

Acinetobacter baumannii İzolatlarında Kolistin Heterodirencinin Araştırılması*

Investigation of Colistin Heteroresistance Among *Acinetobacter baumannii* Isolates

Deniz Gazel ©
Fahriye Ekşi ©
Sarmad Al Azzawi ©
İrem Güneş ©
Enes Turan ©

öz

Heterodirenç, kolistin direncinin gelişimi için bir adım kabul edilmektedir. Son yıllarda, farklı ülkelerden karbapenem dirençli *A.baumannii* (KDAB) izolatlarında kolistine karşı heterodirenç ve direnç gelişimi bildirilmiştir. Bu çalışmada, ilimizde ikinci basamak bir hastanenin çeşitli birimlerinden izole edilen KDAB izolatlarının kolistine karşı heterodirenç profillerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Haziran 2016 ve Haziran 2017 tarihleri arasında ikinci basamak hastaneden toplanan ve Üniversite Hastanemizin Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı arşivinde saklanan, kolistine duyarlı 47 KDAB izolatu çalışmaya dahil edilmiştir. İzolatların tanımlanması ve antibiyogramları otomatize sistem (Phoenix, BectonDickinson, ABD) ile yapılmıştır. Stoklanan bakterilerin kolistin minimum inhibisyon konsantrasyonları sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile doğrulanmıştır. Heterodirençli alt popülasyonların tespiti için 4 µg/ml kolistin içeren Mueller-Hinton agar (MHA) petri plakları hazırlanmıştır. Plaklara, 100 mikrolitre KDAB bakteri süspansiyonu (10⁸ CFU/ml) ilave edilmiştir. 24 saat inkübasyonun ardından MHA 'da üreme gösteren koloniler, heterodirençli olarak tanımlanmış ve manüel olarak koloni sayımı yapılmıştır.

Toplanan tüm izolatlar kolistine karşı duyarlı ve karbapenemlere karşı dirençli bulunmuştur. İzolatların % 34'ünde (16/47 izolat) kolistine karşı heterodirenç tespit edilmiştir. Bu suşlarda heterodirenç oranları 10⁷ ile 10⁴ arasında gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda izolatlarda önemli oranda (% 34) heterodirenç saptanmıştır. Ülkemizde, kolistin heterodirenci ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu çalışmamız ülkemizde KDAB izolatlarında kolistin heterodirencinin raporlandığı ilk araştırmalardan biridir. Bununla beraber, kolistin heterodirencinin gerçek oranını ve klinik önemini ortaya koymak için yeni ve daha geniş çalışmalar gereklidir.

Anahtar kelimeler: *A.baumannii*, heterodirenç, karbapenem, kolistin

ABSTRACT

Colistin heteroresistance is a step for the development of full colistin resistance. Recently, heteroresistance and resistance to colistin have been reported for carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) isolates in different countries. In this study, we aimed to investigate colistin heteroresistance profiles of CRAB strains isolated from various units of a secondary care hospital in our city.

Forty-seven colistin susceptible CRAB isolates stored in our University Hospital Medical Microbiology Department collection and previously collected from secondary care hospital between June 2016 and June 2017 were included in the study. Identification and antibiograms of the isolates were performed by the automated system (Phoenix, Becton-Dickinson, USA). Colistin MICs were confirmed by broth microdilution test for the stored bacteria. Mueller-Hinton agar (MHA) plates containing colistin at concentration of 4 µg/ml were prepared for detection of heteroresistant subpopulations. The plates were inoculated with 100 microliters amount from CRAB bacterial suspensions (10⁸ CFU/ml). Colonies which were able to grow on MHA plates after 48 hours incubation were defined as heteroresistant and counted manually.

All isolates were susceptible to colistin and resistant to carbapenems. Among 47 CRAB isolates, 16 isolates (34 %) were found heteroresistant to colistin. The rates of heteroresistance for these isolates were between 10⁷ and 10⁴.

In our study, we detected a significant rate of heteroresistance (34 %) to colistin. In our country, there are limited numbers of studies about heteroresistance to colistin. This study may be one of the first researches reporting the existence of colistin heteroresistance among CRAB isolates in our country. New and larger studies are necessary to evaluate the real rate and clinical importance of colistin heteroresistance.

Keywords: *A.baumannii*, carbapenem, colistin, heteroresistance

Alındığı tarih: 12.10.2019
Kabul tarihi: 23.12.2019
Yayın tarihi: 30.12.2019

Deniz Gazel
Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
On beş Temmuz Mahallesi
Üniversite Blv., 27310 Şehitkamil
Gaziantep - Türkiye
✉ denizgazel@yahoo.com
ORCID: 0000-0003-2764-3113

F. Ekşi 0000-0003-2245-7979
S. Al Azzawi 0000-0001-9881-662X
İ. Güneş 0000-0002-2995-1024
E. Turan 0000-0001-7849-8695
Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Gaziantep - Türkiye

*Ortadoğu Bilimsel Araştırmalar
Kongresi'nde (Middle East Scientific
Researches Congress; MEA)
sunulmuştur. Sözlü bildiri no: 111
(11 Mayıs 2019, Beyrut/Lübnan)

GİRİŞ

Acinetobacter cinsine ait bakteriler, Gram negatif, non-fermenter, sıklıkla solunum yolu, idrar yolu ve yara enfeksiyonlarına neden olan fırsatçı patojenlerdir, ek olarak septisemiye de neden olabilirler⁽¹⁹⁾. *Acinetobacter baumannii* ise, genellikle solunum yolu enfeksiyonları, kan dolaşımı enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, cerrahi bölge enfeksiyonları ve yara enfeksiyonları da dahil olmak üzere bir dizi hastane ilişkili enfeksiyona neden olan önemli bir patojendir⁽²⁵⁾. Kolistin, karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* (KDAB) ile enfekte olan hastaların tedavisinde kullanılabilecek son çare ilaçlardan biri olarak kabul edilmektedir. Ancak, son yıllarda, KDAB için kolistine karşı da direnç ve heterojen direnç rapor edilmiştir^(15,26). *A.baumannii* suşlarında kolistin direnç mekanizmalarını tespit etmek üzere yapılmış bazı in vitro çalışmaların bulgularına göre, kolistine karşı direnç gelişimine, lipopolisakkarit (LPS) tabakasını üreten genlerdeki mutasyonlar neticesinde, LPS tabakasının tam kaybı veya *pmrA* ve *pmrB* genlerindeki mutasyonlar aracılık eder^(3,17). Yeni yapılan bir çalışmada, kolistin monoterapisi neticesinde indüklenen *pmrB* mutasyonları ile gelişen kolistin direnci tespit edilmiştir⁽¹³⁾. 2016 yılında Çin'de yapılan bir çalışmada, MCR-1 mekanizması ile *E.coli* suşunda plazmid aracılı kolistin direncinin ortaya çıktığı bildirilmiş ve bu olgu, bilim insanlarının tüm ilaçlara dirençli Gram negatif bakteri enfeksiyonlarına karşı mücadele etmek için, acilen küresel eylem planları hazırlamaları gerekliliğini ortaya koymuştur⁽¹⁶⁾.

Heterodirenç, klinik olarak elde edilmiş bir bakteri popülasyonu içerisinde, herhangi bir antibiyotiğe hem dirençli hem de duyarlı alt popülasyonların mevcut olması olarak tanımlanabilir. Kolistin heterodirenci ise, kolistin için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$ olan bir izolatta, > 2 $\mu\text{g/ml}$ kolistin varlığında üreyebilen alt popülasyonların saptanmasıdır^(15,29). Bu tür bir heterodirencin, kolistine maruziyet ile oluştuğu düşünülmektedir^(10,15). Çoklu ilaca dirençli *A.baumannii* suşlarında kolistine karşı heterojen

direnç ile ilgili ilk araştırmalar Li ve ark. tarafından yapılmış ve sonrasında diğer araştırmacılar da bu konuyla ilgilenmeye başlamışlardır^(15,28). Yine bu çalışmalarda, heterodirençli *A.baumannii* popülasyonlarının, kolistine sürekli olarak maruz bırakılması neticesinde, kolistine tamamen dirençli hale gelebilecekleri gösterilmiştir^(15,28). Kolistin monoterapisinin, heterodirenç ve direnç gelişimi gibi sorunlara yol açabileceği de bildirilmiştir, ancak yaygın olarak kullanılan rutin antimikrobiyal duyarlılık testleri, kolistine karşı heterojen direnci kolaylıkla tespit edememektedir. Son zamanlarda, kolistin heterodirenci, KDAB enfeksiyonu nedeniyle tedavi edilen hastalarda, tedavi başarısızlıklarının nedeni olarak suçlanmaktadır⁽²⁴⁾. Moosavian ve ark.⁽¹⁸⁾, kolistine heterodirençli *A.baumannii*'nin neden olduğu bir menenjit vakası raporlamış ve kolistin tedavisi sırasında kolistine karşı tam direncin geliştiğini bildirmişlerdir. Bu nedenle, hastanelerdeki veya bölgesel düzeydeki kolistin heterodirenç oranlarını bilmek, tedavi başarısızlıklarını değerlendirmek açısından önem arz edebilir. Bu çalışmada, ilimizdeki bir ikinci basamak hastanenin çeşitli birimlerinden izole edilen KDAB izolatlarında kolistine karşı heterojen direnç oranlarının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza, Gaziantep Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonunda saklanmakta olan ve daha önce Gaziantep Devlet Hastanesi'nden toplanmış olan 47 kolistin duyarlı KDAB izolatı dahil edilmiştir. İzolatlar 1 Haziran 2016 - 1 Haziran 2017 tarihleri arasında ilimizdeki bu ikinci basamak hastanenin çeşitli birimlerinden toplanmıştır⁽¹²⁾. Tüm izolatlar klinik ve mikrobiyolojik olarak *A.baumannii* enfeksiyonu tanısı almış olan hastalardan elde edilmiştir. İzolatlar, Phoenix Otomatize Tanımlama Sistemi (BD, ABD) kullanılarak *A.baumannii* olarak tanımlanmış ve izolatların antibiyogramları yine aynı sistem tarafından gerçekleştirilmiştir. Antibiyogram sonuçları CLSI kılavuzlarına göre yorumlanmıştır⁽⁶⁾. Tüm

izolatlar, heterodirenç analizi öncesinde % 15 gliserol içeren Mueller-Hinton buyyon tüplerinde -80°C'de saklanmıştır.

Doğrulama basamağı: İmipenem ve meropenem için, Mueller-Hinton agar (MHA) plakları ve gradient test (M.I.C evaluator strips, Oxoid, İngiltere) kullanılarak, izolatların antimikrobiyal dirençleri doğrulanmıştır. Test, üretici tavsiyeleri doğrultusunda yapılmış ve CLSI kriterlerine göre değerlendirilmiştir⁽⁶⁾. Kalite kontrolü için *P.aeruginosa* ATCC 27853 ve *E.coli* ATCC 25922 kullanılmıştır⁽⁶⁾. Heterodirenç analizinden önce, izolatların kolistin duyarlılıkları, katyon ayarlı Mueller-Hinton buyyon ve kolistin sülfat suda çözünür toz (Sigma, ABD) kullanılarak sıvı mikrodilüsyon testi ile doğrulanmış ve sonuçlar CLSI kriterlerine göre değerlendirilmiştir⁽⁶⁾.

Modifiye edilmiş popülasyon analizi ile kolistin heterodirençinin araştırılması: Kolistine karşı heterodirenç analizi aşağıdaki gibi Li ve arkadaşlarının önerdiği yöntem kullanılarak yapılmıştır⁽¹⁵⁾. İlk önce, saklanmış olan bakteriyel izolatlar iki kez % 5 koyun kanlı agar üzerine pasajlanmış ve etüv içerisinde 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Üreyen kolonilerden, 0.5 McFarland standardına eşdeğer bulanıklıkta bakteri süspansiyonları hazırlanarak steril test tüplerine aktarılmıştır. Kolistin heterodirenç, MİK değeri ≤ 2 µg/ml olan bir izolat için, MİK > 2 µg/ml kolistin varlığında saptanabilir alt popülasyonların üreyebilmesi olarak tanımlandığından, heterojen dirençli kolonilerin tespiti için 4 µg/ml kolistin içeren MHA plakları hazırlanmış ve plaklar tüplerden (10^8 CFU/ml KDAB) alınan 100 mikrolitre bakteri süspansiyonu ile (1/10 dilüsyon) inoküle edilmiştir. Ek olarak bu süspansiyonun (1/100 ve 1/1000'lik dilüsyonlarının da ekimi yapılmıştır). Bakteri süspansiyonları eş zamanlı olarak, kolistin içermeyen MHA plaklarına ve kontaminasyon riskine karşı kontrol için % 5 koyun kanlı agar plaklarına pasajlanmıştır. Plaklar 37°C'de 48 saat enkübe edildikten sonra, 4 µg/ml kolistin varlığında üreyebilen koloniler heterodirençli olarak tanımlanmıştır. Sonrasında plaklarda üreyen koloniler manuel olarak sayılmıştır.

En son aşamada, kolistine heterojen dirençli olarak bulunan izolatlardan üretilen kolonilerin MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle hesaplanmış ve bu alt popülasyonların MİK değerlerinin kolistin için ≥ 4 µg/ml olduğu doğrulanmıştır.

BULGULAR

A.baumannii izolatları hastanenin farklı kliniklerinden 29 (% 62) erkek ve 18 (% 38) kadın hastadan toplanmıştır. Ortalama yaş 52 (1-91) yıl olarak hesaplanmıştır. Numuneler, trakeal aspirat (% 36), kan kültürü (% 34), yara (% 15), balgam (% 8), beyin omurilik sıvısı (% 4) ve diğerleri (% 3) olarak dağılım göstermiştir. İzolatların kliniklere göre dağılımını analiz ettiğimizde, 33 izolat (% 70) genel yoğun bakım ünitesinden, 4 izolat (% 9) yara kliniğinden, 3 izolat (% 6) iç hastalıkları servisinde, 3 izolat (% 6) göğüs hastalıklarından, 2 izolat (% 4) kardiyovasküler cerrahi servisinde, 1 izolat (% 2) beyin cerrahisi servisinde ve bir izolat (% 2) nefroloji biriminden gönderilmiştir.

İlk basamakta, 47 izolatın tümü Phoenix sistemi ile kolistine duyarlı ve karbapenemlere (imipenem, meropenem ve ertapenem) dirençli bulunmuştur. İzolatların karbapenem dirençleri gradient test ile doğrulanmış ve tüm izolatlar imipenem ve meropenem'e dirençli bulunmuştur. Phoenix sisteminden elde edilen kolistin antibiyogram sonuçları, referans kabul edilen sıvı mikrodilüsyon testi kullanılarak tekrar araştırılmış ve tüm izolatların kolistine duyarlı (MİK=0.5 µg/ml) oldukları doğrulanmıştır.

Heterodirenç analizi basamağında, 16/47 izolatın (% 34) kolistine heterodirençli olduğu, 31/47 (% 66) izolatın ise kolistinli agarda üremediği ve heterodirençli olmadığı tespit edilmiştir. Heterodirenç pozitif alt popülasyonlarda, heterodirenç oranları, 16 farklı izolat için 10^{-7} ila 10^{-4} arasında tespit edilmiştir (Tablo). Klinik izolatların çoğunluğu, 10^{-7} (n=11) seviyesinde heterodirenç sergilemiştir. Heterodirençli izolatların, kolistin dirençli alt popülasyonlarının MİK değerleri ise son basamakta 4 ila 128 µg/ml arasında bulunmuştur.

Tablo. İzolatların koloni sayımı sonucu elde edilen CFU değerleri ve kolistine karşı heterodirenç düzeyleri.

İzolat No	Koloni Sayımı Sonucu (CFU/ml)	Heterodirençli Alt Populasyon Oranları
2	480	10 ⁻⁶
3	1000	10 ⁻⁵
5	10000	10 ⁻⁴
6	20	10 ⁻⁷
8	10	10 ⁻⁷
12	490	10 ⁻⁶
13	10	10 ⁻⁷
16	10	10 ⁻⁷
21	50	10 ⁻⁷
24	50	10 ⁻⁷
25	740	10 ⁻⁶
27	30	10 ⁻⁷
28	10	10 ⁻⁷
38	20	10 ⁻⁷
46	10	10 ⁻⁷
47	10	10 ⁻⁷

TARTIŞMA

Bir enfeksiyon sırasında, bazı bakteri popülasyonları antimikrobiyal duyarlılığı azalmış alt popülasyonlar içerebilir. Bu duyarlı ve dirençli alt popülasyonların bir arada olduğu heterojenite durumuna, heterojen direnç veya heterodirenç denmektedir. Heterodirençli bir popülasyon, tamamen dirençli bir popülasyona dönüşebildiğinden, herhangi bir heterodirençli bakteri enfeksiyonun, tam direnç gelişimi için bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmektedir⁽⁷⁾. Kolistin heterodirenci ve dirençli suşların seçilme olasılığı, *A.baumannii* enfeksiyonlarının tedavisi açısından önemli problemlerdendir. *A.baumannii* izolatlarında, bir antibiyotige karşı heterodirenç raporlayan ilk çalışmalardan biri Pournaras ve ark.⁽²¹⁾ tarafından Yunanistan'da yapılmıştır. *A.baumannii* izolatlarında, karbapenemlere karşı gradient test yöntemini kullanarak heterodirenç araştırması yapmışlar ve bu izolatlarda karbapenemlere karşı Mik düzeyleri çok daha yüksek ve heterojen olan altpopulasyonlara sahip *A. baumannii* izolatlarını raporlamışlardır.

Son yıllarda, kliniklerden izole edilen kolistin dirençli ve heterodirençli *A.baumannii* suşlarında bir artış gözlemlenmektedir^(1,2,29). Li ve ark.⁽¹⁵⁾ 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada, 16 *A.baumannii* izolatı arasından 15'inde kolistine karşı heterodirenç tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Akabinde, 2008 yılında yapılan bir çalışmada, Yau ve ark.⁽²⁹⁾ üzerinde

çalıştıkları 30 *Acinetobacter* izolatında % 23 kolistin heterodirenci ve % 3.3 kolistin direnci raporlamışlardır. Hawley ve ark.⁽¹⁰⁾, Amerika Birleşik Devletleri'nde, tümü kolistin ile tedavi edilen *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus complex ile enfekte 21 hastada, % 100 düzeyinde kolistin heterojen direnci tespit etmişlerdir. Daha sonra 2010 yılında, Rodriguez ve ark.⁽²³⁾, Arjantin'de *A.baumannii* izolatlarında % 43 oranında kolistin heterodirenci saptamışlardır. Bir yıl sonra, Herrera ve arkadaşları, aynı ülkeden kan kültürlerinden elde edilen *Acinetobacter* izolatlarında % 18.7 oranında kolistin heterodirenci bildirmişlerdir⁽¹¹⁾. 2018 yılında Amerika'da yapılan bir çalışmada, Srinivas ve ark.⁽²⁷⁾, kolistin heterodirencinin, *A.baumannii* klinik izolatların % 83'ünde sergilendiğini bildirmişlerdir.

Ülkemizde, kolistin direnci raporlamış olan sınırlı sayıda çalışma vardır ve *A.baumannii* klinik izolatları arasında kolistine karşı heterodirenç varlığını tespit etmiş olan sadece bir çalışma bulunmaktadır. Çağlan ve ark.⁽⁵⁾, Aralık 2019'da yayınladıkları araştırmalarında Türkiye'den ilk heterojen dirençli izolatları raporlamışlardır. Eser ve ark.⁽⁸⁾ ise, Türkiye'de kolistin dirençli *A.baumannii* izolatlarının ortaya çıktığını ilk olarak bildirmişlerdir. Daha sonra, Çıkman ve ark.⁽⁴⁾, 2015 yılında Türkiye'de yapılan bir çalışmada, 40 *A.baumannii* izolatından birinde kolistine direnç tespit edildiğini raporlamışlardır ancak günümüzde kolistin için önerilmeyen bir yöntem olan gradient test kullandıkları için sonuçlar

kuşkuludur. Görüldüğü üzere, son yıllarda dünyada kolistine dirençli *A.baumannii* izolatlarında önemli artışlar gözlemlenmektedir. Bu nedenle, ülkemizde kliniklerden izole edilen *A.baumannii* patojenlerinin, kolistin direnç ve heterodirenç oranlarının belirlenebilmesi için daha geniş klinik ve laboratuvar araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bizim çalışmamız irdelendiğinde, izolatların çoğunda (11/16) 10^{-7} düzeyinde kolistin heterodirenci gözlemlenmiştir. Bu sonucumuz, Li ve ark.'nın⁽¹⁵⁾ popülasyon analizi bulguları ile karşılaştırıldığında, her iki çalışmada da, 4 µg/ml kolistin konsantrasyonunda, heterodirençli alt popülasyon düzeylerinin birbirlerine çok yakın olduğunu gözlemlenmiştir. Daha önce, 2012 yılında yaptığımız bir çalışmada, 2010-2012 yılları arasında toplanan *A.baumannii* izolatları değerlendirilmiş ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hastanesi'nde sepsisli hastalardan elde edilmiş olan 31 kolistin duyarlı KDAB klinik izolatı araştırılmıştır. Ancak, klinik izolatların hiçbirinde kolistine karşı heterojen direnç saptanamamıştır⁽⁹⁾. Son yıllarda kolistin ilacının kolay erişilebilir hale gelmesi ile kolistin kullanımının artması, bu iki çalışma arasında böyle bir farkın oluşmasının nedeni olabilir.

Kolistine karşı heterodirenç saptanması, bu ilacın uygunsuz kullanılmış olabileceğini düşündüren güçlü bir uyarıdır⁽¹⁴⁾. Ek olarak, önceden kolistin kullanmış olmak, yüksek heterodirenç oranı için bir risk faktörü olabilir. Rodriguez ve ark.⁽¹⁰⁾, kolistine karşı heterojen direnç oranı yüksek olan bir yoğun bakım ünitesinde, beyin cerrahisi sonrası menenjit geçiren hastalarda, kolistin dirençli *A.baumannii* izolatlarının seçilimin gerçekleştiğini raporlamışlardır⁽²²⁾. Yunanistan'da 2012-2014 yılları arasında, kolistine dirençli *A.baumannii* oranlarını araştıran bir başka çalışmada, yıllar geçtikçe kolistine dirençli *A.baumannii* izolatlarında belirgin bir artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Tüm izolatların, OXA-23 benzeri karbapenem-hidrolize edici sınıf D β-laktamaz üreten ve *pmrA*/*pmrC* genlerindeki mutasyonlarla ilişkili aynı klona ait olduğu raporlanmış, klonun Larissa Üniversitesi Hastanesi'nde kolistin tedavisi alan bir hasta ile ilişkili olduğu ve hastanedeki diğer hastalara bulaşarak ülkeye yayıldığı iddia edilmiştir⁽²⁰⁾.

Bu nedenle, lokal olarak kolistin heterodirenç verilerinin taramalar ile araştırılması ve antimikrobiyal tedavide heterodirençli alt popülasyonların seçilimine neden olmayacak şekilde dikkatli bir tedavi planlaması yapılması büyük önem arz etmektedir.

Çalışmamızda, KDAB izolatlarının % 34'ünde (çoğunlukla 10^{-7} düzeyinde), kolistine karşı heterodirenç tespit edilmiştir. Tıbbi literatürü taradığımızda, Türkiye'de kolistine karşı heterodirenç varlığını bildiren bir araştırmaya ulaşamamıştık, ancak çalışmamız değerlendirme aşamasında iken Çağlan ve ark.⁽⁵⁾ Türkiye'den bu konudaki ilk verileri yayınlamışlardır ve 3 adet kan izolatında (% 21.4) heterojen direnç tespit etmişlerdir. Bu nedenle, çalışmamız Türkiye'de *Acinetobacter baumannii* izolatlarında kolistine karşı heterojen direnç varlığını saptayan ve oranını raporlayan ilk araştırmalardan biridir. Bütün bunlara rağmen, çalışmamızın da belirtilmesi gereken bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Çalışmamızda elde edilen izolatlar, şehrimizdeki sadece bir devlet hastanesinden elde edilmiştir. İkincil olarak, incelenen klinik izolatların aynı klona ait olup olmadığını incelemek için moleküler bir analiz yapılamamıştır. Ülkemizde, yüksek oranda kolistin heterodirencine işaret eden bulgularımız, kolistin dirençli klonların seçilmesini önlemek için, bu ilacın uygun dozda kullanımının ve kombinasyon tedavilerinin önemini vurgulamaktadır. Dünyada ve ülkemizde kolistin heterodirencinin düzeyini ve klinik anlamını değerlendirebilmek için yeni ve süreklilik arz eden ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etik Kurul Onayı: Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı alınmıştır. (Tarih: 03.04.2019 /Karar No: 2019/144)

Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Ethics Committee Approval: Gaziantep University Clinical Research Ethics Committee has been approved. (Date: 03.04.2019 / Decision Number: 2019/144)

Conflict of Interest: There is no conflict of interest between the authors.

KAYNAKLAR

1. Ahmed SS, Alp E, Hopman J, Voss A. Global Epidemiology on Colistin Resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Infect Dis Ther.* 2016;4(4):287. <https://doi.org/10.4172/2332-0877.1000287>
2. Al-Sweih NA, Al-Hubail MA, Rotimi VO. Emergence of tigecycline and colistin resistance in *Acinetobacter* species isolated from patients in Kuwait hospitals. *J Chemother.* 2011;23(1):13-6. <https://doi.org/10.1179/joc.2011.23.1.13>
3. Beceiro A, Llobet E, Aranda J, et al. Phosphoethanolamine modification of lipid A in colistin-resistant variants of *Acinetobacter baumannii* mediated by the pmrAB two component regulatory system. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(7):3370-9. <https://doi.org/10.1128/AAC.00079-11>
4. Cikman A, Gulhan B, Aydin M, et al. In vitro activity of colistin in combination with tigecycline against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients with ventilator-associated pneumonia. *Int J Med Sci.* 2015;12(9):695-700. <https://doi.org/10.7150/ijms.11988>
5. Çağlan E, Nigiz Ş, Sancak B, Gür D. Resistance and heteroresistance to colistin among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2019;9:1-5. <https://doi.org/10.1556/030.66.2019.021>
6. CLSI Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, CLSI supplement M100. 27th ed. Philadelphia: Clinical and Laboratory Standards Institute; (2017).
7. Drlica K, Shopsin B, Zhao X. Heteroresistance: A Harbinger of Future Resistance, "Fong I.W, Shlaes D, Drlica K (eds): Antimicrobial Resistance in the 21st Century" kitabında s.269-296, Springer, Cham (2018). https://doi.org/10.1007/978-3-319-78538-7_9
8. Eser Ö, Ergin A, Hasçelik G. *Acinetobacter* türlerinde antimikrobiyal direnç ve metallo-beta-laktamaz varlığı. *Mikrobiyoloji Bul.* 2009;43(43):383-90.
9. Gazel D, Tatman-Otkun M. Investigation of colistin heteroresistance and some factors affecting heteroresistance in carbapenem-resistant *A. baumannii* strains. *Mediterr J Infect Microb Antimicrob.* 2017;6:1. <https://doi.org/10.4274/mjima.2017.1>
10. Hawley JS, Murray CK, Jorgensen JH. Colistin heteroresistance in *Acinetobacter* and its association with previous colistin therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(1):351-2. <https://doi.org/10.1128/AAC.00766-07>
11. Herrera ME, Mobilia LN, Posse GR. Comparative evaluation of the sensitivity of *Acinetobacter* to colistin, using the prediffusion and minimum inhibitory concentration methods: detection of heteroresistant isolates. *Rev Argent Microbiol.* 2011;43(2):115-9.
12. Karabay O. Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibiyotik direnç durumlarının belirlenmesi ve karbapenemaz direnç genlerinin araştırılması. Yüksek Lisans [tez]. Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi; (2019).
13. Kim Y, Bae IK, Jeong SH, Yong D, Lee K. In vivo selection of pan-drug resistant *Acinetobacter baumannii* during antibiotic treatment. *Yonsei Med J.* 2015;56(4):928-34. <https://doi.org/10.3349/ymj.2015.56.4.928>
14. Li J, Rayner CR, Nation RL, et al. Pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and colistin in a critically ill patient receiving continuous venovenous hemodiafiltration. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(11):4814-5. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.11.4814-4815.2005>
15. Li J, Rayner CR, Rayner CR, et al. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(9):2946-50. <https://doi.org/10.1128/AAC.00103-06>
16. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(2):161-8. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)
17. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, et al. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(12):4971-7. <https://doi.org/10.1128/AAC.00834-10>
18. Moosavian M, Shoja S, Nashibi R, et al. Post neurosurgical meningitis due to colistin heteroresistant *Acinetobacter baumannii*. *Jundishapur J Microbiol.* 2014;7(10):e12287. <https://doi.org/10.5812/jjm.12287>
19. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Pseudomonas* and related bacteria, "Murray PR (ed). Medical microbiology, 8. baskı" kitabında s.278-9, Elsevier Inc, Philadelphia (2016).
20. Oikonomou O, Sarrou S, Papagiannitsis CC, et al. Rapid dissemination of colistin and carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* in Central Greece: mechanisms of resistance, molecular identification and epidemiological data. *BMC Infect Dis.*

- 2015;15:559.
<https://doi.org/10.1186/s12879-015-1297-x>
21. Pournaras S, Ikonomidis A, Markogiannakis A, Maniatis AN, Tsakris A. Heteroresistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2005;55(6):1055-6.
<https://doi.org/10.1093/jac/dki115>
 22. Rodriguez CH, Barberis C, Nastro M, et al. Impact of heteroresistance to colistin in meningitis caused by *Acinetobacter baumannii*. *J Infect.* 2012;64(1):119-21.
<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2011.10.007>
 23. Rodriguez CH, De Ambrosio A, Bajuk M, et al. In vitro antimicrobials activity against endemic *Acinetobacter baumannii* multiresistant clones. *J Infect Dev Ctries.* 2010;4(3):164-7.
<https://doi.org/10.3855/jidc.604>
 24. Rolain JM, Roch A, Castanier M, Papazian L, Raoult D. *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin with impaired virulence: a case report from France. *J Infect Dis.* 2011;204(7):1146-7.
<https://doi.org/10.1093/infdis/jir475>
 25. Sievert DM, Ricks P, Edwards JR, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013;34(1):1-14.
<https://doi.org/10.1086/668770>
 26. Souli M, Kontopidou FV, Koratzanis E, et al. In vitro activity of tigecycline against multiple-drug-resistant, including pan-resistant, gram-negative and gram-positive clinical isolates from Greek hospitals. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(9):3166-9.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00322-06>
 27. Srinivas P, Hunt LN, Pouch SM, et al. Detection of colistin heteroresistance in *Acinetobacter baumannii* from blood and respiratory isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2018;91(2):194-8.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.01.028>
 28. Tan CH, Li J, Nation RL. Activity of colistin against heteroresistant *Acinetobacter baumannii* and emergence of resistance in an in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(9):3413-5.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01571-06>
 29. Yau W, Owen RJ, Poudyal A, et al. Colistin heteroresistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from the Western Pacific region in the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J Infect.* 2009;58(2):138-44.
<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2008.11.002>