşan akciğer enfeksiyonları ile sınırlanmıştır. Son yıllarda çoklu dirençli *A. baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* veya *Klebsiella pneumoniae* bakterilerinin neden olduğu enfeksiyonlarda ve özellikle de kolistin dışındaki tüm antibiyotiklere dirençli *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* enfeksiyonlarında kolistin tedavisi yeniden gündeme gelmiştir (Akalin 2007). Ancak, yakın dönemde kolistine de dirençli *A. baumannii*'ler rapor edilmiştir. *A. baumannii*'nin lipopolisakkaritindeki modifikasyon kolistin direncindeki en önemli mekanizmadır. Bununla birlikte hücre duvar kanallarındaki dış membran porinlerindeki değişiklikler ve eflüks pompası direnç gelişimine neden olan diğer mekanizmalardır. Dirence neden olabilecek enzimatik mekanizmalar henüz rapor edilmemiş olmasına rağmen *Bacillus polymyxa* türlerinin kolistinaz enzimi ürettiği bilinmektedir (Falagas 2010). Bazı raporlarda *Acinetobacter* türleri arasında kolistin için heteroresistans tanımlanmıştır. İn-vitro verilere göre heteroresistans kolistin dozu ile ilişkilidir. Heteroresistans gelişimi kolistin tedavisi sırasında tedavi başarısızlığına neden olabilir. Kolistin ile monoterapi, kolistinin uygunsuz dozlarda ve uzun süreli kullanımı heteroresistans için risk faktörleri olarak tarif edilmiştir (Yau 2009).

Kolistin duyarlılık testleri ile ilgili standart yöntemler halen tartışılmaktadır. Duyarlılık testleri için en doğru sonuç veren tek test dilüsyon testidir. Disk difüzyon testi kolistin için uygun değildir; dirençli ve duyarlıları ayırt etmemektedir. Mevcut gradiyent testleri kolistin MİK değerlerinde düşük sonuç vermektedir ve kalite kontrol suşları uygun aralıkta olsa bile bu test kullanılmamalıdır. Yarı otomatize testlere ilişkin araştırmalarda ise sık olarak 'çok büyük hata' saptanmıştır. Yarı-otomatize cihaz kullanıcıları çok sıkı kalite kontrol uygulamalı ve üreticilerinden cihazların kolistin duyarlılığına ilişkin doğru sonuç verdiğini onaylatmalıdır (Eucast 2017).

### 2. 6. 5. Tetrasiklin Ve Tigesiklin Direnci

Tetrasiklinlere karşı direnç gelişiminde iki önemli mekanizma; genetik olarak aktarılabilen tetrasiklin direnç genlerinin (TetA ve TetB) antibiyotiği dışarı atan eflüks pompası proteinlerinin yapımının sağlanması ve ribozomal korunmadır. Glisilsiklin grubu yeni bir ajan olan tigesiklin geniş spektrumlu ve ribozomlar üzerine tetrasiklinlerle aynı bağlanma bölgesine sahip olmasına rağmen tetrasiklinler için sözü edilen direnç mekanizmalarından etkilenmemektedir. Tigesiklin de tetrasiklinler gibi ribozomlardaki bağlanma noktasına bağlanır. Ancak tigesiklin bu bağlanma bölgesine tetrasiklinden beş kat daha kuvvetli bağlanır. Bu kuvvetli bağlanma, bakteri ribozomlarında tetrasiklin bağlanmasını engelleyen Tet (M) proteininin neden olduğu ribozomal korunmadan tigesiklinlerin etkilenmemesini sağlamaktadır. Diğer bir direnç mekanizması olan eflüks pompası için de tigesiklin zayıf substrat özelliği göstermektedir (Çalık 2007).

Tigesiklin, başlıca ÇİD suşlar olmak üzere *A.baumannii* enfeksiyonlarının tedavisi için yeni umut veren ve klinik kullanıma en son giren antimikrobiyal ajanlardan biridir. Klinik kullanımda çok uzun süredir bulunmadığı için söz konusu direncin kaynağı hakkında henüz bir bilgi bulunmamaktadır. Mutasyonlarla oluşacak yeni eflüks pompaları ve ribozomal korunma genleri direnç gelişimini sağlayabilir. Tüm antimikrobiyallerde olduğu gibi tigesiklinin tedavide artan oranlarda yaygın olarak kullanılmaya başlamasıyla bu antibiyotiğe dirençli bakteri gelişimi söz konusu olabilir (Taneja 2011).

### 2. 7. Kurkumin

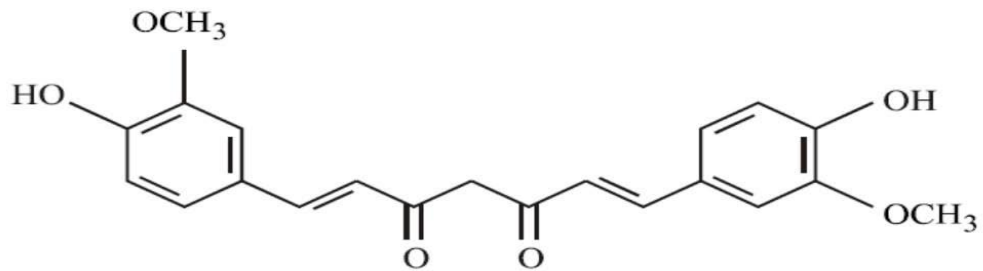
*Curcuma longa* (*C. longa*), Hindistan ve Çin'de yaygın olarak bulunan *Zingiberaceae* ailesine ait bir bitkidir. Bu bitkinin köklerinden elde edilen turmerik Hindistan'da yüzyıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır (Pandya 2000).

*C. longa* rizomları, karbonhidratlar (% 60-70), proteinler (% 6-8), esansiyel (% 3-7) ve sabit yağlar (% 5-10), lifler (% 2-7), mineraller (% 3-7) ve curcuminoidlerden (% 2-6) oluşmaktadır. Ayrıca fitosteroller, tokoferoller ve yağ asitleri de tespit edilmiştir (Balakrishnan 2007). Kurkumin, hidrofobik bir polifenol

olup turmeriğin ana aktif bileşenidir. Turmerik, kurkumine ek olarak kurkuminoid adı verilen diğer bileşenler de içermektedir. Kurkumin, demethoksikurkumin, bisdemethoksikurkumin ve son zamanlarda tanımlanan siklokurkumin turmerikten elde edilen başlıca kurkuminoidlerdir (Kiuchi 1993). Kurkuminoidler turmeriğin sarı-turuncu rengini vermektedir (Balakrishnan 2007). Çeşitli çalışmalar kurkuminin demethoksikurkumin ve bisdemethoksikurkuminden daha aktif olduğunu göstermiştir (Aggarwal 2003).

Turmeriğe rengini veren ana kısım 1842 yılında Vogel tarafından izole edilmiştir ve kurkumin olarak adlandırılmıştır. (Araújo 2001). Kimyasal yapısı ( $C_{21}H_{20}O_6$ ) Lompe ve Milobedeska tarafından 1910 yılında tanımlanmıştır (Milobedzka 1910). Kurkumin (1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadine-3,5-dione); suda ve eterde çözünmez iken etanolde, dimetilsülfoksitte (DMSO), asetik asitte ve diğer organik çözücülerde çözünebilen bir bileşiktir (Aggarwal 2003).

Kurkumin,  $\beta$  pozisyonunda bağlanmış 2 keton grubu içerir. Bu yapı antioksidan olmasında rol oynar (Pan 1999). Kurkuminin kimyasal yapısı Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



**Şekil 2. 1: Kurkuminin kimyasal yapısı**

Kurkuminin birçok farklı farmakolojik aktiviteleri ve biyolojik faydaları son yıllarda önemli ölçüde dikkat çekmiştir. Kurkuminin antioksidan, antitümör, antiinflamatuvar, antikarsinojenik, antialerjik, antidepresan etkileri ve serbest radikal temizleyicisi olduğu yapılan birçok çalışmayla gösterilmiştir. Ayrıca kurkuminin

anoreksia, öksürük, diabet, karaciğer hastalıkları, romatizma, alzheimer, safra ile ilgili rahatsızlıklar, sinüzit gibi hastalıklara karşı güçlü bir ajan olduğuna inanılmaktadır (Duvoix 2005).

### 2. 7. 1. Kurkuminin Etki Mekanizmaları

**1. Antioksidan Etkisi:** Kurkumin doğrudan reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri ile etkileşime girmesinden ve dolaylı olarak hücre koruyucu ve antioksidan proteinleri arttırmasından dolayı çift yönlü bir antioksidandır (Fujisawa 2004). Kurkumin etkili bir antioksidan olup süperoksit anyonu, hidroksil radikali, hidrojen peroksit, nitrik oksit, peroksinitrit, peroksil radikali gibi serbest radikalleri ortamdaki uzaklaştırma yeteneğine sahiptir. Aynı zamanda süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, hem oksijenaz-1, glutatyon-S-transferaz ve nikotin amid adenin dinükleotid fosfat gibi hücre koruyucu proteinlerin ekspresyonunu arttırmaktadır (Trujillo 2014).

**2. Antimikrobiyal Etkinliği:** Yiyeceklerde ve giyim ürünlerinde renk verme amacıyla kullanımı dışında *E.coli* ve *S.aureus*'a karşı bakterisidal etkinlik göstermesi nedeniyle antimikrobiyal olarak önerilmiş ve bu etkinliği mikrobiyolojik test yöntemleriyle ispatlanmıştır. Antiviral (İnsan immün yetersizliği (HIV) tip 1 ve tip 2) antimalaryal, antifungal, anti-protozoal (*Leishmania major*) etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Hindistan'da antimikrobiyal ajan olarak halen kullanılmaktadır (Pandya 2000).

**3. Anti-inflamatuar etki:** Nükleer faktör kappa-B (NF- $\kappa$ B) ve aktivatör protein-1 (AP-1) aktivasyonunu inhibe edip antiinflamatuar etki oluştururken; Tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), İnterlökin (IL-1,2,6,10), granülosit koloni stimulan faktör (G-CSF) miktarını arttırır (Choudhary 1999). Hücre kültüründe yapılan çalışmalarda lipopolisakkarit (LPS) ve interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) ile aktive edilmiş makrofajlarda kurkuminin indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (İlbey 2009).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3. 1. Gereç**

##### **3. 1. 1. Standart Kökenler**

*A. baumannii* ATCC 19606

##### **3. 1. 2. Besiyerleri**

1. Mueller-Hinton Sıvı Besiyeri (TM MEDIA)
2. MacConkey Agar (TM MEDIA)
3. % 15 gliserin içeren buyyon besiyeri (MERCK)

##### **3. 1. 3. Antibiyotik Tozları**

1. Ciflosin 400 mg/ml İ.V. İnfüzyon Solüsyonu (Ciprofloksasin)
2. TIENAM 500 mg Enjektabl Flakon (İmipenem / Silastatin)
3. KOLİSOD 150 mg İ.M./ İ.V. Enjeksiyon ve İnhalasyon için Liyofolize Toz İçeren Flakon (Kolistin Baz)

##### **3. 1. 4. Kimyasal Maddeler**

1. Kurkumin (SİGMA)
2. CaCl<sub>2</sub> (MERCK)
3. MgCl<sub>2</sub> (MERCK)
4. Gliserin (MERCK)
5. DMSO (SİGMA-ALDRİCH)
6. PBS (PHOSPHATE BUFFERED SALİNE)

### 3. 1. 5. Laboratuvar Malzemeleri ve Cihazlar

1. Buzdolabı (UĞUR)
2. Derin dondurucu (PANASONİC)
3. Hassas terazi (SHIMADZU)
4. Otoklav (ALP)
5. Etüv (WİSECUBE)
6. Pastör fırını (MEMMERT)
7. Vorteks karıştırıcı (IKA VOTEKS GENİUS 3)
8. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) plak okuyucu (BİOTEK)
9. Distile su cihazı (ELGA)
10. Isıtıcı manyetik karıştırıcı (WİSESTİR)
11. Otomatik Pipetler (10 µl, 200 µl, 1000 µl) (Pipet4u, SPİNREACT)
12. Pipet ucu (10 µl, 200 µl, 1000 µl) (İSOLAB)
13. Cam deney tüpleri (13x100 mm) (CİTOGLAS)
14. Polistiren 96 kuyucuklu plak (CİTOTEST)
15. Petri kutusu (90 mm) (İSOLAB)
16. McFarland Türbidite Standardı (BD)
17. Çalkalayıcı (IKA)



### 3. 2. Yöntem

Çalışmamızda, Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilmiş olan klinik ve poliklinik örneklerinden elde edilen *A. baumannii* izolatlarına (n:100) kolistin, imipenem, ciprofloksasin antibiyotikleri ile kurkumin kombinasyonlarının sinerjistik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

#### 3. 2. 1. Örneklerin Toplanması

Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli klinik ve poliklinik örneklerinden 25 Haziran 2014 - 25 Nisan 2017 tarihlerinde arasında izole edilen 100 *A. baumannii* izolatı çalışmaya alındı.

MacConkey agarda üreyen laktöz negatif kolonilere oksidaz testi yapıldı. Non-fermentatif, oksidaz negatif koloniler VITEK-MS (bioMérieux) kullanılarak tanımlandı. Bakteriler çalışma zamanına kadar -30°C'de % 15'lik gliserin içeren buyyon besiyerinde stoklandı. Çalışma Namık Kemal Üniversitesi Etik Kurulu'ndan onay alınarak gerçekleştirildi.

İlk olarak izolatların kurkumin, kolistin, imipenem, ve ciprofloksasin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri broth mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi. Belirlenen MİK değerlerine göre duyarlı ve dirençli suşlar gruplandırılarak Broth mikrodilüsyon checkerboard yöntemi ile sinerjistik etki çalışıldı.

#### 3. 2. 2. Besiyerlerinin Hazırlanması

##### 1. Magnezyum Stok Çözeltisi Hazırlanması

9,52 g MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O 100 ml deiyonize suda çözüldü ve membran filtre ile steril edildi.

## 2. Kalsiyum Stok Çözeltisi Hazırlanması

11,09 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  100 ml deiyonize suda çözüldü ve membran filtre ile steril edildi. Her iki çözelti de  $2-8^\circ\text{C}$ 'de saklandı.

## 3. Katyon Ayarlı Müeller-Hinton Broth (KAMHB) Besiyerinin Hazırlanması

Üretici firmanın önerilerine göre 1 litre besiyeri hazırlamak için 21 gram tartılan Müeller-Hinton besiyerine distile su eklenerek ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve otoklavda  $121^\circ\text{C}$ 'de 15 dk tutularak sterilizasyon sağlandı. Katyon eklenmeden önce bir gece  $2-8^\circ\text{C}$ 'de bekletildi. Kullanılacağı zaman su banyosunda soğutuldu. Mueller hinton broth içerisinde her litrede 1 mg'lık artış sağlamak için kalsiyum ve magnezyum stok çözeltisinden litre başına 0,1 ml eklendi. KAMHB inokulum hazırlamak, broth mikrodilüsyon ve broth mikrodilüsyon checkerboard yöntemlerini çalışmak için kullanıldı.

## 4. MacConkey Agarın Hazırlanması

Üretici firmanın önerilerine göre 1 litre besiyeri hazırlamak için 51,5 gram tartılan MacConkey besiyerine distile su eklenerek ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra otoklavda  $121^\circ\text{C}$ 'de 15 dk tutularak sterilizasyon sağlandı. Otoklavdan çıktığında soğutulup steril petrilere dökülerek kullanıma hazır hale getirildi.

### 3. 2. 3. Kurkumin ve Antibiyotik Stok Solüsyonlarının Hazırlanması

Antibiyotikler aşağıdaki Tablo 3. 1'de belirtilen çözücü ve sulandırıcılar kullanılarak stok solüsyonları hazırlandı.

Solüsyonlar hazırlanırken, tartılacak antibiyotik miktarı veya sulandırma hacmi, antimikrobiyal maddenin potensi dikkate alınarak  $\text{Ağırlık (mg)} = \text{Hacim (ml)} \times \text{Konsantrasyon } (\mu\text{g/ml}) / \text{Potens } (\mu\text{g/mg})$  formülüyle hesaplandı (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) 2006).

**Tablo 3. 1:** Çözücü ve Sulandırıcılar

<b>Antimikrobik İlaç</b>	<b>Çözücü</b>	<b>Sulandırıcı</b>
<b>Kolistin</b>	Su	Su
<b>İmipenem</b>	Fosfat tamponu Ph 7,2; 0,01mol/l	Fosfat tamponu Ph 7,2; 0,1mol/l
<b>Ciprofloksasin</b>	Su	
<b>Kurkumin</b>	DMSO	Fosfat tamponu Ph 7,2; 0,1mol/l

### 1. Kolistin Stok Solüsyonu

10 mg liyofilize antibiyotik 10 ml enjeksiyonluk suda çözülerek 1000 µg /ml konsantrasyonda stok solüsyon hazırlandı. 32 µg/ml konsantrasyonda başlangıç solüsyonunu hazırlamak için stok solüsyonundan 3,2 ml alındı ve 100 ml'ye tamamlanacak şekilde sulandırıcısından eklendi.

### 2. İmipenem Stok Solüsyonu

20 mg liyofilize antibiyotik 20 ml enjeksiyonluk suda çözülerek 1000 µg /ml konsantrasyonda stok solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan stok solüsyondan 128 µg/ml konsantrasyonda başlangıç solüsyonunu hazırlamak için 12,8 ml alındı ve 100 ml'ye tamamlanacak şekilde sulandırıcısından eklendi.

### 3. Ciprofloksasin Stok Solüsyonu

Antibiyotik sıvı (çözülmüş halde) olarak temin edildiğinden 1000 µg /ml konsantrasyondaki antibiyotik solüsyonundan 32 µg/ml konsantrasyonda solüsyon hazırlamak için 1,6 ml alındı ve 100 ml'ye tamamlanacak şekilde çözücüsünden eklendi.

### 4. Kurkuminin Stok Çözeltilisinin Hazırlanması

Kurkumin stok çözeltileri hazırlanırken çözücü olarak DMSO, sulandırıcı olarak PBS kullanıldı (Tyagi 2015). Firma tarafından bildirilen %76 saflıktaki

kurkuminin 269,4 mg'ı önce 5 ml DMSO içerisinde çözüldükten sonra 5120 µg/ml konsantrasyonda çözeltisi elde edildi.

### 3. 2. 4. İnokulum Hazırlanması

Bakteriler -30<sup>0</sup>C'den çıkarılarak pasajları yapıldı. Üreyen kolonilerin ikinci kez tek koloni ekim yöntemi ile MacConkey agara pasajlarak 18-24 saat sonra taze kültürlerinden öze yardımı ile 5 ml katyon ayarlı mueller hinton broth (KAMHB) besiyerine 3-5 koloni alınarak 35<sup>0</sup>C'de 1 saat inkübasyondan sonra Mc Farland 0,5 (1,5x10<sup>8</sup> CFU/mL) standardına göre süspansiyonları hazırlandı. Log-faz yöntemi kullanıldı. (Flejzor 1985).

Daha sonra hazırlanan süspansiyon 9 ml'lik KAMHB besiyerine 1 ml bakteri süspansiyonundan eklendi ve 1x10<sup>7</sup> CFU/ml konsantrasyon elde edildi. Bu işlem bir kez daha yapılarak 1x10<sup>6</sup> CFU/ml şeklinde bakteri konsantrasyonu oluşturuldu (CLSI 2017).

### 3. 2. 5. Broth Mikrodilüsyon Yöntemi İle MİK Değerlerinin Belirlenmesi

A. *baumannii* kökenlerinin kolistin, imipenem ve ciprofloksasine karşı duyarlılıklarının belirlenmesinde CLSI 2015 kriterleri kullanıldı (Tablo 3. 2).

**Tablo 3. 2:** Antibiyotiklerin MİK aralıkları

Antibiyotik	S (susceptible, duyarlı)	R (resistant, dirençli)
<b>Kolistin</b>	≤ 2	≥ 4
<b>İmipenem</b>	≤ 2	≥ 8
<b>Ciprofloksasin</b>	≤ 1	≥ 4

Test edilecek mikroorganizmalar için antibiyotiklerin konsantrasyon (dilüsyon) aralığı kolistin için 0,015-8 µg/ml, imipenem için 0,06-32µg/ml, ciprofloksasin için 0,015-8 µg/ml olarak belirlendi. Kurkumin için konsantrasyon aralığı 0,125-1280 µg/ml olarak belirlendi.

Özet olarak, doksanaltı (8 x 12) kuyucuklu ve kuyucuk hacmi 0,2 ml olan plaklara 100 µl KAMHB besiyeri dağıtıldı. Dikey sıranın ilk kuyucuklarına 100 µl hazırlanan antibiyotik konsantrasyonu eklendi ve dilüsyona 11 numaralı sütuna kadar devam edildi. Pipet ucunda kalan miktar pipet ucu ile birlikte atıldı. Bu şekilde antibiyotik konsantrasyonu 11 numaralı (negatif kontrol) kuyucuğa kadar dilüsyon yapıldı. 1-10 ve 12 (pozitif kontrol) numaralı sütunlara 100 µl bakteri süspansiyonu eklendi. Mikropleytin her bir yatay sırası bir suş için çalışıldı. Bir mikropleyt ile aynı anda sekiz suş çalışıldı. İnokulum final konsantrasyonu  $5 \times 10^6$  CFU/ml olacak şekilde bakteri süspansiyonundan 100 µl dağıtıldı. Hazırlanan plaklar 16-18 saat  $35 \pm 2^\circ$  C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda üreme olan kuyucuklarda bulanıklık gözlemlendi. Üreme gözlenmeyen en düşük antibiyotik konsantrasyonu içeren kuyucuktaki antibiyotik konsantrasyonu bakterinin MİK değeri olarak belirlendi.

Stok antibiyotik solüsyonlarını hazırlarken kullanıma hazır antibiyotiklerin potensleri 1000 olarak kabul edilmiştir. Potenslerin kontrolü için ATCC 25922 *Escherichia coli* (*E. coli*) standart suşu kullanılmıştır. Standart suşun belirlenmiş MİK aralıklarını sağlayan konsantrasyona göre stok solüsyon konsantrasyonları ve dilüsyonlar hazırlanmıştır.

### 3. 2. 6. Broth Mikrodilüsyon Checkerboard Yöntemi

Broth mikrodilüsyon checkerboard yöntemi American Society for Microbiology standartlarına göre çalışıldı. Test edilen izolatların tümü ciprofloksasine dirençli olduğundan bu antibiyotik sinerji çalışmasından çıkarıldı. İmipenem ve kolistine duyarlı olan on izolat ve dirençli olan on izolat ile çalışmaya devam edildi.

Kolistin dirençli suşlar için 0,03-8 µg/ml, kolistin duyarlı suşlar için 0,001875-0,25 µg/ml, imipenem dirençli suşlar için 0,125-16 µg/ml, imipenem duyarlı suşlar için 0,015-2 µg/ml dilüsyon aralığı belirlendi. Kurkumin konsantrasyon aralığı 5-640 µg/ml olarak çalışıldı.

Doksanaltı (8 x 12) kuyucuklu ve kuyucuk hacmi 0,2 ml olan mikropleytlere 100 µl KAMHB besiyeri dağıtıldı. Yatay sıradaki (A1-A8) ilk kuyucuklara 100 µl

kurkumin eklendi. Yukarıdan aşağıya doğru dilüsyon yapıldı ve son kuyucuktaki kalan miktar pipet ucu ile birlikte dışarı atıldı. Dikey sıraya (A1-H1) hazırlanan antibiyotik konsantrasyonundan 100 µl eklendi. Soldan sağa doğru dilüsyon yapıldı ve son kuyucuktaki kalan miktar pipet ucu ile birlikte dışarı atıldı. Dilüsyon işleminden sonra A1 ve H8 kuyucukları da dahil olmak üzere tüm kuyucuklara 100 µl bakteri süspansiyonu eklendi. 9 numaralı (pozitif kontrol) sütuna bakteri süspansiyonu eklendi. 10 numaralı (negatif kontrol) sütunda ise sadece besiyeri eklendi. İnoküle edilen bakteri final konsantrasyonu  $5 \times 10^5$  CFU/ml oldu. Hazırlanan plaklar 16-18 saat  $35 \pm 2^\circ$  C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kurkuminin yoğun renginden dolayı kuyucukların okumalarında zorluklar yaşandı. Üreme gözlenmeyen en düşük antibiyotik ve kurkumin konsantrasyonu içeren kuyucuktaki konsantrasyonun MİK değerlerini belirleyebilmek için A1-H8 arasındaki tüm kuyucuklardan MacConkey agar besiyerine ekim yapıldı. İnkübasyon sonunda üreme olan ve üreme olmayan kuyucuklar not edildi. Doğruluğunu belirlemek için bir de ELİSA okuyucuda 450 nm de okutuldu. Bir sonraki çalışmaya eklenen her basamak için elisa okuyucuda okuma yapıldı. İlk olarak sadece besiyeri, ikinci olarak kurkumin ve besiyeri, üçüncü olarak besiyeri-kurkumin-antibiyotik eklenmiş hali ve son olarak da besiyeri-kurkumin-antibiyotik-bakteri süspansiyonu içeren plak okutulmuştur. Tüm bu okumalardaki değerler karşılaştırılarak okumalar arasında farklar hesaplanmıştır. Son okumada plaklarda 0,500'den fazla artış saptanan kuyucuklar üreme pozitif olarak değerlendirildi. Bundan sonraki çalışmalarımızda hazırlanan plaklar inkübasyondan önce ELISA okuyucu da 450 nm'de okutuldu (Şekil 3. 1).

Daha sonra 16-18 saat  $35 \pm 2^\circ$  C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tekrar ELISA okuyucu da okutuldu. İnkübasyondan önce ve inkübasyondan sonra okutulan değerler arasında 0,500'lükten fazla artışlarda üreme olduğu saptandı (Şekil 3. 2). 0,500'ün altındaki farklar da ise üreme olmadığı belirlendi. Üreme gözlenmeyen en düşük antibiyotik konsantrasyonu içeren kuyucuk bakterinin antibiyotik ve kurkumin kombinasyonu MİK değeri olarak belirlendi.

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>PK</b>	<b>NK</b>
<b>A</b>	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	0,281	0,169
<b>B</b>	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	0,283	0,173
<b>C</b>	2,931	3,804	>4,000	>4,000	3,987	>4,000	>4,000	>4,000	0,287	0,171
<b>D</b>	1,881	2,654	3,029	3,365	3,435	3,435	3,443	3,57	0,288	0,171
<b>E</b>	1,278	1,702	1,9	2,073	2,142	2,208	2,127	2,013	0,284	0,169
<b>F</b>	0,988	1,231	1,252	1,446	1,487	1,504	1,499	1,449	0,28	0,177
<b>G</b>	0,798	0,938	1,002	1,108	1,135	1,151	1,137	1,128	0,275	0,169
<b>H</b>	0,634	0,776	0,845	0,878	0,922	0,946	0,916	0,922	0,282	0,173

**Şekil 3. 1:** İnkübasyon öncesi ELISA okuyucu sonuçları

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>PK</b>	<b>NK</b>
<b>A</b>	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	1,013	0,178
<b>B</b>	>4,000	>4,000	>4,000	3,724	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	0,915	0,178
<b>C</b>	3,781	3,889	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	0,897	0,176
<b>D</b>	2,175	3,854	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	>4,000	0,877	0,18
<b>E</b>	1,462	2	2,245	2,285	2,601	2,966	2,93	2,724	0,843	0,176
<b>F</b>	1,088	1,437	1,594	1,802	1,841	2,442	2,559	2,474	0,853	0,177
<b>G</b>	0,828	1,046	1,156	1,286	1,31	1,927	1,995	1,902	0,796	0,169
<b>H</b>	0,641	0,769	0,881	0,949	0,917	1,69	1,676	1,656	1,097	0,168

**Şekil 3. 2 :** İnkübasyon sonrası ELISA okuyucu sonuçları

### 3. 2. 7. Fraksiyonel İnhibitor Konsantrasyonu İndeksi (FİKİ) Değerlendirilmesi

Kombinasyonların etkinliğini belirlemek için FİKİ aşağıdaki formüle göre hesaplandı (Verbist 1984).

A: Kombinasyonda kullanılan antibiyotik

B: Kombinasyonda kullanılan kurkumin

FİKİ hesaplanması:

$$FİK A = \frac{\text{B'nin varlığında A'nın MİK sayısal değeri}}{\text{Tek başına A'nın MİK sayısal değeri}}$$

$$FİK B = \frac{\text{A'nın varlığında B'nin MİK sayısal değeri}}{\text{Tek başına B'nin MİK sayısal değeri}}$$

$$\Sigma FİKİ = FİK A + FİK B$$

$\Sigma FİKİ \leq 0,5$ : sinerji

$\Sigma FİKİ > 0,5$  ve  $4 \leq$  : etkisiz (indiferens)

$\Sigma FİKİ \geq 4$ : antagonist

### 3. 2. 8. İstatistik Değerlendirme

Kolistin ve imipenem dirençli ve duyarlı gruplar arasında kurkumin ile etkileşimleri açısından (sinerjistik, indifferens, antagonist) anlamlı bir fark olup olmadığını görmek için, ki-kare testi yapılması planlanmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi % 95'lik güven aralığında  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.



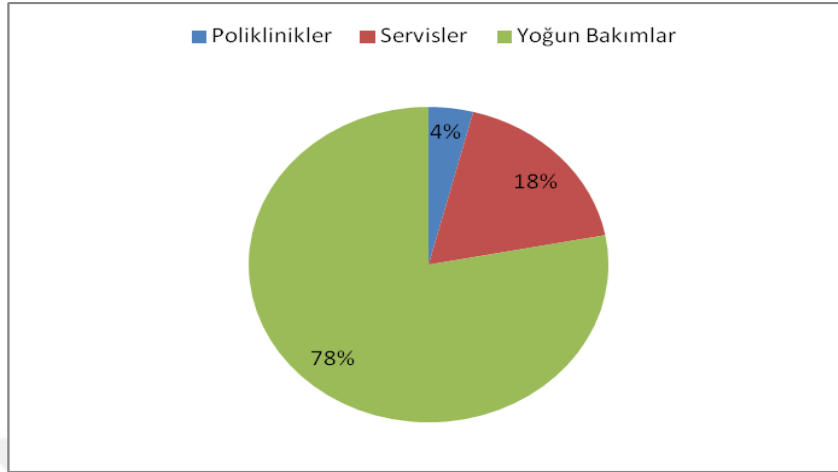
#### 4. BULGULAR

Çalışmamızda 25 Haziran 2014 - 25 Nisan 2017 tarihleri arasında Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na yoğun bakım, servisler ve polikliniklerinden farklı tarihlerde kültür için gönderilen klinik örneklerden izole edilen 100 adet *A. baumannii* izolatı seçilmiştir. Çalışmaya alınan 100 *A. baumannii* izolatının kliniklere göre dağılımı Tablo 4. 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 4. 1:** İzolatların kliniklere göre dağılımı

Klinik	n (izolat sayısı)
Göğüs Hastalıkları Polikliniği	1
Nefroloji Polikliniği	1
Üroloji Polikliniği	1
Tıbbi Onkoloji Polikliniği	1
Enfeksiyon Hastalıkları Servisi	2
FTR Servisi	1
Göğüs Hastalıkları Servisi	1
Hematoloji Servisi	3
Kadın Hastalıkları Servisi	2
Kalp Damar Cerrahisi Servisi	1
Ortopedi Servisi	4
Plastik Cerrahi Servisi	1
Tıbbi Onkoloji Kliniği	2
Tiroid Endokrinoloji Servisi	9
Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi	4
Çocuk Yoğun Bakım Ünitesi	2
Dahili Yoğun Bakım Ünitesi	8
Genel Yoğun Bakım Ünitesi	56
KVC Yoğun Bakım Ünitesi	1
Koroner Yoğun Bakım Ünitesi	7

*A. baumannii* izolatlarının poliklinik, servis ve yoğun bakım ünitelerine (YBÜ) göre yüzde olarak dağılımı Şekil 4. 1’de gösterilmiştir.



**Şekil 4. 1:** *A. baumannii* üreyen hastaların kliniklere göre yüzdeleri

Çalışmaya alınan *A. baumannii* üremesinin yüzde olarak dağılımına baktığımızda % 78 ile YBÜ, % 18 ile servisler ve % 4 ile poliklinikler yer almaktadır.

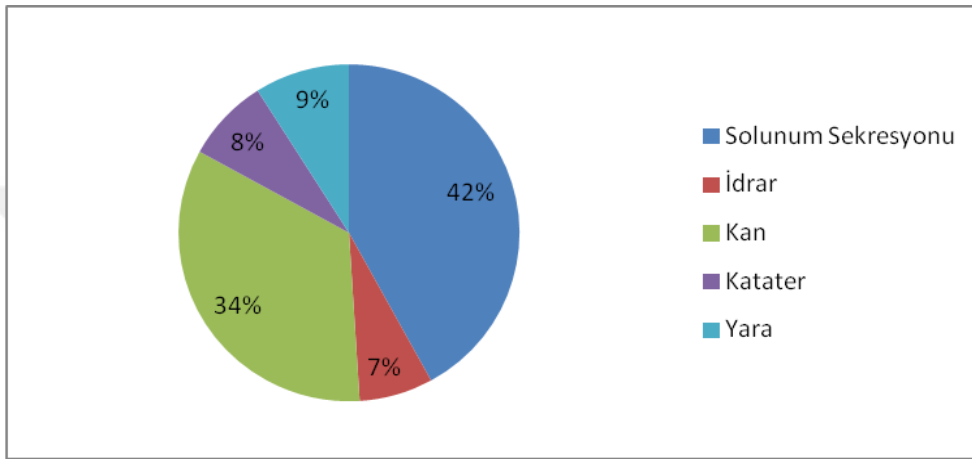
İzolatların klinik örneklerle göre dağılımı incelendiğinde sıklık sırasına göre solunum sekresyonu, kan, yara, katater ve idrar örneklerinden izole edildikleri görülmüştür. İzolatların klinik örneklerle ve yıllara göre dağılımı Tablo 4. 2’de gösterilmektedir.

**Tablo 4. 2:** *A. baumannii* suşlarının izole edilen örneklerin yıllara göre dağılımı

ÖRNEK TİPİ	2014	2015	2016	2017	Toplam
Solunum Sekresyonu	3	6	18	15	42
İdrar	1	1	4	1	7
Kan	0	3	19	12	34
Katater	0	0	5	3	8
Yara	2	0	5	2	9
<b>Toplam</b>	<b>6</b>	<b>10</b>	<b>51</b>	<b>33</b>	<b>100</b>

Çalışmaya alınan *A. baumannii* izolatlarında örnek tiplerinin yıllara göre dağılımına baktığımızda 2014 yılında 6, 2015 yılında 10, 2016 yılında 51 ve 2017 yılında 33 izolat yer almaktadır.

*A. baumannii* izolatlarının örnek tiplerinin yüzde olarak dağılımı Şekil 4. 2' de gösterilmiştir.



**Şekil 4. 2:** *A.baumannii* izolatlarının örnek tipine göre yüzde oranları

İzolatların tümünün örnek tipine dağılımı incelendiğinde ilk sırada % 42 ile solunum sekresyonu, % 34 ile kan, % 9 ile yara, % 8 ile katater ve % 7 ile idrar örnekleri oluşturmuştur.

Çalışmaya alınan 100 izolatın tamamı ciprofloksasine dirençliydi. Kolistin 23 (% 23), imipenem ise 10 (% 10) izolatta dirençli bulundu. İzolatların antibiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 4. 3'de verilmiştir.

**Tablo 4. 3:** İzolatların antibiyotik duyarlılıkları

Antibiyotik	Duyarlı (S)	Dirençli (R)
Kolistin	77	23
İmipenem	90	10
Ciprofloksasin	0	100

İzolatların kurkumin MİK aralıkları Tablo 4. 4'de gösterilmektedir.

**Tablo 4. 4:** Kurkumin MİK aralıklarının izolat sayısı ve yüzde olarak dağılımı

Konsantrasyon	n (izolat sayısı)	Yüzde
$320 \leq$	16	% 16
640 - 1280	79	% 79
$1280 \geq$	5	% 5

Kurkumin MİK konsantrasyon aralığı, izolatların çoğu için 640-1280 µg/ml (%79) olmuştur. Broth mikrodilüsyon checkerboard yöntemi çalışılırken izolatların antibiyotik duyarlılık sonuçları esas alınarak çalışma grupları oluşturulmuştur. Ciprofloksasin tüm izolatlarda dirençli bulunduğu için karşılaştırma grupları oluşturulamadığından broth mikrodilüsyon checkerboard yöntemi çalışılmamıştır. Kolistin ve imipenem antibiyotikleri için 10 duyarlı ve 10 dirençli izolat seçilerek sinerjistik etki araştırılmıştır.

Kurkumin için broth mikrodilüsyon checkerboard sonuçlarında kolistin dirençli izolatların hepsi (n:10) sinerjistik bulunmuştur. Tablo 4. 5’de kolistin dirençli izolatların MİK ve  $\Sigma$ FİKİ değerleri gösterilmiştir.

Kolistin duyarlı izolatlarda FİKİ değeri ise pleytlerdeki kuyucuklarda Kurkumin ve kolistin kombinasyonunun MİK değeri kuyucuklarda üreme olduğu için kombinasyonun MİK değeri hesaplanamamış ve tabloda x ile ifade edilmiştir. Tablo 4. 6’da kolistin duyarlı izolatların MİK ve  $\Sigma$ FİKİ değerleri gösterilmiştir.

İmipenem dirençli 10 izolattan bir tanesinde kurkumin sinerjistik bulunmuştur. Tablo 4. 7’de imipenem dirençli izolatların MİK ve  $\Sigma$ FİKİ değerleri gösterilmiştir.

İmipenem duyarlı 10 izolattan da bir tanesi için kurkumin sinerjistik bulunmuştur. Tablo 4. 8'de imipenem duyarlı izolatların MİK ve  $\Sigma$ FİKİ değerleri gösterilmiştir.

**Tablo 4. 5:** Kolistin dirençli izolatların MİK ve  $\Sigma$ FİKİ değerler

İzolat numarası	Co MİK	Kurkumin MİK	$\Sigma$ FİKİ
22	4	320	0,08
31	4	640	0,07
79	4	640	0,07
80	4	640	0,07
98	4	640	0,13
20	8	640	0,26
26	8	640	0,13
30	8	640	0,04
32	8	640	0,07
89	8	640	0,04

**Tablo 4. 6:** Kolistin duyarlı izolatların MİK ve  $\Sigma$ FİKİ değerleri

İzolat numarası	Co MİK	Kurkumin MİK	$\Sigma$ FİKİ
11	0,06	128	x
12	0,06	128	x
21	0,06	320	x
24	0,06	320	x
61	0,06	1280	x
69	0,06	640	x
72	0,06	1280	x
74	0,06	1280	x
77	0,06	640	x
83	0,06	1280	x

**Tablo 4. 7:** İmipenem dirençli izolatların MİK ve  $\Sigma$ FİKİ değerleri

İzolot numarası	IPM MİK	Kurkumin MİK	$\Sigma$ FİKİ
15	16	128	x
16	16	128	x
21	16	320	x
22	16	320	x
24	16	320	x
36	16	1280	x
41	16	1280	x
44	16	1280	x
47	16	1280	x
98	16	640	0,13

**Tablo 4. 8:** İmipenem duyarlı izolatların MİK ve  $\Sigma$ FİKİ değerleri

İzolot numarası	IPM MİK	Kurkumin MİK	$\Sigma$ FİKİ
8	<0,06	128	8
12	0,5	128	2
13	0,5	128	x
17	2	80	0,31
18	<0,06	320	2
26	2	640	8
34	0,125	160	8
35	0,125	1280	2
42	0,125	1280	4
80	0,25	640	1

İmipenem duyarlı izolatlardan 1 tanesinde de FİKİ değeri hesaplanamamıştır. İmipenem dirençli izolatlardan ise dokuz tanesinde FİKİ hesaplanamamıştır. İmipenem duyarlı izolatlardan 3 tanesinde antagonizm, 5 tanesinde indifferens bulunmuştur. Tablo da hesaplanamayan izolatlar için  $\Sigma$ FİKİ değerleri yerine x yazılmıştır.

$\Sigma$ FİKİ değerleri kolistin duyarlı ve imipenem grupları için hesaplanamadığından ki-kare testi uygulanamamıştır. Elde edilen verilerin önemi tartışma kısmında değerlendirilecektir.

Çalışmamız literatürde bulabildiğimiz kadarıyla *A. baumannii* izolatlarının antibiyotikler ile kurkuminin kombinasyonlarının sinerjistik etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır.



## 5. TARTIŞMA

Son yıllarda çoklu ilaca dirençli (ÇİD) *A. baumannii* izolatları hastanelerde ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) yatan hastalarda gelişen enfeksiyonlarda etken olarak saptanmaktadır. Antimikrobiyallerin yoğun ve kontrolsüz kullanımı dirençli suşların artışına neden olmaktadır. Bu bakterilerle gelişen enfeksiyonlarda ÇİD önemli bir sorun oluşturarak tedaviyi güçleştirmektedir (Nayman 2010).

*A. baumannii*, yatan hastaların hemen yakınlarında çeşitli yüzeylerde uzun süre canlı kaldığından bu yüzeylerden hastalara doğrudan veya hastane çalışanlarının elleriyle dolaylı olarak bulaşabilir (Cisneros 2002). *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlara kontamine nemlendiriciler ve ventilatör aksamının sıklıkla neden olduğu düşünülmektedir (Smith 1977). YBÜ bu tip ekipmanların yaygın olarak kullanıldığı özelleşmiş tedavi merkezleridir. Reanimasyon yoğun bakım ünitesinde *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu enfeksiyonları daha sık görmemiz, kritik hastaların bu üniteye takip edilmesi ve bu hastalara mekanik ventilasyon, trakeostomi/entübasyon, santral kateterizasyon ve üriner kateter gibi invaziv girişimlerin daha sık uygulanması ile açıklanabilir. *Acinetobacter* enfeksiyonları en sık yoğun bakım ünitelerinde görülmektedir (Berezin 1996). Erben ve ark. (2006) *Acinetobacter* türlerinin en sık görüldüğü servisin % 38 ile Anesteziyoloji ve reanimasyon yoğun bakım ünitesi olduğunu bildirmişlerdir. (Erben 2006). YBÜ hastane enfeksiyonlarının en sık görüldüğü birimlerdir. Çalışmamızda YBÜ’nde % 78 ile *A. baumannii*’nin en sık izole edildiği birimdir.

Klinik örneklere göre dağılımına baktığımızda Villers ve ark. (Villers 1998) *Acinetobacter* izolatlarının sıklıkla solunum sistemi, üriner sistem, yara yeri, santral sinir sistemi ve kan dolaşım yolu enfeksiyonuna neden olduklarını ortaya koymuştur. Iraz ve ark. (Iraz 2012) çalışmasında suşların % 39’unu balgam, % 20’sini kan, % 13’ünü solunum sekresyonu, % 13’ünü yara, % 5’ini kateter ve % 5’ini diğer örneklerden, Özseven ve ark. (Özseven 2012) ise suşların % 41,4’ünü trakeal aspirat, % 21,1’ini kan, % 14,8’ini yara, % 6,8’ini balgam, % 5,9’unu diğer örneklerden izole etmiştir. Gülhan ve ark. (Gülhan 2007) çalışmalarında suşların % 54,9’unu yara, % 19,7’sini kan, % 5,6’sını solunum yolu salgısı, % 9,8’ini diğer örneklerden tespit



etmişlerdir. Çalışmamızda ise 100 *A.baumannii* izolatının % 42'sini solunum sekresyonu, % 34'ünü kan, % 9'unu yara, % 8'ini katater ve % 7'sini idrar kültürlerinden izole edilmiştir.

Falagas ve ark. (Falagas 2006), günümüze kadar yayınlanmış çalışmaları inceleyerek, mortalitesi yüksek, kritik durumdaki hastalarda, *Acinetobacter* enfeksiyonlarının ölüm oranlarını artırıcı etkisinin bulunup bulunmadığını araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmanın sonucunda *Acinetobacter* enfeksiyonlu hastalarda mortalite oranlarının % 7,8 - % 23 ile % 10 - % 43 arasında değiştiğini ve *Acinetobacter* enfeksiyonlarının mortalite artışında önemli bir faktör olduğunu bildirmişlerdir.

Hastane enfeksiyonları, hastanede kalış süresini uzatarak, mortalite ve morbidite oranlarını arttıran ve tedavi maliyetlerini yükselterek ekonomik kayıplara yol açan önemli bir sağlık problemidir (Bayat 2003). Khan ve arkadaşları (1995) hastane enfeksiyonlarının Türkiye'ye maliyetinin 48 milyon dolar olduğu rapor edilmiştir. Kayıpların en önemli nedenlerinden biri hastane enfeksiyonlarının hastanede kalış süresini 4 - 33 gün kadar uzatmalarıdır. Kayıpları yükselten diğer önemli bir neden antibiyotik kullanımındaki artıştır ve tedaviye yüklediği günlük ek maliyet 48,5 - 111,7 dolardır. Neden oldukları mortalite artışı ise % 4 - 33 kadardır ve en yüksek mortalite oranı hastane kaynaklı pnömonide görülmektedir (Yalçın 2003).

Gram negatif bakterilerdeki artan ÇİD ile neden oldukları enfeksiyonlarda görülen yüksek morbidite ve mortalite oranları, hastane kaynaklı enfeksiyonlar açısından daha büyük endişe yaratmaktadır. YBÜ'de hastaların immün sistemlerinin baskılanmış olması ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin fazla kullanımı direnç sorununu arttırmaktadır (Küme 2012).

*A. baumannii*'nin antimikrobiyal duyarlılık oranları farklılıklar göstermektedir. En sık beta-laktam antibiyotiklere, aminoglikozidlere ve florokinolonlara direnç görülmektedir (Weinbren 1998). A.B.D.'de yapılan bir

çalışmada duyarlılık oranları imipenem için % 24, seftazidim için % 8, amikasin için % 13, siprofloksasin için % 7, tobramisin için % 15, gentamisin için % 32, sulbaktam ampisilin için % 28 bulunmuştur (Bernards 2004).

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda *A. baumannii* için direnç oranları imipenem için % 0-63, siprofloksasin için % 32-87, amikasin için % 41-70, gentamisin için % 62-87, trimetoprim-sulfametoksazol için % 63-75, seftriakson için % 77-85 olarak bildirilmiştir (Gençer 2001). Özdem ve arkadaşları (Özdem 2011.) 2007 yılında imipeneme ait direnç oranını % 32 olarak bildirirken bu oran 2010 yılında % 74'e yükselmiştir.

Günümüzde kolistin ile ilgili klinik deneyim oldukça sınırlı olup ciddi yan etkilerinden dolayı klinik kullanımı çok yaygın değildir (Rattanaumpawan 2010.). Villalon ve ark. (Villalon 2010) İspanyada çeşitli hastanelerden almış oldukları 729 *A. baumannii* suşunda ve Kofteridis ve ark. (Kofteridis 2010) da Yunanistan'da 66 *A. baumannii* suşunda kolistin direncine rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Bogiel ve ark. (Bogiel 2010) ise Polonya'da yaptıkları çalışmada *A. baumannii* suşlarında kolistin direncini % 1,5 olarak bildirmişlerdir.

*Acinetobacter*'ler çeşitli direnç mekanizmaları sayesinde birçok antibiyotiğe çoklu direnç geliştirebilmektedir. Beta laktam grubu antibiyotiklere direnci sağlayan kromozomal ve plazmid kökenli beta laktamazlar (TEM1, TEM2, ACE1, ACE2 vb.) ile genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) aktivitesinin önemli rolü bulunmaktadır. Ayrıca diğer antibiyotik gruplarına dirençlilikte de modifiye edici enzimler, bakteriyal hedef yapıların değişimi gibi, birçok direnç mekanizmasının olduğu belirtilmektedir (Maragakis 2008). *Acinetobacter*'lerin gelişmiş direnç yetenekleri, hastane enfeksiyonlarının tedavisinde ciddi sorunlara yol açmaktadır (Dal 2012). Hastane kaynaklı *Acinetobacter* enfeksiyonların tedavisinde özellikle karbapenem grubu antibiyotikler sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda, dünyada ve ülkemizde karbapenem direnç oranlarının arttığı görülmektedir (Iraz 2012). Karbapenemlere yüksek direnci gösteren, Gözütok ve ark. (Gözütok 2013) %

91, Iraz ve ark. (Iraz 2012) % 92, Kuşçu ve ark. (Kuşçu 2009) % 80 gibi yüksek direnç oranına sahip olduğu saptanmıştır.

Polimiksinler *A. baumannii* izolatlarında güvenilir birer ajan olarak kullanılmaya başlanmış ancak, uygunsuz kullanımı sonrası kolistin direnç oranlarında artış tespit edilmiştir. İlk olarak 1999 yılında Çek Cumhuriyeti'nde *Acinetobacter* spp. enfeksiyonlarında kolistin direnci gösterilmiş (Hejnar 1999), daha sonraki yıllarda artan sayılarda kolistin dirençli vakalar bildirilmiştir. Kolistin direncinin A.B.D.'nde % 2,1'in üstüne çıkmadığı gösterilirken (Doi 2009), Avrupa'da % 7 (Mezzatesta 2008), Asya'da ise % 12'ye ulaşan oranlar rapor edilmiştir (Al-sweih 2011). Farklı merkezlerde yapılan çalışmalarda ise, Bulgaristan'da % 16,7 (Dobrewski 2006), İspanya'da % 19,1 ve % 40,7 (Arroyo 2009), Kore'de % 30,6 (Ko 2007) olarak bildirmiştir.

Çoklu ilaca dirençli bakterilerin kliniğe yansması hastanede kalış süresinin uzaması, nozokomiyal salgınlar, tedavi başarısızlığı ve mortalitede artış şeklinde olmaktadır (Urban 2003). ÇİD gram negatif bakteriler geliştirdikleri direnç mekanizmaları ile bir tek antibiyotik grubuna değil, genel olarak tüm antimikrobiyallere karşı direnç kazanırlar. Bu tür mikroorganizmalarda saptanan değişik direnç mekanizmaları, tedavide kullanılacak antibiyotik seçeneklerini çok azaltmıştır. Özellikle hastane kökenli suşların birden fazla direnç mekanizmalarına sahip olmaları tedavi seçeneklerini büyük oranda kısıtlamaktadır. Dolayısıyla bu bakterilerle gelişen enfeksiyonlarının tedavisi ciddi anlamda güçleşmektedir. Bu enfeksiyonların antimikrobiyal tedavisi ile ilgili çalışmalar ise sınırlı sayıda hasta vakalarına dayanmaktadır, bu nedenle uygun tedavi belirlenememiştir. Bu durum da farklı tedavi seçeneklerinin araştırılmasını gerektirmiştir (Hirsch 2010).

Çoklu ilaca dirençli gram negatif bakterilerin yükselen tehdidine rağmen bu bakterilerle oluşacak enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek yakın tarihte hiç bir yeni sınıf ilaç piyasaya çıkmamıştır (Zavascki 2010). Mevcut koşullarda klinisyenlerin yaşadığı sıkıntılar ise hem kolistin gibi eski antibiyotiklerin yeniden kullanımını hem de antibiyotiklerin kombine kullanımını gündeme getirmiştir

(Falagas 2005). Kombinasyon tedavisi esas olarak antibiyotiklere direnç gelişimini önlemek için kullanılmakla beraber özellikle multibakteriyel enfeksiyonların tedavisinde, dirençli izolatlar karşı sinerjistik etki sağlanmasında, yüksek mortaliteyle seyredebilecek ciddi enfeksiyonların tedavisinde ve ilaçların doza bağlı yan etkilerinin azaltılmasında olumlu sonuçlar çıkabilmektedir (Öztürk 2008).

Farklı mekanizmalarla etki gösteren antimikrobiyal ajanların kombinasyonu daha iyi bir farmakodinamik etki ya da sinerji ortaya çıkarabileceği gibi antagonizmaya da neden olabilir. Antibiyotikler arasında antagonistik etkileşimlerin olmaması klinik açıdan büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle çoklu ilaca dirençli mikroorganizmaların tedavilerinde kullanılacak antibiyotik kombinasyonlarının in-vitro olarak ortaya çıkaracakları etkilerin özellikle de sinerjistik etkilerin belirlenmesinin yol gösterici olabileceği yapılan çalışmalarda vurgulanmıştır (Gazi 2007).

Kolistin önemli yan etkileri ve daha az toksik antibiyotiklerin keşfi nedeniyle 1970'li yıllardan sonra kullanım dışı kalmıştır. Ancak çoklu ilaca dirençli gram negatif suşların ortaya çıkması ve bu suşların kolistin duyarlı olduklarının bildirilmesiyle kullanımı yeniden gündeme gelmiştir. Son yıllarda polimiksinlerin farmakodinamiği ve farmakokinetiği ile ilgili elde edilen bilgiler ve klinik deneyimler polimiksinlerin önceden sanıldığı kadar toksik olmadığını göstermektedir (Zavascki 2007).

Çalışmamızda kolistin kurkumin kombinasyonu kolistin dirençli *A.baumannii* grubunda 10 izolatın tamamında sinerji bulunurken, kolistin duyarlı *A.baumannii* grubunda ise FİKİ hesaplanamamıştır. İmipenem dirençli ve imipenem duyarlı 10 izolattan her gruptan 1 izolatta sinerjistik etki bulunmuştur. *A. baumannii*'nin lipopolisakkaritindeki modifikasyon kolistin direncindeki en önemli mekanizmadır. Bununla birlikte hücre duvar kanallarındaki dış membran porinlerindeki değişiklikler ile eflüks pompası direnç gelişimine neden olan diğer mekanizmalardır. Kolistin duyarlı izolatlarda zamanla çeşitli mekanizmalar ile direnç gelişmektedir. Kolistin kurkumin kombinasyonunda kolistin dirençli gruplarda sinerji bulunması lipopolisakkarit yapısının bozulmasından kaynaklandığını düşündürmüştür. Duyarlı

grupta bulunmaması ise lipopolisakkarit bozulmadığı için kurkuminin antibiyotik MİK'lerine etkisi olmamıştır.

Literatürde *A. baumannii* izolatlarında farklı antibiyotiklerin sinerjistik etkisini araştıran çalışmalar mevcuttur. Jonathan W Betts ve David W Wareham'ın (Jonathan 2014) çalışmasında kurkumin ile epigallocatechin gallate'in sinerjistik etkisi olduğu gösterilmiştir. Wen-juan Wei ve Hai-fei Yang'ın (Wen 2017) çalışmasında kolistinin kloramfenikol ile kombinasyonunda çalışılan 50 izolatın 16'sının sinerjistik olduğu bulunmuştur.

Kolistinin kurkumin ile kombinasyonu antibiyotiğin toksik etkilerini ve direnç gelişme riskini azaltma gibi avantajlara sahip olduğundan ÇİD *A.baumannii* ile gelişen enfeksiyonların tedavisi için alternatif olma potansiyeline sahiptir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, 2014-2017 yılları arasında Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilmiş olan klinik ve poliklinik örneklerinden elde edilen *A. baumannii* izolatları (n:100) kullanılmıştır. İzolatların kolistin, imipenem ve ciprofloksasin MİK değerleri broth mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılmıştır. İzolatların curcumin ile antibiyotik kombinasyonlarının sinerjistik etkisi broth mikrodilüsyon checkerboard yöntemi ile belirlenmiştir.

Çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

1. İzolatların kolistine % 23'ünün, imipeneme % 10'unun ve ciprofloksasine % 100'ünün dirençli olduğu saptandı.
2. İzolatların curcumin MİK değerinin % 16'sının  $320 \leq \mu\text{g/ml}$ , % 79'unun  $640-1280 \mu\text{g/ml}$  ve % 5'inin  $\geq 1280 \mu\text{g/ml}$  dağılım gösterdiği saptandı.
3. Kolistin dirençli 10 izolatın tamamında, imipenem dirençli 1 izolat ve imipenem duyarlı 1 izolatta curcuminin sinerjistik etki gösterdiği belirlendi.

*A. baumannii* izolatlarındaki çoklu ilaç direncindeki (ÇİD) artış, bu bakterilerle gelişen nozokomiyal salgınlar nedeniyle, kolistin gibi toksik etkili olması nedeniyle tedavi protokollerinden çıkarılan eski antibiyotiklere yeniden dönülmesine neden olmuştur. Ancak çalışmamızda da saptandığı gibi, kolistin dirençli izolatlarda giderek artan oranlarda bildirilmeye başlamıştır. Kurkumin, yüksek dozlarda toksik olmayan bir maddedir. Kolistin dirençli izolatlarda sinerjistik etkisinin olması bu izolatlarla gelişen enfeksiyonlarda tedavi seçeneği olabileceğini düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

- AGGARWAL BB, KUMAR A., BHARTI AC. 2003. Anticancer Potential of Curcumin: Preclinical and Clinical Studies. *Anticancer Research* 23: 363-398.
- AKALIN H. 2007. Çoklu İlaç Direncinde Tedavi Yaklaşımı ve İlaç politikaları. *Ankem Derg.* 21:186-191.
- AKALIN H., ÖZAKIN C., GEDİKOĞLU S. 2006. Epidemiology of *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Turkey. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 27(4):404-408.
- ALLEN D. M., HARTMAN J. B. 2000. *Acinetobacter* species In: Mandel G.L., Bennet J.E., Dolin R., ed(s). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases.* 2339-2342
- ALLEN DM., HARTMAN BJ. 2010. *Acinetobacter* species. In: Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Edited by Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, Dolin R, 7th ed. edn. Philadelphia, Pa. Elsevier/Churchill Livingstone. 2881-2885.
- AL-SWEIH NA., AL-HUBAIL MA., ROTİMİ VO. 2011. Emergence of tigecycline and colistin resistance in *Acinetobacter* species isolated from patients in Kuwait hospitals, *J Chemother.*23(1):13-16.
- ALTUNÇEKİÇ A., ARMAN D. 2009. *Acinetobacter* cinsi bakterilerin mikrobiyolojisi direnç mekanizmaları ve çoklu dirençli suşlarda tedavi. 1. baskı. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, s:123-136.
- ARAÚJO CC, LEON LL. 2001. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 96(5):723-728.
- ARROYO LA., MATEOS I., GONZALEZ V. 2009. In vitro activities of tigecycline, minocycline, and colistin-tigecycline combination against multi- and

pandrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* group, *Antimicrob Agents Chemother.* 53(3):1295-1296.

AŞIK G. 2011. *Acinetobacter baumannii* Virülansının Açıklanmasında Güncel Yaklaşımlar. *Mikrobiyol Bul.* 45(2):371-380.

BALAKRISHNAN KV. 2007. Postharvest Technology and Processing of Turmeric, in: P.N. RAVINDRAN, K. NIRMAL BABU, K. SIVARAMAN (Eds.), *Turmeric: The Genus Curcuma*, 8, CRC Press: Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, pp.193-256, ISBN-13: 978-0-8493-7034-7042.

BAUMANN P., DOUDOROFF M., and STANIER RY. 1968. A study of the *Moraxella* group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*). *J.Bacteriol.* 95:1520-1541

BAYAT A., SHAABAN H., DODGSONB A., DUNNA K.W. 2003. Implications for Burns Unit design following out break of multi-resistant *Acinetobacter* infection in ICU and Burns Unit. *Burns*, 29:303-306.

BEREZİN E., TOWNER KJ. 1996. *Acinetobacter spp.* as nosocomial pathogens: Microbiological, clinical and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev.* 9:148-165.

BERNARDS A.T., HARINCK H.I., DIJKSHOORN L., VAN DER REJIDEN T.J.K., VAN DEN BROEK P.J. 2004. Persistent *Acinetobacter baumannii* Look inside your medical equipment. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 25: 1002-1004.

BOGIEL T., KWIECINSKA-PIROG J., JACHNA-SAWICKA K., GOSPODAREK E. 2010. Carbapenem - resistant *Acinetobacter baumannii* strains. *Med Dosw Mikrobiol.* 62:119-26.PMid:20873484.

BONOMO, R. A, SZABO, D. 2006. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Infection Diseases.* 43: 49-56.



- CHOUDHARY, D., CHANDRA, D., KALE, R.K. 1999. Modulation of radioresponse of glyoxalase system by curcumin. *Journal of Ethnopharmacology*. 64, 1-7.
- CÍSNEROS JM., RODRÍGUEZ-BARÍO J. 2002. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment, *Clinical Microbiology and Infection*. 8(11):687-693.
- CLSI 2006. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. M7- A7.
- ÇALIK N., AKOVA M. 2007. Tigesiklin. *Ankem Derg.* 21:29-33.
- ÇİFTÇİ İ., AŞIK G. 2011. *Acinetobacter baumannii*'nin antibiyotik direnç mekanizmaları. *Ankem Derg.* 25:196-207.
- DAL T., DAL MS., AĞIR İ. 2012. *Acinetobacter baumannii*'de antibiyotik direnci ve AdeABC aktif pompa sistemleri. *Van Tıp Derg.* 19: 137-148.
- DEMİRTÜRK N., DEMİRDAL T. 2004. Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. *Kocatepe Tıp Derg.* 5:17-21.
- DİZBAY M., ÇAĞLAR Ö., ARMAN D. 2008. Ventilatör İlişkili Pnömoni Etkeni Çok İlaç Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Sefoperazon-Sulbaktam ile Netilmisin Kombinasyonunun İn-vitro Sinerjistik Etkisi. *ANKEM Derg.* 22(1) : 28-31.
- DOBREWSKI R., SAVOV E., BERNARDS AT. 2006. Genotypic diversity and antibiotic susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolates in a Bulgarian hospital, *Clin Microbiol Infect.* 12(11):1135-1137.
- DOİ Y., HUSAİN S., POTOSKI BA., MCCURRY KR., PATERSON DL. 2009. Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Emerg Infect Dis.* 15(6):980-982.

- DORSEY CW., BEGLİN MS., ACTİS LA. 2003. Detection and analysis of iron uptake components expressed by *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. J Clin Microbiol. 41(9):4188-4193.
- DUVOİX A., BLASİUS R., DELHALLE S. 2005. Chemopreventive and Therapeutic Effects of Curcumin. Cancer Lett. 223: 181-190.
- DY ME., NORD JA., LABOMBARDİ VJ., KİSLAK JW. 1999. The emergence of resistant strains of *Acinetobacter baumannii*: clinical and infection control implications. Infect Control Hosp Epidemiol. 20: 565- 567.
- ERBEN N., KİREMİTÇİ A., ÖZGÜNEŞ İ. 2006. Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz ve indüklenebilir beta-laktamaz sıklığının ve antimikrobiyal duyarlılığın değerlendirmesi, *Osmangazi Tıp Derg*, 28(3):135-146.
- EUCAST 2017. EUCAST warnings concerning antimicrobial susceptibility testing products or procedures. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.
- FALAGAS EM., BLİZİOTİS AL., SİEMPOS II. 2006. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. Critical Care. 10:1-8.
- FALAGAS ME., KASİAKOU SK. 2005. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clin Infect Dis. 40 (9):1333-1341.
- FALAGAS ME., RAFAILİDİS PI., MATTHAİOU DK. 2010. Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. Drug Resist Updat. 13:132-138.
- FİGUEİREDO S., POİREL L., PAPA A., KOULOURİDA V. 2009. Overexpression of the naturally occurring blaOXA-51 gene in *Acinetobacter baumannii*

mediated by novel insertion sequence ISAbA. *Antimicrob Agents Chemother.* 53:4045-4047.

FLEJZOR, B., BOKKENHEUSER. V. O. 1985. Performance of the Prompt System in identification and antimicrobial susceptibility testing of clinical isolates. *J. Clin. Microbiol.* 21:267-268.

FUJISAWA S., ATSUMI T., ISHIHARA M., KADOMA Y. 2004, *Anticancer Res.* 24, 563-569.

GADDY JA., ACTIS L. 2009. Regulation of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Future Microbiol.* 4(3):273-278.

GAZİ H., TÜNGER Ö., VURAL F., ÖZBAKKALOĞLU B., SÜRÜCÜOĞLU S. 2007. Çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının çoğul dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına in vitro etkileri. *Türk Mikrobiyoloji Cem. Derg.* 37 (1): 11-14.

GENÇER S., BENZONANA N., ÖZER S. 2001. Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesinden izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları, *Yoğun Bakım Derg.* 1(2):131-137.

GIAMARELLOU H., ANTONIADOU A., KANELLAKOPOULOU K. 2008. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? *Int J of Antimicrob Agents.* 32:106-119.

GORDON NC., WAREHAM DW. 2010. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *Int J Antimicrob Agents.* 35:219-226.

GÖZÜTOK F., MUTLU SARIGÜZEL F., İLHAMİ ÇELİK İ., BERK E., AYDIN B., GÜZEL D. 2013. Hastane enfeksiyonu etkeni *Acinetobacter baumannii* suşlarının antimikrobiyal direnç oranlarının araştırılması. *ANKEM Derg.* 27:7-12.

- GÜLHAN B., NERGİZ Ş., MEŞE S., ÖZEKİNCİ T., ATMACA S. 2009. *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Tigesiklin İçin Disk Difüzyon Yöntemiyle Elde Edilen Zon Çaplarının İki Farklı Kritere Göre Değerlendirilmesi. *ANKEM Derg.* 23(2): 78-81.
- GÜNDEŞ S., VAHABOĞLU H. 2003. *Acinetobacter* türleri ve *Acinetobacter* ile gelişen infeksiyonlar, İnfeksiyon Hastalıkları Serisi. 6(4).
- HEJNAR P., KOLAR M., HAJEK V. 1999. Characteristics of *Acinetobacter* strains (phenotype classification, antibiotic susceptibility and production of  $\beta$ -lactamases) isolated from haemocultures from patients at the Teaching Hospital in Olomouc, *Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med.* 142:73-77.
- HİRSCH EB., TAM VH. 2010. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 10 (4): 441-451.
- IRAZ M., CEYLAN A., AKKOYUNLU Y. 2012. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* türlerinde antibiyotik direnç oranlarının incelenmesi. *ANKEM Derg.* 26(2): 80-85.
- İLBEY, Y.O., ÖZBEK, E., ÇEKMEN, M., ŞİMŞEK, A., OTUNÇTEMUR, A., SOMAY, A. 2009. Protective effect of curcumin in cisplatin-induced oxidative injury in rat testis: mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B signaling pathways. *Human Reproduction*, 24(7), 1717-1725.
- JONATHAN W B., DAVID W WAREHAM 2014. In vitro activity of curcumin in combination with epigallocatechin gallate (EGCG) versus multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *BMC Microbiology*, 14:172
- KAZAK E. 2010. *Acinetobacter* Enfeksiyonlarında Sulbaktamın Yeri. 15:13-22.

- KEMPF M., ROLAİN JM. 2012. Emergence of resistance to carbapenems in *A. baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 39(2), 105-114.
- KİUCHİ F., GOTO Y., SUGİMOTO N., AKAO N., KONDO K., TSUDA Y. 1993. Nematocidal activity of turmeric: synergistic action of curcuminoids. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 41: 1640-1643.
- KO KS., SUH JY., KWON KT. 2007. High rates of resistance to colistin and polymyxin B in subgroups of *Acinetobacter baumannii* isolates from Korea, *J Antimicrob Chemother.* 60(5):1163-1167.
- KOFTERİDİS DP., ALEXOPOULOU C., VALACHİS A. 2010. Aerosolized plus intravenous colistin versus intravenous colistin alone for the treatment of ventilator - associated pneumonia: a matched case-control study. *Clin Infect Dis.* 51:1238-1244.
- KUŞÇU F., ÖZTÜRK D., TÛTÛNCÛ EE. 2009. Çoğul antibiyotik dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında tigesiklin duyarlılık oranlarının E-test yöntemiyle araştırılması. *Klinik Derg.* 22:48-51.
- KÛME G., DEMİRCİ M. 2012. Yoğun bakım ünitelerindeki hastaların alt solunum yolu örneklerinden izole edilen Nonfermentatif gram negatif bakterilerin antimikrobiyal duyarlılıkları ve alt solunum yolu enfeksiyonu ile ilişkili risk faktörleri. *DEÜ Tıp Fak Derg.* 26(1), 37-44.
- LEE K., KİM CK., HONG SG. 2010. Characteristics Of Clinical İsolates Of *Acinetobacter* Genomo species 10 Carrying Two Different Metallo-Beta-Lactamases. *Int J Antimicrob Agents.* 36,259-263.
- MANSUR A., KUZUCU Ç., ERSOY Y., YETKİN F. 2009. İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezinde 2008 Yılında Yatan Hastalardan İzole Edilen *Acinetobacter* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. *ANKEM Derg.* 23(4): 177-181.

- MARAGAKİS LL., PERL TM. 2008. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clin Infect Dis*. 46:1254-63.
- MEZZATESTA ML., TROVATO G., GONA F. 2008. In vitro activity of tigecycline and comparators against carbapenem-susceptible and resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Italy, *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 7:4.
- MİLOBEDZKA J., KOSTANECKİ S., LAMPE V. 1910. Curcumin. *Ber. Dtsch. Chem. Ges* 43, 2163-2170.
- MOTAOUAKKİL S., CHARRA B., HACHİMİ AI. 2006. Colistin and rifampicin in the treatment of nosocomial infections from multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J Infect*. 53: 274-278.
- MUGNİER PD., POİREL L., NAAS T., NORDMANN P. 2010. Worldwide dissemination of the *bla*OXA-23 carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. *Emerg Infect Dis*. 16:35-40.
- MUNOZ-PRİCE LS., WEİNSTEİN RA. 2008. *Acinetobacter* Infection. *N Engl J Med*. 358(12):1271-1281
- NAGANO N., NAGANO Y., CORDEVANT C., SHİBATA N., ARAKAWA Y. 2004. Nosocomial transmission of CTX-M-2 beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a neurosurgery ward. *J Clin Microbiol*. 42:3978-3984.
- NAİK SR., THAKARE VN., PATİL SR. 2011. Protective effect of curcumin on experimentally induced inflammation, hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats: evidence of its antioxidant property. *Exp Toxicol Pathol*. 63: 419-431.
- NAYMAN ALPAT S., AYBEY AD., AKŞİT F., ÖZGÜNEŞ İ., KİREMİTÇİ A., USLUER G. 2010. *Acinetobacter baumannii* klinik izolatlarının tigesiklin ve karbapeneme karşı in vitro duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bül*. 44(4): 641-645.

- ÖZDEM B., GÜRÇELİK FC., ÇELİKBİLEK N., BALIKÇI H., AÇIKGÖZ ZC. 2011. Çeşitli klinik örneklerden 2007-2010 yıllarında izole edilen *Acinetobacter* türlerinin antibiyotik direnç profilleri. Mikrobiyoloji Bül. 45: 526-534.
- ÖZSEVEN AG., ÇETİN ES., ARIDOĞAN BC. 2012. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik direnç profilleri. Türk Mikrobiyoloji Cem. Derg. 42(2): 55-60.
- ÖZTÜRK R. 2008. Akılcı antibiyotik kullanımı ve ülkemizde antimikrobik maddelere direnç sorunu. İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi sürekli tıp eğitim etkinlikleri, Toplumdan edinilmiş infeksiyonlara pratik yaklaşımlar, Sempozyum Dizisi. 61: 1-16.
- PAN MH., HUANG TM., LİN JK. 1999. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. Drug Metab Dispos. 27: 486-494.
- PANDYA U., SAINI MK., JIN GF., AWASTHI S., GODLEY BF., AWASTHI YC. 2000. Dietary curcumin prevents ocular toxicity of naphthalene in rats. Toxicol Lett. 115(3):195-204.
- PELEG AY., SEİFERT H., PATERSON DL. 2008. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev. 21(3): 538-582.
- PINAR A. 2012. Pcr ve Real Time Pcr Hakkında Genel Bilgi. Real Time Pcr Kursu; 04-05
- POIREL L., NORDMANN P. 2006. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. Clin Microbiol Infect. 12:826-836.
- RATTANAUMPAWAN P., LORSUTTHITHAM J., UNGPRASERT P, ANGKASEKWINAI N., THAMLİKİTKUL V. 2010. Randomized controlled trial of nebulized colistimethate sodium as adjunctive therapy of

ventilator-associated pneumonia caused by Gram negative bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 65:2645-2649.

RODRÍGUEZ-BANO J., MARTÍ S., SOTO S. 2008. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: associated features and clinical implications. *Clin Microbiol Infect.* 14(3):276-278.

RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ JM., NORDMANN P., RONCO E., POÏRELÍ L. 2010. Extended-spectrum-cephalosporinase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 54:3484

SCHRECKENBERGER PC., DANESHVAR MI., WEYANT RS., HOLLIS DG. 2007. *Acinetobacter, Achromobacter, Chryseobacterium, Moraxella*, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Landry ML, Jorgensen JH. (Eds.). *Manuel of Clinical Microbiology* 9 th ed. Washington ASM Pres: 770-802.

SÍROY A., MOLLE V., LEMAÎTRE-GUÏLLIER C. 2005. Channel formation by CarO, the carbapenem resistance-associated outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 49:4876-4883.

SMÍTH PW., MASSANARÍ RM. 1977. Room humidifiers as the source of *Acinetobacter* infections. *Journal of the American Medical Association*, 237(8):795-797.

SOULÍ M., GALLANÍ I., GIAMARELLOU H. 2008. Emergence of extensively drug resistant and pan-drug resistant Gram negative bacilli in Europe. *Eurosurveillance.* 13 (47):20.

TANEJA N., SÍNGH G., SÍNGH M., SHARMA M. 2011. Emergence of tigecycline & colistin resistant *Acinetobacter baumannii* in patients with complicated urinary tract infections in north India. *Indian J Med Res.* 133:681-684.

TAŞOVA Y., AKGÜN Y., SALTOĞLU N., YILMAZ G., KARA O., DÜNDAR İH. 1999. Nozokomiyal *Acinetobacter* infeksiyonları. *Flora Derg;* 4:170-176.



- TOWNER KJ. 2009. *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. *J Hosp Infect.* 73(4), 355-363.
- TRUJILLO J., GRANADOS-CASTRO LF., ZAZUETA C., ANDÉRICA-ROMERO AC., CHIRINO YI., PEDRAZA-CHAVERRÍ J. 2014. Mitochondria as a Target in the Therapeutic Properties of Curcumin. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 347, 873-884.
- TYAGI P., SINGH M., KUMARI H., KUMARI A., MUKHOPADHYAY K. 2015. Bactericidal Activity of Curcumin I Is Associated with Damaging of Bacterial Membrane. *PLoS ONE* 10(3): e0121313. doi:10.1371/journal.pone.0121313.
- URBAN C., SEGAL-MAURER S., RAHAL JJ. 2003. Considerations in control and treatment of nosocomial infections due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis.* 36: 1268-1274.
- VERBIST, L., J. VERHAEGEN. 1984. Effect of temocillin in combination with other  $\beta$ -lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 25:142-144.
- VILLALON P., VALDEZATE S., MEDINA-PASCUAL MJ., RUBIO V., VINDEL A., SAEZ-NIETO JA. 2010. Clonal diversity of nosocomial epidemic *Acinetobacter baumannii* in Spain. *J Clin Microbiol.* Dec 22.
- VILLERS D., ESPAZE E., COSTE-BYREL M. 1998. Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections: microbiological and clinical epidemiology. *Annals of Internal Medicine*, 129(3)182-189.
- WEINBREN M.J., JOHNSON A.P., KAUFMANN M.E., LIVERMORE D. 1998. *Acinetobacter* spp. isolates with reduced susceptibilities to carbapenems in a UK burns unit. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 41: 574-576
- WEN-JUAN W., HAI-FEI Y. 2017. Synergy against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in vitro by two old antibiotics: colistin and

chloramphenicol. *International Journal of Antimicrobial Agents*, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.11.031

YALÇIN A.N. 2003. Socioeconomic Burden Nosocomial Infections. *Indian Journal of Medical Sciences*, Vol. 57 No.10, October.

YAU W., OWEN R.J., POUDYAL A., BELL J.M., TURNIDGE J.D., YU H.H., NATION R.L., JIAN L.I. 2009. Colistin heteroresistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from the Western Pacific region in the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J Infect.* 58:138-144.

YAVUZ M.T., ŞAHİN İ., BEHÇET M., ÖZTÜRK E., KAYA D. 2006. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. *ANKEM Derg.* 20(2): 107-110.

YILDIRIM İ.H. 2006. Sefaperazon-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. 61s.

ZAVASCKİ A.P., GOLDANİ L.Z., Lİ J., NATION R.L. 2007. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J Antimicrob Chemother.* 60: 1206-1215.

ZAVASCKİ M., POPOVIĆ M., STEINORT D., PİLLAI S., JOUKHADAR C. 2010. Fosfomicin: an old, new friend *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 29: 127-142.