



T.C.  
BURSA ULUDAĞ  
ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ  
ENSTİTÜSÜ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIP - MİKROBİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI



**KOLİSTİN VE KARBAPENEM DİRENÇLİ ACINETOBACTER  
BAUMANNII VE KLEBSIELLA PNEUMONIAE SUŞLARINDA AKIM  
SİTOMETRİ YÖNTEMİ İLE KOLİSTİN VE MEROPENEM  
KOMBİNASYONUNUN İN VİTRO ETKİNLİĞİNİN TEST EDİLMESİ VE  
DAMA TAHTASI YÖNTEMİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

**ÖZLEM IŞIK**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**BURSA-2022**





T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIP - MİKROBİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI



**KOLİSTİN VE KARBAPENEM DİRENÇLİ ACINETOBACTER  
BAUMANNII VE KLEBSIELLA PNEUMONIAE SUŞLARINDA AKIM  
SİTOMETRİ YÖNTEMİ İLE KOLİSTİN VE MEROPENEM  
KOMBİNASYONUNUN İN VİTRO ETKİNLİĞİNİN TEST EDİLMESİ VE  
DAMA TAHTASI YÖNTEMİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

**ÖZLEM IŞIK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN:  
Prof. Dr. Cüneyt ÖZAKIN**

**TYL – 2021 – 682- BAP**

**BURSA-2022**

**T.C.**  
**BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ETİK BEYANI**

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “**Kolistin ve Karbapenem Dirençli *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında Akım Sitometri Yöntemi ile Kolistin ve Meropenem Kombinasyonunun İn vitro Etkinliğinin Test Edilmesi ve Dama Tahtası Yöntemi ile Karşılaştırılması**” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

**Özlem IŞIK**

**16.05.2022**

## TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

16/05/2022

**Adı Soyadı:** Özlem IŞIK

**Anabilim Dalı:** Tıp - Mikrobiyoloji

**Tez Konusu:** Kolistin ve Karbapenem Dirençli *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında Akım Sitometri Yöntemi ile Kolistin ve Meropenem Kombinasyonunun İn vitro Etkinliğinin Test Edilmesi ve Dama Tahtası Yöntemi ile Karşılaştırılması

<b>ÖZELLİKLER</b>	<b><u>UYGUNDUR</u></b>	<b><u>UYGUN DEĞİLDİR</u></b>	<b><u>AÇIKLAMA</u></b>
Tezin Boyutları	■	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	■	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	■	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	■	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	■	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	■	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	■	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	■	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	■	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	■	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	■	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	■	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	■	<input type="checkbox"/>	

### DANIŞMAN ONAYI

**Unvan Adı Soyadı:** Prof. Dr. Cüneyt ÖZAKIN

**İmza:**

## İÇİNDEKİLER

<b>ETİK BEYANI</b> .....	ii
<b>KABUL ONAY</b> .....	iii
<b>TEZ KONTROL BEYAN FORMU</b> .....	iv
<b>TÜRKÇE ÖZET</b> .....	vii
<b>İNGİLİZCE ÖZET</b> .....	viii
<b>1.GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	2
2.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	2
2.1.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> Taksonomik ve Mikrobiyolojik Özellikler .....	2
2.1.2. <i>Acinetobacter baumannii</i> Klinik Önemi ve İlişkili Enfeksiyonlar .....	7
2.1.3. <i>Acinetobacter baumannii</i> Virulans Faktörleri.....	9
2.1.4. <i>Acinetobacter baumannii</i> Antibiyotik Direnç Mekanizmaları.....	11
2.1.5. <i>Acinetobacter baumannii</i> Enfeksiyonlarında Tedavi Seçenekleri .....	14
2.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	15
2.2.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> Taksonomik ve Mikrobiyolojik Özellikler.....	15
2.2.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> Klinik Önemi ve İlişkili Enfeksiyonlar .....	18
2.2.3. <i>Klebsiella pneumoniae</i> Virulans Faktörleri .....	19
2.2.4. <i>Klebsiella pneumoniae</i> Antibiyotik Direnç Mekanizmaları .....	20
2.2.5. <i>Klebsiella pneumoniae</i> Enfeksiyonlarında Tedavi Seçenekleri.....	21
2.3. Kolistin.....	22
2.4. Meropenem .....	25
2.5. Antibiyotik Kombinasyonlarının İn Vitro Etkinliğinin Değerlendirilmesi.....	27
2.6. Akım (Flow) Sitometri.....	30
2.7. Sysmex UF-5000 Tam Otomatize İdrar Partikül Analizörü .....	32
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	35
3.1. Çalışmaya Dahil Edilecek Suşların Seçimi.....	35
3.2. Kolistin Direncinin Broth Mikrodilüsyon Yöntemi ile Doğrulanması .....	35
3.2.1. Sıvı Besiyerinin Hazırlanması .....	35
3.2.2. Antibiyotik Stok Solüsyonunun Hazırlanması ve Porsiyonlanması .....	36
3.2.3. Broth Mikrodilüsyon Plaketlerinin Hazırlanması .....	36
3.2.4. Bakteri İnokulumu Hazırlanması .....	37
3.2.5. Kolistin Broth Mikrodilüsyon MİK Değerlendirilmesi .....	38

3.3. Dama Tahtası Yöntemi ile Kolistin ve Meropenem Kombinasyonunun Etkinliğinin Değerlendirilmesi.....	38
3.3.1. Sıvı Besiyerinin Hazırlanması .....	38
3.3.2. Antibiyotiklerin Stok Solüsyonlarının Hazırlanması ve Porsiyonlanması.....	38
3.3.3. Dama Tahtası Platelere Hazırlanması.....	39
3.3.4. Bakteri İnokulumu Hazırlanması .....	40
3.3.5. Dama Tahtası Testinin Değerlendirilmesi .....	41
3.4. Gradient Difüzyon Yöntemi (E-Test) ile Kolistin ve Meropenem Kombinasyonunun Etkinliğinin Değerlendirilmesi .....	42
3.5. Akım Sitometri Yöntemi ile Kolistin ve Meropenem Kombinasyonunun Etkinliğinin Değerlendirilmesi.....	43
3.5.1. Sıvı Besiyerinin Hazırlanması .....	44
3.5.2. Antibiyotik Stok Solüsyonlarının Hazırlanması ve Porsiyonlanması.....	44
3.5.3. Bakteri İnokulumu Hazırlanması .....	45
3.5.4. Cihazda Bakteri Sayımı Yapılması .....	46
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>48</b>
4.1. Çalışmaya Dahil Edilen Suşların Özellikleri .....	48
4.2. Suşların Kolistin Broth Mikrodilüsyon Sonuçları.....	49
4.3. Suşların Dama Tahtası Sinerji Testi Sonuçları .....	50
4.4. Suşların Gradient Difüzyon Sinerji Testi Sonuçları .....	53
4.5. Suşların Akım Sitometri Sinerji Testi Sonuçları.....	55
4.6. Sinerji Testlerinin Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	70
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ</b> .....	<b>71</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	<b>79</b>
<b>7. SİMGE ve KISALTMALAR</b> .....	<b>90</b>
<b>8. EKLER</b> .....	<b>92</b>
<b>9. TEŞEKKÜR</b> .....	<b>95</b>
<b>10. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>96</b>

## TÜRKÇE ÖZET

Günümüzde gram negatif bakterilerde karbapenem direncinin artması ile birlikte tedavilerde kolistin daha sık kullanılmaya başlanmıştır. Bunun bir sonucu olarak kolistine direnç giderek artmaktadır. Çalışmamızda, kolistin ve karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında akım sitometri tabanlı time kill ve dama tahtası sinerji testi yöntemleri ile kolistin ve meropenem kombinasyonunun in vitro etkinliğinin araştırılması amaçlandı.

Kolistin ve karbapenem dirençli 10 adet *A. baumannii* ve 10 adet *K. pneumoniae* suşunda kolistin direnci broth mikrodilüsyon yöntemi ile doğrulandıktan sonra, kolistin ve meropenem kombinasyonu akım sitometri tabanlı time kill ve dama tahtası yöntemleri ile çalışıldı. Ek olarak suşlar, gradient difüzyon sinerji testi yöntemi ile de çalışıldı. Sonuçlar, dama tahtası ve GDY için fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu, time kill için logaritma tabanında artış-azalış ile hesaplanarak değerlendirildi.

*Klebsiella pneumoniae* suşlarında dama tahtası yöntemi ile %40 sinerjik, %50 aditif ve %10 indiferan etkinlik saptandı. *A. baumannii* suşlarında ise %70 sinerjik, %20 aditif, %10 indiferan etkinlik saptandı. Time kill yönteminde ise tüm suşlarda indiferan etkinlik saptandı. Akım sitometri tabanlı time kill ve dama tahtası yöntemleri arasında %10 uyum saptanırken, time kill ile GDY arasında %55 uyum saptandı.

Literatürde akım sitometri tabanlı bir sinerji testi ile hasta izolatları kullanılarak antibiyotik kombinasyonu etkileşiminin incelendiği bir çalışmaya rastlamadık. Geleneksel yöntemi modernize etmesi, hızlı sonuç vermesi gibi yönleriyle çalışmamız dikkat çekicidir. Ancak sinerji testlerinin doğasında bulunan testler arası uyumsuzluk nedeniyle yeni çalışmalar ile testler arasındaki korelasyon iyileştirilmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Sinerji testi, dama tahtası testi, akım sitometri

## İNGİLİZCE ÖZET

### **Testing The In Vitro Efficacy of Colistin and Meropenem Combination with Flow Cytometry Method in Colistin and Carbapenem Resistant *Acinetobacter Baumannii* and *Klebsiella Pneumoniae* Strains and Comparison with Checkerboard Method**

Nowadays, colistin has been used more frequently in treatments with the increase in carbapenem resistance in gram-negative bacteria. As a consequence, resistance to colistin is gradually increasing. It was aimed to investigate the in vitro efficacy of colistin and meropenem combination with both flow cytometry-based time-kill and checkerboard synergy test methods in colistin and carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* strains in this study.

It was studied with both flow cytometry-based time-kill and checkerboard synergy test methods after colistin resistance was confirmed by broth microdilution method in ten different *A. baumannii* and ten different *K. pneumoniae* strains resistant to colistin and carbapenem. In addition, the strains also studied with the gradient diffusion synergy test method. The results were evaluated by calculating the fractional inhibitor concentration for the checkerboard and gradient diffusion synergy test method and the increase-decrease at the logarithm base for the time kill. It was found that the synergistic, additive, and indifference efficacy for *Klebsiella pneumoniae* strains were 40%, 50%, and 10%, and also for *A. baumannii* strains were 70%, 20%, and 10% respectively considering the checkerboard method. However, indifference activity was observed in all strains in the time-kill method. 55% agreement was found between flow cytometry-based time kill and gradient diffusion while it was meeting 10% of correlation between flow cytometry-based time-kill and checkerboard synergy test methods.

We could not find any study about the interaction of antibiotic combinations using a flow cytometry-based synergy test on patient isolates in the literature. This study is remarkable considering modernizing the traditional method and taking quick results. However, the correlation between the tests should be improved because of the inconsistency between the tests inherent in synergy tests.

**Keywords:** Synergy test, checkerboard test, flow cytometry



## 1.GİRİŞ

Çoklu ilaç direnci gösteren ve yüksek virülans özelliklerine sahip altı hastane enfeksiyonu etkeni ESKAPE kısaltması ile anılır. Bunlar: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter spp.*' dir. ESKAPE patojenleri hastane enfeksiyonlarından sorumludur ve antimikrobiyal ajanların biyosidal etkilerinden 'kaçma' özelliğine sahiptirler (Lee ve ark., 2017).

Dünya Sağlık Örgütü 2017 yılında bu patojenlerin bulunduğu yeni antibiyotik geliştirilmesi için önceliği olan bakteriler listesi yayınlamıştır. Listenin en üst sırasında 'kritik' ibaresiyle karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* ve karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* bulunmaktadır.

Karbapenem direncinin ortaya çıkması ile birlikte tedavi seçeneği olarak Polimiksin grubunun bir üyesi olan kolistin daha sık kullanılmaya başlanmıştır. Ancak her geçen gün kolistine dirençte artış görülmektedir. Elde bulunan son tedavi seçeneği olan kolistine karşı her geçen gün artan direnç gelişimini önlemek için tek başına yüksek dozlarda kullanılması yerine diğer antibiyotiklerle kombine edilip sinerjik etkiden yararlanılması önerilmektedir (Aygır, 2020).

Çalışmanın amacı, hastanemizdeki yoğun bakım hastaları ve hemotoloji, onkoloji hastaları gibi immünsuprese grupta bulunan hastalardan izole edilen, önemli hastane enfeksiyonu etkeni olan kolistin ve karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* suşları üzerinde kolistin ve meropenem kombinasyonunun in vitro etkinliğini değerlendirmektir.

Bu çalışmada akım sitometri yöntemi ile çalışan, SYSMEX UF-5000 cihazında ilk kez antibiyotik sinerji testi gerçekleştirilecek ve yaygın kullanılan sinerji testi metodları ile kıyaslanacaktır. Bu yöntemle, geleneksel yöntemlere kıyasla sonuç süresini kısaltmak hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *Acinetobacter baumannii*

#### 2.1.1. *Acinetobacter baumannii* Taksonomik ve Mikrobiyolojik Özellikler

*Acinetobacter* cinsi ilk olarak 1800'lü yıllarda *Morax – Axenfeld* basili olarak isimlendirilmiştir. Sonraki yıllarda ise *Diplococcus mucosus*, *Micrococcus calcoaceticus*, *Alcaligenes haemolysans*, *Mima polymorpha*, *Moraxella lwoffii*, *Herellea vaginicola*, *Bacterium anitratum*, *Moraxella lwoffii var. glucidolytica*, *Neisseria winogradskyi*, *Achromobacter anitratus*, *Achromobacter mucosus* gibi isimler verilmiştir. Benzer morfolojik özellikler gösteren mikroorganizmaların bir kısmının hareketsiz olduğu Brisou ve Pre'vot tarafından gösterilmiş ve Yunanca hareketsiz anlamına gelen 'Akinetos' kelimesinden esinlenerek '*Acinetobacter*' olarak adlandırılmıştır. *Acinetobacter* cinsinin morfolojik ve biyokimyasal özelliklerinin tanımlanması 1968 yılında olmuş ve 1971 yılında *Moraxellaceae* ailesi içerisinde sınıflandırılmıştır. Cinsin ilk tanımlanan türü ise *Acinetobacter calcoaceticus*'dur (Dal T, Dal MS, & Ağır 2012).

*Acinetobacter baumannii*, 1986 yılına kadar tam olarak sınıflandırılmamıştır (Antunes, Visca, & Towner, 2014). 1986 yılında Bouvet ve Grimont DNA – DNA hibridizasyon çalışması ile *A. baumannii*'yi tanımlamıştır (Moubareck & Halat, 2020). *A. baumannii* taksonomik hiyerarşisi Tablo 1'de gösterilmektedir.

**Tablo 1:** *Acinetobacter baumannii* taksonomik hiyerarşisi (Procop et al., 2017)

Kingdom	<i>Bacteria</i>
Subkingdom	<i>Negibacteria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Class	<i>Gammaproteobacteria</i>
Order	<i>Pseudomonadales</i>
Family	<i>Moraxellaceae</i>
Genus	<i>Acinetobacter</i>
Species	<i>Acinetobacter baumannii</i>

Tjernberg ve Ursing, 1989 yılında 13 ile 15 arası kodlanmış üç ek DNA grubu tanımlamıştır. Aynı zamanda Bouvet ve Jeanjean, 13 ile 17 arasında numaralandırdıkları beş *Acinetobacter* türü DNA grubu tanımlamıştır (Procop ve ark., 2017). Genomik türler Tablo 2’ de gösterilmiştir.

**Tablo 2:** *Acinetobacter* cinsi genomik türler (Procop et al., 2017, Kutu 7-11)

GENOMİK TÜR	GÜNCEL İSİMLENDİRME
1	<i>A.calcoaceticus</i>
2	<i>A.baumannii</i>
3	<i>A.pittii</i>
4	<i>A.haemolyticus</i>
5	<i>A.junii</i>
6	İsimsiz
7	<i>A.johnsonii</i>
8/9	<i>A.lwoffii</i>
10	<i>A.berezinae</i>
11	<i>A.guillouiae</i>
12	<i>A.radioresistens</i>
13 U	<i>A.nosocomialis</i>
13 BJ, 14 TU	İsimsiz
14 BJ	İsimsiz
15 BJ	İsimsiz
14 U	<i>A.variabilis</i>
16	İsimsiz
17	İsimsiz
13 U’ya yakın	<i>A.seifertii</i>
1 ve 3 arasında	İsimsiz

Bazı türlerin isimsiz olmasının nedeni, fenotipik olarak tanımlama sağlayacak özellik barındırmamaları veya 10 dan az sayıda suş içermesi nedeniyle fenotipik özellikleri hakkında genelleme yapılamaması olarak gösterilmektedir (Bendinelli, Friedman, & Berezin, 2008; Garrity, Brenner, Krieg, Staley 2005).

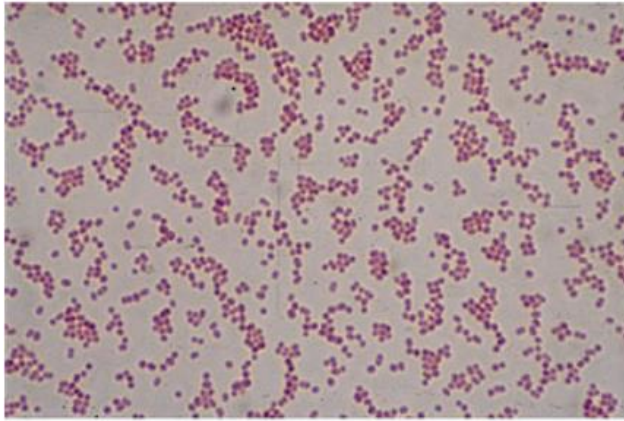
*Acinetobacter* türleri yakın ilişkili olduğundan taksonomisini fenotipik özellikler ile ayırt etmek zordur (Lee ve ark., 2017). Fenotipik olarak birbirlerine benzerlik gösteren türler *Acinetobacter calcoaceticus – baumannii* kompleks (Acb kompleks) adı altında toplanmıştır (Dal ve ark., 2012).

Klinik ile ilişkili türler daha çok Acb kompleks içerisinde yer almaktadır. Bu kompleks içerisinde *A. baumannii*, *Acinetobacter nosocomialis*, *Acinetobacter pittii*, *Acinetobacter seifertii*, *Acinetobacter dijkschoorniae* ve *Acinetobacter calcoaceticus* bulunmaktadır (Harding, Hennon, & Feldman 2018).

Güncel durumda, nomenklatürde yer alan prokaryotik isimlerin listesi (LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature) veri tabanına bakıldığında 100 *Acinetobacter* türü bulunmaktadır.

*Acinetobacter* türleri doğada, su ve toprakda bulunur. Ayrıca kanalizasyonda, çiğ sebzelerde, bozulmuş et ve süt ürünlerinde gösterilmiştir. Ciltte özellikle nemli bölgelerde ve solunum florası gibi bazı vücut bölgelerinde de bulunabilmektedir (Bendinelli ve ark., 2008; Bottone, 2004; Garrity, 2005). Ancak *A.baumannii* normal florada (%0.5-1) sık bulunmamaktadır (Dal ve ark., 2012).

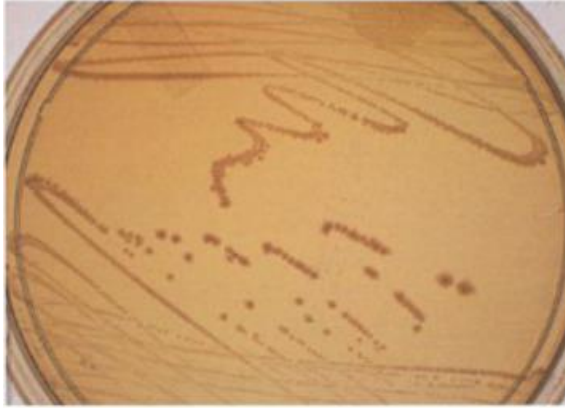
*Acinetobacter baumannii* gram negatif kokobasildir (Bottone, 2004). Taze kültürlerde ise gram pozitif olarak da görülebilmektedir (Dal ve ark., 2012). Kısa ve dolgun basiller oldukları için koklarla karıştırılabilmektedir (Bendinelli ve ark., 2008). Logaritmik fazda dolgun basiller şeklinde görülebilirken, durağan fazda çapı daha küçülerek küresel olarak görülür. Durağan üreme fazında boyutları 0,9-1,6 x 1,5-2,5 µm'dir. Çift halinde ve değişik uzunluklarda zincir halinde bulunurlar. (Garrity, 2005). Şekil 1 de *A. baumannii*'nin gram boyalı preparatı görülmektedir.



**Şekil 1:** *A. baumannii* broth kültüründen hazırlanan gram boyalı preparat (Procop ve ark., 2017, Görüntü 7-5A)

Özellikle insandan izole edilen suşlar triptik soy agar, koyun kanlı agar gibi rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan besiyerlerinde kolay ürerler (Bendinelli ve ark., 2008; Dal ve ark., 2012). İzolasyonunda safra tuzları, şeker ve bromkrezol moru içeren Herelea Agar gibi seçici ayırt edici besiyerleri de kullanılmaktadır (Peleg, Seifert, & Paterson 2008).

*Acinetobacter baumannii*, MacConkey agarda ve %5 koyun kanlı agarda pürüzsüz, opak koloniler oluşturmaktadır. MacConkey agarda laktozu fermente etmediklerinden açık renkli koloni oluştururlar (Şekil 2) (Bottone, 2004). Diğer *Acinetobacter* türleri ise daha küçük ve yarı saydam koloniler oluşturmaktadır. Acb komplekse ait izolatlar hemoliz yapmazlar (Bendinelli ve ark., 2008). Kapsüllü suşların kolonileri mukoid tiptedir. *A. baumannii*'nin 24 saatlik kültürdeki koloni çapı: 1,5-2,0 mm'dir. (Garrity, 2005). Pigmentsiz olarak bilinirler ancak yakın zamanda pigmentli bir suş tanımlanmıştır (Procop ve ark., 2017).



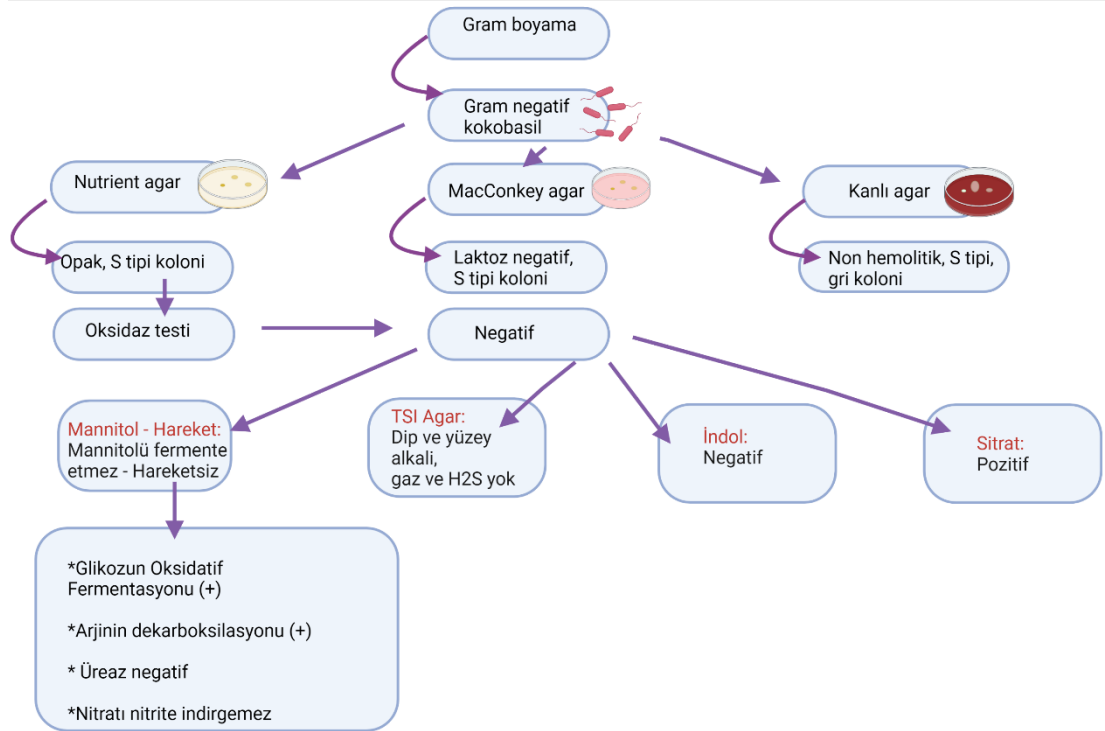
**Şekil 2:** *A. baumannii* 24 saatlik kültür MacConkey agar (Bottone, 2004)

Zorunlu aerob, katalaz pozitif, oksidaz negatif, non fermentatif, sporsuz ve hareketsizdirler (Moubareck & Halat, 2020). Ancak fimbria nedeniyle kayma hareketi gösterebilirler. Tek bir karbon ve enerji kaynağı içeren ortamlarda üreyebilirler. *A. baumannii*, istisnalar hariç nitratı nitrite indirgemez (Garrity, 2005). *A. baumannii*'nin genel özellikleri tablo 3' de verilmiştir.

**Tablo 3:** *A. baumannii* genel özellikleri (Procop ve ark., 2017, Tablo 7-18)

TEST	ÖZELLİK
Oksidaz	Negatif
Hareket	Negatif
MacConkey agarda üreme	Pozitif
42 °c' de üreme	Pozitif
Glikoz oksidatif fermentasyon	Pozitif
Nitrat indirgeme	Negatif
Jelatin	Değişken
Üre	Değişken
Pigmentasyon	Negatif

Çoğu *Acinetobacter* suşu 20 °C ile 37 °C arasında üreyebilir. *A. baumannii*'nin karakteristik bir özelliği ise 44 °C'de de üreyebilmesidir (Bendinelli ve ark., 2008). Optimum üreme pH'sı, 6,5 dir (Garrity, 2005). Şekil 3'de *A. calcoeaceticus* – *baumannii* kompleks identifikasyon şeması görülmektedir.



**Şekil 3:** Acb kompleks identifikasyon algoritması (Biswas & Rather, 2019, Figür 2)

Ticari sistemler ile *Acinetobacter* türlerini tanımlamak özellikle de Acb kompleks içerisinde ayırım yapmak oldukça zordur (Bendinelli ve ark., 2008).

Ayırım için RNA polimeraz  $\beta$ - subunit (rpoB) geni, DNA giraz (gyrB) geni sekans analizi veya multilocus sekans analizi (MLSA) altın standart metod olarak kabul edilmiştir. Ayrıca tür düzeyinde ayırım için Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon / İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (MALDI- TOF MS), Fourier Transform İnfrared Spektroskopi (FTIR), Amplifiye Ribozomal DNA Restriksiyon Analizi (ARDRA) gibi yöntemler kullanılmaktadır (Esen & Gözalan, 2020).

### **2.1.2. *Acinetobacter baumannii*, Klinik Önemi ve İlişkili Enfeksiyonlar**

*Acinetobacter baumannii*, kuru ve nemli ortamlarda hayatta kalma yeteneği, dezenfektan ve antibiyotiklere direnci, tıbbi aletlerde kolonize olabilmesi gibi özellikleri nedeniyle sağlık kurumlarında yüksek insidans gösterirler (Bendinelli ve ark., 2008; Ramirez, Bonomo, & Tolmasky 2020).

*Acinetobacter baumannii*, immunsuprese bireylerde enfeksiyonlara neden olmaktadır (Garrity, 2005). Yoğun bakım üniteleri (YBÜ), yanık üniteleri gibi riskli hastaların bulunduğu kısımlarda enfeksiyon etkeni olarak önem taşımaktadırlar (Mayers, 2009).

Yoğun bakım ünitelerinde ki salgınlarda yoğun antibiyotik kullanımı nedeniyle özellikle yüksek dirençli suşlar görülmektedir (Bendinelli ve ark., 2008). Dünya çapında YBÜ'lerde ki enfeksiyonların %20'sinden sorumludur (Lee ve ark., 2017).

*Acinetobacter* cinsinin hastanede bulunabileceği yerler arasında iyi steril edilmemiş arteriyel ölçüm cihazları, yatağın nemli kısımları, içme suyu, intravenöz (IV) beslenme sıvıları, idrar toplama kapları, distile su, nemlendiriciler (humidifer), aspirasyon (suction) kateterleri ve mekanik ventilatör cihazları sayılabilir (Mayers, 2009). Enfekte bir hastanın taburculuğu sonrası 9 güne kadar yatak korkuluklarında canlı kalabildiği gösterilmiştir (Catalano, Quelle, Jeric, Martino, & Maimone 1999). Salgın durumunda bulaş daha çok sağlık personelinin elleri aracılığıyla olmaktadır. (Bendinelli ve ark., 2008).

Hastane enfeksiyonu salgınlara, toplum kökenli enfeksiyonlara, savaş ve doğal afetler sonrası enfeksiyonlara neden olmaktadır (Biswas & Rather, 2019). Hastane kaynaklı olarak, ventilatör ilişkili pnömoni, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonu, yara enfeksiyonu, idrar yolu enfeksiyonu, sekonder menenjit ve kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Dijkshoorn, Nemec, & Seifert 2007).

Ayrıca osteomyelit, sinovit, peritonit, ve konjunktivit gibi enfeksiyonlara da neden olabilmektedir (Gözütok ve ark., 2013).

Nozokomiyal enfeksiyonlardan ventilatör ilişkili pnömoni ve kan dolaşımı enfeksiyonlarının mortalite oranı %5 ile %54 arasında değişmektedir (Moubareck & Halat, 2020).

*Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarında predispozan faktörler; majör cerrahi, majör travma (özellikle yanık), yenidoğan da prematürelilik, önceden YBÜ' de kalma, hastane veya YBÜ'de uzun kalış süresi, *A. baumannii*'nin endemik olduğu birimde ikamet etmek, kontamine tıbbi alete maruz kalma, mekanik ventilasyon, kalıcı kateter varlığı (IV kateter, üriner kateter, drenaj tüpleri gibi), gerçekleştirilen invaziv işlemler ve önceki antimikrobiyal tedavi ile ilgili faktörlerdir (Dijkshoorn ve ark., 2007).

Toplumdan edinilmiş *A. baumannii* enfeksiyonu nadir olmakla beraber giderek artmaktadır. Toplum kökenli pnömoni hasta bakımı kaynaklı pnömoniden daha ciddidir (Antunes ve ark., 2014). Toplum kaynaklı pnömoniler de yaklaşık %40-60 mortalite oranı vardır (Dijkshoorn ve ark., 2007). Toplum kaynaklı enfeksiyonlarda alkolizm, diyabetes mellitus, kanser ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi yatkınlık oluşturan faktörler mevcuttur (Harding ve ark., 2018).

Askeri yaralanmalar, doğal afet yaralanmaları gibi travmalarda, yara ve yanıklarda cilt ve yumuşak dokudan izole edilebilmektedir. 2003-2005 yılları arasında Irak'taki askeri operasyonlarda askerlerden yara enfeksiyonu ve osteomyelit etkeni olarak izole edilmiştir. Özellikle Afganistan ve Irak, travma yaralarından *A. baumannii* izole edilen iki önemli coğrafik bölgedir ve bu sebeple *A. baumannii* 'Iraqibacter' olarak da anılır. Savaş bölgelerinden dönen yaralı askerlerden çapraz bulaş yoluyla sivil hastanelere de çoklu ilaç direnci (ÇİD) olan *A. baumannii* suşları yayılmıştır (Lee ve ark., 2017; Moubareck & Halat, 2020). Ülkemizde 1999 Marmara depremi doğal afeti sonrası kazazedelerin tedavi aldıkları yoğun bakım ünitesinden yara enfeksiyonu etkeni olarak en sık izole edilen patojen *A. baumannii* olmuş (Öncül ve ark., 2002).

Lübnan da üçüncü basamak bir kurumda yapılan sürveyans analizinde izolatlar incelendiğinde *A. baumannii* en yaygın solunum yolu örnekleri olmak üzere cerrahi yara, kan, idrar ve diğer örneklerden izole edilmiştir (Kanafani ve ark., 2018).



Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise sırasıyla en sık solunum sistemi örnekleri, kan kültürü, yara ve idrar örneklerinden izole edilmiştir (Gözütok ve ark., 2013).

### **2.1.3. *Acinetobacter baumannii* Virulans Faktörleri**

OmpA, *A. baumannii*'nin ana dış membran proteini. OmpA apoptoz ve hücre invazyonunda görev alır. Konak epitel hücrelerine bağlanır, sitokrom C gibi proapoptoik moleküller bırakarak apoptozu indükler. Ayrıca insan serumunda faktör H'ye bağlanır bu da kompleman aracılı öldürmeden kaçmasına izin verebilmektedir. OmpA ayrıca biyofilm oluşumunu indüklemeye kapasitesine sahiptir (Antunes ve ark., 2014; Lee ve ark., 2017; Moubareck & Halat, 2020). Dış membran proteini sitotoksinite ile de ilişkilendirilmiştir (Dijkshoorn ve ark., 2007). CarO, karbapenem ilişkili dış membran proteini ve karbapenem direncinde rol oynamaktadır (Lee ve ark., 2017).

Lipopolisakarit (LPS) tabakanın antijenik özellikteki O polisakariti, pili ile birlikte konak hücreye yapışma da görev almaktadır (Moubareck & Halat, 2020). LPS makrofaj aktivasyonuna, ateşe, şok ve ölüme yol açan hemodinamik değişikliklere yol açabilir ve septik şokla ilişkilendirilmiştir (Antunes ve ark., 2014; Bendinelli ve ark., 2008).

Kapsül, kuruluk ve dezenfeksiyon gibi çevre koşullarına ve fagositoz gibi immün sistem reaksiyonlarına karşı bariyer oluşturmaktadır (Moubareck & Halat, 2020). Kapsüler polisakaritin kompleman aracılı öldürmeyi önlediği belirtilmektedir (Dijkshoorn ve ark., 2007). Ayrıca kapsülün hücre yüzeyi hidrofobitesini arttırdığı ve medikal aletlere yapışmada da rol aldığı gösterilmiştir (Dal ve ark., 2012).

Fosfolipazlar, insan hücre membranında bulunan fosfolipitlere lipolitik etki göstermektedir (Moubareck & Halat, 2020). Fosfolipazların yaptığı fosfolipid degradasyonu konak hücre sinyallelerine etki ederek immün yanıtta değişikliklere neden olabilmektedir (Lee ve ark., 2017). Fosfolipaz D, insan serumunda canlı kalmasına, Fosfolipaz C ise epitel hücrelere toksik etki göstererek invazyonda görev almaktadır (Antunes ve ark., 2014).

CpaA enzimi, koagülasyonu engelleyerek *A. baumannii*'nin intravasküler alanda yayılmasını kolaylaştıran bir faktördür (Moubareck & Halat, 2020).

*Acinetobacter*, klorheksidin eflüx protein (AceI) güçlü bir antiseptik olan klorheksidini aktif bir şekilde hücre dışına pompalamaktadır. Hastane ortamında uzun süre canlı kalabilmesini sağlayan etkenler arasında AceI önemli bir faktör olarak gösterilmektedir (Moubareck & Halat, 2020).

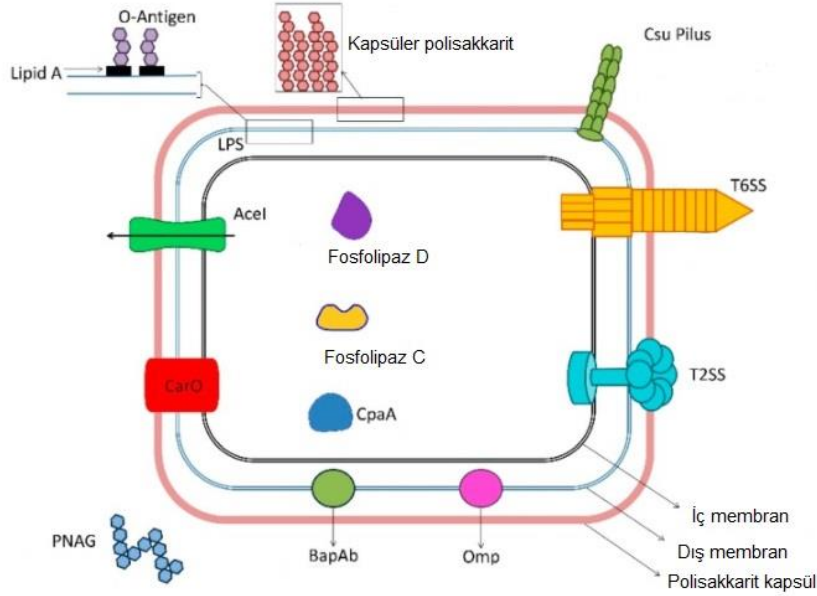
Biyofilm ilişkili protein (BapAb) stresör faktörler ortaya çıktığında biyofilm matrisi oluşturmak için bir araya gelme eğilimindedir. Biyofilm oluşmasında önemli bir diğer faktör birçok gram negatif tür tarafından üretilen yapışma ve agregasyonda görev alan ekzopolisakkarit bir madde olan poli –  $\beta$ - 1,6 – N – asetilglukozamin (PNAG)'dir. (Moubareck & Halat, 2020). *A. baumannii* deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında, yara yerinde ve tıkaçıcı pansumanlarda biyofilm oluşturabilmektedir (Harding ve ark., 2018).

Csu pili sistemi, hücreye tutunma ve antibiyotik yanıtı olarak koruyucu kapsül oluşumunda görev alır. *A. baumannii* flagellası olmadığı için hareketsiz olarak tanımlanır ancak tip IV pili ile ileriye doğru uzama ve geri çekilme şeklinde kayma hareketi yapmaktadır. Bu hareket hastane ortamında ki yayılımı ile ilişkilendirilmiştir. Pili aynı zamanda biyofilm formasyonu oluşturması ve gen transferinde de görev almaktadır (Moubareck & Halat, 2020). Pililer insan epitel hücreleri ile de etkileşime girmektedir (Dijkshoorn ve ark., 2007).

Tip 6 sekresyon sistemi, nükleaz, peptidoglikan hidrolaz gibi toksinlerle diğer bakterilere saldırılmaktadır. Tip 2 sekresyon sistemi ise çoklu efektör proteinleri iletmede görev alır (Moubareck & Halat, 2020). Tip 6 sekresyon sistemi, hedef hücreye ulaşmak için iğne veya sivri bir yapı taşımaktadır (Lee ve ark., 2017). Sekresyon sistemleri özellikle polimikrobiyal enfeksiyonlar açısından önem taşımaktadır (Harding ve ark., 2018).

*Acinetobacter baumannii* demir şelatlayıcı molekül olan sideroforları kullanmaktadır. (Moubareck & Halat, 2020). *A. baumannii*'nin sideroforlarından en iyi tanımlanmış olanı acinetobactin'dir (Lee ve ark., 2017). Siderofor acinetobaktin, *A. baumannii*'nin insan serumunda yaşayabilmesi için önemlidir, kan dolaşımında hayatta kalmasını sağlar (Antunes ve ark., 2014; Dijkshoorn ve ark., 2007). Şekil 4'te *A. baumannii* virulans faktörleri gösterilmiştir.

*Acinetobacter* türlerinin virulansı açısından en önemli özellikleri yeni virulans özellikleri ve antimikrobiyal dirence yol açabilecek genetik materyalleri edinebilme ve yeniden düzenleyebilmeleridir (Clark, Zhanel, & Lynch 2016).



**Şekil 4:** *A. baumannii* virulans faktörleri (Moubareck & Halat, 2020, Figür 2)

#### 2.1.4. *Acinetobacter baumannii* Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Antimikrobiyal direncin majör mekanizmaları, hedef bölge modifikasyonu, enzimatik inaktivasyon ve eflüks pompalarıdır (Dijkshoorn ve ark., 2007).

*Acinetobacter baumannii*'nin intrinsik dirençli olduğu antibiyotikler, ampisilin, amoksisilin, amoksisilin / klavulanat, aztreonam, ertapenem, trimetoprim, kloramfenikol ve fosfomisin'dir (Biswas & Rather, 2019).

Sekans homolojisine dayanarak betalaktamazlar A, B, C ve D moleküler sınıflarına ayrılmaktadır (Mayers, 2009).

Ambler sınıf A betalaktamazlar, klavulanat veya tazobaktam tarafından inhibe edilebilen ve serin bağımlı enzimlerdir. Sefamisin hariç tüm penisilin ve sefalosporinleri hidrolize eder. Bu sınıfta bulunan CTX-M, GES, PER, SCO, SHV, TEM ve VEB *A. baumannii*'de tanımlanmıştır (Moubareck & Halat, 2020). Sınıf A betalaktamazlar dar spektrumludur (Mayers, 2009).

Sınıf B betalaktamazlar, tüm betalaktamları güçlü bir şekilde hidrolize eden çinko bağımlı metallo betalaktamazlardır. Karbapenemler dahil tüm betalaktamları inhibe eder – aztreonam hariç-EDTA ve dipikolinik asit gibi metal şelatörler tarafından inhibe edilebilmektedir. Sınıf B de en endişe verici olanı NDM-1 dir ve *A. baumannii*'den 2011 yılında Çin de izole edilmiştir (Moubareck & Halat, 2020).

Sınıf C; *Acinetobacter* derive sefalosporinaz (ADC) olarak bilinmektedir. Bu AmpC sefalosporinazlar *A. baumannii* suşlarında bulunur ve kromozomal olarak kodlanmıştır. Sefamisin, sefalosporin, penisilin ve beta laktamaz inhibitörlerine dirençlidir. Sefepim ve karbapenem AmpC'de stabildir (Moubareck & Halat, 2020).

Sınıf D betalaktamazlar; serine bağımlıdır ve oksasilineazlar (OXA) olarak bilinirler. İlk 1985 yılında İskoç bir hastanın kan kültüründen izole edilmiştir. *A. baumannii* kromozomda kodlanmış olan *OXA-51* grubu karbapenemazları doğal olarak düşük seviyelerde üretmektedir. Kromozomal ADC tipi betalaktamazlar promotör görevi sağlayan *ISAbal* dizisinin regülasyonu ile düzenlenir. Ayrıca *ISAbal* intrinsik olan *OXA-51* benzeri karbapenemazların ekspresyonunu da arttırmaktadır. *A. baumannii*'de en yaygın karbapenemazlar D sınıfı betalaktamazlardır (Dijkshoorn ve ark., 2007; Moubareck & Halat, 2020).

Ayrıca beta laktam direncinde rol oynayan diğer faktörler ise, OMP ve eflüks pompalarıdır. *A. baumannii* dış membrandaki ana porini antibiyotiklerin hücre içine girişine izin veren yapıdır. Porin kaybı penisilin ve sefalosporin direncine neden olmaktadır. (Moubareck & Halat, 2020). CarO kaybı imipenem ve meropenem direnci ile ilişkilendirilmiştir (Dal ve ark., 2012).

Tetrasiklin ve glisiklin direnci eflüks pompası ile ilişkili bulunmuştur (Moubareck & Halat, 2020). Eflüks pompalarından *TetA* tetrasiklin, *TetB* ise tetrasiklin ve minosiklin direncine yol açar. *Tet(M)* geninin kodladığı proteinlerde ribozomal hedef değişikliği yaparak tetrasiklin, doksisisilin, minosiklin direncine yol açmaktadır (Dal ve ark., 2012).

Florokinolon direnci ise *gyrA* ve *parC* tarafından kodlanan DNA giraz ve DNA topoizomera IV'de mutasyon sonucu gerçekleşir ayrıca eflüks pompaları da dirence neden olmaktadır.

Makrolid direncine de eflüks pompası neden olmaktadır. Küçük Çoklu İlaç Direnci (SMR) eflüks pompası eritromisin ve kloromfenikol direnci ile ilişkilendirilmiştir (Moubareck & Halat, 2020).

Aminoglikozid direnci, Aminoglikozid Modifiye Edici Enzim (AME) ile ilişkilidir. Bu enzim aminoglikozidin ribozomdaki hedeflediği alana bağlanma gücünü azaltır. Bir diğer aminoglikozid direnci nedeni 16S rRNA metilaz genidir. Bu 30S ribozomal subünitteki hedef bağlanma bölgesini değiştirir. (Moubareck & Halat, 2020).

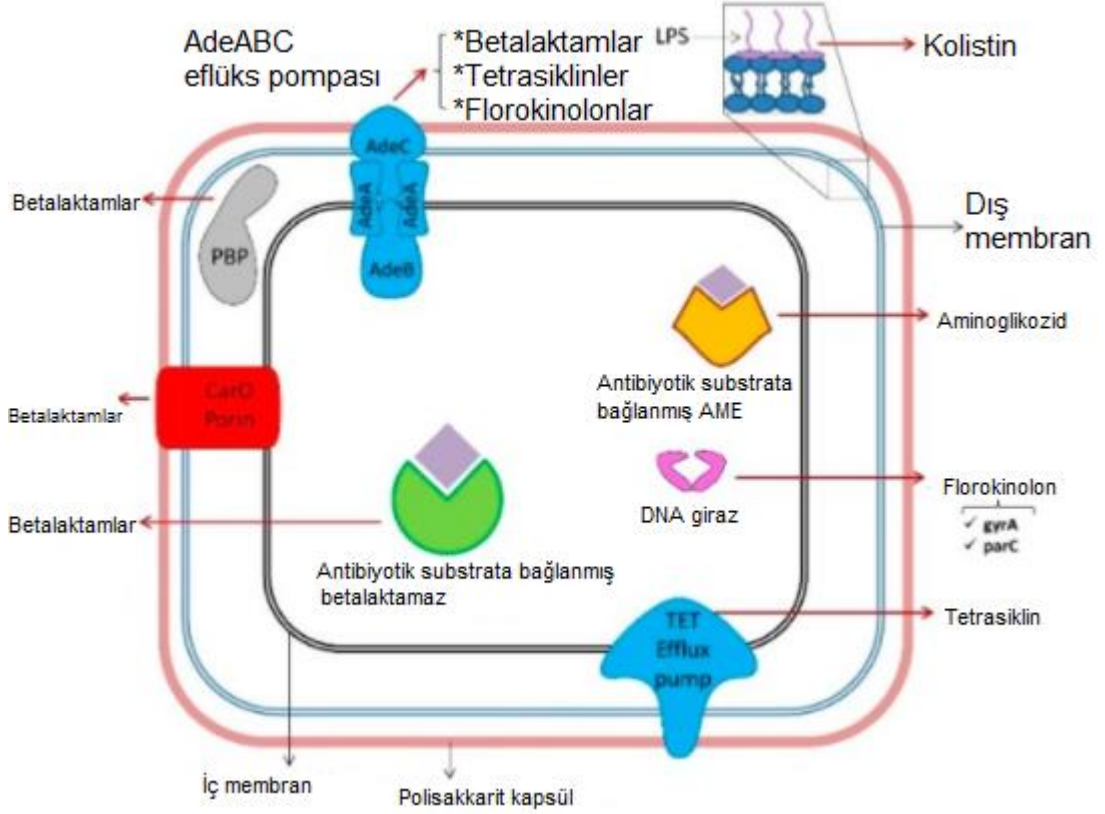
Trimethoprim / sülfametoksazol direncinde ise integronlar ve bunlarla taşınan *gac*, *sul*, *dHfr* genleri sorumludur (Dal ve ark., 2012). *AbaF* yakın zamanda fosfomisin direnci ile ilişkili bulunmuştur (Lee ve ark., 2017).

*Acinetobacter baumannii*'de bulunan kolistin direncinde primer mekanizma kromozomal olarak kodlanmıştır ve dış zarın lipid A'sına fosfoetanolamin (PetN) eklenmesi ve yapısının değişmesi, lipid A sentezi için gerekli gen mutasyonu sonucu tamamen kaybolması, dış zarın stabilitesi için gerekli proteinlerin düşük ekspresyonu ve LPS sentez kofaktörlerinin yetersiz ekspresyonunu içerir. PetNt gibi pozitif yüklü kalıntılar LPS'ye kontrollü eklenmesi bakteri yüzeyindeki negatif yükü azaltır ve polimiksin ile LPS arasındaki etkileşimi sınırlar. *pmrCAB* operonu değişimi PetN transferazı kodlar (Moubareck & Halat, 2020). Plazmit aracılı kolistin direnci sağlayan PetN transferaz, *mcr-1* geni ile taşınmaktadır (Trebosc ve ark., 2019).

Kolistin direncinde önemli bir noktada standart duyarlılık testinde duyarlı olarak sonuçlanmasına rağmen önemli ölçüde dirençli sub popülasyon bulunmasıdır. Bu durum heterozistans olarak tanımlanır ve *A. baumannii*'de de tanımlanmıştır (Fong, Shlaes, & Drlica, 2018).

Çoklu İlaç Eflüks Sisteminde, Direnç – Nodülasyon – Hücre Bölünmesi (RND) ailesinin üyeleri olan AdeABC betalaktamlar, aminoglikozidler, eritromisin, kloramfenikol, tetrasiklin, florokinolon ve trimetoprim gibi oldukça geniş substrat aralığına sahiptir. AdeABC substratları olan ilaçlar AdeABC genlerinin aşırı ekspresyonuna yol açarak çoklu ilaç direncine neden olur. (Moubareck & Halat, 2020). RND ailesinin üyesi AdeDE, amikasin, seftazidim, kloramfenikol, siprofloksasin, eritromisin, meropenem, rifampisin, tetrasiklin ve etidyum bromidi substrat olarak kullanılmaktadır (Dal ve ark., 2012).

Çoklu ilaç direnci gösteren *A. baumannii* suşlarında *AbaR1* adında direnç adası tanımlanmıştır. 45 adet direnç geni saptanmış ve *VEB-1*, *AmpC*, *OXA-10* betalaktamazları, *AME* ve tetrasiklin aktif eflüks proteinlerini kodlamadan sorumlu olduğu belirtilmiş (Fournier ve ark., 2006). Şekil 5’de *A. baumannii* antibiyotik direnç mekanizmaları yer almaktadır.



**Şekil 5:** *Acinetobacter baumannii* Antibiyotik Direnç Mekanizmaları (Moubareck & Halat, 2020, Figür 3)

### 2.1.5. *Acinetobacter baumannii* Enfeksiyonlarında Tedavi Seçenekleri

Tedavi seçenekleri arasında ampisilin - sulbaktam, piperasilin – tazobaktam, seftazidim, sefepim, imipenem, meropenem, tigesiklin, polimiksin, florokinolonlar ve aminoglikozidler yer almaktadır. Bu ajanların seçimi, yerel direnç paternleri, bireyin böbrek fonksiyonları ve alerji durumlarına göre değişmekte ve genelde kombinasyon olarak kullanılmaktadırlar (Mayers, 2009).

Kolistinin başka bir antibiyotikle kombine olarak kullanılması önerilmektedir (Gözütok ve ark., 2013).

En sık önerilen kombinasyonlar; imipenem ve amikasin, kolistin ve rifampin, imipenem – rifampin ve kolistini içermektedir (Dijkshoorn ve ark., 2007).

## 2.2. *Klebsiella pneumoniae*

### 2.2.1. *Klebsiella pneumoniae* Taksonomik ve Mikrobiyolojik Özellikler

Edwin Kleb tarafından 1875 yılında tanımlanmıştır. Cinsin adı da Alman mikrobiyolog Edwin Kleb'den gelmiştir (Reyes, Aguilar, & Caicedo 2019). İlk kez 1882 yılında Carl Friedlander tarafından pnömoni nedeniyle ölen bir kişinin akciğer dokularından izole edilmiştir (Moya & Maicas, 2020). *Klebsiella* cinsi tür düzeyinde üç ana kümeye ayrılmaktadır. *K. pneumoniae* (*K. pneumoniae*) taksonomik hiyerarşisi Tablo 4'de verilmiştir.

Küme I: *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, : *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae*, : *K. pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis*, *K. granulomatis*.

Küme II: *K. planticola*, *K. ornithinolytica*, *K. terrigena*.

Küme III: *K. oxytoca*'yı içerir.

**Tablo 4:** *Klebsiella pneumoniae* taksonomik hiyerarşisi (Procop et al., 2017)

Kingdom	<i>Bacteria</i>
Subkingdom	<i>Negibacteria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Class	<i>Gammaproteobacteria</i>
Order	<i>Enterobacteriales</i>
Family	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	<i>Klebsiella</i>
Species	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

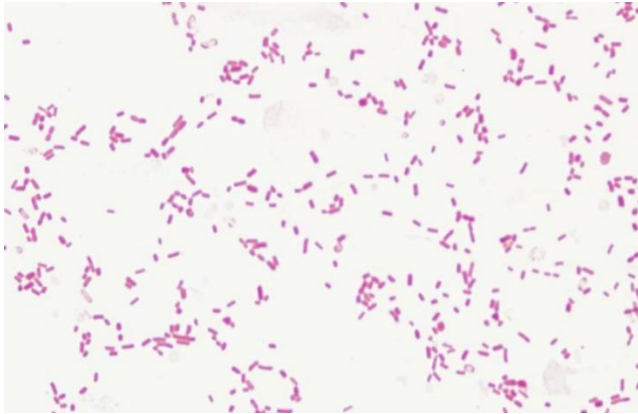
Gram negatif, hareketsiz, kapsüllü basildir. Fakültatif anaerop, oksidaz negatif ve üreaz pozitifdir (Bottone, 2004; Johnson, 2017).

Fermentatiftir ve Voges – Proskauer genellikle pozitifdir (Garrity, 2005). *Klebsiella pneumoniae*'nin genel özellikleri Tablo 5'te verilmiştir.

**Tablo 5:** *Klebsiella pneumoniae* genel özellikleri (Procop et. al.,2017)

TEST	ÖZELLİK
İndol	Negatif
Hareketlilik	Negatif
Lizin	Pozitif
Arjinin	Negatif
Ornitin	Negatif
DNaz (25°C)	Negatif
Jelatinaz (22°C)	Negatif
<b>Fermentasyonlar:</b>	
Laktoz	Pozitif
Sükroz	Pozitif
Sorbitol	Pozitif
Adonitol	Pozitif
Arabinoz	Pozitif

Boyutları yaklaşık 0,3 – 1,0 x 0,6 – 6,0 µm'dir. Tek tek, çiftler halinde veya kısa zincir şeklinde görülebilir (Şekil 6) (Garrity, 2005).



**Şekil 6:** *Klebsiella pneumoniae* – gram boyama (Garrity, 2005).



Kolonileri, laktoz pozitifdir, 37°C veya 30°C’de gece boyu inkübasyon sonrası 3-4 mm çapında, mukoid koloni oluşturmaktadır. Kapsül varlığı mukoid koloni oluşumu ile ilişkilidir (Garrity, 2005). Şekil 7’de kanlı agar da *Klebsiella pneumoniae* kolonileri görülmektedir.



**Şekil 7:** *Klebsiella pneumoniae* kanlı agar (Bottone, 2004, Figür 157)

*Klebsiella* türleri bitkiler, hayvanlar ve insanlar da dahil doğada yaygın olarak bulunur (Martin & Bachman, 2018). Kontamine toprak ve yüzey sularında karşılaşılsa da primer kaynak insandır. İnsan da gastrointestinal sistem ve nazofarenks gibi mukozal yüzeylerde kolonize olabilmektedir. (Johnson, 2017).

Suşların serotiplendirmeleri LPS (O) ve kapsül (K) antijenlerine göre yapılmaktadır. En yaygını O1 olmak üzere 9 tane O antijeni ve 78 tane K antijeni bulunmaktadır (Johnson, 2017).

*Klebsiella pneumoniae* temelde klasik ve hipervirüent (hvKP) olarak iki gruba ayrılmaktadır. Aşırı kapsül üretimi olmayan, sağlıklı bireylerde nadiren enfeksiyona neden olan suşlar ‘klasik’ suşlar olarak kabul edilir (Paczosa & Meccas, 2016). Hipervirüent *K. pneumoniae* ise sağlıklı/ayaktan hastaları da enfekte edebilir, göz, karaciğer gibi farklı alanlarda enfeksiyon yapabilir, metastatik yayılım yapabilir ve besiyerlerinde hipermukoviskoz koloniler oluşturur (Procop ve ark., 2017).

Güncel durumda, nomenklatürde yer alan prokaryotik isimlerin listesi (LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature) veri tabanına bakıldığında *Klebsiella* cinsinin 27 türü, 8 tane de alt türü bulunmaktadır.

### **2.2.2. *Klebsiella pneumoniae* Klinik Önemi ve İlişkili Enfeksiyonlar**

İmmüsuprese, kronik solunum yolu rahatsızlığı olan, geriatrik veya neonatal bireylerde cerrahi alan enfeksiyonu, sepsis, üriner sistem enfeksiyonu, kateter ilişkili enfeksiyonlar ve pnömoni gibi enfeksiyonlara neden olmaktadır (Büyüktuna ve ark., 2021).

Pnömoni, toplum veya hastane kaynaklı olabilmektedir. Pnömoni, konağın kendi nazofaringeal florasının aspirasyonu ve kontamine tıbbi cihazlarla ilişkilendirilmiştir (Johnson, 2017). Yoğun bakım ünitelerinde ventilatör ilişkili pnömoni etkeni olarak da karşılaşılmaktadır. Diyabetes mellitus ve karaciğer hastalığı, toplum kökenli pnömoni, kanser ise nozokomiyal dolaşım sistemi enfeksiyonu ile ilişkilendirilmiştir. *K. pneumoniae* pnömonilerinde mortalite oranı yaklaşık %50 civarında bildirilmiş (Martin & Bachman, 2018).

Üriner sistem enfeksiyonu, kontamine üriner kateter veya kişinin gastrointestinal sistem florasından bulaş ile olmaktadır (Martin & Bachman, 2018).

Bakteriyemi, primer veya akciğer ya da mesaneden yayılmaya bağlı olarak sekonder olarak görülmektedir (Johnson, 2017).

Hipervirüent *K. pneumoniae*'ya bağlı enfeksiyonlar, piyojenik karaciğer absesi, endoftalmi, menenjit ve kan dolaşımı enfeksiyonlarıdır (Martin & Bachman, 2018).

Bulaş kaynağı olarak sağlık personelinin elleri önemli bir kaynaktır (Martin & Bachman, 2018). Sağlık personeli ve hastalar arası direkt temas, kontamine alet ve yüzeyler bulaşı kolaylaştırır (Moya & Maicas, 2020). Entübasyon tüpü, implant, kateter gibi tıbbi aletler *K. pneumoniae* için giriş kapısıdır (Paczosa & Mecsas, 2016).

Çoklu antibiyotik direnci göstermeleri nedeniyle tedavi seçenekleri sınırlıdır, başa çıkılmayarak salgınlar meydana getirebilir ve enfeksiyonları yüksek mortalite ve morbidite ile seyretmektedir (Büyüktuna ve ark., 2021).

### 2.2.3. *Klebsiella pneumoniae* Virülans Faktörleri

*Klebsiella pneumoniae* için dört virülans faktörü tanımlanmıştır. Bunlar; kapsül, pili (fimbria), LPS ve sideroforlardır.

Kapsül, *K. pneumoniae*'nin ana virülans faktörü olarak belirtilmektedir (Johnson, 2017). Hücreyi kaplayan polisakkarit bir matrisdir (Paczosa & Mecsas, 2016). Kapsül, spesifik antikor yokluğunda bakteriyi opsonofagositozdan korur (Garrity, 2005). K1 ya da K2, hipervirulent suşta sık görülen kapsül tipidir (Martin & Bachman, 2018). Hiperkapsül üretimi kromozomal mukoviskozite ile ilişkili *gen A* tarafından *rmpA* veya *rmpA2* yokluğunda tetiklenebilir. K1 ve K2 kapsül virülan suşlarda bulunur (Paczosa & Mecsas, 2016).

Tip 1 fimbria, bakteri hücre yüzeyinde ipliksi, ince çıkıntılardır ve klinik ve çevresel izolatların %90'unda bulunur. Tip 1 fimbria sekresyonu için çevresel etmenleri kullanır örneğin üriner sistemde ise ekspresyona başlar (Paczosa & Mecsas, 2016). Tip 1 pili, insan mukozal veya epitelyal yüzeylere yapışma yeteneği gösterir (Martin & Bachman, 2018).

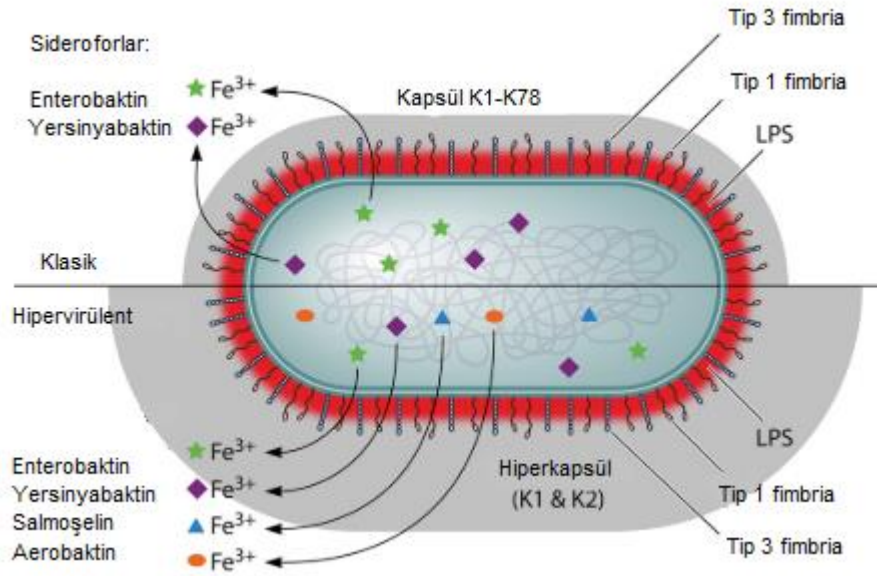
Tip 3 fimbrialar heliks benzeri filamentlerdir (Paczosa & Mecsas, 2016). Tip 3 özellikle biyofilm oluşumunda rol oynamaktadır (Martin & Bachman, 2018). Tip 3 fimbrialar endotrakeal tüplerde kolonizasyona dolaylı olarak da akciğer enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Paczosa & Mecsas, 2016).

LPS, endotoksin olarak da adlandırılmakta, bakterinin neden olduğu septik şokun en önemli sebebi olarak görülmektedir (Martin & Bachman, 2018) LPS komplemana karşı birincil koruma aracıdır. O 1 ise en yaygın antijendir (Paczosa & Mecsas, 2016).

Bakterilerin demir elde etme yeteneği üreme ve çoğalması için oldukça önemlidir. *K. pneumoniae*'nin dört demir taşıyıcı molekülü vardır; enterobaktin, yersiniabaktin, salmoşelin ve aerobaktin (Wang G., Zhao, Chao, Xie, & Wang H. 2020). Bunlardan demir afinitesi en düşük aerobaktin en yüksek ise enterobaktindir. (Paczosa & Mecsas, 2016)

Hemolizinler, eritrosit ile birlikte monosit, polimorfonükleer lökosit gibi hücrelere de in vitro toksik etki gösterirler (Kuş, Arslan, Türk Dağı, & Fındık 2017).

Şekil 8'de *K. pneumoniae* virülans faktörleri görülmektedir.



**Şekil 8:** *K. pneumoniae* virülans faktörler (Paczosa & Mecsas, 2016, Figür 1)

#### 2.2.4. *Klebsiella pneumoniae* Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

İki önemli direnç mekanizması, Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) ve karbapenemaz üretmesidir (Paczosa & Mecsas, 2016). Betalaktam antibiyotikleri hidrolize eden karbapenemazlar en yaygın görülen direnç mekanizmasıdır (Reyes ve ark., 2019). Karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* ile enfekte hastalarda yaklaşık ölüm oranı % 40 ile 50 arasındadır (Reyes ve ark., 2019).

*Klebsiella pneumoniae*, çekirdek genomunda kodlanan enzimler etkisiyle bazı beta laktamlara intrinsik direnç gösterir. Çekirdek genomunda bulunan SHV penisilinazı nedeniyle ampisilin, amoksisilin ve tikarsiline intrinsik direnç sağlar (Martin & Bachman, 2018; Moya & Maicas, 2020).

*Klebsiella pneumoniae* da en sık görülen karbapenemaz sınıf A'ya ait olan KPC'dir ve plazmid tarafından kodlanır (Martin & Bachman, 2018; Yu ve ark., 2018).

Ayrıca çinko bağımlı olan Sınıf B karbapenemazı da bulunur. Bu gruptan NDM-1 ilk olarak *K. pneumoniae*'da keşfedilmiştir. Sınıf D karbapenemazlardan da OXA imipeneme yüksek oranda dirence neden olur. (Martin & Bachman, 2018).

Beta laktam direnç mekanizmasından bir diğeri, PBP'lerde değişiklik yapılması şeklinde meydana gelmektedir (Moya & Maicas, 2020).

İlk polimiksin dirençli, ÇİD *K. pneumoniae* 2004 yılında Yunanistan'da izole edilmiştir. Ana polimiksin direnç mekanizması kromozomal olarak kodlanan hedef yapı modifikasyonudur. Mutasyonlar ile Lipid A tabakasının elektriksel yükü nötralize hale gelir. Bu düzenleyici genler de (*pmrB*'nin aşırı eksprese olması veya *mgrB*'nin inaktivasyonu ile sonuçlanan) meydana gelen mutasyonlar polimiksin direnci ile ilgilidir. Kapsüler polisakkaritte kolistin direnci ile ilişkilendirilmiştir. (Wang ve ark., 2020).

Plazmid aracılı kolistin direncinden *mcr-1*, *mcr-2* ve *mcr-3* genleri sorumludur (Özkul Koçak & Çetin Hazırolan, 2019). *K. pneumoniae*'deki kolistin direncinin en yaygın mekanizması *mgrB* genindeki insersiyonel inaktivasyondur (Kanwar ve ark., 2018).

Tigesiklin direnç mekanizmaları kromozomal olarak kodlanmıştır. 30S ve 16S ribozomal hedef birimleri ve hücre permeabilitesi değişikliklerini içermektedir (Wang ve ark., 2020).

Florokinolon direncinde DNA giraz ve topoizomeraz IV'de nokta mutasyonları şeklindedir (Moya & Maicas, 2020).

#### **2.2.5. *Klebsiella pneumoniae* Enfeksiyonlarında Tedavi Seçenekleri**

Beta laktam ailesinin karbapenem grubunda yer alan imipenem, meropenem, ertapenem ve doripenem sıklıkla *Enterobacteriaceae* enfeksiyonlarında özellikle ESBL üreten suşlarda tedavide yer alır.

Karbapenemaz üreten suşlarda ise kolistin kullanımı önerilmektedir. Tedavi rejiminde monoterapiye kıyasla kombine tedavi önerilmektedir. Kolistinin karbapenem, tigesiklin ya da rifampisinle kombinasyonları monoterapiye göre daha etkin bulunmuş (Reyes ve ark., 2019).

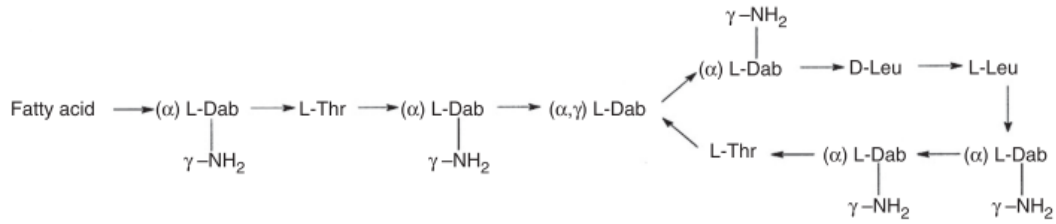
### 2.3. Kolistin

Kolistin, 1947 yılında Koyama tarafından keşfedilmiş, 1959 yılından itibaren gram negatif bakteri enfeksiyonlarında kullanılan eski bir lipopeptid antibiyotiktir (Loho & Dharmayanti, 2015).

Polimiksinler A, B, C, D ve E olmak üzere 5 gruba ayrılır. Ancak B ve E dışındaki gruplar insanların kullanımı için çok toksiktir (Conly & Johnston, 2006). Polimiksin E (kolistin), *Bacillus colistinus* tarafından üretilir (Loho & Dharmayanti, 2015).

Kolistinin klinik kullanımı, 1950-1970 yılları arasında genel olarak gram negatif bakteriyel enfeksiyonlar, 1990-2000 yılları arasında kistik fibroz hastalarında ÇİD gram negatif enfeksiyonlarda, 2000 sonrası ve günümüzde ise gram negatif ÇİD enfeksiyonlarında kullanılmaktadır (Andrade, Silva, Rodrigues, & Pina-Vaz, 2020).

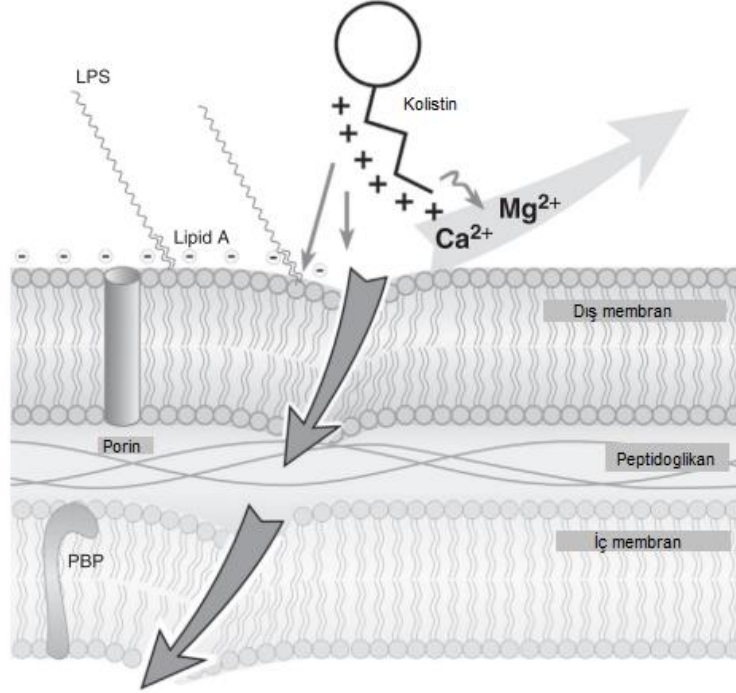
Kolistin, 1750 Da moleküler ağırlığa sahip, D- ve L- aminoasitleri, heptapeptid halkası, 2,4-diaminobütirik asit ve bir amid bağı ile bağlanmış yağ asidi içerir (Şekil 9) (Bialvaei & Samadi Kafil, 2015; Conly & Johnston, 2006).



Şekil 9: Kolistin kimyasal yapısı (Bialvaei & Samadi Kafil, 2015, Figür 1).

Pozitif yüklü kolistin L – diaminobütirik asit, gram negatif basillerin LPS tabakasının önemli bileşeni olan lipid A'nın negatif yüklü fosfat gruplarına elektrostatik etkileşim ile bağlanır. Kolistin divalen katyonlar olan kalsiyum ve magnezyum ile rekabetçi olarak yer değiştirir ve LPS'nin üç boyutlu yapısını bozar. Sonrasında kolistin hidrofobik terminal açıl yağ zincirini ekleyerek dış membranın genişlemesine neden olur ve iç membrana ulaşır, iç membrandaki fosfolipid tabakasının bütünlüğünü değiştirir, hücresel içerik korunamaz ve bu süreç hücre lizisi ile sonuçlanan etki gösterir (Andrade ve ark., 2020).

Kolistin bakterisidal ajan olarak kabul edilir ve gram negatif bakterilerin endotoksin Lipid A kısmına bağlanarak molekülü inaktive edici bir etki de gösterir (Conly & Johnston, 2006). Kolistinin etki mekanizması Şekil 10 da gösterilmiştir.



**Şekil 10:** Kolistin etki mekanizması (Bialvaei & Samadi Kafil, 2015, Figür 3)

Etki spektrumu *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Citrobacter* spp., *Yersinia pseudotuberculosis* ve *Haemophilus influenza* dahil olmak üzere gram negatif bakterilerle sınırlıdır (Conly & Johnston, 2006). *Proteus* spp. ve *Serratia marcescens* polimiksinlere dirençli gram negatif bakterilerdendir. Ayrıca gram pozitifler ve anaerob bakterilerde kolistine dirençlidir (Hamel, Rolain, & Baron 2021).

Ticari olarak iki kolistin formu bulunmaktadır. Kolistin sülfat topikal kullanım veya bağırsak dekontaminasyonu amacıyla oral yoldan kullanılır. Diğer form olan kolistimetat sodyum (kolistin metansülfonat olarak da bilinir) intravenöz veya intramusküler olarak parenteral yolla kullanılır.

Nebülizasyon için iki formda kullanılabilir. Kolistimetat sodyum bir ön ilaçtır ve parenteral uygulama sonrası aktif form olan kolistine dönüşmektedir (Conly & Johnston, 2006).

Klinik kullanımı, sepsis / bakteriyemi, pulmoner enfeksiyonlar, üriner sistem enfeksiyonları, menenjit, osteomyelit, gastrointestinal sistem enfeksiyonları, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları ve göz ve kulak enfeksiyonlarını içermektedir (Loho & Dharmayanti, 2015).

Kolistinin bildirilen en yaygın yan etkileri nefrotoksisite ve nörotoksisitedir. Bu yan etkileri nedeniyle ÇİD gram negatif bakteriyel enfeksiyonlar ortaya çıkana kadar kullanımı terk edilmiştir (Conly & Johnston, 2006).

Kolistin, Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından kritik öneme sahip antibiyotik olarak kabul edilir ve kısıtlı kullanım kategorisinde yer almaktadır (Andrade ve ark., 2020).

Direnç farklı mekanizmalarla ortaya çıkmaktadır; direnç LPS'nin toplam negatif yükünün azalması, dış membran porinlerinin spesifik modifikasyonu, eflüks pompası sistemlerinin aşırı ekspresyonu, kapsül polisakkaritlerinin aşırı ekspresyonu ve enzimatik mekanizmalarla olmaktadır. Kazanılmış polimiksin direncine çoğunlukla Lipid A'nın 4 – amino – 4 – deoksi – L – arabinoz veya fosfoetanolamin eklenmesi ile değişmesinden kaynaklıdır. (Bialvaei & Samadi Kafil, 2015).

İlk olarak 2015 yılında Çin'de daha sonra da Asya, Afrika, Avrupa ve Amerika'da plazmit aracılı kolistin direnç geni *mcr-1* tanımlanmıştır. Bu LPS'de bulunan lipid A'yı fosfoetanolamin ile değiştirir ve kolistin afinitesini azaltır. *Enterobacteriales*'de *mcr* homologu yeni genler ve *mcr-1*'den *mcr-9*'a kadar direnç genleri tanımlanmıştır (Andrade ve ark., 2020).

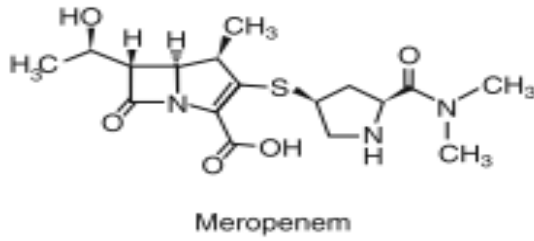
Ülkemizin Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi 2016 Yıllık Raporu'na göre *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin direnci %17 olarak saptanmış. Çoklu ilaç direnci olan *K. pneumoniae* izolatlarında %28,2 , karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında ise %31,7 kolistin direnci saptanmıştır (Şimşek, Süzük Yıldız, & Hekimoğlu 2016).



## 2.4. Meropenem

Meropenem, karbapenem ailesinin üyesi olan geniş spektrumlu bir antibakteriyel ajandır (Baldwin, Lyseng-Williamson, & Keam 2008). Karbapenem grubunun ilk üyesi olan tienamisin *Streptomyces cattleya* tarafından üretilmiştir (Craig, 1997). Meropenem, tienamisinin sentetik türevlerinden birisidir ve 1995 yılında bulunmuş 1996 yılında ise kullanım onayı almıştır (Zhanel ve ark., 2007).

Karbapenem halkasına 1- $\beta$ -metil grubu eklenerek elde edilmiştir (Kattan, Villegas, & Quinn 2008). Meropenem kimyasal yapısı Şekil 11’de gösterilmiştir.



**Şekil 11:** Meropenem kimyasal yapısı (Zhanel ve ark., 2007, Figür 1)

Penisilin bağlayan protein (PBP)’ler bakteri hücre duvarında peptidoglikan oluşumunu katalize eden enzimlerdir. Karbapenemler PBP’leri kalıcı olarak açiller, böylece peptidaz reaksiyonlarını ve peptid çapraz bağlanmasını inhibe eder. Hücre duvar oluşumu, oluşum ve otolizin aynı anda gerçekleştiği dinamik bir süreçtir. PBP inhibe edilince hücre duvarı oluşumu durur ancak otoliz devam eder. Sonunda peptidoglikan zayıflar ve ozmotik basınç nedeniyle hücre patlar (Papp-Wallace, Endimiani, Taracila, & Bonomo 2011). Meropenem, PBP2, PBP3, PBP1a ve PBP1b’lere yüksek afinite göstermektedir (Zhanel ve ark., 2007).

Etki spektrumu gram pozitif, gram negatif ve anaerob suşları kapsamaktadır. Örneğin: Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *P. aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter spp.*, *H. influenzae* ve *Bacteroides fragilis* gibi (Shah & Narang, 2004).

Meropenem, imipeneme kıyasla gram negatif aeroblara karşı daha yüksek, stafilkoklara karşı daha düşük diğerlerine karşı ise eş değer aktiviteye sahiptir (Craig, 1997).

Karbapenemlerin geniş etkinliğe sahip olmaları; sefalosporinlere kıyasla daha küçük molekül yapısında olması ve çözeltide hem pozitif hem negatif yük taşıması, bakterilerin temel PBP'lerine karşı yüksek afinitesi olması, çoğu betalaktamlara karşı stabil kalması kaynaklıdır (Kattan ve ark., 2008).

Karbapenemlerin kullanıldığı enfeksiyonlar, febril nötropeni, nosokomiyal pnömoni, toplum ilişkili pnömoni, diyabetik ayak enfeksiyonu, komplike cilt ve doku enfeksiyonları, komplike üriner sistem enfeksiyonları, akut pelvik enfeksiyon, perforo apandisit ve komplike intra abdominal enfeksiyon gibi çoğul direnç gösterebilecek ve genelde polimikrobiyal seyreden enfeksiyonlardır (Zhanel ve ark., 2007). Serebrospinal sıvılara iyi penetre olabildiği için çocukluk çağı menenjitlerinde de kullanılabilir. (Shah & Narang, 2004). Karbapenemlerin ampirik tedavi de de kullanımını mevcuttur (Baldwin ve ark., 2008).

Karbapenem direnci, bakteriler kendi PBP'lerinde yapısal değişiklik geliştirdiğinde, karbapenemleri parçalayan beta laktamazlar olduğunda veya membran geçirgenliğinde değişiklik ortaya çıktığında gelişir. (Zhanel ve ark., 2007). Karbapenem grubu antibiyotiklere karşı direnç ile ilişkili enzimlerin *blaKPC* geni tarafından kodlandığı saptanmış ve aktarımında transpozonların önemli olduğu gösterilmiştir (Arnold ve ark., 2011). Meropenem serin grubu beta laktamazlar tarafından hidrolize karşı stabil bir yapıya sahiptir. Sınıf B betalaktamazlar ve nadiren de sınıf A ve D enzimleri karbapenemleri hidrolize edebilir (Kattan ve ark., 2008).

Meropeneme dirençli patojenler arasında *Stenotrophomonas maltophilia*, *Enterococcus faecium* ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* bulunmaktadır. Karbapenemlerde intrinsik direncin sebebi ise bazı bakterilerde bulunan PBP'lere zayıf bağlanma afinitesi olmasıdır (Baldwin ve ark., 2008).

Karbapenemler, hücre membranında bulunan porinler aracılığı ile pasif difüzyonla hücreye girerek gram negatif bakterilere etki eder. Dış membran porin proteini D2 eksikliği karbapenem duyarlılığının azalması ile ilişkilendirilmiştir. Meropenemin dirençli subpopülasyona neden olma potansiyelinin düşük olduğu belirtilmektedir.

Meropenem hızlı ve zamana bağı bakterisidal aktivite göstermektedir (Baldwin ve ark., 2008).

Karbapenemler genel olarak güvenilir antimikrobiyaller olmak ile birlikte en sık görülen yan etkileri alerjik reaksiyonlardır. Döküntü, ürtiker veya ani aşırı duyarlılık reaksiyonu gelişebilmektedir (Kattan ve ark., 2008).

Meropenem Yıllık Duyarlılık Testi Bilgi Toplama (MYSTIC) programı 1997 yılında başlatılan, tedavi rejiminde karbapenem bulunan hastanelerde antimikrobiyal direnç modellerini izlemek amacıyla uygulanan bir sörveyans programıdır. MYSTIC 2006 raporunda meropenem duyarlılıkları, Belçika da %100, Almanya da %96,6, İspanya da %75,8 ve Türkiye de ise %38,5 olarak belirtilmiştir (Baldwin ve ark., 2008).

Ülkemizde, Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sörveyans Sistemi 2016 Yıllık Raporu'na göre, *K. pneumoniae*'da imipenem/meropenem direnci %40,1'dir. Avrupa Birliği ülkelerinde ise *K. pneumoniae*'da karbapenem direnç oranı ortalaması %6,1'dir. Avrupa Birliği ülkelerinin invaziv *Acinetobacter* spp. izolatlarında karbapenem direnci oranı ortalaması %35,1'dir. Ülkemizde ise %92,3 olarak saptanmıştır (Şimşek ve ark., 2016).

## **2.5. Antibiyotik Kombinasyonlarının İn Vitro Etkinliğinin Değerlendirilmesi**

Kombinasyon terapileri, toksisite ve ilaç nedenli yan etkileri azaltma, direnç gelişimini geciktirme ve bakteriyel yükü azaltma gibi faydaları nedeniyle tedavi başarısını arttırabilmektedir (Rao, Li, Garonzik, Nation, & Forrest 2018).

Antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkileşimlerini değerlendirmek amacıyla sinerji testi yöntemleri kullanılmaktadır. Sinerji testinin amacı, iki antimikrobiyalin toplam etkisinin bireysel etkilerinin toplamından daha büyük olup olmadığını değerlendirmektir. Sinerji testleri için altın standart yoktur (Doern, 2014)

Antibiyotik kombinasyonlarının etkinliğini ölçen testler, dilüsyon testleri, difüzyon testleri ve zamana bağı öldürme testi olarak sınıflandırılabilir. Dilüsyon testleri kendi aralarında mikrodilüsyon ve makrodilüsyon şeklinde, difüzyon testleri ise disk ve gradient difüzyon şeklinde ayrılmaktadır (Bal, 1999).

Sinerji testlerinde en sık kullanılan iki yöntem dama tahtası ve zamana bağlı öldürme testleridir (Bonapace, Bosso, Friedrich, & White 2002).

Dama tahtası Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) bazlı bir testtir. İnhibisyon hakkında bilgi sağlar ancak bakteri ölümü hakkında bilgi vermez. Aynı şekilde difüzyon temelli testlerde bakteriyel inhibisyon hakkında bilgi sağlamaktadırlar (Kirby & Brennan-Krohn, 2019). Dama tahtası testi mikrodilüsyon yönteminde, her bir suş bir adet 96 kuyucuklu U tabanlı steril polistren plate de çalışılır. Antibiyotik stok solüsyonlarından çift kat seri dilüsyon yapılarak platelere aktarılır. Her deneyde antibiyotiksiz üreme kontrolü kuyucuğu ve sadece besiyeri bulunup inokulum yapılmayan besiyeri kontrolü bulunmalıdır. Kalite kontrol suşları da ayrı plate de aynı stok ve sulandırım solüsyonlarından çalışılmalıdır. Değerlendirme FİK (Fraksiyonel İnhibisyon Konsantrasyonu) indeksi hesaplanması ile yapılmaktadır (Bal, 1999).

FİK, her bir ajanın tek başına MİK değeri ile kombinasyon sonucu elde edilen MİK değerinin kıyaslanması ile hesaplanmaktadır (Doern, 2014).

$$FİK A = \frac{B \text{ antibiyotiği varlığında } A \text{ antibiyotiği MİK değeri}}{\text{Tek başına } A \text{ antibiyotiği MİK değeri}}$$

$$FİK B = \frac{A \text{ antibiyotiği varlığında } B \text{ antibiyotiği MİK değeri}}{\text{Tek başına } B \text{ antibiyotiği MİK değeri}}$$

FİKİ (Fraksiyonel İnhibisyon Konsantrasyonu İndeksi) = FİK A + FİK B

FİKİ  $\leq 0,5$  ise sinerjik

FİKİ  $0,5 - \leq 1$  ise aditif

FİKİ  $1 - < 4$  ise indiferan

FİKİ  $\geq 4$  ise antagonist olarak değerlendirilmektedir (Laishram, Pragasam, Bakthavatchalam, & Veeraraghavan, 2017).

Makrodilüsyon yönteminde ise makro hacimlerde, dama tahtası mikrodilüsyon yöntemi ile aynı prensiple çalışılmaktadır. Ancak burada daha çok ½ MİK, MİK ve 2 X MİK konsantrasyonlarında çalışılmaktadır (Bal, 1999).

Zamana bağlı öldürme testi, tek tek ilaçları ve bu ilaçların kombinasyonlarını içeren tüplerden belirli zamanlarda numune alınıp, hayatta kalan bakterilerin oluşturduğu koloni sayılarını belirlemeyi içerir. Bakterisidal aktivitenin doğru değerlendirilebilmesi için örnek alırken antibakteriyel ajanların koloni sayımı yapılacak besiyerlerine taşınmamasına dikkat edilmelidir (Eliopoulos, G.M. & Eliopoulos C.T., 1988). Zamana bağlı öldürme testinde en iyi değerlendirme ilk 12 saatte yapılmaktadır ilerleyen zamanlarda bakteri üremesi nedeniyle yorumlama zorlaşabilmektedir. (Doern, 2014). Değerlendirmede; tek başına aktif ajanı içeren tüpe göre 2 log<sub>10</sub> azalma sinerjiyi, başlangıç inokulumuna göre 3 log<sub>10</sub> azalma bakterisidal etkiyi, 2 log<sub>10</sub> artış ise antagonist etkiyi göstermektedir (Bal, 1999; Kirby & Brennan-Krohn, 2019).

Kombinasyon testlerinde konsantrasyonların seçiminde kurallar yoktur ancak bir ilacın subinhibitör konsantrasyonunun da çalışmada yer alması, değerlendirme kısmında sinerjik ve aditif etkinin ayırımında katkı sağlayacağı belirtilmektedir (Eliopoulos, G.M. & Eliopoulos C.T., 1988).

Disk difüzyon yönteminde ise 0,5 Mcfarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu yayılan besiyerine etkinliği araştırılan diskler yerleştirilir. Disk arası mesafenin merkezden merkeze uzaklığı, her disk etrafında oluşan inhibisyon zon yarıçaplarına eşit yada biraz üzerinde olmalıdır (Bal, 1999). Disk difüzyonda sinerji testinde disklerin birbirlerine bakan yüzlerinde inhibisyon zonu oluşup birbirlerine doğru uzaması sinerji olarak kabul edilmektedir (Eliopoulos, G.M. & Eliopoulos C.T., 1988)

Gradient difüzyon sinerji testi yönteminde (GDY) ise antibiyotiklerin tek başlarına MİK'leri değerlendirilir ve daha sonra A antibiyotiği bir petriye konur 1 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra yerine B antibiyotiği konular, diğer petriye ise B antibiyotiği konularak 1 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra kaldırılıp yerine A antibiyotiği konular (Bal, 1999).

Gradient difüzyon yönteminde dikkat edilmesi gereken kısım yerleştirilen ikinci striplerin, ilk striplerin MİK değerlerine karşılık gelecek şekilde yerleştirilmesidir. Değerlendirme yine FİKİ hesaplanarak yapılmaktadır (Laishram ve ark., 2017).

Sinerji testlerinin rutin laboratuvarlarda uygulanmamasının nedenleri arasında emek yoğun olmaları, testlerin ve yorumlanmasının standardize olmaması sayılabilir (Kirby & Brennan-Krohn, 2019).

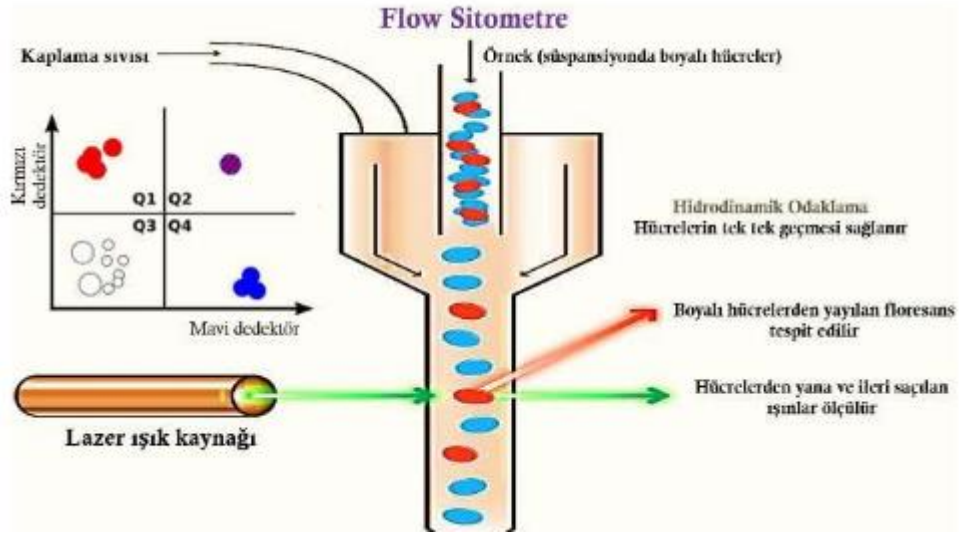
## **2.6. Akım (Flow) Sitometri**

Gucker ve arkadaşları 1947 yılında toz partikülleri ve havadaki bakteri sporlarının analizi amacıyla bir alet geliştirmiştir ve bu alet genellikle ilk flow sitometri cihazı olarak anılmaktadır (Winson & Davey, 2000).

Akım sitometri, süspansiyon halinde bulunan hücrelerin bir akış kanalı boyunca tek tek geçtiği ve her hücrenin büyüklük, granülarite gibi özelliklerinin değerlendirilip, sınıflandırılmasına dayanan hem bir teknik hem de bir cihazdır (Kanev & Gökalp Muranlı, 2015).

Temelde bir akım sitometri cihazı, sıvı akış sistemi, lazer ışınının bulunduğu ışık kaynağı kısmı, filtreler, sinyal dedektörleri, ayırma mekanizması ve yazılım programından oluşmaktadır (Kanev & Gökalp Muranlı, 2015).

Çalışma prensibi, her hücrenin tek tek lazer ışınından geçmesi sırasında dalga boyuna göre yönlendirilen lazer ışığı ve hücrelerin yaydığı fluoresan ışığının bir araya getirilmesi ve optik filtreler, aynalar yardımıyla farklı dalga boylarına göre ayrılıp, sinyallere dönüştürülmesi şeklindedir. Yazılımlar aracılığı ile bu sinyaller dijitalleştirilip histogram grafikleri şeklinde ekrana aktarılmaktadır (Şekil 12) (Ay & Cantürk, 2015).



**Şekil 12:** Akım sitometri çalışma prensibi (Kanev & Gökalp Muranlı, 2015, Şekil 2)

Akım sitometri cihazından, ileri saçılım grafiği ile hücrenin yaklaşık büyüklüğü, yana saçılma grafiği ile yaklaşık granülitesi ve floresans grafiği ile yaklaşık floresans miktarı hakkında bilgi vermektedir. Akım sitometri yöntemi ile ölçümü yapılan hücresel özellikler Tablo 6’da özetlenmiştir (Kanev & Gökalp Muranlı, 2015).

**Tablo 6:** Akım sitometri yöntemi ile ölçümü yapılan hücresel özellikler (Kanev & Gökalp Muranlı, 2015)

Özellikler	Yapısal	Fonksiyonel
<b>İntrinsik</b>	Hücre boyutu Hücre şekli Sitoplazmik granülite Pigment içeriği	Redoks hali Canlılık
<b>Ekstrinsik</b>	Yüzey antijenleri Lektin bağlama Total protein Sülfidril grupları DNA içeriği RNA içeriği Kromonatin yapısı	Membran devamlılığı Yüzey elektrik yükü İntrasellüler pH Membran potansiyeli Sitoplazmik yüzey reseptörü Enzim aktivitesi Sitoplazmik matriks yapısı Membran viskozitesi

Genellikle hücresel analiz, bir floresan boya ile boyama veya bir florojenik substrat ile enzim aktivitesinin belirlenmesi gibi dolaylı bir analiz yöntemi ile olmaktadır (Winson & Davey, 2000).

Akım sitometrinin klinik uygulamada ilk kullanımı 1987 yılında Human ve arkadaşları tarafından idrardaki bakterilerin saptanması amacıyla olmuştur (Ay & Cantürk, 2015).

Antimikrobiyal ajanların bakteri hücreleri üzerinde meydana getirdiği metabolik ve fizyolojik etkilerini incelemeye flow sitometrinin yararlı olduğu belirtilmektedir. Antimikrobiyal etkinliği değerlendirmek amacıyla, genelde kullanılan iki ana florokrom kategorisi bulunmaktadır. Bunlar DNA ve RNA etiketleme boya ve metabolik veya protein bağlayan boya boya (Winson & Davey, 2000).

Mikrobiyolojide akım sitometrinin kullanımı ile ilgili antimikobakteriyel ilaç duyarlılığı, intrasellüler bakterilerin identifikasyonu, postantibiyotik etki, antifungal duyarlılık, antiviral duyarlılık ve antiparaziter duyarlılık konularında çalışmalar bulunmaktadır (Álvarez-Barrientos, Arroyo, Cantón, Nombela, & Sánchez-Pérez, 2000). Bakteri ve maya hücreleri arasında ayırım yapmak, hücresel canlılığı izlemek gibi amaçlarla da kullanılmaktadır (Winson & Davey, 2000).

Flow sitometri yönteminin mikrobiyolojide kullanımının avantajları arasında, hücrenin özelliklerinin değerlendirilmesi, gerçek zamanlı analiz yapması, küçük hacimlerle çalışabilmesi, çok parametreliliği analiz yapması ve testin geleneksel mikrobiyolojik yöntemlere kıyasla çok daha kısa sürede sonuçlanması sayılabilmektedir (McEvoy, Lynch, & Rowan 2020).

## **2.7. Sysmex UF-5000 Tam Otomatize İdrar Partikül Analizörü**

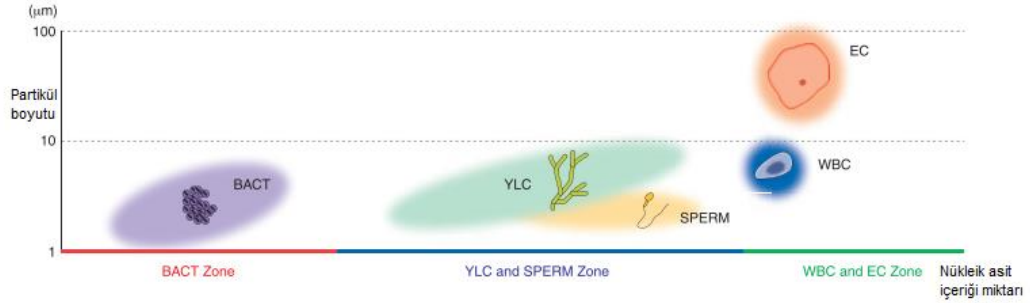
Sysmex UF – 5000 idrar partikül analizi için üçüncü nesil tam otomatize akış sitometrisi analizörüdür. Sistem 488 nm dalga boyunda yarı iletken mavi lazer kullanmaktadır (De Rosa, Grosso, Lorenzi, Bruschetta, & Camporese 2018).

İdrar modunda saatlik 105, vücut sıvısı modunda ise 20 ölçüm yapabilmektedir. Ölçüm sonucunu sayısal olarak vermektedir (Nakayama, Tsuburai, Ebina, & Kino 2018).

Aspire edilen numune, cihaz içerisinde seyreltici ve boyama solüsyonu ile karıştırılır ardından SF (Yüzey) ve CR (Çekirdek) kanallarında akış sitometrisi ile analiz edilir. SF kanalı; eritrosit, kristaller gibi nükleik asitleri olmayan elementleri ölçmektedir.



CR kanalında ise nükleik asit içeren bakteri, mantar gibi hücreler analiz edilmektedir. CR kanalında yüzey aktif madde hücre tarafından boyanın alınması için membranda küçük delikler açar. Bu boya nükleik asitleri boyar. Daha sonra lazer ışını gönderir gelen sinyallere göre sayım ve sınıflandırma yapar (Nakayama ve ark., 2018). İdrardaki partiküllerin boyutları ve nükleik asit içerikleri Şekil 13’de gösterilmiştir.



**Şekil 13:** İdrardaki partiküllerin boyutları ve nükleik asit içerikleri (Nakayama ve ark., 2018, Figür 4)

Bu sinyallerden, ileri saçılan ışık (FSC), partiküllerin boyut ve geçirgenliği, yana saçılan ışık (SSC), partiküllerin kalınlığı ve iç yapıları hakkında bilgi verir. Yan floresan (FL), patiküllerin boyanabilirliği, depolarize yana saçılan ışık (DSS) ise partiküllerin yoğunluğu hakkında bilgi vermektedir (Nakayama ve ark., 2018).

Işık sinyalleri gram pozitif ve negatif bakterilerde boya alımının aynı olmaması nedeniyle farklıdır. Buna istinaden BACT Info kısmında bakterinin gram morfolojisi hakkında bilgi sağlar (De Rosa ve ark., 2018).

Kim ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma da cihazın idrar yolu enfeksiyonlarının hızlı taraması ve gram pozitif / negatif ayrımı değerlendirilmiştir. Sonuç olarak gram negatif bakterilerde ayırım performansı daha yüksek bulunmuş ayrıca idrar yolu enfeksiyonu negatif olan hastaların dışlanması da oldukça yararlı bulunmuş (Kim ve ark., 2018).

Gilboe ve arkadaşları ise UF-5000 tarafından bildirilen gram pozitif / negatif sınıflama sonucuna göre örnekten direkt antibiyotik duyarlılık çalışması yapmışlar. Burada da gram negatif bakterilerin rutin antibiyotik duyarlılık testleri ile direkt antibiyotik duyarlılık testleri arasındaki uyum oldukça iyi ancak gram pozitifler de yeterince iyi bulunmamış (Gilboe ve ark., 2021).

Alenkaer ve arkadaşlarının çalışmasında, acil servise başvuran yaşlı hastalarda idrar yolu enfeksiyonlarını ekarte etmek amacıyla yapılan çalışmada  $10^8$  CFU/ml'de %99 tanısal duyarlılık, %51 özgüllük ve %99'luk negatif ön görü değeri saptanmış (Alenkaer, Pedersen, Szecsi, & Bjerrum, 2021).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Çalışmaya Dahil Edilecek Suşların Seçimi

Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Yoğun Bakım Üniteleri, Onkoloji Kliniği, Hematoloji Kliniği ve Cerrahi Kliniklerden gönderilen, kan, beyin omurilik sıvısı (BOS), derin trakeal aspirat (DTA) ve bronkoalveoler lavaj (BAL) örneklerinden izole edilen kolistin ve karbapenem dirençli 10 *A. baumannii*, 10 *K. pneumoniae* suşu çalışmaya dahil edildi.

Suşların identifikasyonu MALDI Biotyper<sup>®</sup> (Bruker, Germany) ile yapıldı. Antibiyotik duyarlılıkları ise BD Phoenix<sup>™</sup> M50 (Beckton Dickinson, ABD) NMIC-505 paneli ile çalışıldı.

Kolistin ve karbapenem direnci tanımlanan suşlar boncuklu bakteri saklama tüplerinde (Or-Bak, Türkiye) -20°C de saklandı ve çalışmaya her hastadan bir izolat dahil edildi.

Çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 28 Temmuz 2021 tarihinde 2021-10/3 karar numarası ile alınan onay doğrultusunda yapıldı.

#### 3.2. Kolistin Direncinin Broth Mikrodilüsyon Yöntemi ile Doğrulanması

Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST) kolistin MİK değerlerinin belirlenmesi için sadece broth mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılmasını önermektedir.

Bu sebeple suşlar broth mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılarak suşların kolistin dirençleri doğrulanmıştır.

##### 3.2.1. Sıvı Besiyerinin Hazırlanması

Dehidrate Katyon Ayarlı Müeller Hinton Broth (KAMHB) (BD, ABD) üretici firmanın önerisi ile 22 gr tartılarak 1000 ml distile su ile balon joje de çözdürüldü.

Balon joje 121 °C’de 20 dakika otoklavda steril edildi ve antibiyotik stok solüsyonlarının hazırlanması ve porsiyonlanması amacıyla kullanıldı.

### 3.2.2. Antibiyotik Stok Solüsyonunun Hazırlanması ve Porsiyonlanması

İn vitro antimikrobiyal duyarlılık testlerinde kolistin metansülfonat yerine kolistin sülfat kullanılması gerektiği CLSI ve EUCAST’de belirtilmiştir (Bialvaei & Samadi Kafil, 2015). Bu sebeple tüm çalışmalar kolistin sülfat ile yapıldı.

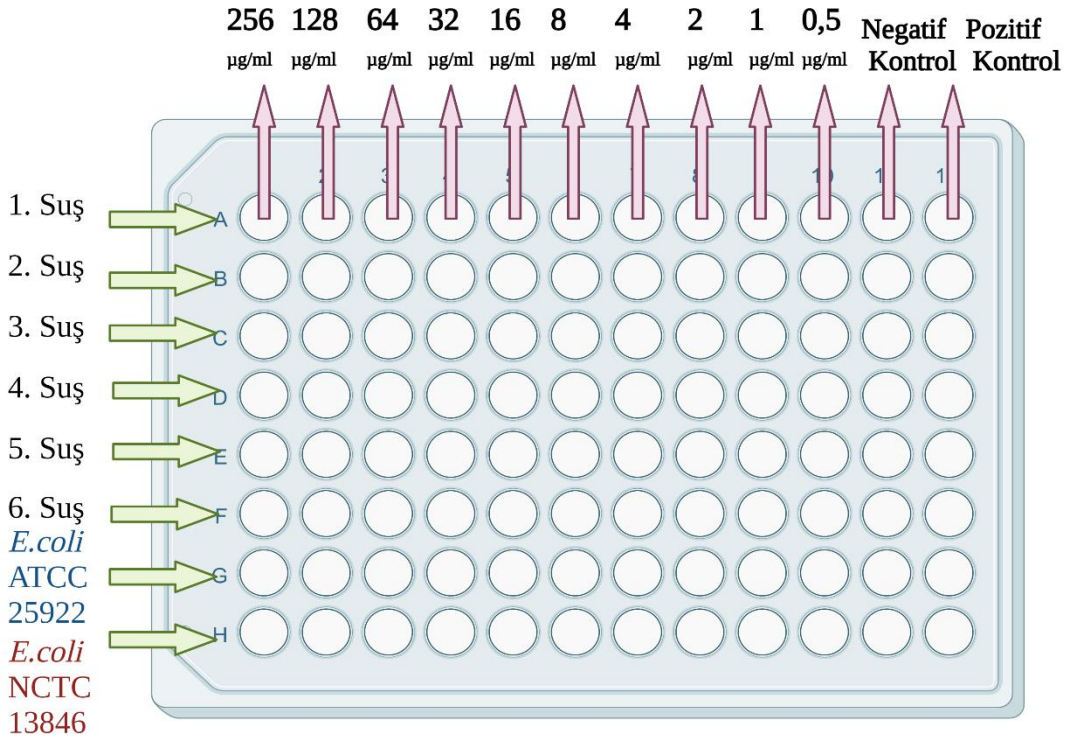
Ana stok solüsyon için tartılması gereken kolistin sülfat miktarının hesaplanması amacıyla aşağıdaki formül kullanıldı (“M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing,” 2019): Potens değeri üretici firmadan öğrenilmiştir.

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

Test edilecek konsantrasyonun 20 katı olacak şekilde (5120 µg/ml) CLSI önerisi doğrultusunda distile su ile ana stok solüsyon hazırlandı. Ana stok solüsyon KAMHB kullanılarak 256 µg/ml’den 0,5 µg/ml e kadar ikişer kat dilüe olacak şekilde on farklı konsantrasyona porsiyonlandı ve platelere aktarıldı.

### 3.2.3. Broth Mikrodilüsyon Platelerinin Hazırlanması

Steril, 96 kuyucuklu U tabanlı platelere KAMHB ile son konsantrasyonları ayarlanmış antibiyotik çözeltileri satır boyunca yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona doğru (256 µg/ml ile 0,5 µg/ml aralığında konsantrasyonlar) volümü 100 µl olacak şekilde eklendi. On birinci kuyucuğa negatif kontrol (besiyeri kontrolü) amacıyla, on ikinci kuyucuğa ise pozitif kontrol olması amacıyla (üreme kontrolü) sadece 100 µl KAMHB eklendi (Leber, A. L., 2016). Şekil 14’de plate de bulunan kolistin konsantrasyonları görülmektedir. Hazırlanan platerler -70 °C’de çalışma gününe kadar saklandı.



**Şekil 14:** Kolistin broth mikrodilüsyon plate'inde kolistin konsantrasyonlarının dağılımı

### 3.2.4. Bakteri İnokulumu Hazırlanması

*Acinetobacter baumannii*, *K. pneumoniae* ve kalite kontrol suşları olan kolistin duyarlı *E. coli* ATCC 25922 (QC2 suşu) ve kolistin dirençli *E. coli* NCTC 13846 (QC1 suşu) % 5 koyun kanlı Columbia agar (KKCA) (BD, ABD) da canlandırıldı. Dondurucudan çıkartılan platelerin oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Bu sırada 18-24 saatlik saf kolonilerden 3-5 adet steril öze ile alındı ve yaklaşık 5 ml kadar olan %0,85'lik serum fizyolojik (SF) ile karıştırılarak 0,5 McFarland yoğunluğunda süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyondan %0,85'lik SF ile 1/20 dilüsyon yapılarak son konsantrasyon  $5 \times 10^6$  CFU/ml olacak şekilde ayarlandı. Negatif kontrol kuyucuğu olan on birinci kuyucuk hariç tüm kuyucuklara bu süspansiyondan 10 µl eklendi. Böylece bir kuyucuktaki son bakteri yoğunluğu  $5 \times 10^5$  CFU/ml oldu. Platelere 16-20 saat  $35^\circ\text{C}$ 'de inkübe edildi (Leber, A. L., 2016). Her platede 6 tane suş ve iki kalite kontrol suşu çalışıldı.

### **3.2.5. Kolistin Broth Mikrodilüsyon MİK Değerlendirilmesi**

Plateler 16-20 saat 35°C’de ki inkübasyonu takiben iki farklı araştırmacı tarafından değerlendirildi ve saptanan MİK değerleri kayıt edildi. İlk olarak negatif kontrol kuyucuğu ve sonra pozitif kontrol kuyucuğu değerlendirildi. Kalite kontrol suşları olan *E. coli* ATCC 25922 (QC2 suşu) ve *E.coli* NCTC 13846 (QC1 suşu)’ nin MİK değerlerinin uygun aralıklarda olduğu görüldükten sonra suşların MİK değerlerinin yorumlanmasına geçildi.

Kalite kontrol suşlarının uygun aralıkta sonuç vermemesi, pozitif kontrol kuyucuğunda üreme olmaması, negatif kontrol kuyucuğunda üreme olması gibi durumlarda test tekrar çalışıldı.

Yorumlama da EUCAST kriterleri esas alındı. Buna göre MİK değeri 2 µg/ml ve altında olan suşlar duyarlı, 2 µg/ml üzerinde olan suşlar ise dirençli olarak kabul edildi.

### **3.3. Dama Tahtası Yöntemi ile Kolistin ve Meropenem Kombinasyonunun Etkinliğinin Değerlendirilmesi**

#### **3.3.1. Sıvı Besiyerinin Hazırlanması**

Dehidrate KAMHB (BD, ABD) retici firmanın nerisi ile 22gr tartılarak 1000 ml distile su ile balon joje içerisinde çözdürüldü. Balon joje de 121 C’de 20 dakika otoklavda steril edildi. Ve antibiyotik stok solüsyonlarının hazırlanması ve porsiyonlanması amacıyla kullanıldı.

#### **3.3.2. Antibiyotiklerin Stok Solüsyonlarının Hazırlanması ve Porsiyonlanması**

Antibiyotiklerin potens değerleri üretici firmadan öğrenilmiştir. Kolistin ve meropenem ana stok solüsyonu hazırlanması için tartılması gereken miktarların hesaplanması amacıyla aşağıdaki formül kullanıldı (“M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing,” 2019):

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

Ana stok solüsyon, test edilecek kolistin konsantrasyonunun 10 katı olacak şekilde (5120  $\mu g/ml$ ) CLSI önerisi doğrultusunda distile su ile hazırlandı. Ve KAMHB kullanılarak 512  $\mu g/ml$ 'den 0,5  $\mu g/ml$  e kadar ikişer kat dilüe olacak şekilde on farklı konsantrasyona porsiyonlandı.

Ana stok solüsyon test edilecek meropenem konsantrasyonunun 20 katı olacak şekilde (640  $\mu g/ml$ ) CLSI önerisi doğrultusunda distile su ile hazırlandı. Ve KAMHB kullanılarak 32  $\mu g/ml$ 'den 0,5  $\mu g/ml$  e kadar ikişer kat dilüe olacak şekilde on farklı konsantrasyona porsiyonlandı.

Porsiyonlanmış kolistin ve meropenem solüsyonları plâtelere aktarıldı.

### 3.3.3. Dama Tahtası Plâtelерinin Hazırlanması

Çalışma steril, 96 kuyucuklu U tabanlı plâtelер de yapıldı. Her suş için bir plâte kullanıldı. A1 kuyucuğu üreme kontrolü, H12 kuyucuğu besiyeri sterilite kontrolü olacağı için bu kuyucuklara sadece 100  $\mu l$  KAMHB konuldu.

A2 ile A12 satırı boyunca bulunan kuyucuklarda kolistin MİK değerini saptamak amacıyla 0,5  $\mu g/ml$  ile 512  $\mu g/ml$  arasındaki konsantrasyonlarda 100  $\mu l$  kolistin konuldu.

Birinci sütunda bulunan B1 ile H1 kuyucukları boyunca meropenem MİK değerini saptamak için 0,5  $\mu g/ml$  ile 32  $\mu g/ml$  arasındaki konsantrasyonlarda 100  $\mu l$  meropenem konuldu.

Kombinasyon kuyucuklarına son konsantrasyonları ayarlanmış 50  $\mu l$  kolistin ve 50  $\mu l$  meropenem konuldu. Kuyucuklarda bulunan antibiyotik solüsyonları birbirlerini dilüe ettiğinden, kombinasyondaki son kolistin konsantrasyonları: 0,25  $\mu g/ml$  ile 256  $\mu g/ml$ , meropenem konsantrasyonları ise 0,25  $\mu g/ml$  ile 16  $\mu g/ml$  aralığında oldu (Bal, 1999) Şekil 15'de dama tahtası plâte'inde antibiyotiklerin son konsantrasyonları görülmektedir.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Pozitif Kontrol	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
B	0,5	0,25 0,25	0,5 0,25	1 0,25	2 0,25	4 0,25	8 0,25	16 0,25	32 0,25	64 0,25	128 0,25	256 0,25
C	1	0,25 0,5	0,5 0,5	1 0,5	2 0,5	4 0,5	8 0,5	16 0,5	32 0,5	64 0,5	128 0,5	256 0,5
D	2	0,25 1	0,5 1	1 1	2 1	4 1	8 1	16 1	32 1	64 1	128 1	256 1
E	4	0,25 2	0,5 2	1 2	2 2	4 2	8 2	16 2	32 2	64 2	128 2	256 2
F	8	0,25 4	0,5 4	1 4	2 4	4 4	8 4	16 4	32 4	64 4	128 4	256 4
G	16	0,25 8	0,5 8	1 8	2 8	4 8	8 8	16 8	32 8	64 8	128 8	256 8
H	32	0,25 16	0,5 16	1 16	2 16	4 16	8 16	16 16	32 16	64 16	128 16	Negatif Kontrol

**Şekil 15:** Dama tahtası yöntemi için hazırlanan plate de son konsantrasyonlar ( $\mu\text{g/ml}$ ). (Kırmızı renk kolistin, mavi renk meropenem antibiyotiğinin konsantrasyonunu ifade etmektedir.)

### 3.3.4. Bakteri İnokulumu Hazırlanması

*Acinetobacter baumannii*, *K. pneumoniae* ve kalite kontrol suşları olan kolistin duyarlı *E. coli* ATCC 25922 (QC2 suşu) ve kolistin dirençli *E. coli* NCTC 13846 (QC1 suşu) KKCA'da canlandırıldı.

Dondurucudan çıkartılan platelerin oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Bu sırada 18-24 saatlik saf kolonilerden 3-5 adet steril öze ile alındı ve yaklaşık 5 ml kadar olan %0,85'lik SF ile karıştırılarak 0,5 McFarland yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyondan %0,85'lik SF ile 1/20 dilüsyon yapılarak son konsantrasyon  $5 \times 10^6$  CFU/ml olacak şekilde ayarlandı.

Negatif kontrol olan H12 kuyucuğu hariç tüm kuyucuklara bu süspansiyondan 10  $\mu\text{l}$  eklendi. Böylece bir kuyucuktaki son bakteri yoğunluğu  $5 \times 10^5$  CFU/ml oldu. Plateler 16-20 saat  $35^\circ\text{C}$ 'de inkübe edildi.

Her plate de bir suş çalışıldı. Kalite kontrol suşları da ayrı platelerde çalışıldı.



### 3.3.5. Dama Tahtası Testinin Değerlendirilmesi

İki farklı araştırmacı tarafından 16-20 saat 35°C’de inkübasyondan sonra plateler değerlendirildi. İlk olarak pozitif ve negatif kontrol kuyucukları değerlendirildi. Sonrasında her bir kuyucuk üreme olup olmaması açısından değerlendirilip kayıt altına alındı.

Platelerde kolistin ve meropenemin tek başlarına MİK değerleri belirlendikten sonra kombinasyondaki etkileşimlerini incelemek için Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon (FİK) ve Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon İndeksi (FİKİ) hesaplandı ve sinerjik, aditif, indiferan, antagonist olarak etkinlikleri değerlendirildi.

$$FİK Kolistin = \frac{\text{Meropenem varlığında Kolistin MİK değeri}}{\text{Tek başına Kolistin MİK değeri}}$$

$$FİK Meropenem = \frac{\text{Kolistin varlığında Meropenem MİK değeri}}{\text{Tek başına Meropenem MİK değeri}}$$

$$FİKİ = FİK Kolistin + FİK Meropenem$$

Dama tahtası sonuç yorumlanması ise aşağıdaki FİKİ değerlerine göre gerçekleştirildi (Laishram ve ark., 2017).

$FİKİ \leq 0,5$  ise sinerjik

$FİKİ > 0,5 - \leq 1$  ise aditif

$FİKİ > 1 - < 4$  ise indiferan

$FİKİ \geq 4$  ise antagonist

### **3.4. Gradient Difüzyon Yöntemi (E-Test) ile Kolistin ve Meropenem Kombinasyonunun Etkinliğinin Değerlendirilmesi**

Suşlar ek bir yöntem olarak gradient difüzyon yöntemi ile değerlendirildi.

Her bir suşta kolistin ve meropenem tek olarak ayrıca da kolistin antibiyotiğinin bulunduğu ortam da meropenem ve meropenem antibiyotiğinin bulunduğu ortamda kolistin olacak şekilde çalışıldı.

Kalite kontrol suşları olan kolistin duyarlı *E. coli* ATCC 25922 (QC2 suşu), kolistin dirençli *E.coli* NCTC 13846 (QC1 suşu), *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* suşları KKCA'da canlandırıldı.

Saf üreyen taze kültürlerden 3-5 koloni steril öze ile alındı. Yaklaşık 5 ml'lik SF ile karıştırılarak 0,5 McFarland yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlandı.

Bakteri süspansiyonu her suş için 3 adet Müeller Hinton Agar'a (MHA) (BD, ABD) steril swab yardımıyla yayıldı. Test şeritleri yerleştirilmeden önce besiyerinin bakteri süspansiyonunu absorbe etmesi beklendi.

İlk besiyerine kolistin ve meropenem stripleri (Liofilchem, İtalya) tek başlarına MİK'lerinin tespiti için birbirlerinin eliptik zonlarını etkilemeyecek şekilde zıt yönlü olarak yerleştirildi.

İkinci besiyerine kolistin sribi, üçüncü besiyerine ise meropenem sribi yerleştirildi. Bir saat oda sıcaklığında bekletildi.

Kolistin gradient difüzyon sribinin antibiyotik konsantrasyonu 256 µg/ml, meropenem gradient difüzyon sribinin antibiyotik konsantrasyonu 32 µg/ml ile sonlanmaktadır. Bu nedenle antibiyotik stripleri değiştirilirken yerleştirilen stripler 32 µg/ml konsantrasyonunda aynı hizaya gelecek şekilde ayarlandı.

İkinci besiyerinde kolistin sribi 1 saatin sonunda steril pens ile kaldırıldı. Kolistin antibiyotiğinin difüze olduğu alanda 32 µg/ml konsantrasyon değerine denk gelecek şekilde meropenem sribi konuldu.

Üçüncü besiyerinde meropenem sribi 1 saatin sonunda steril pens ile kaldırıldı. Meropenem antibiyotiğinin difüze olduğu alanda 32 µg/ml konsantrasyon değerine denk gelecek şekilde kolistin sribi yerleştirildi.

Besiyerleri 35 °C’de 20 saat inkübe edildi (Laishram ve ark., 2017).

Değerlendirme iki farklı araştırmacı tarafından 20 saatlik 35 °C’lik inkübasyonun sonunda yapıldı.

Aydınlık bir ortamda koyu renk zemin üzerinde tam inhibisyon zonunun test stribine temas ettiği konsantrasyon göz ile değerlendirilip kayıt edildi. FİKİ hesaplaması yapıldı. Dama tahtası yönteminin yorumlanmasında kullanılan kriterlere göre değerlendirilmesi yapıldı.

### **3.5. Akım Sitometri Yöntemi ile Kolistin ve Meropenem Kombinasyonunun Etkinliğinin Değerlendirilmesi**

Çalışma da SYSMEX UF-5000 otomatize idrar analizörü cihazı (Kobe, Japonya) kullanıldı.

Çalışma yönteminin oluşturulması amacıyla yapılan ön çalışma da cihazın 10.000/μl üzerindeki bakteri sayısını kantitatif olarak değil, pozitif (+) olarak saptadığı ve bakteri sayısındaki artışa bağlı olarak + ile +++++.+ aralığında kalitatif olarak değerlendirdiği görüldü.

Bu sebeple **her okutma öncesi tüm tüplerde dilüsyon yapılmasına** karar verildi. Dilüsyon sıvısı olarak KAMHB ve SF denendi. Ancak her ikisiyle de yapılan okutmalarda ölçümler arası tutarlı sonuçlar elde edilemedi. Cihazın kendi sıvısı olan **UF- CELLSHEATH™ ile dilüsyon yapıldığında tutarlı sonuçlara ulaşıldığı görüldü.**

Cihazda ölçümlerin daha hassas yapılması adına **BF modu kullanılmasına karar verildi.** Bu modda cihazın aspirat hacmi en az 0,6 ml olması gerekmektedir. Ayrıca bu modda okutma 9 ml’lik idrar tüplerinde veya yaklaşık 2 ml’lik godede yapılmaktadır.

Bakteri yoğunluğu fazla olmayıp cihaz tarafından sayılabilecek düzeyde olmalıydı. Bu sebeple 2 ml ile 8 ml arası hacimlerde farklı dilüsyon katsayıları ile çalışma yapıldı.

Hem sonuçların anlamlı bir şekilde birbirini desteklemesi, hem de çalışma esnasında uygulama ve hesaplama kolaylığı gibi nedenlerle **1 ml örnek ve 4 ml UFC-CELLSHEATH™ ile 1/5 dilüsyonda çalışmak uygun bulundu.**

Çalışma dizaynı yapılırken ölçümlerin 0,1,2,3,4,8,12 ve 24. saatlerde yapılması kararlaştırıldı. Ancak ön çalışmalarda bakteri sayısı arttıkça cihaz kalitatif değer verdiği için okutmalar öncesi çok fazla ve ölçümler arası değişen dilüsyonlar kullanıldı. Çalışma bir standardizasyon içerisinde yürütülemeyeceğinden **ölçümler 0,1,2,3 ve 4. saat ölçümleri ile sınırlandırıldı.**

### **3.5.1. Sıvı Besiyerinin Hazırlanması**

Dehidrate KAMHB (BD, ABD) üretici firmanın önerisi ile 66gr tartılarak 3000 ml distile su ile balon joje içerisinde çözdürüldü. Balon joje 121 °C’de 20 dakika otoklavda steril edildi. Ve antibiyotik stok solüsyonlarının hazırlanması ve porsiyonlanması amacıyla kullanıldı.

### **3.5.2. Antibiyotik Stok Solüsyonlarının Hazırlanması ve Porsiyonlanması**

Antibiyotiklerin potens değerleri üretici firmadan öğrenilmiştir. Kolistin ve meropenem ana stok solüsyonu hazırlanması için tartılması gereken miktarların hesaplanması amacıyla aşağıdaki formül kullanıldı:

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

Ana stok solüsyon test edilecek kolistin konsantrasyonunun 20 katı olacak şekilde (320 µg/ml) CLSI önerisi doğrultusunda distile su ile hazırlandı. Ve KAMHB kullanılarak 16 µg/ml’den 1 µg/ml e kadar ikişer kat dilüe olacak şekilde beş farklı konsantrasyona porsiyonlandı.

Ana stok solüsyon test edilecek meropenem konsantrasyonunun 20 katı olacak şekilde (320 µg/ml) CLSI önerisi doğrultusunda distile su ile hazırlandı. KAMHB kullanılarak 16 µg/ml'den 1 µg/ml e kadar ikişer kat dilüe olacak şekilde beş farklı konsantrasyona porsiyonlandı.

Porsiyonlanması tamamlanan antibiyotikler çalışmaya hazır olacak şekilde falcon tüplerine (Gongdong, Çin) konuldu.

MİK değeri olarak her iki antibiyotik için EUCAST tarafından duyarlılık sınır değeri olan 2 µg/ml baz alındı. Her suş için ½ MİK, MİK, MİK x 2 ve MİK x 4 değerlerinde kolistin, meropenem ve kolistin + meropenem çalışıldı. Her suş için falcon tüplerine 9 ml hacminde 1 µg/ml, 2 µg/ml, 4 µg/ml ve 8 µg/ml konsantrasyonlarında kolistin konuldu. Meropenem, 9 ml hacminde 1 µg/ml, 2 µg/ml, 4 µg/ml ve 8 µg/ml konsantrasyonlarında konuldu. Kombinasyonda antibiyotikler birbirlerini dilüe edeceğinden 4,5 ml hacminde 2 µg/ml, 4 µg/ml, 8 µg/ml ve 16 µg/ml konsantrasyonlarında kolistin, 4,5 ml de 2 µg/ml, 4 µg/ml, 8 µg/ml ve 16 µg/ml konsantrasyonlarında meropenem konularak son hacim 9 ml olacak şekilde hazırlandı (Şekil 16). Tüpler çalışma günü kullanılmak üzere -80 °C' de saklandı.



**Şekil 16:** Akım sitometri yöntemi ile çalışma için her bir suş için Sysmex UF-5000 cihazında değerlendirilecek antibiyotik konsantrasyonları (1/2 MİK, MİK, MİK x 2 ve MİK x 4)

### **3.5.3. Bakteri İnokulumu Hazırlanması**

Çalışma da her gün bir tane suş çalışıldı. Çalışılacak suş bir gün öncesinden KKCA'da canlandırıldı. Dondurucudan çıkartılan falcon tüplerinin oda sıcaklığına gelmesi beklendi.

Steril öze ile 18-24 saatlik saf kolonilerden alınıp yaklaşık 5 ml kadar olan %0,85'lik SF ile karıştırılarak 1 McFarland yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlandı. Hazırlanan bakteri süspansiyonu 1/5 dilüe edildi. Daha sonra bu dilüe edilmiş bakteri süspansiyonundan 1'er ml antibiyotik süspansiyonu içeren falcon tüplerine aktarıldı. Hazırlanan bakteri süspansiyonunun falcon tüplerine aktarılmasıyla tüplerde son bakteri konsantrasyonu yaklaşık  $6 \times 10^6$  CFU/ml oldu. Tüplerden 0. saat örneği alındıktan sonra çalkalamalı etüvde 35 °C'de inkübe edildi. Saatlik olarak etüvde bulunan ana tüplerden örnek alındı.

### **3.5.4. Cihazda Bakteri Sayımı Yapılması**

Cihazda her çalışma başında kalibrasyon sıvıları ile kalibrasyon yapıldı. Cihazda 0,1,2,3 ve 4. saatlerde bakteri sayımı yapıldı. Cihazın daha hassas bakteri sayımı yaptığı vücut sıvısı (BF) modu kullanıldı. BF modunda cihaz, ölçümler arası kontaminasyonu önlemek amacıyla yoğun yıkama yapmaktadır.

Cihazda vücut sıvısı modu manuel olarak kullanılmaktadır yani sayım yaptırmak istediğiniz tüpü cihazdan uygun komut gelince yerleştirip bakteri sayım sonucu vermesi için beklenmektedir. Cihaz numune değerlendirmesini 9 ml'lik idrar tüplerinde veya yaklaşık 2 ml'lik gode de yapmaktadır.

Cihazda bakteri sayımı yapılmadan önce 9 ml'lik steril idrar tüplerine (Vacufine, Türkiye) 4 ml cihazın UF- Cell Sheath sıvısından konuldu. Daha sonra sayım yapılacak tüpten 1 ml örnek konularak 1/5 dilüe edilerek vücut sıvısı modunda değerlendirilmesi sağlandı.

Her saat başı kolistinin ½ MİK, MİK, MİK x 2 ve MİK x 4 tüpleri, meropenemin ½ MİK, MİK, MİK x 2 ve MİK x 4 tüpleri ve kombinasyonun ½ MİK, MİK, MİK x 2 ve MİK x 4 tüpleri cihazda okutuldu.

Cihaz örneği aspire ettikten sonra yaklaşık 3 dakika içerisinde BACT başlığı ile bakteri/ $\mu$ l sayısını vermektedir.

Her ölçüm sonrası saptanan bakteri sayısı kayıt altına alındı.

Sinerjistik etki, en aktif tek ajanla karşılaştırıldığında kombinasyondaki bakteri sayısının, ml'de  $\geq 2 \log_{10}$  azalması olarak değerlendirildi.

Antagonizma, en aktif tek ajanla karşılaştırıldığında kombinasyondaki bakteri sayısının, ml'de  $\geq 2 \log_{10}$  artışı olarak değerlendirildi.

İndiferan etkinin belirlenmesinde ise, en aktif tek ajanla karşılaştırıldığında kombinasyondaki bakteri sayısının ml'de  $2 \log_{10}$  den az fark olması olarak değerlendirildi.

Kombinasyonların bakterisidal etkisi, ilk inokuluma göre bakteri sayısının, ml'de  $\geq 3 \log_{10}$  bir azalma meydana gelmesi şeklinde değerlendirildi. (Laishram ve ark., 2017).

## 4. BULGULAR

### 4.1. Çalışmaya Dahil Edilen Suşların Özellikleri

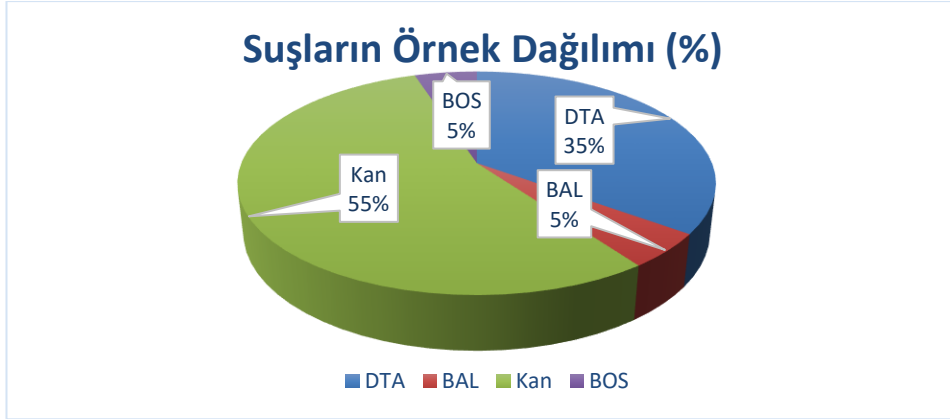
Çeşitli yoğun bakım üniteleri ve kliniklerden izole edilen kolistin ve karbapenem dirençli 10 adet *K. pneumoniae* suşunun 6 tanesi erkek (%60), 4 tanesi (%40) kadın hastalardan izole edilmiştir. Yoğun bakım üniteleri ve göğüs cerrahi kliniğinden izole edilen kolistin ve karbapenem dirençli 10 adet *A. baumannii* suşunun hepsi (%100) erkek hastalardan izole edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen suşların hastane birimlerine göre dağılımı Tablo 7’de verilmiştir.

**Tablo 7:** Suşların hastane birimlerine göre dağılımı

Bölüm	<i>A. baumannii</i> izolat Sayısı(%)	<i>K. pneumoniae</i> izolat sayısı (%)
Reanimasyon YBÜ	7 (70)	6 (60)
Genel Cerrahi YBÜ	2 (20)	1 (10)
Pandemi YBÜ	-	1 (10)
Onkoloji Klinik	-	1 (10)
Hematoloji Klinik	-	1 (10)
Göğüs Cerrahi Klinik	1 (10)	-

*Klebsiella pneumoniae* suşları 9 adet kan ve 1 adet BOS örneğinden izole edilmiştir. *A. baumannii* suşları ise 7 adet DTA, 2 adet kan ve 1 adet BAL örneğinden izole edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen suşların izole edildikleri örneklerin genel dağılımı Şekil 17’de verilmiştir.





**Şekil 17:** Suşların örnek dağılımı (%)

#### **4.2. Suşların Kolistin Broth Mikrodilüsyon Sonuçları**

Çalışmaya dahil edilen 10 *A. baumannii*, 10 *K. pneumoniae* suşu ve kalite kontrol suşları olan kolistin duyarlı *E. coli* ATCC 25922 (QC2 suşu) ve kolistin dirençli *E. coli* NCTC 13846 (QC1 suşu) için broth mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan kolistin MİK değerleri Tablo 8’de gösterilmiştir.

Broth mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin dirençli oldukları doğrulanan suşlardan *K. pneumoniae* suşları K1 – K11 arası ve D7 – D8 olarak kodlanmıştır. *A. baumannii* suşları ise A1 – A10 arası ve D2 olarak kodlanmıştır.

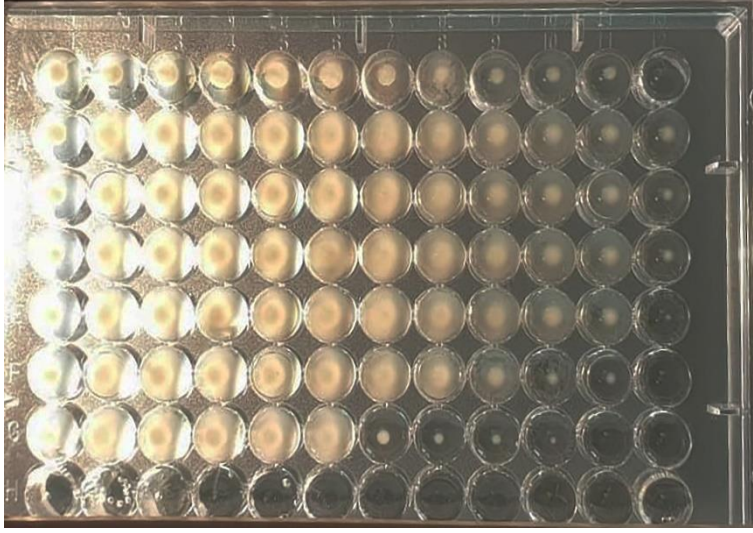
**Tablo 8:** Suşların broth mikrodilüsyon MİK değerleri

Bakteri Adı	Suş Kodu	MİK	Bakteri Adı	Suş Kodu	MİK
<i>E.coli</i> NCTC 13846	QC1	8	<i>E.coli</i> ATCC 25922	QC2	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	K1	64	<i>Acinetobacter baumannii</i>	A1	>256
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	K2	64	<i>Acinetobacter baumannii</i>	A2	64
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	K4	64	<i>Acinetobacter baumannii</i>	A3	128
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	K6	64	<i>Acinetobacter baumannii</i>	A4	256
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	K7	16	<i>Acinetobacter baumannii</i>	A6	>256
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	K9	16	<i>Acinetobacter baumannii</i>	A7	>256
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	K10	128	<i>Acinetobacter baumannii</i>	A8	256
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	K11	64	<i>Acinetobacter baumannii</i>	A9	64
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	D7	64	<i>Acinetobacter baumannii</i>	A10	>256
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	D8	32	<i>Acinetobacter baumannii</i>	D2	64

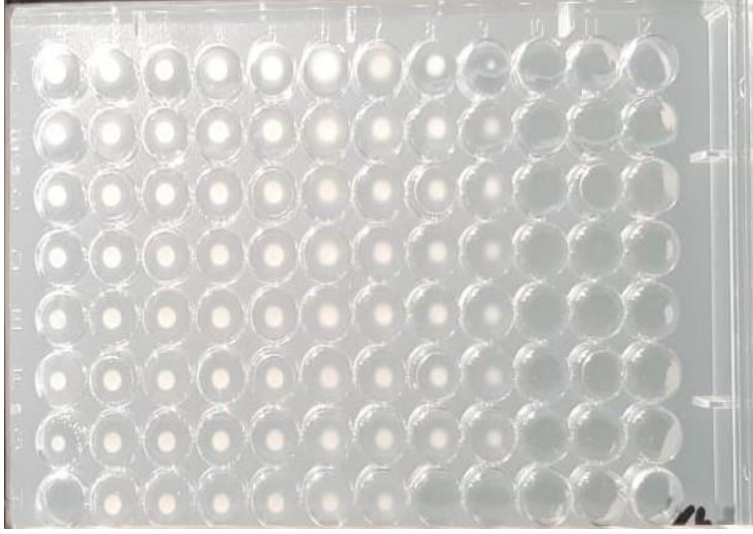
### 4.3. Suşların Dama Tahtası Sinerji Testi Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen 10 *A. baumannii* ve 10 *K. pneumoniae* suşuna karşı kolistin ve meropenem kombinasyonunda, antibiyotiklerin tek başlarına MİK değerleri, kombinasyon içerisindeki MİK değerleri, FİK indeksleri ve in vitro etkileşimin sonucu Tablo 9’da verilmiştir.

Dama tahtası yöntemi ile kalite kontrol suşları olan *E. coli* ATCC 25922 (QC2 suşu) ve *E. coli* NCTC 13846 (QC1 suşu) da çalışılmıştır. Ancak *E. coli* ATCC 25922’de sadece üreme kontrol kuyucuğunda üreme olması, *E. coli* NCTC 13846 da ise sadece kolistin bulunan kuyucuklarda üreme olduğundan sinerjik etkinlik açısından değerlendirmeleri yapılamadı. Şekil 18, 19 ve 20’de sırasıyla sinerjik, aditif ve indiferan etkinlik saptanan suşlardan çalışma plateleri gösterilmiştir.



**Şekil 18:** Sinerjik etkinlik saptanan A6 suşu



**Şekil 19:** Aditif etkinlik saptanan K4 suşu



**Şekil 20:** İndiferan etkinlik saptanan K10 suşu

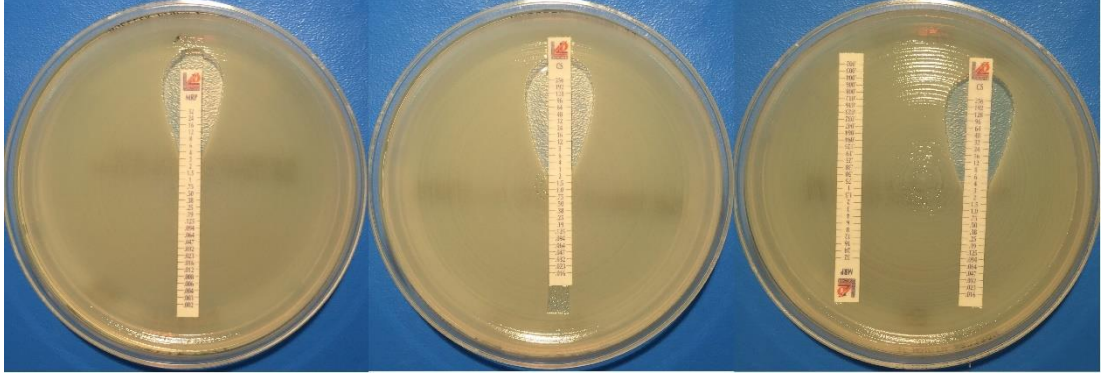
**Tablo 9:** Suşların Dama Tahtası sinerji testi sonuçları

Suş No	Kolistin MİK	Meropenem MİK	Kolistin varlığında Meropenem MİK	Meropenem varlığında Kolistin MİK	ΣFİK indeksi	In vitro Etkinlik
K1	64	32	16	16	0,750	Aditif
K2	64	32	16	16	0,750	Aditif
K4	128	32	0,25	64	0,508	Aditif
K6	64	32	8	16	0,500	Sinerji
K7	8	32	8	1	0,375	Sinerji
K9	16	32	1	2	0,156	Sinerji
K10	64	16	0,25	64	1,016	İndiferan
K11	64	32	8	16	0,500	Sinerji
D7	64	32	8	32	0,750	Aditif
D8	128	32	0,25	64	0,508	Aditif
A1	512	32	16	16	0,531	Aditif
A2	128	32	2	8	0,125	Sinerji
A3	1	32	4	0,25	0,375	Sinerji
A4	512	32	8	16	0,281	Sinerji
A6	512	32	8	128	0,500	Sinerji
A7	0,5	32	4	0,5	1,125	İndiferan
A8	16	32	4	2	0,250	Sinerji
A9	128	32	4	32	0,375	Sinerji
A10	512	32	0,25	64	0,133	Sinerji
D2	0,5	32	8	0,25	0,750	Aditif

Kolistin + meropenem kombinasyonu *K. pneumoniae* suşlarının 4'ünde (%40) sinerjik, 5'inde (%50) aditif ve 1'inde (%10) indiferan etki göstermiştir. *A. baumannii* suşlarının 7'sinde (%70) sinerjik, 2'sinde (%20) aditif ve 1'inde (%10) indiferan etki göstermiştir. Toplam 20 suşun hiçbirinde antagonist etki görülmemiştir.

#### 4.4. Suşların Gradient Difüzyon Sinerji Testi Sonuçları

Suşların gradient difüzyon yöntemiyle (Şekil 21) saptanan tek başlarına MİK değerleri, kombinasyon içerisindeki MİK değerleri, FİK indeksleri ve in vitro etkileşimin sonucu Tablo 10'da verilmiştir.



**Şekil 21:** Gradient difüzyon yöntemi ile aditif etkinlik saptanan A10 suşu (Sırası ile kolistin + meropenem, meropenem + kolistin ve tek başlarına antibiyotikler)

**Tablo 10:** Dama Tahtası yöntemi ile sinerji saptanan suşların Gradient Difüzyon sinerji testi sonuçları

Suş No	Kolistin MİK	Meropenem MİK	Kolistin varlığında Meropenem MİK	Meropenem varlığında Kolistin MİK	$\Sigma$ FİK İndeksi	İn vitro Etkinlik
QC1	4	0,064	0,047	0,047	0,74	Aditif
QC2	2	0,032	0,032	0,032	1,01	İndiferan
K1	6	>32	16	8	1,58	İndiferan
K2	6	>32	12	6	1,18	İndiferan
K4	8	>32	16	16	2,25	İndiferan
K6	12	>32	16	12	1,25	İndiferan
K7	3	8	4	3	1,50	İndiferan
K9	8	>32	8	4	0,62	Aditif
K10	4	>32	16	6	1,75	İndiferan
K11	16	>32	12	12	0,93	Aditif
D7	6	>32	24	12	2,37	İndiferan
D8	8	>32	12	4	0,68	Aditif
A1	32	>32	6	6	0,28	Sinerjik
A2	3	>32	2	3	1,03	İndiferan
A3	3	>32	2	2	0,69	Aditif
A4	16	>32	12	8	0,68	Aditif
A6	64	>32	64	12	1,18	İndiferan
A7	4	>32	2	1,5	0,40	Sinerjik
A8	4	>32	6	4	1,09	İndiferan
A9	4	>32	3	3	0,79	Aditif
A10	4	>32	4	3	0,81	Aditif
D2	3	>32	2	2	0,69	Aditif

Kolistin ve meropenem kombinasyonu, kalite kontrol suşu olan *E.coli* NCTC 13846 (QC1 suşu)'de aditif, diğer kalite kontrol suşu olan *E.coli* ATCC 25922 (QC2 suşu) de ise indiferan etki göstermiştir. *K. pneumoniae* suşlarının 3'ünde (%30) aditif, 7'sinde (%70) indiferan etki göstermiştir. *A. baumannii* suşlarının 2'sinde sinerjik (%20), 5'inde (%50) aditif, 3'ünde (%30) indiferan etki göstermiştir. Hiçbir suşta antagonist etki gözlenmemiştir.

#### 4.5. Suşların Akım Sitometri Sinerji Testi Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen 10 *A. baumannii*, 10 *K. pneumoniae* ve kalite kontrol suşları olan *E.coli* NCTC 13846 (QC1 suşu) ve *E.coli* ATCC 25922 (QC2 suşu) suşlarına karşı 0,1,2,3 ve 4. saatlerde Sysmex UF-5000 cihazı ile sayılan bakteri sayısı  $\log_{10}$  tabanında Tablo 11, 12 ve 13'te, her suşa ait zamana bağlı öldürme eğrileri de Şekil 22 – 43' de gösterilmiştir.

Kalite kontrol suşu olan QC1 hariç tüm suşlar da indiferan etkinlik saptanmıştır. QC1 suşunda kombinasyonun 1  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonu sinerjik, 2  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonu bakterisidal etkinlik göstermiş ancak 4  $\mu\text{g/ml}$  ve 8  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonlarında indiferan etkinlik saptanmıştır.

Cihazla yapılan ölçümlerde QC1 suşunun sinerjik ve bakterisidal etkinliği 3. saatte saptandı. Bu suşun 4  $\mu\text{g/ml}$  ve 8  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonlarında saptanan indiferan etkinlik ise 1. saatin sonunda belirlendi.

Diğer tüm suşların 1. saatin sonunda indiferan etkinliği saptandı.

**Tablo 11:** Kalite kontrol suşları akım sitometri sinerji testi sonuçları

Suş No	Saat	Kolistin				Meropenem				Kolistin + Meropenem			
		1 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	1 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	1 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml
QC1	0	6,69	6,69	6,64	6,66	7,04	7,06	7,05	7,06	6,98	6,98	6,95	7,07
	1	7,00	7,01	6,99	6,67	6,66	6,68	6,12	5,81	7,00	6,86	6,39	6,90
	2	7,99	7,93	6,97	6,54	6,40	6,26	6,42	5,94	6,53	6,18	6,03	6,71
	3	8,59	8,63	6,81	6,40	6,29	6,08	6,30	5,87	6,39	5,93	5,80	6,57
	4	8,91	8,89	6,44	6,14	6,07	5,99	6,11	5,64	6,37	5,74	5,61	6,42
QC2	0	6,83	6,77	6,75	6,73	6,86	6,80	6,90	6,87	6,81	6,87	6,85	6,68
	1	6,65	6,46	6,43	6,33	6,80	6,69	6,59	6,21	6,64	6,71	6,40	6,14
	2	5,99	5,46	5,35	5,27	6,26	6,08	5,81	5,45	6,02	6,05	5,57	5,29
	3	5,46	4,90	4,81	4,90	6,25	6,31	6,08	5,57	5,83	5,83	5,20	4,65
	4	4,93	4,40	3,70	4,00	6,16	6,16	5,90	5,31	5,04	5,02	4,30	3,70

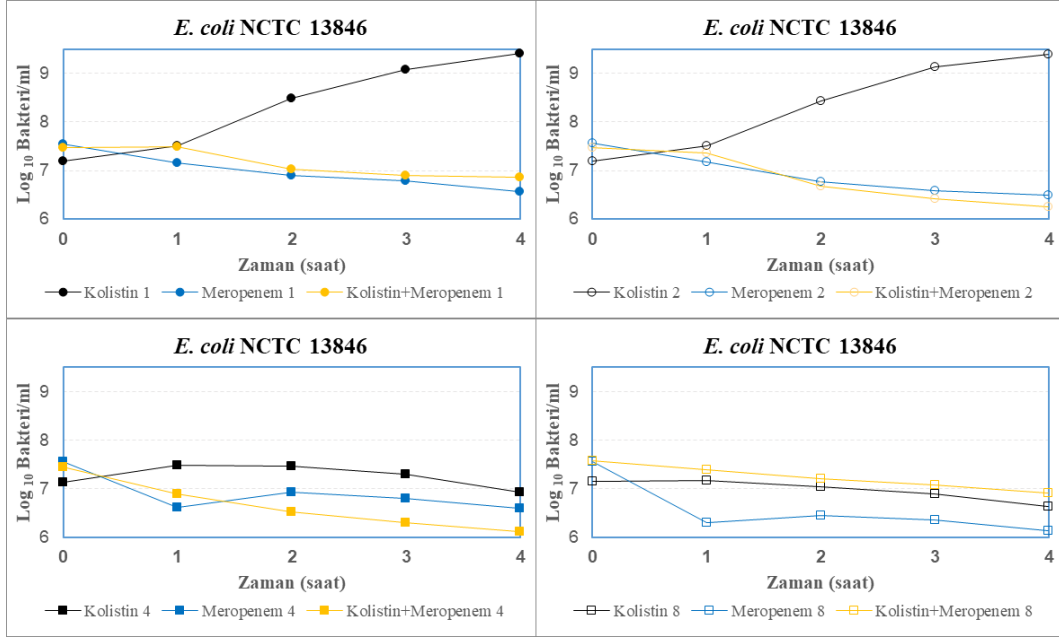


**Tablo 12:** *Klebsiella pneumoniae* suşları akım sitometri sinerji testi sonuçları

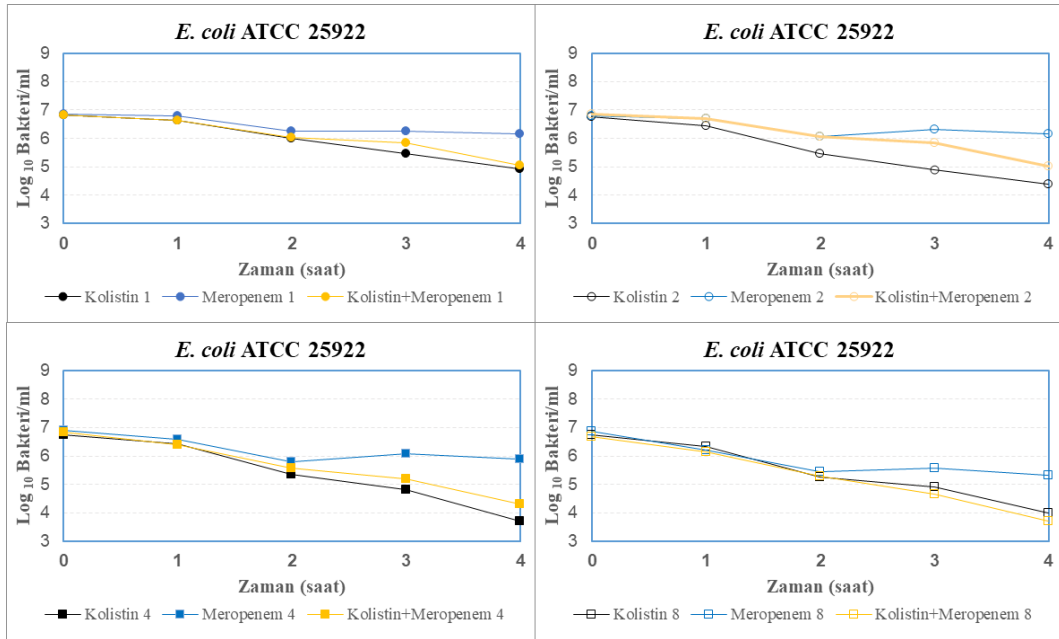
Suş No	Saat	Kolistin				Meropenem				Kolistin + Meropenem			
		1 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	1 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	1 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml
K1	0	6,74	6,75	6,82	6,80	6,78	6,52	6,81	6,56	6,73	6,71	6,72	7,00
	1	7,26	7,27	8,11	7,29	8,50	7,04	7,17	7,07	7,22	7,18	7,18	7,36
	2	7,87	7,86	7,87	7,84	8,09	7,75	7,83	7,71	8,00	7,79	7,85	7,91
	3	8,51	8,30	8,32	8,32	8,46	8,39	8,18	8,16	8,34	8,36	8,34	8,39
	4	8,41	8,43	8,29	8,30	8,27	8,36	8,42	8,37	8,52	8,51	8,44	8,46
K2	0	6,47	6,45	6,62	6,56	6,55	6,49	6,51	6,52	6,67	6,52	6,61	6,64
	1	7,11	7,10	7,23	7,22	7,27	7,07	7,05	7,02	7,28	7,18	7,20	7,15
	2	7,65	7,69	7,71	7,61	7,96	7,78	7,77	7,66	7,83	7,67	7,72	7,77
	3	8,38	8,33	8,32	8,29	8,34	8,34	8,36	8,20	8,40	8,33	8,34	8,19
	4	8,49	8,34	8,31	8,24	8,17	8,28	8,37	8,44	8,42	8,40	8,43	8,41
K4	0	6,78	6,79	6,82	6,81	6,70	6,85	6,89	6,91	6,88	6,87	6,96	6,94
	1	7,17	7,12	7,16	7,21	7,12	7,30	7,34	7,26	7,35	7,29	7,30	7,27
	2	7,62	7,57	7,53	7,51	7,84	7,96	8,01	7,89	7,81	7,71	7,77	7,74
	3	8,29	8,17	8,12	8,06	8,33	8,29	8,33	8,21	8,36	8,30	8,27	8,18
	4	8,46	8,46	8,40	8,36	8,38	8,35	8,42	8,41	8,45	8,54	8,48	8,46
K6	0	6,81	6,74	6,73	6,80	6,86	6,91	6,79	6,78	6,79	6,87	6,80	6,82
	1	7,14	7,09	7,08	7,18	7,22	7,24	7,13	7,10	7,15	7,18	7,15	7,13
	2	7,58	7,47	7,41	7,52	7,80	7,82	7,71	7,57	7,60	7,64	7,63	7,66
	3	8,26	8,21	8,12	8,12	8,34	8,36	8,30	8,09	8,27	8,29	8,23	8,28
	4	8,52	8,49	8,44	8,43	8,41	8,38	8,44	8,30	8,51	8,50	8,48	8,48
K7	0	6,56	6,60	6,63	6,55	6,51	6,56	6,57	6,64	6,68	6,71	6,73	6,76
	1	7,14	7,13	7,15	7,14	7,09	7,10	7,01	7,13	7,11	7,09	7,06	7,06
	2	7,23	7,28	7,27	7,23	7,73	7,43	6,99	7,11	7,39	7,22	7,09	6,97
	3	7,32	7,18	7,16	6,95	8,25	7,67	6,24	6,51	7,68	7,06	6,82	6,65
	4	7,60	7,11	6,73	6,44	8,51	8,05	6,56	6,44	8,19	6,84	6,37	6,23
K9	0	6,96	6,84	6,85	6,94	6,88	6,80	6,80	6,79	6,84	6,85	6,86	6,88
	1	7,30	7,20	7,18	7,22	7,24	7,18	7,10	7,05	7,21	7,29	7,17	7,04
	2	7,89	7,75	7,65	7,57	7,91	7,68	7,11	6,75	7,81	7,52	7,22	7,00
	3	8,22	8,18	8,05	7,88	8,31	8,07	7,11	6,17	8,23	7,92	7,29	6,89
	4	8,51	8,39	8,24	8,03	8,43	8,21	7,33	6,26	8,51	8,18	7,36	6,75
K10	0	7,03	6,97	6,95	6,93	7,07	7,04	7,08	6,98	7,09	7,08	7,13	7,07
	1	7,49	7,42	7,40	7,37	7,44	7,46	7,48	7,37	7,58	7,54	7,52	7,47
	2	7,95	7,85	7,72	7,63	8,06	8,06	8,08	7,91	8,01	7,95	7,96	7,93
	3	8,52	8,36	8,28	8,17	8,40	8,42	8,38	8,27	8,41	8,36	8,33	8,28
	4	8,58	8,59	8,44	8,39	8,45	8,49	8,48	8,48	8,55	8,57	8,46	8,54
K11	0	6,70	6,71	6,72	6,70	6,72	6,78	6,80	6,83	6,96	6,95	6,96	6,99
	1	7,19	7,20	7,30	7,21	7,19	7,24	7,24	7,19	7,38	7,39	7,36	7,37
	2	7,60	7,59	7,46	7,34	7,78	7,82	7,84	7,71	7,87	7,84	7,87	7,84
	3	8,31	8,25	8,13	7,76	8,31	8,36	8,35	8,17	8,27	8,37	8,35	8,29
	4	8,49	8,52	8,46	8,25	8,40	8,52	8,47	8,39	8,50	8,55	8,54	8,48
D7	0	6,89	6,90	6,97	6,93	6,87	6,91	6,85	6,89	6,77	6,80	6,89	6,84
	1	7,29	7,25	7,29	7,39	7,20	7,23	7,16	7,17	7,22	7,23	7,25	7,16
	2	7,70	7,68	7,69	7,72	7,67	7,78	7,50	7,14	7,75	7,80	7,86	7,61
	3	8,43	8,41	8,43	8,43	8,38	8,36	7,87	6,77	8,41	8,44	8,45	8,23
	4	8,68	8,76	8,62	9,00	8,62	8,66	8,26	7,21	8,73	8,81	8,77	8,58
D8	0	6,74	6,77	6,76	6,69	6,82	6,80	6,84	6,71	6,76	6,75	6,73	6,74
	1	7,29	7,29	7,30	7,21	7,33	7,30	7,27	7,06	7,27	7,25	7,25	7,17
	2	7,80	7,77	7,68	7,59	7,98	7,94	8,03	7,70	7,77	7,79	7,72	7,71
	3	8,43	8,37	8,31	8,20	8,43	8,40	8,40	8,14	8,39	8,31	8,28	8,24
	4	8,59	8,56	8,55	8,56	8,53	8,58	8,57	8,56	8,56	8,60	8,55	8,52

**Tablo 13:** *Acinetobacter baumannii* suşları akım sitometri sinerji testi sonuçları

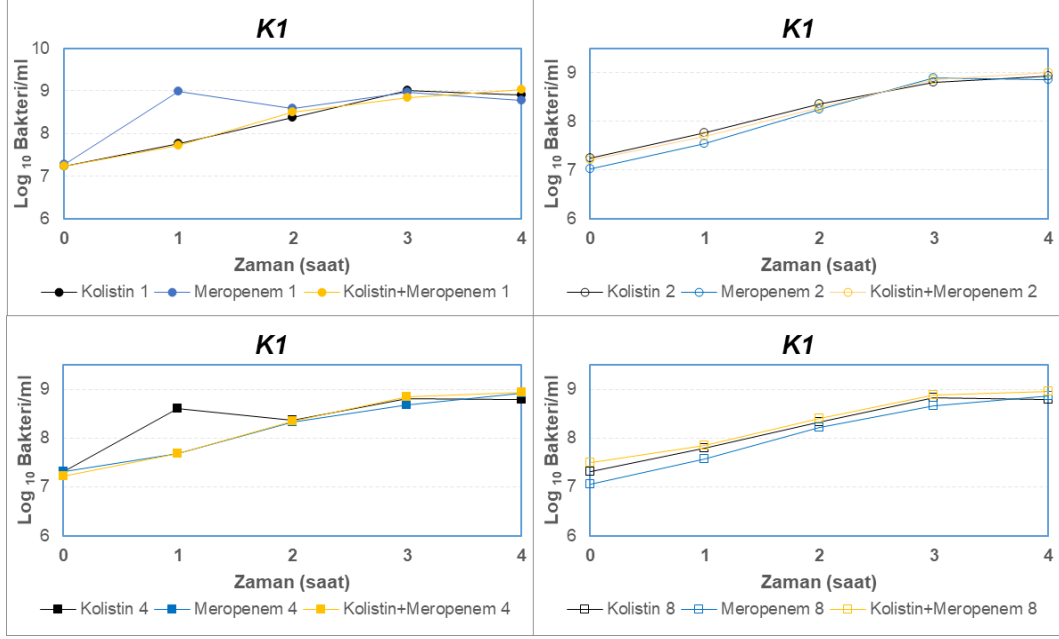
Suş No	Saat	Kolistin				Meropenem				Kolistin + Meropenem			
		1 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	1 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	1 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml
A1	0	7,09	7,17	7,09	6,99	7,14	7,12	7,12	7,10	7,00	7,00	7,02	7,05
	1	7,53	7,68	7,49	7,36	7,63	7,61	7,57	7,56	7,43	7,42	7,34	7,29
	2	7,85	7,98	7,80	7,74	7,88	7,89	7,85	7,84	7,78	7,72	7,56	7,36
	3	8,05	8,19	7,99	7,97	8,10	8,08	8,01	8,03	7,96	7,94	7,73	7,42
	4	8,22	8,34	8,19	8,23	8,25	8,23	8,18	8,18	8,14	8,13	7,92	7,66
A2	0	7,22	7,21	7,21	7,20	7,12	7,18	7,20	7,15	7,17	7,17	7,30	7,20
	1	7,56	7,57	7,52	7,45	7,50	7,58	7,53	7,48	7,51	7,45	7,41	7,27
	2	7,82	7,83	7,78	7,74	7,82	7,84	7,81	7,78	7,74	7,67	7,58	7,10
	3	8,02	7,97	7,97	7,89	8,03	8,01	8,00	7,97	7,89	7,80	7,63	6,66
	4	8,12	8,12	8,16	8,13	8,20	8,18	8,25	8,13	7,98	7,90	7,67	6,66
A3	0	7,21	7,19	7,23	7,18	7,20	7,15	7,16	7,15	7,14	7,18	7,15	7,16
	1	7,28	7,26	7,25	7,20	7,48	7,46	7,46	7,47	7,21	7,22	7,19	7,15
	2	7,35	7,25	7,24	7,18	7,76	7,77	7,74	7,73	7,14	7,17	7,14	7,05
	3	7,57	7,24	7,23	7,15	7,89	7,90	7,89	7,90	6,91	7,14	7,07	6,97
	4	7,76	7,19	7,19	7,12	8,04	8,02	8,01	8,03	6,68	7,03	7,05	6,97
A4	0	7,23	7,22	7,22	7,23	7,30	7,22	7,21	7,24	7,24	7,28	7,29	7,24
	1	7,66	7,61	7,52	7,54	7,57	7,60	7,60	7,58	7,59	7,65	7,57	7,38
	2	7,92	7,86	7,85	7,85	7,86	7,87	7,86	7,87	7,88	7,91	7,82	7,62
	3	8,07	8,04	8,01	8,00	8,02	8,03	8,02	7,97	8,01	8,02	7,99	7,75
	4	8,28	8,23	8,15	8,20	8,12	8,16	8,14	8,17	8,18	8,18	8,15	7,92
A6	0	7,15	7,13	7,14	7,14	7,21	7,21	7,21	7,21	7,05	7,12	6,92	7,08
	1	7,31	7,32	7,29	7,29	7,36	7,39	7,39	7,39	7,21	7,25	7,06	7,21
	2	7,61	7,62	7,68	7,64	7,69	7,74	7,71	7,69	7,60	7,60	7,38	7,38
	3	7,79	7,79	7,88	7,82	7,88	7,89	7,85	7,87	7,80	7,77	7,60	7,48
	4	7,97	7,95	7,98	7,95	8,02	8,04	8,02	7,95	7,94	7,90	7,74	7,56
A7	0	7,27	7,23	7,21	7,17	7,16	7,18	7,20	7,14	7,23	7,24	7,24	7,17
	1	7,33	7,27	7,26	7,21	7,42	7,48	7,48	7,47	7,25	7,29	7,26	7,18
	2	7,27	7,24	7,20	7,05	7,84	7,81	7,90	7,81	7,16	7,21	7,20	7,07
	3	7,16	7,11	7,14	6,92	8,08	8,02	8,05	8,04	6,93	7,02	7,05	6,90
	4	7,03	6,99	7,02	6,82	8,18	8,14	8,19	8,16	6,77	6,89	6,92	6,75
A8	0	7,17	7,06	7,06	7,06	7,34	7,31	7,33	7,31	7,13	7,11	7,05	7,07
	1	7,15	7,16	7,15	7,13	7,47	7,45	7,41	7,44	7,23	7,16	7,04	7,10
	2	7,38	7,42	7,29	7,15	7,74	7,78	7,74	7,68	7,51	7,37	6,96	6,87
	3	7,65	7,72	7,67	7,14	7,90	7,91	7,89	7,87	7,66	7,47	6,97	6,79
	4	7,79	7,89	7,93	7,30	8,02	8,11	8,03	8,02	7,89	7,65	7,17	6,70
A9	0	7,15	7,15	7,14	7,10	7,13	7,12	7,12	7,07	7,09	7,10	7,11	7,07
	1	7,28	7,26	7,20	7,21	7,32	7,31	7,32	7,29	7,23	7,23	7,20	7,17
	2	7,61	7,51	7,51	7,46	7,61	7,60	7,57	7,53	7,51	7,42	6,99	7,08
	3	7,91	7,83	7,89	7,87	7,95	7,89	7,93	7,87	7,84	7,79	7,33	7,29
	4	7,98	7,81	7,89	7,96	7,97	7,97	7,92	7,92	7,95	7,85	7,47	7,44
A10	0	6,73	6,80	6,79	6,79	6,75	6,74	6,70	6,73	6,72	6,60	6,68	6,69
	1	6,62	6,88	6,82	6,68	6,97	6,96	6,86	6,88	6,65	6,59	6,73	6,65
	2	7,40	7,46	7,29	7,31	7,51	7,47	7,24	7,43	7,36	7,15	7,07	6,77
	3	7,66	7,65	7,73	7,66	7,84	7,75	7,78	7,76	7,69	7,54	7,34	7,10
	4	7,83	7,96	7,77	7,84	7,98	7,85	7,95	7,97	7,81	7,80	7,75	7,47
D2	0	7,30	7,13	7,14	7,18	7,25	7,20	7,24	7,19	7,22	6,99	7,19	7,05
	1	7,34	7,24	7,16	7,20	7,51	7,44	7,26	7,48	7,19	7,07	7,13	7,06
	2	7,42	7,19	7,13	7,08	7,72	7,85	7,59	7,70	7,14	6,97	6,94	6,85
	3	7,78	7,20	7,16	7,08	8,03	8,03	7,97	7,81	7,04	6,78	6,94	6,48
	4	8,21	7,29	7,26	7,00	8,15	8,04	8,14	8,17	6,94	7,37	6,79	6,52



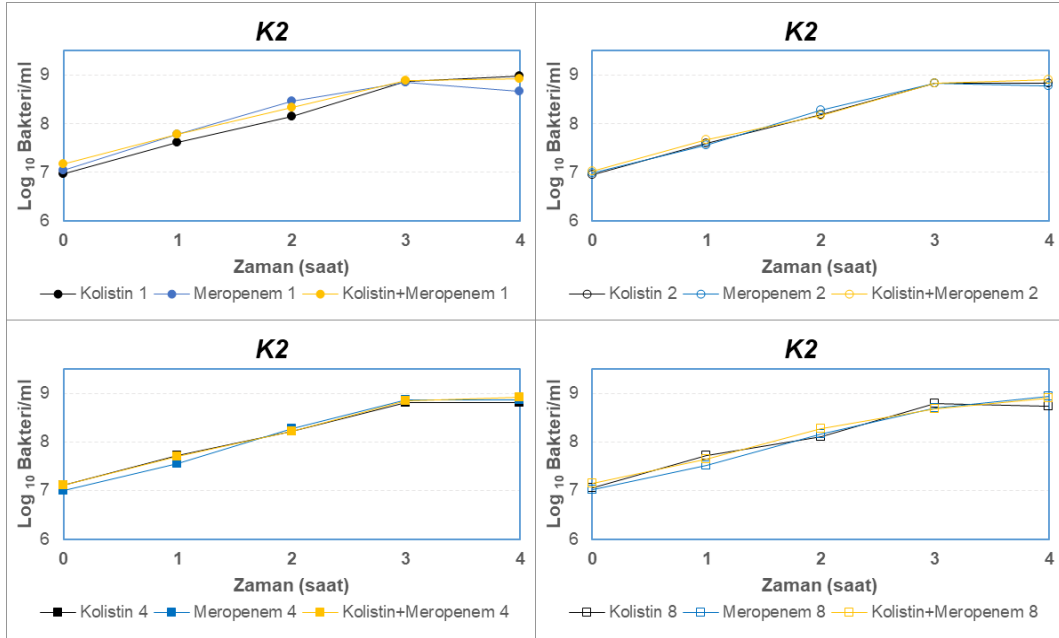
Şekil 22: QC 1 suşu time kill grafiği



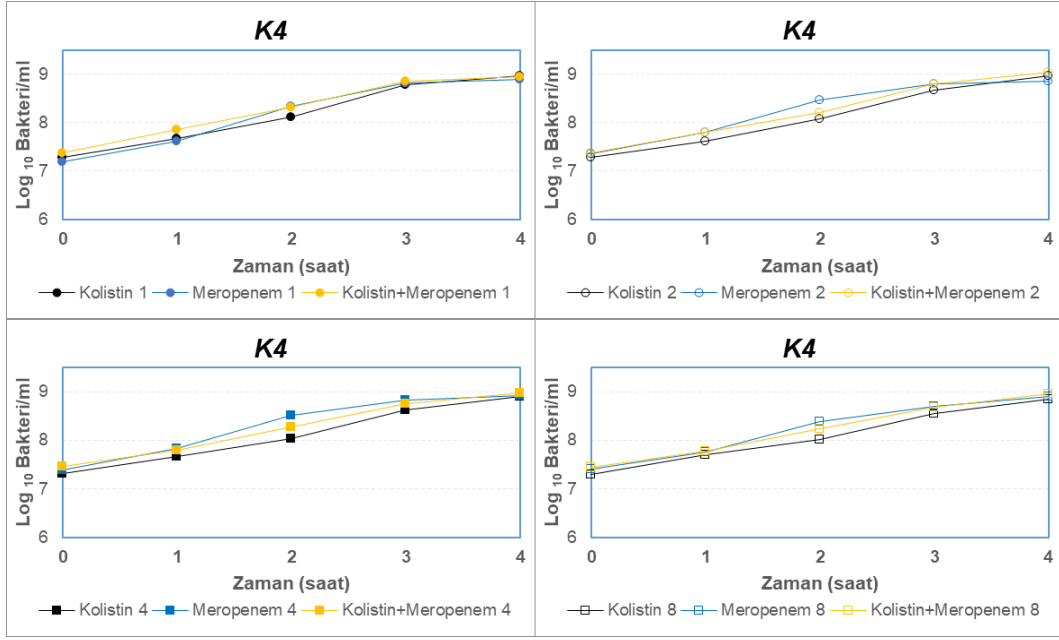
Şekil 23: QC 2 suşu time kill grafiği



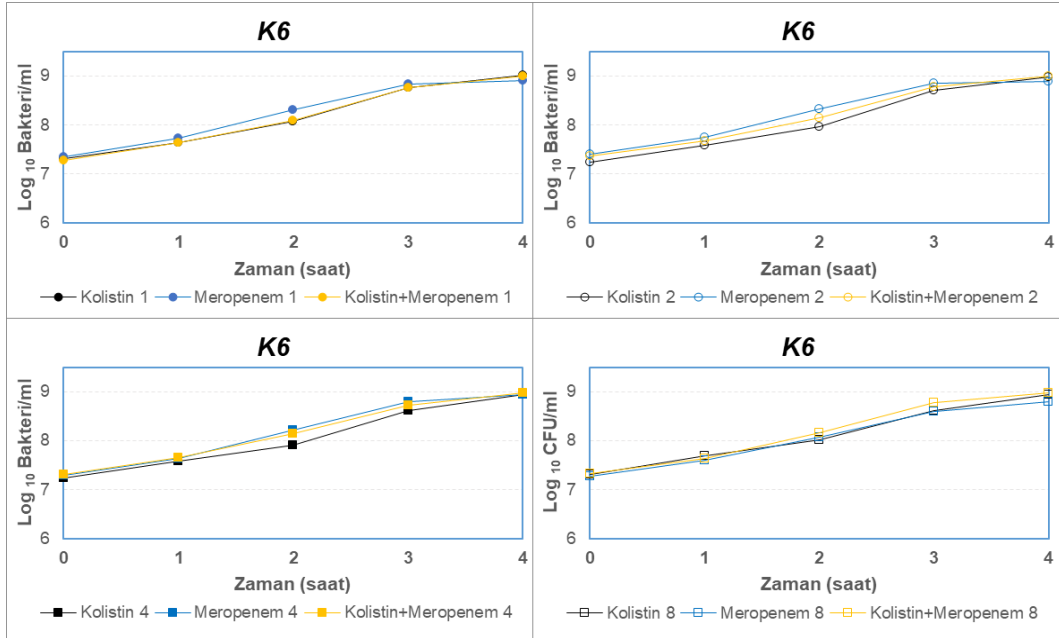
Şekil 24: K1 suşu time kill grafiği



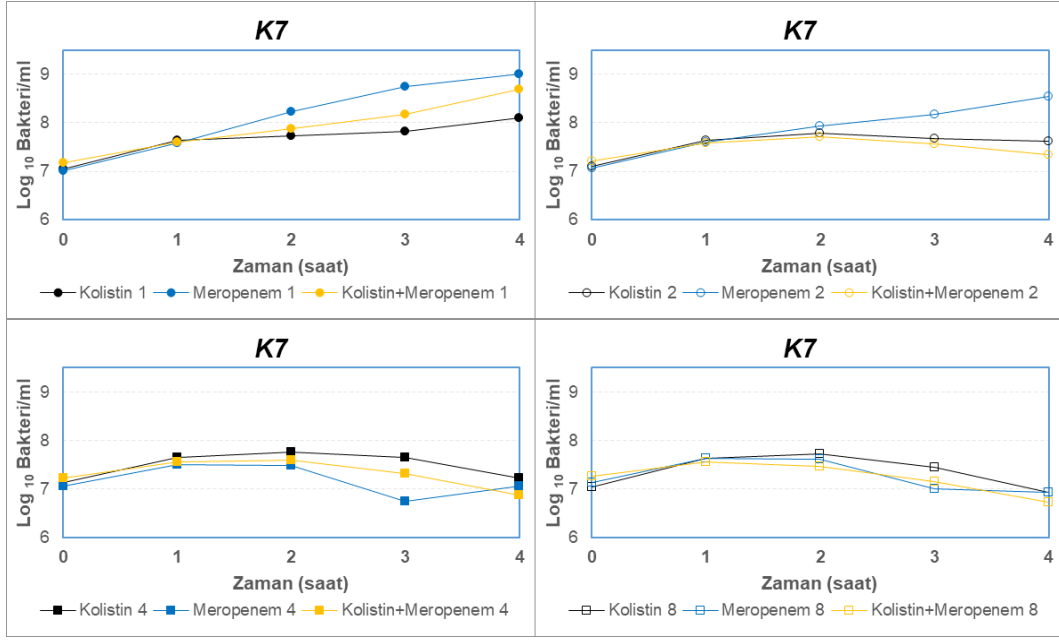
Şekil 25: K2 suşu time kill grafiği



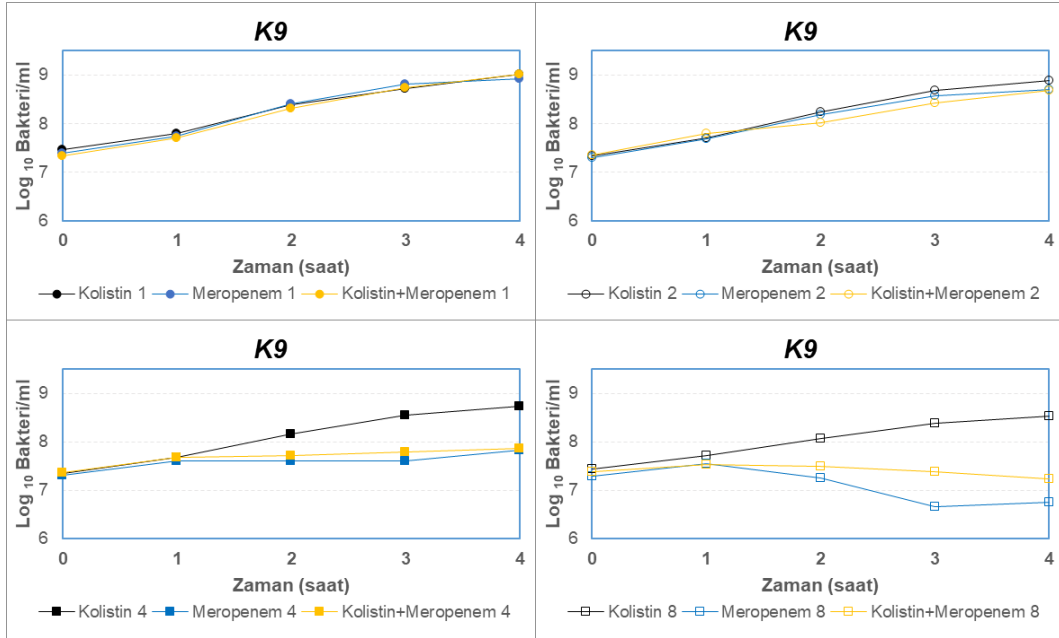
Şekil 26: K4 suşu time kill grafiği



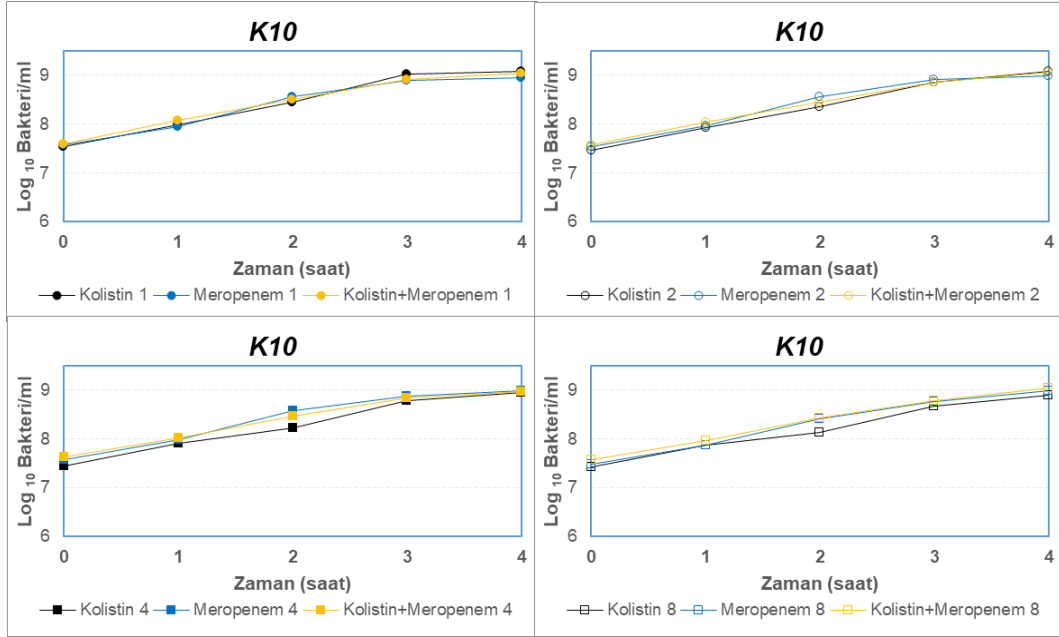
Şekil 27: K6 suşu time kill grafiği



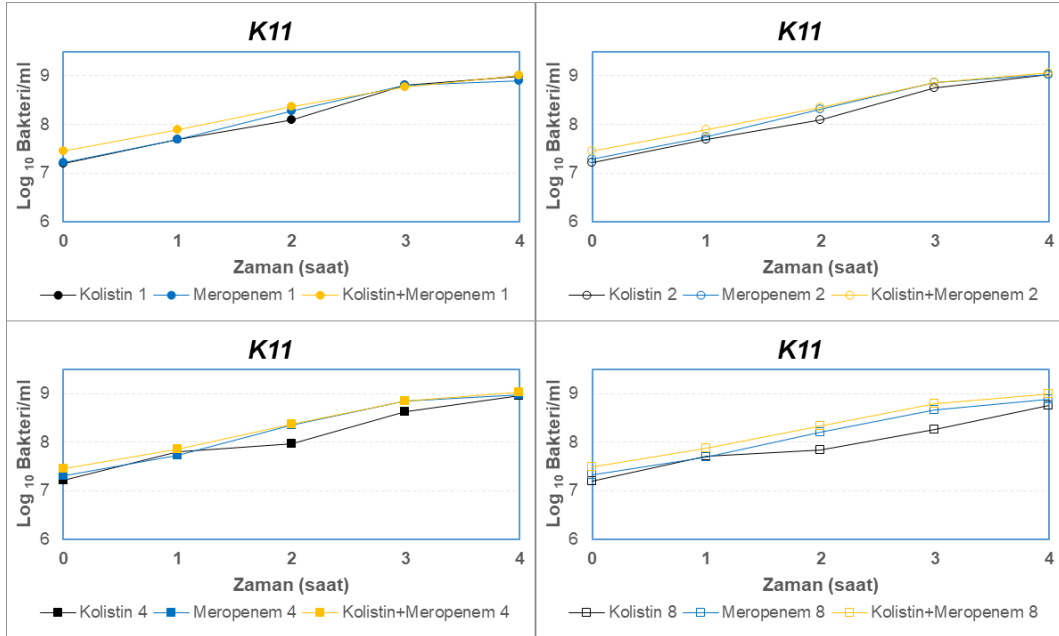
Şekil 28: K7 suşu time kill grafiği



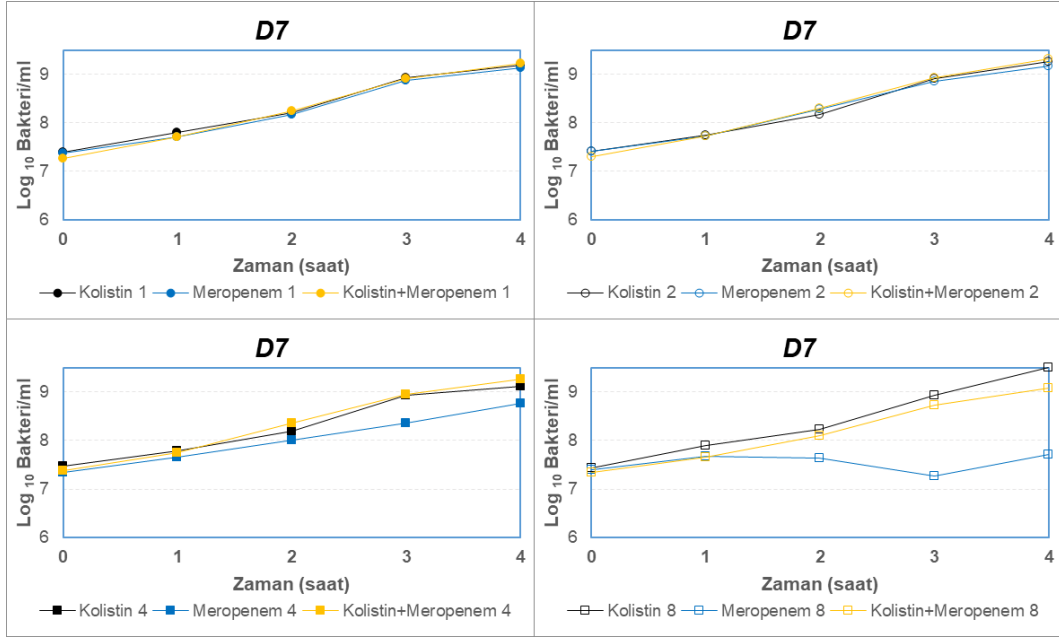
Şekil 29: K9 suşu time kill grafiği



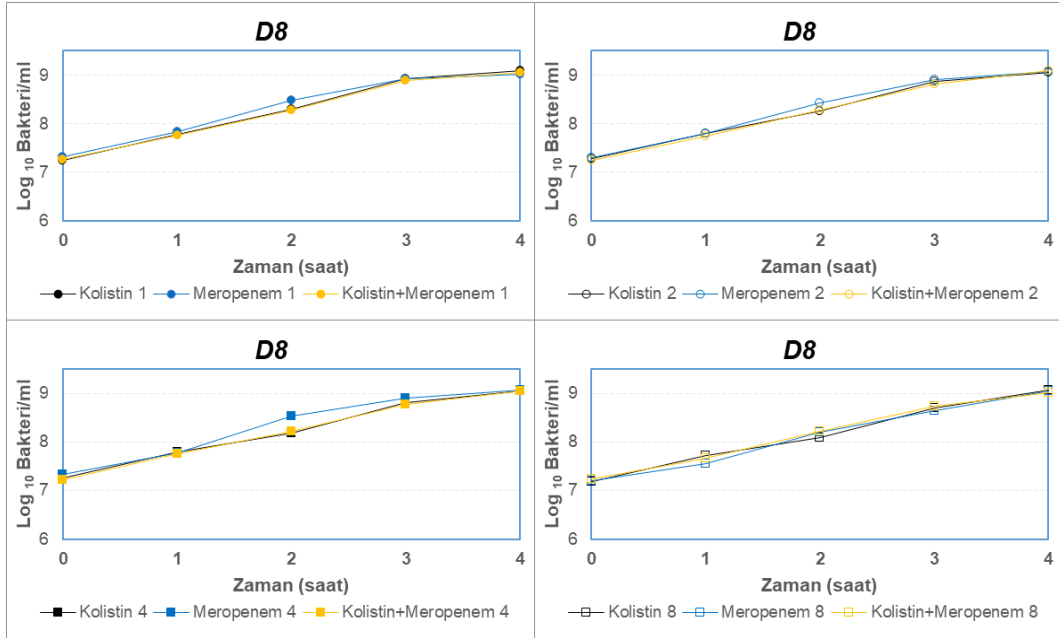
Şekil 30: K10 suşu time kill grafiği



Şekil 31: K11 suşu time kill grafiği

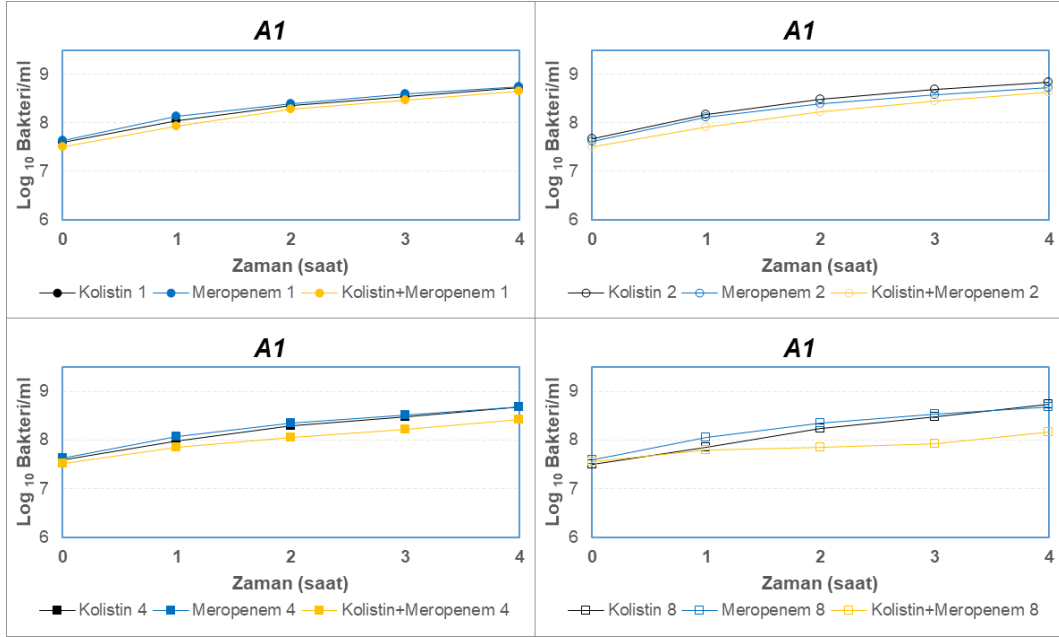


Şekil 32: D7 suşu time kill grafiği

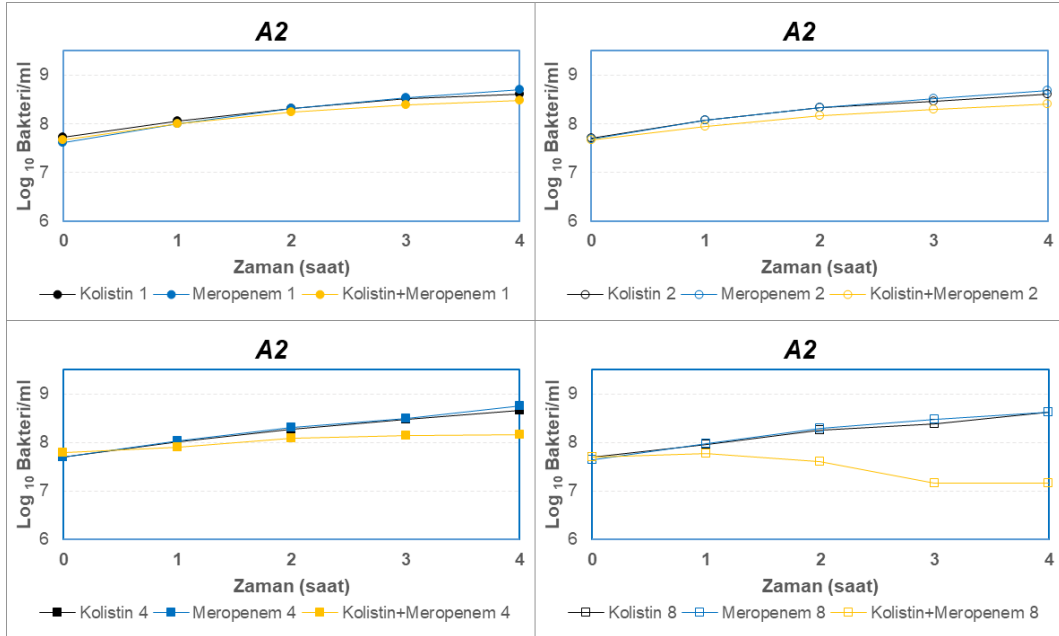


Şekil 33: D8 suşu time kill grafiği

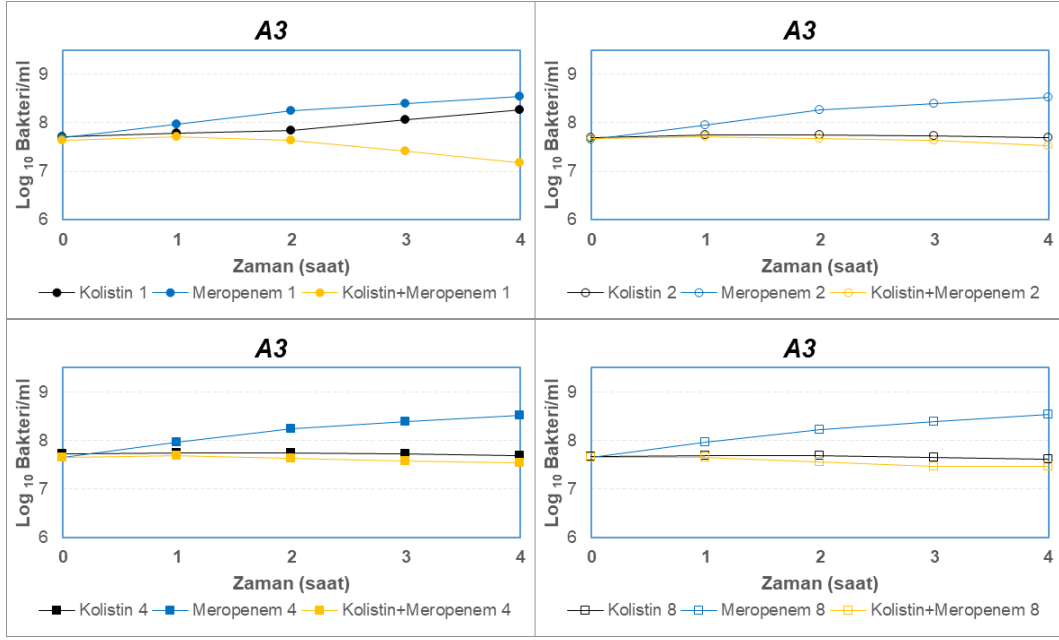




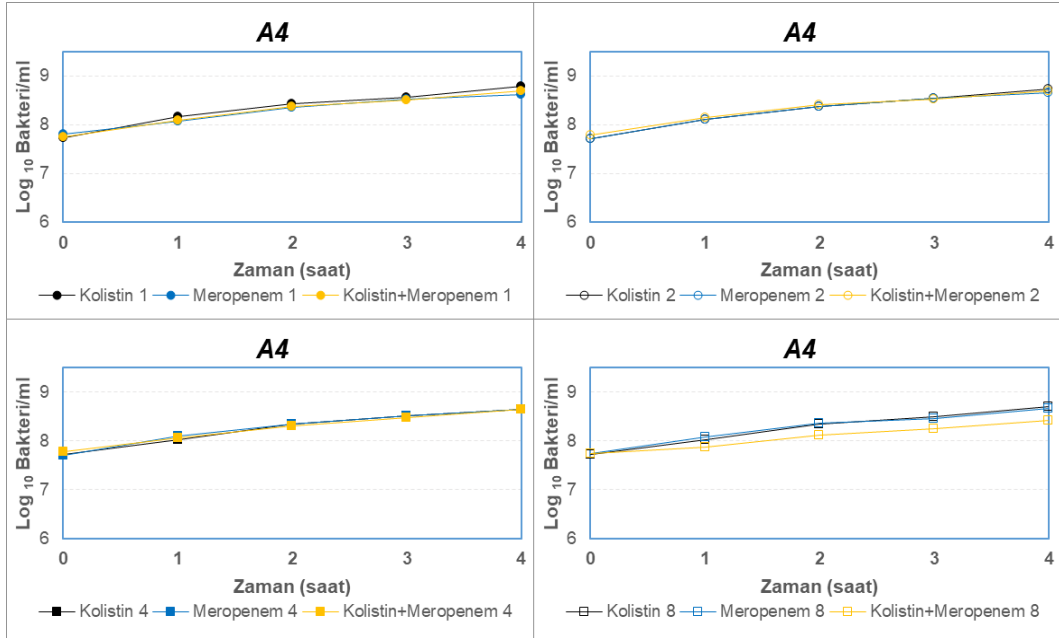
Şekil 34: A1 suşu time kill grafiği



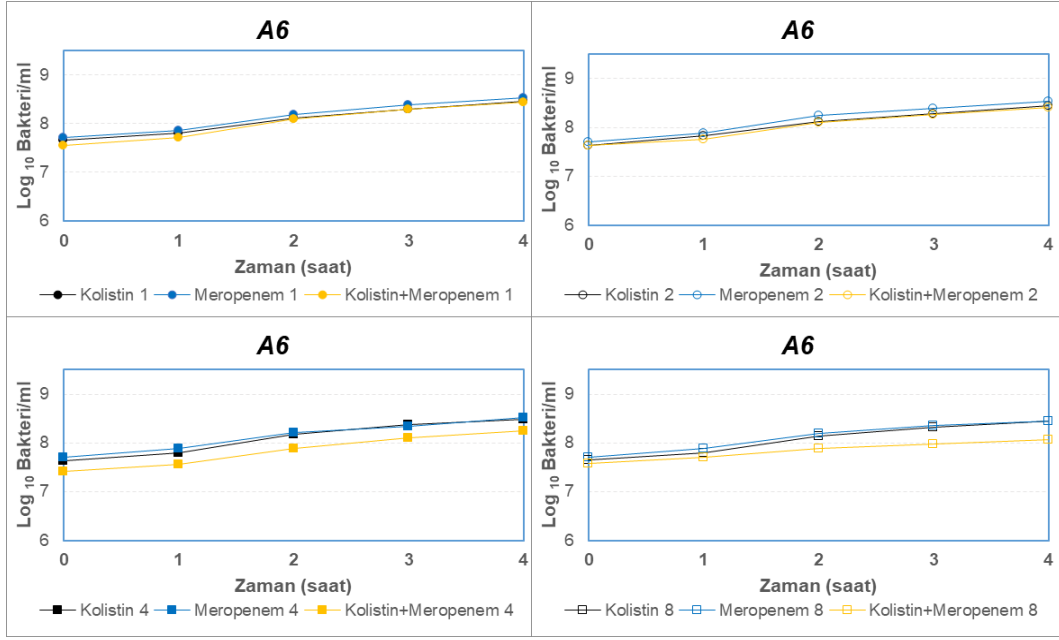
Şekil 35: A2 suşu time kill grafiği



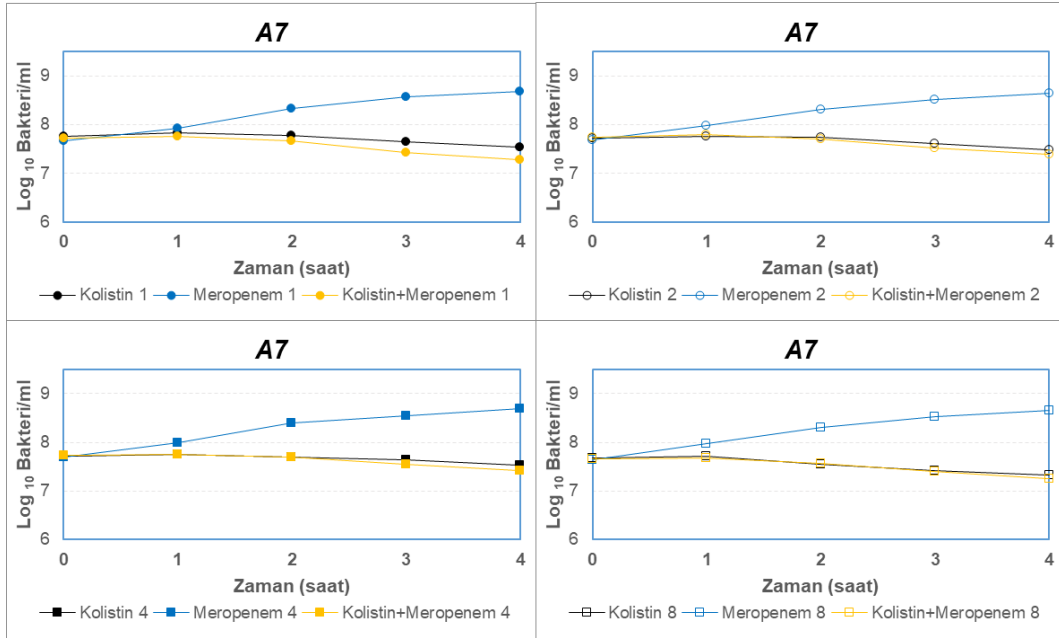
Şekil 36: A3 suşu time kill grafiği



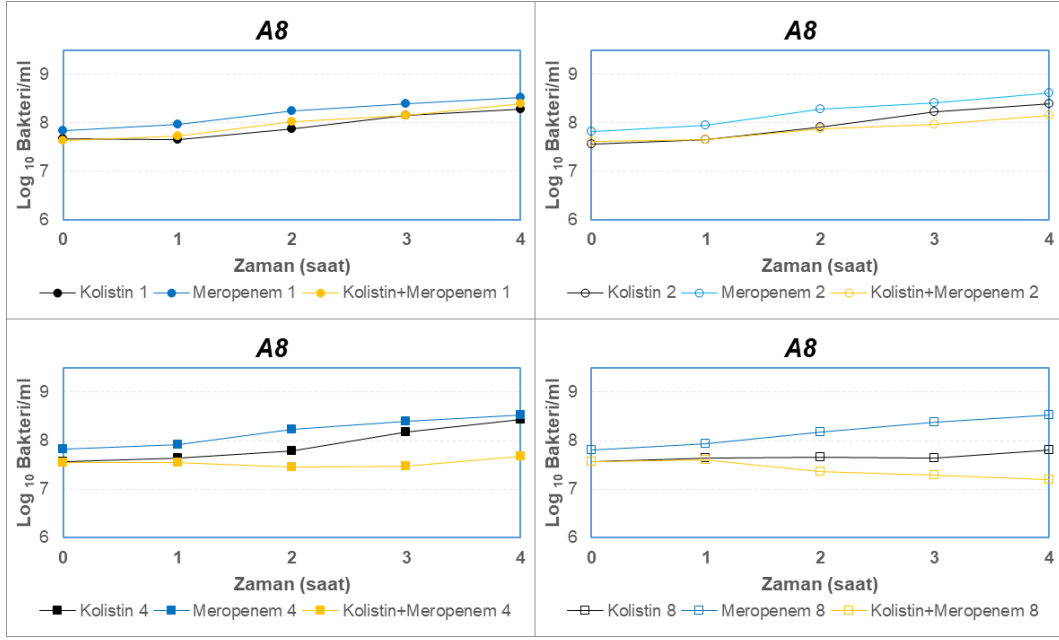
Şekil 37: A4 suşu time kill grafiği



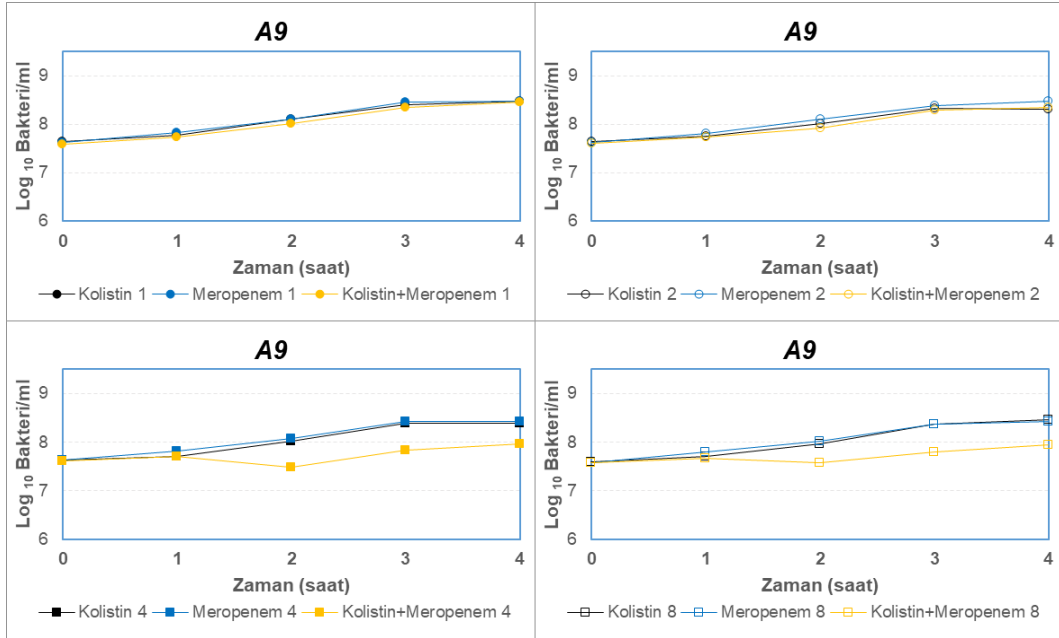
Şekil 38: A6 suşu time kill grafiği



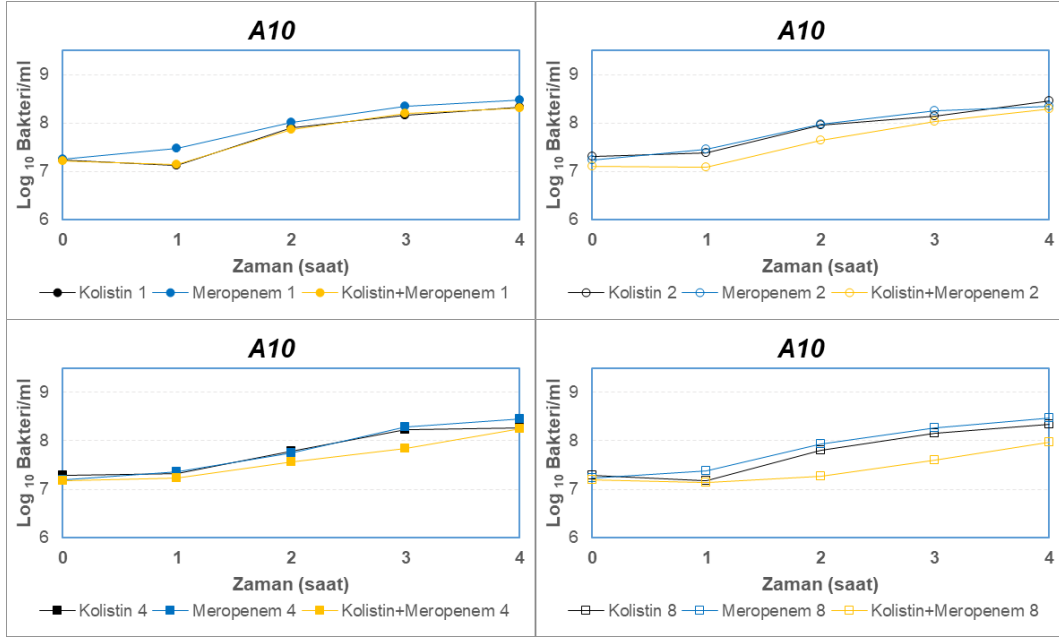
Şekil 39: A7 suşu time kill grafiği



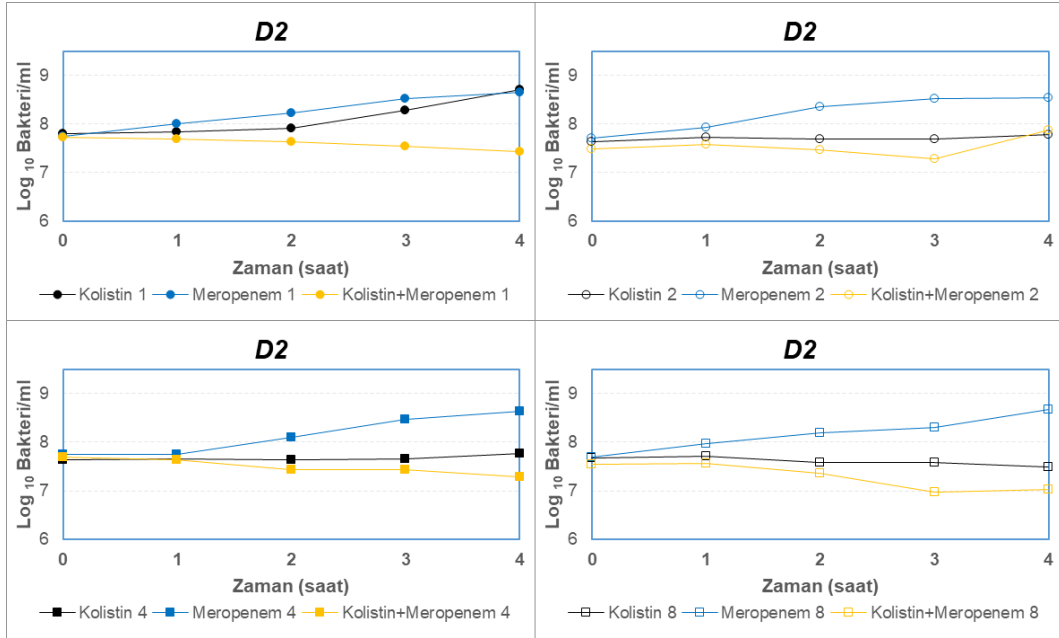
Şekil 40: A8 suşu time kill grafiği



Şekil 41: A9 suşu time kill grafiği



Şekil 42: A10 suşu time kill grafiği



Şekil 43: D2 suşu time kill grafiği

#### 4.6. Sinerji Testlerinin Sonuçlarının Karşılaştırılması

Suşların çalışılan sinerji testi yöntemlerine göre saptanan in vitro etkinlikleri Tablo 14’de verilmiştir.

Çalışılan sinerji testi yöntemlerinin, suşlar da aynı in vitro etkiyi saptaması açısından bakıldığında, Dama tahtası yöntemi ile time kill yöntemi arasında %10’luk uyum görüldü. Dama tahtası yöntemi ile GDY arasında da %10’luk bir uyum saptandı. GDY ile time kill yöntemleri karşılaştırıldığında %55’lik bir uyum görüldü.

**Tablo 14:** Tüm sinerji testlerinin sonuçları

Suş No	Dama Tahtası	E Test	Time kill
K1	Aditif	İndiferan	İndiferan
K2	Aditif	İndiferan	İndiferan
K4	Aditif	İndiferan	İndiferan
K6	Sinerji	İndiferan	İndiferan
K7	Sinerji	İndiferan	İndiferan
K9	Sinerji	Aditif	İndiferan
K10	İndiferan	İndiferan	İndiferan
K11	Sinerji	İndiferan	İndiferan
D7	Aditif	İndiferan	İndiferan
D8	Aditif	Aditif	İndiferan
A1	Aditif	Sinerji	İndiferan
A2	Sinerji	İndiferan	İndiferan
A3	Sinerji	Aditif	İndiferan
A4	Sinerji	Aditif	İndiferan
A6	Sinerji	İndiferan	İndiferan
A7	İndiferan	Sinerji	İndiferan
A8	Sinerji	İndiferan	İndiferan
A9	Sinerji	Aditif	İndiferan
A10	Sinerji	Aditif	İndiferan
D2	Aditif	Aditif	İndiferan

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzde antimikrobiyal direnç önemli bir sorun haline gelmiştir. Antimikrobiyal direnç sadece hastanede yatan hastaları değil tüm halk sağlığını tehdit etmektedir. Artan maliyetler, uzayan hastanede yatış süresi, iş gücü kayıplarının yanı sıra önemli bir morbidite ve mortalite kaynağıdır (Eren ve ark., 2021).

Avrupa Antimikrobiyal Direnç Gözetim Ağı olarak da bilinen EARS-Net verilerine dayanan tahminlere göre, her yıl Avrupa birliği/Avrupa Ekonomik Alan (AB/AEA) ülkelerinde antibiyotiklere dirençli bakteriler nedeniyle 670.000'den fazla enfeksiyon meydana geldiğini ve yaklaşık 33.000 kişinin bu enfeksiyonların doğrudan bir sonucu olarak öldüğünü göstermektedir (WHO Regional Office for Europe and European Centre for Disease Prevention and Control., 2020).

Sadece karbapenem direnci özelinde incelediğimizde Karbapenem dirençli *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* suşları 2019 yılında 50 bin ile 100 bin arası ölüme neden olmuştur (Murray ve ark., 2022). Karbapenem ve kolistin dirençli *K. pneumoniae* suşlarında mortalite oranlarının incelendiği bir çalışmada, kolistin direnci mortalite için bağımsız bir risk faktörü olarak tanımlanmış (Capone ve ark., 2013).

Karbapenem dirençli *A. baumannii*, özellikle hastanede yatan hastalarda kolonizasyona ve enfeksiyona neden olur. Halihazırda az sayıda etkili antimikrobiyal ajan mevcut olması, kesin belirlenmiş tedavi seçeneklerinin olmaması nedeniyle tedavide önemli bir zorluk yaşanmaktadır (Bartal, Rolston, & Nesher 2022).

Çoklu ilaca dirençli gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların artması, kolistin tedavisi için son ajan olarak gündeme gelmesine neden olmuştur (Bir ve ark., 2022). Kolistin klinikte monoterapiden ziyade kombine edilerek kullanılmaktadır.

Klinik ortamda karbapenem bazlı kombinasyon tedavileri kolistin monoterapisi veya diğer karbapenem bazlı olmayan kombinasyonlar ile kıyaslandığında daha düşük mortalite göstermiştir (Laishram ve ark., 2016).

Literatürde karbapenem dirençli suşlarda karbapenemaz varlığına rağmen yüksek dozlarda uzun süre infüzyonla meropenemin bakterisidal etkinliğini koruduğu saptanmış (Eren ve ark., 2021).

Kombinasyonda kullanılan antibiyotiklerden birine direnç görülürken dahi sinerjik etkinin ortaya çıkabileceği hatta iki antibiyotiğe dirençli ise daha yüksek oranda sinerjik etkinlik gözlenebileceği belirtilmiş (Manchanda, Sanchaita, & Singh, 2010).

Scudeller ve arkadaşları tarafından yapılan meta analiz çalışmasında, *A. baumannii* için zamana bağlı öldürme metodunda meropenem ve kolistin / polimiksin B kombinasyonunun yüksek sinerji gösterdiği saptanmıştır (Scudeller ve ark., 2021).

Zusman ve arkadaşları tarafından polimiksin ve karbapenemler ile yapılan in vitro sinerji testlerinin değerlendirildiği bir meta analiz çalışması yapılmış. Bu çalışma da *A. baumannii* için polimiksin grubu ile yapılan kombinasyonlarda karbapenem grubundan meropenem, imipenemle kıyasla daha yüksek oranda sinerjik etki göstermiş. *K. pneumoniae* de ise karbapenem grubundan doripenem daha yüksek sinerjik etki göstermiş. Karbapenem ve polimiksin dirençli izolatlarda bakterisidal etkinlik monoterapide %13 iken, kombinasyon da %43'e yükselmiş Test metodu olarak değerlendirildiğinde ise time kill yöntemi ile kıyaslandığında dama tahtası ve GDY'nde daha düşük sinerjik etki saptanmış (Zusman ve ark., 2013).

Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* ve *E. coli* klinik izolatlarında dama tahtası yöntemi ile kolistin ve meropenem kombinasyonunun etkinliğinin incelendiği bir çalışmada *K. pneumoniae* suşlarında %56, *E. coli* suşlarında ise %40 oranında sinerji saptanmış ve suşların hiçbirinde antagonist etki görülmemiş (Dhandapani ve ark., 2021). Bizim çalışmamızda da dama tahtası yöntemiyle hiçbir suşta antagonistik etki saptanmadı. *K. pneumoniae* suşlarında ise sinerji oranı %40 olarak saptandı.

Gradient difüzyon yöntemi pratik olması açısından sinerji testlerinde sıklıkla tercih edilmektedir. Sinerji testlerinin rutin laboratuvarında çalışılmasının etkinliğinin araştırıldığı bir çalışma da karbapenem dirençli *A. baumannii*'nin etken olduğu ventilatör ilişkili pnömoni enfeksiyonunda rutin duyarlılık testleri sonrasında GDY ile MİK belirlenmiş ve kolistin – imipenem, kolistin meropenem ve kolistin sulbaktam kombinasyonları gradient difüzyon sinerji yöntemiyle çalışılmış.



Sonuçlara göre antibakteriyel tedaviye yön verilmiş. Bu çalışma MİK tayini ve sinerji testinin rutin laboratuvar işleyişinde uygulanabilir olduğu ve tedavi sonuçlarını olumlu yönde etkilediğini ortaya konulmuş (Sitaruno ve ark., 2017).

Kolistine duyarlı ve dirençli, karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* suşlarına karşı farklı antimikrobikler ile kolistin sinerjik etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada gradient difüzyon sinerji testi yöntemi ile kolistin meropenem kombinasyonu sadece bir dirençli suşta sinerjik etki göstermiş, dama tahtası yöntemi ile ise yine dirençli grupta 3 suşta sinerji görülmüş diğer tüm suşlar da indiferan etki görülmüş. Tüm kolistin dirençli suşlarda kolistin ve rifampisin kombinasyonu sinerjik etki göstermiş (Gaibani ve ark., 2014).

Erzurum Atatürk Üniversitesi'nde 40 ÇİD *A. baumannii* ile farklı antibiyotik kombinasyonlarının gradient difüzyon yöntemi ile etkinliğinin araştırıldığı çalışma da imipenem – sulbaktam kombinasyonunda en fazla sinerjik etkinlik saptanırken, kolistin – sulbaktam ve rifampisin – azitromisin kombinasyonunda ise antagonistik etki saptanmış (Alada, Altoparlak, & Coşkun, 2017).

Hacettepe Üniversitesi'nde 2002 – 2016 yılları arasında karbapeneme dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarında kullanılan antibiyotik kombinasyonları ve bu kombinasyonların in vitro sinerji testi sonuçlarının sunulduğu çalışmada en çok sinerji saptanan kombinasyon kolistin – meropenem kombinasyonu olmuş. Antagonistik etkinin en çok görüldüğü kombinasyon ise tigesiklin – kolistin kombinasyonu olarak saptanmış. Çalışma rutin laboratuvar hizmetlerinde yürütüldüğü için pratik bir yöntem olması amacıyla GDY tercih edilmiş. Öneri olarak yıllar içerisinde suşların direnç durumunun değiştiği ve her merkezin uygun antibiyotik kombinasyonlarını seçmek amacıyla kendi verilerini oluşturması gerekliliğinden bahsedilmiştir (Zarakolu, Ayaz, & Metan 2018).

Bizim çalışmamızda dama tahtası ile GDY arasında %10 uyum bulunmuştur.

Agar dilüsyon yöntemi ile GDY korelidir. Ancak doğası gereği broth mikrodilüsyon yöntemi ile GDY arası farklılıklar görülebilir (Leber, A. L., 2016). Dama tahtası yöntemi ile gradient difüzyon sinerji yöntemi arasındaki düşük uyumu bu şekilde açıklayabiliriz.

Sopirala ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, tüm antibiyotiklere dirençli *A. baumannii* suşlarında, iki farklı gradient difüzyon sinerji yöntemi, dama tahtası ve zamana bağlı öldürme yöntemi ile çalışılmış. GDY yöntemlerinin ilki bizim çalışmamızda kullandığımız yöntem, ikincisi ise antibiyotiklerden birisinin agara eklenmesi ve diğer antibiyotiğin test stribi olarak agar yüzeyine koyulması şeklinde çalışılmış. Dama tahtası, time kill ve ikinci GDY arasında korelasyon görülmüş. Ancak bizim çalışmamızda kullandığımız, ilk yöntem olan GDY ile kombinasyondan ziyade sadece aktif ilacın etkisi ortaya çıkmış ve genelde indiferan etki göstermiş. (Sopirala ve ark., 2010).

Karbapenem dirençli *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* suşlarında time kill ve dama tahtası yöntemi ile *K. pneumoniae* için kolistin ve meropenem, *A. baumannii* için sulbaktam – meropenem ve kolistin – sulbaktam kombinasyonunun etkinliği araştırılmış. *K. pneumoniae*'da iki test arası uyum oranı %58, *A. baumannii* için ise sulbaktam – meropenem kombinasyonunda %50, sulbaktam – kolistin kombinasyonunda %46 bulunmuş. İki test arası genel uyum %51,3 olarak saptanmış. Bu çalışmada karbapenemazlar moleküler olarak da karakterize edilmiş ve kolistin – meropenem kombinasyonunun en yüksek sinerjik etkiyi (% 68,8) sadece NDM karbapenemaz içeren suşlarda gösterdiği ortaya konulmuş (Laishram ve ark., 2016).

Doern sinerji testleri hakkındaki derlemesinde altın standart bulunmadığı için bu testlerin kıyaslanmasında zorluklar yaşandığı ve farklı çalışmalarda time kill ile dama tahtası yöntemi arasında neredeyse hiçbir ilişki bulunamadığını ifade etmiştir (Doern, 2014).

Bizim çalışmamızda ise time kill ile dama tahtası yöntemi arasındaki uyum %10 olarak saptandı. Bu iki yönteminin sonuçlarının örtüşmemesi olağan değerlendirilmiştir. Çünkü birisi öldürmeyi diğeri ise üremenin inhibisyonunu ölçmektedir. Ayrıca dama tahtası yönteminin yorumlanması için literatürde dört farklı yöntem bulunmaktadır (Bonapace ve ark., 2002). Bunlar aynı zamanda bireysel yorumlamaya göre de farklılık göstermektedir. Literatürle bu uyum farkının suşların özellikleri, metodoloji ve yorumlama farklarından kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz.

Akım sitometri yöntemi eski bir yöntem olmakla birlikte günümüzde mikrobiyolojide popülaritesi giderek artmaktadır.

Wong ve arkadaşları, XDR *A. baumannii* suşlarında polimiksin B bazlı antibiyotik kombinasyonunun persistan bakteri gelişimindeki etkisini flow sitometri yöntemi ile incelemiştir.

Kültür yöntemiyle saptanamayan bu persistan hücreler flow sitometri yöntemi ile saptanabilmiştir. Bu sebeplerden dolayı sadece aktif olarak çoğalan bakterileri baz alan time kill sinerji testlerine ek olarak flow sitometri veya mikroskopi gibi yöntemlerin kullanımı önerilmiştir. Çalışma sonucu olarak ise antibiyotik baskısının kalkmasının ardından persistan bakterilerin uygun üreme koşullarında 24 ile 36 saat sonrasında hücre bölünmesine başladığı ve normal hızlarında ürettiği gözlemlenmiştir (Wong ve ark., 2020).

Gaurav ve arkadaşlarının çalışmasında ise ÇİD *A. baumannii* ve *E. coli* suşlarında nalidiksik asit ve tetrasiklin etkileşimini incelemek amacıyla time kill ve dama tahtası yöntemi ile çalışmışlar ve etkileşim mekanizmasını aydınlatmak için floresan spektroskopisi, flow sitometri, floresan mikroskopi, morfolojik analiz ve real time PCR yöntemleri kullanılmıştır. Her iki sinerji testi yönteminde de sinerjik etkinlik saptanmıştır. Flow sitometri yöntemi ile de membran hasarı takibi yapılmıştır. (Gaurav, Gupta, Shrivastava, & Pathania 2021).

Akım sitometri yöntemi ve MALDI – TOF MS yöntemini kombine kullanarak hızlı bir şekilde karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* suşlarını tanımlamayı amaçlayan çalışma da akım sitometri yöntemi ile altın standart olarak kabul ettikleri GDY arasında % 99,4 uyum saptamışlar (Kilic ve ark., 2016).

Portekiz üniversitesi tarafından geliştirilen flow sitometri temelli antimikrobiyal test (FASTinov) yöntemi ile yapılan bir çalışmada *Enterobacteriales*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *A. baumannii* suşlarında kolistin duyarlılık testi çalışılmıştır. Standart yöntem (broth mikrodilüsyon) ile karşılaştırıldığında kategorik uyum %100, esansiyel uyum ise %95,7 olarak bulunmuştur. Ve standart metod ile 24 saatin sonunda sonuç alınırken bu metod ile bu süre 1 saate düşmüştür. Bu yöntem ile yapılan bir diğer çalışmada ise *Enterobacteriaceae* suşlarında karbapenemaz üretimi tanımlanıp, mevcut karbapenemazların sınıf ayrımı yapılmıştır. Yine mevcut yöntemle göre daha hızlı, sensitivite ve spesifitesi ise %100 bulunmuştur (Fonseca e Silva ve ark., 2020; Silva ve ark., 2016).

Çalışmamızda akım sitometri yöntemi ile kolistin + meropenem kombinasyonu tüm suşlarda indiferan etkili bulunmuştur. Birinci saatin sonundaki ölçümlerde kombinasyonun in vitro etkinliğinin türü saptanabilmiştir.

Grafikler incelendiğinde kolistin ve meropenem içeren kombinasyon tüplerinin, tek ajan bulunan tüplere kıyasla düşüş trendinde olduğu görülmektedir. Ancak azalış miktarı  $2 \log_{10}$  değerini bulamadığı için Sinerjik etkinlik olarak tanımlanamamıştır.

Biz de çalışmamızda akım sitometri metodu ile çalışan Sysmex UF-5000 cihazında, kombine edilen antibiyotiklerin sinerjik etkilerini yorumlayarak Dama tahtası, time kill ve GDY ye alternatif bir farklı metod ve kit geliştirilebilirliğini araştırmayı da hedeflemiş olmamıza rağmen, zaten sinerji testleri arasında yeterli uyumun olmaması, altın standart yöntem olarak farklı çalışmalarda farklı yöntemlerin kabul edilmiş olması, elde ettiğimiz sonuçların uyum oranlarının karşılaştırdığımız metodlara göre farklılık göstermesi gibi nedenlerle kısa zamanda sonuç elde edebilmemize rağmen sonuçların güvenirliliği açısından yorumda bulunulamamıştır.

Ayrıca farklı etkileşim gösteren suşlar ile de çalışma yapılmalı ve bu yöntem ile etkinliğin en erken saptandığı süre belirlenmelidir. Antibiyotik kombinasyonunun etkinliği hakkında daha çok bilgiye sahip olmak için in vivo ve klinik çalışmalar da yapılmalıdır.

Ülkemizde Talan ve arkadaşları tarafından yapılan retrospektif incelemede kolistin dirençli *Acinetobacter* spp. ile enfekte yedi hastanın tedavisinde kolistin içeren kombinasyon tedavileri kullanılmış ve üç hasta da etkili olup hastalar taburcu edilmiş kaybedilen dört hastanın ise altta yatan hastalıklar nedeniyle kaybedildiği belirtilmiş (Talan, Güven, Yılmaz, & Altıntaş 2015).

Çalışmamızda hastanemizden izole edilen kolistin ve karbapenem dirençli *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* suşlarında kolistin ve meropenem kombinasyonunun etkinliğinin incelenmesi açısından farklı yöntemler ile sinerji testleri çalıştık.

In vitro etkinlik testlerinin in vivo ortama yansımaları, ortamdaki birçok faktöre bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Örneğin in vitro ortamda sinerjik etki saptanmamış olmasına rağmen, kombinasyon tedavisi uygulandığında hastaların klinik durumlarında iyileşmeler görülebilmektedir.

Kombinasyon testleri için önemli bir nokta antagonistik etkinin olup olmadığıdır. Bizim çalışmamızda çalışılan tüm sinerji testi yöntemlerinde hiçbir suşta antagonistik etkinlik saptanmamıştır. Bu sebeple, kombinasyonda kullandığımız kolistin ve meropenem tedavi seçeneği olarak görülebilir.

Literatürde flow sitometri yöntemi kullanarak hasta izolatlarında iki antibiyotik kombinasyonunun etkileşiminin incelendiği bir çalışmaya rastlamadık. Geleneksel metodu modernize etmek amacıyla flow sitometri tabanlı otomatize cihaz olan Sysmex UF-5000 ile time kill yöntemi çalışılmıştır.

Flow sitometri tabanlı bu yöntemle birçok kazanım sağlamıştır. Örneğin bakterisidal aktivitenin doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi için, dilüsyon sonrası ekim yapılırken plaklara antimikrobiyal ajan taşınması önlenmelidir (Eliopoulos, G.M. & Eliopoulos C.T., 1988). Ancak ekim yapılmaksızın cihazda okutma yapıldığı için antimikrobiyal maddenin nötralizasyonuna ilişkin bir problem bulunmamaktadır.

Ayrıca çalışmamızda kullandığımız cihazın tam otomatize olması nedeniyle boyama ve grafik yorumlama gibi basamaklara da gerek kalmamıştır. Geleneksel yöntemle kıyasla daha maliyet etkindir. Sonuçlanma açısından ise oldukça zaman kazandırmaktadır. Bakteri sayımı cihaz tarafından yapıldığı için değerlendirme objektiftir. Bakterilerin zaman içindeki değişimleri daha dinamik ve eş zamanlı takip edilebilmektedir.

Çalışmanın sınırlılıkları açısından bakıldığında akım sitometri cihazının belirli bir sayı üzerindeki bakteriyi kalitatif olarak belirttiği için time kill testinde 4. saate kadar ölçüm yapılmış olmasıydı. Ancak bu durum antimikrobiyal ajan varlığına rağmen üredikleri için özellikle dirençli kökenler için problem teşkil etmektedir.

Sonuçları daha da iyileştirmek adına daha fazla sayıda suş ile farklı türleri de dahil ederek çalışmalar dizayn edilebilir. Elde edilecek sonuçlar, in vivo ortam ve klinik çalışmalar ile desteklenmelidir.

Sonuç olarak, akım sitometri yöntemi kullanarak modernize edilmiş time kill yöntemi ile dama tahtası yöntemi arasında kolistin + meropenem kombinasyonu tüm suşlarda %10'luk bir uyum göstermiştir.

Bu çalışma ile hedeflerimizden birisi sinerji testinin daha pratik, hızlı ve ekonomik olmasını sağlayarak hastalara özgü olarak rutin laboratuvarlarda çalışılabilir hale getirmektir.

Mevcut tedaviler literatür önerilerine göre uygulanmaktadır. Ancak kombinasyon tedavisinin etkinliği enfeksiyon bölgesi, mikroorganizmanın o ortamda geliştirdiği farklı direnç mekanizmaları gibi birçok etmenden etkilendiği için hasta izolatına özgü olarak sinerji testlerinin çalışılması gerektiğini düşünüyoruz.

Çalışmamız bu hedeflere ulaşmış durumdadır ancak sinerji testlerinin doğasında var olan yöntemler arası uyumsuzluk nedeniyle ileri çalışmalar ile veriler iyileştirilmelidir.

## 6. KAYNAKLAR

- Alada, D. M., Altoparlak, Ü., & Coşkun, M. V. (2017). Çeşitli Antibiyotik Kombinasyonlarının *Acinetobacter* Suşları Üzerine İn Vitro Etkinliğinin Araştırılması. *Ankem Dergisi*, 31(1), 23–31. Erişim adresi: <https://doi.org/10.5222/ankem.2017.023>
- Alenkaer, L. K., Pedersen, L., Szecsi, P. B., & Bjerrum, P. J. (2021). Evaluation of the sysmex UF-5000 fluorescence flow cytometer as a screening platform for ruling out urinary tract infections in elderly patients presenting at the Emergency Department. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 81(5), 379–384. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1080/00365513.2021.1929441>
- Álvarez-Barrientos, A., Arroyo, J., Cantón, R., Nombela, C., & Sánchez-Pérez, M. (2000). Applications of flow cytometry to clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(2), 167–195. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1128/CMR.13.2.167-195.2000>
- Andrade, F. F., Silva, D., Rodrigues, A., & Pina-Vaz, C. (2020). Colistin update on its mechanism of action and resistance, present and future challenges. *Microorganisms*, 8(11), 1–12. Erişim adresi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111716>
- Antunes, L. C. S., Visca, P., & Towner, K. J. (2014). *Acinetobacter baumannii*: Evolution of a global pathogen. *Pathogens and Disease*, 71(3), 292–301. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12125>
- Arnold, R. S., Thom, K. A., Sharma, S., Phillips, M., Kristie Johnson, J., & Morgan, D. J. (2011). Emergence of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Southern Medical Journal*, 104(1), 40–45. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1097/SMJ.0b013e3181fd7d5a>
- Ay, C., & Cantürk, Z. (2015). Flow sitometrinin mikrobiyoloji alanında kullanımı. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 30(3), 144–151.
- Aygar, İ. S. (2020). Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Kökenlerinde Yıllar İçerisinde Kolistin MİK Değerindeki Artışın İn Vitro Değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 50(3), 164–171. Erişim adresi: <https://doi.org/10.5222/tmcd.2020.164>

- Bal, Ç. (1999). Antibiyotik Kombinasyonlarının İn vitro Etkinliğinin Saptanması. *Flora*, 4(4), 219–229.
- Baldwin, C. M., Lyseng-Williamson, K. A., & Kean, S. J. (2008). Meropenem: A review of its use in the treatment of serious bacterial infections. *Drugs*, 68(6), 803–838. Erişim adresi: <https://doi.org/10.2165/00003495-200868060-00006>
- Bartal, C., Rolston, K. V. I., & Neshner, L. (2022). Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: Colonization, Infection and Current Treatment Options. *Infectious Diseases and Therapy*. XXX. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1007/s40121-022-00597-w>
- Bendinelli, M., Friedman, H., & Bergogne-Bérézin, E. (Eds.) (2008). *Acinetobacter Biology and Pathogenesis*. New York: Springer Science + Business Media.
- Bialvaei, A. Z., & Samadi Kafil, H. (2015). Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Current Medical Research and Opinion*, 31(4), 707–721. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1185/03007995.2015.1018989>
- Bir, R., Gautam, H., Arif, N., Chakravarti, P., Verma, J., Banerjee, S., ... Biswas Das, B. (2022). Analysis of colistin resistance in carbapenem-resistant Enterobacterales and XDR *Klebsiella pneumoniae*. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*, 9, 1–15.
- Biswas, I., & Rather, P. N. (Eds.). (2019). *Acinetobacter baumannii Methods and Protocols*. New York: Springer Science + Business Media.
- Bonapace, C. R., Bosso, J. A., Friedrich, L. V., & White, R. L. (2002). Comparison of methods of interpretation of checkerboard synergy testing. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 44(4), 363–366. Erişim adresi: [https://doi.org/10.1016/S0732-8893\(02\)00473-X](https://doi.org/10.1016/S0732-8893(02)00473-X)
- Bottone, E. J. (Ed.) (2004). *An Atlas of the Clinical Microbiology of Infectious Diseases* (pp. 45-69). New York: The Parthenon Publishing Group.
- Büyüktuna, S. A., Hasbek, M., Çelik, C., Ünlüsavuran, M., Avcı, O., Baltacı, S.,... Elaldi, N. (2021). Yoğun Bakım Ünitesinde Gelişen *Klebsiella pneumoniae* Enfeksiyonları: Karbapenem Direnci ve Hasta Mortalitesi ile İlgili Risk Faktörleri. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 54(3), 378–391. Erişim adresi: <https://doi.org/10.5578/MB.69679>



- Capone, A., Giannella, M., Fortini, D., Giordano, A., Meledandri, M., Ballardini, M., ... Petrosillo, N. (2013). High rate of colistin resistance among patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection accounts for an excess of mortality. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(1), E23–E30. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12070>
- Catalano, M., Quelle, L. S., JERIC, P. E., Di Martino, A., & Maimone, S. M. (1999). Survival of *Acinetobacter baumannii* on bed rails during an outbreak and during sporadic cases. *Journal of Hospital Infection*, 42(1), 27–35. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1053/jhin.1998.0535>
- Clark, N. M., Zhanel, G. G., & Lynch, J. P. (2016). Emergence of antimicrobial resistance among *Acinetobacter* species: A global threat. *Current Opinion in Critical Care*, 22(5), 491–499. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1097/MCC.0000000000000337>
- Conly, J. M., & Johnston, B. L. (2006). Colistin: The phoenix arises. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 17(5), 267–269. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1155/2006/901873>
- Craig, W. A. (1997). The pharmacology of meropenem, a new carbapenem antibiotic. *Clinical Infectious Diseases*, 24(SUPPL.2), 266–275. Erişim adresi: [https://doi.org/10.1093/clinids/24.supplement\\_2.s266](https://doi.org/10.1093/clinids/24.supplement_2.s266)
- Dal, T., Dal, M. S., & Ağır, İ. (2012). *Acinetobacter baumannii* ' de Antibiyotik Direnci ve AdeABC Aktif Pompa Sistemleri : Literatürün Gözden Geçirilmesi. *Van Tıp Dergisi*, 19(3), 137–148.
- De Rosa, R., Grosso, S., Lorenzi, G., Bruschetta, G., & Camporese, A. (2018). Evaluation of the new Sysmex UF-5000 fluorescence flow cytometry analyser for ruling out bacterial urinary tract infection and for prediction of Gram negative bacteria in urine cultures. *Clinica Chimica Acta*, 484(March), 171–178. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.05.047>
- Dhandapani, S., Sistla, S., Gunalan, A., Manoharan, M., Sugumar, M., & Sastry, A. S. (2021). In-vitro synergistic activity of colistin and meropenem against clinical isolates of carbapenem resistant *E.coli* and *Klebsiella pneumoniae* by checkerboard method. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 39(1), 6–10. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1016/j.ijmmb.2020.10.018>

- Dijkshoorn, L., Nemec, A., & Seifert, H. (2007). An increasing threat in hospitals: Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nature Reviews Microbiology*, 5(12), 939–951. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1038/nrmicro1789>
- Doern, C. D. (2014). When does 2 plus 2 equal 5? A review of antimicrobial synergy testing. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(12), 4124–4128. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1128/JCM.01121-14>
- Eliopoulos, G. M., & Eliopoulos, C. T. (1988). Antibiotic combinations: Should they be tested? *Clinical Microbiology Reviews*, 1(2), 139–156. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1128/CMR.1.2.139>
- Eren, E., Ulu-Kılıç, A., Türe, Z., Cevahir, F., Kılıç, H., & Alp-Meşe, E. (2021). Karbapeneme Dirençli *Klebsiella pneumoniae* ile İlişkili Kan Dolaşımı İnfeksiyonlarında Mortaliteyi Etkileyen Risk Faktörleri. *Klinik Dergisi*, 34(1), 56–60. Erişim adresi: <https://doi.org/10.5152/kd.2021.10>
- Esen, B., & Gözalan, A. (2020). *Acinetobacter calcoaceticus*- *Acinetobacter baumannii* Complex (Abc) ve Yeni Türleri. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 21(2), 211–216. Erişim adresi: <https://doi.org/10.18229/kocatepetip.545268>
- Fong, I. W., Shlaes, D., & Drlica K. (Eds.). (2018). *Antimicrobial Resistance in the 21st Century*. Springer. Erişim adresi: <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-319-78538-7>
- Fonseca e Silva, D., Andrade, F. F., Gomes, R., Silva-Dias, A., Martins-Oliveira, I., Pérez-Viso, ... Pina-Vaz, C. (2020). Ultra-rapid flow cytometry assay for colistin MIC determination in *Enterobacteriales*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clinical Microbiology and Infection*, 26(11), 1559.e1-1559.e4. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.08.019>
- Fournier, P. E., Vallenet, D., Barbe, V., Audic, S., Ogata, H., Poirel, L., ... Claverie, J. M. (2006). Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Plos Genetics*, 2(1), 62–72. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020007>

- Gaibani, P., Lombardo, D., Lewis, R. E., Mercuri, M., Bonora, S., Landini, M. P., & Ambretti, S. (2014). In vitro activity and post-antibiotic effects of colistin in combination with other antimicrobials against colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(7), 1856–1865. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1093/jac/dku065>
- Garrity, G. M. (Ed.) (2005). *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology* (pp. 412-689). New York: Springer Science + Business Media. Erişim adresi: [https://doi.org/10.1007/0-387-28022-7\\_9](https://doi.org/10.1007/0-387-28022-7_9)
- Gaurav, A., Gupta, V., Shrivastava, S. K., & Pathania, R. (2021). Mechanistic insights into synergy between nalidixic acid and tetracycline against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and *Escherichia coli*. *Communications Biology*, 4(1). Erişim adresi: <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02074-5>
- Gilboe, H. M., Reiakvam, O. M., Aasen, L., Tjade, T., Bjerner, J., Ranheim, T. E., & Gaustad, P. (2021). Rapid diagnosis and reduced workload for urinary tract infection using flowcytometry combined with direct antibiotic susceptibility testing. *PLOS ONE*, 16(7 July), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254064>
- Gözütok, F., Mutlu Sarıguzel, F., Çelik, I., Berk, E., Aydın, B., & Güzel, D. (2013). Hastane İnfeksiyonu Etkeni *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Antimikrobiyal Direnç Oranlarının Araştırılması. *Ankem Dergisi*, 27(1), 7–12. Erişim adresi: <https://doi.org/10.5222/ankem.2013.007>
- Hamel, M., Rolain, J. M., & Baron, S. A. (2021). The history of colistin resistance mechanisms in bacteria: Progress and challenges. *Microorganisms*, 9(2), 1–18. Erişim adresi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020442>
- Harding, C. M., Hennon, S. W., & Feldman, M. F. (2018). Uncovering the mechanism of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nature Reviews Microbiology*, 16(2), 91–102. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.148>
- Johnson, D. I. (2017). Bacterial pathogens and their virulence factors. In *Bacterial Pathogens and Their Virulence Factors* (pp. 269-276). Erişim adresi: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-67651-7>

- Kanafani, Z. A., Zahreddine, N., Tayyar, R., Sfeir, J., Araj, G. F., Matar, G. M., & Kanj, S. S. (2018). Multi-drug resistant *Acinetobacter* species: A seven-year experience from a tertiary care center in Lebanon. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 7(1), 1–8. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0297-6>
- Kanev, M. O., & Gökalp Muranlı, F. D. (2015). Flow Sitometri ve Kullanım Alanları. *SAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20(1), 33. Erişim adresi: <https://doi.org/10.16984/saufenbilder.45424>
- Kanwar, A., Marshall, S. H., Perez, F., Tomas, M., Jacobs, M. R., Hujer, A. M., ... Bonomo, R. A. (2018). Emergence of resistance to colistin during the treatment of bloodstream infection caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. In *Open Forum Infectious Diseases*, 5 (4), 1-3. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy054>
- Kattan, J. N., Villegas, M. V., & Quinn, J. P. (2008). New developments in carbapenems. *Clinical Microbiology and Infection*, 14(12), 1102–1111. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02101.x>
- Kilic, A., Dogan, E., Kaya, S., Oren, S., Tok, D., Ardic, N., & Baysallar, M. (2016). Rapid Identification of *Klebsiella pneumoniae* by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry and Detection of Meropenem Resistance by Flow Cytometric Assay. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 30(6), 1191–1197. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1002/jcla.22002>
- Kim, S. Y., Park, Y., Kim, H., Kim, J., Koo, S. H., & Kwon, G. C. (2018). Rapid screening of urinary tract infection and discrimination of gram-positive and gram-negative bacteria by automated flow cytometric analysis using sysmex UF-5000. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(8), 1-14. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1128/JCM.02004-17>
- Kirby, J. E., & Brennan-Krohn, T. (2019). When One Drug Is Not Enough: Context, Methodology, and Future Prospects in Antibacterial Synergy Testing. *Clinical Laboratory Medicine*, 39(3), 345–358. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1016/j.cll.2019.04.002>
- Kuş, H., Arslan, U., Dağı, H. T., & Fındık, D. (2017). Hastane Enfeksiyonu Etkeni *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Çesitli Virulans Faktörlerinin Araştırılması. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 51(4), 329–339. Erişim adresi: <https://doi.org/10.5578/mb.59716>

- Laishram, S., Anandan, S., Devi, B. Y., Elakkiya, M., Priyanka, B., Bhuvaneshwari, T., ... Balaji, V. (2016). Determination of synergy between sulbactam, meropenem and colistin in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* isolates and correlation with the molecular mechanism of resistance. *Journal of Chemotherapy*, 28(4), 297–303. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1080/1120009X.2016.1143261>
- Laishram, S., Pragasam, A., Bakthavatchalam, Y., & Veeraraghavan, B. (2017). An update on technical, interpretative and clinical relevance of antimicrobial synergy testing methodologies. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 35(4), 445–468. Erişim adresi: [https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM\\_17\\_189](https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM_17_189)
- Leber, A. L. (Ed.). (2016). *Clinical Microbiology Procedures Handbook. Synergism Testing: Broth Microdilution Checkerboard and Broth Macrodilution Methods.* (pp 5.16.1 - 5.16.6). Washington, DC: ASM Press.
- Lee, C. R., Lee, J. H., Park, M., Park, K. S., Bae, I. K., Kim, Y. B., ... Lee, S. H. (2017). Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 1-35. Erişim adresi: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00055>
- Loho, T., & Dharmayanti, A. (2015). Colistin: an antibiotic and its role in multiresistant Gram-negative infections. *Acta Medica Indonesiana*, 47(2), 157–168.
- M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. (2019). In *Clinical and Laboratory Standards Institute* (Vol. 29).
- Manchanda, V., Sinha, S., & Singh, N. (2010). Multidrug resistant *Acinetobacter*. *Journal of Global Infectious Diseases*, 2(3), 291. Erişim adresi: <https://doi.org/10.4103/0974-777x.68538>
- Martin, R. M., & Bachman, M. A. (2018). Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8(JAN), 1–15. Erişim adresi: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00004>

- Mayers, D. L. (Ed.). (2009). Antimicrobial Drug Resistance: Clinical and Epidemiological Aspects (pp. 819-822). New York: Springer Science + Business Media.
- McEvoy, B., Lynch, M., & Rowan, N. J. (2020). Opportunities for the application of real-time bacterial cell analysis using flow cytometry for the advancement of sterilization microbiology. *Journal of Applied Microbiology*, 130(6), 1794–1812. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1111/jam.14876>
- Moubareck, C. A., & Halat, D. H. (2020). Insights into *Acinetobacter baumannii*: A Review of Microbiological, Virulence, and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen. *Antibiotics*, 9(119). Erişim adresi: <https://doi.org/doi:10.3390/antibiotics9030119>
- Moya, C., & Maicas, S. (2020). Antimicrobial Resistance in *Klebsiella pneumoniae* Strains: Mechanisms and Outbreaks. *Proceedings*, 66(1), 11. Erişim adresi: <https://doi.org/10.3390/proceedings2020066011>
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. Erişim adresi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Nakayama, A., Tsuburai, H., Ebina, H., & Kino, F. (2018). Outline and Features of UF-5000, Fully Automated Urine Particle Analyzer. *Sysmex Journal International*, 28(1), 1–21.
- Öncül, O., Keskin, Ö., Acar, H. V., Küçükardalı, Y., Evrenkaya, R., Atasoyu, E. M., ... Gökben, M. (2002). Hospital-acquired infections following the 1999 Marmara earthquake. *Journal of Hospital Infection*, 51(1), 47–51. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1053/jhin.2002.1205>
- Özkul Koçak, C., & Çetin Hazırolan, G. (2019). Karbapeneme Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Klinik İzolatlarında Kolistin Direnci. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 49(1), 17–23. Erişim adresi: <https://doi.org/10.5222/tmcd.2019.017>
- Paczosa, M. K., & Mecsas, J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 629–661. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-67651-7>

- Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., & Bonomo, R. A. (2011). Carbapenems: Past, present, and future. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(11), 4943–4960. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1128/AAC.00296-11>
- Peleg, A. Y., Seifert, H., & Paterson, D. L. (2008). *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(3), 538–582. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-07>
- Procop, G. W., Church, D. L., Hall, G. S., Janda, W. M., Koneman, E. W., Schreckenberger, P. C., & Woods, G. L. (Eds.). (2017). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* (pp. 444-614). Wolters Kluwer.
- Ramirez, M. S., Bonomo, R. A., & Tolmasky, M. E. (2020). Carbapenemases: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace. *Biomolecules*, 10(5), 1-32. Erişim adresi: <https://doi.org/10.3390/biom10050720>
- Rao, G. G., Li, J., Garonzik, S. M., Nation, R. L., & Forrest, A. (2018). Assessment and modelling of antibacterial combination regimens. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(7), 689–696. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.12.004>
- Reyes, J., Aguilar, A. C., & Caicedo, A. (2019). Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: Microbiology key points for clinical practice. *International Journal of General Medicine*, 12, 437–446. Erişim adresi: <https://doi.org/10.2147/IJGM.S214305>
- Scudeller, L., Righi, E., Chiamenti, M., Bragantini, D., Menchinelli, G., Cattaneo, P., ... Tacconelli, E. (2021). Systematic review and meta-analysis of in vitro efficacy of antibiotic combination therapy against carbapenem-resistant Gram-negative bacilli. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 57(5), 1-11. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2021.106344>
- Shah, D., & Narang, M. (2004). Drug Therapy - Meropenem. *Indian Pediatrics*, 42, 443–450.

- Silva, A. P., Faria-Ramos, I., Ricardo, E., Miranda, I. M., Espinar, M. J., Costa-de-Oliveira, ... Pina-Vaza, C. (2016). Rapid flow cytometry test for identification of different carbapenemases in enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(6), 3824–3826. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1128/AAC.02947-15>
- Sitaruno, S., Jaruratanasirikul, S., Pattharachayakul, S., Ingviya, N., Hortiwakul, T., Santimaleeworagun, W., & Khwannimit, B. (2017). MIC and synergy testing guide antimicrobial treatment of ventilator-associated pneumonia due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 100(7), 740–747.
- Sopirala, M. M., Mangino, J. E., Gebreyes, W. A., Biller, B., Bannerman, T., Balada-Llasat, J. M., & Pancholi, P. (2010). Synergy testing by etest, microdilution checkerboard, and time-kill methods for pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(11), 4678–4683. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1128/AAC.00497-10>
- şimşek, H., Süzük Yıldız, S., & Hekimoğlu, C. H. (2016). Ulusal Antimikrobiyal Direnç Surveyans Sistemi 2016 Yıllık Raporu. Erişim adresi: <http://uamdss.thsk.gov.tr>
- Talan, L., Güven, G., Yılmaz, G., & Altıntaş, N. D. (2015). Microorganisms that are Difficult to Control in the Intensive Care Units: *Acinetobacter*. *Journal of Medical and Surgical Intensive Care Medicine*, 6(2), 44–47. Erişim adresi: <https://doi.org/10.5152/dcbybd.2015.930>
- Trebosc, V., Gartenmann, S., Tötzl, M., Lucchini, V., Schellhorn, B., Pieren, M., ... Kemmer, C. (2019). Dissecting Colistin Resistance Mechanisms in Extensively. *MBio*, 10(4), 1–12.
- Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., & Wang, H. (2020). The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(17), 1–17. Erişim adresi: <https://doi.org/10.3390/ijerph17176278>
- WHO Regional Office for Europe and European Centre for Disease Prevention and Control. (2020). Surveillance of antimicrobial resistance in Europe, 2020 data. Erişim adresi: [www.ecdc.europa.eu](http://www.ecdc.europa.eu)



- Winston, M. K., & Davey, H. M. (2000). Flow Cytometric Analysis of Microorganisms. *Methods*, 21(3), 231–240. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1006/meth.2000.1003>
- Wong, F. H. S., Cai, Y., Leck, H., Lim, T. P., Teo, J. Q. M., Lee, W., ... Kwa, A. L. H. (2020). Determining the development of persisters in extensively drug-resistant acinetobacter baumannii upon exposure to polymyxin B-based antibiotic combinations using flow cytometry. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(3). Erişim adresi: <https://doi.org/10.1128/AAC.01712-19>
- Yu, Y., Hu, F., Zhu, C., Chen, E., Lu, L., & Gao, Y. (2018). Use of Next Generation Sequencing and Synergy Susceptibility Testing in Diagnosis and Treatment of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Blood Stream Infection . *Case Reports in Infectious Diseases*, 2018, 1–4. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1155/2018/3295605>
- Zarakolu, P., Ayaz, Ç. M., & Metan, G. (2018). Karbapeneme Dirençli *Acinetobacter baumannii* Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Çeşitli Antibiyotik Kombinasyonları ve İn Vitro Sinerji Test Sonuçları (2002-2016). *Mikrobiyoloji Bulteni*, 52(2), 190–197. Erişim adresi: <https://doi.org/10.5578/mb.61903>
- Zhanel, G. G., Wiebe, R., Dilay, L., Thomson, K., Rubinstein, E., Hoban, D. J., ... Karlowsky, J. A. (2007). Comparative review of the carbapenems. *Drugs*, 67(7), 1027–1062.
- Zusman, O., Avni, T., Leibovici, L., Adler, A., Friberg, L., Stergiopoulou, T., ... Paul, M. (2013). Systematic review and meta-analysis of in vitro synergy of polymyxins and carbapenems. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(10), 5104–5111. Erişim adresi: <https://doi.org/10.1128/AAC.01230-13>

## 7. SİMGE ve KISALTMALAR

**Acb kompleks:** *Acinetobacter calcoaceticus – baumannii* kompleks

**ATCC:** Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu

**BAL:** Bronkoalveolar lavaj

**Bap:** Biyofilm ilişkili protein

**BF:** Vücut sıvısı

**BOS:** Beyin omurilik sıvısı

**CFU:** Koloni oluşturan birim

**CLSI:** Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü

**ÇİD:** Çoklu İlaç Direnci

**DTA:** Derin trakeal aspirat

**EUCAST:** Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi

**FİK:** Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon

**FİKİ:** Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon İndeksi

**GDY:** Gradient Difüzyon Yöntemi

**KAMHB:** Katyon Ayarlı Müeller Hinton Broth

**KKCA:** Koyun Kanlı Columbia Agar

**Log:** Logaritma

**LPS:** Lipopolisakkarit tabaka

**MHA:** Müeller Hinton Agar

**MİK:** Minimum İnhibitör Konsantrasyon

**ml:** Mililitre

**mm:** Milimetre

**µg:** Mikrogram

**$\mu$ l:** Mikrolitre

**$\mu$ m:** Mikrometre

**NCTC:** Ulusal Tip Kùltür Koleksiyonu

**nm:** Nanometre

**Omp:** Dış membran proteini

**PBP:** Penisilin Bağlayan Protein

**PetN:** Fosfoetanolamin

**PNAG:** poli –  $\beta$ - 1,6 – N – asetilglukozamin

**RND:** Direnç – Nodülasyon – Hücre Bölünmesi (RND) ailesi

**SF:** Serum fizyolojik

**SMR:** Küçük Çoklu İlaç Direnci ailesi

**XDR:** Yaygın olarak antibiyotik dirençli

**YBÜ:** Yoğun Bakım Üniteleri

## 8. EKLER

EK1



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 2011-KAEK-26/443  
Konu : Etik Kurul kararı

04 / 09 / 2021

Sayın Prof.Dr.Cüneyt ÖZAKIN  
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Kurulumuza başvurusunu yaptığımız ve sorumlu araştırmacı olduğunuz "Kolistin ve karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında akım sitometri yöntemi ile kolistin ve meropenem kombinasyonunun in vitro etkinliğinin test edilmesi ve dama tahtası yöntemi ile karşılaştırılması" başlıklı araştırmanız ile ilgili kurulumuzun 28 Temmuz 2021 tarih, 2021-10/3 nolu kararı ekte gönderilmektedir.

Araştırmanın tamamlanma bildirimini ve özet sonuç raporunun kurulumuza iletilmesi için bilgilerinize sunulur.



EK:  
-Karar (2 adet)

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Rektörlük Binası, Görükle Kampüsü 16059 Nilüfer/BURSA  
Tel: 0-224-2950020 Fax: 0-224-2950029  
e-posta: [uukaek@uludag.edu.tr](mailto:uukaek@uludag.edu.tr) Elektronik Ağ: [www.tip.uludag.edu.tr](http://www.tip.uludag.edu.tr)

## ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kolistin ve karbapenem dirençli <i>acinetobacter baumannii</i> ve <i>klebsiella pneumoniae</i> suşlarında alam sitometri yöntemi ile kolistin ve meropenem kombinasyonunun in vitro etkinliğinin test edilmesi ve dama tahtası yöntemi ile karşılaştırılması
-----------------------	--

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 2011-KAEK-26		
	AÇIK ADRESİ	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Rektörlük Binası Kat. I Gözükle Kampüsü Nilüfer/Bursa		
	TELEFON	0.224.295.00.20		
	FAKS	0.224.295.00.29		
	E-POSTA	wkaek@uludag.edu.tr		

BAŞVURU BİLGİLERİ	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Cüneyt Özmen		
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD		
	YARDIMCI ARAŞTIRMACININ UNVANI/ADI/SOYADI	Yüksek lisans öğrencisi Özlem İplik		
	YARDIMCI ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD		
	DESTEKLEYİCİ	Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi		
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Prospektif araştırma		
	ARAŞTIRMANIN YAPILIŞ AMACI	Yüksek lisans tez çalışması		
	ARAŞTIRMANIN BAŞLAMA TARİHİ/ SÜRESİ	01.08.2021 / 6 ay		
	GÖNÜLLÜ DOSYA SAYISI	20 suş		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TIK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarhi	Dili
	GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR İÇİN BAŞVURU FORMU	02.07.2021	Türkçe

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇE FORMU	<input checked="" type="checkbox"/> 02.07.2021
	ARAŞTIRMALAR İÇİN TAAHHÜTNAME FORMU	<input checked="" type="checkbox"/> 02.07.2021
	PROSPEKTİF ÖZELLİKLI GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMA TAAHHÜTNAME	<input checked="" type="checkbox"/> 02.07.2021
	IKU Kurumunun okundukuna dair taahhütname	<input checked="" type="checkbox"/> 02.07.2021
	SONUÇ ÖZET RAPORU	<input type="checkbox"/>
DİĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	Araştırma etik başvuru ön yazısı (Tarih: 02.07.2021), hasta listesi, sorumlu araştırmacı özgeçmiş, araştırmacı tarafından kullanılan Dünya Tıp Birliği Hırsızlık Bilgiyesi, literatür

## ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kolistin ve karbapenem dirençli <i>acinetobacter baumannii</i> ve <i>klebsiella pneumoniae</i> suşlarında alam sitometri yöntemi ile kolistin ve meropenem kombinasyonunun in vitro etkinliğinin test edilmesi ve dama tahtası yöntemi ile karşılaştırılması
-----------------------	--

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2021-10/3	Tarih: 28 Temmuz 2021
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelendi. 1-Araştırmanın başvurusu dosyasında belirtilen mekâzde gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna, 2-Araştırmanın başlama tarihinin bildirilmesi ve araştırma tamamlandıktan sonra özet bir sonuç raporunun hazırlanarak kurulamıza iletilmesine, 3-Araştırma protokolünde ve başvuru formunda yapılacak tüm değişiklikler için Etik Kurul'dan izin alınması gerektiğinin sorumlu araştırmacılara iletilmesine toplantıya katılan etik kurul üye tamamının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.	

## ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ÇALIŞMA E SASI Baş ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İy Klinik Uygulamalar Kanunu

BAŞKANIN UNVANI/ADI SOYADI Prof.Dr.Mustafa HACIMUSTAFAOĞLU

ÜYELER

Unvanı/Adı/Soy adı	Ünvanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlgili	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Mustafa HACIMUSTAFAOĞLU Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Bursa ÜÜ.Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mustafa SAĞAN MOĞOL Başkan Yardımcısı	Anesteziyoloji	Bursa ÜÜ.Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mehmet Seray YILMAZ Üye	Farmakoloji	Bursa ÜÜ. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hilal ÖZKAN Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Bursa ÜÜ. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD Siyatik Hastalıkları BD	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hasan ARI Üye	İç Hastalıkları	Bursa Yüksek İhtisas EAH Kardiyoloji Kliniği	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Alihan TÜRKCAN Üye	Halk Sağlığı	Bursa ÜÜ. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Kağan MUTSAL Üye	Diş Hekimliği	Bursa Yüksek İhtisas EAH Diş Hekimliği	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ömer ÖZGÜL Üye	İç Hastalıkları (Endokrin ve Metabolizma)	Bursa ÜÜ. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD Endokrinoloji ve Metabolizma BD	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Özgür Ünal Engin SAĞOLUK Üye	Biyofizik	Bursa ÜÜ. Tıp Fakültesi Biyofizik AD	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Özgür Ünal Seray ERK KAYA Üye	Tıp Tarihi ve Etik	Bursa ÜÜ. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Mehmet BAYRAM	Yeni	Bursa ÜÜ. Biyofizikliği Halk Sağlığı	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Tıpçı SULTAN Üye	Sağlık medyası temsilcisi olarak üye	Sakarya Meslek	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

\* Toplantıda İhtisasa

## 9. TEŞEKKÜR

Öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyduğum, yüksek lisans eğitimim ve tez süreçlerimde yardım ve desteklerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Cüneyt ÖZAKIN'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca katkı ve desteklerini sunan başta anabilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Beyza ENER olmak üzere, Sayın Doç. Dr. Ayşe Melda PAYASLIOĞLU, Sayın Doç. Dr. Oktay ALVER, Sayın Doç. Dr. Harun AĞCA, Sayın Doç. Dr. İmran SAĞLIK, Sayın Doç. Dr. Sevim AKÇAĞLAR ve Sayın Uzm. Dr. Nazmiye Ülkü TÜZEMEN'e teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Bilimsel vizyonumun gelişmesinde ve mikrobiyoloji de multidisipliner bakış açısı kazanmamda katkı sağlayan Tekstil Mühendisliği bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Mehmet ORHAN'a,

Tezimin her aşamasında büyük emeği olan, alan tecrübelerini benimle paylaşan, yüksek lisans süreçlerini birlikte kat ettiğimiz Sayın Biyolog Bekir AKCA'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmam esnasında cihaz ile ilgili tüm adımlarda destek olan Sysmex pazarlama uzmanı Mehmet Ramazan AYAŞ'a,

Eğitimimde ve tez çalışmamda büyük katkıları olan, hepsini ablam – abim gibi sevdiğim ve saygı duyduğum başta Bakteriyoloji ve Merkez Mikrobiyoloji 7/24 laboratuvarı teknikerleri olmak üzere Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarları teknikerlerine teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yolumu aydınlatan, bana güçlü olmayı öğreten canım anneme teşekkür ederim. Bu tezi anneme ithaf ediyorum.

Bu tez çalışması *Bilimsel Araştırma Projeleri* tarafından desteklenmiştir. Proje no: TYL – 2021 – 682- BAP.

## 10. ÖZGEÇMİŞ

İlk, orta ve lise öğrenimini Bursa'da tamamladı. 2014 yılında Çankırı Karatekin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik bölümünü kazandı öğrenimine bir yıl orada devam ettikten sonra Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Bölümüne yatay geçiş yaptı. 2018 yılında bölüm ikinciliği derecesiyle mezun oldu. Bir yıl özel sektörde çalıştıktan sonra 2019 yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp – Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı. Halen eğitime devam etmektedir.