

Kolistin Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarına Karşı Karvakrol ile Kolistin Kombinasyonunun in vitro Değerlendirilmesi

In vitro Evaluation of Carvacrol and Colistin Combination Against Colistin Resistant Acinetobacter baumannii Strains

Elif Odabaş Köse*[Ⓞ], Özlem Koyuncu Özyurt**[Ⓞ]

*Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, Antalya, Türkiye

**Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

ÖZ

Amaç: Günümüzde birçok araştırıcı dirençli bakteri sorununun üstesinden gelmek amacıyla antimikrobiyal aktiviteye sahip bitki kaynaklı etken maddeler üzerine çalışmaktadır. Bu çalışmada kolistin dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına karşı karvakrol ile kolistin kombinasyonunun aktivitesi değerlendirilmiştir.

Yöntem: Sekiz adet *A. baumannii* suşu üzerine karvakrol ve kolistinin antimikrobiyal aktivitelerini saptamak amacıyla sıvı mikrodilüsyon testi yapılarak Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları belirlenmiştir. Kolistin ve karvakrolün kombinasyon aktiviteleri ise Dama Tahtası (Checkerboard) Sinerji Testi ile çalışılmıştır.

Bulgular: Çalışmada, test edilen sekiz adet *A. baumannii* suşuna karşı karvakrolün antimikrobiyal aktivitesi 64-128 µg/ml MİK değerleri aralığında saptanmıştır. Kolistin ve karvakrolün kombinasyon aktivitesi sonucunda ise sekiz suşun beşinde sinerjistik etki saptanmıştır. İki suşta 0.5, diğer iki suşta 0.375 ve bir suşta ise 0.25 FİKİ değerleri elde edilmiştir. Diğer üç *A. baumannii* suşunda ise 1, 0.625 ve 0.53 FİKİ değerleri ile aditif etki tespit edilmiştir.

Tartışma: Elde ettiğimiz sonuçlara göre, karvakrol *A. baumannii* suşlarına karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Kolistin ile kombin edildiğinde sekiz suşun beşinde sinerjistik etki üçünde ise aditif etki saptanmıştır. Yani karvakrol kolistinin antibakteriyel aktivitesinde artışa neden olarak kolistin direncinin düşmesini sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, karvakrol, kolistin

ABSTRACT

Objective: Today, plant-based active agents with antimicrobial activity are being investigated by many researchers to overcome the problem of resistant bacteria. In this study, the activity of carvacrol and colistin combination against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* strains were evaluated.

Method: In order to determine the antimicrobial activity of carvacrol and colistin against eight *A. baumannii* strains, the minimum inhibitory concentrations (MIC) were determined by broth microdilution method. Combined activities of colistin and carvacrol were studied with Checkerboard Synergy Test.

Results: In the study, the antimicrobial activity of carvacrol against eight *A. baumannii* strains tested was determined within the range of MIC values of 64-128 µg/ml. As a result of the combined activity of colistin and carvacrol, the synergistic effect was found in five of eight strains. The FICI values were 0.5 for two strains, 0.375 for the other two strains and 0.25 for one. Additive effects, and FICI values of 1, 0.625 and 0.53, were obtained in the other three *A. baumannii* strains.

Conclusion: According to our results, carvacrol showed antibacterial activity against *A. baumannii* strains. When combined with colistin, the synergistic effect was determined in five of the eight strains and the additive effect was found in the remaining three. In other words, carvacrol caused a decrease in colistin resistance by increasing antibacterial activity of colistin.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, carvacrol, colistin

Alındığı tarih:
20.02.2019

Kabul tarihi:
04.04.2019

Yayın tarihi:
30.06.2019

ORCID Kayıtları

E. Odabaş Köse 0000-0002-3943-571X
O. K. Özyurt 0000-0003-1260-0671

✉ elifkose@akdeniz.edu.tr

GİRİŞ

Acinetobacter baumannii, *Moraxellaceae* familyasına ait Gram negatif, hareketsiz, non-fermentatif bir bakteridir⁽¹⁻³⁾. İlk olarak 1911 yılında Beijerinck tarafından tanımlanmıştır. O yıllarda bu türlerin çoğunluğunu çevresel organizmalar oluşturmaktaydı^(1,2). Son yıllarda ise bu tür, dünya çapında yaygın yüksek morbidite ve mortalite oranları ile ilişkili nozokomiyal salgınlara major nedeni olarak tanımlanmaktadır⁽⁴⁾. *A. baumannii* üriner sistem enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonları, bakteremi, menenjit, ventilatör-ilişkili pnömoni gibi çok çeşitli enfeksiyonlara sebep olmaktadır^(1,5,6). *A. baumannii* birçok antimikrobiyale karşı doğal dirençlidir. Ayrıca yeni antimikrobiyal direnç determinantlarını da kolaylıkla alabilme kapasitesine sahiptirler. Bu özelliklerinden dolayı günümüzde tedavisinde kullanılan birçok antibiyotığe karşı (β -laktamlar, florokinolonlar, tetrasiklinler ve aminoglikozitler gibi) direnç geliştirmişlerdir. Çoklu direnç mekanizmalarına sahip olan bu patojen dünya çapında Çoklu İlaç Dirençli (ÇİD) *A. baumannii* olarak rapor edilmektedir⁽⁷⁾. Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Önleme merkezlerinin (ECDC ve CDC), sağlık bakımıyla ilişkili birçok enfeksiyona neden olan organizmalarda ilaç direncini karakterize etmek için önerdiği tanıma göre, üç veya daha fazla antibiyotik sınıfında en az bir ilaca dirençli olan suşlar ÇİD olarak tanımlanmıştır⁽⁸⁾. ÇİD *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılacak etkili antibiyotiklerin sayısının sınırlı olması ciddi klinik problemlere neden olmaktadır⁽³⁾.

Kolistin, polimiksin grubundan eski bir antibiyotik olup nefrotoksik ve nörotoksik özelliklerinden dolayı kullanımından vazgeçilmiştir. ÇİD gram negatif türlerin ortaya çıkması ve *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde etkili olması kolistini yeniden tedavi seçeneği hâline getirmiştir⁽⁶⁾. Fakat tedavide kullanılmaya başlanmasını takiben kolistine dirençli ve heterodirençli *A. baumannii* suşları rapor edilmektedir. Bu durumda klinik tedavideki başarıyı arttırmak için kolistin temelli kombinasyon terapileri ÇİD *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde uygun

seçenek olarak uygulanmaktadır⁽⁹⁾.

Çoklu ilaç dirençli Gram negatif bakteri enfeksiyonlarının tedavisi için amaçlanan potansiyel stratejiler arasında antibiyotiklere alternatif antimikrobiyal etken maddelerin keşfi ya da geliştirilmesi yer almaktadır. Ayrıca doğal bir bileşik ve antibiyotığın kombinasyonu ile antimikrobiyal etkinin artırılması da diğer bir strateji olarak düşünülmektedir⁽¹⁰⁾. Günümüzde antimikrobiyal özellikli doğal bileşikler gerek tek başına gösterdikleri etki ile gerekse kombinasyon terapilerindeki aktiviteleri ile dikkat çekmektedirler⁽¹¹⁾. Bitki ekstaktları ve onların ikinci metabolitleri (kumarinler, flavonoidler ve non-flavonoid polifenoller ve terpenler gibi) antimikrobiyal özellik sergileyen bileşiklerdir⁽¹²⁾. Fenolik monoterpen olan karvakrol, *Origanum* ve *Thymus* gibi bitki türlerinin uçucu yağlarında bulunan major bileşen olup, antik çağlardan beri geleneksel tıpta yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Anti-inflamatuvar, antioksidant, antitümör ve insektisidal gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olan karvakrol aynı zamanda birçok patojene karşı güçlü antimikrobiyal aktivite sergilemektedir⁽¹³⁾. Çeşitli antibiyotikler ile kombinasyonları sonucunda sinerjistik aktivite sergilediği de son zamanlarda rapor edilmektedir⁽¹⁴⁾.

Bu bilgilerden yola çıkarak bu çalışmada kolistin dirençli *A. baumannii* suşuna karşı karvakrol ile kolistin kombinasyonlarının in vitro etkileri araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bakteri suşları ve antimikrobiyal etken maddeler: Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji bölümünde klinik örneklerden izole edilmiş ÇİD sekiz *A. baumannii* suşu çalışmaya dâhil edilmiştir. Suşlar koyun kanlı agar besiyerine (Becton Dickinson, ABD) ekilen ve $35\pm 2^\circ\text{C}$ 'de bir gece inkübasyonu takiben üreyen kolonilerden MALDITOF-MS (Bruker Biotyper Daltonik, Almanya) yöntemi ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılarak tanımlanmıştır.

Suşların kolistine in vitro duyarlılıkları kolistin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Kolistin sülfat (C4461, Sigma Aldrich) kullanılarak, 128 ile 0.125 µg/ml konsantrasyonlar arasında, çift kat dilüsyonlar şeklinde hazırlanan mikropaklarda ISO-standart sıvı mikrodilüsyon yöntemi (20776-1) uyarınca ve Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)/The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önerilerine göre çalışılmıştır. Sonuçlar EUCAST standartlarında belirlenen klinik sınır değerlere göre (≤ 2 µg/ml duyarlı ve > 2 µg/ml dirençli) değerlendirilmiştir. Suşların diğer antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları ise BD Phoenix otomatize sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılarak belirlenmiş, sonuçlar EUCAST standartlarında belirlenen klinik sınır değerlere göre değerlendirilmiştir. Çalışmada, test edilen suşlar üç veya daha fazla antibiyotik sınıfında en az bir ilaca dirençli olduğundan ÇİD olarak belirlenmiştir. Sekiz *A. baumannii* suşunun antibiyotiklere duyarlılıkları Tablo 1'de verilmiştir.

ÇİD olarak belirlenen sekiz *A. baumannii* suşunda karvakrolün Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri saptanmıştır. Dama Tahtası (Checkerboard) Sinerji Testi ile de kolistin ve karvakrolün kombinasyon aktiviteleri değerlendirilmiştir. Kalite kontrol suşları olarak duyarlı suş *Escherichia coli* ATCC 25922 ve dirençli suş *E. coli* NCTC 13846 kullanılmıştır.

Kolistin antibiyotiğinin stok çözeltisi (512 µg/ml) distile suda çözülerek porsiyonlanıp -80°C'de saklanmıştır. Karvakrol (W224511, Sigma-Aldrich) saf etanolde çözülerek stok solüsyon (10 mg/ml) testin uygulanacağı zaman günlük olarak hazırlanmıştır.

Karvakrol ve kolistin MİK değerlerinin saptanması:

Karvakrol ve kolistin MİK değerlerinin belirlenebilmesi için CLSI tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi uygulanmıştır^(15,16). Besiyeri olarak, katyon eklenmiş Mueller Hinton Broth (MHB, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. İlk olarak, 50 µl besiyeri 96 kuyucuklu steril mikrodilüsyon plaklarının her bir kuyucuğuna eklenmiştir. Daha sonra kolistin (512 µg/ml) veya karvakrol (512 µg/ml) solüsyonlarından 50 µl alınarak ilk kuyucuğa konulup seri dilüsyonları yapılmıştır. Her bir kuyucukta final bakteri konsantrasyonu 5×10^5 hücre/ml olacak şekilde inküleme süspansiyonu eklenmiştir. Ayrıca bakteri için bakteri üreme kontrolü (MHB+mikroorganizma), her mikrodilüsyon plağı için besiyeri sterilite kontrolü (MHB) çalışılmıştır. Mikrodilüsyon plakları 35°C'de 16-20 saat süre ile aerob koşullarda etüvde inkübe edilmiştir. Antibiyotik içeren kuyucuklardaki üreme yoğunluğu her test setinde kullanılan kontrol kuyucuklarındaki (antibiyotiksiz) üreme yoğunluğu ile kıyaslanarak MİK değerleri belirlenmiştir. MİK, bakterilerin mikrodilüsyon kuyucuklarındaki üremesini tamamen inhibe eden ve çıplak gözle belirlenebilen

Tablo 1. Sekiz *Acinetobacter baumannii* suşunun antibiyotiklere duyarlılıkları.

	<i>A. baumannii</i> -1	<i>A. baumannii</i> -2	<i>A. baumannii</i> -3	<i>A. baumannii</i> -4	<i>A. baumannii</i> -5	<i>A. baumannii</i> -6	<i>A. baumannii</i> -7	<i>A. baumannii</i> -8
Antibiyotik								
Siprofloksasin	R	R	R	R	R	R	R	R
Levofloksasin	R	-	R	-	R	R	-	-
Kolistin	R	R	R	R	R	R	R	R
Gentamisin	R	R	R	R	R	R	R	R
Amikasin	R	R	R	R	R	R	R	R
Netilmisin	-	-	-	R	-	-	R	R
Tobramisin	R	-	-	-	R	-	-	-
İmipenem	R	R	R	R	R	R	R	R
Meropenem	R	R	R	R	R	R	R	R
Trimetoprim/Sulfametoksazol	S	R	R	R	R	R	S	R

en düşük antimikrobik ilaç konsantrasyonudur. Her bir deney üç kere yinelenmiştir.

Dama Tahtası (Checkerboard) sinerji testi: Karvakrol ve kolistin kombinasyonunun araştırılması için Dama tahtası (Checkerboard) yöntemi uygulanmış olup, bu test mikrodilüsyon esasına dayanan sinerji testlerinden biridir. Besiyeri olarak, katyon ayarlı MHB kullanılmıştır. Her iki farklı madde kombinasyonunun etkinliği, her bir izolat için 96 kuyucuklu plak üzerinde test edilmiştir. Konsantrasyon aralığı daha önce tespit edilen MİK değerlerinin iki ile dört katı (2xMİK, 4xMİK) konsantrasyondan başlayacak şekilde ayarlanmış olup, karvakrol için altı ile yedi dilüsyon (1/64xMİK, 1/128xMİK), kolistin için ise dört ile beş dilüsyon aşağı konsantrasyonlara (1/16xMİK, 1/32xMİK) kadar inilmiştir. Her iki maddenin stok solüsyonları farklı konsantrasyonlarda sulandırılarak hazırlanmıştır. Plak üzerinde her iki ilacın MİK değerleri dama tahtası testi ile eşzamanlı olarak yine çalışılmıştır. Kuyucuklara her bir antimikrobiyal etken maddeden 50 µl, toplamda bir kuyucukta 100 µl konsantrasyon olacak şekilde kombin edilerek konulmuştur. Ayrıca bir kuyucuk bakteri üreme kontrolü, başka bir kuyucuk da besiyeri sterilite kuyucuğu olarak kullanılmıştır. Bakteri inokulumu ilk olarak steril %0.9 NaCl solüsyonunda 0.5 McFarland (1x10⁸ hücre/ml) standart yoğunluğuna göre hazırlanmış olup, kuyucuklardaki en son bakteri konsantrasyonu 5x10⁵ hücre/ml olacak şekilde kuyucuklara eklenmiştir. Mikrodilüsyon plakları 35°C'de 16-20 saat süre ile aerop koşullarda etüvde inkübe edilmiştir. Her bir deney üç kere belirlenmiştir.

Sonuçların yorumlanması için önce her iki antimikrobiyal etken maddenin ayrı ayrı Fraksiyonel İnhibisyon Konsantrasyonu (FİK) hesaplanmıştır. Buna göre FİK_a=(a maddesinin kombinasyondaki MİK değeri/a maddesinin tek başına MİK değeri), FİK_b=(b maddesinin kombinasyondaki MİK değeri/b maddesinin tek başına MİK değeri) formüllerine göre FİK değerleri bulunmuş olup FİK_a ile FİK_b toplanarak FİK indeks (FİK_i) hesaplanmıştır. Çıkan değerde; FİK_i ≤ 0.5 ise sinerjistik etki, 0.5 < FİK_i ≤ 4 ise aditif etki, FİK_i > 4 ise

antagonistik etki olarak yorumlanmıştır⁽¹⁷⁾.

BULGULAR

Bu çalışmada, karvakrolün kolistin dirençli *A. baumannii* suşları üzerine tek başına ve kolistin ile kombine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada test edilen sekiz adet *A. baumannii* suşuna karşı karvakrolün MİK değerleri 64-128 µg/ml aralığında elde edilirken, kolistin MİK aralığı ise 16-64 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu değerler ile çalışmada kullanılan *A. baumannii* suşlarının kolistin direnci doğrulanmıştır. Kontrol olarak kullanılan *E. coli* NCTC 13846 ve ATCC 25922 için kolistin MİK değerleri sırasıyla 4 µg/ml ve 0.5 µg/ml olarak belirlenmiş olup, bu değerler CLSI/EUCAST'ın belirlediği MİK değerleri aralığında bulunmuştur. Sekiz suşa karşı antimikrobiyal etken maddelerin aktivitesini belirlemek amaçlı uygulanan mikrodilüsyon testi sonuçlarına göre elde edilen MİK değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Kolistin dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına karşı karvakrol ve kolistin MİK değerleri.

Suşlar	MİK (µg/ml)	
	Kolistin	Karvakrol
<i>A. baumannii</i> -1	16	64
<i>A. baumannii</i> -2	64	128
<i>A. baumannii</i> -3	32	128
<i>A. baumannii</i> -4	32	128
<i>A. baumannii</i> -5	16	128
<i>A. baumannii</i> -6	16	64
<i>A. baumannii</i> -7	32	64
<i>A. baumannii</i> -8	8	128
<i>E. coli</i> NCTC 13846	4	128
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.5	128

Karvakrol ve kolistin kombinasyonu sonucu elde edilen verilere göre sekiz suşun beşine karşı sinerjistik etki, üçüne karşı ise aditif etki belirlenmiştir. Kombinasyon testinin sonuçları Tablo 3'te verilmiştir. Sinerjistik etki belirlenen suşların ikisinde 0.5, diğer iki suşta 0.375 ve bir suşta ise 0.25 FİK_i değerleri elde edilmiştir. Diğer üç *A. baumannii* suşunda ise 1, 0.625 ve 0.53 FİK_i değerleri ile aditif etki belirlenmiştir. Antibiyotik ve karvakrol için elde edilen MİK değerleri kombinasyondaki MİK değerleri ile karşılaştı-

Tablo 3. Kolistin dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına karşı karvakrol ile kolistinin kombinasyonu sonucu elde edilen değerler.

Suşlar	Etken maddeler	Kombinasyondaki MİK (µg/ml)	FİK	FİKİ	Sonuç
<i>A. baumannii</i> -1	Kolistin Karvakrol	0.5 32	0.03 0.5	0.53	Aditif
<i>A. baumannii</i> -2	Kolistin Karvakrol	8 16	0.125 0.125	0.25	Sinerji
<i>A. baumannii</i> -3	Kolistin Karvakrol	4 32	0.125 0.25	0.375	Sinerji
<i>A. baumannii</i> -4	Kolistin Karvakrol	8 32	0.25 0.25	0.5	Sinerji
<i>A. baumannii</i> -5	Kolistin Karvakrol	4 32	0.25 0.25	0.5	Sinerji
<i>A. baumannii</i> -6	Kolistin Karvakrol	2 32	0.125 0.5	0.625	Aditif
<i>A. baumannii</i> -7	Kolistin Karvakrol	16 32	0.5 0.5	1	Aditif
<i>A. baumannii</i> -8	Kolistin Karvakrol	2 16	0.25 0.125	0.375	Sinerji

tırıldığına en az iki kat azalma saptanmıştır.

TARTIŞMA

Direnç sorununun üstesinden gelebilmek için önerilen alternatif stratejilerden birisi antimikrobiyal özelliğe sahip bitki uçucu yağları ve onların içeriğinde bulunan maddelerin kullanılmasıdır. Diğer bir olasılık da varolan antibiyotiklerin bir fitokimyasal ile kombin edilerek antibiyotiğin etkinliğinin artırılmasıdır. Bu bilgilerden yola çıkarak bu çalışma ile karvakrolün kolistin dirençli *A. baumannii* suşlarına karşı antibakteriyel aktivitesi ortaya konulmuştur. Ayrıca kolistin ile olan kombinasyon etkisi değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre karvakrol *A. baumannii* suşlarına karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Kolistin ile kombin edildiğinde sekiz suşun üçünde aditif etki belirlenirken, beşinde sinerjistik aktivite gözlenmiştir. Yani karvakrol kolistinin antibakteriyel aktivitesinde artışa neden olarak kolistin direncinin düşmesini sağlamıştır.

Literatürde karvakrolün antibakteriyel aktivitesi ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların bazıları kombinasyon ile ilgili olup, karvakrolün birçok antibiyotik ile sinerjistik aktivite gösterdiği belirlen-

miştir. Magi ve ark.⁽¹⁴⁾ eritromisin dirençli Grup A Streptokoklara karşı karvakrolün antimikrobiyal aktivitesini 64-256 µg/ml MİK aralığında bulmuşlardır. Eritromisin ile karvakrol kombinasyonunun ise 32 türün 21'inde sinerjizm ile sonuçlandığını rapor etmişlerdir. Nalidiksik aside dirençli bakterilere karşı karvakrol ve nalidiksik asit kombinasyonunun araştırdığı diğer bir çalışmada, sekiz bakteri türünün beşine karşı sinerjistik aktivite saptanmıştır⁽¹⁸⁾. Karvakrolün, *Salmonella Typhimurium*'a karşı ampisilin, tetrasiklin, penisilin, eritromisin ve novobiyosinle, *Staphylococcus aureus*'a karşı ampisilin, penisilin ve basitrasinle, *Streptococcus pyogenes*'e karşı da eritromisinle kombinasyon aktivitesinin değerlendirildiği çalışmada ise sinerjistik aktivite elde edilmiştir⁽¹⁹⁾.

Monoterpen yapısındaki karvakrol uçucu yağlarda bulunan fenolik bir bileşiktir. Yapısındaki aromatik zincirden dolayı hidrofobik, fenolik -OH grubundan dolayı da hidrofilik özellik sergileyebilmektedir. Karvakrolün kimyasal yapısındaki bu özellikler antimikrobiyal aktivitesinin nedeni olarak görülmektedir⁽²⁰⁾. Karvakrolün bakteriler üzerinde membran bütünlüğünü bozarak, membran akışkanlığını artırarak, ATPaz aktivitesini inhibe ederek, hücre iyon dengesizliği oluşturarak ve proton motiv gücünü redükte ederek aktivite

gösterdiği belirlenmiştir⁽¹⁰⁾.

Dirençli *A. baumannii* suşlarına karşı birçok bitkisel kökenli bileşenin antibakteriyel aktivitesi direnç sorununa çözüm bulmak adına birçok araştırmacı tarafından araştırılmaktadır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada *Myrtus communis* uçucu yağının 20 adet ÇİD *A. baumannii* suşuna karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu uçucu yağın polimiksin B ve siprofloksasin antibiyotikleri ile ayrı ayrı kombin edilmesi sonucunda 0.5 ve altında FİKİ değerleri ile sinerjizm gösterdiği saptanmıştır⁽³⁾. Diğer bir çalışmada ise, *Eucalyptus camaldulensis* uçucu yağının ÇİD *A. baumannii* suşlarına karşı 0.5-2 µl/ml MİK değerleri ile antibakteriyel aktivite gösterdiği saptanmıştır. Siprofloksasin, gentamisin ve polimiksin B antibiyotikleri ile yapılan kombinasyonlarda ise sinerjistik etki gözlenmiştir⁽²¹⁾. Duarte ve ark.⁽²²⁾ ise *A. baumannii*'nin iki referans türüne karşı altı farklı antibiyotik ile kişniş yağının kombinasyon etkisini araştırdıkları çalışmalarında, kloramfenikol, siprofloksasin, gentamisin ve tetrasiklin antibiyotikleri ile uçucu yağın sinerjistik etki gösterdiğini bulmuşlardır.

Bu çalışma elde edilen literatür araştırmalarına dayanarak kolistin dirençli *A. baumannii* suşlarına karşı karvakrolün kolistin ile kombinasyon etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmanın sonuçlarına göre, kolistin dirençli *A. baumannii* enfeksiyonları için uygulanan kombinasyon tedavilerinde karvakrol, kolistin etkinliğini arttırmak için gelecekte bir seçenek olarak kullanılabilir. Bu bağlamda güvenli ilaç kombinasyonlarının geliştirilebilmesi için in vivo çalışmalar gibi daha ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Çalışmamız süresince desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Dilara Öğünç'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Tiwari V, Roy R, Tiwari M. Antimicrobial active herbal compounds against *Acinetobacter baumannii* and other pathogens. *Front Microbiol.* 2015;6:618 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00618>
2. Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence.* 2012;3(3):243-50. <https://doi.org/10.4161/viru.19700>
- 3- Aleksic V, Mimica-Dukic N, Simin N, Stankovic Nedeljko N, Knezevic P. Synergistic effect of *Myrtus communis* L. essential oils and conventional antibiotics against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* wound isolates. *Phytomed.* 2014;21:1666-74. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.08.013>
4. Chusri S, Villanueva I, Voravuthikunchai SP, Davies J. Enhancing antibiotic activity: a strategy to control *Acinetobacter* infections. *J Antimicrob Chemother.* 2009;64(6):1203-11. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp381>
5. Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;35(3):219-26. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.10.024>
6. Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(7):1607-15. <https://doi.org/10.1093/jac/dks084>
7. Michalopoulos A, Falagas ME. Treatment of *Acinetobacter* infections. *Expert Opin Pharmacother.* 2010;11(5):779-88. <https://doi.org/10.1517/14656561003596350>
8. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(3):268-81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
9. Ni W, Shao X, Di X, Cui J, Wang R, Liu Y. In vitro synergy of polymyxins with other antibiotics for *Acinetobacter baumannii*: a systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents.* 2015;45(1):8-18. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.10.002>
10. Langeveld WT, Veldhuizen EJA, Burt SA. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. *Crit Rev Microbiol.* 2014;40(1):76-94. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.763219>
11. Betts JW, Wareham DW. In vitro activity of curcumin in combination with epigallocatechin gallate (EGCG) versus multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *BMC Microbiol.* 2014;14(1):172. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-172>
12. Marchese A, Barbieri R, Coppo E, et al. Antimicrobial

- activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. *Crit Rev Microbiol*. 2017;43(6):668-89.
<https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1295225>
13. Nostro A, Papalia T. Antimicrobial activity of carvacrol: current progress and future prospectives. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*. 2012;7:28-35.
<https://doi.org/10.2174/157489112799829684>
 14. Magi G, Marini E, Facinelli B. Antimicrobial activity of essential oils and carvacrol, and synergy of carvacrol and erythromycin, against clinical, erythromycin-resistant Group A Streptococci. *Front Microbiol*. 2015;6:165.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00165>
 15. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M07-A10, 10th ed. CLSI, Wayne: ABD; 2015.
 16. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Informational Supplement M100-S25. 25th ed. CLSI, Wayne: ABD; 2015.
 17. Moody J. Synergism testing: broth microdilution checkerboard and broth macrodilution methods. In: Isenberg HD (Ed.) *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2nd ed. Washington, DC: ASM Press, 2007: p.5.12.1-5.12.23.
 18. Choi JG, Kang OH, Lee YS, et al. Antibacterial activity of methyl gallate isolated from *Galla rhois* or carvacrol combined with nalidixic acid against nalidixic acid resistant bacteria. *Molecules*. 2009; 14(5):1773-80.
<https://doi.org/10.3390/molecules14051773>
 19. Palaniappan K, Holley RA. Use of natural antimicrobials to increase antibiotic susceptibility of drug resistant bacteria. *Int J Food Microbiol*. 2010;140:164-8.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.001>
 20. Memar MY, Raei P, Alizadeh N, Aghdam MA, Kafil HS. Carvacrol and thymol: strong antimicrobial agents against resistant isolates. *Rev Med Microbiol*. 2017;28(2): 63-8.
<https://doi.org/10.1097/MRM.0000000000000100>
 21. Knezevic P, Aleksic V, Simin N, Svircev E, Petrovic A, Mimica-Dukic N. Antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* essential oils and their interactions with conventional antimicrobial agents against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Ethnopharmacol*. 2016;3(178):125-36.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.12.008>
 22. Duarte A, Ferreira S, Silva F, Domingues FC. Synergistic activity of coriander oil and conventional antibiotics against *Acinetobacter baumannii*. *Phytomedicine*. 2012;19:236-8.
<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.11.010>