TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

N-ASETİLSİSTEİNİN KLİNİK *ACINETOBACTER BAUMANNII* VE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* İZOLATLARINDA KARBAPENEM DİRENCİNE ETKİSİ

HÜLYA DOĞAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Yrd.Doç.Dr. M. BURAK AKSU
İSTANBUL-2016

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

N-ASETİLSİSTEİNİN KLİNİK *ACINETOBACTER BAUMANNII* VE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* İZOLATLARINDA KARBAPENEM DİRENCİNE ETKİSİ

HÜLYA DOĞAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Yrd.Doç. Dr. M. BURAK AKSU

İSTANBUL-2016

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi : Yüksek Lisans

Anabilim Dalı : Tıbbi Mikrobiyoloji

Tez Sahibi : Hülya DOĞAN

Tez Başlığı : N-Asetilsisteinin Klinik Acinetobacter Baumannii ve Klebsiella Pneumoniae İzolatlarında Karbapenem Direncine Etkisi

Sınav Yeri : Tıbbi Mikrobiyoloji

Sınav Tarihi : 19.12.2016

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

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	**Kurumu**	**İmza**
Yrd. Doç. Dr. M. Burak AKSU	M.Ü.Tıp Fak.	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)		
Prof. Dr. M. Ufuk HASDEMİR	M.Ü.Tıp Fak.	
Yrd. Doç.Dr. Onur KARATUNA	Acıbadem Üni. Tıp Fak.	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 23/12/2016 tarih ve 53 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Göksel ŞENER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

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

BEYAN

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

Hülya DOĞAN

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca; engin bilgi ve tecrübeleri ile yolumu aydınlatan, tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında ve yürütülmesinde ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, insani ve ahlaki değerleri ile örnek edindiğim değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. M. Burak AKSU'ya,

Başta bilimsel fikir ve düşünceleri olmak üzere her konuda desteğini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Güner SÖYLETİR, Prof. Dr. M. Ufuk HASDEMİR, Prof. Dr. Nurver TOPRAK ÜLGER, Prof. Dr. Nilgün ÇERİKÇİOĞLU, Prof. Dr. Ayşegül KARAHASAN, Doç. Dr. Arzu İLKİ'ye,

Tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen Ar. Gör. Dr. Gülşen ALTINKANAT GELMEZ'e,

Birlikte çalışmaktan sonsuz mutluluk duyduğum sevgili arkadaşlarım Öncü AKGÜL, Nazlı GENÇ ve Pelin TAŞKIN'a,

Birlikte eğitim aldığımız doktora, yüksek lisans, asistan arkadaşlarıma ve anabilim dalımızın tüm çalışanlarına,

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan annem, babam ve kardeşim Çetin'e,

Sonsuz teşekkür ederim.

Hülya DOĞAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR VE SİMGELER	v
ŞEKİL, RESİM VE TABLO LİSTESİ	vi
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. *Acinetobacter* Cinsi Bakteriler ve Genel Özellikleri	5
2.1.1. Tarihçe ve taksonomi	5
2.2. *Acinetobacter baumannii*	7
2.2.1. *Acinetobacter baumannii* mikrobiyolojik özellikleri ve laboratuvar tanısı	7
2.2.2. *Acinetobacter baumannii*'de patogenez ve virülans faktörleri	8
2.2.3. *Acinetobacter baumannii*'nin neden olduğu enfeksiyonlar	9
2.2.4. *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının epidemiyolojisi	11
2.2.5. *Acinetobacter baumannii*'de antibiyotik duyarlılığı ve direnç mekanizmaları	13
2.3. *Klebsiella* Cinsi Bakteriler ve Genel Özelllikleri	14
2.3.1. Tarihçe ve taksonomi	14
2.4. *Klebsiella pneuminoae*	15
2.4.1. *Klebsiella pneumoniae* mikrobiyolojik özellikleri ve laboratuvar tanısı	15
2.4.2. *Klebsiella pneumoniae*'de patogenez ve virülans faktörleri	17
2.4.3. *Klebsiella pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonlar	18
2.4.4. *Klebsiella pneumoniae* enfeksiyonlarının epidemiyolojisi	18

2.4.5. *Klebsiella pneumoniae*'de antibiyotik duyarlılığı ve direnç mekanizmaları 19
2.5. Karbapenem grubu antibiyotikler 20
2.5.1. İmipenem 21
2.5.2. Meropenem 23
2.6. Karbapenem direncine neden olan mekanizmalar 24
2.7. N-Asetilsistein 27
2.7.1. N-Asetilsistein etki mekanizması 28
2.7.2. N-Asetilsisteinin tedavide kullanımı 29
3. GEREÇ VE YÖNTEM 29
3.1. Gereçler 31
3.1.1. Besiyerleri 31
3.1.2. Antibiyotik Tozları 31
3.1.3. Kimyasal Maddeler 32
3.1.4. Hazırlanan Besiyerleri ve Solüsyonlar 32
3.2. Araçlar ve Aygıtlar 32
3.3. Yöntem 33
3.3.1. Bakteri izolatlarının seçimi 33
3.3.2. Standart Kökenler 33
3.3.3. Bakteri izolatlarının tanımlanması 34
3.3.4. Meropenem ve imipenem MİK düzeylerinin belirlenmesi 34
3.3.4.1. Antibiyotik ilaçlar 35
3.3.4.2. Antibiyotik tozlarının tartılması 35
3.3.4.3. N-Asetilsisteinin tartılması 36
3.3.4.4. Antibiyotik stok çözeltilerinin hazırlanması 36
3.3.4.5. Duyarlılık testlerinde kullanılacak besiyerinin hazırlanması 36

3.3.4.6. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi 37
3.3.4.6.1.Mikrodilüsyon testleri için inokülumun hazırlanması ve mikroplaklara bakteri inokülasyonu 37
4. BULGULAR 40
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 53
6. KAYNAKLAR 58
7. EKLER 71
7.1. EK-1 : Etik Kurul Onayı 71
7.2. EK-2 : Tez Başlığı Değiştirme Formu 72
7.3. EK-3 : Bildiri Özetleri 73
8. ÖZGEÇMİŞ 74

KISALTMA VE SİMGELER

- ATCC: American Type Culture Collection
- CDC: Centers for Disease Control and Prevention
- CFU: Colony-forming unit
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
- EMB: Eosin Methylene Blue
- EPIC: Europen Prevalence of Infection in Intensive Care
- ESBL: Geniş spektrumlu beta laktamaz
- EUCAST: European Commitee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- KMHB: Katyonu Ayarlı Müller Hinton Svı Besiyeri
- MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon
- NAC: N-asetilsistein
- NNIS: National Nosocomial Infection Survillance Control
- NPRS: National Prevalence Resistance Study
- OMP: Outer membran protein
- PBP: Penisilin bağlayan protein
- VİP: Ventilatör ilişkili pnömoni
- XLD: Ksiloz Lizin Deoksikolat
- YBÜ: Yoğun bakım ünitesi

ŞEKİL, RESİM VE TABLO LİSTESİ

Şekil 1. Karbapenem grubu antibiyotiklerin ortak kimyasal yapısı

Şekil 2. İmipenem kimyasal yapısı

Şekil 3. Meropenem kimyasal yapısı

Şekil 4. *K. pneumoniae* izolatlarının izole edildiği örnek türlerine göre dağılımı

Şekil 5. *A. baumannii* izolatlarının izole edildiği örnek türlerine göre dağılımı

Şekil 6. *A. baumannii* izolatlarının meropenem MİK düzeyi artışına göre dağılımı ve oranları

Şekil 7. *A. baumannii* izolatlarının imipenem MİK düzeyi artışına göre dağılımı ve oranları

Şekil 8. *A. baumannii* izolatlarının meropenem ve imipenem MİK değerlerinde görülen artışa göre dağılımı

Şekil 9. *A. baumannii* izolatlarının meropenem ve imipenem MİK düzeylerindeki artışa göre dağılımı

Şekil 10. *K. pneumoniae* izolatlarının meropenem MİK düzeyi artışına göre dağılımı ve oranları

Şekil 11. *K. pneumoniae* izolatlarının imipenem MİK düzeyi artışına göre dağılımı ve oranları

Şekil 12. *K. pneumoniae* izolatlarının meropenem ve imipenem MİK değerlerinde görülen artışa göre dağılımı

Şekil 13. *K. pneumoniae* izolatlarının meropenem ve imipenem MİK düzeylerindeki artışa göre dağılımı

Tablo 1. *Acinetobacter* cinsinin taksonomisi

Tablo 2. Klinik örneklerden en sık izole edilen *Acinetobacter* türlerinin ayrımında kullanılan temel parametreler

Tablo 3. *Klebsiella* cinsinin taksonomisi

Tablo 4. Klinik örneklerden en sık izole edilen *Klebsiella* türlerinin ayrımında kullanılan temel parametreler

Tablo 5. *Acinetobacter spp.* ve *K. pneumoniae* kökenlerinin antibiyogram değerlendirmesinde kullanılan EUCAST MİK eşik değerleri

Tablo 6. *A. baumannii*'de Meropenem Minimal İnhibisyon Konsantrasyon Değerleri

Tablo 7. *A. baumannii*'de İmipenem Minimal İnhibisyon Konsantrasyon Değerleri

Tablo 8. *K. pneumoniae'*de Meropenem Minimal İnhibisyon Konsantrasyon Değerleri

Tablo 9. *K. pneumoniae'*de İmipenem Minimal İnhibisyon Konsantrasyon Değerleri

ÖZET

Öğrencinin Adı: Hülya DOĞAN

Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. M. Burak AKSU

Anabilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

N-Asetilsisteinin klinik *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenem direncine etkisi

Amaç: Karbapenemler, *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* kaynaklı pnömoni gibi ciddi enfeksiyonlara sahip yoğun bakım ünitesi hastalarının tedavisinde kullanılan geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. N-asetilsistein YBÜ hastalarında mukoid sekresyonların oluşumunu önlemek için sıklıkla kullanılan mukolitik aktiviteye sahip bir bileşiktir. Çalışmada klinik *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* izolatlarında; N-asetilsisteinin karbapenem minimal inhibitör konsantrasyonu üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Rutin antibiyogram sonucuna göre karbapenem duyarlı olarak saptanan 14 *A. baumannii* ve 40 *K. pneumoniae* izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. İzolatlarda meropenemin ve imipenemin tek başına ve NAC ile kombinasyonu halinde MİK düzeyleri sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. Rutin alt solunum yolu enfeksiyonu tedavisinde uygulanan NAC konsantrasyonu (10 mM) kullanılmıştır.

Bulgular: İmipenem MİK değerleri, *K. pneumoniae*'de 0.25-1 mg/L, *A. baumannii'de* 0.03-1 mg/L; imipenem ve NAC kombinasyonu için saptanan MİK değerleri, *K. pneumoniae*'de 16-128 mg/L, *A. baumannii'*de 2-8 mg/L aralığında saptanmıştır. Meropenem MİK değerleri, *K. pneumoniae*'da 0.015-0.06 mg/L, *A. baumannii'*de 0.06-1 mg/L; meropenem ve NAC kombinasyonu için saptanan MİK değerleri, *K. pneumoniae*'da 0.06-1 mg/L; *A. baumannii'*de 0.5-32 mg/L aralığında saptanmıştır. Bununla birlikte, üç *A. baumannii* ve bir *K. pneumoniae* izolatının MİK değerinde değişiklik saptanmamıştır.

Sonuç: Klinik *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* izolatlarında meropenem ve imipenem MİK değerleri N-asetilsistein varlığında belirgin şekilde yükselmektedir. Bu duruma neden olan mekanizma yeni araştırmalara konu oluşturabilir.

Anahtar Sözcükler: *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae,* N-asetilsistein, İmipenem, Meropenem

SUMMARY

Effect of N-acetylcysteine on Carbapenem Resistance in clinical *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* isolates

Aim: Carbapenems are widely used broad spectrum antibiotics in intensive care units (ICU) to treat patients with serious infections such as pneumonia caused by *K. pneumoniae* and *A. baumannii*. N-acetylcysteine (NAC) is a compound with mucolytic activity and is frequently used in ICU patients to prevent formation of mucoid respiratory secretions. In this study we aimed to investigate whether there is a modulating effect of NAC on carbapenem MICs in clinical *K. pneumoniae* and *A. baumannii* isolates.

Material/methods: The study included 40 *K. pneumoniae* and 14 *A. baumannii* clinical isolates which were susceptible to imipenem and meropenem in routine antibiotic susceptibility testing. Imipenem and meropenem MICs of the isolates were determined in the presence and absence of NAC by broth microdilution method. Final concentration of NAC was used as 10 mM.

Results: Imipenem MIC ranges were 0.25-1 mg/L in *K. pneumoniae* and 0.03-1 mg/L in *A. baumannii* isolates. MIC ranges for imipenem plus NAC were 16-128 mg/L in *K. pneumoniae* and 2-8 mg/L in *A. baumannii.* Meropenem MIC ranges were 0.015-0.06 mg/L in *K. pneumoniae* and 0.06-1 mg/L in *A. baumannii* isolates. MIC ranges for meropenem plus NAC were 0.06-1 mg/L in *K. pneumoniae* and 0.5-32 mg/L in *A. baumannii.* However, three *A. baumannii* isolates and one *K. pneumoniae* isolate did not exhibit demonstrate any change in MIC values.

Conclusions: Presence of NAC in broth microdilution testing caused significant increases in both carbapenem MICs in most of the clinical isolates of *K. pneumoniae* and *A. baumannii*. Mechanism underlying this phenomenon will be attractive subject for new studies.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae,* N-acetylcistein, Imipenem, Meropenem

1. GİRİŞ

Sağlık hizmetleri ile ilişkili enfeksiyonlar arasında ventilatörle ilişkili olanlar dahil pnömoniler ikinci sıklıkta görülmektedir. *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* bu enfeksiyonlardan en sık izole edilen beş patojen arasındadır.

A. baumannii özellikle yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören ve immün sistemi baskılanmış hastalarda kolonize olarak ciddi enfeksiyonlara ve ölümlere yol açan fırsatçı bir patojendir (Berrgogne Berezin ve Towner, 1996; Başustaoğlu ve Özyurt, 1998). Bu patojen genellikle ventilatör ilişkili pnömoni, üriner sistem enfeksiyonları, kateterle ilişkili enfeksiyonlar, kan dolaşımı enfeksiyonları ve menenjitlerden izole edilmektedir (Towner, 2009). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir sürveyans çalışmasında YBÜ'de kazanılmış pnömonilerin %5-10'undan *A. baumannii*'nin sorumlu olduğu belirtilmiştir (Seifert ve ark., 1995). *A. baumannii*'nin sebep olduğu nozokomiyal pnömonilerin sıklığı ülkeden ülkeye, bölgeden bölgeye değişirken (%27-50), bu pnömonilerde mortalite oranı %30-70 arasındadır (Bergogne Berezin, 2008).

YBÜ'de en sık izole edilen etkenlerden bir diğeri *K. pneumoniae*'dir. *K. pneumoniae*, sağlıklı bireylerin dışkılarında ve solunum yollarında % 5-10 oranında bulunurken, hastanede yatarak tedavi gören hastalarda kolonizasyon oranları artmaktadır. *K. pneumoniae* tipik olarak nozokomiyal enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bu bakterilerin hedefleri daha çok immün sistemi baskılanmış hastalardır. Hastanelerde sıklıkla cerrahi alanda, alt solunum yolu ve üriner sistemde fırsatçı patojen olarak enfeksiyona neden olmakta ve özellikle çoklu ilaç dirençli izolatlar sıklıkla saptanmaktadır (Erdem, 1999). Patojen yeni doğan yoğun bakım ünitelerinde de septisemi ve menenjitlere neden olabilmektedir. Bu salgınlarda da genellikle çoklu ilaç dirençli suşlar etken olduğundan, yeni doğanda *K. pneumoniae* enfeksiyonları büyük sorun haline gelmiştir. (Podscun ve Ullmann, 1998).

N-Asetilsistein, glikoprotein yıkıcı özelliği nedeniyle mukopürülan ve mukoid sekresyonlar üzerine litik olarak etkilidir. Bu sebeple; alt solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde mukolitik amaçla sıklıkla kullanılmakta olan bir ilaçtır. Yapılan çalışmalarda, N-Asetilsisteinin kinolonlar, aminoglikozidler ve eritromisin gibi çeşitli antibiyotikler üzerinde antagonist etki gösterdiği saptanmıştır.

Araştırmamızda, çeşitli kliniklerden gelen farklı hasta örneklerinden etken olarak izole edilen ve rutin antibiyotik duyarlılık testleriyle karbepenem grubu antibiyotiklere karşı duyarlılık profili belirlenmiş olan *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* izolatlarında; N-asetilsisteinin karbapenem grubu antibiyotiklerin minimal inhibitör konsantrasyonları üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Acinetobacter* Cinsi Bakteriler ve Genel Özellikleri

2.1.1. Tarihçe ve taksonomi

Acinetobacter kelimesi; Yunanca hareketsiz anlamına gelen 'akinetos' kelimesinden köken almaktadır. 1954 yılında Brisou ve Prevot, *Achromobacter* cinsindeki hareketsiz mikroorganizmalar ile hareketli mikroorganizmaları birbirlerinden ayırmak için *Acinetobacter* ismini cins ismi olarak önermiş, öneri 1968 yılında Baumann ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan sonra kabul görmüştür (Peleg ve ark., 2008).

Acinetobacter cinsi bakteriler sıklıkla hastane ortamı florasında bulunurlar. İnsanda derinin bakteriyel florasında, özellikle nemli bölgelerde bulunurken, oral kavite ve solunum yolundan da izole edilebilirler (Munoz Price ve Weinstein, 2008).

Acinetobacter cinsinin üyeleri olarak tanımlanan bakteriler ilk kez 1911 yılında Beijerinck tarafından topraktan izole edilip, *Micrococcus calcoaceticus* olarak isimlendirilerek günümüze kadar farklı isimlerle anılmıştır. 1939 yılında Debord isimli araştırıcı tarafından üretral akıntıdan gram negatif kokobasillerin izole edilmesi ile tanımlanmıştır (DeBord, 1939).

Bunlar içinde en iyi bilinenleri *Achromobacter, Moraxella glucidolytica, Alcaligenes, Micrococcus calcoaceticus* ve *Moraxella lwoffii*'dir (Holt ve ark., 1994) (Tablo 1).

Tablo 1. *Acinetobacter* cinsinin taksonomisi

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

Fenotipik testler ve DNA hibridizasyonu sonucunda ortaya çıkan *Acinetobacter* türleri:

Acinetobacter calcoaceticus (*Acinetobacter* gen. sp.1),

Acinetobacter baumannii (*Acinetobacter* gen. sp.2*),*

Acinetobacter haemolyticus (*Acinetobacter* gen. sp.4),

Acinetobacter junii (*Acinetobacter* gen. sp.5),

Acinetobacter johnsonii (*Acinetobacter* gen. sp.7),

Acinetobacter lwoffii (*Acinetobacter* gen. sp.8),

Acinetobacter berezinae (Acinetobacter gen. sp. 10*),*

Acinetobacter guillouiae (Acinetobacter gen. sp. 11),

Acinetobacter pittii (Acinetobacter gen. sp 3),

Acinetobacter nosocomialis (Acinetobacter gen. sp 13TU).

Acinetobacter türlerinden; *Acinetobacter calcoaceticus, Acinetobacter baumannii, Acinetobacter pittii* ve *Acinetobacter nosocomialis'*in genetik benzerlikleri ve fenotipik testlerle tür düzeyinde ayrımı zor olduğu için bu türler *A. calcoaceticus-A. baumannii* kompleks olarak isimlendirilmiştir (Gerner Smidt ve ark., 1991).

2.2. *Acinetobacter baumannii*

2.2.1. *Acinetobacter baumannii'*nin mikrobiyolojik özellikleri ve laboratuvar tanısı

Bakteri, üremenin logaritmik fazında kısa, iri, gram negatif boyanan, 1,0–1,5 μm uzunluğunda basil; üremenin duraklama fazında ise kokobasil ya da kok şeklinde görülmektedir. Opak, düzgün, bazen mukoid, S tipi koloniler oluşturur. Zorunlu aerop, katalaz pozitif, Deoksiribonükleaz ve oksidaz negatif, nonfermantatif, hareketsiz bakterilerdir. *Acinetobacter* cinsi bakteriler arasında en çok rastlanan ve en önemli klinik tablolara yol açan etken *A. baumannii*'dir (Speller ve Humphrey, 1998).

Acinetobacter cinsi bakteriler koyun kanlı agar, nutrient agar ve triptik soy agar gibi genel besiyerlerinde 35-37°C'de üreyen mikroorganizmalardır. MacConkey agarda pembe renkte veya renksiz, EMB agarda mor renkte koloniler oluştururlar (Peleg ve ark., 2008).

Acinetobacter cinsi bakterilerin tür düzeyinde sınıflandırılmasında referans yöntem DNA-DNA hibridizasyon yöntemidir. Tür düzeyinde tanımlanmasını sağlayacak çok sayıda moleküler yöntem geliştirilmiştir (Peleg ve ark., 2008).

Sıklıkla izole edilen klinik *Acinetobacter* suşlarının tür ayrımı yapılırken rutin laboratuvar koşullarında çeşitli biyokimyasal reaksiyonlar ve üreme özellikleri dikkate alınmaktadır. Hemoliz yapmayan ve glikozu oksitleyen izolatlar genellikle *A. baumannii*'dir. *A. baumannii* 44℃'de üreyebilme yeteneğiyle diğer türlerden ayırt edilmektedir. Glukozu oksitleyemeyen, hemoliz yapmayan suşlar *Acinetobacter lwoffii*; hemoliz yapan suşlar *Acinetobacter haemolyticus* olarak adlandırılır (Schreckenberger ve Graevenitz, 1999) (Tablo 2).

Tablo 2. Klinik örneklerden en sık izole edilen *Acinetobacter* türlerinin ayrımında kullanılan temel parametreler

***Acinetobacter* Türü**	**Laktoz**	**Glukoz**	**44 ºC'de üreme**	**Hemoliz**
A. baumannii	-	+	+	-
A. lwoffii	-	-	-	-
A. calcoaceticus	+	+	-	-
A. haemolyticus	-	D	-	+

(+) Pozitif ; (-) Negatif ; (D) Değişken

2.2.2. *Acinetobacter baumannii*' de patogenez ve virülans faktörleri

Acinetobacter baumannii fırsatçı bir patojen olup, nozokomiyal enfeksiyonlara neden olmaktadır. Sağlıklı hasta gruplarında bakterinin patojenitesi düşüktür. Enfeksiyon gelişirse genellikle ciddi seyretmektedir (Peleg ve ark., 2008).

Acinetobacter türlerinin insanda yaygın olarak yaptığı enfeksiyonlar arasında; intrakraniyel enfeksiyonlar, genitoüriner sistem enfeksiyonları, solunum sistemi enfeksiyonları, yumuşak doku enfeksiyonları yer alır. *Acinetobacter* türleri mekanik ventilasyon gereken YBÜ hastalarında VİP'e de neden olmaktadır. Ventilatör bağımlı hastaların kontrolünde büyük ilerlemelere ve solunum ekipmanlarının dezenfeksiyonunda etkili yöntemlerin kullanımına rağmen bu patojene bağlı enfeksiyon insidansında artış görülmektedir (Bahar ve Esen, 2008).

*A. baumannii'*nin hücre duvarında L-ramnoz, D-glukronik asit, D-glikoz ve D-mannozdan oluşan polisakkarit yapıda bir kapsül bulunmaktadır. Hücre duvar yapısı diğer gram negatif bakterilerin duvar yapısı ile benzerlik göstermektedir. Kapsül bakterinin fagositozdan korunmasında rol oynamakta ve bakterinin virülansına katkıda bulunmaktadır (Winn ve ark., 2006).

A. baumannii biyofilm oluşturma yeteneği ile kolaylıkla direnç geliştirmektedir. Kuru ve ıslak yüzeylerde uzun süre canlı kalabilmektedir (Getchell White ve ark., 1989).

Çeşitli faktörlerin *A. baumannii'*nin virülans potansiyeline katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Özellikle dış membran proteinlerinin bir üyesi olan OmpA'nın, hastalık oluşturma potansiyeline önemli katkısı olduğu saptanmıştır. (Choi ve ark., 2005).

Bakteri yüzeyinde en fazla bulunan yüzey proteini olan OmpA, komplemana karşı dirençte ve biyofilm oluşmasında da rol oynamaktadır. Bunlar bakterinin stres altında hayatta kalma stratejileri ve virülansla ilişkili faktörler olup, konağın içinde ve dışında bakterinin canlı kalmasına yardımcı olmaktadır. *A. baumannii'* nin YBÜ'lerde kullanılan ekipmanlar gibi cansız yüzeylerde ayrıca epitel hücreleri gibi canlı yüzeylerde biyofilm oluşturabildiği gösterilmiştir. Biyofilm oluşturma yeteneği olumsuz koşullarda çoğalmasına olanak sağlamaktadır. Biyofilm oluşumunu kontrol eden en yaygın faktörler; ortamdaki besin maddeleri, pili, dış membran proteinleri ve makro moleküler salgılardır. *A. baumannii* bir yüzeye tutunduktan sonra, pili ve biyofilm ilişkili protein sentezi biyofilm üretiminin başlamasına katkıda bulunmaktadır. Biyofilm aracılı protein; bakteri hücresinin yüzeyinde yar alır. Canlı ve cansız yüzeylerde olgunlaşmış biyofilmi sabitleyerek; biyofilmin gelişmesine ve olgunlaşmasına katılmaktadır. *A. baumannii'*nin virülansında rol alan diğer önemli proteinler, fosfolipaz D ve C'dir. Fosfolipaz D insan serum direncinde önemli rol oynarken, fosfolipaz C'nin epitel hücreleri üzerine toksik etkisi vardır (Howard ve ark., 2012).

2.2.3. *Acinetobacter baumannii'*nin neden olduğu enfeksiyonlar

Acinetobacter cinsi bakteriler arasında en önemli ve klinik tablolara en sık neden olan etken patojen tür *A. baumannii'*dir. *A. baumannii'*nin neden olduğu

enfeksiyonlar çoğunlukla yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören hastalarda saptanmaktadır. Özellikle ventilatör desteği alan hastalar yüksek risk altındadır (Hartzel ve ark., 2007).

A. baumannii için en önemli kolonizasyon bölgesi ve neden olduğu enfeksiyonlarının en sık yerleşim yeri solunum yollarıdır (Hartzel ve ark., 2007). Toplum kaynaklı *A. baumannii* pnömonileri daha çok tropikal iklime sahip ülkelerde, sigara kullanımı, diyabet, böbrek yetmezliği gibi altta yatan hastalığı olanlarda görülmektedir (Allen ve Hartman, 2010).

Çoklu ila. direnci gösteren *A. baumannii* suşları, üriner sistem ve yara yeri enfeksiyonları, sepsis, ventilatörle ilişkili pnömoni, menenjit ve endokardit gibi çok farklı enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Çamkıran ve ark. 2011).

YBÜ'lerde *A. baumannii'*nin etken olduğu hastane kökenli akciğer enfeksiyonu salgınları tanımlanmaktadır ve VİP nedenleri arasında *A. baumannii'*nin sıklığı giderek artmaktadır (Forgia ve ark., 2010).

VİP, *A. baumannii*'nin en sık neden olduğu enfeksiyon tablosudur. Son on yılda sıklığı giderek artmaktadır. Kapsamlı sürveyans çalışmalarında VİP etkenlerinin %5-10'unu *A. baumannii*'nin oluşturduğu belirtilmektedir (Sechi ve ark., 2004). Ülkemizde yapılan çok merkezli bir çalışmada, VİP'lerin %29,2'sinin *Acinetobacter* türleri ile meydana geldiği belirlenmiştir (Leblebicioglu ve ark., 2007). Yine ülkemizden diğer bir çalışmada ise *A. baumannii,* hastane kökenli pnömoni etkenleri arasında ilk sırada (%24) yer almıştır ve olguların önemli bir kısmının VİP olduğu dikkati çekmiştir (Akalın ve ark., 1999).

Amerika Birleşik Devletleri'nde 1995-2002 yılları arasında nozokomiyal bakteriyemilerle ilgili yapılan bir çalışmada, *A. baumannii* en sık izole edilen onuncu etken olarak belirlenmiştir (Peleg ve ark., 2008).

A. baumannii enfeksiyonlarının gelişmesine veya bakterinin bulaşmasına; hastanın altta yatan bir hastalığının olması veya immün sisteminin baskılanması, cerrahi operasyon geçirmiş olması, solunum yetmezliği ve organ yetmezliği gibi çeşitli risk faktörleri sebep olmaktadır. YBÜ'de kalmış olmak, hastanede ya da YBÜ'de kalış süresinin uzunluğu, enfeksiyon kontrol önlemlerinin yetersiz olması, *A. baumannii'*nin endemik olarak hastanede bulunması ve kontamine tıbbi

ekipmanlara maruz kalmak bakteri bulaşını arttıran diğer risk faktörleridir. Daha önce uygulanan antimikrobiyal tedavi varlığı da risk faktörleri arasındadır (García-Garmendia ve ark., 2001).

2.2.4. *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının epidemiyolojisi

Acinetobacter cinsi bakteriler, hastane ortamlarında ve doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Cansız yüzeylerde, nemli veya kuru ortamda günlerce yaşayabilir; sağlıklı insanların cildinde ve gıdalarda uzun süre canlı kalabilirler. Diğer mikroorganizmalara kıyasla, kuruluğa dayanıklıdırlar. Farklı ısı ve pH değerlerine dayanıklı olduklarından cansız yüzeylerde uzun süre canlı kalabilmektedirler. Hastanelerde yatak örtüleri, kapı kolları, giysiler, ventilatörler, lavabolar gibi çevresel yüzeylerde aylarca canlı kalabilirler (Seifert ve ark., 1997; Karagöl, 2008).

Bakteri, donmuş yiyeceklerden, pastörize sütten, buhar makinelerinden, musluk suyundan, peritoneal diyaliz sıvısından, havlulardan, anjiyografi kateterlerinden, laringoskoplardan, kontamine eldivenlerden, duodenoskoplardan, sabunlardan izole edilmiştir (Villages ve Harstein, 2003).

Hastane kaynaklı *Acinetobacter* enfeksiyonları için risk oluşturabilecek faktörler; hastanede kalış süresinin uzaması, cerrahi girişim, yara varlığı, önceki enfeksiyon, geniş spektrumlu antibiyotikle tedavi, santral, intravenöz, üriner kateter varlığı, yanık veya yoğun bakım ünitesinde kalma, parenteral beslenme ve mekanik ventilasyondur (Lortholary ve ark., 1995).

1997 yılında Seifert ve ark., deri ve mukozal membranlarda *Acinetobacter* spp. taşıyıcılığının kontrol grubunda (%42,5) ve hastalarda (%75) oldukça yüksek oranlarda olduğunu bildirmiştir. Çalışmada örnekleme, vücudun dokuz farklı bölgesinden yapılmış; kasıkta %25, ellerde %26, ayak parmak arasında %24, alında %23 ve kulakta %21 oranında *Acinetobacter* spp. izole edilmiştir. İzole edilen türler %47 *A. lwoffii*, %21 *A. johnsonii*, %12 *A. radioresistens* ve %11 *A.* gen. sp. 3

olarak bulunmuştur. Klinik olarak önemli olan türler, *A. baumannii* (%0,5) ve *A. nosocomialis'*in (%1) nadiren kolonizasyon yaptıkları bildirilmiştir (Berlau ve ark., 1999).

1999 yılında Hong Kong'ta yapılan bir çalışmada, Chu ve ark., deri ve mukoza yüzeyi taşıyıcılığının Avrupa'dan farklı olarak, %32 *A. pittii*, %14 *A. nosocomialis* ve %4 *A. baumannii* ile geliştiğini bildirmiştir. Ayrıca, *Acinetobacter* spp. taşıyıcılığının mevsimlere göre değiştiği ve yaz mevsiminde taşıyıcılığın anlamlı bir şekilde arttığı belirtilmiştir (Chu Y ve ark., 1999).

Avrupa'da yapılan bir prevalans çalışmasında (EPIC) YBÜ'lerde görülen enfeksiyon etkenleri arasında *A. baumannii*'nin, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'dan sonra en yaygın saptanan üçüncü patojen olduğu belirlenmiştir (Spencer, 1996).

Aynı çalışma "EPIC II" adıyla 2007 yılında beş kıtada, yetmiş beş ülkede tekrar edilmiş ve sonuçta *Acinetobacter baumannii*'nin en yaygın beşinci patojen olduğu görülmüştür (Vincent ve ark., 2009).

Amerika Birleşik Devletleri'nde NNIS verilerine göre, YBÜ'lerde *Acinetobacter* cinsi bakterilere bağlı pnömoni sıklığı, 1986 yılında %4 iken, 2003 yılında %7 olarak bulunmuştur. 2003 yılında YBÜ'lerde; bakteriyemilerin %2,4'ü, hastane kökenli pnömonilerin %6,9'u, cerrahi alan enfeksiyonlarının %2,1'i ve üriner sistem enfeksiyonlarının %1,6'sında etken olarak *Acinetobacter* türleri saptanmıştır (Gaynes ve Edwards, 2005).

Ülkemizde, 2001 yılında 22 merkezin katılımıyla yapılan nokta prevalans çalışmasında, yoğun bakım ünitelerinde gelişen enfeksiyonların %18,2'sinin *Acinetobacter* türleri ile geliştiği saptanmıştır (Esen ve Leblebicioglu, 2004).

2.2.5.*Acinetobacter baumannii*'de antibiyotik duyarlılığı ve direnç mekanizmaları

Acinetobacter baumannii izolatlarının büyük bir kısmı kinolonlar, aminopenisilinler, aminoglikozidler, geniş spektrumlu sefalosporinler, kloramfenikol ve tetrasiklinler gibi sık kullanılan antibakteriyel ajanlara oldukça dirençlidir. Yakın geçmişte ortaya çıkan çoklu ilaç direnci ile birlikte *Acinetobacter* enfeksiyonların tedavisinde karbapenemlerin kullanımı artmıştır (Goic Barisic ve Tonkic, 2009). Ancak, son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda *Acinetobacter* türlerinde karbapenem direncinin yavaş yavaş yayılmaya başladığı bildirilmektedir (Gür ve ark., 2009).

*A. baumannii'*de 33-36 kDa'lık OMP'nin karbapenem direnci ile ilişkili olduğu saptanmış ve 2005 yılında klonlanarak dizi analizi yapılmıştır (Del Mar Tomás ve ark., 2005). *A. baumanni'*nin karbapenem direnci ile ilişkili olduğu bilinen 43-kDa'luk D2 porin homoloğu olan OprD'ye sahip olduğu gösterilmiştir (Dupont ve ark., 2005). Elde edilen verilerle diğer gram negatif bakterilerdeki OMP'nin amino asit dizisinin ve içeriğinin, *A. baumanniii'*deki ile benzer olduğu gösterilmiştir. Bunun nedeni, *A. baumannii'*de diğer gram negatif bakterilerde olduğu gibi OMP'nin negatif yüklü olması, yüksek glisin içeriği, sistein rezidüleri taşımaması, 33-36 kDa'lık OMP fonksiyonel protein analizleri ile gösterilen transmembran, membran ve hücre yüzey peptidlerinin benzerliğidir (Del Mar Tomás ve ark., 2005).

İmipenem ve meropenem direnci 25-29 kDa'luk CarO adı verilen ve ısıyla değişebilen OMP kaybı ile de ilişkilendirilmiştir (Siroy ve ark., 2005).

*A. baumannii'*nin beta-laktam antibiyotiklere karşı direncinden sorumlu olan en önemli mekanizma plazmid veya kromozom kontrolünde beta-laktamaz enzimlerinin üretilmesidir. *A. baumannii'*nin beta-laktam direncinde rolü olan diğer mekanizmalar ise; PBPlerdeki değişiklikler ve antibiyotiğe özgü dış membran porinlerinin kaybıdır (Perez ve ark., 2007).

*A. baumannii'*nin aminoglikozid modifiye eden enzim üretebilmesi aminoglikozid direncinde önemli rol oynamaktadır. Bunlar arasında

nükleotidiltransferazlar, asetiltransferazlar ve fosfotransferazlar yer almaktadır. Bu enzimleri kodlayan genler bakteriler arasında plazmid ve transpozonlar aracılığıyla yayılmaktadırlar (Peleg ve ark., 2008; Perez ve ark., 2007).

*A. baumannii'*nin kinolonlara özgü direncinde, DNA giraz enziminde değişikliğe yol açan mutasyonlar önemli yere sahiptir. (Peleg ve ark., 2008; Perez ve ark., 2007).

*A. baumannii'*nin kloramfenikole özgü direncinde, ilacın modifikasyonuna yol açan enzimlerin üretimi ve ilaca özgü CmIA aktif transport proteini ile ilacın hücre dışına pompalanması sorumludur. (Perez ve ark., 2007).

*A. baumannii'*nin çoklu ilaç direncinde ise AdeABC isimli bir pompa sisteminin önemli rolü olduğu üzerinde durulmaktadır (Vila ve ark., 2007).

2.3. *Klebsiella* Cinsi Bakteriler ve Genel Özellikleri

2.3.1. Tarihçe ve taksonomi

Klebsiella cinsi bakteriler ismini, 19. yy'ın sonlarında yaşamış Alman mikrobiyolog Edwin Klebs'ten almıştır. *K. pneumoniae*'nin yaptığı ağır pnömoni tablosunu ayrıntılı bir biçimde tanımlayan araştırmacı Carl Friedländer'e ithafen *K. pneumoniae* yıllarca "Friedländer basili" olarak adlandırılmıştır (Akman, 2008). *Klebsiella* cinsinin taksonomik özellikleri Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. *Klebsiella* cinsinin taksonomisi (Gouby ve ark., 1994).

Alem	Bacteria
Şube	Proteobacteria
Sınıf	Gamma Proteobacteria
Takım	Enterobacteriales
Familya	Enterobacteriaceae
Cins	*Klebsiella*

Cins içinde 7 tür bulunur: *Klebsiella pneumoniae, K. granulomatis, K. pneumoniae subsp. ozaenae, K. pneumoniae subsp. rhinoscleromatis, K. oxytoca, K. variicola, K. singaporensis* (Gouby ve ark., 1994).

En sık izole edilen türleri, sıklıkla toplum ve hastane kaynaklı lober pnömoniye neden olan *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*'dır (Murray ve ark., 2010).

2.4. *Klebsiella pneumoniae*

2.4.1. *Klebsiella pneumonia*'nin mikrobiyolojik özellikleri ve laboratuvar tanısı

Bakteri; kısa, uçları yuvarlak, hareketsiz, sporsuz, 1-2 µm boyunda ve 0,5-0,8 µm çapında basil şeklindedir. Fakültatif anaerop ve aerop özellik gösterebilen, pH 7 ve 37°C'de iyi üreyebilen, polisakkarit yapıda kapsüle sahip gram negatif bakterilerdir. Polisakkarit yapısında O (somatik) ve K (kapsül) antijenleri bulunur. Serolojik tiplendirme, K antijeni yapısının değişimlerine göre yapılmaktadır (Başustaoğlu, 2009). Nedeni K antijeni ile tiplendirmenin daha kolay olması ve K antijenlerinin O antijenlerinden daha fazla çeşitliliğe sahip olmasıdır. K antijenine göre 82 serotip belirlenmiştir (Bilgehan, 2000).

Klebsiella türleri kuruluğa dirençli, sıcaklığa ve nemli ısıya dayanıksızdır. Oda sıcaklığında haftalarca ve +4°C'de aylarca canlı kalabilmektedirler (Başustaoğlu, 2009).

Katı besiyerinde *Klebsiella* kolonileri büyük, sarımtırak gri renkte ve tipik mukoid kolonilerdir. Kapsülsüz suşlar S tipi koloniler oluştururlar. MacConkey agarda laktozu fermente ettiğinden pembe-kırmızı renkte, 3-4 mm çaplı ve mukoid koloniler oluştururlar (Forbes ve ark., 2002). Hekton agar'da sarı-turuncu renkte, XLD agar'da ise sarı renkte koloni oluştururlar (Bilgehan, 2009). Kanlı besiyerinde hemoliz yapmazlar. Kapsül oluşumu en iyi glikozlu besiyerlerinde gözlenir (Bilgehan, 2000).

Klebsiella cinsi bakterilerin tür ayrımı indol, metil red, Voges Proskauer, sitrat (IMVIC) testleri ve çeşitli biyokimyasal testlerle yapılabilmektedir. *Klebsiella* cinsi bakteriler üreaz ve lizin dekarboksilaz pozitiftir. Nişastayı 4 günde parçalayarak gaz açığa çıkarmaları ile diğer *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinden ayrılırlar. Kendi aralarında ise indol, ornitin dekarboksilaz, D-glukoz fermentasyon özellikleri incelenerek ayrılabilirler. Tek karbon kaynağı olarak sitratı kullanırlar. Deoksiribonükleaz enzim aktiviteleri yoktur (Başustaoğlu, 2009) (Tablo 4).

Glikoz, mannitol, salisin, adonitol, inozitol, sorbitolden, laktoz ve sukrozdan gaz açığa çıkararak şekeri parçalarlar. Nişastadan gaz oluştururlar. Hidrojen sülfür üretmezler (Bilgehan, 2000).

Tablo 4. Klinik örneklerden en sık izole edilen *Klebsiella* türlerinin ayrımında kullanılan temel parametreler

***Klebsiella* Türü**	**İndol**	**Hareket**	**Lizin**	**Arjinin**
K. pneumoniae	-	-	+	-
K. oxytoca	+	-	+	-

(+) Pozitif; (-) Negatif

2.4.2. *Klebsiella pneumoniae*'de patogenez ve virülans faktörleri

Klebsiella cinsi bakterilerde virülanstan sorumlu faktörler arasında serum direnci ve lipopolisakkarit, fimbria (Tip 1 pili, Tip 3 pili), kapsüler antijenler ve sideroforlar sayılabilir (Pekşen, 1993).

Klebsiella cinsi bakterilerin en önemli virülans faktörü, bakteri hücresini fagositozdan koruyan polisakkarit yapılı, geniş kapsül katmanıdır. Polisakkarit kapsül enfeksiyon bölgesine lökosit göçünü geciktirir. *Klebsiella* cinsi bakterilerde lipopolisakkaritlerde bulunan endotoksin ve kapsül dışında moleküler düzeyde bir virülans faktörü tanımlanmamıştır.

Klebsiella cinsinde diğer bir virülans faktörü de yapışmadan sorumlu yüzey adhezinleri ya da ligantları olan fimbrialardır. Oksijen, sıcaklık, pH, bakterinin içinde bulunduğu ortam ve benzeri çevre şartları fimbriaların oluşumunu etkilemektedir (Akan, 1992; Tunçkanat 1993). Tip 1 pili, bakterinin, ürogenital sisteme ve solunum sistemine kolonizasyonunda rol oynamaktadır. Bakterinin solunum sistemine adhezyonu, üst solunum yolunda kolonizasyon direncinin bozulmasına yol açmaktadır. Kolonizasyon direncinin bozulması özellikle uzun süreli mekanik ventilasyon yapılan hastalarda pnömoni gelişimi ile sonuçlanabilmektedir (Işık, 2007). Tip 1 pili piyelonefritlerin patogenezinde de rol alır. Tip 3 pili ise, diğer fimbrialardan farklı olarak sadece tanen ile muamele edilmiş olan eritrositleri aglütine ederler (Aydoğan ve Başustaoğlu, 2000). *K. pneumoniae* suşlarının solunum sistemi epiteline, endotelyal hücrelere ve üroepitelyal hücrelere yapışmasında rol almaktadır (Gouby ve ark., 1994).

2.4.3. *Klebsiella pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonlar

K. pneumoniae nadir de olsa normal kişilerin orofarinkslerinde bulunabilir. *K. pneumoniae* türü için tipik enfeksiyon tablosu lober pnömonidir. *K. pneumoniae* solunum yolları savunma sistemi bozuk olan diabetes mellitus, kronik tıkayıcı akciğer hastalığı olan kişilerde sıklıkla görüldüğünden, fırsatçı enfeksiyon etkeni olarak değerlendirilebilir. Bazı olgularda tablo bronkopnömoni veya bronşit şeklinde gelişir. Bu grup hastalarda mortalite de yüksektir. Pnömoni olgularında sıklıkla K1, K3, K4 ve K5 antijenine sahip suşlar izole edilmektedir (Koneman ve ark., 1997; Ustaçelebi ve ark., 1999).

K. pneumoniae gram negatif bakterilerin sebep olduğu bakteriyemilerde *Escherichia coli*'den sonra sıklık olarak ikinci sırada izole edilmektedir (Öngen, 2008).

2.4.4. *Klebsiella pneumoniae* enfeksiyonlarının epidemiyolojisi

Klebsiella cinsi bakteriler toprakta, suda, insan ve hayvanların bağırsaklarında ve üst solunum yollarında bulunmaktadır. Nozokomiyal ve fırsatçı enfeksiyonların ilk sırada gelen etkenleri arasındadırlar (Ustaçelebi ve ark., 1999). İnsanlarda genellikle prostatit, kolesistit, pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları, sinüzit, menenjit, peritonit yapmakta; daha az sıklıkta görülmekle birlikte sepsis, akciğer apsesi gibi birçok tabloya da neden olmaktadırlar (Bilgehan, 2000). Özellikle hastane ortamındaki dirençli kökenler epidemiyolojik önem taşımaktadır (Podschun ve Ullmann, 1998).

Klebsiella cinsi bakterilerin etken olduğu hastane enfeksiyonlarında en sık rastlanılan odak; üriner sistem, safra kesesi, alt solunum yolları, cerrahi insizyon yeri

ve diğer bölgelerdir. Yatan hastalarda bulunan üriner kateter, endotrakeal tüp, damar içi kateter gibi invaziv araçlar özellikle gram negatif basillerle oluşan hastane enfeksiyonlarına yatkınlığı arttırmaktadır (Ustaçelebi ve ark., 1999).

Klebsiella cinsi bakterilerin neden olduğu pnömoni üst solunum yolu sisteminde çoğalan bakterilerin alt solunum yoluna ulaşmasıyla oluşmaktadır. Hastalık akut şekilde başlar ve akciğerleri tahrip edici özelliğe sahiptir. Enfeksiyon ciddi seyirlidir; abse, kavite gelişimi ve plevraya uzanma ihtimali fazladır. Hastaların savunma sistemlerinin sorunlu ve zayıf olmaları sebebiyle mortalite yüksektir. Bakteri; sıklıkla hastanelerin yoğun bakım ve yenidoğan ünitelerinde salgınlara neden olmaktadır. Bu salgınlara sebep olarak; iyi yıkanmamış eller, kontamine olmuş aletler, intravenöz sıvılar gösterilebilir (Öngen, 2008).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde hastanede yatan hastalardaki taşıyıcılık oranları; dışkıda %77, ellerde %42 ve farinkste %19 oranında bulunmuştur. Nozokomiyal *Klebsiella* kolonizasyonunun daha çok antibiyotik kullanımına bağlı olduğu düşünülmektedir (Aydoğan ve Bağustaoğlu, 2000).

Ülkemizde 1994-1995 yıllarında YBÜ'lerde gerçekleştirilen 8 merkezli NPRS çalışmasında izole edilen 981 gram negatif bakterilerin dağılımı incelendiğinde ilk sırada *Pseudomonas* spp. (%30) ve ikinci sırada *Klebsiella* spp. (%25), *E. coli* (%18), *Enterobacter* spp. (%9) ve *Acinetobacter* spp. (%9) izlemiştir (Aydemir ve ark., 2006).

2.4.5. *Klebsiella pneumoniae'*de antibiyotik duyarlılığı ve direnç mekanizmaları

Hücre zarının geçirgenliğinin azalması özellikle gram negatif bakteriler için önem taşımaktadır. Gram negatif bakterilerin membranları gram pozitif bakterilerin membranlarına göre daha komplike bir yapıya sahiptir. Gram negatif bakterilerde, dış membranda bulunan OMP adı verilen porlar yolu ile beta-laktam antibiyotikler hücreye girmektedir. Beta-laktam antibiyotikler dış membrandan 2 kanal aracılığıyla

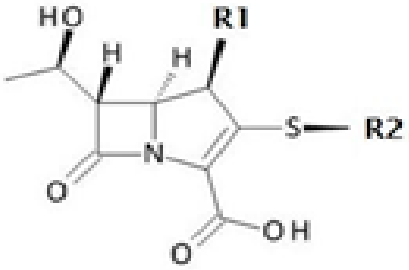
geçerler. Bu kanallar, porin C ve porin F kanallarıdır. İmipenem, dış membranda bulunan D2 proteini adı verilen özel bir porin aracılığıyla da hücreye geçmektedir. Porin F ve porin C proteinlerinin mutasyona uğraması durumunda bakteri tüm beta-laktamlara karşı direnç geliştirebilirken, imipeneme duyarlı kalmaktadır (Gouby ve ark., 1994).

Son yıllarda bildirilen olgularda karbapenemlerle tedavi sırasında dış membran proteinlerinde (OMP) meydana gelen nokta mutasyonlarının neden olduğu karbapenem direncinde de artış olduğu bildirilmektedir. *K. pneumoniae'*de OmpK35 ve OmpK36 porinlerinde meydana gelen mutasyonların karbapenem direncinde önemli rol oynadığı belirlenmiştir (Song W ve ark., 2009). Fernandez ve ark. yaptıkları çalışmada, SHV-12 ve CTX-M-15 pozitif *K. pneumoniae* kökeninde ertapenem direncine neden olan OmpK36 varyantı porin varlığı saptamışlardır (García-Fernández A ve ark., 2010).

Martinez-Martinez ve ark. tarafından plazmid aracılı kinolon direncinin varlığı ilk kez 1998 yılında siprofloksasine dirençli *K. pneumoniae* suşunda gösterilmiştir. Qnr ismi verilen ve 218 aminoasitten oluşan bir proteini kodlayan yeni bir gen bulunmuştur. Bu genin ürünü olan Qnr proteininin DNA girazı kinolon inhibisyonundan koruduğu gösterilmiştir (Martinez-Martinez ve ark., 1998). Qnr proteini kromozomal farklı mekanizmaların birlikteliğiyle yüksek düzey kinolon direncine yol açarken, tek başına düşük düzey kinolon direncine neden olmaktadır (Martinez-Martinez ve ark., 2008).

2.5. Karbapenem grubu antibiyotikler

Karbapenemler beta-laktam antibiyotik grubunun en geniş spektrumlu üyeleridir. Karbapenemleri diğer beta-laktam antibiyotiklerden ayıran kimyasal farklılık; beta-laktam halkasındaki tiyazolidinik ekinin dördüncü pozisyonunda sülfon yerine karbon içermeleridir (Lee ve ark., 2010; Poirel ve ark., 2010).



Şekil 1. Karbapenem grubu antibiyotiklerin ortak kimyasal yapısı (http://aac.asm.org/content/56/8/4189/F3.large.jpg'den uyarlanmıştır)

Karbapenem grubu antibiyotikler; hücre duvarından yoksun organizmalar, mikobakteriler, nadir nonfermentatifler ve *Aeromonas* dışında hemen her bakteriyel patojene etkilidirler. (Livermore ve Woodford, 2000).

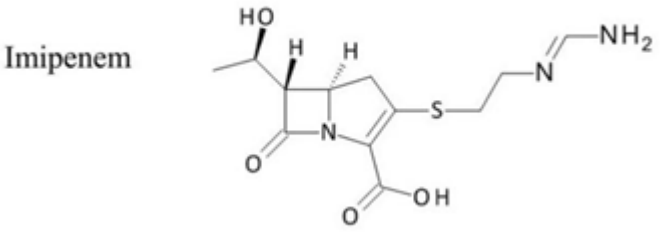
1980'li yıllardan bu yana imipenem ve meropenem ciddi enfeksiyonlarda güvenle kullanılmıştır. 2001 yılında ertapenem ve daha sonra doripenem ve diğer üyelerin gruba dahil olmasıyla karbapenem grubu genişleme göstermiştir.

Son dönemlerde, karbapenemleri parçalayan serin karbapenemaz ve metallo-beta-laktamazları sentezleyen bakterilerin ortaya çıkması endişe uyandırmaktadır (Lee ve ark., 2010; Poirel ve ark., 2010).

2.5.1.İmipenem

En geniş spektrumlu antibiyotiklerden biri olarak bilinen imipenem; gram negatif, gram pozitif, aerob ve anaerob mikroorganizmalar üzerinde geniş bir etki alanına sahiptir. Farklı antibiyotik kombinasyonlarıyla kıyaslandığında, çeşitli enfeksiyonların tedavisinde son derece etkin bir monoterapötik ajandır. İmipenem; in vitro olarak klinik açıdan önemli olan bakterilerin birçoğuna etkilidir. Kritik hastalığı olan kişilerde özellikle dirençli gram negatif etkenler veya polimikrobiyal enfeksiyonların düşünüldüğü durumlarda, kültür veya antibiyogram sonuçlarını beklemeden ampirik olarak başlanabilir. Ciddi enfeksiyonu olan bağışıklık sistemi

baskılanmış hastalarda güvenle seçilebilmesi açısından avantajlıdır (Basoli ve ark., 1997).



Şekil 2. İmipenem kimyasal yapısı (http://aac.asm.org/content/56/8/4189/F3.large.jpg uyarlanmıştır)

Diğer beta-laktam antibiyotiklerden farklı olarak imipenemin yapısında cis konfigürasyonundaki açil amino yan zincirinin yerine trans konfigürasyonunda hidroksietil yan zinciri bulunur. Trans konformasyonu imipenemin beta-laktamaz dayanıklılığını sağlar. Sefalosporinler ve penisilinden farklı olarak a-halkasında bulunan sülfür atomunda metilen yapısı içerir. Sülfür atomundaki metilen yapısı bakteri hücresindeki hedef proteinlere karbapenemlerin bağlanmasını arttırır. Bu sayede antibiyotiğin etki spektrumu genişler ve antibakteriyel gücü artar. Molekül ağırlığının düşük olması ise bakterinin hücre membranından geçişini kolaylaştırır (Bimbaum ve ark., 1985).

İmipenem bakteri hücre duvar sentezini inhibe ederek etki eder. Bakterilerin yüksek molekül ağırlıklı penisilin bağlayan proteinlerine yüksek bir afinite ile bağlanır. İlk olarak PBP2'ye ve daha sonra da PBP1a'ya bağlanır. PBP2'ye bağlanması gram negatif basillerin sferoblastlara dönüşmesine neden olur. PBP1'e bağlanması gram negatif ve gram pozitif bakterilerde hücrelerin daha hızlı lizisine yol açar (Yang ve ark., 1995; Jackson ve Kroop, 1992).

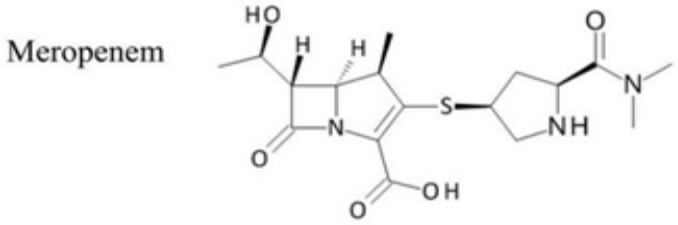
İmipenem oral alım ile emilmez ve mide asidinden etkilenir. İntravenöz enjeksiyondan sonra renal proksimal tübüllerin lümen tarafında bulunan fırçamsı kenarlı mikrovillüslerde yer alan hidrolazlar (dehidropeptidaz- I) tarafından hızla hidrolize edilir. Bu diğer beta laktam antibiyotiklerde bulunmayan bir özelliktir (Topçu ve ark., 2008).

2.5.2. Meropenem

Meropenem, karbapenem halkasına 1-β-metil grubu eklenmesiyle elde edilmiştir. Dehidropeptidaz enziminden etkilenmez. Gram negatif, gram pozitif ve anaerop bakterilere karşı etkindir (Bonfiglio ve ark., 2002).

Gram negatif bakterilerdeki karbapenemazlar ve stafilokoklara ait enzimler hariç diğer tüm beta-laktamazların hidrolizine karşı dayanıklıdır. İnsan böbrek dehidropeptidaz I (DHP-1) enzimine karşı da çok yüksek stabilite göstermektedir. İmipenem, gram pozitif organizmalara karşı daha etkili iken, meropenem gram negatiflere özellikle de *Pseudomonas aeruginosa*'ya daha etkilidir (Yang ve ark., 1995; Jackson ve Kroop, 1992).

Meropenem 3. kuşak sefalosporinlerden daha güçlü bir indükleyici olmasına rağmen, *Enterobacter* ve *P. aeruginosa* izolatlarındaki grup 1 beta-laktamazlar üzerindeki indükleyici etkisi imipeneme göre daha zayıftır (Kitzis ve ark., 1989).



Şekil 3. Meropenem kimyasal yapısı
(http://aac.asm.org/content/56/8/4189/F3.large.jpg uyarlanmıştır)

Meropenem intravenöz yoldan uygulandıktan iki saat sonra balgam, periton, tonsilla dokusu, prostat, sinovyal sıvı gibi çeşitli kısımlarda pek çok bakteri için gereken en az konsantrasyonun oldukça üstünde değerlere ulaşır. Meropenemin Beyin omurilik sıvısına penetrasyonu oldukça iyidir. Menenjitlerde imipenemden daha fazla sağaltım sağladığı da bildirilmiştir (Topçu ve ark., 2008).

2.6. Karbapenem direncine neden olan mekanizmalar

Karbapenemler, özellikle çoklu dirençli gram negatif bakteri enfeksiyonlarında ilk sıradavkullanılan antibiyotik grubudur. Antibakteriyel spektrumları geniştir ve bakteriyel membranlardan hızla geçebilirler. AmpC ve ESBL enzimlerine dayanıklıdırlar. Karbapenemler özellikle ampirik tedavide yaygın olarak kullanıldığından, bu antibiyotiklere karşı direnç oranları giderek artmaktadır.). Karbapenem direnci antibiyotiği degrade eden enzim varlığı, efluks pompaların aşırı ekspresyonu ve porin defekti mekanizmalarının genellikle sinerjik olarak çalışmasıyla gelişmektedir (Poirel L ve Nordmann P, 2006; Bratu ve ark., 2008). Bu üç mekanizmaya ek olarak ilacın hedef bölgesinde meydana gelen değişiklik sonucu da direnç gelişmesi söz konusu olmaktadır. Örneğin beta laktamların hedef bölgesi olan PBP'leri kodlayan kromozom bölgesinde meydana gelen mutasyonlar, antibiyotiğe düşük afinite gösteren yeni PBP'lerin sentezini sağlamaktadır. Gram negatif bakterilerde çok nadir olarak gözlenen bu mekanizmaya metisiline dirençli stafilokoklar, pnömokoklar gibi gram pozitif bakterilerde sıklıkla karşılaşılmaktadır (Livermore, 1991).

Karbapenemlere karşı direnç bilinen 3 etki mekanizması ile gelişebilmektedir:

1. İlacın hücre içinde etkin konsantrasyona ulaşamaması:

a. Porin değişimleri

Porinler, lipid membrandan moleküllerin hücre içine geçişini sağlayan dış membran proteinleridir (outer membrane protein, OMP). Beta laktam antibiyotikler debakteri hücresinin içine dış membran yapıları olan porin F ve porin C olarak adlandırılan iki kanal aracılığı ile giriş yapmaktadır. Bu nedenle OMP'lerin yapısında ya da ekspresyon düzeyinde meydana gelen değişiklikler, bakterilerin antimikrobiyallerden kaçış mekanizmalarından birini oluşturmaktadır (Vila J ve ark., 2007). Diğer Gram negatif bakterilerle karşılaştırıldığında, *A.baumannii*'de bulunan porinlerin daha küçük ve daha az sayıda olduğu bilinmektedir. Bu durum bakterinin düşük membran geçirgenliği

özelliğini açıklamaktadır (Catel-Ferreira M ve ark., 2011). Günümüzde *A.baumannii*'de, hücre membranındaki azalmış geçirgenliğe bağlı karbapenem direncinden sorumlu olan üç porin proteini tanımlanmıştır: HMP- AB (Heat-Modifiable Protein *Acinetobacter baumannii*), CarO ve OmpW (Bratu S ve ark., 2008).

HMP-AB monomerik bir porin olup, OmpA ailesi üyelerinden Enterobacteriaceae'deki OmpA ve *Pseudomonas aeruginosa*'daki OmpF (OprF) ile homoloji göstermektedir. Bu porin ailesinin üyeleri, beta laktam antibiyotiklerin ve 800 Da büyüklüğüne kadar olan sakaritlerin girişini sağlayan yavaş porinler olarak bilinmektedir. Klasik trimerik porinler bulunmadığı için, yavaş porinler *A.baumannii*'nin majör porinleridir ve bakterinin yüksek düzey intrensik direncinden sorumludur (Vila J ve ark., 2007). 29kDa porin proteini olan CarO ile ilgili çalışmalarda, yüksek MİK değeri (≤16 μg/ml) saptanan kökenlerde *carO* geninde değişiklik (disruption) gösterilmiştir. Bu yükselme çeşitli insersiyon elementlerinin varlığının *carO* ekspresyonunda azalmaya yol açması ile açıklanmıştır (Catel- Ferreira M ve ark., 2011). Son olarak OmpW olarak adlandırılan porin proteini *E.coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinde de bulunan OprD ile yüksek homoloji göstermektedir. *Acinetobacter baumannii*'de tam olarak nasıl bir etki mekanizmasına sahip olduğu net bir şekilde bilinmemesine rağmen MDR kökenlerde ekspresyonunun azaldığını gösteren çalışmalar literatürde karşımıza çıkmaktadır (Vila J ve ark., 2007). Bununla beraber son yıllarda yapılan daha güncel çalışmalarda bu proin proteininin aslında karbapenem direnci ile bir ilişkisinin olmadığı öne sürülmektedir (Catel-Ferreira M ve ark., 2012). *Acinetobacter* membranıyla yapılan en kapsamlı proteomik çalışmasında araştırmacılar, bir hassas *A.baumannii* kökeni (ATCC 19606) ile MDR bir klinik izolatın dış membran proteinlerini karşılaştırmışlardır. Bu çalışmanın sonunda MDR izolatın daha düşük düzeyde penisilin bağlayan protein 1b, primer ve kuaterner yapısı farklı olan CarO proteini ile OmpW izoformları sentezlediği saptanmıştır (Siroy A ve ark., 2006).

b. Aktif pompa sistemlerinin indüklenmesi

Bakteri hücrelerinde bulunan aktif atım pompalarının asıl görevi hücre içi metabolitlerinin dışarı atılması, hücre içi sinyal iletişimi ve dolayısıyla homeostaz sağlamaktır. Ancak klinik önemi olan patojenlerin büyük çoğunluğunda aktif atım pompa sistemleri tetrasiklin, makrolid, florokinolon, aminoglikozit, penisilinin de içinde bulunduğu pek çok antibiyotik grubuna karşı azalan duyarlılık, kazanılmış direnç ya da intrensik direnç tablolarından sorumlu olmaktadırlar (Aygül A, 2015). Gram negatif ve gram pozitif bakterilerde çoklu ilaç direnci ile ilişkili olduğu bilinen 5 adet aktif atım pompa ailesi bulunmaktadır: ABC süperailesi (ATP-Binding Cassette Superfamily), MFS süperailesi (Major Facilitator Superfamily), MATE süperailesi (Multidrug And Toxic-compounds Extrusion Superfamily), SMR ailesi (Small Multidrug Resistance family), RND ailesi (Resistance Nodulation Division family). RND ailesinden AdeABC, AdeFGH ve AdeIJK aktif atım sistemlerinin MDR *A.baumannii* kökenlerindeki dirençte rol oynadıkları gösterilmiştir (Coyne S ve ark., 2011). RND tipi pompaların yalnızca gram negatif bakterilerde diğer süperailelerdeki pompaların hem gram pozitif hem gram negatif bakterilerde bulunduğu bilinmektedir (Aygül A, 2015). *Acinetobacter baumannii*'de karbapenem direnci ile RND süperailesinin üç üyesi ilişkilendirilmektedir: AdeABC (Acinetobacter drug efflux), AdeFGH, AdeIJK (Rumbo C ve ark., 2013). Ancak majör efluks mekanizması kökenlerin yaklaşık %80'inde bulunan, ve bakteri kromozomunda kodlu olan AdeABC sistemidir (Coyne S ve ark., 2011). *adeABC* operonu membran füzyon proteini adeA, iç membran proteini adeB ve dış membran faktörü adeC'yi kodlamaktadır (Şekil 3) (Poirel L. Ve ark., 2011) Bu pompa proteinin yüksek düzey ekspresyonu, iki komponentli regülatör sistemi kodlayan *adeRS* geni tarafından düzenlenmektedir (Şekil 4) (Marchand I ve ark., 2004). Bu regülatör sistem aynı zamanda aminoglikozit direnci ile birlikte florokinolon, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, trimetorprim, netilmisin ve etidyum bromide azalmış duyarlılık ile ilişkilendirilmektedir. Kazanılan oksasilinaz enzimleri ile *adeRS*

geninde meydana gelen mutasyonların bir arada görülmesi, kökenlerin karbapenemler dahil beta laktamlara yüksek düzey direnç gelişimi ile sonuçlanmaktadır (Héritier C ve ark., 2005). Ancak bazı yayınlarda mutasyonlarla beraber bir ISAba1 insersiyon sekansı varlığının AdeABC operonunun yüksek düzey ekspresyonuna yol açtığı öne sürülmektedir (Sun JR ve ark., 2012).

2. Karbapenemleri hidroliz eden enzimlerin varlığı

Karbapenem direncinin en yaygın nedeni olan karbapenemazlar, antibiyotikleri parçalayarak etkisiz hale getirmektedir. Karbapenemazlar OXA ve metallo-ß-laktamaz (MBL) olarak iki ana grupta toplanmaktadırlar. Beta-laktam antibiyotiklere karşı klinikte en sık gözlenen direnç, bakterilerin bu antibiyotikleri inaktive eden beta-laktamaz enzimlerini sentezlemesi ile oluşmaktadır. Gram negatif bakterilerde beta-laktamazlar, dış membran ile stoplazmik membran arasındaki periplazmik boşlukta bulunmaktadır. Bu enzimlerin sınıflandırılmasında biyokimyasal özelliklerini esas kriter olarak alan Karen Bush sınıflandırması kullanılmaktadır (Livermore., 1995).

3. Hedef penisilin bağlayan protein değişimleri (Rasmussen ve Bush, 1997).

Penisilin bağlayan proteinlerdeki değişiklikler PBP'lerin bete-laktam antibiyotiğe afinitesinin azalması, PBP sayısında azalma olması vaya beta-laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP'lerin sentezlenmesi sonucu oluşabilmektedir Bunların tümü kromozomal mutasyonlar sonucu ortaya çıkmaktadır (Jacoby ve Archer., 1991).

2.7. N-Asetilsistein

N-asetilsistein (NAC) 1962'de mukolitik bir ajan olarak geliştirilmiştir. Yapısında sülfidril grupları içermektedir. Bu gruplar mukus ve balgamdaki glikoprotein makromoleküllerine bağlanmaktadır (Webb, 1962). Sistein ise mukusun

aktivitesini azaltan bir ajan olarak tespit edilmiştir (Webb, 1962). NAC karaciğerde metabolize olmaktadır. Yarılanma ömrü iki ile altı saattir. Yaklaşık olarak %20-30'u idrarla değişmeden atılır. Aktif metabolitleri disülfidler, sistin, sistein, metiyonin ve indirgenmiş glutatyondur (Stewart ve ark., 1997). NAC asetaminofen zehirlenmesinin etkili bir antidotudur. Kemoterapiye bağlı gelişen doku hasarını önlemektedir (Flanagan, 1987). Parasetamol zehirlenmelerinde karaciğer harabiyetini azaltıcı etkisi vardır. Solunum yolu enfeksiyonu hastalıklarında koyu kıvamlı mukusun azaltılması, atılması ve öksürüğü kolaylaştırmasının yanında akciğerde oksidatif hasarın önlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (Goodman ve Gilman's, 2011).

2.7.1. N-asetilsistein etki mekanizması

NAC mukoproteindeki disülfid bağları ile reaksiyona giren serbest sülfidril grupları içeren bir tiyol bileşiğidir. Sülfidril-disülfid bağlarının yer değiştirmesi ile mukoprotein molekülleri daha küçük parçalara ayrılır ve daha az visköz birimler haline gelip enfekte sekresyondaki DNA bağlarını belirgin ölçüde azaltır. Mukopürülan materyal lizise uğrar ve daha az visköz hale gelir. Bu primer etki N-asetilsisteinin bir mukokinetik ajan olarak kullanımının esas nedenidir. N asetilsisteinin serbest radikalleri detoksifiye edebilme yeteneğinin anlaşılması son yıllarda bu ajanın klinik kullanımını oldukça genişletmiştir (Ziment, 1988).

N-asetilsistein, serbest radikalleri ve reaktif elektrofilleri detoksifiye eder. Reaktif elektrofiller, elektronlara afinitesi oldukça yüksek olan ve yeni radikalleri oluşturmaya hazırlanan molekül parçalarıdır. NAC ayrıca ortamdaki hidrojen peroksit düzeyini azaltır ve hidrojen peroksidin toksik etkilerine karşı hücreyi korur (Moldeus ve ark., 1986). N-asetilsistein alındıktan sonra hızla absorbe edilerek hücre içi ve hüçre dışı glutatyon depolarına eklenir (Van Zandwijk, 1995).

2.7.2.N-Asetilsisteinin tedavide kullanımı

Akciğer hastalıkları: NAC, içermiş olduğu serbest sülfidril grupları sayesinde mukoproteindeki kimyasal disülfid bağlarını parçalayarak sekresyonların viskozitesini azaltır ve mukolitik etki gösterir. Bu nedenle produktif öksürükle seyreden solunum yolu hastalıklarında kullanılmaktadır (Ziment, 1988). NAC verilen hastaların bronkoalveolar lavaj sıvısında kontrol gruplarına oranla sistein konsantrasyonunda artış gözlenmiştir. Bronkoalveolar lavajda serbest radikallerin artışına ve oksidatif olayların aktivasyonu sonucunda makrofaj ve nötrofillerin azalmasına da sebep olur. Bronkoalveolar lavajdaki laktoferrin ve eozinofilik katyonik proteinlerin kemotaktik aktivitesini azaltarak da etki gösterdiği düşünülmektedir (Van Herwaarden ve ark., 1995). Muköz sinüs ve fistüllerin temizliğinde ve mukusla kontamine olmuş yaraların debridmanında da kullanılır. Kardiovasküler sistem hastalıkları, akut ve kronik bronşit gibi temelinde oksidatif stresin yer aldığı hastalıklarda NAC ile tedavi edilenlerin atak şiddetleri anlamlı şekilde azalmış, ortalama hastanede yatış ve tedavi süreleri belirgin biçimde kısalmıştır (De Flora ve ark., 1997).

Parasetamol toksisitesi: Yüksek dozda parasetamol alkilleyici bileşiklere dönüşerek karaciğer hücre membranında hasar oluşturur ve hücre nekrozuna neden olur. NAC reaktif parasetamol metabolitlerinin tükettiği mitokondriyal ve sitozolik glutatyon depolarını doldurarak etki gösterir. Zehirlenmeden sonra NAC verildiğinde nötrofiller üzerindeki etkisiyle hepatik hasarın ilerlemesini engeller ve mikrodolaşımın yeniden oluşmasını sağlar (Wong ve ark., 1994).

Kistik fibroz: NAC içeren solüsyonlar oral ya da rektal enema uygulaması şeklinde özellikle kistik fibrozlu hastaların ince bağırsaklarında meydana gelen mekonyum ileusu olgularında başarıyla uygulanmaktadır (Ziment, 1988; Holdiness, 1991).

Septik şok: Deneysel çalışmalarda NAC'nin hepatosplenik kan akımını arttırdığı görülmüştür. Septik şok durumunda doğal hücre içi antioksidan olan glutatyonun azaldığı ve bunun da hücre membranlarında oksijen radikallerine karşı bir zafiyet

ortaya çıkardığı saptanmıştır. Antioksidan ve sitoprodüktif etkisi olan NAC aynı zamanda endotel kökenli gevşetici faktörü stimüle eder ve mikrovasküler kan akımını artırır. Nötrofil ve trombosit agregasyonunu, pulmoner hipertansiyon ve vasküler geçirgenliği azaltabilir. Septik şokta NAC'nin oksijenizasyonu ve statik akciğer kompliyansını 24 saatte arttırdığı, bunun mortalite üzerine bir etkisinin olmadığı fakat mekanik ventilatör gereksinimini kısaltarak hastanın daha erken taburcu olmasına imkan sağladığı belirlenmiştir (Spapen ve ark., 1998).

Antidot olarak kullanım: NAC altın, kobalt ve diğer ağır metaller, karbontetraklorür, halotan, arsenik, asetaldehid, kumarin, interferon, bromobenzen, naftalin ve doksurubisin zehirlenmesinde de antidot olarak kullanılmaktadır (Ziment, 1988; Holdiness, 1991).

Kardiovasküler sistem üzerine etki: NAC nitratın vazodilatör etkisine olan toleransı tersine çevirerek küçük kan damarlarında direkt vazodilatötör etki yapmaktadır (Vale ve Proudfoot, 1995).

Miyokard infarktüsü: NAC intravenöz uygulamasının miyokard enfarktüslü hastalarda trombolitik tedavi olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. N-Asetilsistein bir thiol bileşiği olarak küçük koroner damarların dilatasyonunu arttırmaktadır (Ziment, 1988).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Besiyerleri

– MacConkey Agar (Biolife, İtalya)
– Katyonu Ayarlanmış Mueller-Hinton Buyyon (Biolife, İtalya)
– Skim Milk (Biolife, İtalya)

3.1.3. Antibiyotik Tozları

– İmipenem toz (Molekula, UK)
– Meropenem toz (Molekula, UK)

3.1.4.Kimyasal Maddeler

–N-Asetilsistein toz (Sigma-ALDRICH, ABD)

3.1.5.Hazırlanan Besiyerleri ve Solüsyonlar

– MacConkey Agar
30 gr toz besiyeri, 1 litre distile su olacak şekilde 121 °C 15 dakika otoklav

sterilizasyonu sonrasında steril petrilere dökülerek hazırlandı.

– Katyonu Ayarlanmış Mueller-Hinton Buyyon

22 gram toz besiyeri, 1 litre distile su olacak şekilde 121 °C 10 dakika otoklav sterilizasyonu sonrasında steril cam tüplere dökülerek hazırlandı.

– Skim Milk

100 gram toz besiyeri,1 litre distile su olacak şekilde 121 °C 15 dakika otoklav sterilizasyonu ile hazırlandı.

–N-asetilsistein çözeltisi

N-asetilsistein toz formu üretici firmanın talimatları doğrultusunda distile su içerisinde çözüldü. (H_2O: ≥10 mg/mL).

– İmipenem çözeltisi

İmipenem, fosfat tamponu (pH 7,2, 0,01 mol/L) içerisinde sulandırıldı.

– Meropenem çözeltisi

Meropenem distile su ile sulandırıldı.

3.2. Araçlar ve Aygıtlar

– Tek kanallı otomatik pipetler (Thermo Fisher Scientific, ABD)

– Sekiz kanallı otomatik pipet (Thermo Fisher Scientific, ABD)

– Petri kutuları (Fıratmed, Türkiye)

– Cam balonlar, cam pipetler, cam tüpler

– Tek kullanımlık 200 µl ve 1000 µl pipet uçları (Capp, Danimarka)

– 96 kuyucuklu U tabanlı plaklar (Greiner, Almanya)

– Etüv (Memmert, Almanya)

– Pasteur fırını (Memmert, Almanya)

– Otoklav (Hirayama, Japonya)

– Buzdolabı (Arçelik, Türkiye)

– (-20̊ C) Dondurucu (Uğur, Türkiye)

– (-80̊ C) Dondurucu (ilShin)

– Hassas terazi (Sartorius, Almanya)

– Kaba terazi (Scaltec, Almanya)

– Vorteks (Ika, Almanya)

– Kurutma kağıtları

– Steril eküvyonlar

– Mavi, sarı, beyaz pipet uçları (Capp, Almanya)

– DensiCHEK™ Plus (BioMérieux, Fransa)

–VITEK/MS (BioMérieux, Fransa)

3.3. Yöntem

3.3.1. Bakteri izolatlarının seçimi

Ocak 2014 – Mayıs 2015 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na çeşitli kliniklerden gelen örneklerden etken izole edilen ve rutin antibiyogram raporlama sonucuna göre karbapeneme duyarlı olduğu saptanan 14 *A. baumannii* ve 40 *K. pneumoniae* izolatı çalışmaya dahil edildi. Aynı hastanın tekrarlayan örnekleri çalışmaya alınmadı.

3.3.2. Standart Kökenler

– *Pseudomonas aeruginosa (*ATCC 27853)

– *Escherichia coli (*ATCC 25922)

3.3.3. Bakteri izolatlarının tanımlanması

Çalışmaya alınan kökenler, etken olarak izole edilip -80˚C'de dondurularak saklanmış stok koleksiyonundan seçildi. İzolatlar, MacConkey Agar (BioMérieux, Fransa) besiyerlerine ekim yapılarak 37˚C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Üreyen saf kültürlerden tek bir koloni alınarak, doğrulama amacıyla VITEK/MS sistemi (BioMérieux, Fransa) ile tür identifikasyonu yapıldı. VITEK/MS sistemi ile %99.9 oranında *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* olarak doğrulanan izolatlar çalışmaya dahil edildi. Çalışmada kullanılmak üzere tür tayini yapılan koloniler, organizmanın fenotipik ve genotipik özelliklerine zarar vermeden canlılığını sürdürmesini sağlayan skim milk (Biolife, İtalya) besiyerine aktarılarak -80˚C'de saklandı. Antibiyotik duyarlılık çalışmalarında, EUCAST rehberi önerileri doğrultusunda, *Pseudomonas aeruginosa (*ATCC 27853) ve *Escherichia coli (*ATCC 25922) standart suşları referans köken olarak kullanıldı.

3.3.4. Meropenem ve imipenem MİK düzeylerinin belirlenmesi

Rutin laboratuvar işlemleri ile karbapenem duyarlı olarak saptanan *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* izolatlarında, karbapenem grubu antibiyotiklerin MİK düzeyleri sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle EUCAST rehberi önerileri doğrultusunda belirlendi.

NAC'nin karbapenem duyarlılığı üzerindeki etkisini belirlemek için, NAC varlığında her bir antibiyotiğe ait sıvı mikrodilüsyon testleri tekrarlandı. NAC varlığında izolatların MİK değerlerindeki değişiklikler değerlendirildi. Kontrol kökeni olarak *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ve *Escherichia coli* (ATCC 25922) kullanıldı.

3.3.4.1. Antibiyotik ilaçlar

İlaç hammadde tozlarında; ilacın jenerik adı, seri numarası, potensi (genellikle her mg toz için µg ve IU olarak gösterilir), son kullanma tarihi yer almaktadır. Antimikrobiyal hammaddeler üretici firmanın önerisi doğrultusunda 4ºC/-20ºC'de saklandı.

3.3.4.2. Antibiyotik tozlarının tartılması

Antimikrobik ilaç tozları (imipenem ve meropenem) kalibre edilmiş analitik terazide tartıldı. İstenilen antibiyotik konsantrasyonuna ulaşmak için gereken sulandırım hacmi EUCAST rehberi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 5.0, valid from 2015-01-01) önerileri doğrultusunda test prosedürlerinde belirlenmiş olan aşağıdaki formüle göre hesaplandı ve uygun tamponlarla sulandırım yapıldı. İmipenem, fosfat tamponu (pH 7.2, 0.01 mol/L) içerisinde, meropenem ise distile su ile sulandırıldı. İmipenem ve meropenem antibiyotiklerinden 20'şer mg tartıldı, potenslerine göre sulandırılarak 2048 µg/mL'lik stok solüsyonları hazırlandı. Stok solüsyonlar kullanılıncaya kadar +4ºC'de saklandı.

Ağırlık (mg) = [Hacim (mL) x Konsantrasyon (µg/mL)] / Potens (µg/mg)

Hacim (mL) = [Ağırlık (mg) x Potens (µg/mg)] / Konsantrasyon

Potens: Test edilecek maddenin antimikrobik etkiye sahip aktif olan kısmıdır. Gram başına kütle oranı, yüzde olarak hacim veya kütle oranı, test maddesinin litresindeki mol olarak ifade edilmektedir.

Konsantrasyon: Tanımlanmış bir hacim sıvıdaki antimikrobik ilaç miktarıdır. Konsantrasyon mg/L (=µg/mL) olarak ifade edilir.

3.3.4.3. N-asetilsisteinin tartılması

N-asetilsistein toz formu üretici firmanın talimatları doğrultusunda distile su içerisinde çözüldü (H_2O: ≥10 mg/mL).

3.3.4.4. Antibiyotik stok çözeltilerinin hazırlanması

Elde edilen stok çözelti daha sonraki sulandırımlarda kullanılacak kaynak çözeltidir. Stok çözeltiler küçük hacimler halinde mikrotüplere paylaştırıldı. İmipenem stok çözeltisi stabilitesine uygun şekilde her kullanımda taze olarak hazırlandı. Stok çözeltiler oda sıcaklığına getirilerek günlük çalışma için kullanıldı. Antibiyotik çözeltisinde meydana gelebilecek herhangi bir bozulma kalite kontrol suşları kullanılarak yapılan duyarlılık testleri ile saptandı.

3.3.4.5. Duyarlılık testlerinde kullanılacak besiyerinin hazırlanması

Sıvı mikrodilüsyon duyarlılık testlerinde KAMHB (Biolife, İtalya) kullanılmıştır. KAMHB her kullanımda günlük olarak hazırlanmıştır.

3.3.4.6. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi

3.3.4.6.1.Mikrodilüsyon testleri için inokülumun hazırlanması ve mikroplaklara bakteri inokülasyonu

Sıvı mikrodilüsyon testi için doğrudan koloni süspansiyon yöntemi kullanılarak inokülum hazırlandı. Inokülum, 37˚C'de 24 saatlik MacConkey agar plağında üreyen tek düşmüş taze kolonilerden KAMHB içinde süspansiyon yapılarak hazırlandı. Taze kültürden elde edilen bakteri kolonilerinden 0,5 McFarland standardına eşdeğer bulanıklıkta suspansiyon ($1x10^8$ CFU/ml) hazırlandı. Bu basamağın doğru bir şekilde yapılabilmesi için fotometrik cihaz DensiCHEK™ Plus (BioMérieux, Fransa) kullanıldı.

Sıvı mikrodilüsyon çalışmaları için 96 kuyucuklu U tabanlı plaklar kullanıldı. U tabanlı mikrodilüsyon plaklarında her bir bakteri suşu için bir adet üreme kontrol kuyucuğu ve bir adet besiyeri sterilite kontrol kuyucuğu bırakıldı. Besiyeri sterilite kontrol kuyucuğu bakteri inoküle edilmemiş kuyucuktur. Her bir kuyucuğa 100 µl KAMHB eklendi. Antibiyotik konsantrasyonları 2 kat dilüsyon elde edilecek şekilde hazırlandı. Uygun konsantrasyonda hazırlanan antibiyotik çözeltisinden ilk kuyucuğa 100µl konularak, 2048 µg/ml ve 0.004 µg/ml arasındaki antibiyotik konsantrasyonlarını içeren bir seri mikrodilüsyon yapıldı. Son kuyucuğa gelindiğinde 100µl sıvı dışarı atıldı. Dilüsyon sonrası her bir kuyucukta 100 µl sıvı kaldı. 0,5 McFarland standardına eşdeğer bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonu steril KAMHB besiyerinde son inokülum 5 x 10^5 CFU/mL olacak şekilde dilüe edildi. Dilüe edilmiş süspansiyondan; mikrodilüsyon plaklarında farklı antibiyotik dilüsyonları içeren her bir kuyucuğa 100 µl eklendi. Üreme kontrol kuyucuğuna sadece 100 µl KAMHB ve 0,5 McFarland standardına eşdeğer bulanıklıkta hazırlanan 100 µl bakteri solüsyonu eklendi. Mikrodilüsyon plakları, 35˚C de 16-20 saat süreyle aerop koşullarda etüvde inkübe edildi.

Tüm plaklarda aynı inkübasyon sıcaklığını sağlayabilmek için mikrodilüsyon plakları üst üste değil, yanyana dizildi. Her bir mikroplak kurumayı önlemek

amacıyla plastik bir kapakla kapatıldı. EUCAST rehberi önerileri doğrultusunda 20 saat inkübasyon sonrasında MİK değerleri belirlendi. MİK, bakterinin mikrodilüsyon kuyucuklarındaki çıplak gözle görülebilen üremesini tamamen inhibe eden en düşük antimikrobik ilaç konsantrasyonudur. MİK belirlenirken kuyucuklardaki üreme yoğunluğu her test setinde kullanılan antibiyotiksiz üreme kontrol kuyucuğu yoğunluğu ile kıyaslandı. Arada birden fazla üreme olmayan kuyucuğun olduğu ilaçlara ilişkin sonuçlar değerlendirilmeye alınmayarak, çalışma tekrar edildi. Tüm deneyler en az üç kere tekrarlandı. . Gözle üreme saptanmayan en düşük konsantrasyon, antibiyotiğin MİK değeri olarak kabul edilmiştir. Test prosedürü ve yorumlanmasında EUCAST standartları göz önünde bulundurulmuştur (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 5.0, valid from 2015-01-01). (Tablo 5).

NAC varlığında her bir antibiyotiğe ait sıvı mikrodilüsyon testi tekrarlandı. Plaklarda bir sterilite kontrol bir üreme kontrol kuyucuğu ayrıldı. Mikrodilüsyon plaklarındaki her bir kuyucuğa 50 µl KAMHB eklendi. İlk kuyucuğa 50 µl sulandırılmış antibiyotik çözeltisi eklendi. Ilk kuyucuktan son kuyucuğa kadar 50 µl sıvı dilüe edilerek, kuyucuklardaki son hacim 50 µl olacak şekilde son kuyucuktan

50 µl sıvı dışarı atıldı. 1.6 mg/ml NAC'nin 2 kat dilüe edilecek şekilde sulandırımı yapılarak, her bir kuyucuğa eşit miktarda 50şer µl NAC eklendi. Kuyucuklardaki son hacim 100 µl olurken, 0,5 McFarland standardına eşdeğer bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonu steril KAMHB besiyerinde son inokülum 5 x 10^5 CFU/ml olacak şekilde dilüe edildi. Dilüe edilmiş süspansiyondan her bir kuyucuğa 100 µl eklendi. NAC'nin tek başına etkisini araştırmak amacıyla, mikrodilüsyon plağında bir sıra kuyucuğa sadece NAC seri dilüsyonu ve bakteri inokülasyonu yapıldı. Mikrodilüsyon plaklarının üzeri plastik kapakla kapatıldı. 35˚C'de 16-20 saat süreyle aerop koşullarda etüvde inkübe edildi. 20 saat sonra MİK değerleri, EUCAST rehberi önerileri doğrultusunda değerlendirildi. Tüm deneyler en az üç kere tekrarlandı (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 5.0, valid from 2015-01-01).

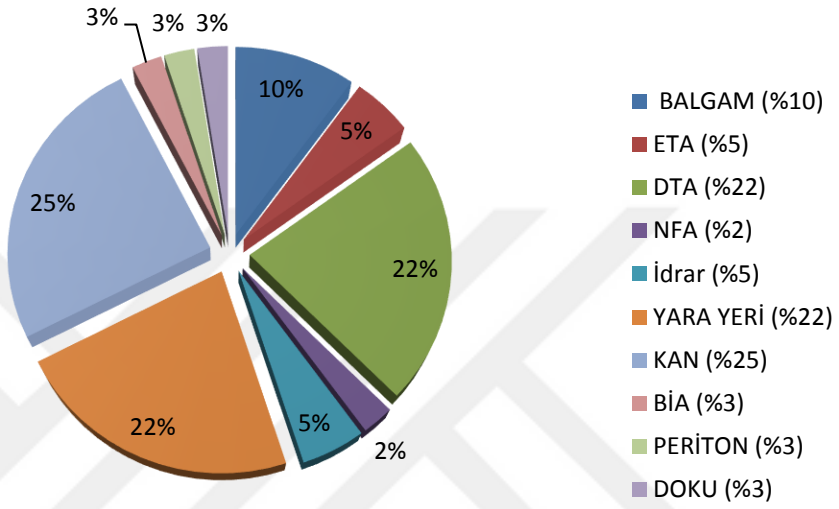
Tablo 5. *Acinetobacter* spp. ve *K. pneumoniae* kökenlerinin antibiyogram değerlendirmesinde kullanılan EUCAST MİK eşik değerleri (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing-Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 5.0, valid from 2015-01-01).

	MİK eşik değeri (mg/L)	
	S*	**R***
İmipenem	≤ 2	> 8
Meropenem	≤ 2	> 8

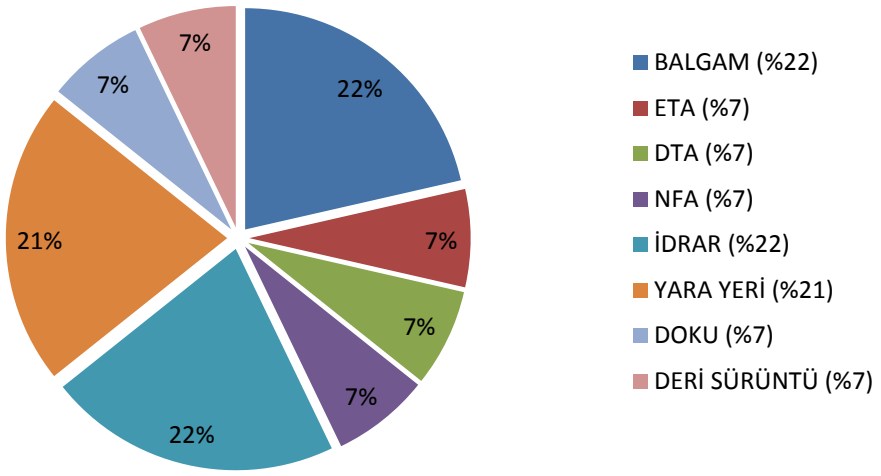
*S:Duyarlı R:Dirençli

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil ettiğimiz *K. pneumoniae* kökenlerinin izole edildikleri örnek türlerine göre dağılımı Şekil 1'de, *A. baumannii* kökenlerinin izole edildikleri örnek türlerine dağılımı Şekil 2'de sunulmuştur.



Şekil 4. *K. pneumoniae* izolatlarının izole edildiği örnek türlerine göre dağılımı



Şekil 5. *A. baumannii* izolatlarının izole edildiği örnek türlerine göre dağılımı

Çalışmaya alınan 14 *A. baumannii* kökeninin meropenem ile meropenem ve NAC kombinasyonu sonucu elde edilen minimal inhibisyon konsantrasyon değerleri Tablo 6'da verilmiştir. *A. baumannii* kökenlerinin imipenem ile imipenem ve NAC kombinasyonu sonucu elde edilen minimal inhibisyon konsantrasyon değerleri ise Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 6. *A. baumannii*'de meropenem minimal inhibisyon konsantrasyon değerleri

	MİK		
İzolat No	**Meropenem (mg/L)[1]**	**Meropenem+NAC (mg/L)[2]**	**Artış (x kat)**
1	0.25	1	4
2	1	2	2
3	0.25	1	4
4	0.25	1	4
5	0.5	4	8
6	1	1	0
7	1	1	0
8	0.25	1	4
9	0.25	4	16
10	0.25	0.5	2
11	0.5	1	2
12	0.5	0.5	0
13	0.5	32	64
14	0.125	0.5	64

Meropenem (mg/L)[1]:Meropenem minimal inhibisyon konsantrasyon değerleri

Meropenem+NAC (mg/L)[2]:Meropenem ve NAC kombinasyonu minimal inhibasyon konsantrasyon değerleri

Tablo 7. *A.baumannii*'de imipenem minimal inhibisyon konsantrasyon değerleri

	MİK		
İzolat No	**İmipenem (mg/L)¹**	**İmipenem+NAC (mg/L)²**	**Artış (x kat)**
1	0.25	2	8
2	0.5	4	8
3	0.25	4	16
4	0.5	4	8
5	0.25	4	16
6	0.125	2	16
7	0.25	2	8
8	0.25	1	4
9	0.25	8	32
10	0.25	0.5	2
11	0.125	4	32
12	0.125	8	64
13	0.5	2	4
14	0.25	2	8

İmipenem(mg/L)¹:İmipenem minimal inhibisyon konsantrasyon değerleri
İmipenem+NAC (mg/L)²:İmipenem ve NAC kombinasyonu minimal inhibasyon konsantrasyon değerleri

Çalışmaya alınan 40 *K. pneumoniae* kökeninin meropenem ile meropenem ve NAC kombinasyonu sonucu elde edilen minimal inhibisyon konsantrasyon değerleri Tablo 8'de verilmiştir. *K. pneumoniae* kökenlerinin imipenem ile imipenem ve NAC kombinasyonu sonucu elde edilen minimal inhibisyon konsantrasyon değerleri ise Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 8. *K. pneumoniae'*de meropenem minimal inhibisyon konsantrasyon değerleri

	MİK		
İzolat No	**Meropenem (mg/L)[1]**	**Meropenem+NAC (mg/L)[2]**	**Artış (x kat)**
1	0.03	0.125	4
2	0.03	0.25	8
3	0.03	0.25	8
4	0.03	0.25	8
5	0.06	0.5	8
6	0.015	0.5	32
7	0.06	0.5	8
8	0.03	0.125	4
9	0.06	0.25	4
10	0.125	0.5	4
11	0.03	0.25	8
12	0.03	0.125	4
13	0.015	0.125	8
14	0.03	0.5	16
15	0.03	0.125	4
16	0.03	0.25	8
17	0.015	0.25	16
18	0.06	1	16
19	0.015	1	64
20	0.015	0.06	4
21	0.06	0.06	0
22	0.03	0.125	4
23	0.015	0.25	8
24	0.03	0.5	16
25	0.06	0.5	8
26	0.03	0.125	4
27	0.03	0.25	8
28	0.015	0.125	8
29	0.015	0.25	16
30	0.03	1	32

İzolat No	Meropenem (mg/L)[1]	Meropenem+NAC (mg/L)[2]	A rtış (x kat)
31	0.03	0.125	4
32	0.03	0.25	8
33	0.03	0.5	16
34	0.015	1	64
35	0.03	0.125	4
36	0.03	0.25	8
37	0.015	1	64
38	0.015	0.5	32
39	0.06	0.5	8
40	0.03	0.25	8

Meropenem (mg/L)[1]:Meropenem minimal inhibisyon konsantrasyon değerleri

Meropenem+NAC (mg/L)[2]:Meropenem ve NAC kombinasyonu minimal inhibasyon konsantrasyon değerleri

Tablo 9. *K. pneumoniae'*de imipenem minimal inhibisyon konsantrasyon değerleri

	MİK		
İzolat No	**İmipenem (mg/L)[1]**	**İmipenem+NAC (mg/L)[2]**	**Artış (x kat)**
1	0.25	128	512
2	0.25	32	128
3	0.5	64	128
4	0.5	32	128
5	0.5	64	128
6	1	64	64
7	0.25	32	128
8	0.25	32	128
9	0.5	64	128
10	0.5	16	32
11	1	32	32
12	0.5	64	128
13	0.25	64	256
14	0.5	64	128
15	0.25	32	128
16	0.5	16	128
17	0.5	32	64
18	0.25	64	256
19	0.25	64	256
20	0.5	64	128
21	0.5	128	256
22	0.25	128	512
23	0.25	32	128
24	0.25	32	128
25	0.5	64	128
26	0.25	32	128
27	0.25	128	512
28	0.5	64	128
29	0.25	64	256
30	0.5	64	128

İzolat No	İmipenem (mg/L)[1]	İmipenem+NAC (mg/L)[2]	Artış (x kat)
31	0.5	16	32
32	1	16	16
33	0.25	64	256
34	0.5	32	64
35	1	32	32
36	0.25	32	128
37	0.5	64	128
38	0.25	128	256
39	0.25	64	256
40	0.5	32	64

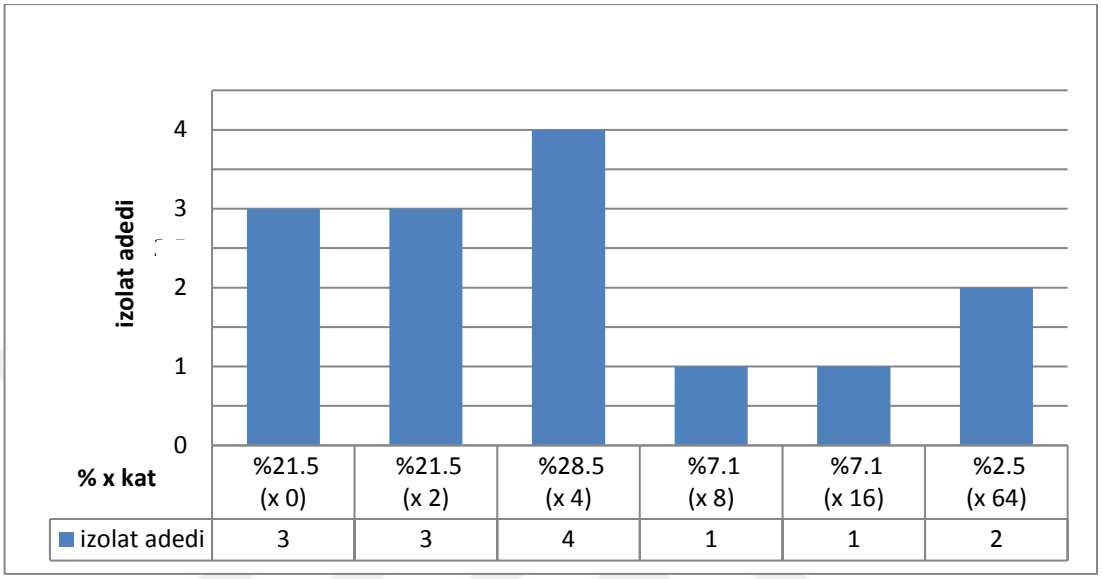
İmipenem (mg/L)[1]:İmipenem minimal inhibisyon konsantrasyon değerleri

İmipenem+NAC (mg/L)[2]:İmipenem ve NAC kombinasyonu minimal inhibasyon konsantrasyon değerleri

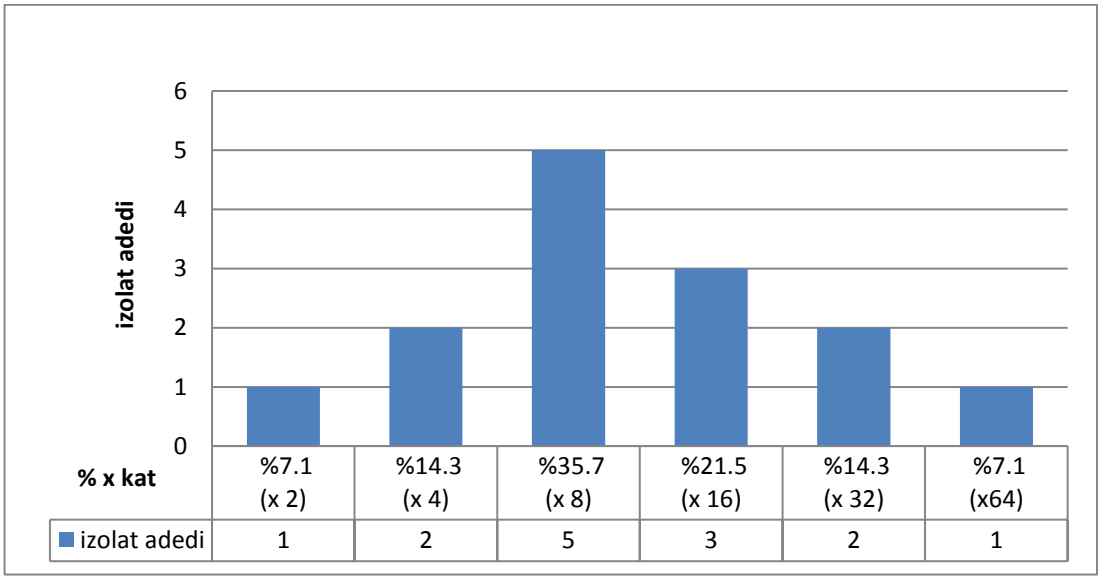
Meropenem MİK değerleri, *A. baumannii* izolatlarında 0.06-1 mg/L aralığında; *K. pneumoniae* izolatlarında ise 0.015-0.06 mg/L aralığında saptanmıştır. Meropenem ve NAC kombinasyonu için saptanan MİK değerleri, *A. baumannii* izolatlarında 0.5-32 mg/L aralığında, *K. pneumoniae* izolatlarında ise 0.06-1 mg/L aralığında saptanmıştır. NAC varlığında, minimal inhibitör konsantrasyon düzeylerindeki değişimler incelendiğinde; *A. baumannii* grubunda, değişim olmayan üç izolat hariç 2-64 kat, *K. pneumoniae* grubunda ise değişim olmayan bir izolat hariç 4-64 kata varan MİK artış oranları belirlenmiştir.

İmipenem MİK değerleri, *A. baumannii* izolatlarında 0.03-1 mg/L aralığında; *K. pneumoniae* izolatlarında ise 0.25-1 mg/L aralığında saptanmıştır. İmipenem ve NAC kombinasyonu için saptanan MİK değerleri, *A. baumannii* izolatlarında 2-8 mg/L aralığında, *K. pneumoniae* izolatlarında 16-128 mg/L aralığında saptanmıştır. NAC varlığında, minimal inhibitör konsantrasyon düzeylerindeki değişimler incelendiğinde; *A. baumannii* grubunda 2-64 kat, *K. pneumoniae* grubunda ise 16-512 kata varan MİK artış oranları belirlenmiştir. *İn vitro* koşullarda, NAC'ın tek başına bakteriler üzerinde inhibitör etkisi saptanmamıştır.

A. baumannii izolatlarının meropenem MİK düzeylerinde görülen artışa göre dağılımları ve oranları Şekil 6'da; imipenem MİK düzeylerinde görülen artışa göre dağılımları ve oranları Şekil 7'de sunulmuştur.

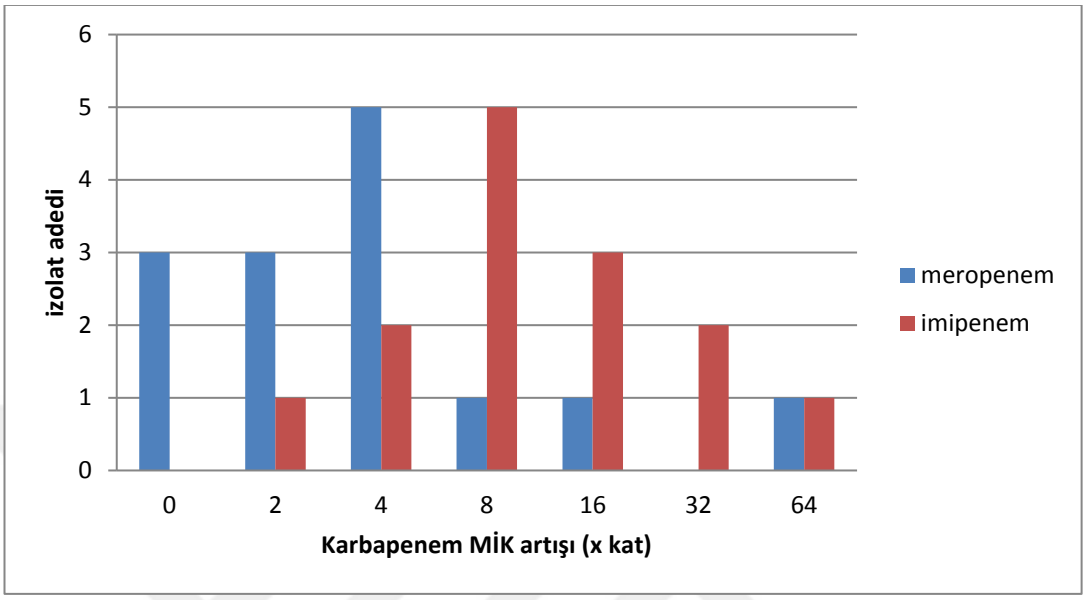


Şekil 6. *A. baumannii* izolatlarının meropenem MİK düzeyi artışına göre dağılımı ve oranları

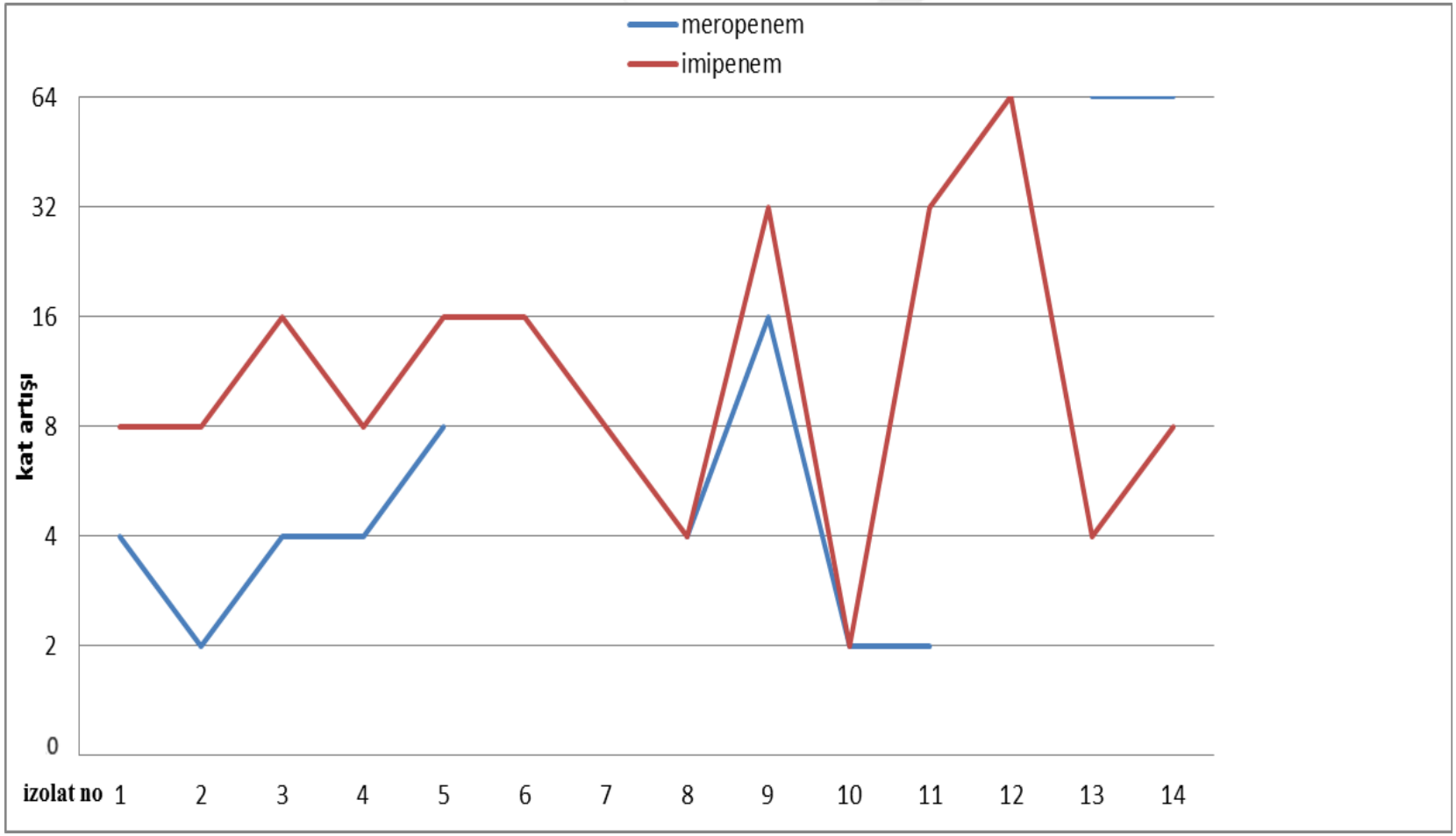


Şekil 7. *A. baumannii* izolatlarının imipenem MİK düzeyi artışına göre dağılımı ve oranları

A. baumannii izolatlarında meropenem ve imipenem MİK düzeylerindeki artışa göre dağılımları Şekil 8 ve Şekil 9'da sunulmuştur.

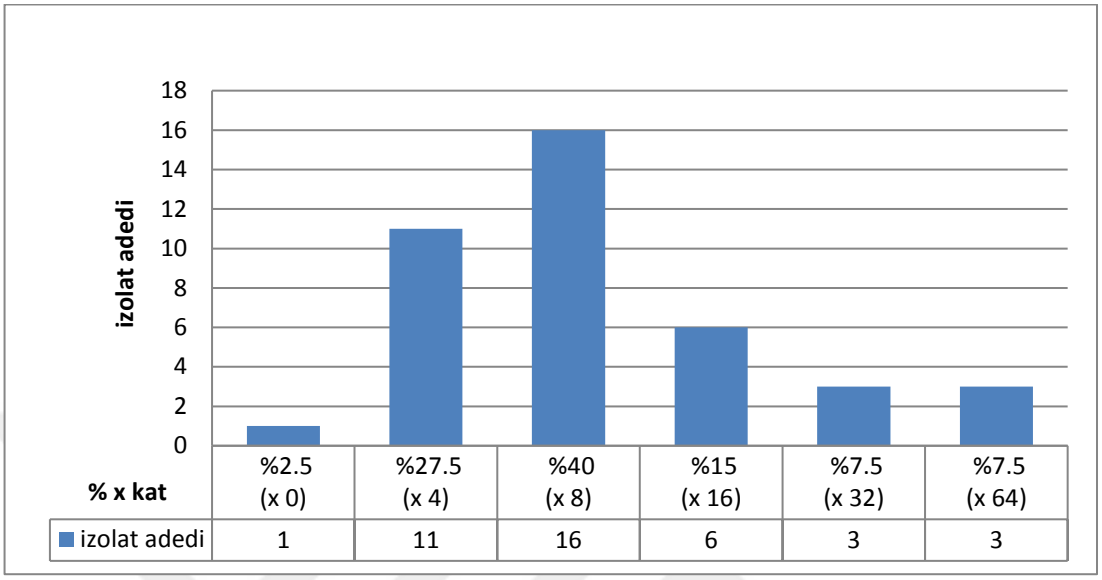


Şekil 8. *A. baumannii* izolatlarının meropenem ve imipenem MİK değerlerinde görülen artışa göre dağılımı

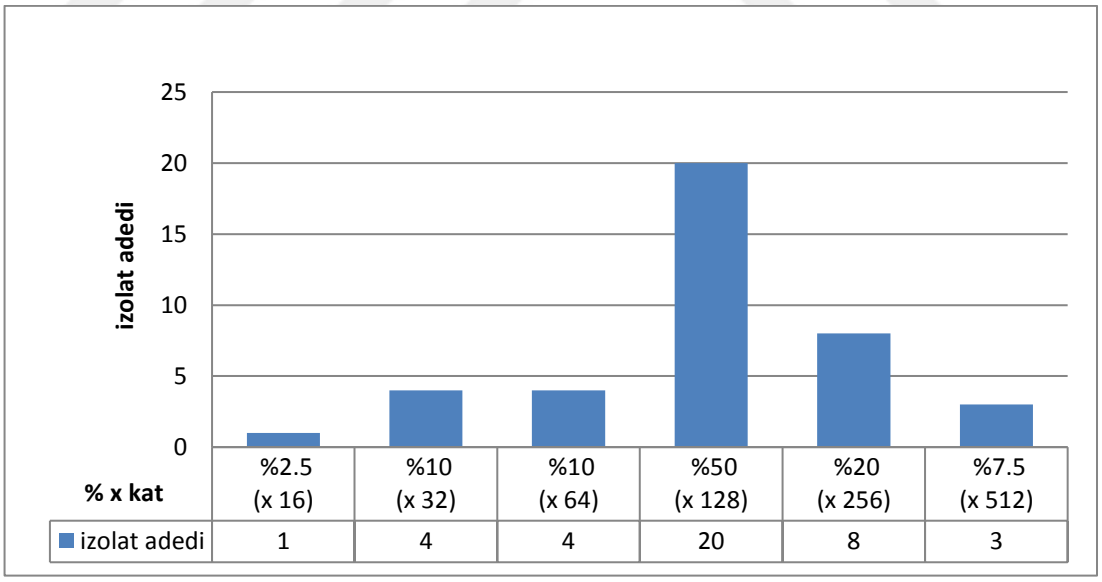


Şekil 9. *A. baumannii* izolatlarının meropenem ve imipenem MİK düzeylerindeki artışa göre dağılımı

K. pneumoniae izolatlarının meropenem MİK düzeylerinde görülen artışa göre dağılımları ve oranları Şekil 10'da; imipenem MİK düzeylerinde görülen artışa göre dağılımları ve oranları Şekil 11'de sunulmuştur.

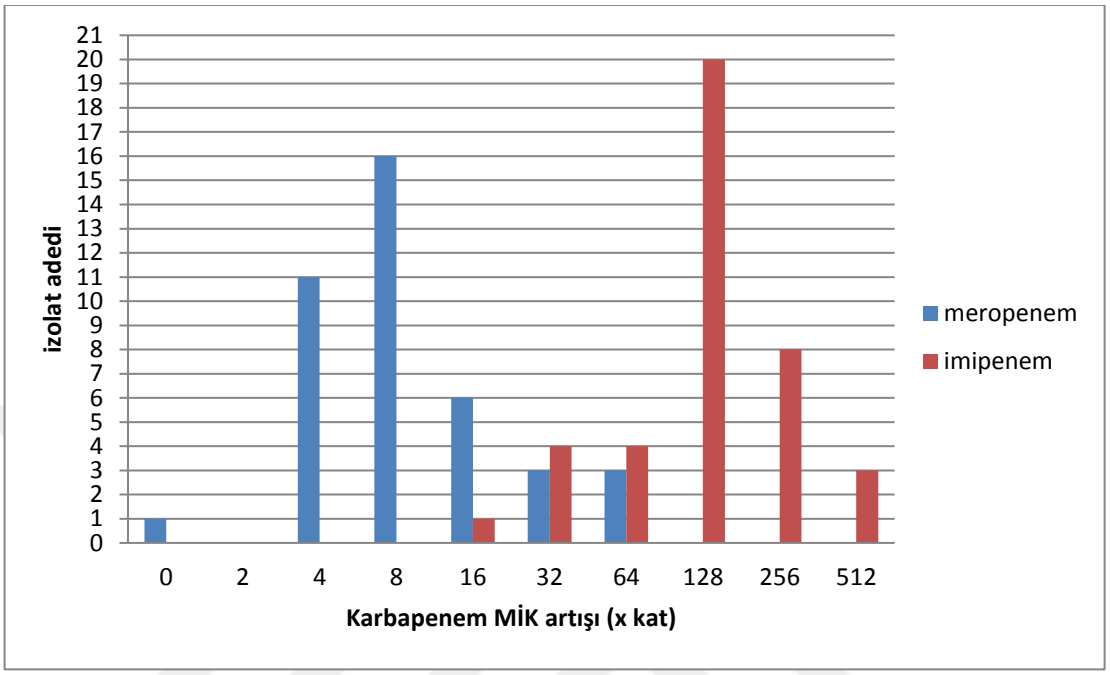


Şekil 10. *K. pneumoniae* izolatlarının meropenem MİK düzeyi artışına göre dağılımı ve oranları

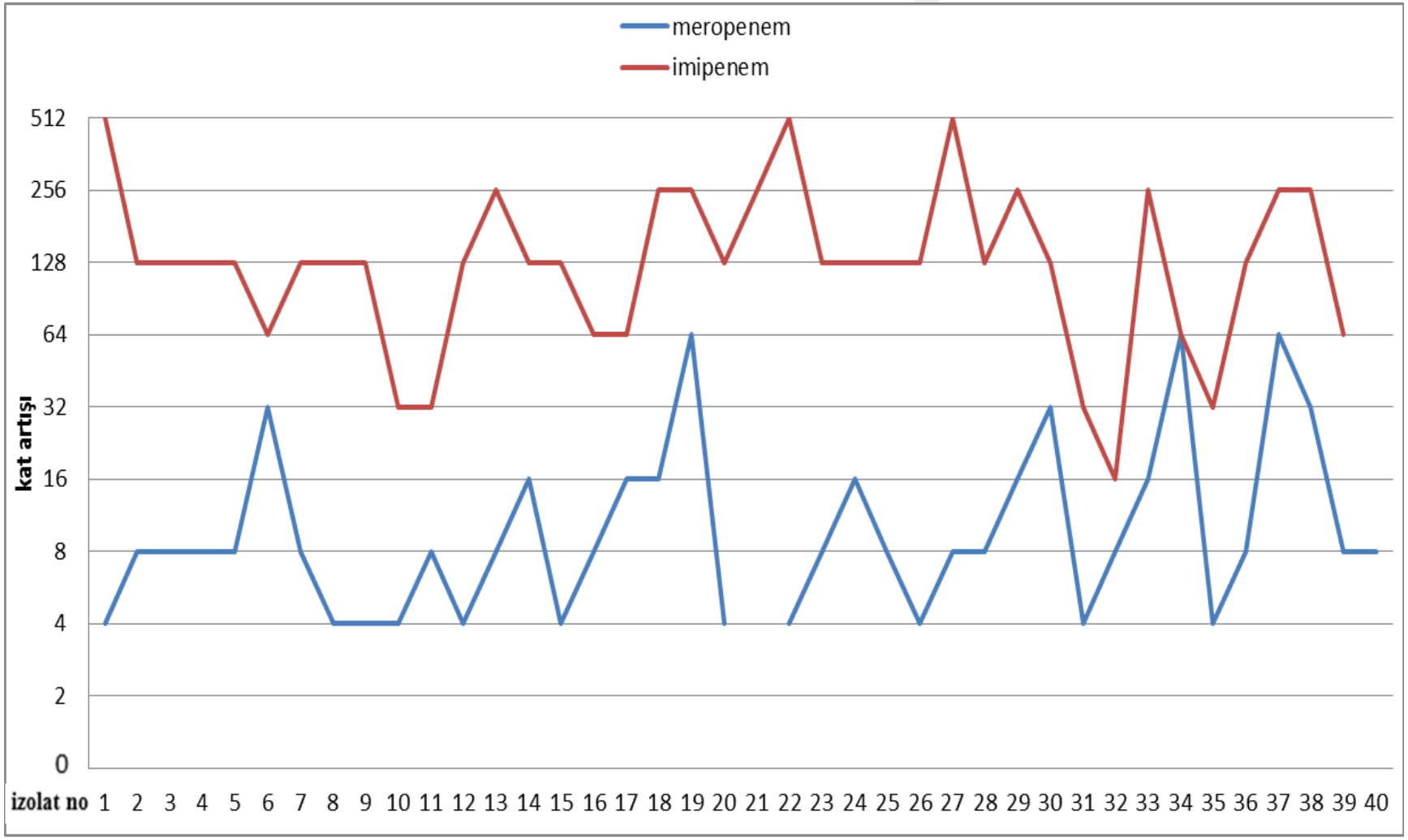


Şekil 11. *K. pneumoniae* izolatlarının imipenem MİK düzeyi artışına göre dağılımı ve oranları

K. pneumoniae izolatlarında meropenem ve imipenem MİK düzeylerindeki artışa göre dağılımları Şekil 12. ve Şekil 13.' de sunulmuştur.



Şekil 12. *K. pneumoniae* izolatlarının meropenem ve imipenem MİK değerlerinde görülen artışa göre dağılımı



Şekil 13. *K. pneumoniae* izolatlarının meropenem ve imipenem MİK düzeylerindeki artışa göre dağılımları

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde, nozokomiyal enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı giderek artan direnç tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Nozokomiyal enfeksiyon etkenleri ciddi salgınlara da neden olduklarından bu etkenlerin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde farklı antibiyotik kombinasyonlarının kullanımı gündeme gelmiştir (Winn ve ark., 2006). Yapılan çalışmalar, önde gelen hastane patojenlerinden olan *A. baumannii* izolatlarında antibiyotik direncinin giderek arttığını ortaya koymaktadır (Paterson, 2006). Özellikle hastane ortamında yaygın olarak bulunan ve insan vücudunda kolayca kolonize olarak yaşamı tehdit eden *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kombine antibiyotik tedavisi uygulamalarıyla dirençli izolatlara karşı sinerjik etki sağlanabilmekte ayrıca ilaçların doza bağlı toksisitesi azaltılmaktadır. *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde genellikle bir aminoglikozitle birlikte imipenem, piperasilin veya tikarsilin verilmektedir (Winn ve ark., 2006).

MYSTIC grubunun 1997-2000 yıllarında yaptığı, onbir Avrupa ülkesinden 37 hastanenin katıldığı bir izlem çalışmasında, incelenen *Acinetobacter* izolatlarında imipenem direnci %16, meropenem direnci ise %14 gibi düşük oranlarda saptanmıştır. Çalışmada, piperasilin-tazobaktam, seftazidim, siprofloksasin ve tobramisine direnç oranları sırasıyla %39, %45, %53, %41 gibi çok daha yüksek düzeyde bulunmuştur. Bu çalışmada Türkiye'ye ait *Acinetobacter* spp. izolatlarında imipenem direnci %38, meropenem direnci %34 olarak saptanırken izolatların %80'inden fazlasının piperasilin-tazobaktam, seftazidim ve siprofloksasine dirençli olduğu ortaya konulmuştur (Turner ve Greenhalgh, 1997).

2000-2003 yıllarında yapılan MYSTIC çalışmasında, Türkiye'den izole edilen *Acinetobacter* spp. izolatlarının %42'sinin meropenem, %48'inin imipenem, %84'ünün seftazidim, %91'inin sefotaksim, %82'sinin piperasilin-tazobaktam, %79'unun siprofloksasine dirençli olduğu görülmüştür (Korten ve ark., 2007).

Nozokomiyal enfeksiyonlarda sıklıkla karşımıza çıkan diğer bir patojen *K. pneumoniae*'dir. Bu patojenin neden olduğu enfeksiyonlarda karbapenemler, geniş spektrumlu olmaları ve beta-laktamazların birçoğuna oldukça dayanıklı olmaları sebebiyle genellikle ilk seçenek olarak kullanılan ajanlar arasındadır. Ancak etkili antibiyotikler olarak kabul edilen bu ajanların tedavide kontrolsüz kullanımı, direnç sorununu da beraberinde getirmektedir (Carrer ve ark., 2008).

K. pneumoniae yol açtığı geniş enfeksiyon yelpazesinin yanı sıra, GSBL üretimiyle ortaya çıkan direnç sorunuyla da gündemde yer almaktadır. Yapılan çalışmalarda, GSBL üreten *Klebsiella* suşlarında karbapenemlerin ilk tedavi seçenekleri arasında yer aldığı görülmektedir (Bradfort ve ark., 1997). Klinikte GSBL üreten suşlarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde karbapenemler, kısmen β-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar ve sefamisinler kullanılmaktadır (Dizbay ve ark., 2004).

Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* oranı CDC National Healthcare Safety Network 2008 verilerine göre Amerika Birleşik Devletleri'nde %3.6-10.8 olarak bildirilirken, (www.hpsc.ie/hpsc/A-Z/Microbiology Antimicrobial Resistance Survellance System EARSS/Şubat 2011), EARS verilerine göre Avrupa' da % 0.6 olarak bildirilmiştir (Hidron ve ark., 2008).

Çok merkezli MYSTIC çalışmasının 2000-2003 yılları verilerine göre, ülkemizde gram negatif bakterilerin meropeneme % 99.3, imipeneme % 97.6 duyarlı olduğu saptanmıştır (Korten ve ark., 2007).

Bu çalışmalar ışığında, bu iki patojen için, her ne kadar giderek artan oranlarda direnç bildiriliyorsa da, az sayıda da olsa karbapenem duyarlı olan izolatların etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde bu antibiyotiklerin kullanımının önemi ortadadır.

NAC mukolitik olarak yaygın kullanılan bir ajandır (Winn ve ark., 2006; Bartual ve ark., 2005). Solunum yolu enfeksiyonu hastalıklarında koyu kıvamlı mukusun azaltılması, atılması ve öksürüğü kolaylaştırmasının yanında akciğerde oksidatif hasarın önlenmesi amacıyla da kullanılmaktadır (Goodman ve Gilman's, 2011). Mukolitik etkisinin yanı sıra asetaminofen zehirlenmesinde tedavi edici bir ajan olarak da kullanılır. NAC'nin bakterilerin antibiyotik duyarlılığı üzerindeki etkisi çeşitli çalışmalara konu olmuş ve bu ajanın kinolonlar, makrolidler, tetrasiklin ve

kloramfenikol gibi çeşitli antibiyotiklerin etkisini antogonistik mekanizma ile azalttığı gösterilmiştir (Winn ve ark., 2006; Bartual ve ark., 2005).

2015 yılında (Rodríguez ve ark.) *A. baumannii* ATCC 17978 referans kökeni kullanılarak yapılan çalışmada; sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle meropenem MİK değeri 0.25 mg/L olarak saptanmış; meropenem NAC ile kombine edilerek deney tekrar edildiğinde, MİK değeri değişmemiş ve yine 0.25 mg/L olarak bulunmuştur. (Jerónimo Rodríguez-Beltrán ve ark., 2015).

Bizim çalışmamız, ülkemizde NAC'nin karbapenem duyarlılığı üzerindeki etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamızda, NAC varlığında, meropenem minimal inhibitör konsantrasyon düzeylerindeki değişimler incelendiğinde; *A. baumannii* grubunda 2-64 kat, *K. pneumoniae* grubunda 4-64 kata varan MİK artış oranları belirlenmiştir. *A. baumanni* grubunda üç izolatta MİK düzeylerinde değişiklik görülmemiştir. MİK düzeylerinde değişiklik olmayan üç *A. baumannii* izolatı farklı kliniklerden alınan idrar, doku ve balgam örneklerinden izole edilmiştir. *K. pneumoniae* grubunda ise sadece bir izolatta MİK düzeyinde değişiklik görülmemiştir, bu izolat periton sıvısı örneğinden elde edilmiştir.

Çalışmamızda NAC varlığında, meropenem MİK düzeylerindeki artış incelendiğinde; *K. pneumoniae* grubu izolatların %27,5'inde 4 kat, %40'ında 8 kat, %15'inde 16 kat, %7.,5'inde 32 kat, %7,5'inde 64 kat artış görülürken, %2,5'inde meropenem MİK düzeyinde artışı görülmemiştir. EUCAST ve CLSI kriterlerine göre *K. pneumoniae* grubu izolatlarda meropenem duyarlı durumdan dirençli duruma geçen izolat saptanmamıştır.

K. pneumoniae grubu izolatlarda, meropenem açısından duyarlı kategoriden dirençli kategoriye geçen izolat saptanmamıştır.

NAC varlığında, *A. baumannii* grubu izolatların %21,5'inde 2 kat, %28,5'inde 4 kat, %7,1'inde 8 kat, %7,1'inde 16 kat, %14,3'ünde 64 kat meropenem MİK artışı görülürken, %21,5'inde de meropenem MİK düzeyi değişmemiştir. EUCAST ve CLSI kriterlerine göre değerlendirdiğimizde, bir adet *A. baumannii* izolatının (%7,1) meropenem duyarlı kategoriden dirençli kategoriye geçtiği saptanmıştır.

Rodríguez-Beltrán ve ark. gerçekleştirdiği, *A. baumannii* ATCC 17978 referans kökeni kullanılarak yapılan çalışmada, kökenin imipenem MİK değeri 0,5 mg/L olarak saptanmış, imipenemin NAC ile kombine şekilde kullanılmasıyla MİK

değerinin 8 mg/L'e yükseldiği belirlenmiştir. Yani, kullanılan standart kökenin imipenem MİK değeri, NAC varlığında 16 kat artış göstermiştir (Jerónimo Rodríguez-Beltrán ve ark., 2015).

Çalışmamızda NAC varlığında, imipenem minimal inhibitör konsantrasyon düzeylerindeki değişimler incelendiğinde; *A. baumannii* grubunda 2-64 kat, *K. pneumoniae* grubunda ise 16-512 kata varan MİK artış oranları belirlenmiştir.

NAC varlığında, imipenem MİK düzeylerindeki artış irdelendiğinde; *K. pneumoniae* grubu izolatların %2,5'inde 16 kat, %10'unda 32 kat, %10'unda 64 kat, %50'sinde 128 kat, %20'sinde 256 kat, %7,5'inde 512 kat MİK artışı olduğu görülmüştür. EUCAST ve CLSI kriterlerine göre değerlendirdiğimizde, *K. pneumoniae* izolatlarının tamamının (%100) imipenem duyarlı kategoriden dirençli kategoriye geçtiği görülmektedir. *A. baumannii* grubundaki izolatların imipenem MİK değerlerini irdelediğimizde, NAC varlığında %7,1'inde 2 kat, %14,3'ünde 4 kat, %35,7'sinde 8 kat, %21,5'inde 16 kat, %14,3'ünde 32 kat, %7,1'inde 64 kat artış olduğu görülmüştür. EUCAST kriterlerine göre imipenem duyarlı iken dirençli kategorisine geçen *A. baumannii* izolatı saptanmamıştır. CLSI kriterlerine göre değerlendirildiğinde ise, imipenem duyarlı iken, NAC varlığında dirençli kategorisine geçen iki adet *A. baumannii* izolatı (%14,3) saptanmıştır. Bu izolatlar endotrakealaspirat ve balgam örneklerinden elde edilmiştir.

K. pneumoniae ve *A. baumannii* izolatlarının izole edildikleri örnek türleri ile MİK değerlerinde görülen değişim arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir.

Üç adet *A. baumannii* ve bir adet *K. pneumoniae* izolatında meropenem MİK düzeylerinde NAC varlığında bir değişim olmamıştır. Bu izolatlarda imipenem MİK düzeyinde NAC varlığında ortaya çıkan değişimleri incelediğimizde, ilginç bir şekilde, üç *A. baumannii* izolatının imipenem MİK'lerinde 8, 16 ve 64 kat artış olduğu, *K. pneumoniae* izolatında ise 256 kat bir MİK artışı ortaya çıktığı dikkat çekmektedir. Bu durum, NAC'ın antagonistik etkisinin de gerçekleştiği noktada, meropenem ve imipenemin hücreye giriş mekanizmalarında bir farklılık olduğunu düşündürmekte ve bu dört izolatta meropenemin hücreye girişini sağlayan mekanizmada oluşan bir değişiklik (mutasyon, porin kaybı vb) nedeniyle, NAC'nin antagonistik etkisini sergileyememiş olabileceğini akla getirmektedir. Dolayısıyla, *A. baumannii* izolatlarında; NAC etki mekanizmasının, dış membran porinlerinden 29-

kDa ağırlığındaki, karbapenemlere özgü CarO'nun kaybına ya da porin protein sayısını değiştiren mutasyonlara bağlı olduğu düşünülebilir.

K. pneumoniae izolatlarında; NAC varlığında meropenem duyarlılığının azalması ve imipeneme karşı direncin ortaya çıkmasında çeşitli mekanizmaların rol aldığı düşünülmüştür. NAC etkisiyle karbapenemlerin hücre içine girişini sağlayan OmpK35 ve OmpK36 porinlerinin ekspresyonunun baskılanması söz konusu olabilir veya daha olası bir mekanizma olarak; NAC, karbapenemlerle ile aynı bağlanma noktalarına bağlanarak ilacın porinden geçişinin blokajına sebep olabilir.

NAC molekülünün karbapenemlere özgü porin proteinlerine bağlanma özelliklerinin ortaya çıkarılmasıyla, bu fenomenin altında yatan mekanizmanın aydınlatılabileceği düşünülmektedir. Tüm bunların yanı sıra; NAC etkisiyle karbapenemlere etkili efluks pompası ekspresyonunun artması ya da bakteride lipopolisakkarit tabakadaki modifikasyonlar direnç gelişimi ile ilişkilendirilebilecek diğer olası mekanizmalar olarak akla gelebilir.

Sonuç olarak; *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* izolatlarında meropenem ve imipenem duyarlılığı, NAC varlığında belirgin şekilde azalmaktadır. Buna ek olarak, NAC varlığında, karbapenem duyarlı *K. pneumoniae* izolatlarında direnç gelişimi söz konusudur. Her iki bakteride de, NAC ile ortaya çıkan bu dirence neden olan mekanizmanın derinlemesine araştırılması gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

Akalın H, Özakın C, Kahveci F, Sütçü Ş, Helvacı S, Gedikoğlu S. Hastane kökenli pnömoniler. *Flora,* 1999; 4: 253-7.

Akan E., 1992. Genel Mikrobiyoloji ve İmmunoloji, Çukurova Üniversitesi Tıp Fak., Adana, 16: 56-89.

Akman, S. 2008. Klinik Örneklerden iİzole Edilen *Klebsiella* Bakterilerinin İdentifikasyonu ve Enzimatik Aktivitesi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, s. 5, 8, 35.

Allen DM, Hartman BJ. *Acinetobacter* species. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, eds. Principles and practice of infectious diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier, 2010: 2881-2885.

Aydemir H, Yalçı A, Pişkin N, Gürbüz Y, Türkyılmaz R. (2006). *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının ESBL üretme ve antibiyotik direnç oranları. *Klimik Dergisi*, 19: 63-8.

Aydoğan H, Başustaoğlu A. (2000). Nozokomiyal patojen olarak *Klebsiella* türlerinin mikrobiyolojik, klinik ve epidemiyolojik özellikleri. Hastane Enfeksiyonları Dergisi, 4: 135-143.

Aygül A. Antibiyotik Direncinde Dışa Atım Sistemlerinin ve Dirençle Mücadelede Dışa Atım Pompa İnhibitörlerinin Önemi. Mikrobiyol Bul 2015; 49(2): 278-91.

Bahar İH, Esen N. *Acinetobacter* türleri ve diğer gram negatif nonfermentatif basiller. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (Eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 2008; 2195-2201.

Bartual SG, Seifert H, Hippler C, Luzon MA, Wisplinghoff H, Rodriguez-Valera F. Development of a multilocus seguence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol 2005;43 (9):4382-4390.

Basoli A, Az M, Mazzocchi P, Speranza V**,** and study group. Iimipenem/silastatin (1,5 g daily) versus Meropenem (3,0 g daily) in patients with intraabdominal infections: Results of prospective, randomized, multicentre trial. Scand J Infect Dis 1997;29:503-8.

Başustaoğlu A, Özyurt M: Nozokomiyal patojen olarak Acinetobacter'lerin mikrobiyolojik, klinik ve epidemiyolojik özellikleri, *Hastane Enfeksiyon Derg.* 1998;2(2):288-93.

Başustaoğlu A. Klinik Mikrobiyoloji. 9. Baskı ed. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2009.

Bergogne-Berezin E, Towner KJ**:** *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features, *Clin Microbiol Rev* 1996;9(2):148-65.

Bergogne-Berezin E. Importance of *Acinetobacter* spp. Ed: Bergogne-Berezin E. *Acinetobacter* Biology and Pathogenesis; 1-85, Springer, Paris, France 2008.

Berlau J, Aucken H, Malnick H, Pitt T. Distribution of *Acinetobacter* species on skin of healthy humans. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1999; 18:179- 183.

Bilgehan H: Enterobacteriaceae. Klinik Mikrobiyolojik Tanı içinde. Beşinci baskı. Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, İzmir, 2009, s. 425-454.

Bilgehan H. Enterobacteriaceae Familyası. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları Kitabı, Bilgehan H._zmir, 2000, 1-103.

Bilgehan, H., 2000. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, 10. baskı, Barış Yayınları, İZMİR, 59-69.

Bimbaum J, Kahan FM, Kroop H. Carpapenems, a new class of beta-lactam antibiotics: Discovery and development of imipenem-cilastatin. Am J Med 1985:78 (Suppl 6A):3-21.

Bonfiglio G, Russo G, Nicoletti G. Recent developments in carbapenems. Expert Opin Investig Drugs. 2002;11(4):529-44.

Bradford PA, Urban C, Mriano N, Projan SJ, Rahal JJ, Bush K.(1997). Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC β-lactamase, and the loss of an outer membrane protein. Antimicrob Agents Chemother , 41: 563-569.

Bratu S, Landman D, Martin DA, Georgescu C, Quale J. Correlation of antimicrobial resistance with beta lactamases, the OmpA-like porin, and efflux pumps in clinical ısolates of Acinetobacter baumannii endemic to New York City. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2008; 52: 2999-3005.

Camkıran A. ve ark. Cerrahi yoğun bakım ünitelerinde çok ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* enfeksiyonlarının ön belirleyicileri. Yoğun Bakım Derg, 2011; 9: 8-53.

Carrer A, Poirel L, Eraksoy H, Cagatay A, Badur S, Nordmann P. Spread of OXA-48 positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isoletes in İstanbul, Turkey, Antimicrob Agents Chemother 2008;52(8):2950-4.

Choi, C. H., Lee, E. Y., Lee, Y. C., Park, T. I., Kim, H. J., Hyun, S. H., Kim, S. A., Lee, S. K., Lee, J. C. (2005). Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells, *Cell Microb*, 7: 1127–1138.

Chu Y W, Leung C M, Houang E T, Ng K C, Leung C B, Leung H Y, Cheng AF. Skin Carriage of *Acinetobacters* in Hong Kong. J. Clin Microbiol.1999; 37: 2962-2967.

Coyne S, Courvalin P, Périchon B. Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55(3): 947-53.

DeBord, G.G. Organisms invalidating the diagnosis of gonorrhea by the smear method. *J. Bact.*1939;38:119.

Del Mar Tomás M, Beceiro A, Pérez A et al. Cloning and functional analysis of the gene encoding the 33- to 36-kilodalton outer membrane protein associated with carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*, Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(12):5172-5.

De Flora S, Grassi C, Carati L. Attenuation of influenza-like symptomatology and improvement of cell-mediated immunity with long-term N-acetylcysteine treatment. Eur Respir J 1997; 10(7):1535-41.

Dizbay M, Karakuş R, Arman D.(2004). Hastane infeksiyonu etkeni gram-negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığının saptanması. Hastane İnfeksiyonları Dergisi , 8: 40-5.

Dupont M, Pagès JM, Lafitte D, Siroy A, Bollet C. Identification of an OprD homologue in *Acinetobacter baumannii*, J Proteome Res 2005;4(6):2386-90.

Erdem B. Enterobacteriaceae, "Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji" kitabı s.471-515, Güneş Kitabevi, Ankara (1999).

Esen S, Leblebicioğlu H. Prevalence of nosocomial infections of intensive care units in Turkey: A multicentre 1-day point prevalence study. Scand J Infect Dis 2004; 36: 144-8.

European Antimicrobial Resistance Surveillance System, http:/ www.hpsc.ie/hpsc/A-Z/Microbiology Antimicrobial Resistance Survellance System EARSS/(accesdinFebruary2011)

Flanagan, RJ. The role of acetylcysteine in clinical toxicology. *Med Toxicol*. 1987;2:93–104.

Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS: *Enterobacteriaceae*. In Bailey&Scott's Diagnostic Microbiology. Elevent Edition, 2002, pp. 365-377.

Forgia CL, Franke J, Hacek DM, Thomson RB, Robicsek A, Peterson LR. Mangement of a multidrug-resistant *Acinetobacter baumanni* outbreak in an intensive care unit using novel environmental disinfection: A 38-month report. Am J Infect Control 2010; 38:259-263.

García-Fernández A, Miriagou V, Papagiannitsis CC, Giordano A, Venditti M, Mancini C, Carattoli A.. An ertapenem resistant extendedspectrum beta lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* clone carries a novel OmpK36 porin variant. Antimicrobial Agents of Chemotherapy, 2010, 54(10): 4178-4184.

García-Garmendia JL, Ortiz-Leyba C, Garnacho-Montero J, Jiménez-Jiménez FJ, Pérez-Paredes C, Barrero-Almodóvar AE, Gili-Miner M. Risk factors for

Acinetobacter baumannii nosocomial bacteremia in critically ill patients: a cohort study. Clin Infect Dis. 2001; 33:939-946.

Gaynes R, Edwards J.R, Overview of Nosocomial Infections Caused by Gram-Negative Bacilli. Clin. Infect. Dis. 2005; 41:848-854.

Gerner-Smidt P, Tjernberg I, Ursing J. Reliability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. J Clin Microbiol.1991; 29:277-282.

Getchell-White, S. L, L. G. Donowitz ve D. H. M. Groschel. 1989. The inanimate environment of an intensive care unit as a potential source of nosocomial bacteria: evidence for long survival of *Acinetobacter calcoaceticus*. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*. 10:402-407.

Goic-Barisic I, Tonkic M. The review of carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*, Acta Med Croatica 2009;63(4):285-96. PMid:20034329

Goodman&Gilman's: The pharmacological basis of therapeutres 2011; 12th ed: 694-695.

Gouby A, Neowirth C, Bourg G, Bouziges N, Charles-Nurit MJ et al.(1994). Epidemiological study by pulsed-field gel electrophore sis of an outbreak of extended-spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in a geriatric hospital. *J Clin Microbiol* , 32: 301-305.

Gür D, Hascelik G, Aydın N, et al. Antimicrobial resistance in gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 surveillance study of 2007. J Chemother 2009; 21:383-9.

Hartzel DJ, Kim SA, Kortepeter MG, Moran KA. *Acinetobacter* Pneumonia: A Review.*Med Gen Med*. 2007; 9: 4-11.

Hidron Al, Edwards JR, Patel J et al. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007, Infect Control Hosp Epidemiol 2008;29(11):99-1011.

Holdiness MR. Clinical pharmacokinetics of N-acetylcysteine. Clin Pharmacokinet 1991; 20(2):123-34.

Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Taley JT, Illiams St. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th (International) Ed. Baltimore: *Williams and Wilkins* 1994:129.

Howard, A., O'Donoghue, M., Feeney, A., Sleator, R. D. (2012). *Acinetobacter baumannii* An emerging opportunistic pathogen, *Landes Biosci*, 3: 243–250.

Işık F.(2007). Kan kültürlerindenizole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz saptanmasında üç yöntemin karşılaştırılması ve antimikrobiyal duyarlılıklarının araştırılması. Uzmanlık tezi. Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Mikrobiyolji ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Konya.

Jackson JJ, Kroop H. Beta-lactam antibiotics induced release of free endotoxin: *In vitro* comparison of penicillin-binding protein PBP2-specific imipenem and PBP3-specific ceftazidim. J Infect Dis 1992;165:1033-41.

Jacoby Ga, Archer Gl. New mechanism of bacterial resistance to antimicrobial agents. New Engl J Med 1991, 324 : 601-612.

Jerónimo Rodríguez-Beltrán, Gabriel Cabot, Estela-Ynés Valencia, Coloma Costas, German Bou, Antonio Oliver and Jesús Blázquez. N-acetylcysteine selectively antagonizes the activity of imipenem in *Pseudomonas aeruginosa* by an OprD-mediated mechanism. Antimicrob. Agents Chemother. 2015 Mar 23. pii: AAC.00017-15.

Karagöl Ç. Hastane kökenli *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları ve imipenem dirençli izolatların genotiplenmesi, *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Uzmanlık Tezi, Edirne, 2008: 69s.

Kitzis MD, Acar JF, Gutmann L. Antibacterial activity of meropenem against gramnegative bacteria with a permeability defect and against *Staphylococci.* J Antimicrob Chemother 1989;24 (suppl A):125-32.

Koneman, E.W., Allen, S.D., Jonda, W. M., Schreckenber., P. C., and Winn W.C., Jr., 1997. Enterobacteriaceae, Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5thed., Lippincott Company, Philadelphia, Newyork, 171.

Korten V, Ulusoy S, Zarakolu P, Mete B, Turkish MYSTIC Study Group. Antibioticresistance surveillance over a 4-year period (2000-2003) in Turkey: results of the MYSTIC Program. Diagn Microbiol Infect Dis 2007; 59:453-457.

Le J, Castanheira M, Burgess DS, McKee B, Iqbal R, Jones RN: Clonal dissemination of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase KPC-3 in Long Beach, California, J Clin Microbiol 2010;48(2): 623-5.

Leblebicioğlu H, Rosenthal VD, Arıkan AÖ, Özgültekin A, Yalçın AN, Koksal I, Usluer G, Sardan YC, Ulusoy S. Device-associated hospital-acquired infection rates in Turkish intensive care units. Findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) J Hosp Infect 2007; 65: 251-257.

Livermore DM, Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995; 8(4) : 557-584.

Livermore DM, Woodford N. Carbapenemases: a problem in waiting?. Curr Opin Microbiol 2000;3:489-95.

Lortholary O, Fagon J-Y, Hoı AB, Slama MA, Pıerre J, Gıralt P, Rosenzweıg R, Gutmann L, Safar M, Acar J. (1995). Nosocomial acquisition of multi-resistant *Acinetobacter baumannii* : Risk factors and prognosis. Clin Infect Dis. 20:790-6.

Marchand I, Damier-Piolle L, Courvalin P, Lamber T. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in Acinetobacter baumannii is regulated by the AdeRS two-component system. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48(9), 3289-304.

Martinez-Martinez L., Pascual A., Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. Lancet 1998; 351: 797–99.

Martinez-Martinez L., Cano ME., Rodriguez-Martinez JM., Calvo J. Plasmidmediated quinolone resistance. Expert Rev Anti Infect Ther. 2008; 6(5): 685-711.

Moldeus P, Cotgreave IA, Berggren M. Lung protection by a thiol-containing antioxidant: N-acetylcysteine. Respiration 1986; 50 Suppl 1:31-42.

Munoz-Price L, Weinstein R. *Acinetobacter* Infection. N Engl J Med. 2008; 358:1271-81.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA: *Enterobacteriaceae* (çev. Zarakolu Köşker IP). Tıbbi Mikrobiyoloji (Medical Microbiology) içinde. AC Başustaoğlu (Ed). Altıncı baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara, 2010, s. 301-315.

Öngen B., '*Escherichia* enfeksiyonları ve *Klebsiella* enfeksiyonları ' Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 197-205, 221-226 (2008).

Paterson DL.The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. Clin Infect Dis 2006; 43:43-48.

Pekşen Y.(1993). Hastane enfeksiyonlarının epidemiyolojisi. Enfeksiyon Hastalıkları Klimik Dergisi,6:100-1.

Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. Clin. Microbiol. Rev. 2008; 21(3):538-582.

Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK. Global challenge of multi-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51:3741-3784.

Podscun R, Ullmann U. (1998). Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev ; 11: 589-603.

Poirel L, Naas T, Nordmann P: Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2010;54(1):24-38.

Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem-hydrolizing beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:223-32.

Rumbo C, Gato E, López M, Ruiz de Alegría C, Fernández-Cuenca F, Martínez- Martínez L, Vila J, Pachón J, Cisneros JM, Rodríguez-Baño J, Pascual A, Bou G, Tomás M. Contribution of efflux pumps, porins, and β-lactamases to multidrug resistance in clinical isolates of Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother. 2013; 57(11): 5247-57.

Sechi LA, Karadenizli A, Deriu A, et al. PER-1 type beta-lactamase production in *Acinetobacter baumannii* is related to cell adhesion. Med Sci Monit 2004;10(6):180-4.

Seifert H, Strate A, Pulverer G. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*. Clinical features, epidemiology, and predictors of mortality. Medicine 1995; 74:340-349.

Seifert, H., L. Dijkshoorn, P. Gemer-Smidt, N. Pelzer, L Tjemberg ve M. Vaneechoutte. 1997. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin: comparison of phenocypic and genotypic identification methods. *J. Clin. Microbiol*. 35:2819-2825.

Schreckenberger PC, Graevenitz A. *Acinetobacter, Achromobacter, Alcaligenes, Moraxella, Methylobacterium*, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH (Eds.). *Manuel of Clinical Microbiology. 7 th ed. Washington DC*: ASM pres; 1999; 539-60.

Siroy A, Molle V, Lemaître-Guillier C et al. Channel formation by CarO, the carbapenem resistanceassociated outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii,* Antimicrob Agents Chemother 2005;49(12):4876-83.

Spapen H, Zhang H, Demanet C, Vleminckx W, Vincent JL, Huyghens L. Does N-acetylL-cysteine influence cytokine response during early human septic shock? Chest 1998; 113(6):1616-24.

Speller DCE, Humphreys H. Hospital-acquired infection. In: Collier L, Balows A,Sussman M (Eds.). Topley&Wilson's Microbiology and microbial infections. 9th ed.London: Arnold; 1998.p.187–229.

Stewart S, Ryan C, Poropat S. Managing patients with acute myocardial ischemia and reperfusion injury with N-acetylcysteine. Dimens Crit Care Nurs 1997; 16(3):122-31.

Song W, S.B., Choi JY, Jeong SH, Jeon EH, Lee YK, Hong SG, Lee K. In vivo selection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* by OmpK36 loss during meropenem treatment. Diagn Microbiol Infect Dis,2009; 65(4): 447-449.

Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M,' İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi ' Nobel Tıp Kitabevleri, Cilt.1: Özgüven V, Dizer U, :Diğer Beta Laktamlar 2008; 212-214.

Towner K J. *Acinetobacter*: an old friend, but a new enemy. J HospInfect. 2009; 73(4):355-63.

Turner PJ, Greenhalgh JM. MYSTIC Study Group (Europe): The activity of meropenem and comparators against *Acinetobacter* strains isolated from European hospitals, 1997-2000. Clin Microbiol Infect 2003; 9:563-567.

Tunçkanat, F., 1993. Üriner Sistem Enfeksiyonu Patogenezinde Bakteriyel Virulans Faktorleri, Klimik Dergisi, 6:3.

Ustaçelebi, Ş. ED ., Mutlu G., İzmir T., Cengiz A., Tumbay E., ve Mete O., 1999. Temel ve Klinik Mikrobiyoji. 91-109, 509-511.

Vale JA, Proudfoot AT. Paracetamol (acetaminophen) poisoning. Lancet 1995; 346(8974):547-52.

Van Herwaarden CL, Bast A, Dekhuijzen PN. The role of N-acetylcysteine in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. Neth J Med 1995; 47(2):45-8.

Van Zandwijk N. N-acetylcysteine (NAC) and glutathione (GSH): antioxidant and chemopreventive properties, with special reference to lung cancer. J Cell Biochem Suppl 1995;22:24-32.

Vila J, Martí S, Sánchez-Céspedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 2007; 59:1210-1215.

Villegas MV, Hartsteın AI. (2003) *Acinetobacter* outbreaks, 1977-2000. Infect Control Hosp Epidemiol. 24: 284-95.

Vincent JL, Rello J, Marshall J, et al. EPIC II Group of Investigators. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. JAMA 2009;302:2323-2329.

Webb WR. Clinical evaluaton of a new mucolytic agent, acetyl-cysteine. *J Thorac Cardiovasc Surg.*1962 Sep;44:330–343.

Winn J, Stephen A, William J, Elmer K, Gary P, Schreckenberger P. Gail Woods Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology Washington. Altıncı baskı, Lippincott Williams & Wilkins 2006: 353-355.

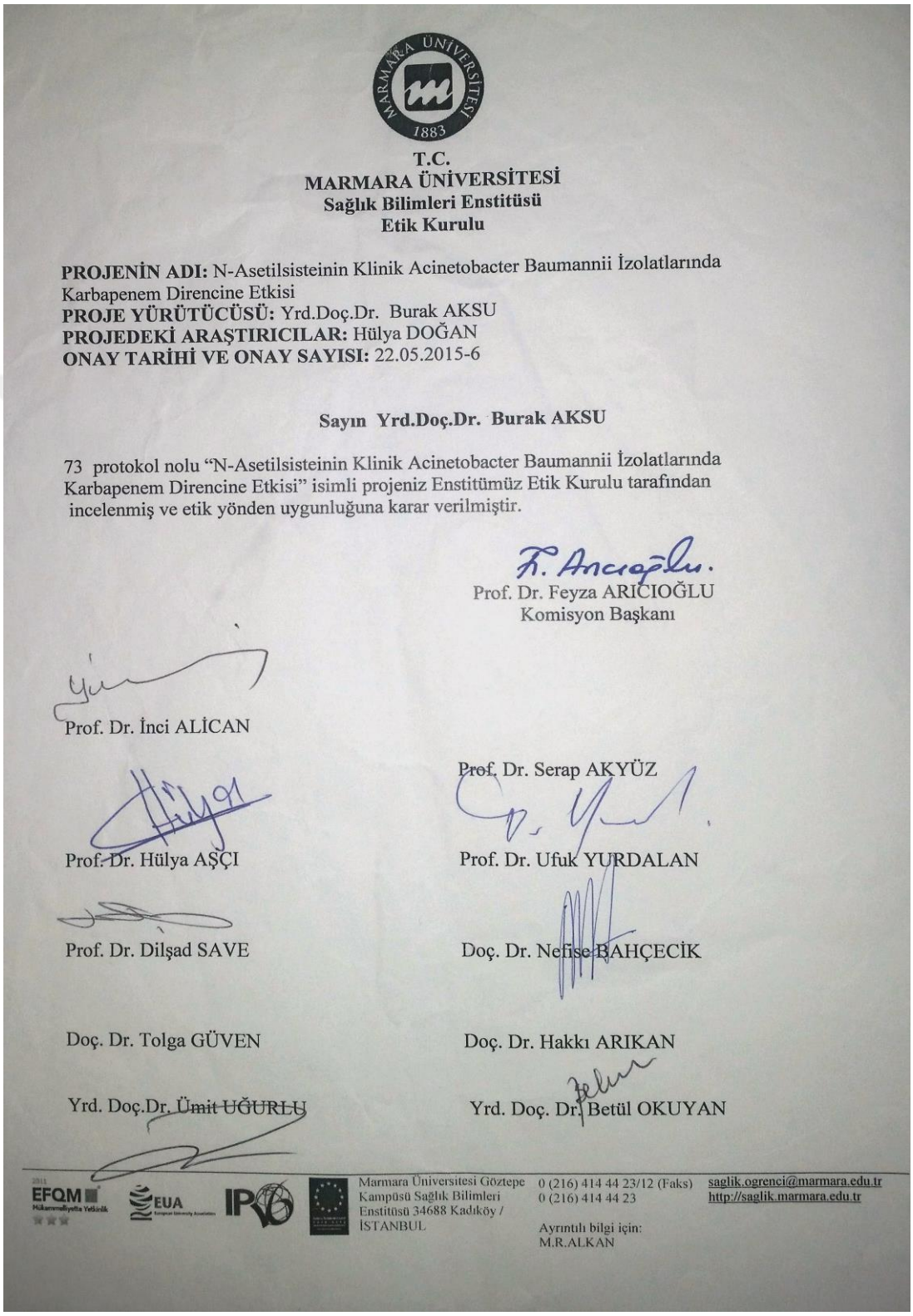
Wong JW, Ebeler SE, Rivkah-Isseroff R, Shibamoto T. Analysis of malondialdehyde in biological samples by capillary gas chromatography. Anal Biochem 1994; 220(1):73-81.

Yang Y, Bhached N, Bush K. Biochemical comparison of imipenem, meropenem and biapenem: Permeability, binding to penicillin-binding proteins, and stability to hydrolysis by beta-lactamases. J Antimicrob Chemother 1995;35:75-84.

Ziment I. Acetylcysteine: a drug that is much more than a mucokinetic. Biomed Pharmacother 1988; 42(8):513-9.

7. EKLER

EK-1 : Etik Kurul Onayı



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Etik Kurulu

PROJENİN ADI: N-Asetilsisteinin Klinik Acinetobacter Baumannii İzolatlarında Karbapenem Direncine Etkisi
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ: Yrd.Doç.Dr. Burak AKSU
PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR: Hülya DOĞAN
ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI: 22.05.2015-6

Sayın Yrd.Doç.Dr. Burak AKSU

73 protokol nolu "N-Asetilsisteinin Klinik Acinetobacter Baumannii İzolatlarında Karbapenem Direncine Etkisi" isimli projeniz Enstitümüz Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve etik yönden uygunluğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Komisyon Başkanı

Prof. Dr. İnci ALİCAN

Prof. Dr. Serap AKYÜZ

Prof. Dr. Hülya AŞÇI

Prof. Dr. Ufuk YURDALAN

Prof. Dr. Dilşad SAVE

Doç. Dr. Nefise BAHÇECİK

Doç. Dr. Tolga GÜVEN

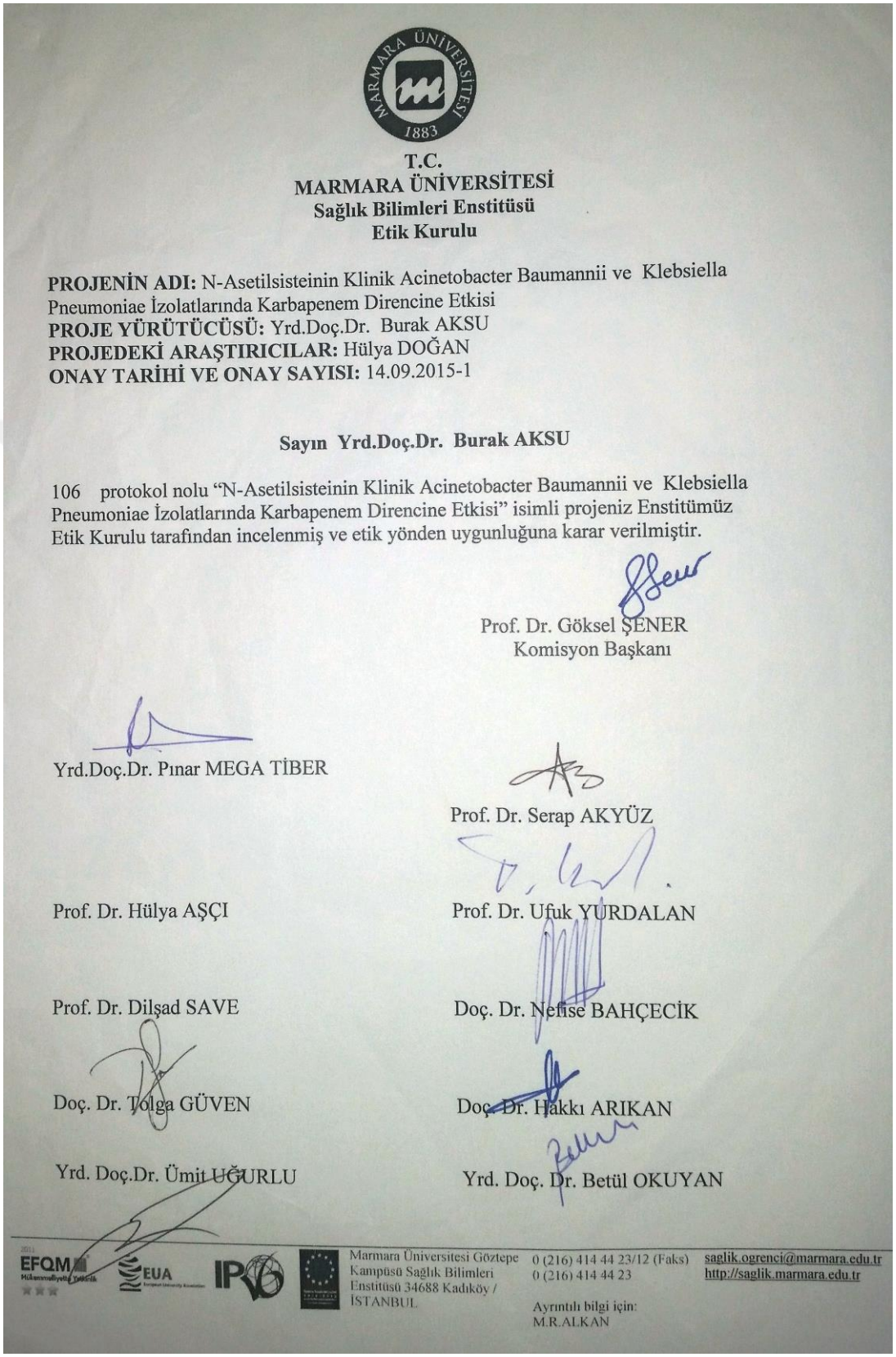
Doç. Dr. Hakkı ARIKAN

Yrd. Doç.Dr. Ümit UĞURLU

Yrd. Doç. Dr. Betül OKUYAN

Marmara Üniversitesi Göztepe Kampüsü Sağlık Bilimleri Enstitüsü 34688 Kadıköy / İSTANBUL
0 (216) 414 44 23/12 (Faks)
0 (216) 414 44 23
Ayrıntılı bilgi için: M.R.ALKAN
saglik.ogrenci@marmara.edu.tr
http://saglik.marmara.edu.tr

EK-2 : Tez Başlığı Değiştirme Formu



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Etik Kurulu

PROJENİN ADI: N-Asetilsisteinin Klinik Acinetobacter Baumannii ve Klebsiella Pneumoniae İzolatlarında Karbapenem Direncine Etkisi
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ: Yrd.Doç.Dr. Burak AKSU
PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR: Hülya DOĞAN
ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI: 14.09.2015-1

Sayın Yrd.Doç.Dr. Burak AKSU

106 protokol nolu "N-Asetilsisteinin Klinik Acinetobacter Baumannii ve Klebsiella Pneumoniae İzolatlarında Karbapenem Direncine Etkisi" isimli projeniz Enstitümüz Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve etik yönden uygunluğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Göksel ŞENER
Komisyon Başkanı

Yrd.Doç.Dr. Pınar MEGA TİBER

Prof. Dr. Serap AKYÜZ

Prof. Dr. Hülya AŞÇI

Prof. Dr. Ufuk YURDALAN

Prof. Dr. Dilşad SAVE

Doç. Dr. Nefise BAHÇECİK

Doç. Dr. Tolga GÜVEN

Doç. Dr. Hakkı ARIKAN

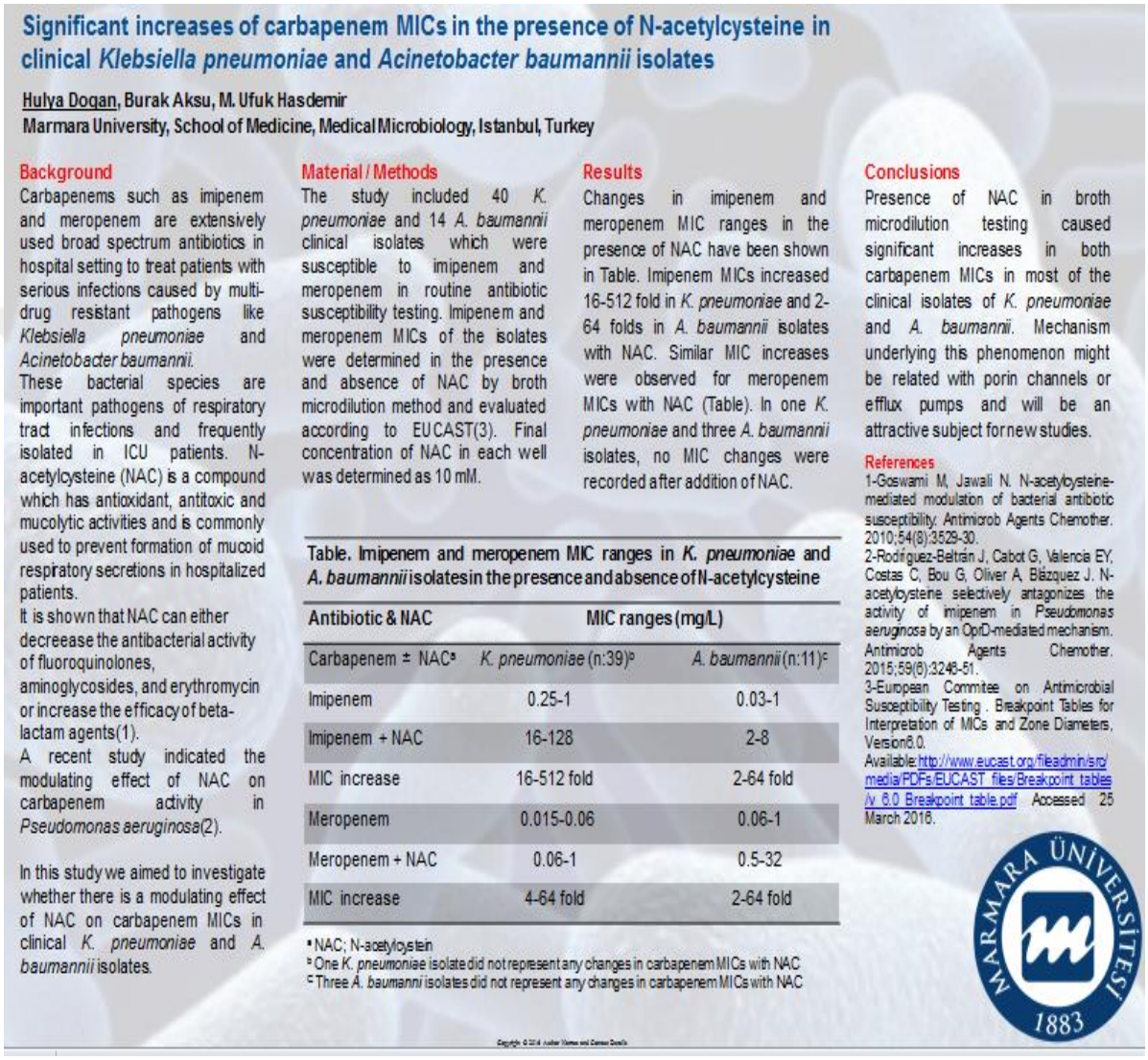
Yrd. Doç.Dr. Ümit UĞURLU

Yrd. Doç. Dr. Betül OKUYAN

Marmara Üniversitesi Göztepe Kampüsü Sağlık Bilimleri Enstitüsü 34688 Kadıköy / İSTANBUL
0 (216) 414 44 23/12 (Faks)
0 (216) 414 44 23
Ayrıntılı bilgi için: M.R.ALKAN
saglik.ogrenci@marmara.edu.tr
http://saglik.marmara.edu.tr

EK-3 : Bildiri Özetleri

ECCMİD-2016 (European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) : P0771 Numaralı Poster



Significant increases of carbapenem MICs in the presence of N-acetylcysteine in clinical *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* isolates

Hulya Dogan, Burak Aksu, M. Ufuk Hasdemir
Marmara University, School of Medicine, Medical Microbiology, Istanbul, Turkey

Background

Carbapenems such as imipenem and meropenem are extensively used broad spectrum antibiotics in hospital setting to treat patients with serious infections caused by multi-drug resistant pathogens like *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii*.

These bacterial species are important pathogens of respiratory tract infections and frequently isolated in ICU patients. N-acetylcysteine (NAC) is a compound which has antioxidant, antitoxic and mucolytic activities and is commonly used to prevent formation of mucoid respiratory secretions in hospitalized patients.

It is shown that NAC can either decreease the antibacterial activity of fluoroquinolones, aminoglycosides, and erythromycin or increase the efficacy of beta-lactam agents(1).

A recent study indicated the modulating effect of NAC on carbapenem activity in *Pseudomonas aeruginosa*(2).

In this study we aimed to investigate whether there is a modulating effect of NAC on carbapenem MICs in clinical *K. pneumoniae* and *A. baumannii* isolates.

Material / Methods

The study included 40 *K. pneumoniae* and 14 *A. baumannii* clinical isolates which were susceptible to imipenem and meropenem in routine antibiotic susceptibility testing. Imipenem and meropenem MICs of the isolates were determined in the presence and absence of NAC by broth microdilution method and evaluated according to EUCAST(3). Final concentration of NAC in each well was determined as 10 mM.

Results

Changes in imipenem and meropenem MIC ranges in the presence of NAC have been shown in Table. Imipenem MICs increased 16-512 fold in *K. pneumoniae* and 2-64 folds in *A. baumannii* isolates with NAC. Similar MIC increases were observed for meropenem MICs with NAC (Table). In one *K. pneumoniae* and three *A. baumannii* isolates, no MIC changes were recorded after addition of NAC.

Table. Imipenem and meropenem MIC ranges in *K. pneumoniae* and *A. baumannii* isolates in the presence and absence of N-acetylcysteine

Antibiotic & NAC	MIC ranges (mg/L)	
Carbapenem ± NAC[a]	*K. pneumoniae* (n:39)[b]	*A. baumannii* (n:11)[c]
Imipenem	0.25-1	0.03-1
Imipenem + NAC	16-128	2-8
MIC increase	16-512 fold	2-64 fold
Meropenem	0.015-0.06	0.06-1
Meropenem + NAC	0.06-1	0.5-32
MIC increase	4-64 fold	2-64 fold

[a] NAC; N-acetylcystein
[b] One *K. pneumoniae* isolate did not represent any changes in carbapenem MICs with NAC
[c] Three *A. baumanni* isolates did not represent any changes in carbapenem MICs with NAC

Conclusions

Presence of NAC in broth microdilution testing caused significant increases in both carbapenem MICs in most of the clinical isolates of *K. pneumoniae* and *A. baumannii*. Mechanism underlying this phenomenon might be related with porin channels or efflux pumps and will be an attractive subject for new studies.

References

1-Goswami M, Jawali N. N-acetylcysteine-mediated modulation of bacterial antibiotic susceptibility. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54(8):3529-30.
2-Rodríguez-Beltrán J, Cabot G, Valencia EY, Costas C, Bou G, Oliver A, Blázquez J. N-acetylcysteine selectively antagonizes the activity of imipenem in *Pseudomonas aeruginosa* by an OprD-mediated mechanism. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(6):3246-51.
3-European Commitee on Antimicrobial Susceptibility Testing . Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters, Version6.0.
Available:http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_6.0_Breakpoint_table.pdf Accessed 25 March 2016.

KLİMUD-2015 (Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği):

SS37 Numaralı Sözlü Sunum

SS37

KLİNİK *ACINETOBACTER BAUMANNII* VE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* İZOLATLARINDA N-ASETİLSİSTEİNİN MEROPENEM DUYARLILIĞI ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Hülya Doğan[1], Burak Aksu[2], Ufuk Hasdemir[2]

[1]Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Istanbul

[2]Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Giriş: Sağlık hizmetleri ilişkili enfeksiyonlar arasında ventilatörle ilişkili olanlar dahil pnömoniler ikinci sıklıkta görülmektedir. *A.baumannii* ve *K.pneumoniae* bu enfeksiyonlardan en sık izole edilen beş patojen arasındadır. Her iki patojen de genellikle çoklu ilaç direnci taşıma potansiyeli gösterdiklerinden, tedavide karbapenem grubu antibiyotikler de sıklıkla yer almaktadır. N-Asetilsistein (NAC) glikoprotein yıkıcı özelliğinden dolayı mukoid ve mukopürülan sekresyonlar üzerine etkilidir ve alt solunum yolu enfeksiyonlarında mukolitik amaçla sıklıkla kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, NAC'in aminoglikozidler, kinolonlar ve eritromisin üzerinde antogonist etki gösterdiği saptanmıştır.

Amaç: Hasta örneklerinden izole edilen; rutin antibiyotik duyarlılık testleriyle karbepenem grubu antibiyotiklere karşı duyarlılık profili belirlenmiş *A.baumannii* ve *K.pneumoniae* izolatlarında; N-asetilsistein'in karbapenem minimal inhibitör konsantrasyonu üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Marmara Üniversitesi Pendik Eğt.Arş.Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2014 – Mayıs 2015 tarihleri arasında, çeşitli kliniklerden gelen farklı hasta örneklerinden etken olarak izole edilen ve rutin antibiyogram sonucuna göre karbapenem duyarlı olarak saptanan 14 *A.baumannii* ve 40 *K.pneumoniae* izolatı çalışmaya dahil edilmiştir. Aynı hastaya ait tek bir izolat çalışılmıştır. Çalışmada rutin alt solunum yolu enfeksiyonu tedavisinde uygulanan NAC konsantrasyonu (10 mM, 1.6 mg/ml) kullanılmıştır. İzolatlarda, meropenemin tek başına ve NAC ile kombinasyon halinde minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) düzeyleri sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. Böylece N-asetilsistein varlığında, meropenem duyarlılığındaki değişim araştırılmıştır.

Bulgular: Meropenem MİK değerleri, *A.baumannii* izolatlarında 0.06-1 mg/L aralığında saptanmış; *K.pneumoniae* izolatlarında ise 0.015-0.06 mg/L aralığında yer almıştır. Meropenem ve NAC kombinasyonu için saptanan MİK değerleri, *A.baumannii* izolatları için 0.5-32 mg/L aralığında iken, *K.pneumoniae* izolatlarında ise 0.06-1 mg/L arasında bulunmuştur. NAC varlığında, minimal inhibitör konsantrasyon düzeylerindeki değişimler incelendiğinde; *A.baumannii* grubunda, değişim olmayan 3 izolat hariç 2-64 kat,*K.pneumoniae* grubunda ise değişim olmayan bir izolat hariç 4-64 kata varan MİK artış oranları belirlenmiştir.

Sonuç: *A.baumannii* ve *K.pneumoniae* izolatlarında meropenem duyarlılığı N-Asetilsistein varlığında belirgin şekilde azalmaktadır.

3. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi

18-22 Kasım 2015, Antalya

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Hülya	**Soyadı**	Doğan
Doğum Yeri	İstanbul	**Doğum Tarihi**	1989
Uyruğu	T.C.	**Tel**	0536 282 48 86
E-mail	hulya_dogan_789@hotmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Doktora		
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD	2016
Lisans	İstanbul Üniversitesi FF Biyoloji Bölümü	2012
Lise	Arnavutköy Korkmaz Yiğit Anadolu Lisesi	2007

İş Deneyimi

Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl-Yıl)**
Biyolog (Mikrobiyoloji Laboratuvarı)	Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi	2014 - 2016
Biyolog (Mikrobiyoloji Laboratuvarı)	Düzen Laboratuvarlar Grubu	2012 - 2013

Yabancı Dilleri

	Okuduğunu Anlama	**Konuşma**	**Yazma**
İngilizce	İyi	İyi	İyi

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma Becerisi**
Microsoft Office	Iyi