T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

İNFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

Ventilatörle İlişkili Pnömonilere Neden Olan Etkenlerde Biyofilm Oluşumunun ve Biyofilm Tabakalarına Etkili Antibiyotiklerin Araştırılması

Uzmanlık Tezi

Dr. Betül Sadıç

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Oral Öncül

İSTANBUL

2017

T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

İNFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

Ventilatörle İlişkili Pnömonilere Neden Olan Etkenlerde Biyofilm Oluşumunun ve Biyofilm Tabakalarına Etkili Antibiyotiklerin Araştırılması

Uzmanlık Tezi

Dr. Betül Sadıç

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Oral Öncül

İSTANBUL

2017

ÖNSÖZ

Öncelikle kendisiyle çalışmaktan gurur duyduğum, bu çalışmanın her anında beni destekleyen, sabırla sorularımı yanıtlayan, kendime güvenmem konusunda motive eden değerli tez danışmanım Prof. Dr. Oral ÖNCÜL'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca gerek meslek gerek hayat konusunda bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, her zaman sorularımı dinleyen ve yol gösteren, kıymetli zamanlarını ayırarak çalışmalarımı değerlendiren, karşılaştığım zorluklarda yanımda olduğunu hissettiren, güven veren, her konuda örnek almaya çalıştığım çok değerli hocam Prof. Dr. Haluk ERAKSOY'a,

Doğruluktan ve bilimsellikten vazgeçmeden eleştirmeyi öğrettiği, değerli mesleki deneyimlerini ve sırlarını bizimle paylaştığı için değerli hocam Prof. Dr. Halit ÖZSÜT'e,

Mesleki uygulamalarını ve bilgilerini cömertçe paylaşan, kendisinden çok şey öğrendiğim, aynı zamanda bir abi ve arkadaş olan değerli hocam Prof. Dr. Atahan ÇAĞATAY'a,

Sonsuz enerjisi, neşesi ve çalışma azmiyle bende büyük hayranlık uyandıran, soru ve sorunlarımda yol gösteren, ufkumu açan, uzmanlık dalımı sevmemde büyük katkısı olan değerli hocam Prof. Dr. Serap ŞİMŞEK YAVUZ'a,

Her konuda fikrine güvendiğim, asistanlığım boyunca her zaman yanımda olan değerli ablam ve hocam Uzm. Dr. Seniha BAŞARAN'a,

Deneylere başladığım ilk günden beri yanımda olan, destekleri ve motivasyonunu esirgemeyen, sorunlar karşısında yılmadan çalışmanın ve sabretmenin başarıya giden yolda bir araç olduğunu gösteren değerli hocam Prof. Dr. Zerrin AKTAŞ'a,

İlk günden beri bilgi ve tecrübelerini cömertçe sunan, deneylerimi yaptığım sırada gerek telefon ucunda gerekse yanı başımda olan, tatil, bayram ve zaman gözetmeksizin rahatça ulaşabildiğim, sorularımı sevgi ve sabırla yanıtlayan, çalışmamda büyük katkısı olan, iyimserliğiyle umutsuzluğa yer vermeyen değerli hocam Doç. Dr. Sibel DÖŞLER'e,

Yoğun çalıştığım zamanlarda verdikleri destek için özellikle Dr. Cumhur ÖZMEN'e, Dr. Gülşah TUNÇER'e, Dr. Ezgi ÖZBEK'e ve huzurlu bir çalışma ortamı sağlayan sevgili asistan arkadaşlarıma,

Deney hazırlıklarımda yardımlarını esirgemeyen tüm laboratuvar ekibine ve Mukaddes Ablaya,

Servis hemşirelerimize, personelimize, sekreterlerimize, kısacası İstanbul Tıp Fakültesi'nin tüm çalışanlarına,

Bugünlere gelmemde büyük emek ve katkıları olan, haklarını ödeyemeyeceğim sevgili anne ve babama, manevi destekleri için kıymetli kardeşim Sümeyye'ye ve enerji kaynaklarım sevgili yeğenlerim Elif Duru ve Emir'e,

Zor zamanlarımda yanımda olan, yazım aşamasında her türlü program ve teknik desteklerini esirgemeyen sevgili Gökhan'a,

En içten duygularımla teşekkür ederim.

Betül SADIÇ, 2017

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir. Proje no: 22257

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET…… 4
1. GİRİŞ…… 5
2. GENEL BİLGİLER…… 6
2.1. VİP…… 6
2.1.1. Epidemiyoloji…… 6
2.1.2. Patofizyoloji…… 6
2.1.3. Etyoloji…… 7
2.1.4. Risk Faktörleri…… 7
2.1.5. Tanı…… 8
2.1.6. Tedavi…… 14
2.1.7. Prognoz…… 16
2.2. Biyofilm…… 17
2.2.1. Biyofilm Yapısı ve Olışumu…… 18
2.2.2. Biyofilm Oluşumunda Bakteriler Arası Haberleşme…… 18
2.2.3. Biofilm Oluşumunun Nedenleri…… 19
2.2.4. Biyofilm Dirnci…… 20
2.2.5. VİP ve Biyofilm…… 20
3. MATERYAL VE METOD…… 21
3.1. Hasta Seçimi ve Veri Toplanması…… 21
3.2. Hasta Takibi ve Klinik Örneklerin Toplanması…… 21
3.3. Bakteri Suşlarının Tanımlanması ve Saklanması…… 22
3.4. Bakterilerin Antibiyotik Direnci Tanımlaması…… 22
3.4.1. Karbapeneme Dirençli Suşların Tanımlanması…… 23
3.4.2. Kolistine Dirençli Suşların Tanımlanması…… 23
3.5. Biyofilm Oluşumunun Gösterilmesi…… 23
3.6. Antibiyotik Duyarlılık Testleri…… 24
3.6.1. Sıvı Mikrodilusyon Yöntemi…… 25
3.6.2. Minumum Biyofilm Eradike Edici Konsantrasyon…… 25
3.7. Sinerji Testleri…… 26
3.7.1. Dama Tahtası (‘’Checkerboard’’) Yöntemi…… 26
3.7.2. Zamana Bağlı Öldürme Yöntemi (‘’Time-Kill Assay’’)…… 28
3.8. İstatistiksel Analiz…… 29
4. BULGULAR…… 30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ…… 49
6. KAYNAKLAR…… 56

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. VİP Gelişimine Neden Olan Risk Faktörleri……..9
Tablo 2. Klinik Pulmoner İnfeksiyon Skoru……. 12
Tablo 3. MDR Patojenlere Bağlı VİP Gelişimi İçin Risk Faktörleri……..……... 16
Tablo 4. VİP Gelişen ve Gelişmeyen Hastaların Demografik Özelliklerinin Karşılaştırılması……31
Tablo 5. VİP Gelişmine Katkı Sağlayan Risk Faktörleri…….……32
Tablo 6. VİP Gelişen Hastaların YBÜ'ye Yatış Tanıları…….33
Tablo 7. VİP Gelişen Hastaların Ek Sistemik Hastalıkları ve Sistemik Hastalıkların VİP Gelişimine Katkıları……..34
Tablo 8. VİP Etkenleri ve Etkenlerin Dağılımı……34
Tablo 9. VİP Gelişen ve Gelişmeyen Hastalarda Prognozun Değerlendirilmesi…….35
Tablo 10. VİP Tanısı Almış Ölen ve Sağ Kalan Hastalarda Demografik ve Klinik Özelliklerin Karşılaştırılması……36
Tablo 11. VİP'li Hastalarda Mortaliteye Katkı Sağlayan Bağımsız Risk Faktörleri…….. 37
Tablo 12. *Pseudomonas* (n=22) Suşlarının MİK Tablosu……37
Tablo 13. *K. pneumoniae* (n=31) Suşlarının MİK Tablosu…….38
Tablo 14. *Acinetobacter* (n=12) Suşlarının MİK Tablosu……...38
Tablo 15. *Pseudomonas* (n=22) Suşlarının Biyofilm Oluşturma Özelliklerine Göre Direnç Oranları……..38
Tablo 16. *K. pneumoniae* (n=31) Suşlarının Biyofilm Oluşturma Özelliklerine Göre Direnç Oranları……..39
Tablo 17. *Acinetobacter* (n=12) Suşlarının Biyofilm Oluşturma Özelliklerine Göre Direnç Oranları…….39
Tablo 18. İkişer *P. aeruginosa, K. pneumoniae* ve *Acinetobacter* Suşunun Meropenem, Siprofloksasin ve Kolistin İçin MİK, MBİK ve MBEK Değerleri…….….40
Tablo 19. Denenen Birer *P. aeruginosa, Acinetobacter* ve *K. pneumoniae* Suşu İçin Meropenem-Kolistin ve Meropenem-Siprofiloksasin Kombinasyonlarının Serbest Form Üzerine ve Biyofilm Tabakası Üzerine Dama Tahtası ve Zamana Bağlı Öldürme Yöntemlerine Göre Etkileri……41
Tablo 20. Denenen Birer *P. aeruginosa, Acinetobacter* ve *K. pneumoniae* Suşu İçin Meropenem-Kolistin ve Meropenem-Siprofiloksasin Kombinasyonlarının Biyofilm Tabakasına Dama Tahtası ve Zamana Bağlı Öldürme Yöntemlerine Göre Etkileri…… 42

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. VİP tedavisinde ampirik tedavi rejimleri……17
Şekil 2. Biyofilm oluşumunun basamakları…….19
Şekil 3. Mikrodilüsyon "checkerboard" yöntemiyle iki antibiyotiğin kombinasyon halinde elde edilen sonuçları…….……27
Şekil 4. *P. aeruginosa* (No. 18) suşunun meropenem 256 mg/lt, kolistin 16 mg/lt ve meropenem-kolistin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği……43
Şekil 5. *P. aeruginosa* (No. 18) suşunun meropenem 512 mg/lt, kolistin 64 mg/lt ve meropenem-kolistin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği……43
Şekil 6. *P. aeruginosa* (No. 18) suşunun meropenem 512 mg/lt, siprofloksasin 16 mg/lt ve meropenem-siprofloksasin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği……..…….44
Şekil 7. *P. aeruginosa* (No. 18) suşunun meropenem 256 mg/lt, siprofloksasin 32 mg/lt ve meropenem-siprofloksasin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği……..44
Şekil 8. *Acinetobacter* (No. 10) suşunun meropenem 512 mg/lt, kolistin 512 mg/lt ve meropenem-kolistin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği……..……..45
Şekil 9. *Acinetobacter* (No. 10) suşunun meropenem 256 mg/lt, kolistin 1024 mg/lt ve meropenem-kolistin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği……..……...45
Şekil 10. *Acinetobacte*r (No. 10) suşunun meropenem 512 mg/lt, siprofloksasin, 512 mg/lt ve meropenem-siprofloksasin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği……..…46
Şekil 11. *Acinetobacter* (No. 10) suşunun meropenem 256 mg/lt, siprofloksasin 1024 mg/lt ve meropenem-siprofloksasin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği……46
Şekil 12. *K. pneumoniae* (No. 7) suşunun meropenem 512 mg/lt, siprofloksasin 256 mg/lt ve meropenem-siprofloksasin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği……47
Şekil 13. *K. pneumoniae* (No. 7) suşunun meropenem 1024 mg/lt, siprofloksasin 128 mg/lt ve meropenem-siprofloksasin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği……...47
Şekil 14. *K. pneumoniae* (No. 7) suşunun meropenem 512 mg/lt, kolistin 4096 mg/lt ve meropenem-kolistin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği……...…48
Şekil 15. *K. pneumoniae* (No. 7) suşunun meropenem 256 mg/lt, kolistin 4096 mg/lt ve meropenem-kolistin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği……48

RESİM LİSTESİ

Resim 1. *P. aeruginosa* suşlarında pyosyanin pigmentinin gösterilmesi…… 23
Resim 2. Mikroplakta kristal viyoleyle boyama yöntemiyle biyofilm oluşumunun . gösterilmesi…….. 25
Resim 3. Mikrodilüsyon yöntemiyle MİK değerinin saptanması……... 27

KISALTMALAR

ABY: Akut böbrek yetmezliği

APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II

ARDS: Acute respiratory distress syndrome

ATS: American Thoracic Society

BAL: Bronkoalveoler lavaj

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

cfu: Colony forming units

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CRP: C-reaktif protein

EPS: Ekstraselüler polimerik maddeler

ET: Endotrakeal tüp

ETA: Endotrakeal aspirat

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FİK: Fraksiyonel inhibitör konsantrasyon

GA: Güven aralığı

GSBL: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz

IDSA: Infectious Diseases Society of America

İV: İntravenöz

İVİD: İnfeksiyona bağlı ventilatörle ilişkili durum

KDEB: Karbapeneme dirençli enterik bakteri

KDKp: Karbapeneme dirençli *Klebsiella pneumoniae*

KF: Korumalı fırça

KNS: Koagülaz-negatif stafilokoklar

KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı

KPİS: Klinik pulmoner infeksiyon skoru

MBEK: Minimum biyofilm eradike edici konsantrasyon

MBİK: Minimum biyofilm inhibe edici konsantrasyon

MBK: Minimum bakterisid konsantrasyon

MDR: Multi-drug resistant

MHB: Mueller-Hinton broth

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon

MRSA: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

MSS: Merkezi sinir sistemi

MSSA: Metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus*

MV: Mekanik ventilasyon

NHSN: National Healthcare Safety Network

OR: Odds ratio

OVİP: Olası ventilatörle ilişkili pnömoni

PBS: Phosfate buffered saline

PDR: Pan-drug resistant

PEEP: Positive end expiratory pressure

QS: Quorum sensing

SOFA: Sequential organ failure assessment

sTREM-1: Soluble triggering receptor expressed on myelocytes

TSA: Triptic soy agar

TSB: Triptic soy broth

UHESA: Ulusal Hastane Enfeksiyon Sürveyans Ağı

VİD: Ventilatörle ilişkili durum

VİO: Ventilatörle ilişkili olay

VİP: Ventilatörle ilişkili pnömoni

VKİ: Vücut kitle indeksi

XDR: Extremely drug resistant

YBÜ: Yoğun bakım ünitesi

ÖZET

Giriş ve Amaç: Bu çalışmada ventilatörle ilişkili pnömoni (VİP) tanısı almış yoğun bakım ünitesi (YBÜ) hastalarında, risk faktörlerinin, klinik bulguların ve prognozun değerlendirilmesi; endotrakeal aspirat (ETA), bronkoalveoler lavaj (BAL) gibi alt solunum yolu örneklerinde üreyen bakterilerin dağılımının, antibiyotik duyarlılıklarının ve biyofilm oluşturma yeteneklerinin belirlenmesi; çeşitli antibiyotiklerin, VİP etkenlerinin oluşturduğu biyofilm tabakasına karşı tek başına ve kombinasyon halindeki etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi Genel ve Travma Acil YBÜ'lerinde 1 Nisan 2016-31 Mart 2017 tarihleri arasında en az 48 saattir mekanik ventilasyon altında olan 18 yaş üzeri hastalar, Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ölçütleri doğrultusunda VİP gelişip gelişmediğine göre ikiye ayrıldı. Bu hastalarda ETA'da $\geq 10^5$ cfu/ml veya BAL'da $\geq 10^4$ cfu/ml olarak üreyen ve VİP etkeni olarak değerlendirilen bakteriler, klasik biyokimyasal yöntemler kullanılarak tanımlandı. Bu bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi, Etest® ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri için European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) tarafından belirlenen zon çapları ve minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri kullanıldı. Bakterilerin biyofilm oluşturma yetenekleri mikroplak yöntemiyle gösterildi. Antibiyotiklerin biyofilm üzerine tek başına etkinliği, minimum biyofilm inhibe edici konsantrasyon (MBİK) ve minimum biyofilm eradike edici konsantrasyon (MBEK) belirlenerek; kombinasyon halinde etkinliği ise dama tahtası ("checkerboard") ve zamana bağlı öldürme ("time-kill") yöntemleriyle gösterildi.

Bulgular: Çalışmaya 177 hasta dahil edildi. Bunların 71 (%40.1)'inde VİP geliştiği tespit edildi. VİP gelişen hastalarda YBÜ'de kalış süresi, ortalama 29 (3-107) gün iken, bu süre VİP gelişmeyen hastalarda 12 (3-70) gün olarak bulundu ($p<0.001$). Ventilasyon süresi, rektal karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* (KDKp) kolonizasyonu ve sigara kullanımı, VİP gelişimi için risk faktörü olarak bulundu (sırasıyla "Odds ratio", OR: 1.07, 4.93, 3.89; %95 Güven aralığı, GA: 1.02-1.12, 2.09-11.64, 1.68-8.93). Yaş, SOFA skoru ve rektal KDKp kolonizasyonunun, VİP gelişen hastalardaki mortalite için risk faktörleri olduğu saptandı (sırasıyla OR: 1.15, 1.60, 15.21; %95 GA: 1.03-1.28, 1.05-2.43, 2.33-99.01). Etken olarak saptanan *K. pneumoniae*, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşlarının sırasıyla %94, %63.6 ve %100'ünün biyofilm oluşturduğu; meropenem, siprofloksasin ve kolistinin bu suşlara karşı saptanan MBİK ve MBEK değerlerinin, MİK değerlerinden en az 100 kat daha yüksek

olduğu görüldü. Sinerji testi sonucunda serbest formlarda meropenem ve siprofloksasin kombinasyonunda "aldırmazlık" görülürken, biyofilm oluşturan suşlarda bu kombinasyonla aynı yöntemle "sinerjik etki" görüldü. Zamana bağlı öldürme yönteminde de sinerjik etki bu kombinasyon için *Acinetobacter* spp. ve *K. pneumoniae* suşlarında saptandı. *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. ve *K. pneumoniae* suşlarında zamana bağlı öldürme yöntemiyle meropenem-kolistin ve meropenem-siprofloksasinin farklı konsantrasyonlarında sinerjik etki tespit edildi.

Sonuç: VİP gibi mortalite ve morbiditesi oldukça yüksek olan hastane infeksiyonlarının tedavisinde etken bakterilerin yüksek biyofilm yapma potansiyelleri göz ardı edilmemelidir. Hayatı tehdit eden ve bu bakterilerin neden olduğu infeksiyonların tedavi başarısı için biyofilm varlığının araştırılması, ayrıca antibiyotik duyarlılıklarının saptanması için MBİK ve MBEK değerlerinin araştırılması, daha doğru bir yaklaşım olacaktır. Bunları rutin laboratuvar şartlarında belirlemenin ve antibiyotik kombinasyonlarının biyofilm üzerine etkinliğini tayin etmenin güçlüğü göz önünde bulundurulduğunda, bunları test edilebilecek daha pratik yaklaşımların ve cihazların gerekliliği öne çıkmaktadır. Rutinde kullanılabilecek pratik bir yöntem, hem rasyonel antibiyotik kullanımına önemli katkı sağlayacak, hem de antibiyotik direnci gelişiminde olumlu sonuçlara neden olarak tedavi başarısını doğrudan etkileyecektir.

Anahtar kelimeler: Ventilatörle ilişkili pnömoni, biyofilm, sinerji.

ABSTRACT

Objectives:

In this study, we aimed to determinete the distribution of bacteria in the lower respiratory tract (endotracheal aspirate (ETA), bronchoalveolar lavage (BAL)) of patients who have been diagnosed with VAP in intensive care unit, the antibiotic susceptibility results, the biofilm formation capacities, investigation of the effectiveness of various antibiotics alone or in combination in the biofilm layer, evaluate the risk factors causing VAP, clinical findings and prognosis in patients with VAP.

Materials and methods : According to the criteria of Centers for Disease Control and Prevention (CDC), patients with 18 years of age under mechanical ventilation for at least 48 hours between April 1, 2016 and March 31, 2017 in Istanbul University Faculty of Medicine Hospital General and Trauma Emergency YBU divided into two categories with VAP or without VAP. In these patients, bacterial strains of ≥105 cfu / ml in ETA or ≥104 cfu / ml in BAL were identified using conventional biochemical methods. Zone diameters and minimum inhibitor concentration (MIC) values determined by disk diffusion method, Etest® and broth microdilution methods by the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) were used to determine susceptibility of these bacteria to antibiotics. The ability of bacteria to form biofilms was demonstrated by microplate method. By determining the efficacy of the antibiotics on biofilm alone, the minimum biofilm inhibitory concentration (MBMC) and the minimum biofilm eradicating concentration (MBEC); in combination, the event was shown using checkerboard and time-kill methods.

Results: 177 patients were included in the study. It was determined that 71 cases (40.1%) developed VAP in the cases. When evaluated in terms of the duration of stay in ICU, the duration of stay in ICU with VAP [29 (3-107) days] and in patients with no VAP [12 (3-70) days] ($p < 0.001$). Ventilation time, rectal carbapenem resistant *K. pneumoniae* (CRKP) colonization and smoking was found to be risk factors that contribute to VAP (OR: 1.07, 4.93, 3.89, 95% confidence interval [1:02 to 1:12], [2.09-11.64] [1.68-8.93]. Age, Sofa Score and CRKP colonization were identified as risk factors contributing to mortality in patients with VAP (OR: 1.155, 1.606, 15.211; 95% Confidence interval: [1.036-1.288], [1.059-2.435], [2.337-99.018]. It was observed that *K. pneumoniae, Pseudononas* and *Acinetobacter* strains were found to be biofilm in 94%, 63.6% and 100% of the strains, respectively, and the MIC values of meropenem, ciprofloxacin and colistin MBIC and MBEC in these strains were at least 100 times higher. As a result of the synergy test, in the free form combination of meropenem and ciprofloxacin, " Indifferent Effect " was seen in the biofilm forming strains, "

Synergistic Effect " was seen with this combination in the same way. In the time-dependent killing method synergistic effect was also found in *Acinetobacter* and *K. pneumoniae* strains for this combination. The synergistic effect of different concentrations of meropenem-colistin and meropenem-ciprofloxacin on time-dependent killing in *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* and *K. pneumoniae* strains was determined.

Conclusions: High biofilm potential of active bacteria should not be overlooked in the treatment of hospital infections with high mortality and morbidity such as VAP. Investigation of the presence of biofilms in the treatment of life-threatening infections caused by these bacteria and the investigation of MBIC and MBE values for detection of antibiotic susceptibility will be a more correct approach for treatment success. Identifying these in laboratory conditions and determining the efficacy of antibiotic combinations on biofilm are not routinely available in routine laboratories, so the practical approaches and devices that can be tested for them are important. A practical method that can be used on a routine basis will have a positive impact on the development of antibiotic resistance which will make a significant contribution to the use of rational antibiotics and will directly affect the treatment success.

Key words: Ventilator-associated pneumonia, biofilm, synergy.

1. GİRİŞ

Hastane kökenli infeksiyonlar arasında ikinci sırada yer alan nozokomiyal pnömonilerin %83'ünü ventilatörle ilişkili pnömoni (VİP) oluşturmaktadır (1). VİP'li hastalarda tüm nedenlere bağlı tahmin edilen mortalite oranı %20-50 arasında değişmektedir (2). İntübe hastaların %8-28'inde VİP gelişmektedir. İntübasyon sırasında kullanılan endotrakeal tüp (ET), mikroorganizmalarla kolonize olabilmekte ve bu mikroorganizmalar birçok yabancı cisim infeksiyonunda olduğu gibi biyofilm gelişebilmektedir. Biyofilm içindeki bakterilerin alt solunum yoluna ulaşmasıyla pnömoni oluşabilmektedir. Biyofilm infeksiyonlarının antibiyotik tedavisindeki güçlükler tedavi sürelerini uzatmakta, tedavi başarısını azaltmakta ve mortaliteyi artırmaktadır (3).

Bu çalışmada Fakültemiz genel ve travma acil yoğun bakım ünitelerinde VİP tanısı almış olan hastaların 1) alt solunum yolu örneklerinde (endotrakeal aspirat (ETA), bronkoalveoler lavaj (BAL)) üreyen bakterilerin dağılımının, 2) antibiyotik duyarlılık sonuçlarının 3) bu etkenlerin biyofilm oluşturma kapasitelerinin belirlenmesi; 4) antibiyotik kombinasyonlarının biyofilm tabakasına etkinliğinin araştırılması; 5) VİP gelişimine neden olan risk faktörlerinin belirlenmesi; 6) VİP gelişen hastalarda klinik bulguların ve prognozun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. VİP

VİP endotrakeal intübasyondan 48-72 saat sonra sistemik infeksiyon bulgularının (ateş, lökosit sayısında değişiklik) yanında akciğer parenkiminde yeni veya ilerleyici infiltratların gelişmesi, balgam özelliklerinin değişmesi ve bir etyolojik ajanın saptanmasıyla karakterize pnömoni olarak tanımlanır (4). VİP, hastane kökenli pnömonilerin bir alt grubu olarak klinik seyir, tanı ve prognoz açısından farklı özelliklere ve öneme sahiptir (5).

2.1.1. Epidemiyoloji

Pnömoniler hastane kökenli infeksiyonlar arasında ikinci sırada olup önemli bir ölüm nedenidir. Hastane kökenli pnömonilerin %83'ünü VİP oluşturur (1). VİP'li hastalarda tüm nedenlere bağlı tahmin edilen mortalite oranı %20-50 arasında değişmektedir (2). 2013 yılında yayımlanmış olan bir meta-analizde VİP mortalitesinin % 13 olduğu gösterilmiştir (6).

VİP hastaların uzun süre hastanede yatmasına neden olmakta ve maliyeti artırmaktadır. VİP, ventilasyon süresini, bir çalışmaya göre 7.6 gün bir başkasına göre 11.5 gün uzatmaktadır. Yine aynı çalışmalarda VİP'in hastanede yatış süresini 11.5 günle 13.1 güne kadar uzattığı, hasta başına 40 000 Amerikan doları ek maliyete neden olduğu bildirilmiştir (7,8).

Yapılan çalışmalarda VİP hızının 1000 mekanik ventilasyon (MV) gününde 8 ile 46.3 arasında değiştiği bildirilmiştir (9-11). Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Ulusal Sağlık Bakımı Güvenlik Ağı (National Healthcare Safety Network (NHSN)) 2012 yılı verilerine göre; ABD'de genel YBÜ' de, ortalama mekanik ventilatör kullanım oranı %26, VİP oranı 1000 ventilatör gününde 0.7 olarak bulunmuştur (12). Ulusal Hastane Enfeksiyon Sürveyans Ağı (UHESA) 2015 yılı raporuna göre, Türkiye genelinde solunumsal YBÜ'lerde mekanik ventilatör kullanım oranı % 62, VİP hızı 1000 ventilatör günü için 6.3 olarak saptanırken; Türkiye genelinde üniversite hastanelerinin solunumsal YBÜ'lerinde mekanik ventilatör kullanım oranı %61, VİP hızı 1000 ventilatör günü için 11.3 olarak saptanmıştır (13).

2.1.2. Patofizyoloji

VİP'in patogenezi alt solunum yollarına giren mikroorganizmaların sayısı, virülansı ve konağın cevabıyla ilişkilidir. Mikroganizmaların alt solunum yoluna girmesiyle kolonizasyon oluşur. Kolonizasyonu takiben konağın hücresel (polimorfonükleer lökositler, makrofaj ve lenfositler), hümoral (antikorlar ve kompleman sistemi) ve mekanik (mukosiliyer aktivite) savunmalarını etkisiz kılması sonucu akciğer parenkiminde infeksiyon gelişir (4).

VİP'te akciğerlerin en önemli infeksiyon kaynağı orofaringeal bölgeyi ve daha öz ölçüde gastrointestinal sistemi ya da sinüsleri kolonize eden mikroorganizmaların aspirasyonudur. ET ile balonu arasında biriken bakterilerin aşağıya geçişi ve akciğerlere ulaşmasıyla infeksiyon meydana gelebilir. ET'deki infekte biyofilm tabakasından distal hava yollarına embolizasyon da VİP patogenezinde önemlidir. Sık olmamakla birlikte, patojenler kontamine aerosollerin inhalasyonuyla ya da kan yoluyla akciğerlere ulaşarak da infeksiyona neden olabilir (4).

2.1.3. Etyoloji

VİP'e neden olan mikroorganizmalar geniş bir yelpazede yer alır. Bu mikrorganizmaların türü ventilasyon süresine bağlıdır. Erken başlangıçlı VİP'e daha çok duyarlı mikroorganizmalar neden olurken, geç başlangıçlı VİP etkenleri genellikle çoğul antibiyotik dirençli (multi-drug resistant ''MDR'') bakterilerdir.

Erken başlangıçlı VİP'e neden olan etkenler içinde *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae*, metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA), antibiyotiklere duyarlı aerop Gram-negatif enterik çomaklar (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter* türleri, *Proteus* türleri ve *Serratia marcescens*) sayılabilir. Geç başlangıçlı VİP etkenleri ise genellikle metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA), *Acinetobacter* türleri, *Pseudomonas aeruginosa* ve Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *K. pneumoniae* gibi MDR bakterilerdir. Orofarinkste yaygın olarak bulunan viridans streptokoklar, *Corynebacterium* türleri, koagülaz-negatif stafilokoklar (KNS) ve *Neisseria* türleri de alt solunum yollarında klinik olarak anlamlı sayılara ulaşabilirler. VİP sıklıkla polimikrobiyal bir infeksiyondur. İmmünokompetan bireylerde fungal ve viral ajanlar nadir de olsa VİP etkeni olabilirler (2,4).

2.1.4. Risk Faktörleri

VİP gelişimi için risk faktörleri değiştirilebilir ve değiştirilemeyen risk faktörleri olarak ikiye ayrılır. Bunlar da hastayla ve tedaviyle ilişkili olarak alt gruplara ayrılır (14). Değiştirilemeyen ve değiştirilebilir risk faktörleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

a. Değiştirilemeyen Risk Faktörleri

Hastayla İlişkili Risk Faktörleri: İleri yaş (>60), erkek cinsiyet, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), geniş yanıklar, travma, toraks ve üst karın cerrahisi geçirilmesi, acute respiratory distress syndrome (ARDS), altta yatan hastalığın şiddeti Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II skoru >16) ve başvuru sırasında Glasgow koma skorunun <9 olması, VİP için tanımlanmış hastayla ilgili risk faktörleri arasındadır (14-16).

Tedaviyle İlişkili Risk Faktörleri: Cerrahi öyküsü, intrakraniyal basınç monitorizasyonu, reintübasyon, hasta transportu gibi faktörler tedaviyle ilişkili değiştirilemez risk faktörleridir (14).

b. Değiştirilebilir Risk Faktörleri

Değiştirilebilir risk faktörleri, VİP yönetimi ve önlenmesi konularının ana hedefini oluşturur (4).

Tedaviyle İlişkili Risk Faktörleri: Aspirasyon, trakeostomi, aerosol kullanımı, vücut pozisyonu, enteral beslenme, nazogastrik tüp kullanımı, antibiyotik kullanımı, stres ülser profilaksisi, glukoz regülasyonu ve transfüzyon, tedaviyle ilişkili değiştirilebilir risk faktörleridir (4,14).

2.1.5. Tanı

Klinik özellikler tek başına yeterli olmadığından VİP şüphesi olan her durumda tanısal değerlendirme gereklidir. Hedef VİP'i doğrulamak ve olası patojenleri belirlemektir. Böylece uygun tedavi başlatılabilir. Değerlendirme iyi bir fizik muayeneyle başlar, göğüs radyografisiyle devam eder. Anormal göğüs radyografisinde infeksiyonla uyumlu yeni değişiklikler gösteren hastalarda solunum yollarının örneklenmesi ve klinik örneklerin mikroskopik inceleme ve kültürlerinin yapılması gerekir. Amerikan İnfeksiyon Hastalıkları Derneği (Infectious Diseases Society of America, IDSA) ve Amerikan Toraks Derneği' nin (American Thoracic Society, ATS) 2016 kılavuzu VİP tanısı için invazif örnekleme (bronkoskopik ve mini BAL) yerine yarı kantitatif kültürlerle non-invazif örneklemeyi (endotrakeal aspirasyon) önermektedir (2).

Antibiyotik tedavisi mikroskopik inceleme ve kültür yöntemlerinin hassasiyetini azaltacağından, mikrobiyolojik örnekleme antibiyotik tedavisi öncesi ya da değiştirilmeden yapılır. Solunum yolu örnekleri elde edildiğinde klinik şüphe yüksek ve mikroskopik incelemenin anlamlı olduğu tüm vakalarda ampirik antibiyotik tedavisi başlanmalıdır. Bazen hastalığın ciddiyeti veya örneklemedeki gecikmeler nedeniyle tanısal örneklemeden önce ampirik antibiyotik tedavisinin başlatılması gerekebilir.

Tablo 1. VİP Gelişimine Neden Olan Risk Faktörleri (4, 14-16)

Değiştirilemeyen Risk Faktörleri	Değiştirilebilir Risk Faktörleri
Hastayla ilgili	**Tedaviyle ilgili**
İleri yaş (>60)	Antibiyotik kullanımı
Erkek cinsiyet	H_2 reseptör antagonistlerinin kullanımı
APACHE II skoru >16	Antasid kullanımı
KOAH	Sedasyon
Geniş yanıklar	Ventilatör devrelerinin değiştirilme sıklığı
Kafa travması	Enteral nütrisyon
ARDS	Nazogastrik tüp
Sinüzit	Supin pozisyon
Tedaviyle ilgili	Aerosol kullanımı
Reintübasyon	Transfüzyon
Toraks cerrahisi	Yetersiz aspirasyon
Üst karın cerrahisi	Trakeostomi
Hasta transportu	
Kafa içi basınç monitorizasyonu	

APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II, KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, ARDS: Acute respiratory distress syndrome.

a. Tanısal Testler: Tanı için sırasıyla atılması gereken birçok adım bulunmaktadır.

(1) Akciğer Grafisi: VİP şüphesi olan tüm hastalara göğüs radyografisi yapılmalıdır (17). Akciğer grafisinin normal bulgular taşıması çoğu zaman VİP tanısını dışlamamıza yardım etmektedir, akciğer grafisinde anormal bulguların olması alt solunum yolu sekresyonlarının mikrobiyolojik incelemesini gerekli kılmaktadır. VİP'teki yaygın radyografik anormallikler içerisinde alveoler infiltratlar, hava bronkogramları ve komşu solid organların silüet görüntüleri yer almaktadır.

VİP tanısı için anormal bir akciğer grafisi gerekiyorsa da yeterli değildir. Radyografik anormalliklerin VİP tanısında tek başına yetersiz olmasının nedeni bunların spesifik olmamasıdır (14,18-20). Göğüs radyografisinin diğer avantajları hastalığın ciddiyetinin belirlenmesine ve plevral efüzyonlar veya kavitasyon gibi komplikasyonların saptamasına yardımcı olabilmesidir.

(2) Solunum Sisteminin Örneklenmesi: Alt solunum yolu örneklemesi VİP şüphesi ve akciğer grafisi anormal olan tüm hastalar için indikedir (2). Solunum yollarından ve alveollerden bronkoskopik veya bronkoskopik olmayan tekniklerle örnek toplanması için çeşitli yöntemler vardır.

Trakeobronşiyal aspirasyon veya mini BAL bronkoskopik olmayan alt solunum yolu örneklemesi yöntemleridir.

- Trakeobronşiyal aspirasyon, bir kateterin ET boyunca direnç gelene kadar ilerletilmesi ve daha sonra aspirasyon yapılmasıyla gerçekleştirilir.
- Mini-BAL bir kateterin endotrakeal tüp boyunca direnç gelene kadar ilerletilmesi, katetere steril serum fizyolojik verilmesi ve ardından aspirasyon yapılmasıyla gerçekleştirilir.

Bronkoskopik olmayan alt solunum yolu örneklemelerini herhangi bir sağlık personeli yapabilir. Klinisyen uygulaması ve gözlemine gerek yoktur. Böylece örnekler hem hızlı elde edilir hem de maliyet düşük olur.

Bronkoskopik örnekleme BAL veya korumalı fırça (KF) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilir.

- BAL bronşiyal bir segmente yerleştirilmiş esnek bir bronkoskop aracılığıyla steril serum fizyolojik infüzyonu ve aspirasyonunu içerir.
- KF yönteminde koruyucu kılıf içinde bulunan bir fırça kullanılır. Bronkoskopi esnasında fırçanın kontamine olma ihtimalini en aza indirgemek için tasarlanmıştır. Prosedür bronkoskop ucunu bir bronş segmentine yerleştirmeyi, kılıfı bronkoskoptan geçirerek ve daha sonra fırçayı kılıfın dışına çıkararak hava yoluna doğru ilerletmeyi gerektirir. Örnekler hava yolu duvarı fırçalanarak, fırçayı kılıfın içine çekerek ve bronkoskoptan kılıf çıkarılarak toplanır.

VİP şüphesi altında bronkoskopik örnekleme ve bronkoskopik olmayan örnekleme yöntemleri karşılaştırılmıştır. Bulgular bronkoskopik örnekler mortaliteyi, hastanede kalış süresini, MV süresini veya YBÜ'de kalış süresini iyileştirmediğini göstermektedir (21-23). Bununla birlikte bronkoskopik yöntemler alveoler örneklerin hava yolu kontaminasyonunu en aza indirir ve alveoler hücre popülasyonunun doğru şekilde değerlendirmesini sağlar. Bronkoskopik örnekleme antimikrobiyal tedavinin daha rasyonel şekilde düzenlenmesine ve antibiyotik direncinin kontrol altına alınmasına olumlu katkı sağlayabilir (21,24,25).

(3) Mikroskopik İnceleme: En yaygın mikroskopik inceleme yöntemi Gram boyamasıdır. Polimorfonükleer lökositleri ve diğer hücre tiplerini yarı-kantitatif hale getirmenin yanı sıra, bakterilerin morfolojisini karakterize etmek için de kullanılır. Gram

boyamada bol nötrofil görülmesi VİP ile uyumludur ve saptanan bakteriler çoğu kez etken olarak değerlendirilmektedir. Gram boyaması da ampirik antibiyotik tedavisinin düzenlenmesi ve antibiyotik direncinin kontrol altına alınmasına yardımcı olur. Gram boyamasında saptanan bakterilerin kültürde üretilmesi tanı değerini arttırır ve rasyonel antibiyotik tedavisine katkı sağlar (2).

(4) Kültür: Niteliksel, kantitatif veya yarı kantitatif kültürler VİP tanısı için tercih edilebilir. ATS VİP tanısında non-invazif örnekleme yaparak semi-kantitatif kültür yöntemini önermektedir (2).

- **Kantitatif Kültür** - Bronkoskopik veya bronkoskopik olmayan örneklerde kantitatif kültürler yapılabilir. Belirlenmiş eşik bakteri koloni sayısı aşıldığında VİP tanısı desteklenmektedir. Sadece solunum yolu patojeni olan bakteriler değerlendirilmeye alınmalıdır.

Trakeobronşiyal aspirasyonla elde edilen örnekler için 100.000 cfu/mL, BAL ile elde edilen örneklerde 10.000 cfu/mL veya KF yöntemiyle elde edilen örnekler için 1000 cfu/mL eşik değerler olarak kabul edilmektedir (2).

- **Semi-kantitatif Kültür** – Semi-kantitatif kültürler bronkoskopik veya bronskoskopik olmayan örneklerde de yapılabilir. Genellikle ‘yoğun’, ‘orta’, ‘hafif’ veya ‘üreme olmadı’ şeklinde bildirilmektedir. VİP'in tanısında semi-kantitatif kültür yöntemine ait ölçütler kesin olarak belirlenmemiştir. Ancak orta veya yoğun büyüme gösteren semi-kantitatif kültür sonuçları VİP tanısını destekler. Semi-kantitatif kültürler, solunum yolları kolonize olan hastalarla VİP'li hastaları ayırma konusunda kantitatif kültürlere herhangi bir üstünlüğü saptanmamıştır (2). Sonuç olarak semi-kantitatif kültürlerle yalancı pozitif sonuçlara daha sık rastlanır ve bu da gereksiz tedavilere yol açabilir.

(5) Diğer Tanı Testleri: Prokalsitonin gibi biyobelirteçler, KPİS ve akciğer biyopsisi sıkça tartışılan ek tanı testleridir. Bunların VİP tanısının konulmasındaki rolleri kısıtlıdır**.**

- **Biyolojik Belirteçler:** Biyolojik belirteçler bazen bakteriyel ve bakteri dışı pnömoni nedenlerini ayırt etmek için kullanılır.

Prokalsitonin biyolojik bir belirteçtir. VİP şüphesinde antibiyotik başlama kararı için serum prokalsitonin düzeylerinin yararlı bir belirteç olup olmadığı bilinmemektedir (26,27). Bununla birlikte prokalsitoninin VİP tanısı almış hastalarda yararlı olabileceği iki durum vardır. Birincisi prokalsitonin antibiyotik tedavisinin kesilip kesilmeyeceğine karar vermede faydalı olabilir (28). İkincisi prokalsiton düzeyinin artışı septik şok ve mortaliteyle ilişkili olabileceğinden bu test yararlı bir prognostik belirteç sayılabilir (27-29).

C-reaktif protein (CRP) ve ‘’soluble triggering receptor expressed on myelocytes’’

(sTREM-1) gibi diğer biyolojik belirteçler başlangıçta VİP tanısı için umut verici belirteçler olarak kabul edildi. Bununla birlikte daha yakın tarihli çalışmalar BAL sıvısında bu biyolojik belirteçlerin ölçümünün VİP için minimal tanı değerine sahip olduğunu göstermiştir (30-32).

- **KPİS:** KPİS klinik, radyografik, fizyolojik ve mikrobiyolojik verileri sayısal bir sonuçta birleştirir (Tablo 2). KPİS'in altıdan büyük olması VİP ile ilişkili olduğu anlamına gelmektedir (33). Prospektif bir kohort çalışması %60 duyarlılık ve %59 özgüllük oranıyla KPİS'in VİP tanısında yeterince güçlü olmadığını düşündürmektedir (34,35).

Tablo 2. Klinik Pulmoner İnfeksiyon Skoru (36)

Puan	**0**	**1**	**2**
Vücut sıcaklığı (°C)	≥36.1, ≤ 38.4	≥38.5, ≤ 38.9	≥39, ≤36
Lökosit sayısı (/µl)	≥4000-≤1100	<4000, >1100	
Sekresyon	Yok	Az, pürülan değil	Bol, pürülan
PaO_2 /FiO_2	>240 ya da ARDS		<240 ya da ARDS değil
Akciğer grafisi	İnfiltrasyon yok	Difüz yamalı infiltrasyon	Lokalize infiltrasyon
Mikrobiyoloji	Üreme yok ya da hafif üreme var	Orta ya da fazla üreme var	

Gram boyaması anlamlıysa 1 puan daha eklenir.

- **Akciğer Biyopsisi:** Akciğer biyopsi materyalinin histolojik inceleme sonuçları kısıtlı VİP tanısı nedeniyle nadiren kullanılır. İnvazif bir işlem gerektirmesine ek olarak, güvenilirliği ve tekrarlanabilirliği belirsizdir. Bunun nedeni büyük olasılıkla VİP'i tanımlamak üzere geliştirilmiş standart histolojik ölçütlerin bulunmamasıdır.
- **Laboratuvar Testleri:** VİP tanısı için geliştirilmiş spesifik laboratuvar testleri bulunmamaktadır.

b. Tanı Kriterleri: VİP tanısı ≥48 saat MV altında olan bir hastada yeni veya ilerleyici bir infiltrat geliştiğinde ve solunum örnekleri pozitif olduğunda (mikroskopik incelemede artmış nötrofiller görülürse, kültürde belirlenmiş eşik koloni sayısı üzerinde bakteri üremesi olursa) klinik bulgular eşliğinde konulur. VİP tanısı için prokalsitonin, CRP ve sTREM-1 dahil diğer biyolojik belirteçlerin ve infeksiyon skorlarının kullanılması önerilmez (2).

c. Ayırıcı Tanı: Akciğer infiltrasyonları, ateş, solunum anormallikleri ve lökositozun; VİP dışında, aspirasyon pnömonisi, infarktüslü pulmoner emboli, ARDS, pulmoner hemoraji, akciğer kontüzyonu, infiltratif tümör, radyasyon pnömonisi, ilaç reaksiyonu ve kriptojenik organize pnömoni gibi birçok nedeni vardır.

d. Ventilatörle İlişkili Olaylar: VİP için tanımlanan klinik ve laboratuvar bulgularının, sürveyans için özgül ve duyarlı olmadığı düşüncesinden yola çıkarak olası ve yüksek olası VİP için CDC Ulusal Sağlık Güvenliği Ağı, Ocak 2013'te yeni sürveyans ölçütleri geliştirmiştir (36). Bu yeni sürveyans stratejisinde Ventilatörle İlişkili Olay (VİO) ve bunun üç basamağı olan Ventilatörle İlişkili Durum (VİD), İnfeksiyona Bağlı Ventilatörle İlişkili Durum (İVİD), Olası VİP terimleri tanımlanmış ve ayrıca bir VİO Sürveyans Tanımlama Algoritması hazırlanmıştır.

VİO, bir stabilite döneminin ardından ventilatör ayarlarının artışını gerektiren durum olarak tanımlanır. VİO tanımı MV'ye bağlı olarak ortaya çıkan komplikasyonları ve bununla ilgili risk faktörlerini geniş bir yelpaze içerisinde incelemektedir (37-39).

I-Ventilatörle İlişkili Durum (VİD): VİD, MV yapılan bir hastada iki veya daha fazla gün süren bir stabilite döneminin ardından günlük minimum pozitif ekspirasyon sonu basınç (PEEP) ya da günlük minimum FiO_2'nin düşürülmesini takiben aşağıdaki gereksinimlerden birinin görülmesi durumudur.

1. İki gün veya daha uzun süre devam eden günlük minimum PEEP'te ≥3 cmH_2O artış
2. İki gün veya daha uzun süre devam eden günlük minimum FiO_2'de ≥%20 artış

II- İnfeksiyona Bağlı Ventilatörle İlişkili Durum (İVİD): VİD'i olan hastalarda aşağıdaki ölçütlerden ikisinin bulunması durumudur.

- Vücut sıcaklığı >38°C veya <36°C veya lökosit ≥12 000/mm^3 veya ≤ 4000/mm^3
- Yeni bir antimikrobiyal ajanın başlanması ve ≥4 gün devam edilmesi

III- Olası Ventilatörle İlişkili Pnömoni (OVİP): İVİD'li hastaların ayrıca solunum yolu infeksiyonuyla ilgili laboratuvar ve/veya mikrobiyolojik kanıtlara sahip olmalarını

gerektirir. OVİP üç gün veya daha uzun süre MV yapılan hastada oksijenizasyonun kötüleşmesinden bir gün önce veya iki gün sonrası dönemde aşağıdaki ölçütlerden birinin olması olarak tanımlanır.

1. Pürülan sekresyondan bağımsız aşağıdaki örneklerden birinde belirlenen eşik koloni sayısı üzerinde bakteri üremesi. ETA $\geq 10^5$ cfu/ml veya eşdeğer semikantitatif sonuç; BAL $\geq 10^4$ cfu/ml veya eşdeğer semikantitatif sonuç; akciğer dokusu $\geq 10^4$ cfu/ml veya eşdeğer semikantitatif sonuç; KF $\geq 10^3$ cfu/ml veya eşdeğer semikantitatif sonuç.
2. Pürülan sekresyona (alt solunum yolundan alınan örneklerinde 100'lük büyütmede her alanda 10'dan az epitel ve 25'ten fazla nötrofil görülmesi) ek olarak aşağıdaki örneklerde kültür pozitifliği: balgam, ETA, BAL, akciğer dokusu, KF.
3. Aşağıdaki testlerden birinin pozitifliği:
    - Mikroorganizmanın plevral sıvıda tanımlanması
    - Akciğer dokusunun histopatolojik incelemesinde aşağıdaki tanımlardan birinin bulunması: [1] bronşiyoller ve alveollerde apse oluşumu ve nötrofil birikimi olan konsolidasyon odakları, [2] akciğer parenkiminde mantar invazyonu bulguları (hif, psödohif veya maya formlarının görülmesi), [3] akciğer parenkiminde immünokimyasal, sitolojik veya mikroskopik sonuçlara dayanarak akciğer patojenlerinin gösterilmesi
    - *Legionella* tanı testleri
    - İnfluenzavirus, respiratuar sinsisyum virusu, adenovirus, parainfluenzavirus, rinovirus, human metapnömovirus, koronavirus için tanı testleri.

Bu ölçütlerin klinik sonuçlar üzerindeki etkisi tam olarak bilinmemektedir. Prospektif yapılan bir araştırmada VİO ölçütleriyle VİP olgularının üçte birinden daha azının tanımlandığı ve çoğu VİP'in önlenemeyen olay olduğu bildirilmiştir (38). Buna ek olarak VİO'su olan hastaların VİO'su olmayan hastalara oranla daha yüksek morbidite ve mortaliteye sahip oldukları görülmektedir.

2.1.6. Tedavi

Klinik olarak VİP şüphesi olduğunda vakit kaybetmeden antimikrobiyal tedavi başlanmalıdır (2). Tedavinin geciktirilmesi veya uygunsuzluğu VİP'li hastalarda yüksek mortaliteyle ilişkilidir. Bununla birlikte geniş spektrumlu ve uzun süreli antimikrobiyal tedaviler *Clostridium difficile* infeksiyonlarını, ilaç yan etkilerini ve antimikrobiyal direnç riskini artırır. Başlanan geniş spektrumlu ampirik tedaviler kültür sonuçlarına göre tekrar gözden geçirilmelidir. VİP'in klinik, radyolojik ve mikrobiyolojik bulguları pnömoniden

başka birçok etyolojiye bağlı olabileceğinden tanı koymak zor olabilir. Tanı güçlükleri antibiyotik tedavisinin uzun süre devam etmesine neden olur; bu da süperinfeksiyon ve antibiyotik toksisitesi riskini artırır.

a. Ampirik Tedavi: VİP'in ampirik tedavisi için *S. aureus, P. aeruginosa* ve diğer Gram-negatif çomaklara etkili ajanlar tercih edilmelidir. Ayrıca ampirik tedavi seçimi yerel verilerdeki etkenlerin dağılımı ve antibiyotik duyarlılık sunuçlarına göre planlanır. MDR patojenler için risk faktörü olan hastalara ampirik geniş spektrumlu antimikrobiyal tedavi başlanması önerilir. Bu tür dirençli patojenlerden kaynaklanan VİP gelişimi için risk faktörleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

- VİP gelişimine neden olan etkenlerin MDR olduğu düşünülüyorsa, bu durumda ampirik tedavinin iki anti-*Pseudomonas* ajan ve bir anti-MRSA ajanı içermesi önerilmektedir. VİP için ampirik tedavi rejimleri Şekil 1'de özetlenmiştir.
- Etken olarak *Legionella* olası ise anti-*Pseudomonas* ajanlardan birinin siprofloksasin veya levofloksasin olarak seçilmesi önerilir.
- Günlük tek doz aminoglikozid uygulaması böbrek fonksiyonları normal hastalarda tercih edilir. Aminoglikozidlerin akciğer penetrasyonunun kötü olması, nefrotoksik ve ototoksik etkileri ve diğer grup antibiyotiklere göre klinik yanıtlarının yetersiz olması nedeniyle tek başına VİP tedavisininde kullanılmaları önerilmemektedir.
- MDR *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. ve *Enterobacteriaceae* şüphesi varsa İV kolistin veya polimiksin B gibi alternatif ajanların eklenmesi uygundur. Kolistinin sistemik kullanımının beraberinde inhalasyon yoluyla kolistin kullanımı da önerilmektedir.
- Gram-negatif bakterilerin neden olduğu VİP tedavisinde alternatif diğer ajan aztreonamdır. Aztreonamın bir beta-laktam ajanla kombinasyonu sonucu, bakteri hücre duvarının farklı bölgeleri hedef alınarak sinerjik etki sağlanır.
- Vankomisin, linezolid ve televansin VİP tedavisinde önerilen MRSA etkinliği olan ajanlardır.
- MDR riskinin olmadığı halde MRSA riskinin olduğu durumlarda bir anti-*Pseudomonas* ajan ve anti-MRSA ajan tercih edilmelidir.

Tablo 3. MDR Patojenlere Bağlı VİP Gelişimi İçin Risk Faktörleri

MDR Patojenler İçin Risk Faktörleri
Son üç ay içinde İV antibiyotik kullanım öyküsü
VİP'e septik şokun eşlik etmesi
VİP öncesinde ARDS tablosu
VİP öncesi ≥5 gün hastane yatışı
VİP öncesinde akut renal replasman tedavisi almak
MDR *Pseudomonas* ve Diğer Gram-Negatif Çomaklar İçin Risk Faktörleri
YBÜ'deki Gram-negatif izolatların %10'undan fazlasının ampirik tedavide kullanılan ajanlardan en az birine dirençli olması
YBÜ'nün yerel antibiyogram verilerinin bilinmemesi
MRSA İçin Risk Faktörleri
YBÜ'deki *S. aureus* izolatlarının %10-20'sinden fazlasının metisiline dirençli olması
YBÜ'deki MRSA prevalansının bilinmemesi

ARDS: Acute respiratory distress syndrome, MRSA: Metisiline dirençli *S. aureus.*

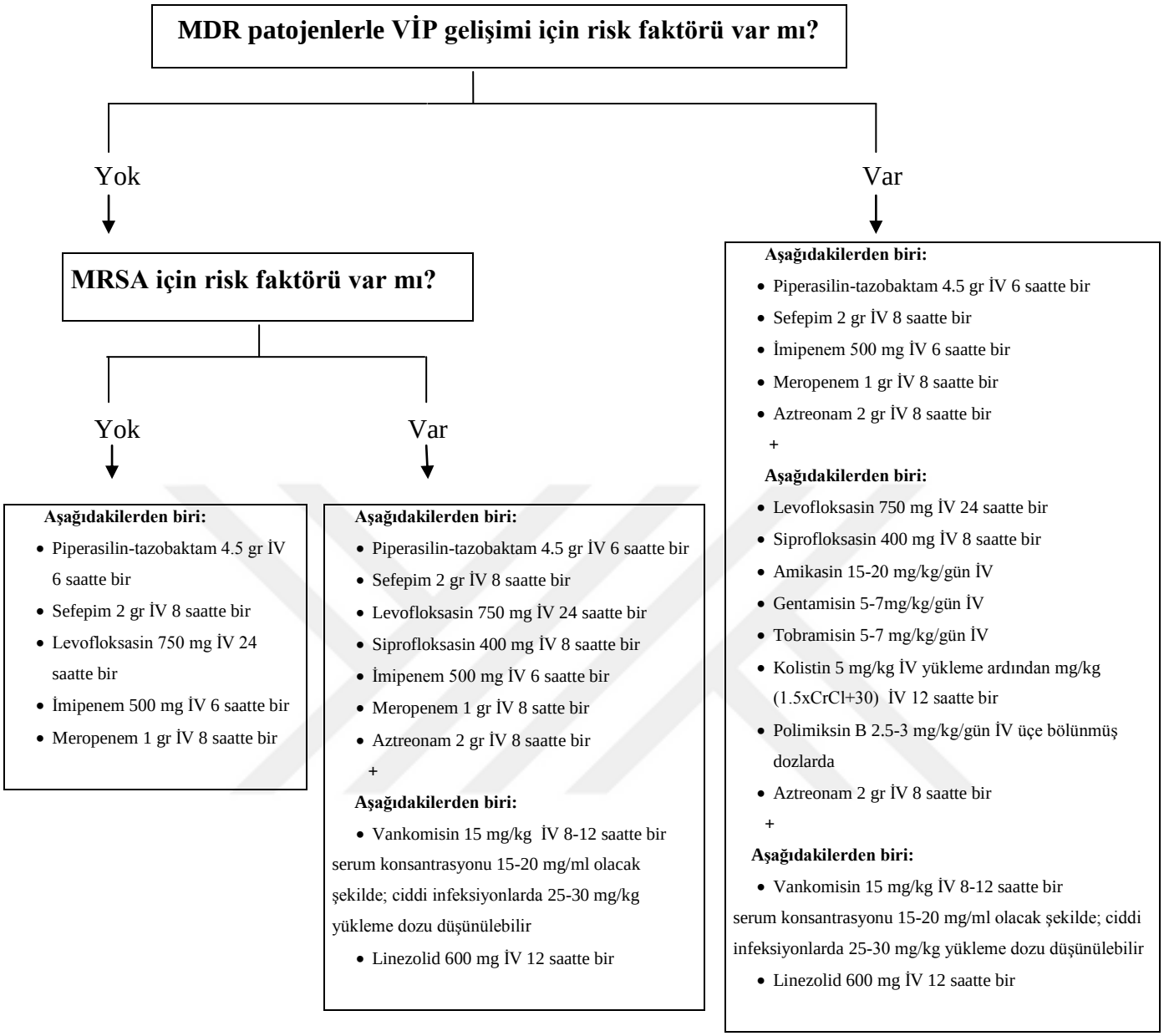
b. De-eskalasyon: VİP şüphesi olduğunda hastaya vakit kaybetmeden dirençli bakterilere etkili geniş spektrumlu bir antibiyotik veya antibiyotik kombinasyonuyla ampirik tedaviye başlanıp kültür sonuçlarına göre tedavinin daraltılması önerilir.

Etken izole edildikten sonra geniş spektrumlu antibiyotik tedavisinden kaçınılması önemlidir. Septik şokta ve ölüm riski yüksek olan *P. aeruginosa* infeksiyonlarında monoterapi yerine duyarlı olduğu bilinen iki ajanla kombine tedavinin yapılması önerilir (2).

c. Tedavi Süresi: IDSA/ATS rehberi patojenden bağımsız olarak antimikrobiyal tedavi süresini yedi gün olarak önermekle birlikte, hastanın klinik, radyolojik ve laboratuvar parametrelerindeki iyileşmeye göre daha kısa ve uzun tedavi süreleri gerekebilmektedir (2).

2.1.7. Prognoz

Hastane kökenli pnömonisi olan hastalarda mutlak mortalite oranlarının yüksek olmasına rağmen infeksiyona atfedilen mortaliteyi ölçmek zordur. Kritik hastalardan birçoğu pnömoniden değil altta yatan hastalığından ölmektedir. VİP ile ilişkili tüm nedenlere bağlı mortalite farklı çalışmalarda %20-50 arasında değişmekle birlikte (2), yapılan bir meta-analiz çalışmasında atfedilebilir mortalite %13 olarak bildirilmiştir (6).



Şekil 1. VİP tedavisinde ampirik tedavi rejimleri.

2.2. Biyofilm

Biyofilm, canlı veya cansız yüzeye yapışarak kendi ürettikleri organik bir matriks içerisine gömülü ve hareketsiz olarak birbirine, bir katı yüzeye veya bir ara yüzeye geri dönüşümsüz olarak tutunmuş halde yaşayan mikroorganizmalar topluluğudur (40). Bu matriks, ekstraselüler polimerik maddeler ("extracellular polymeric substances", EPS) olarak adlandırılan polisakaridler, proteinler ve nükleik asidlerden oluşur. EPS matriks, biyofilm hücrelerinin birbirine yapışmasını sağlayarak karmaşık, üç boyutlu toplulukları

geliştirir. Biyofilm içerisinde dağılmış olan, besin maddelerinin metabolitlerinin ve atık ürünlerin değişimini sağlayan su kanalları bulunmaktadır. Biyofilm içinde yaşamak, bakterilere, besinsizlikten, susuzluktan, pH değişikliklerinden, dezenfektanlardan, antibiyotikler ve toksik maddelerden korunma avantajı sağlar. Biyofilm, mikroorganizmalar için koruyucu bir rol üstlenirken immünosüprese konaklarda ve vücüda kalıcı veya geçici yabancı cisim yerleştirilmiş hastalarda ciddi infeksiyonlara neden olabilmektedir (41). Nozokomiyal infeksiyonların yaklaşık %65'inden biyofilm infeksiyonlarının sorumlu olduğu ve bu durumunun tedavi giderlerini çok yüksekttiği bilinmektedir (42).

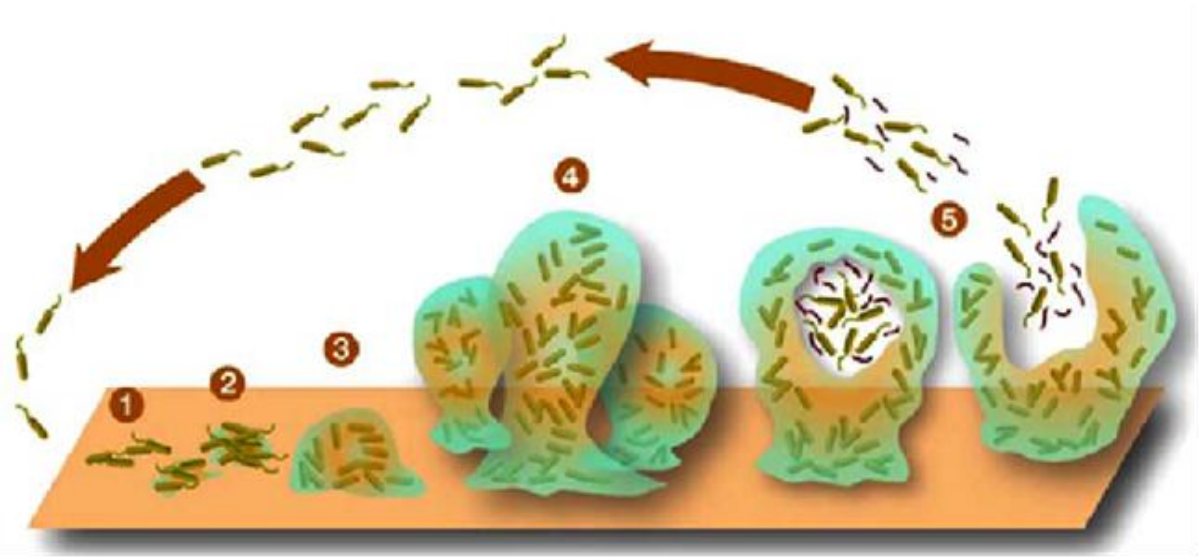
2.2.1. Biyofilm Yapısı ve Oluşumu

Biyofilm oluşumu için gereken öncelikli komponentler arasında mikroorganizma, yüzey ve glikokaliks bulunur (43). Biyofilm yapısının %97'sini su, %2-5'ini mikroorganizma, %1-2'sini polisakarid, %1-2'sini protein, %1-2'sini DNA ve iyonlar oluşturmaktadır. Olgun bir biyofilmin gelişmesi için geçen süre mikroorganizmanın türüne ve çevresel faktörlere bağlı olarak birkaç saat ile birkaç haftadır (44). Biyofilm oluşumu 1) mikroorganizmanın yüzeye tutunması (geri dönüşümlü), 2) geri dönüşümsüz tutunma, 3) mikrokoloni oluşumu, 4) olgun biyofilm oluşumu ve 5) planktonik hücrelerin biyofilmden kopması basamaklarının gerçekleşmesiyledir (Şekil 2).

2.2.2. Biyofilm Oluşumunda Bakteriler Arası Haberleşme

''Quorum Sensing'' (QS), çoğunluğu algılama anlamına gelen ve hücreden hücreye aktarılan iletişim sinyalleriyle biyofilm oluşumunu kontrol eden bir sinyal sistemidir. Bir bakteri çevreden gelen uyarıları algılayarak çevreye uyum sağlar. QS kavramı minimum popülasyon birimini algılama olarak da ifade edilebilir. Mikroorganizmalar QS sinyalleri sayesinde bir odakta toplanırlar. Bu da biyofilmin temelini oluşturur (45).

QS bakterilere virülans faktörlerin regülasyonuyla immün sistemden korunma ve besin kaynaklarına adaptasyon gibi avantajlar sağlar. Bu sistemde rol alan sinyal moleküllerine "autoinducer" da denmektedir. Gram-negatif bakterilerdeki asil homoserin lakton (AHL), siklik dipeptidler, Gram-pozitif bakterilerde küçük peptidler, hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakterilerdeki autoinducer-2, bilinen başlıca sinyal molekülleridir (46).



Şekil 2. Biyofilm oluşumunun basamakları (image © Creative Commons Library).

1- mikroorganizmanın yüzeye tutunması (geri dönüşümlü), 2- geri dönüşümsüz tutunma, 3- mikrokoloni oluşumu, 4- olgun biyofilm oluşumu, 5- planktonik hücrelerin biyofilmden kopması.

2.2.3. Biyofilm Oluşumunun Nedenleri

Serbest bakteri formlarıyla biyofilm oluşturan bakteri formları arasında çok ciddi farklar bulunmasına rağmen, bakteriler bazı durumlarda biyofilm oluştururlar.

a. **Savunma:** Strese cevap olarak gelişir. Bakteri çevreden tehlike sinyali aldığında yapısal olan veya transfer ettiği genler aracılığıyla biyofilm oluşturarak kendini koruma altına alır (41).
b. **Adezyon ve kolonizasyon:** Bakteri yüzey proteinleri konağın ekstraselüler matriks proteinlerine yapışır. Bu yapışma sonrası bakteriler belli bir popülasyona ulaşmak için çoğalır ve biyofilm oluşturmaya başlar.
c. **Yaşanabilir çevre geliştirmek:** Ortamdaki glukozun bakteri tarafından kullanılabilmesi EPS salınımını ve biyofilm oluşumunu artırmaktadır. Karbon katabolitleri yüzeye yapışan bakterinin gen bölgesini düzenleyerek biyofilm oluşumunda kritik rol oynar. Bu da bakterinin konakta uygun bir ortam oluşturarak kalabilmesinde biyofilmin önemini ortaya koyar.
d. **Topluluk oluşturmak:** Bakteriler biyofilm oluşturarak ortam adaptasyonu gösterir. Ortamdan aldıkları uyaranlar sonucu bakteriler hızla serbest forma geçebilmektedir. Bu geçiş, ortam şartlarına göre aktive olan genler aracılığıyla olmaktadır. Tüm bakteriler, çevresel faktörlere benzer yanıt verir ve toplu yaşamın önemli bir göstergesi olarak fenotipik değişiklikler sergiler.

2.2.4. Biyofilm Direnci

Bakterilerin serbest bakteri formlarına oranla biyofilm oluşturan formları antibiyotiklere 100-1000 kat daha dirençlidir (47). Biyofilm üç farklı mekanizmayla antibiyotik direncine neden olmaktadır.

a. **Biyofilm içine düşük penetrasyon:** Biyofilm fiziksel bir bariyer işlevi görerek antibiyotik ve dezenfektanların bakteriye ulaşmasını engeller. Porin yapısı ve sayısında değişiklik yaparak farklı grup antibiyotiklerin bakteri hücresi içine girişi engellenir. EPS tabakadan penetre olan antibiyotiklerin enzimatik yollarla miktarının azaltılması, antibiyotiklerin biyofilm içine penetrasyonunu dolayısıyla biyofilm infeksiyonların tedavisini güçleştirmektedir (48).
b. **Mikroçevre değişikliği:** Biyofilm içindeki bakteri popülasyonu besin maddeleri ve oksijen konsantrasyonuna göre değişir. Biyofilm tabakasının en dışındaki bakteriler besin ve oksijene daha derinde bulunan bakterilere kıyasla daha rahat ulaşabilmektedir. Biyofilm içerisindeki heterojen bakteri topluluğu aktif hücreleri hedefleyen antibiyotiklerin etkinliğinde farklılıklara yol açar (49).
c. **Çoğalma Oranlarındaki Değişiklik:** Biyofilm içindeki bakterilerin büyüme hızlarının serbest yaşayan bakterilere göre daha yavaş olduğu bilinmektedir. Bakterilerin çoğalma hızlarındaki değişiklik antibiyotik cevaplarında da değişikliğe neden olmaktadır. Durağan fazdaki Gram-negatif bakterilere kinolonlar etkili olabilmesine karşın, aynı fazdaki *S. aureus*'a hiçbir antibiyotiğin yeteri kadar etkili olmadığı gösterilmiştir (50).

2.2.5. VİP ve Biyofilm

VİP, YBÜ'deki MV altındaki hastaları etkileyen yaygın bir nozokomiyal infeksiyondur (4). ET intübasyondan hemen sonra polimikrobiyal biyofilm oluşturan mikroorganizmalar tarafından kolonize edilir (51,52). Bu ET, biyofilmin akciğerlere ulaşmasını sağlayan kalıcı bir patojen kaynağıdır (53). ET'lerdeki biyofilmlerde ve VİP'li hastaların alt solunum yolu örneklerinde üreyen mikroorganizmaların çoğunlukla aynı popülasyonu yansıttığı görülmüştür. Bu da ET'lerdeki biyofilmin VİP gelişiminde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir (54,55).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Hasta Seçimi ve Veri Toplanması

Bu çalışma 1 Nisan 2016 ile 31 Mart 2017 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi Genel ve Travma Acil YBÜ'lerinde yatmakta olan hastalarda retrospektif olarak yapıldı. YBÜ'lerde yatan ve ET takılarak ventilasyon cihazına bağlanan hastalar, VİP gelişenler ve VİP gelişmeyenler olarak iki gruba ayrıldı. VİP tanısı CDC ölçütleri doğrultusunda konuldu (56). Buna göre, en az 48 saattir MV desteği alan hastalarda, radyolojik değişikliklerle birlikte ateş (>38ºC), lökopeni (≤4000/mm^3) veya lökositoz (>12 000/mm^3), 70 yaş üstü yetişkinlerde nedeni bilinmeyen mental değişiklik olması durumlarından en az birine ek olarak aşağıdakilerden en az ikisinin olması durumunda VİP tanısı konuldu.

- Pürülan balgam gelişmesi veya balgam karakterinde değişiklik veya solunum sekresyonlarında artış veya aspirasyon gereksiniminin artması
- Yeni gelişen veya kötüleşen öksürük, dispne veya takipne
- Ral veya bronşiyal solunum seslerinin varlığı
- Oksijenizasyonun bozulması (desatürasyon, PaO_2/FiO_2 <240), oksijen ihtiyacının veya ventilatör desteğinin artması.

Veriler hastaların dosyalarından ve elektronik veri tabanından elde edildi. Bu veriler bilgisayar ortamında oluşturulan hasta takip formlarına düzenli olarak kaydedildi. Her VİP atağı ayrı bir olgu olarak değerlendirildi. Hastaların demografik, klinik ve laboratuvar bulguları ayrı ayrı takip formlarına işlendi. Sürveyans amacıyla rutin olarak yapılan rektal karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* (KDKp) kolonizasyonu tarama sonuçları da kaydedildi.

Hastaların Çalışmaya Dahil Edilme Ölçütleri: [1] 18 yaşın üzerinde olmak**,** [2] YBÜ'de yatmak**,** [3] 48 saatten daha uzun süre intübasyon altında olmak.

Hastaların Çalışmadan Dışlanma Ölçütleri: [1] YBÜ dışında yatıyor olmak, [2] 18 yaşın altında olmak, [3] intübasyon süresinin 48 saatten az olması, [4] toplum kökenli pnömoni nedeniyle yatıyor olmak.

3.2. Hasta Takibi ve Klinik Örneklerin Toplanması

YBÜ'lerde yatan hastalar, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı konsültanlarının günlük rutin vizitleriyle değerlendirilmiştir. VİP şüphesi taşıyan hastalarda klinik tanıyı koymak amacıyla solunum yolu örneklerinin kültürle birlikte her türlü

mikrobiyolojik incelemeleri ve kan kültürleri yapılmıştır. Bu hastalarda aynı zamanda radyolojik ve gereğinde bronkoskopik incelemeler yapılmıştır.

3.3. Bakteri Suşlarının Tanımlanması ve Saklanması

1 Nisan 2016 ve 31 Mart 2017 arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi Genel ve Travma YBÜ'de ET takılarak ventilasyon cihazına bağlanan 18 yaş ve üzeri hastaların ETA'sında $\geq 10^5$ cfu/ml veya BAL'ında $\geq 10^4$ cfu/ml üreme gösteren bakteriler klasik biyokimyasal yöntemle tanımlandı. Buna göre fermantatif, üreaz- ve sitrat-pozitif, hareketsiz, indol-negatif olan bakteriler *K. pneumoniae* olarak adlandırıldı. Non-fermantatif, oksidaz-negatif ve hareketsiz bakteriler *Acinetobacter* spp., non-fermantatif, oksidaz-pozitif bakteriler *Pseudomonas* spp. olarak tanımlandı. *Pseudomonas* suşlarından pyosyanin pigmenti oluşturanlar (Resim 1) ve 42 ºC'de üreyebilme yeteneğine sahip olanlar *P. aeruginosa* olarak adlandırıldı. Tanımlanmasında sorun yaşanan enterik bakteriler API® 20E (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa), non-fermantatif enterik bakteriler API® 20NE (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) kullanılarak tanımlandı. Her bakteri türü için duyarlı olduğu antibiyotikler Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ve gerek duyulduğunda Etest® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) yöntemiyle belirlendi.



Resim 1. *P. aeruginosa* suşlarında pyosyanin pigmentinin gösterilmesi.

3.4. Bakterilerin Antibiyotik Direnci Tanımlaması

Gram-negatif enterik bakterilerde antibiyotik direnci tanımı için aşağıdaki sınıflama kullanıldı: [1] çoğul antibiyotik dirençli ("multi-drug resistant", MDR); [2] yaygın antibiyotik dirençli ("extremely drug resistant", XDR); [3] tüm antibiyotiklere dirençli ("pan-drug resistant", PDR).

Üç veya daha fazla antimikrobiyal kategoride en az bir ajana dirençli olan bakteriler MDR olarak, tüm antimikrobiyal kategorilerden en fazla iki antimikrobiyal kategoriye duyarlı olup diğer kategorilerden en az bir ajana dirençli bakteriler XDR olarak ve tüm antimikrobiyal kategorilerde tüm ajanlara dirençli ajanlar PDR olarak tanımlandı (57).

3.4.1. Karbapeneme Dirençli Suşların Saptanması

Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) ölçütlerine göre *K. pneumoniae* için imipenem ve meropenem <16 mm, ertapenem <22 mm; *Acinetobacter* spp. için imipenem <17 mm, meropenem < 15 mm; *Pseudomonas* spp. için imipenem <17 mm, meropenem <18 mm zon çapı gösteren suşlarda karbapenem direnci düşünüldü. Karbapenem direncinin doğrulaması, Etest® veya sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp. ve *Pseudomonas* spp. için imipenem ve meropenem minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerinin <8 mg/lt olarak ölçülmesiyle yapıldı (58)

3.4.2. Kolistine Dirençli Suşların Saptanması

Etest® veya sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp. ve *Pseudomonas* spp. için EUCAST ölçütlerine göre kolistin MİK değeri >2 mg/l bulunan suşlar kolistine dirençli olarak kabul edildi (58).

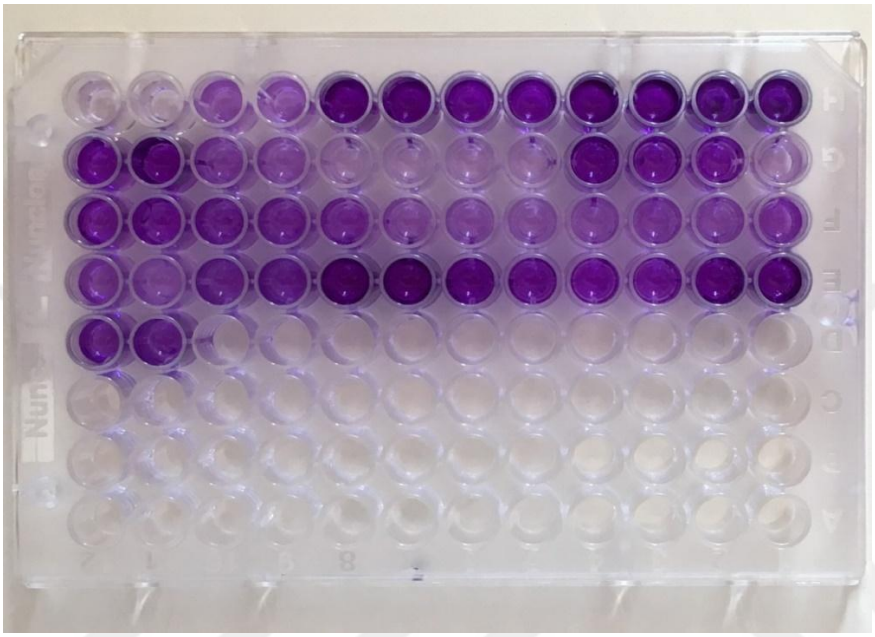
.

İzole edilen suşlar %10 gliserinli ‘’triptic soy broth’’ (TSB) içinde -20ºC’de saklandı.

3.5. Biyofilm Oluşumunun Gösterilmesi

Bakterilerin biyofilm oluşturup oluşturmadıklarının araştırılması için mikroplakta kristal viyoleyle boyama yöntemi kullanıldı (59). Pozitif kontrol olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve negatif kontrol için *E. coli* ATCC 25922 suşları kullanıldı (60). Yönteme göre kanlı agarda üretilen 18-24 saatlik *Pseudomonas* spp., *K. pneumoniae* ve *Acinetobacter* spp. saf kültürleri alınarak 5 ml TSB içeren tüplere ekim yapıldı ve tüpler 37ºC’de 18-24 saat inkübe edildi. Ertesi gün bakteri süspansiyonu 5 ml hacimde %1 glukoz içeren TSB ile 1:50 oranında dilüe edildi ve 96 kuyucuklu düz tabanlı hücre kültürü mikroplağının her kuyucuğuna 200’er µl dağıtıldı. Her bakteri için ikişer kuyucuk kullanıldı. Mikroplak 37ºC’de 18-24 saat inkübe edildikten sonra kuyucukların içindeki sıvı besiyeri boşaltılıp pH’ı 7.2 olan fosfat tamponlu tuzlu su (“phosphate buffered saline”, PBS) çözeltisiyle üç kez yıkandı. Daha sonra mikroplak, kuruması için oda sıcaklığında bekletildi. Her kuyucuğa 200 µl %99’luk metanol konulduktan sonra 15 dakika bekletilerek fiksasyon yapıldı. Bu işlemin ardından mikroplak

boşaltılıp tekrar oda sıcaklığında kurutuldu. Ardından kuyucuklara 200 µl %1'lik kristal viyole solüsyonu konuldu. 15 dakika sonra kuyucuklar çeşme suyuyla yıkanıp kuruması için bekletildi. Daha sonra yüzeye yapışan hücrelere bağlanan boya %95 etanolle çözündürüldü ve kuyucuklardaki çözeltilerin optik dansiteleri 595 nm dalga boyunda ölçüldü. Negatif kontrolün üzerindeki değerler biyofilm-pozitif, negatif kontrole eşit veya altındaki değerler ise biyofilm-negatif olarak değerlendirildi (61) (Resim 2).



Resim 2. Mikroplakta kristal viyoleyle boyama yöntemiyle biyofilm oluşumunun gösterilmesi.

3.6. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

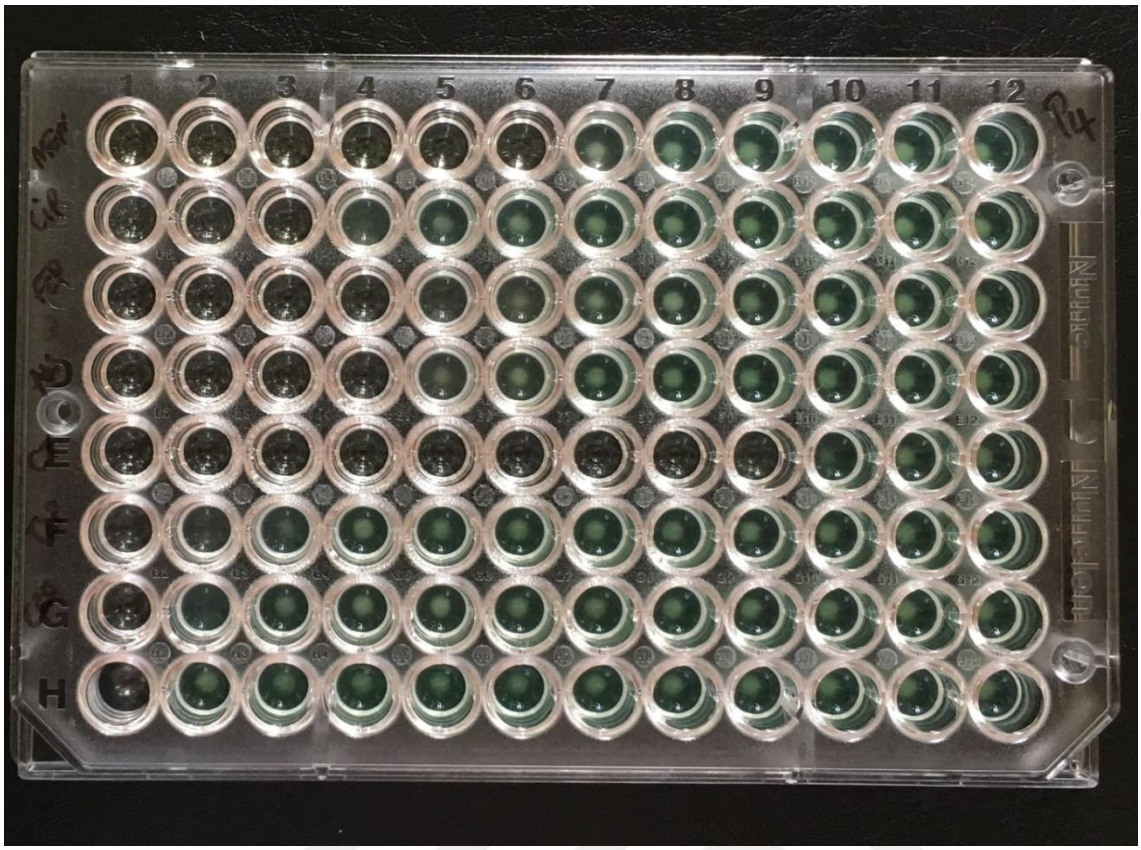
YBÜ'de yatan ET takılmış hastaların alt solunum yolu örneklerinde üreyen bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek için Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi, Etest® veya sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. *Pseudomonas* suşlarında meropenem, sefepim, piperasilin-tazobaktam, siprofloksasin, amikasin, kolistin; *Acinetobacter* suşlarında meropenem, piperasilin-tazobaktam, siprofloksasin, amikasin, kolistin; *K. pneumoniae* suşlarında meropenem, imipenem, ertapenem, seftazidim, sefepim, seftriakson, piperasilin-tazobaktam, siprofloksasin, amikasin ve kolistininin MİK ve minimum bakterisid konsantrasyon (MBK) değerleri, sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle belirlendi. Çalışmanın standardizasyonu amacıyla kalite kontrol suşları olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *E. coli* ATCC 25922 kullanıldı (58).

3.6.1. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

96 kuyucuklu U tabanlı mikroplakların her kuyucuğuna 0.1 ml katyon ilaveli Mueller-Hinton Broth (MHB, Merck, Darmstad, Almanya) konuldu. İlk kuyucuğa başlanmak istenen antibiyotik konsantrasyonunun iki katı konsantrasyonda hazırlanmış antibiyotik çözeltisinden 0.1 ml eklendi. İlk kuyuda elde edilen 0.2 ml hacimdeki karışımdan (0.1 ml MHB + 0.1 ml antibiyotik çözeltisi) steril pipet uçlarıyla 0.1 ml alınarak diğer kuyucuğa aktarıldı. Bu işlem son kuyucuğa kadar tekrarlanarak 0.1 ml'lik seri dilüsyonlar elde edildi. Son kuyucuktaki karışım işleminden sonra pipet ucunda kalan 0.1 ml çözelti dışarı atıldı ve son kuyuda da 0.1 ml çözelti olması sağlandı. İlk kuyudaki antibiyotik konsantrasyonu 512 µl olacak şekilde ilk kuyuya 0.1 ml MHB ve 0.1 ml 1024 µl antibiyotik çözeltisi konuldu. Antibiyotik konsantrasyonlarının 512 µl, 256 µl, 128 µl, 64 µl, 32 µl, 16 µl, 8 µl, 4 µl, 2 µl, 1 µl, 0.5 µl, 0.25 µl olacak şekilde seri dilüsyonları oluşturuldu. Yaklaşık 18-24 saatlik inkübasyon sonunda kanlı agarda saf kültür halinde üretilen *Pseudomonas* spp., *K. pneumoniae* ve *Acinetobacter* spp. kolonileri alınarak 5 ml katyon ilaveli MHB içeren tüplerde homojenize edilerek 0.5 McFarland standardı ($1x10^8$ cfu/ml) bulanıklığında bakteri süspansiyonları elde edildi. Daha sonra bu bakteri süspansiyonları 1:10 oranında dilüe edildi ve her kuyucuğa 10 µl bakteri süspansiyonu ($1x10^6$ cfu/ml) eklenerek mikroplak 37ºC'de 16-20 saat inkübe edildi. Çıplak gözle kuyucuklardaki üremenin tamamını inhibe ettiği görülebilen en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edildi (62).

3.6.2. Minimum Biyofilm Eradike Edici Konsantrasyon

Antibiyotiklerin bakterilere ait biyofilm tabakasına karşı etkinliklerinin araştırılması için minimum biyofilm eradike edici konsantrasyonu (MBEK) belirlendi (23, 47). Bu amaçla bölüm 3.4'te bildirildiği şekilde bakterilerin 24 saatlik biyofilmleri hazırlandı. Çift kat dilüsyonla 8192–16 µg/ml arasında 10 ayrı konsantrasyonda hazırlanan antibiyotik çözeltilerinden 100'er µl alınarak kuyucuklarda bulunan biyofilmler üzerine ilave edildi. Daha sonra mikroplak 37ºC'de 18-24 saat bekletildi. Ertesi gün antibiyotikler plaktan boşaltılarak kuyucuklar PBS ile üç kez yıkandı. Yıkanan kuyucukların her birine 100'er µl PBS konuldu ve steril pipet ucu yardımıyla kuyucukların dibi kazınarak biyofilm tabakasının mikroplaktan ayrılmasına yardımcı olundu. Ardından mikroplaklara 5-10 dakika banyo sonikatörde sonifikasyon işlemi yapılarak biyofilm tabakasındaki hücrelerin ayrışması sağlandıktan sonra her bir kuyucuktan $1/10^2$, $1/10^4$, $1/10^7$ oranlarında PBS ile sulandırım yapılarak TSA'ya ekim yapıldı. Besiyerleri 37ºC'de 18-20 saat inkübasyondan sonra her bir besiyerinde koloni sayımı gerçekleştirildi. Pozitif kontrol olarak bir kuyuya antibiyotik



Resim 3. Mikrodilüsyon yöntemiyle MİK değerinin saptanması.

çözeltisi yerine 100 µl steril distile su konuldu. Pozitif kontroldeki üremenin en az %50'sini azaltan antibiyotik konsantrasyonu minimum biyofilm inhibe edici konsantrasyon (MBİK), %99.9 (3 $\log_{10}$)'unu azaltan antibiyotik konsantrasyonu ise MBEK olarak kabul edildi.

3.7. Sinerji Testleri

3.7.1. Dama Tahtası ("Checkerboard") Yöntemi

Kombinasyon halindeki antibiyotiklerin bakterilerin serbest formlarına ve biyofilm tabakasındaki bakteriler üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla dama tahtası ("checkerboard") yöntemi kullanıldı. *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. ve *K. pneumoniae'*nin serbest formları için belirlenen meropenem, siprofloksasin ve kolistin MİK değerlerinin iki katı konsantrasyondan (2 MİK) başlanarak MİK değerinin dört dilüsyon altına (MİK/32) kadar seri dilüsyonlar yapıldı. Elde edilen çözeltiler 96 kuyucuklu U tabanlı mikroplakta bir antibiyotik için yukardan aşağıya diğeri için sağdan sola uygulanarak iki antibiyotiğin kombinasyon halinde farklı konsantrasyonları elde edildi (Şekil 3).

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	2MİK A	2MİK A MİK B/32	2MİK A MİK B/16	2MİK A MİK B/8	2MİK A MİK B/4	2MİK A MİK B/2	2MİK A MİK B	2MİK A 2 MİK B
B	MİK A	MİK A MİK B/32	MİK A MİK B/16	MİK A MİK B/8	MİK A MİK B/4	MİK A MİK B/2	MİK A MİK B	MİK A 2 MİK B
C	MİK A/2	MİK A/2 MİK B/32	MİK A/2 MİK B/16	MİK A/2 MİK B/8	MİK A/2 MİK B/4	MİK A/2 MİK B/2	MİK A/2 MİK B	MİK A/2 2 MİK B
D	MİK A/4	MİK A/4 MİK B/32	MİK A/4 MİK B/16	MİK A/4 MİK B/8	MİK A/4 MİK B/4	MİK A/4 MİK B/2	MİK A/4 MİK B	MİK A/4 2 MİK B
E	MİK A/8	MİK A/8 MİK B/32	MİK A/8 MİK B/16	MİK A/8 MİK B/8	MİK A/8 MİK B/4	MİK A/8 MİK B/2	MİK A/8 MİK B	MİK A/8 2 MİK B
F	MİK A/16	MİK A/16 MİK B/32	MİK A/16 MİK B/16	MİK A/16 MİK B/8	MİK A/16 MİK B/4	MİK A/16 MİK B/2	MİK A/16 MİK B	MİK A/16 2 MİK B
G	MİK A/32	MİK A/32 MİK B/32	MİK A/32 MİK B/16	MİK A/32 MİK B/8	MİK A/32 MİK B/4	MİK A/32 MİK B/2	MİK A/32 MİK B	MİK A/32 2 MİK B
H	Sterilite kontrolü	MİK B/32	MİK B/16	MİK B/8	MİK B/4	MİK B/2	MİK B	2 MİK B

Şekil 3. Mikrodilüsyon dama tahtası yöntemiyle iki antibiyotiğin kombinasyon halinde elde edilen kombinasyonları.

Daha sonra 0.5 McFarland standardı ($1x10^8$ cfu/ml) bulanıklığında hazırlanmış bakteri süspansiyonları 1:10 oranında dilüe edilerek her kuyucuğa 10 µl olacak şekilde dağıtıldı. Negatif kontrol için çalışılan her mikroplakta bir kuyuya yalnız 0.1 ml MHB konuldu. Mikroplak 37ºC'de 18-20 saat inkübe edildi. Ertesi gün üreme olmayan kuyulardaki antibiyotik konsantrasyonları belirlendi ve fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) değerleri hesaplanarak kombinasyonlara ait etki şekilleri değerlendirildi.

Kombinasyonların *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. ve *K. pneumoniae*'nin oluşturduğu biyofilm tabakası üzerindeki etkilerini araştırmak için Bölüm 3.4'te anlatıldığı gibi düz tabanlı mikroplaklarda bu bakterilere ait biyofilm tabakası oluşturulup mikroplaklar üç kez PBS ile yıkandı. Sonra meropenem, siprofloksasin ve kolistin için daha önce belirlenmiş MBEK değerinin dört dilüsyon altına kadar sulandırım elde edildi. Şekil 3'te gösterildiği gibi antibiyotik kombinasyonları kuyulara ilave edildi. Bir kuyuya pozitif kontrol olmak üzere sadece steril distile su konuldu. Mikroplaklar 37ºC'de 18-20 saat bekletildikten sonra antibiyotikler kuyulardan uzaklaştırılarak tekrar üç kez PBS ile yıkandı. Tüm kuyulara 100 µl PBS konularak kuyu dipleri steril pipet ucuyla kazındı ve mikroplaklara 10 dakika banyo sonikatörde sonifikasyon işlemi yapıldı. Daha sonra tüm kuyulardan dilüsyonlar yapılarak TSA'ya ekim yapıldı. Besiyerleri 18-20 saat inkübe edildikten sonra üreyen

kolonilerin sayım işlemi yapıldı. Koloni sayısında kontrol grubuna göre 2 $\log_{10}$ azalma görülen en düşük antibiyotik konsantrasyonları belirlendi ve FİK indeksi hesaplanarak kombinasyonlara ait etki şekilleri değerlendirildi.

FİK değeri bir antibiyotiğin kombinasyondaki MİK değerinin aynı antibiyotiğin tek başına MİK değerine oranı olarak hesaplandı. Her iki antibiyotiğe ait FİK değerlerinin toplamı, FİK indeksi (∑FİK) olarak hesaplandı. FİK indeksi 0.5 ve altında olan kombinasyonlar, sinerjist etkili; 0.5-4 arasında olanlar, aldırmazlık (indiferan etkili); 4 ve üzerinde olanlar antagonist etkili olarak kabul edildi (62).

3.7.2. Zamana Bağlı Öldürme Yöntemi ("Time-Kill Assay")

Antibiyotiklerin tek başına ve kombinasyon halinde biyofilmdeki bakteriler üzerine etkilerini göstermek için zamana bağlı öldürme yöntemi kullanıldı. Bunun için Bölüm 3.4'te anlatıldığı gibi düz tabanlı mikroplaklarda *P. aeruginosa* 18 numaralı suşa, *Acinetobacter* spp. 10 numaralı suşa ve *K. pneumoniae* 7 numaralı suşa ait biyofilm tabakası oluşturulup üç kez PBS ile yıkandı. Daha sonra meropenem, siprofloksasin ve kolistin tek başlarına ve meropenem + kolistin, meropenem + siprofloksasin kombinasyonlarına ait antibiyotik çözeltileri ayrı ayrı kuyucuklara ilave edildi. Tek başına ve kombinasyon halinde kullanılan antibiyotiklerin konsantrasyonları, biyofilm tabakası üzerine uygulanan dama tahtası yöntemiyle daha önce sinerjist etkinin gösterildiği kuyulardaki antibiyotik konsantrasyonları olarak belirlendi.

Buna göre *P. aeruginosa* 18 numaralı suş için meropenem 256 mg/lt ile kolistin 16 mg/lt, meropenem 512 mg/lt ile kolistin 64 mg/lt, meropenem 512 mg/lt ile siprofloksasin 16 mg/lt, meropenem 256 mg/lt ile siprofloksasin 32 mg/lt; *Acinetobacter* spp. 10 numaralı suş için meropenem 512 mg/lt ile kolistin 512 mg/lt, meropenem 256 mg/lt ile kolistin 1024 mg/lt, meropenem 512 mg/lt ile siprofloksasin 512 mg/lt, meropenem 256 mg/lt ile siprofloksasin 1024 mg/lt; *K. pneumoniae* 7 numaralı suş için meropenem 512 mg/lt ile kolistin 4096 mg/lt, meropenem 256 mg/lt ile kolistin 4096 mg/lt, meropenem 1024 mg/lt ile siprofloksasin 128 mg/lt, meropenem 512 mg/lt ile siprofloksasin 256 mg/lt kombinasyonlarının zamana bağlı öldürme yöntemiyle biyofilmdeki bakteriler üzerine etkileri araştırıldı.

Değerlendirmeler 0, 1, 2, 4, 6, 8 ve 24. saatlerde yapıldı. Her saat için ayrı mikroplak hazırlandı ve mikroplaklar 37ºC'de değerlendirme saatine kadar inkübe edildi. Belirtilen saatlerde kuyulardaki antibiyotikler boşaltılıp kuyular üç kez PBS ile yıkandı. Sonrasında kuyulara 100 µl PBS konuldu. Kuyuların dibi steril pipet uçlarıyla kazındıktan sonra mikroplaklara 10 dakika banyo sanikatörde sonifikasyon işlemi uygulandı. Sonifikasyon

sonrası kuyulardan dilüsyonlar yapılarak TSA'ya ekim yapıldı. Petri kutuları 37ºC'de 16-20 saat inkübe edildikten sonra üreyen kolonilerin sayım işlemi gerçekleştirildi. Sıfırıncı saatteki koloni sayısı kontrol grubu olarak değerlendirildi. Sıfırıncı saatteki başlangıç inokülumuna göre ≥3 $\log_{10}$ cfu/ml azalma olması, bakterisid etki; kombinasyondaki en aktif antibiyotiğin tek başına etkisiyle karşılaştırıldığında kombinasyondaki ≥2 $\log_{10}$ cfu/ml azalma, sinerjik etki; ≥1 $\log_{10}$ cfu/ml azalma ya da artma olması, aldırmazlık (indiferan etki); ≥2 $\log_{10}$ cfu/ml artma olması ise antagonist etki olarak değerlendirildi (63).

3.8 İstatistiksel Analiz

Çalışma verilerinin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics for Windows. Version 21.0 (Statistical Package for the Social Sciences, IBM Corp., Armonk, NY, ABD) programı kullanıldı. Sürekli değişkenlerin analizinde, dağılımın normal olması halinde Student'ın *t*-testi, dağılımın normal olmaması halinde ise Mann-Whitney *U* testi; kategorik değişkenlerin analizinde χ^2 testi ya da Fisher'in kesin testi kullanıldı. Bağımsız parametreleri saptamak amacıyla lojistik regresyon analizi yapıldı. Risk, göreceli olasılıklar oranı ("odds ratio, OR") olarak gösterildi. $p<0.05$ olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma süresince toplam 247 hasta değerlendirildi. Bunlardan çalışmaya dahil edilme ölçütlerini taşıyan 177 hasta değerlendirilmeye alındı. Hastaların ortalama yaşı 61.5 (yaş aralığı 19-89) olup, 102 (%57.6)'si erkek, 75 (%42.5)'i kadındı. Olguların 71 (%40.1)'inde VİP geliştiği tespit edildi. VİP gelişen hastalarda ortalama yaş 62 (yaş aralığı 19-89), 46 (%64.8)'sı erkek, 25 (%35.2)'i kadındı. Buna karşılık VİP gelişmeyen hastalarda ortalama yaş 61 (yaş aralığı 27-88), 56 (%52.8)'sı erkek ve 50 (%47.2)'si kadındı. VİP gelişen ve gelişmeyen olgularda yaş ve cinsiyet açısından anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla p=0.17, 0.11). VİP gelişen olgularda ortalama SOFA skoru 5.8±2.9, Charlson komorbidite indeksi 4.03 ±3.1, vücut kitle indeksi (VKİ) 28.3±10.1 iken VİP gelişmeyen olgularda sırasıyla 5.6±2.9, 4.1±2.9, 25.6±4.8 idi. Her iki grup karşılaştırıldığında VİP gelişen ve gelişmeyen grupta SOFA skoru, Charlson komorbidite indeksi, VKİ açısından anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla p=0.49, 0.71, 0.10).

YBÜ'de kalış süresi açısından değerlendirildiğinde VİP gelişen hastalarda ortalama kalış süresi [29 (3-107) gün] VİP gelişmeyen hastaların ortalama kalış süresiden [12 (3-70) gün] daha uzun bulundu (p<0.001). Benzer şekilde ortalama ventilasyon süresi de VİP gelişen hastalarda [22 (3-90) gün] gelişmeyen hastaların ventilasyon süresinden [10 (3-45) gün] daha uzundu (p<0.001). VİP gelişen hastalar arasında son altı ay içinde hastanede yatış öyküsüne sahip olanların ve son üç ay içinde antibiyotik kullananların oranı daha düşüktü (sırasıyla %62 ve %76.4, p= 0.03; %64.8 ve %77.4, p=0.06). VİP gelişen hastalar içinde VİP gelişmeyen hastalarla karşılaştırıldığında sigara kullananların oranı (%49.3 ve %27.4, p=0.003), kan ürünü kullananların oranı (%70.4 ve %54.7, p=0.03), dekübitus ülseri gelişenlerin oranı (%36.6 ve %21.7, p= 0.03), trakeostomi açılanların oranı (%46.5 ve %16, p<0.001), reintübasyon uygulananların oranı (%18.3 ve %4.7, p=0.003) arasındaki farkla anlamlı bulundu (Tablo 4). Ventilasyon süresi, rektal KDKp kolonizasyonu ve sigara kullanımı VİP gelişimine katkı sağlayan bağımsız risk faktörleri olarak saptandı [sırasıyla OR: 1.07, 4.93, 3.89; %95 Güven aralığı (GA): 1.02-1.12, 2.09-11.64, 1.68-8.93] (Tablo 5).

Tablo 4. VİP Gelişen ve Gelişmeyen Hastaların Demografik Özelliklerinin Karşılaştırılması

	VİP Gelişen (n=71) Sayı (%)	**VİP Gelişmeyen (n=106) Sayı (%)**	***p***
Yaş (yıl)	62 (19-89)	61 (27-88)	0.172
Cinsiyet Kadın	25 (35.2)	50 (47.2)	0.115
Cinsiyet Erkek	46 (64.8)	56 (52.8)	
YBÜ'de kalış süresi (gün)	**29 (3-107)**	**12 (3-70)**	**< 0.001**
Ventilasyon süresi (gün)	**22 (3-90)**	**10 (3-45)**	**<0.001**
VKİ (±SS)	28.3 ± 10.1	25.6 ± 4.8	0.101
SOFA Skoru (±SS)	5.8 ± 2.9	5.6 ± 2.9	0.499
Charlson komorbidite indeksi (±SS)	4.03 ± 3.1	4.1 ± 2.9	0.711
KRKp kolonizasyonu	**41 (57.7)**	**25 (23.6)**	**< 0.001**
Son 6 ayda hastane yatışı	**44 (62)**	**81 (76.4)**	**0.039**
Son 3 ayda antibiyotik kullanımı	46 (64.8)	82 (77.4)	0.067
Sigara kullanımı	**35 (49.3)**	**29 (27.4)**	**0.003**
Kan ürünü kullanımı	**50 (70.4)**	**58 (54.7)**	**0.036**
Dekübitus ülseri	**26 (36.6)**	**23 (21.7)**	**0.03**
Steroid kullanımı	25 (35.2)	42 (39.6)	0.553
İnhalasyon tedavisi	51 (71.8)	66 (62.3)	0.118
Trakeostomi açılması	**33 (46.5)**	**17 (16)**	**< 0.001**
Reintübasyon	**13 (18.3)**	**5 (4.7)**	**0.003**
Parenteral beslenme	7 (9.9)	13 (12.3)	0.620
Transplantasyon	1 (1.4)	2 (1.9)	1
Travma öyküsü	10 (14.1)	11 (10.4)	0.455

VİP: Ventilatörle ilişkili pnömoni, YBÜ: Yoğun bakım ünitesi, VKİ: Vücut kitle indeksi, SOFA: Sequential organ failure assessment, KDKp: karbapeneme dirençli *K. pneumoniae*, SS: Standard sapma.

Tablo 5. VİP Gelişmine Katkı Sağlayan Risk Faktörleri

	p	OR	%95 GA	
			En Düşük	En Yüksek
YBÜ'de kalış süresi (gün)	0.81	1	0.97	1.03
Ventilasyon süresi (gün)	**0.003**	**1.07**	**1.02**	**1.12**
Rektal KDKp kolonizasyonu	**<0.001**	**4.93**	**2.09**	**11.64**
Son 6 ayda hastane yatışı	0.05	0.22	0.05	0.88
Son 3 ayda antibiyotik kullanımı	0.79	1.19	0.31	4.53
Sigara kullanımı	**0.001**	**3.89**	**1.68**	**8.9**
Kan ürünü kullanımı	0.17	1.76	0.78	4.00
Dekübitus ülseri	0.40	1.47	0.59	3.67
İnhalasyon tedavisi	0.83	1.09	0.46	2.58
Trakeostomi öyküsü	0.19	1.83	0.73	4.59
Reintübasyon	0.94	1.05	0.24	4.46

VİP: Ventilatörle ilişkili pnömoni, YBÜ: Yoğun bakım ünitesi, KDKp: Karbapeneme dirençli *K. pneumoniae*, OR: Odds ratio, GA: Güven aralığı.

Hastaların 118 (%66.7)'i Genel YBÜ'de, 59 (%33.3)'u Travma YBÜ'de yatmaktaydı. VİP gelişen hastaların 21 (%29.6)'i Travma YBÜ'de, 50 (%70.4)'si Genel YBÜ'de yatmaktaydı. İki YBÜ'de VİP gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (*p*=0.386).

Hastalarımız en sık sepsis ve solunum yetmezliği nedeniyle YBÜ'lere kabul edilmişti. YBÜ'ye yatış tanıları açısından VİP gelişen ve gelişmeyen gruplar karşılaştırıldığında myokard infarktüsü dışında (*p*=0.01) anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 6).

YBÜ'lere yatırılan olgular eşlik eden hastalıklar yönünden değerlendirildiğinde en fazla solid tümörler ve diabetes mellitus'la karşılaşıldı. VİP gelişen hastaların 16 (%22.5)'sında solid tümör, 16 (%22.5)'sında diabetes mellitus, 10 (%14)'unda koroner arter hastalığı, 11 (%15)'inde konjestif kalp yetmezliği, 8 (%11.3)'inde KOAH vardı. VİP gelişen ve gelişmeyen gruplar karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark saptanmadı (*p*=0.47, 0.78, 0.23, 0.80, 0.69) (Tablo 7).

Tablo 6.VİP Gelişen Hastaların YBÜ'ye Yatış Tanıları

Yatış Tanısı	VİP Gelişen (n=71) Sayı (%)	VİP Gelişmeyen (n=106) Sayı (%)	*p*
Sepsis	16 (22.5)	32 (30.2)	0.26
Solunum yetmezliği	17 (23.9)	26 (24.5)	0.92
Postoperatif bakım	7 (9.9)	9 (8.5)	0.75
Pnömoni	4 (5.6)	10 (9.4)	0.47
Myokard infarktüsü	**6 (8.5)**	**1 (0.9)**	**0.01**
Nöroleptik malign sendrom	1 (1.4)	0 (0)	0.40
MSS infeksiyonu	1 (1.4)	4 (3.8)	0.64
İnme	7 (9.9)	3 (2.8)	0.15
"Crush" sendromu	9 (12.7)	6 (4.7)	0.10
Anafilaksi	1 (1.4)	1 (0.9)	1.1
ABY	1 (1.4)	2 (1.9)	1
Bilinç bulanıklığı	1 (1.4)	1 (0.9)	1

VİP: Ventilatörle ilişkili pnömoni, YBÜ: Yoğun bakım ünitesi, MSS: Merkezi sinir sistemi, ABY: Akut böbrek yetmezliği.

Kolonizasyon ve Etken Değerlendirilmesi

VİP gelişen hastaların 41 (%58)'inde, VİP gelişmeyen hastaların ise 25 (%23.6)'inde rektal KDKp kolonizasyonu saptandı (p<0.001) (Tablo 4).

VİP gelişen 71 olgunun örneklerinden 81 etken patojen izole edildi. 10 (%14) olguda birden fazla VİP etkeni mevcuttu. VİP etkenlerinin dağılımı incelendiğinde en sık saptanan etkenler arasında *K. pneumoniae* 35 (%43.2), *Pseudomonas* spp. 22 (%27.2) ve *Acinetobacter* spp. 15 (%18.6) şuşla yer almaktaydı (Tablo 8). *Pseudomonas* suşlarının 20 (%90.9)'si *P. aeruginosa* olarak tanımlandı.

VİP Gelişen Hastalarda Prognozun Değerlendirilmesi

VİP gelişen olgularda YBÜ'de ortalama kalış süreleri, VİP gelişmeyen olgulara göre daha uzun bulundu (29 güne karşılık 12 gün, p=0.001). Benzer şekilde ventilasyon süresi de VİP gelişen olgularda uzundu (22 güne karşılık 10 gün, p=0.001) (Tablo 4). VİP gelişen hastaların 28 (%31.8)'inde, VİP gelişmeyen hastaların ise 61 (%57.5)'inde sağkalım elde

edildi. VİP gelişen hastaların 43 (%48.9)'ü, VİP gelişmeyenlerin 45 (%42.5)'i kaybedildi (*p*=0.01) (Tablo 9).

Tablo 7.VİP Gelişen Hastaların Ek Sistemik Hastalıkları ve Sistemik Hastalıkların VİP Gelişimine Katkıları

Ek Sistemik Hastalık	**VİP Gelişen (n =71) Sayı (%)**	**VİP Gelişmeyen (n=106) Sayı (%)**	***p***
Solid tümör	16 (22.5)	29 (27.3)	0.47
Diabetes mellitus	16 (22.5)	27 (25.5)	0.78
Konjestif kalp yetmezliği	11 (15.5)	15 (14.2)	0.80
Koroner arter hastalığı	10 (14.1)	9 (8.5)	0.23
KOAH	8 (11.3)	10 (9.4)	0.69
Nörolojik hastalık	6 (8.5)	6 (5.7)	0.67
Bağ doku hastalığı	4 (5.6)	8 (7.5)	0.84
Serebrovasküler olay	5 (7)	7 (6.6)	1
Renal hastalık	11 (15.5)	15 (14.2)	0.80

VİP: Ventilatörle ilişkili pnömoni, KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı.

Tablo 8. VİP Etkenleri ve Etkenlerin Dağılımı

Etken Mikroorganizma	**Sayı (%) (n =81)**
K.pneumoniae	35 (43.2)
Pseudomonas spp.	22 (27.2)
Acinetobacter spp.	15 (18.6)
Diğer Gram-negatif enterik çomaklar	5 (6.2)
Corynebacterium spp.	3 (3.7)
MRSA	1 (1.2)

VİP: Ventilatörle ilişkili pnömoni, MRSA: Metisiline dirençli *S. aureus.*

VİP gelişen hastalarda ortalama mortalite gelişme süresi, VİP gelişmeyen gruba oranla daha uzundu (33.58 ve 16.6 gün). VİP gelişen hastalar arasında ölen hastalarla sağkalan hastalar, yaş, VKİ, rektal KDKp kolonizasyonu, Charlson komorbidite indeksi, SOFA skoru, son altı ay içinde hastane yatışı ve son üç ay antibiyotik kullanımı öyküsü yönünden

karşılaştırıldığında, aradaki fark anlamlı bulundu (sırasıyla p<0.001, 0.03, <0.001, <0.001, 0.01, 0.001, 0.01) (Tablo 10). Yaş, SOFA skoru ve rektal KDKp kolonizasyonu, VİP gelişen hastalarda mortaliteye katkı sağlayan bağımsız risk faktörleri olarak saptandı (sırasıyla OR: gelişen hastalarda mortaliteye katkı sağlayan bağımsız risk faktörleri olarak saptandı (sırasıyla OR: 1.15, 1.60, 15.21; %95 GA: 1.03-1.28, 1.05-2.43, 2.33-99.01) (Tablo 11).

Tablo 9. VİP Gelişen ve Gelişmeyen Hastalarda Prognozun Değerlendirilmesi

	VİP Gelişen (n =71) Sayı (%)	**VİP Gelişmeyen (n =106) Sayı (%)**	***p***
Sağkalım	28 (31.8)	6 (57.5)	0.01
Ölüm	43 (48.9)	45 (42.5)	

VİP: Ventilatörle ilişkili pnömoni.

Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Biyofilm Oluşumunun Gösterilmesi

Denenen suşların MİK değerleri Tablo 12-14'te, biyofilm oluşturma özelliklerine göre direnç oranları Tablo 15-17'de gösterilmiştir.

***Pseudomonas* spp.:** *Pseudomonas* suşlarının en duyarlı olduğu iki antibiyotik kolistin 22 (%100) ve sefepim 13 (%59) idi. Buna karşılık en dirençli olduğu antibiyotikler olarak siprofloksasin 15 (%68) ve amikasin 13 (%59) bulundu (Tablo 12).

K. pneumoniae: Etken olarak izole edilen 35 *K. pneumoniae* suşunun 31 (%89)'i laboratuvar çalışmalarına dahil edildi. *K. pneumoniae* suşlarının antibiyogram sonuçlarına göre en duyarlı olduğu ilk iki antibiyotik kolistin 26 (%84) ve imipenem 14 (%45.1) iken, en dirençli olduğu antibiyotikler piperasilin-tazobaktam 28 (%90), seftriakson 28 (%90) idi (Tablo 13).

***Acinetobacter* spp.:** Etken olarak izole edilen 15 *Acinetobacter* suşunun 12 (%80)'si laboratuvar çalışmalarına dahil edildi. *Acinetobacter* suşlarının antibiyogram sonuçlarına göre en duyarlı olduğu antibiyotikler kolistin 11 (%92) ile meropenem ve amikasin 1 (%8) idi. Bu suşların en dirençli olduğu antibiyotikler piperasilin-tazobaktam ve siprofloksasin 12 (%100) olarak bulundu (Tablo 14).

Biyofilm Oluşumunun Direnç Gelişimine Etkisi

Biyofilm oluşumu yönünden tüm *K. pneumoniae*, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşları değerlendirildiğinde biyofilm yapanların oranı sırasıyla %94, %63.6, %100 olarak saptandı.

Tablo 10. VİP Tanısı Almış Ölen ve Sağ Kalan Hastalarda Demografik ve Klinik Özelliklerin Karşılaştırılması

Demografik ve Klinik Özellikler	**Ölüm (n=43) Sayı (%)**	**Sağkalım (n=28) Sayı (%)**	***p***
Yaş (yıl)	**69.49 ± 12.24**	**50.21 ± 14.46**	**<0.001**
Cinsiyet Kadın	17 (28.6)	8 (39.5)	0.34
Cinsiyet Erkek	26 (71.4)	20 (60.5)	
YBÜ'de kalış süresi (gün ±SS)	33.98 ± 19.57	36.16 ± 27.25	0.88
Ventilasyon süresi (gün ±SS)	29.7 ± 19	28.2 ± 20	0.60
SOFA skoru	**5 (1-12)**	**4 (1-14)**	**0.01**
Charlson komorbidite indeksi	**5 (0-13)**	**2 (0-9)**	**<0.001**
VKİ (±SS)	**29.7 ± 12.4**	**26.2 ± 3.8**	**0.03**
Rektal KDKp kolonizasyonu (n=42)	**34 (81)**	**8 (19)**	**<0.001**
Son 6 ayda hastane yatışı (n=44)	**33 (25)**	**11 (75)**	**0.001**
Son 3 ayda antibiyotik kullanımı (n=46)	**33 (71.7)**	**13 (28.3)**	**0.01**
Sağlık bakımı öyküsü (n=27)	17 (63)	10 (37)	0.74
Sigara kullanımı (n=35)	20 (57.1)	15 (42.9)	0.56
Birden fazla VİP etkeni olması (n=10)	7 (70)	3 (30)	0.73
VİP etkeninin MDR olması (n=50)	33 (66)	17 (34)	0.14
Eşlik eden bakteriyemi (n=18)	9 (50)	9 (50)	0.28
Prokalsitonin (µg/lt±SS)	2.6 ± 5.8	1.3 ± 1.2	0.14
CRP (mg/lt±SS)	150 ± 98.5	158 ± 86.2	0.52

VİP: Ventilatörle ilişkili pnömoni, YBÜ: Yoğun bakım ünitesi, SOFA: Sequential organ failure assessment, VKİ: Vücut kitle indeksi, KDKp: Karbapeneme dirençli *K. pneumoniae*, MDR: "Multi-drug resistant", CRP: C-reaktif protein, SS: Standard sapma.

Tablo 11. VİP'li Hastalarda Mortaliteye Katkı Sağlayan Bağımsız Risk Faktörleri

	p	OR	%95 GA	
			En Düşük	En Yüksek
Yaş	**0.01**	**1.15**	**1.03**	**1.28**
SOFA skoru	**0.02**	**1.60**	**1.05**	**2.43**
Charlson komorbidite indeksi	0.95	1.01	0.64	1.58
Rektal KDKp kolonizasyonu	**0.004**	**15.21**	**2.33**	**99.01**
Hastane yatışı (son 6 ay)	0.51	2.72	0.13	54.80
Antibiyotik kullanımı (son 3 ay)	0.98	0.97	0.05	18.23
VKİ	0.40	1.04	0.94	1.15

VİP: Ventilatörle ilişkili pnömoni , SOFA: Sequential organ failure assessment, KDKp: Karbapeneme dirençli *K. pneumoniae*, VKİ: Vücüt kitle indeksi, OR: Odds ratio, GA: Güven aralığı

Biyofilm oluşumuna göre bakterilerin antibiyotik direnç oranlarında anlamlı farklılık saptanmadı. Biyofilm oluşturan suşlarda antibiyotiklerin direnç oranları, tüm suşlara oranla genellikle daha düşük saptandı. Yalnız biyofilm oluşturan *K. pneumoniae* suşlarında meropenem, imipenem ve kolistin direnç oranları diğerlerine göre daha yüksekti. Biyofilm oluşturan *Pseudomonas* suşlarında antibiyotik direnç oranları biyofilm oluşturmayan *Pseudomonas* suşlarından daha düşük bulundu. *Pseudomonas* suşlarının tümü (%100) kolistine duyarlıydı. Biyofilm oluşturan *Acinetobacter* suşları arasında antibiyotik direnç oranları yalnızca kolistinde düşük bulundu. Bu oranlar meropenem, siprofloksasin ve amikasinde aynı iken piperasilin-tazobaktamda artmıştı (Tablo 15-17).

Tablo 12. *Pseudomonas* (n=22) Suşlarının MİK Tablosu

Antibiyotik	Duyarlı Sayı (%)	Orta Sayı (%)	Dirençli Sayı (%)	$MİK_{50}$	$MİK_{90}$	MİK Aralığı
Meropenem	8 (36.4)	4 (18.2)	10 (45.4)	8	128	0.12-256
Sefepim	13 (59)	0 (0)	9 (41)	8	32	1.0-64
Aminoglikozid	9 (41)	0 (0)	13 (59)	16	128	2->512
Piperasilin-tazobaktam	12 (55)	0 (0)	10 (45)	16	128	4->512
Siprofloksasin	7 (32)	0 (0)	15 (68)	1	32	0.12->512
Kolistin	22 (100)	0 (0)	0 (0)	1	2	0.25-2

Tablo 13. *K. pneumoniae* (n=31) Suşlarının MİK Tablosu

Antibiyotik	Duyarlı Sayı (%)	Orta Sayı (%)	Dirençli Sayı (%)	$MİK_{50}$	$MİK_{90}$	MİK Aralığı
Meropenem	10 (31.2)	11 (35.4)	10 (31.2)	4	16	0.25-128
İmipenem	14 (45.1)	11 (35.4)	6 (19.3)	4	16	0.25-128
Ertapenem	7 (23)	0 (0)	24 (77.4)	16	64	0.25-256
Seftriakson,	3 (9.6)	0 (0)	28 (90.3)	512	512	0.25->512
Sefepim	5 (16.1)	1 (3.2)	25 (81)	256	512	0.25->512
Seftazidim	4 (13)	2 (9.6)	25 (81)	64	512	0.25->512
Piperasilin-tazobaktam	2 (6.4)	1 (3.2)	28 (90.3)	512	512	4->512
Aminoglikozid	13 (42)	4 (13)	14 (45)	16	512	0.25->512
Siprofloksasin	5 (16.1)	1 (3.2)	25 (81)	128	256	0.25->512
Kolistin	26 (84)	0 (0)	5 (16.1)	0.25	4	0.25-64

Tablo 14. *Acinetobacter* (n=12) Suşlarının MİK Tablosu

Antibiyotik	Duyarlı Sayı (%)	Orta Sayı (%)	Dirençli Sayı (%)	$MİK_{50}$	$MİK_{90}$	MİK Aralığı
Meropenem	1 (8)	2 (17)	9 (75)	32	64	0.25-64
Piperasilin-tazobaktam	0 (0)	0 (0)	12 (100)	512	512	64->512
Aminoglikozid	1 (8)	0 (0)	11 (92)	256	512	2->512
Siprofloksasin	0 (0)	0 (0)	12 (100)	64	128	16->512
Kolistin	11 (92)	0 (0)	1 (8)	0.25	1	0.25-8

Tablo 15. *Pseudomonas* (n=22) Suşlarının Biyofilm Oluşturma Özelliklerine Göre Direnç Oranları

Antibiyotik	Biyofilm Oluşturan (n= 14) Sayı (%)	Biyofilm Oluşturmayan (n= 8) Sayı (%)	Toplam (n= 22) Sayı (%)	*p*
Meropenem	6 (42.8)	8 (100)	14 (64)	0.18
Sefepim	5 (35.7)	4 (50)	9 (41)	0.66
Aminoglikozid	7 (50)	6 (75)	13 (59)	0.20
Piperasilin-tazobaktam	5 (35.7)	5 (63)	10 (45)	0.18
Kolistin	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
Siprofloksasin	9 (64.2)	6 (75)	15 (68)	1

Tablo 16. ***K. pneumoniae*** **(n=31) Suşlarının Biyofilm Oluşturma Özelliklerine Göre Direnç Oranları**

Antibiyotik	**Biyofilm Oluşturan (n=29) Sayı (%)**	**Biyofilm Oluşturmayan (n=2) Sayı (%)**	**Toplam (n=31) Sayı (%)**	***p***
Meropenem	10 (34.4)	0 (0)	10 (32.2)	1
İmpenem	6 (21)	0 (0)	6 (19.3)	1
Ertapenem	22 (76)	2 (100)	24 (77.4)	1
Seftazidim	23 (79.3)	2 (100)	25 (81)	1
Sefepim	23 (79.3)	2 (100)	25 (81)	1
Seftriakson	26 (90)	2 (100)	28 (90.3)	1
Piperasilin-tazobaktam	26 (90)	2 (100)	28 (90.3)	1
Siprofloksasin	23 (79.3)	2 (100)	25 (81)	1
Aminoglikozid	13 (45)	2 (100)	15 (48.3)	0.22
Kolistin	5 (17.2)	0 (0)	5 (16.1)	1

Tablo 17. ***Acinetobacter*** **(n=12) Suşlarının Biyofilm Oluşturma Özelliklerine Göre Direnç Oranları**

Antibiyotik	**Biyofilm Oluşturan (n = 12) Sayı (%)**	**Biyofilm Oluşturmayan (n= 0) Sayı (%)**	**Toplam (n=12) Sayı (%)**
Meropenem	9 (75)	0 (0)	9
Aminoglokozid	11 (91.7)	0 (0)	11 (91.7)
Piperasilin-tazobaktam	11 (91.7)	0 (0)	11 (91.7)
Siprofloksasin	12 (100)	0 (0)	12 (100)
Kolistin	1 (8.3)	0 (0)	1 (8.3)

MBİK ve MBEK Araştırılması

MBİK ve MBEK etkileri *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *Acinetobacter* suşlarında biyofilm oluşturduğu tespit edilen iki karbapeneme dirençli MDR, bir karbapeneme duyarlı MDR, iki kolistine dirençli ve bir antibiyotiklerin tümüne duyarlı toplam altı adet suşla çalışıldı. MBİK ve MBEK etkileri meropenem, kolistin ve siprofloksasin antibiyotiklerinde araştırıldı.

Çalışılan altı suşun tümünde MBEK değerleri MBİK değerlerinden daha yüksek bulundu. *P. aeruginosa* suşlarında MBİK ve MBEK değerleri siprofloksasin MİK değerlerine yakın düzeyde ve daha yüksek bulundu. Bunun dışında test edilen diğer bütün bakterilerde MBİK ve MBEK düzeyleri antibiyotik MİK değerlerinden en az dört kat olmak üzere çoğu kez 1000 katın üzerindeydi (Tablo 18).

Tablo 18. İkişer *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *Acinetobacter* Suşunun Meropenem, Siprofloksasin ve Kolistin İçin MİK, MBİK ve MBEK Değerleri

Suş No.	Antibiyotik	MİK	MBİK	MBEK
P11	Meropenem	16	8192	>8192
	Siprofloksasin	2	256	512
	Kolistin	1	8912	>8192
P18	Meropenem	4	>8192	>8192
	Siprofloksasin	4	8	16
	Kolistin	2	16	64
A10	Meropenem	16	4096	>4096
	Siprofloksasin	128	>4096	>4096
	Kolistin	1	>4096	>4096
A13	Meropenem	32	>8192	>8192
	Siprofloksasin	128	>8192	>8192
	Kolistin	8	>4096	>4096
K7	Meropenem	≤0.25	>2048	>2048
	Siprofloksasin	0.5	4096	>4096
	Kolistin	1	512	1024
K11	Meropenem	16	>8192	>8192
	Siprofloksasin	64	>8192	>8192
	Kolistin	8	>8192	>8192

P11, P18: 11 ve 18 numaralı *P. aeruginosa* suşu; A10, A13: 10 ve 13 numaralı *Acinetobacter* suşu; K7, K11: 7 ve 11 numaralı *K. pneumoniae* suşu.. MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon, MBİK: Minimum biyofilm inhibe edici konsantrasyon, MBEK: Minimum biyofilm eradike edici konsantrasyon.

Sinerji Testleri

MBEK değerini bildiğimiz *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *Acinetobacter* türlerinden seçilen birer suşta meropenem-kolistin ve meropenem-siprofiloksasin kombinasyonlarının biyofilm içindeki etkilerinin görülmesi amacıyla dama tahtası ve zamana bağlı öldürme yöntemleri çalışıldı (Tablo 19 ve 20). Sinerji testi sonucunda biyofilm dışındaki serbest formlarda meropenem ve siprofloksasin kombinasyonunda "aldırmazlık" görülürken biyofilm formunda "sinerjik etki" görüldü. Zamana bağlı öldürme yönteminde de sinerjik etki bu kombinasyon için *K. pneumoniae* ve *Acinetobacter* suşlarında saptandı (Tablo 19). *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *Acinetobacter* suşlarında zamana bağlı öldürme yöntemiyle meropenem-kolistin ve meropenem-siprofloksasinin farklı konsantrasyonlarında sinerjik etki tespit edildi. *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarında meropenem-kolistin ve meropenem-siprofloksasinin farklı konsantrasyonlarındaki etkinlikleri değerlendirildiğinde *K. pneumonaie* suşlarında meropenem-kolistin için test edilen her konsantrasyondaki etkileri aynı iken, meropenem-siprofloksasin kombinasyonunda 1024/128 mg/lt ile sinerji, 512/126 mg/lt konsantrasyonunda aldırmazlık etkisi sağlandı (Tablo 20).

Tablo 19. Denenen Birer *P. aeruginosa, Acinetobacter* ve *K. pneumoniae* Suşu İçin Meropenem-Kolistin ve Meropenem-Siprofiloksasin Kombinasyonlarının Serbest Form Üzerine ve Biyofilm Tabakası Üzerine Dama Tahtası ve Zamana Bağlı Öldürme Yöntemlerine Göre Etkileri*

	Serbest Form Üzerine Etki		Biyofilm Tabakası Üzerine Etki			
	Dama Tahtası Yöntemi		Dama Tahtası Yöntemi		Zamana Bağlı Öldürme Yöntemi	
Suş No.	**Meropenem-Kolistin**	**Meropenem-Siprofloksasin**	**Meropenem-Kolistin**	**Meropenem-Siprofloksasin**	**Meropenem-Kolistin**	**Meropenem-Siprofloksasin**
P18	Sinerji	Aldırmazlık	Sinerji	Sinerji	Bakterisid	Aldırmazlık
A10	Sinerji	Aldırmazlık	Sinerji	Sinerji	Aldırmazlık	Sinerji
K7	Aldırmazlık	Aldırmazlık	Aldırmazlık	Sinerji	Aldırmazlık	Sinerji

*Etki şekilleri FİK indeksine göre belirlenmiştir. FİK indeksi dama tahtası yöntemi sonuçlarına göre hesaplanmıştır. Zamana bağlı öldürme yöntemi için kombinasyon içinde kullanılan antibiyotik dozları dama tahtası yönteminde sinerji gösteren iki farklı kombinasyona göre belirlenmiştir.

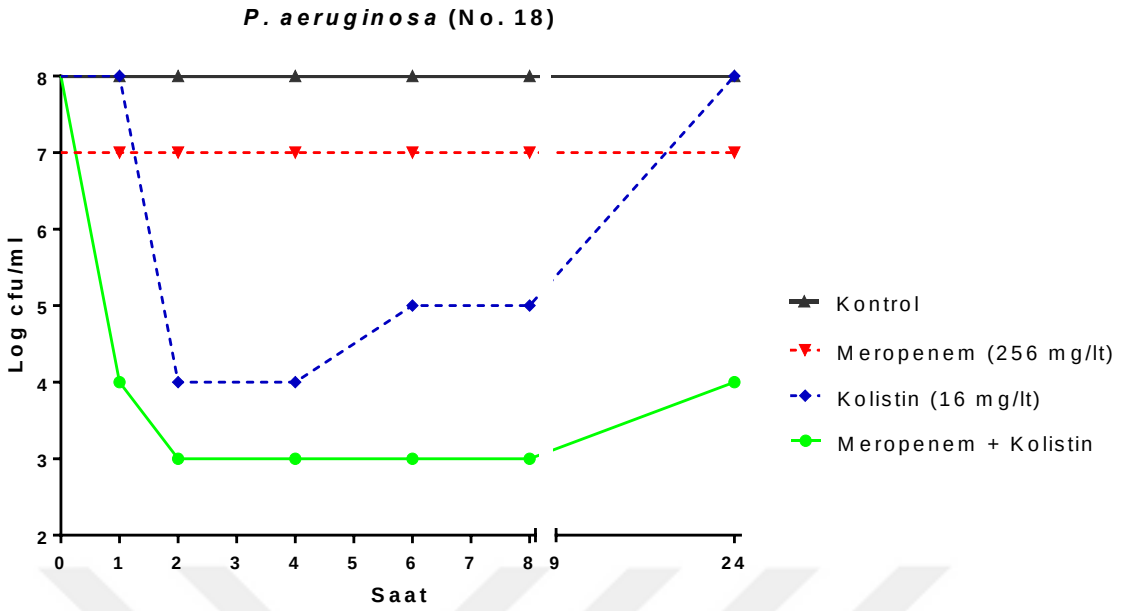
P18: 18 numaralı *P.aeruginosa* suşu, A10: 10 numaralı *Acinetobacter* suşu, K7: 7 numaralı *K. pneumoniae* suşu.

Tablo 20. Denenen Birer *P. aeruginosa, Acinetobacter* ve *K. pneumoniae* Suşu İçin Meropenem-Kolistin ve Meropenem-Siprofiloksasin Kombinasyonlarının Biyofilm Tabakasına Dama Tahtası ve Zamana Bağlı Öldürme Yöntemlerine Göre Etkileri*

Suş No.	Dama Tahtası Yöntemi		Zamana Bağlı Öldürme Yöntemi			
	Meropenem-Kolistin	Meropenem-Siprofloksasin	Meropenem-Kolistin	mg/lt	Meropenem-Siprofloksasin	mg/lt
P18	Sinerji	Sinerji	Bakterisid	256/16	Aldırmazlık	512/16
			Bakterisid	512/64	Aldırmazlık	256/32
A10	Sinerji	Sinerji	Aldırmazlık	512/512	Sinerji	512/512
			Aldırmazlık	256/1024	Sinerji	256/1024
K7	Aldırmazlık	Sinerji	Aldırmazlık	512/4096	Sinerji	1024/128
			Aldırmazlık	256/4096	Aldırmazlık	512/256

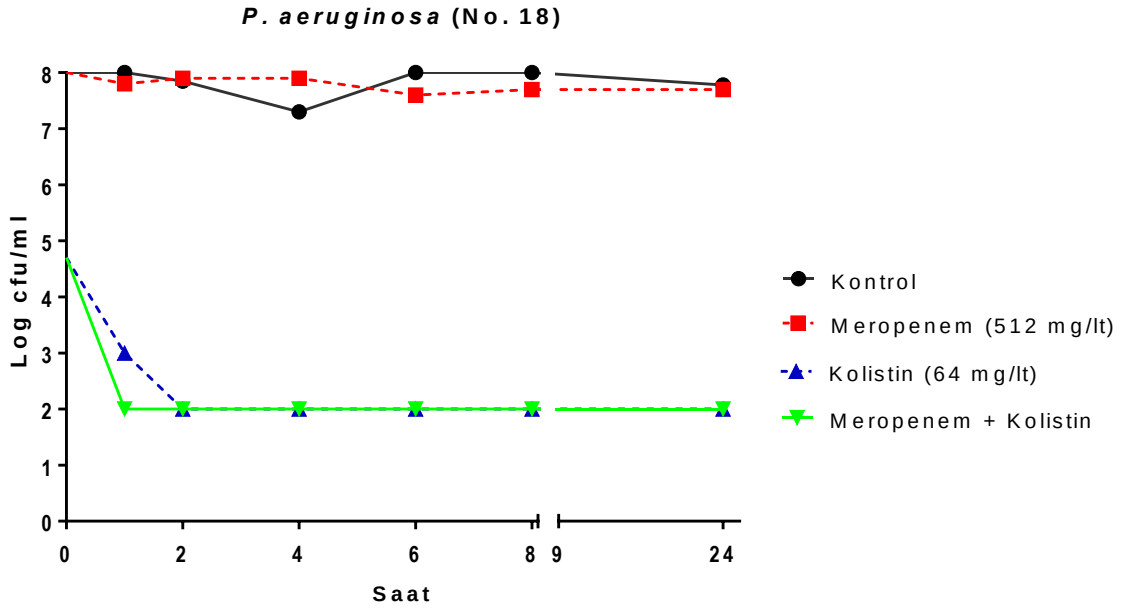
*Etki şekilleri FİK indeksine göre belirlenmiştir. FİK indeksi dama tahtası yöntemi sonuçlarına göre hesaplanmıştır. Zamana bağlı öldürme yöntemi için kombinasyon içinde kullanılan antibiyotik dozları dama tahtası yönteminde sinerji gösteren iki farklı kombinasyona göre belirlenmiştir.

P18: 18 numaralı *P. aeruginosa* suşu**,** A10: 10 numaralı *Acinetobacter* suşu, K7: 7 numaralı *K. pneumoniae* suşu.



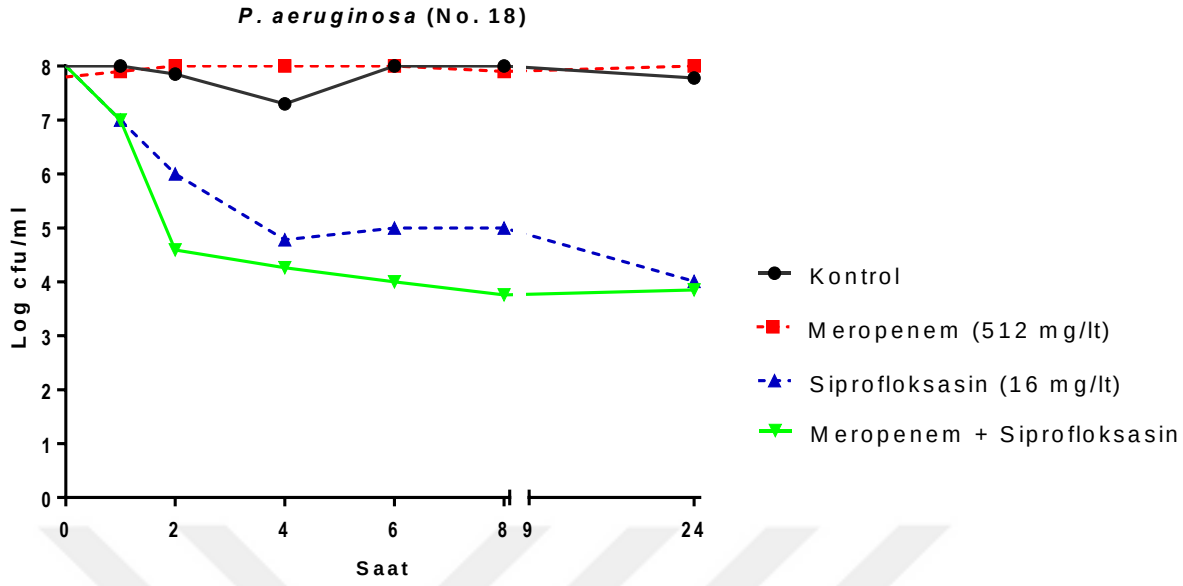
Şekil 4. 18 numaralı *P. aeruginosa* suşunun meropenem 256 mg/lt, kolistin 16 mg/lt ve meropenem-kolistin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği.

X ekseni: öldürme zamanı, Y ekseni: koloni sayısının logaritmik değerleri.



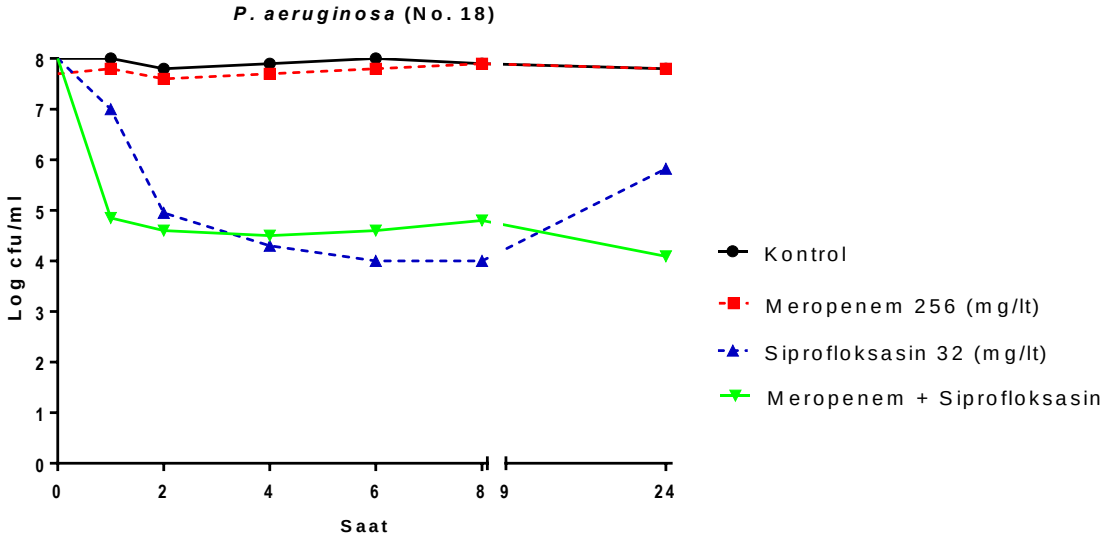
Şekil 5. 18 numaralı *P. aeruginosa* suşunun meropenem 512 mg/lt, kolistin 64 mg/lt ve meropenem-kolistin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği.

X ekseni: öldürme zamanı, Y ekseni: koloni sayısının logaritmik değerleri.



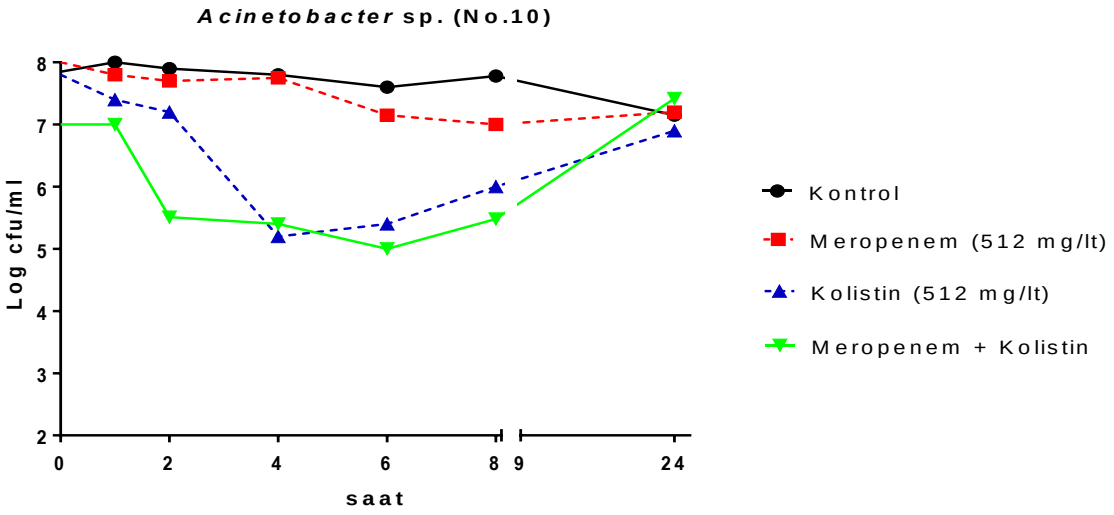
Şekil 6. 18 numaralı *P. aeruginosa* suşunun meropenem 512 mg/lt, siprofloksasin 16 mg/lt ve meropenem-siprofloksasin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği.

X ekseni: öldürme zamanı, Y ekseni: koloni sayısının logaritmik değerleri.



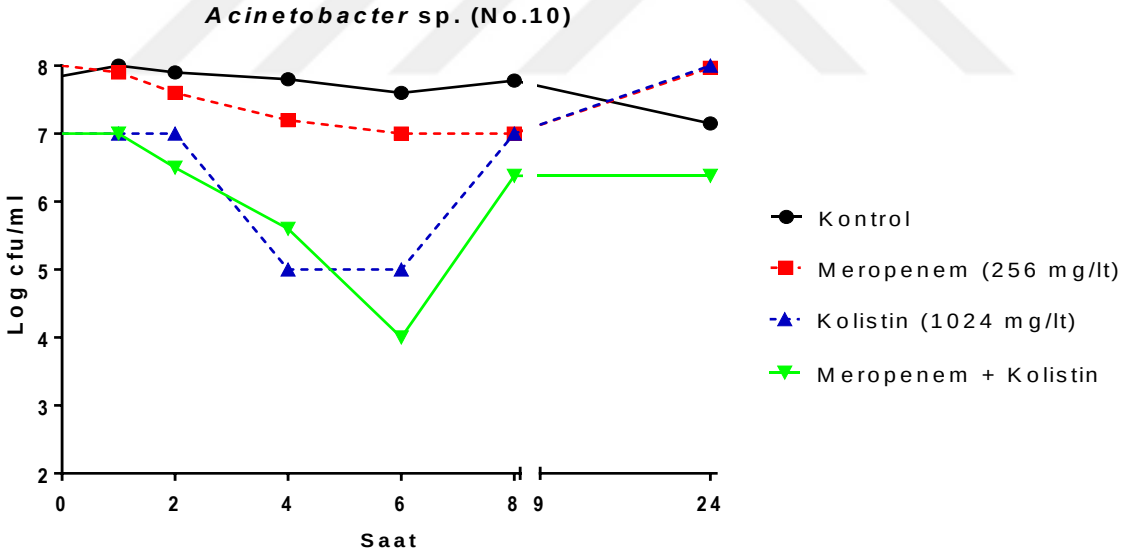
Şekil 7. 18 numaralı *P. aeruginosa* suşun meropenem 256 mg/lt, siprofloksasin 32 mg/lt ve meropenem-siprofloksasin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği.

X ekseni: öldürme zamanı, Y ekseni: koloni sayısının logaritmik değerleri.



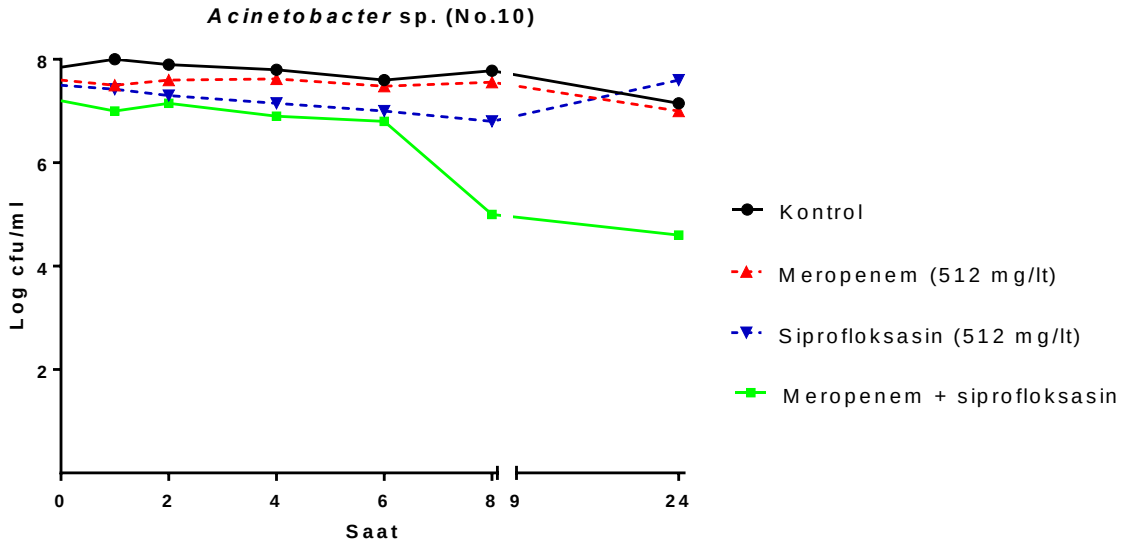
Şekil 8. 10 numaralı *Acinetobacter* suşunun meropenem 512 mg/lt, kolistin 512 mg/lt ve meropenem-kolistin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği.

X ekseni: öldürme zamanı, Y ekseni: koloni sayısının logaritmik değerleri.



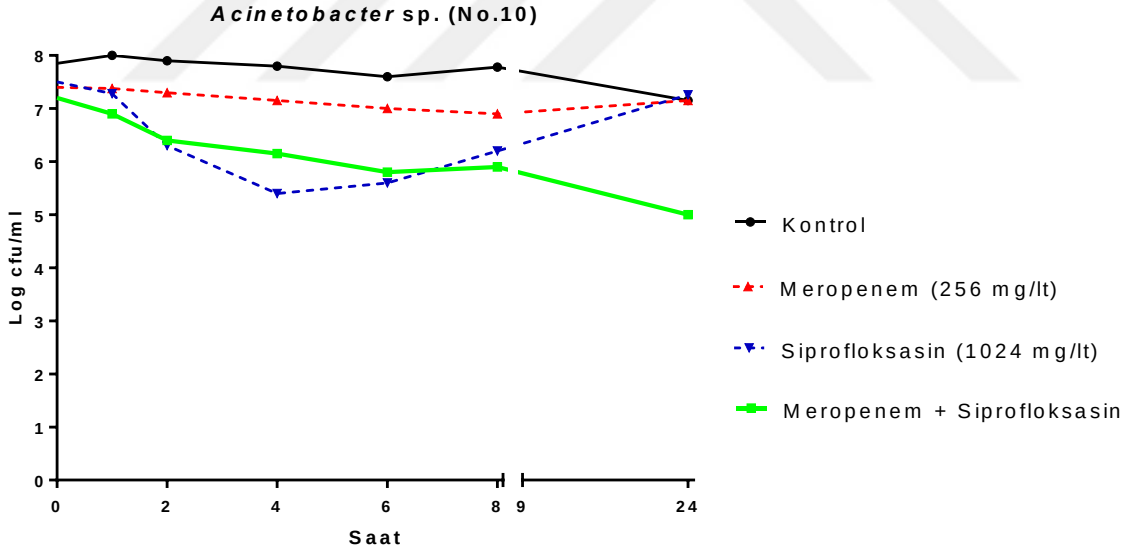
Şekil 9. 10 numaralı *Acinetobacter* suşunun meropenem 256 mg/lt, kolistin 1024 mg/lt ve meropenem-kolistin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği.

X ekseni: öldürme zamanı, Y ekseni: koloni sayısının logaritmik değerleri.



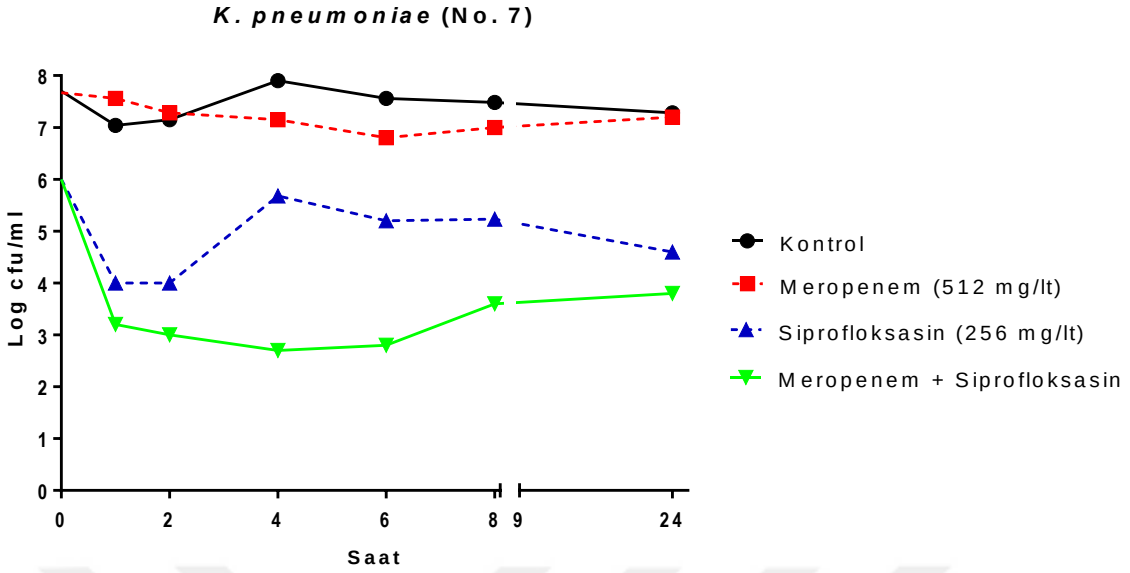
Şekil 10. 10 numaralı *Acinetobacter* suşunun meropenem 512 mg/lt, siprofloksasin 512 mg/lt ve meropenem-siprofloksasin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği.

X ekseni: öldürme zamanı, Y ekseni: koloni sayısının logaritmik değerleri.



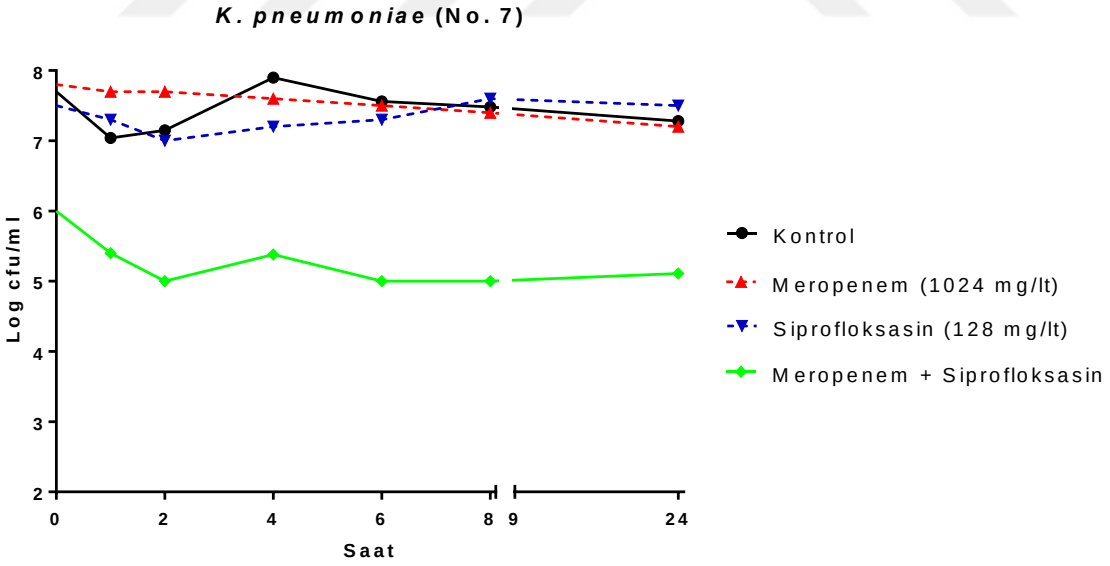
Şekil 11. 10 numaralı *Acinetobacter* suşunun meropenem 256 mg/lt, siprofloksasin 1024 mg/lt ve meropenem-siprofloksasin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği.

X ekseni: öldürme zamanı, Y ekseni: koloni sayısının logaritmik değerleri.



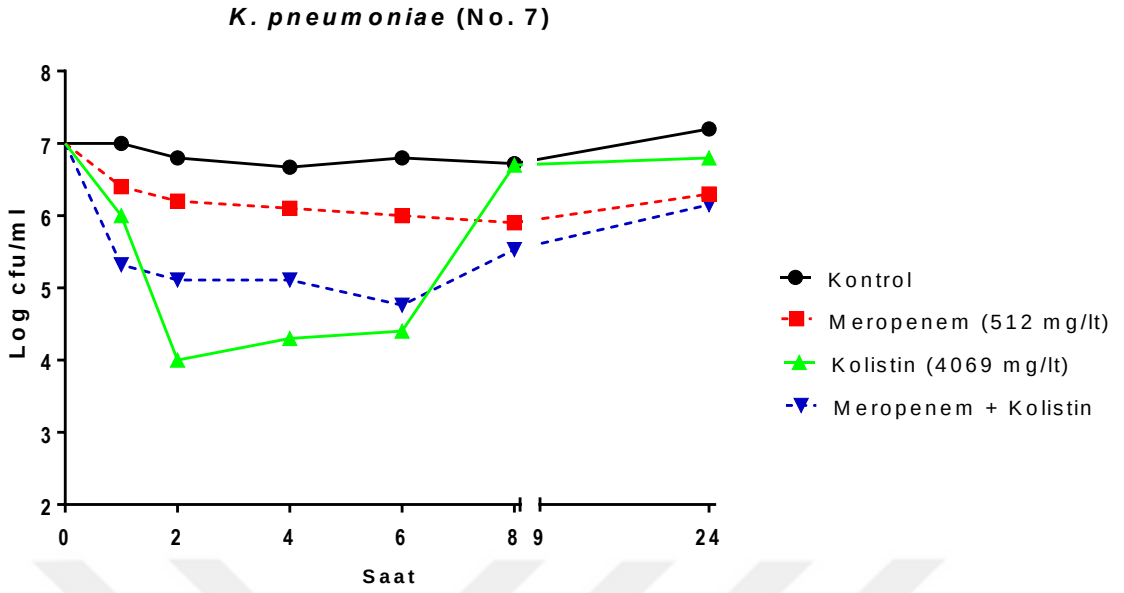
Şekil 12. 7 numaralı *K. pneumonaie* suşunun meropenem 512 mg/lt, siprofloksasin 256 mg/lt ve meropenem-siprofloksasin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği.

X ekseni: öldürme zamanı, Y ekseni: koloni sayısının logaritmik değerleri.



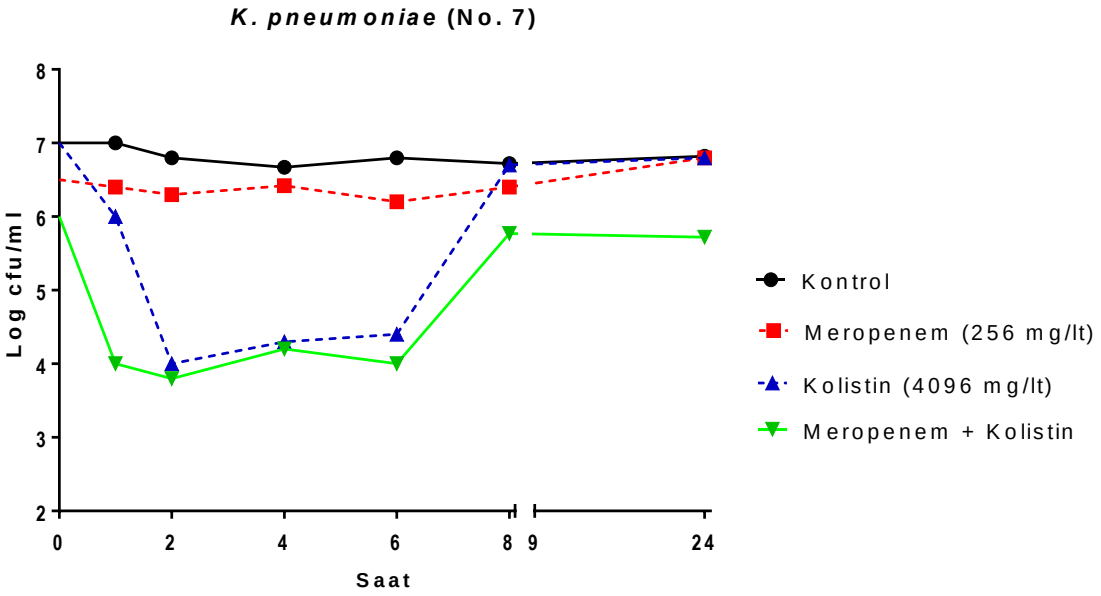
Şekil 13. 7 numaralı *K. pneumonaie* suşunun meropenem 1024 mg/lt, siprofloksasin 128 mg/lt ve meropenem-siprofloksasin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği.

X ekseni: öldürme zamanı, Y ekseni: koloni sayısının logaritmik değerleri.



Şekil 14. 7 numaralı *K. pneumonaie* suşunun meropenem 512 mg/lt, kolistin 4096 mg/lt ve meropenem-kolistin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği.

X ekseni: öldürme zamanı, Y ekseni: koloni sayısının logaritmik değerleri.



Şekil 15. 7 numaralı *K. pneumonaie* suşunun meropenem 256 mg/lt, kolistin 4096 mg/lt ve meropenem-kolistin birlikte uygulandığında zamana bağlı öldürme grafiği.

X ekseni: öldürme zamanı, Y ekseni: koloni sayısının logaritmik değerleri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada üçüncü basamak bir YBÜ'de yatan ve VİP gelişen hastalarda etyolojik, klinik ve tedavi yanıtları incelenmiş, etken bakterilerin biyofilm yapma özellikleri araştırılarak bunların tedavi yanıtlarını önemli ölçüde etkiledikleri ortaya konulmuştur.

YBÜ'lerde gelişen infeksiyonlar morbidite ve mortalitenin yanı sıra tedavi maliyetini de önemli oranda artıran en yaygın sorunlardan biridir. VİP'ler YBÜ'lerde mortaliteye en fazla katkıda bulunan infeksiyonlar arasındadır (64,65). YBÜ'lere göre değişmekle birlikte ABD'de genel YBÜ'de ortalama VİP hızı NHSN verilerine göre 1000 ventilatör gününde 0.7 dir (12). 25 farklı Avrupa ülkesinde yapılan çok merkezli bir çalışmada majör kalp cerrahisi uygulanan hastenelerdeki VİP insidansı 19.3 olarak bildirilmiştir (66). Uluslararası Nozokomiyal İnfeksiyon Kontrol Konsorsiyumu'nun verilerine göre gelişmekte olan Avrupa ülkelerde binde 1.1 ile 16.8 arasında ve Ulusal Hastane İnfeksiyonları Sürveyans (UHESA) Ağı 2015 yılı sürveyans verilerine göre de ülkemizde 1000 ventilatör gününde 6.3 olarak bildirilmiştir (13,64). Hastanemizin 2015 sürveyans verilerine göre genel YBÜ'de VİP hızı 8.8 olarak tanımlanmıştır. Çalışmamızın yapıldığı döneme ait VİP hızı da 8.6 olarak saptanmıştır. Sonuçlarımız bir önceki çalışmayla karşılaştırıldığında VİP görülme oranı daha düşük (8.6), ABD verilerine oranla daha yüksek (0.7) bulunmuştur. Bu farklılığın, hastaların komorbidite faktörlerine hastane koşullarına, etken dağılımına ve bu etkenlerin antibiyotik duyarlılık paternlerindeki değişikliğe bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Lokal epidemiyolojik özelliklerin değişimi VİP görülme sıklığını etkilemekle birlikte, hangi etkenle olursa olsun, VİP gelişen hastalar YBÜ şartlarının daha fazla riskine maruz kalmaktadır. Bu riskler daha fazla girişim ve ventilasyon süresi, daha fazla antibiyotik kullanımı ve daha uzun süreli hastane yatışıdır.

CDC verilerine göre VİP gelişen hastalarda ortalama ventilasyon süresi, YBÜ'de yatış süresi VİP gelişmeyen hastalara oranla daha yüksek bulunmuştur. Benzer sonuçlar Avrupa'dan, Çin'den ve ülkemizden de bildirilmiştir (6,8,67-71). Karataş ve arkadaşları (71)'nın yapmış olduğu bir çalışmada ortalama ventilasyon süresi 23.5 ± 10.3 gün, YBÜ'de yatış süresi 26.7 ± 16.3 gün, çalışmamızda ise bu değerler sırasıyla 22 (3-90) gün, 29 (3-107) gün olarak bulunmuştur. Çalışma sonuçlarımızla örtüşen bu durum, ventilatör süresinin uzamasıyla VİP gelişminin arttığını gösteren çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Bunun dışında çalışmamız sigara alışkanlığı, antibiyotik kullanımı ve trakeostomi açılması gibi faktörlerin VİP' li hastalarda daha yaygın olduğunu göstermektedir.

Hastaların YBÜ'ye yatırılma nedenleri VİP gelişimi üzerine doğrudan etkili olabilmektedir. But ve Junior tarafından yapılan çalışmalarda, benzer şekilde VİP gelişen hastaların solunum yetmezliğiyle YBÜ'ye yatırılma oranı daha yüksek saptanmıştır (69,72). Bu durum hastaların daha fazla solunum desteğine gereksinim duymaları ve ventilatör kullanmak zorunda kalmalarıyla açıklanabilir. Ancak çalışmada VİP gelişmeyen hastalara oranla diğer yatış gerektiren nedenlerde bir farklılık saptanmamıştır.

VİP gelişen hastalarda uzun süreli ventilatör kullanımının neden olduğu mukozal hasar ve barotravmalar lokal kolonizasyonu, mikroaspirasyonu ve infeksiyon gelişimini artırmaktadır (4,73,74). Benzer şekilde yapılan çalışmalar ventilatör uygulanmayan YBÜ hastalarında da antibiyotiklere dirençli bakteri kolonizasyonunun arttığını göstermektedir (75). Karbapeneme dirençli enterik bakteri (KDEB) kolonizasyonu VİP gelişen hastalarda tedavi yanıtlarını daha olumsuz etkilemekte, tedavi seçeneklerini önemli oranda sınırlamaktadır (76,77).

VİP gelişen hastalarda KDEB kolonizasyonunun yaygın olduğu ve bu hastalarda mortalitenin daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (78,79). Ling ve arkadaşları (80) tarafından yapılan bir çalışmada KDEB kolonizasyonu bulunan hastaların kontrol grubuna oranla 3.5 kat daha mortal seyrettiği bildirilmiştir. Çalışmamızda VİP gelişen hastalarda rektal KDKp kolonizasyonu VİP gelişmeyen grupla karşılaştırıldığında anlamlı (p<0.001) bulunmakla birlikte, VİP gelişimine (p=0.001) ve VİP gelişen hastalarda mortaliteye katkı sağlayan (p=0.004) bağımsız risk faktörü olarak da tanımlandı.

VİP gelişen hastalarda Gram-negatif bakteriler tüm etkenler arasında %95 oranında yer almaktadır. Lokal epidemiyolojik faktörlerin antibiyotik kullanma politikalarının etkilediği bu dağılım Gram-negatif bakteriler arasında antibiyotik direnç sorununu ön plana çıkartmaktadır. Bu da özellikle YBÜ'lerde son dönemlerde daha ciddi sorunlara neden olan KDEB'lerin neden olduğu VİP tedavisini önemli oranda kısıtlamaktadır.

VİP gelişen hastalarda prognozun değerlendirildiği çalışmalarda YBÜ'lerde kalış süresi ve ventilasyon süresinin daha uzun olduğu bildirilmiştir (6,67,71). Her iki sürenin uzaması antibiyotiklere dirençli bakteri kolonizasyonu açısından hastaları daha duyarlı hale getirmekte, daha fazla invazif işlem nedeniyle hem kolonizasyon hem de infeksiyon olasılığı artmaktadır. Çalışmamızda VİP gelişen hastalarda YBÜ'de kalış süresi ve ventilasyon süresinin daha uzun olarak saptanması diğer çalışmalarla uyum göstermektedir.

YBÜ'de bulunan ve VİP gelişen hastalarda, VİP gelişmeyenlere oranla mortalite sıklığı daha fazladır. YBÜ'de gelişen diğer infeksiyonların mortalite gelişme sıklığı üriner sistem infeksiyonlarında %35, bakteriyemi-sepsiste %37 ve VİP'te %45 olarak bildirilmiştir

(65). Benzer şekilde başka çalışmalarda da VİP kaynaklı mortalitenin daha yüksek olduğu belirtilmektedir (81,82). Bunun olası nedenleri arasında hastalara ait komorbid faktörler, ventilasyona bağlı barotravmalar sonucu mukozal hasarlanma, solunum yolunda koruyucu epitel bütünlüğünün bozulması ve mukosiliyer aktivite kaybı, VİP'e neden olan bakteri florası ve antibiyotik direnç paterni sayılabilir (83-86).

Bununla birlikte VİP gelişen hastalarda asıl sorun izole edilen bakterilere yönelik uygun antibiyotiklerin kullanılmasına rağmen yeterli tedavi yanıtının alınmamasıdır (52,87,88). Bunun önde gelen nedeni etken bakterilerinin çoğunun biyofilm oluşturması ve in-vitro şartlarda etkili olduğu gösterilen antibiyotiklerin in-vivo ortamlarda biyofilm üzerine yeterli etkinliği gösterememesidir (89,90).

Biyofilm, bakteriler tarafından bulunduğu ortamda varlığını sürdürebilmek ve adaptasyonu kolaylaştırmak için geliştirilen doğal bir mekanizmadır. Bu yapının antibiyotik geçişini engelleyici özelliği tedavi şansını çoğu kez ortadan kaldırmaktadır. Yapılan çalışmalarda biyofilm gelişimi özellikle protez cihazları, vasküler kateter uygulamaları sonucunda yabancı cisim etrafında daha fazla gelişmektedir. VİP, intübe olan hastalarda kolonize olan bakterilerin biyofilm yapma potansiyelini artırmakta, bu da bakterinin daha fazla korunma mekanizmasına sahip olmasına neden olmaktadır. Biyofilm tabakasına erişen ve burada konsantrasyonu azalan antibiyotiklere karşı, bakteri genetik mekanizmalarını harekete geçirerek adaptif süreci başlatmaktadır. Bu durum bakterinin ortamda bulunan antibiyotiklere karşı direnç geliştirme mekanizmasına katkı sağlamaktadır. Sonuç itibariyle biyofilm yalnızca bakterinin bulunduğu ortamda yaşamsal adaptasyonu sağlamak ve varlığını devam ettirecek bir korunma mekanizması değil aynı zamanda infeksiyon açısından onu daha virülan kılan ve antibiyotik direnç gelişimine de katkı sağlayan oldukça önemli bir yapıdır (41,42,47,48).

Biyofim infeksiyona neden olan birçok bakteri tarafından salgılanmaktadır. Yapılan bir çalışmada YBÜ'de yatan infekte ve kolonize hastaların solunum yolu örneklerinden elde edilen *A. baumannii* suşlarının %48'inin biyofilm oluşturduğu saptanmıştır (91). İki merkezin katılımıyla gerçekleşen bir çalışmada farklı infeksiyon bölgelerinden alınan örneklerden elde edilen *K. pneumoniae* suşlarının biyofilm yapma kapasitesi %93.6 iken solunum yollarından izole edilen suşlarda %100 olarak bulunmuştur (91). Yanık dokularından elde edilen örneklerde ise biyofilm salgılama potansiyeli *P. aeruginosa*'da %73.8, *K. pneumoniae*'de %71 ve *A. baumannii*'de %40 olarak saptanmıştır (92). Çalışmamızda *Pseudomonas* spp., *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp.'de biyofilm yapma oranı sırasıyla %63.6, %94, %100 olarak saptanmış olup diğer çalışmalarla kısmen uyumlu

bulunmuştur. Farklılığın lokal epidemiyolojik faktörler ve antibiyotik kullanımlarıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Bakterilerin biyofilm nedeniyle antibiyotik duyarlılık paternlerini belirlemede farklı bir yöntem gerekmektedir. Bu işlem MBEK değerinin belirlenmesi olup, biyofilmin antibiyotik duyarlılığına etkisi daha rasyonel değerlerle ortaya konmaktadır. Çalışmamızda *Pseudomonas* suşlarının antibiyotik duyarlılığı biyofilm oluşturmayan grupta daha yüksek saptanmış olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır**.** Bu sonuçlar biyofilm tabakasının antibiyotik direnci üzerine olumsuz etkileriyle çelişmektedir. Bu durumun *Pseudomonas* suşlarının yapısal özelliklerinden kaynaklanabileceği, bakterinin serbest formlarının daha mukoid yapı göstermesiyle ve virülans faktörlerini daha fazla kullanmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (93). Dirençli *K. pneumoniae* suşlarının arasında meropenem, imipenem ve kolistine dirençli olarak bulunan suşların tamamı biyofilm oluşturmaktaydı. Buna karşın diğer antibiyotiklerde direnç oranları biyofilm oluşturan suşlarda daha düşük bulunmuştur. Ancak *K. pneumoniae* suşları için bu değerlerin hiçbiri anlamlı düzeyde değildir. Bu durum *K. pneumoniae* suşlarının antibiyotik direncine biyofilm oluşumunun katkısı olmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Acinetobacter suşlarında izole edilen tüm suşların biyofilm oluşturduğu görülmüştür. Bu suşlar aynı zamanda antibiyotiklere de yüksek oranda direnç geliştiren suşlardır. *Acinetobacter* suşları içinde biyofilm oluşturmayan herhangi bir suşun yer almaması antibiyotik direncine biyofilm tabakasının doğrudan katkı sağladığı şeklinde yorumlanabilir. Ancak bu konuda daha gerçekçi yorum yapabilmek için daha fazla suşla çalışmak ve bu mekanizmayı daha iyi tanımlamak gerekecektir.

Çalışmamızda *Acinetobacter* spp. dışında biyofilmin antibiyotik direnciyle herhangi bir ilişkisi saptanmamıştır. *Acinetobacter* suşlarında biyofilm oluşturmayan dirençli popülasyonun bulunmaması biyofilmin antibiyotik direnci üzerindeki ilişkisini objektif olarak ortaya koymamızı engelleyen bir durum teşkil etmektedir. Bununla birlikte sonuçlarımız biyofilmin tek başına antibiyotik direnç gelişimine neden olmayacağını düşündürmektedir. Yine de biyofilm doğrudan antibiyotik direncine neden olmasa da, antibiyotiklerin etkinliğini ve biyoyararlanımını sınırlamaktadır (94).

Her ne kadar biyofilm doğrudan antibiyotik direncine neden olmasa da direnç düzeyinin artışına katkı sağlayabilir. Bunu belirlemek üzere yapılan MBİK ve MBEK testlerinde her üç grup bakteriden değişik özelliklere sahip ikişer tanesi test edilmiştir. Bu suşların tümü biyofilm oluşturan, iki karbapeneme dirençli MDR, bir karbapeneme duyarlı MDR, iki kolistine dirençli ve bir tüm antibiyotiklere duyarlı olmak üzere toplam altı suştur.

MBİK ve MBEK yönünden test edilen meropenem, kolistin ve siprofloksasin açısından her iki değer siprofloksasin için serbest formdaki suşun MİK değerlerinden en az 4 kat, buna karşılık diğer antibiyotiklerin MİK değerinden en az 100 kat daha yüksek bulunmuştur. Bu durum tek başına biyofilm oluşturan bakterilerde özellikle meropenem ve kolistine karşı direnç düzeyinin önemli oranda artışına katkıda bulunduğu şeklinde yorumlanabilir.

MBİK ve MBEK değerlerinin serbest formdaki bakterilerin MİK değerlerinden en az 100 kat yüksek olması tedavi sonuçlarının olumsuzluğunu doğrudan etkilemektedir. Bu durum bir anlamda MİK sonuçlarına göre o bakteri için etkin olduğu saptanan antibiyotiklerin tedavi yetersizliği ve klinik durumun düzelmemesini de açıklayabilir. Özellikle YBÜ gibi infeksiyonlar açısından son derece riskli alanlarda bulunan hastaların infeksiyon tedavilerinde izole edilen bakterilerin MBİK ve MBEK değerlerinin saptanmasının, MİK sonuçlarına oranla daha rasyonel sonuçlar ve tedavi başarısı için daha büyük katkısı olmaktadır.

Çalışmamızda MBİK ve MBEK sonuçları tedavi açısından bir antibiyotiğin tek başına yetkinliğini ortaya koyamayacağını göstermektedir. Bu durum tedavide birden fazla antibiyotik kullanımını zorunlu kılmaktadır. Dama tahtası ve zamana bağlı öldürme yöntemiyle yapılan sinerji testleri birden fazla antibiyotik kullanımının *in vitro* sonuçlarını en iyi gösteren yöntemlerdir (95-97). Çalışmamızda biyofilm oluşturan suşlarda yapılan sinerji testlerinde, serbest formdaki suşlarda yapılan test sonuçlarına göre genellikle daha yüksek etkinlik elde edildi. Meropenem ve kolistin kombinasyonuyla *P. aeruginosa* suşlarının biyofilm ve serbest formlarında sinerji ve bakterisid etki sağlandı. Bu açıdan değerlendirildiğinde serbest formlarda elde edilen sinerji test sonuçları biyofilm formundaki suşlarda kullanılan her iki yöntem sonuçlarıyla uyumlu bulundu. Aynı kombinasyonun dama tahtası yöntemiyle *Acinetobacter* suşları üzerinde saptanan etkinliği her iki formda sinerjik etkili bulundu. Bununla birlikte zamana bağlı öldürme yönteminde farklı konsantrasyonlarda aldırmazlık etkisi saptandı. Dama tahtası ve zamana bağlı öldürme yöntemi arasında ortaya çıkan farklı sonuçlar benzer çalışmalarda da gösterilmiştir. Bu durum dama tahtası yönteminin uygulayıcı hatalarına daha açık olmasından kaynaklanmış olabilir. Bununla birlikte test sonuçları değerlendirilirken sonuçların tutarlılığını sağlamak amacıyla testlerin tekrar edilmesi gerekebilir (95).

Meropenem ve kolistin kombinasyonunun *K. pneumoniae* suşlarının serbest ve biyofilm formlarında tüm yöntemlerle aldırmazlık etkisi gösterdiği saptandı. Bu durum meropenem ve kolistinin *K. pneumoniae* kaynaklı VİP olgularının tedavisinde uygun bir seçenek olmadığını ve biyofilm üzerine herhangi bir etksinin bulunmadığını göstermektedir (96). Meropenem-kolistin kombinasyonunun etkinliği konusunda Laishram ve arkadaşları

tarafından yapılan bir çalışmada çalışmamızdan farklı olarak *K. pneumoniae* suşlarının serbest formlarında sinerjik etki saptanmıştır.

Antibiyotik kombinasyonlarının bakteriler üzerine olan etkinlik farklılığı çeşitli çalışmalarda vurgulanmaktadır (98). Benzer şekilde meropenem ve siprofloksasin kombinasyonlarının *P. aeruginosa* suşlarına karşı sinerjik etkinliğini öne süren çalışmaların (99) yanı sıra, aynı kombinasyonun aynı *P. aeruginosa* suşlarında aldırmazlık etkisini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (100,101). Bu durum çalışma yönteminden kaynaklanabileceği gibi bakterinin sahip olduğu direnç mekanizmalarının türü, sayısı ve antibiyotiklere karşı MİK değerleriyle de ilişkili olabilir.

Meropenem ve siprofloksasin kombinasyonu serbest formlarda aldırmazlık etkili iken biyofilm tabakası üzerine suşların tamamında sinerjik etkili bulunmuştur. Buna karşılık zamana bağlı öldürme yöntemine göre farklı kombinasyonlarda yapılan çalışmalarda aldırmazlık etkisiyle karşılaşılmıştır. Bu sonuçlar meromenem ve siprofloksasin kombinasyonunun biyofilm ve serbest formlardaki suşlarda farklı etki oluşturduğunu göstermektedir. Farklı sonuç aynı zamanda biyofilm formundaki suşta dama tahtası ve zamana bağlı öldürme yöntemleri arasında da ortaya çıkmıştır. Yapılan çalışmalarda her iki yöntemden kaynaklanan farklı sonuçlar olabileceği, bu durumun dama tahtası yönteminin uygulayıcı hatalarına daha açık bir test olmasıyla gerçekleşebileceği bildirilmiştir (95). Bununla birlikte *K. pneumoniae* suşlarında aynı kombinasyonun etkileri doza bağlı değişkenlik göstermiştir. Meropenem dozunun artırıldığı konsantrasyonlarda sinerjik etki elde edilmiştir. Buna karşılık meropenem konsantrasyonunun azaltılıp siprofloksasin konsatrasyonunun arttırıldığı durumda aldırmazlık etkisi saptanmıştır. Bu durum meropenem ve siprofloksasin kombinasyonunun antibiyotik konsantrasyonlarına göre *K. pneumoniae* suşlarındaki etkilerinin değişebileceğini, meropenem konsantrasyonunun burada daha belirleyici olacağını düşündürmüştür. Yapılan bir çalışmada meropenem ve siprofloksasin kombinasyonunun *P. aeruginosa* suşlarında sinerjik, *A. baumannii* suşlarında aldırmazlık etkili (99) bir diğer çalışmada ise her iki bakteride de bu kombinasyonun sinerjik etkili olduğu bildirilmiştir (91).

Meropenem ve siprofloksasin kombinasyonunun her üç suşun serbest formlarında aldırmazlık etkisine karşılık biyofilm formlarında daha etkili olması dikkat çekicidir. Bu durum daha önce yapılan çalışmalarda öne sürüldüğü gibi siprofloksasinin biyofilm tabakasına olan etkinliğiyle ilişkilendirilebilir (102,103).

Sonuç olarak hastane infeksiyonlarının yaygın nedenleri arasında yer alan *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *K. pneumoniae* gibi bakterilerin biyofilm oluşturma

potansiyelleri ve bunlara bağlı antibiyotik etkilerinin değişebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu bakterilerin neden olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde biyofilm varlığının araştırılması, antibiyotik duyarlılıklarının saptanması için MBİK ve MBEK değerlerinin belirlenmesi tedavi başarısı açısından daha doğru bir yaklaşım olacaktır.

Çalışmamız VİP gelişen hastalarda yalnızca klinik bulgular değil aynı zamanda etken bakterilerin biyofilm özellikleri ve bunların tedavi yanıtına etkisini de ortaya koyması açısından farklı katkılar sunmaktadır. Bakterilerin biyofilm yapma özellikleri çalışmamızda ortaya konulmuş, bunların tedavi yanıtını çarpıcı şekilde etkilediği laboratuvar ortamında gösterilmiştir. Bununla birlikte çalışmayı kısıtlayan bazı durumlar söz konusudur. Bunlardan ilki çalışmamızın bir yıllık süre içinde kısıtlı hasta sayısıyla yapılmış olmasıdır. Çalışmanın daha fazla sayı ve bakteri türüyle gerçekleştirilmiş olması sonuçlarımızı daha rasyonel kılabilirdi. Bunun dışında biyofilm oluşumu ve bunlar üzerinde antibiyotik kombinasyon etkinliğini gösteren testler sınırlı sayıdaki bakterilerle gerçekleştirilmiştir. Test edilen bakterilerin antibiyotik direnç profillerinin farklı suşlardan tercih edilmesi her ne kadar homojen bir dağılım sağlaması ve genel bir fikir oluşmasına katkıda bulunsa da, tüm bakterilerin daha fazla antibiyotik kombinasyonlarıyla araştırılması bu çalışmanın veri içeriğini daha zengin hale getirebilirdi. Ancak gerek biyofilm oluşumunun gösterilmesi gerek bakterilere antibiyotik kombinasyonlarının etkinliğini gösteren testlerin uzun zaman ve uğraşı gerektirmesi bu çalışmanın sınırlanmasına neden olmuştur.

Bununla birlikte VİP gibi mortalite ve morbiditesi oldukça yüksek olan hastane infeksiyonlarının tedavisinde etken bakterilerin yüksek biyofilm yapma potansiyelleri göz ardı edilmemelidir. Bunları laboratuvar şartlarında belirlemek ve antibiyotik kombinasyonlarının biyofilm üzerine etkinliğini tayin etmek rutin laboratuvarlarda kullanılabilecek bir yöntem olmadığından, bunları test edilebilecek pratik yaklaşımlar ve cihazların önemi ve gerekliliği bu çalışmayla öne çıkmaktadır. Rutinde kullanılabilecek pratik bir yöntem rasyonel antibiyotik kullanımına önemli katkı sağlayacak, antibiyotik direnci gelişiminde olumlu sonuçlara neden olarak tedavi başarısını doğrudan etkileyebilecektir.

Sonuç olarak YBÜ'de yatan ve VİP gelişen hastaların değerlendirildiği bu çalışmada klinik ve laboratuvar verileri üzerinden önemli çıkarımlar sağlanmıştır. Bunlar:

1. VİP gelişen hastalarda YBÜ'de yatış süresi ve ventilasyon süresi VİP gelişmeyen hastalara oranla daha uzundur.
2. VİP gelişimi açısından ventilasyon süresi, rektal KDKp kolonizasyonu ve sigara kullanımı bağımsız risk faktörleri olarak saptanmıştır.

3. VİP gelişimi hastaların YBÜ'ye yatış tanıları ve ek sistemik hastalıklarından bağımsız olarak ortaya çıkmaktadır.
4. VİP gelişen hastalarda rektal KDKp kolonizasyonu, VİP gelişmeyen hastalarla kıyaslandığında daha fazladır.
5. VİP gelişen hastaların yaklaşık %88'inde etken *K. pneumoniae*, *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp. idi. Üstelik bu suşların sırasıyla %94, %63.6, %100'nün biyofilm oluşturduğu gözlenmiştir.
6. VİP gelişen ve gelişmeyen hastalarda sağkalım ve mortalite sonuçları karşılaştırıldığında mortalitenin VİP gelişenlerde anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır.
7. İzole edilen her üç grup bakterinin kolistin dışında $MİK_{90}$ değerleri tüm antibiyotikler için direnç aralığında bulunmuştur.
8. Biyofilm oluşumu suşlarımızın hiçbirinde doğrudan bir direnç mekanizması olarak rol oynamamıştır.
9. Biyofilm formundaki suşlara antibiyotik kombinasyonlarının etkinliğini göstermek amacıyla yapılan sinerji testlerinde her üç suş için MBİK ve MBEK sonuçlarının aynı bakterinin serbest formuna ait MİK sonuçlarından en az 100 kat daha fazla olduğu saptandı. Bu sonuçlar biyofilm tabakasının MBEK değerlerinin artışıyla tedavi sorunu oluşturduğunu ortaya koymuştur.
10. Çalışmamız VİP gelişen hastalarımızda meropenem-kolistin kombinasyonunun *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarında meropenem-siprofloksasin kombinasyonunun da her üç bakterinin biyofilm formlarındaki suşlarında sinerjik etki oluşturduğunu göstermiştir.
11. Biyofilm gelişimi hastane infeksiyonlarına neden olan bakterilerin tedavisinde önemli bir sorundur. Bunun belirlenmesi ve antibiyotik kombinasyonlarının etkilerini test edecek ve rutinde kullanılabilecek pratik yöntemlere gereksinim vardır.

6. KAYNAKLAR

1. Gündogdu N, Dikensoy O. Ventilatör ilişkili pnömoni. *Toraks Cerrahisi Bülteni.* 2014; 5(3): 170-4.
2. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, *et al.* Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis.* 2016; 63(5): e61-111.
3. Francolini I, Donelli G. Prevention and control of biofilm-based medical-device-related infections. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2010; 59(3): 227-38.
4. American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 171(4): 388-416.
5. Biberoğlu K. Ventilatör ilişkili pnömoni. *Yoğun Bakım Dergisi.* 2001; 1(2): 98-105.
6. Melsen WG, Rovers MM, Groenwold RHH, *et al.* Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis of individual patient data from randomised prevention studies. *Lancet Infect Dis.* 2013; 13(8): 665-71.
7. Muscedere JG, Day A, Heyland DK. Mortality, attributable mortality, and clinical events as end points for clinical trials of ventilator-associated pneumonia and hospital-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis.* 2010; 51(Suppl. 1): S120-5.
8. Kollef MH, Hamilton CW, Ernst FR. Economic impact of ventilator-associated pneumonia in a large matched cohort. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2012; 33(3): 250-6.
9. Fowler RA, Flavin KE, Barr J, Weinacker AB, Parsonnet J, Gould MK. Variability in antibiotic prescribing patterns and outcomes in patients with clinically suspected ventilator-associated pneumonia. *Chest.* 2003; 123(3): 835-44.
10. Alp E, Guven M, Yildiz O, Aygen B, Voss A, Doganay M. Incidence, risk factors and mortality of nosocomial pneumonia in intensive care units: a prospective study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2004; 3: 17.
11. Rosenthal VD, Guzman S, Crnich C. Device-associated nosocomial infection rates in intensive care units of Argentina. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2004; 25(3): 251-5.
12. Dudeck MA, Edwards JR, Allen-Bridson K, *et al.* National Healthcare Safety Network report, data summary for 2013, Device-associated Module. *Am J Infect Control.* 2015; 43(3): 206-21.

13. Şencan İ, ed. *Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı Özet Raporu 2015.* Ankara: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 2016.

14. Bonten MJ, Kollef MH, Hall JB. Risk factors for ventilator-associated pneumonia: from epidemiology to patient management. *Clin Infect Dis.* 2004; 38(8): 1141-9.

15. Chastre J, Fagon JY. Ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 165(7): 867-903.

16. Rotstein C, Evans G, Born A, *et al.* Clinical practice guidelines for hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia in adults. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2008; 19(1): 19-53.

17. Rosenthal VD, Bijie H, Maki DG, *et al.* International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 36 countries, for 2004-2009. *Am J Infect Control.* 2012; 40(5): 396-407.

18. Andrews CP, Coalson JJ, Smith JD, Johanson WG, Jr. Diagnosis of nosocomial bacterial pneumonia in acute, diffuse lung injury. *Chest.* 1981; 80(3): 254-8.

19. Rubin SA, Winer-Muram HT, Ellis JV. Diagnostic imaging of pneumonia and its complications in the critically ill patient. *Clin Chest Med.* 1995; 16(1): 45-59.

20. Wunderink RG, Woldenberg LS, Zeiss J, Day CM, Ciemins J, Lacher DA. The radiologic diagnosis of autopsy-proven ventilator-associated pneumonia. *Chest.* 1992; 101(2): 458-63.

21. Sanchez-Nieto JM, Torres A, Garcia-Cordoba F, *et al.* Impact of invasive and noninvasive quantitative culture sampling on outcome of ventilator-associated pneumonia: a pilot study. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 157(2): 371-6.

22. Shorr AF, Sherner JH, Jackson WL, Kollef MH. Invasive approaches to the diagnosis of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis. *Crit Care Med.* 2005; 33(1): 46-53.

23. Canadian Critical Care Trials Group. A randomized trial of diagnostic techniques for ventilator-associated pneumonia. *N Engl J Med.* 2006; 355(25): 2619-30.

24. Rello J, Vidaur L, Sandiumenge A, *et al.* De-escalation therapy in ventilator-associated pneumonia. *Crit Care Med.* 2004; 32(11): 2183-90.

25. Kollef MH. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *N Engl J Med.* 2006; 355(25): 2691-3.

26. Ramirez P, Garcia MA, Ferrer M, *et al.* Sequential measurements of procalcitonin levels in diagnosing ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J.* 2008; 31(2): 356-62.

27. Luyt CE, Guerin V, Combes A, *et al.* Procalcitonin kinetics as a prognostic marker of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 171(1): 48-53.

28. Stolz D, Smyrnios N, Eggimann P, *et al.* Procalcitonin for reduced antibiotic exposure in ventilator-associated pneumonia: a randomised study. *Eur Respir J.* 2009; 34(6): 1364-75.

29. Seligman R, Meisner M, Lisboa TC, *et al.* Decreases in procalcitonin and C-reactive protein are strong predictors of survival in ventilator-associated pneumonia. *Crit Care.* 2006; 10(5): R125.

30. Linssen CF, Bekers O, Drent M, Jacobs JA. C-reactive protein and procalcitonin concentrations in bronchoalveolar lavage fluid as a predictor of ventilator-associated pneumonia. *Ann Clin Biochem.* 2008; 45(Pt. 3): 293-8.

31. Anand NJ, Zuick S, Klesney-Tait J, Kollef MH. Diagnostic implications of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in BAL fluid of patients with pulmonary infiltrates in the ICU. *Chest.* 2009; 135(3): 641-7

32. Fagon JY. Biological markers and diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Crit Care.* 2011; 15(2): 130.

33. Pugin J, Auckenthaler R, Mili N, Janssens JP, Lew PD, Suter PM. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriologic analysis of bronchoscopic and nonbronchoscopic "blind" bronchoalveolar lavage fluid. *Am Rev Respir Dis.* 1991; 143(5 Pt. 1): 1121-9.

34. Fartoukh M, Maitre B, Honore S, Cerf C, Zahar JR, Brun-Buisson C. Diagnosing pneumonia during mechanical ventilation: the clinical pulmonary infection score revisited. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 168(2): 173-9.

35. Singh N, Rogers P, Atwood CW, Wagener MM, Yu VL. Short-course empiric antibiotic therapy for patients with pulmonary infiltrates in the intensive care unit. A proposed solution for indiscriminate antibiotic prescription. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 162(2 Pt. 1): 505-11.

36. Klompas M. Complications of mechanical ventilation--the CDC's new surveillance paradigm. *N Engl J Med.* 2013; 368(16): 1472-5.

37. Magill SS, Klompas M, Balk R, *et al.* Developing a new, national approach to surveillance for ventilator-associated events*. *Crit Care Med.* 2013; 41(11): 2467-75.

38. Boyer AF, Schoenberg N, Babcock H, McMullen KM, Micek ST, Kollef MH. A prospective evaluation of ventilator-associated conditions and infection-related ventilator-associated conditions. *Chest.* 2015; 147(1): 68-81.

39. National Healthcare Safety Network (NHSN). Ventilator-Associated Event (VAE). Device-associated Module 10. January 2017 [İnternet]. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention [erişim 13 Eylül 2017]. https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/10-vae_final.pdf.

40. Ramasamy M, Lee J. Recent nanotechnology approaches for prevention and treatment of biofilm-associated infections on medical devices. *Biomed Res Int.* 2016; 2016: 1851242.

41. Sauer K, Rickard AH, Davies DG. Biofilms and biocomplexity. *Microbe.* 2007; 2(7): 347-53.

42. Potera C. Forging a link between biofilms and disease. *Science.* 1999; 283(5409): 1837, 9.

43. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis.* 2002; 8(9): 881-90.

44. Jones HC, Roth IL, Sanders WM, 3rd. Electron microscopic study of a slime layer. *J Bacteriol.* 1969; 99(1): 316-25.

45. Lynch AS, Robertson GT. Bacterial and fungal biofilm infections. *Annu Rev Med.* 2008; 59: 415-28.

46. Redfield RJ. Is quorum sensing a side effect of diffusion sensing? *Trends Microbiol.* 2002; 10(8): 365-7.

47. Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, Buret A. The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J Clin Microbiol.* 1999; 37(6): 1771-6.

48. Farber BF, Kaplan MH, Clogston AG. Staphylococcus epidermidis extracted slime inhibits the antimicrobial action of glycopeptide antibiotics. *J Infect Dis.* 1990; 161(1): 37-40.

49. Altun HU, Şener B. Biyofilm infeksiyonları ve antibiyotik direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi.* 2008; 39(2): 82-8.

50. Eng RH, Padberg FT, Smith SM, Tan EN, Cherubin CE. Bactericidal effects of antibiotics on slowly growing and nongrowing bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991; 35(9): 1824-8.

51. Inglis TJ, Millar MR, Jones JG, Robinson DA. Tracheal tube biofilm as a source of bacterial colonization of the lung. *J Clin Microbiol.* 1989; 27(9): 2014-8.

52. Bauer TT, Torres A, Ferrer R, Heyer CM, Schultze-Werninghaus G, Rasche K. Biofilm formation in endotracheal tubes. Association between pneumonia and the persistence of pathogens. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2002; 57(1): 84-7.

53. Cairns S, Thomas JG, Hooper SJ, *et al.* Molecular analysis of microbial communities in endotracheal tube biofilms. *PLoS One.* 2011; 6(3): e14759.

54. Adair CG, Gorman SP, Feron BM, *et al.* Implications of endotracheal tube biofilm for ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 1999; 25(10): 1072-6.

55. Vandecandelaere I, Matthijs N, Nelis HJ, Depuydt P, Coenye T. The presence of antibiotic-resistant nosocomial pathogens in endotracheal tube biofilms and corresponding surveillance cultures. *Pathog Dis.* 2013; 69(2): 142-8.

56. National Healthcare Safety Network (NHSN). Pneumonia (Ventilator-associated [VAP] and non-ventilator-associated Pneumonia [PNEU]) Event. Device-associated Module 6. January 2017 [İnternet]. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention [erişim 13 Eylül 2017]. www.cdc.gov/nhsn/PDFs/pscManual/6pscVAPcurrent.pdf.

57. Magiorakos AP, 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.

58. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters.Version 7.1, 2017 [İnternet]. Copenhagen, Denmark: EUCAST [erişim 18 Eylül 2017]. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/ PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_7.1_Breakpoint_Tables.pdf.

59. Durham-Colleran MW, Verhoeven AB, van Hoek ML. Francisella novicida forms in vitro biofilms mediated by an orphan response regulator. *Microb Ecol.* 2010; 59(3): 457-65.

60. Dosler S, Karaaslan E, Gerceker AA. Antibacterial and anti-biofilm activities of melittin and colistin, alone and in combination with antibiotics against Gram-negative bacteria. *J Chemother.* 2016; 28(2): 95-103

61. Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Savic B, Svabic-Vlahovic M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods.* 2000; 40(2): 175-9.

62. Leber AL, ed. *Clinical Microbiology Procedures Handbook.* Vol. 2. Fourth ed. Washington, DC: ASM Press, 2016: 5.1.12-23.

63. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents. Approved Guideline.* CLSI Document M26-A. Wayne, PA: CLSI, 1999.

64. Rosenthal VD, Maki DG, Mehta Y, *et al.* International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 43 countries for 2007-2012. Device-associated module. *Am J Infect Control.* 2014; 42(9): 942-56.

65. Leblebicioglu H, Erben N, Rosenthal VD, *et al.* International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) national report on device-associated infection rates in 19 cities of Turkey, data summary for 2003–2012. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2014; 13: 51.

66. Hortal J, Muñoz P, Cuerpo G, Litvan H, Rosseel PM, Bouza E. Ventilator-associated pneumonia in patients undergoing major heart surgery: an incidence study in Europe. *Crit Care.* 2009; 13(3): R80.

67. Safdar N, Dezfulian C, Collard HR, Saint S. Clinical and economic consequences of ventilator-associated pneumonia: a systematic review. *Crit Care Med.* 2005; 33(10): 2184-93.

68. Klompas M, Kleinman K, Murphy MV. Descriptive epidemiology and attributable morbidity of ventilator-associated events. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2014; 35(5): 502-10.

69. But A, Yetkin MA, Kanyilmaz D, *et al.* Analysis of epidemiology and risk factors for mortality in ventilator-associated pneumonia attacks in intensive care unit patients. *Turk J Med Sci.* 2017; 47(3): 812-6.

70. Liu Y, Di Y, Fu S. Risk factors for ventilator-associated pneumonia among patients undergoing major oncological surgery for head and neck cancer. *Front Med.* 2017; 11(2): 239-46.

71. Karatas M, Saylan S, Kostakoglu U, Yilmaz G. An assessment of ventilator-associated pneumonias and risk factors identified in the intensive care unit. *Pak J Med Sci.* 2016; 32(4): 817-22.

72. Junior CT, Franca SA, Okamoto VN, Salge JM, Carvalho CRR. Infection as an independent risk factor for mortality in the surgical intensive care unit. *Clinics (Sao Paulo).* 2013; 68(8): 1103-8.

73. Mao Z, Gao L, Wang G, *et al.* Subglottic secretion suction for preventing ventilator-associated pneumonia: an updated meta-analysis and trial sequential analysis. *Crit Care.* 2016; 20(1): 353.

74. Abdel-Gawad TA, El-Hodhod MA, Ibrahim HM, Michael YW. Gastroesophageal reflux in mechanically ventilated pediatric patients and its relation to ventilator-associated pneumonia. *Crit Care.* 2009; 13(5): R164.

75. Hauck C, Cober E, Richter SS, *et al.* Spectrum of excess mortality due to carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infections. *Clin Microbiol Infect.* 2016; 22(6): 513-9.

76. Dickstein Y, Edelman R, Dror T, Hussein K, Bar-Lavie Y, Paul M. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae colonization and infection in critically ill patients: a retrospective matched cohort comparison with non-carriers. *J Hosp Infect.* 2016; 94(1): 54-9.

77. Chen W, Li S, Zhang S, *et al.* [Multivariate analysis on the association between acquired multi-drug resistant organism infection and ventilator-associated pneumonia: evidence from a nested case-control study of eight ICUs]. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 2014; 35(11): 1278-80 (Çince).

78. Sbrana F, Malacarne P, Bassetti M, *et al.* Risk factors for ventilator associated pneumonia due to carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae in mechanically ventilated patients with tracheal and rectal colonization. *Minerva Anestesiol.* 2016; 82(6): 635-40.

79. Gutierrez-Gutierrez B, Salamanca E, de Cueto M, *et al.* A predictive model of mortality in patients with bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Mayo Clin Proc.* 2016; 91(10): 1362-71.

80. Ling ML, Tee YM, Tan SG, *et al.* Risk factors for acquisition of carbapenem resistant Enterobacteriaceae in an acute tertiary care hospital in Singapore. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2015; 4: 26.

81. Vincent J, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA.* 2009; 302(21): 2323-9.

82. Kölgelier S, Küçük A, Aktuğ Demir N, Özçimen S, Demir LS. Yoğun bakımlardaki hastane enfeksiyonları: etiyoloji ve predispozan faktörler. *Kafkas Tıp Bilimleri Dergisi.* 2012; 2(1): 1-5.

83. Rello J, Ausina V, Ricart M, Castella J, Prats G. Impact of previous antimicrobial therapy on the etiology and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest.* 1993; 104(4): 1230-5.

84. van Saene HK, Baines PB. The prevention of ventilator-associated pneumonia. *N Engl J Med.* 1999; 341(4): 293-4.

85. Lynch JP, 3rd. Hospital-acquired pneumonia: risk factors, microbiology, and treatment. *Chest.* 2001;119(2 Suppl):373s-84s.

86. Harris JR, Miller TH. Preventing nosocomial pneumonia: evidence-based practice. *Crit Care Nurse.* 2000; 20(1): 51-66.

87. Rello J, Mariscal D, March F, *et al.* Recurrent Pseudomonas aeruginosa pneumonia in ventilated patients: relapse or reinfection? *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 157(3 Pt. 1): 912-6.

88. Gil-Perotin S, Ramirez P, Marti V, *et al.* Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response: a state of concept. *Crit Care.* 2012; 16(3): R93.

89. Boisvert AA, Cheng MP, Sheppard DC, Nguyen D. Microbial biofilms in pulmonary and critical care diseases. *Ann Am Thorac Soc.* 2016; 13(9): 1615-23.

90. Tarquinio K, Confreda K, Shurko J, LaPlante K. Activities of tobramycin and polymyxin E against Pseudomonas aeruginosa biofilm-coated medical grade endotracheal tubes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58(3): 1723-9.

91. Ermertcan S, Hosgor M, Tunger O, Cosar G. Investigation of synergism of meropenem and ciprofloxacin against Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter strains isolated from intensive care unit infections. *Scand J Infect Dis.* 2001; 33(11): 818-21.

92. Asati S, Chaudhary U. Prevalence of biofilm producing aerobic bacterial isolates in burn wound infections at a tertiary care hospital in northern India. *Ann Burns Fire Disasters.* 2017; 30(1): 39-42.

93. Kanj SS, Sexton DJ. Epidemiology, microbiology, and pathogenesis of Pseudomonas aeruginosa infection [İnternet]. Waltham, MA: UpToDate, Inc. [erişim 13 Eylül 2017]. https://www.uptodate.com/contents/epidemiology-microbiology-and-pathogenesis-of-pseudomonas-aeruginosa-infection.

94. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999; 284(5418): 1318-22.

95. Ryan RW, Kwasnik I, Tilton RC. Methodological variation in antibiotic synergy tests against enterococci. *J Clin Microbiol.* 1981; 13(1): 73-5.

96. Laishram S, Anandan S, Devi BY, *et al.* Determination of synergy between sulbactam, meropenem and colistin in carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae and Acinetobacter baumannii isolates and correlation with the molecular mechanism of resistance. *J Chemother.* 2016; 28(4): 297-303.

97. Norden CW, Wentzel H, Keleti E. Comparison of techniques for measurement of in vitro antibiotic synergism. *J Infect Dis.* 1979; 140(4): 629-33.

98. Tamma PD, Cosgrove SE, Maragakis LL. Combination therapy for treatment of infections with gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Rev.* 2012; 25(3): 450-70.

99. Pankuch GA, Lin G, Seifert H, Appelbaum PC. Activity of meropenem with and without ciprofloxacin and colistin against Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008; 52(1): 333-6.

100. Campana S, Taccetti G, Farina S, Ravenni N, de Martino M. Antimicrobial susceptibility and synergistic activity of meropenem against Gram-negative non-fermentative bacteria isolated from cystic fibrosis patients. *J Chemother.* 2003; 15(6): 551-4.

101. Isenberg H, Alperstein P, France K. In vitro activity of ciprofloxacin, levofloxacin, and trovafloxacin, alone and in combination with β-lactams, against clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa, Stenotrophomonas maltophilia, and Burkholderia cepacia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1999; 33(2): 81-6.

102. González MJ, Robino L, Iribarnegaray V, Zunino P, Scavone P. Effect of different antibiotics on biofilm produced by uropathogenic Escherichia coli isolated from children with urinary tract infection. *Pathog Dis.* 2017; 75(4): ftx053.

103. Szczuka E, Jablonska L, Kaznowski A. Effect of subinhibitory concentrations of tigecycline and ciprofloxacin on the expression of biofilm-associated genes and biofilm structure of Staphylococcus epidermidis. *Microbiology.* 2017; 163(5): 712-8.

EKLER

EK 1: ETİK KURUL KARAR FORMU

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı : 108 **Tarih : 25.01.2016**

Konu : Prof. Dr. M. Oral ÖNCÜL

Sayın Prof. Dr. M. Oral ÖNCÜL
Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İlgi :Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalının 19/01/2016 gün ve 89125526 sayılı y

Sorumlu araştırıcılığını üstlendiğiniz ve Tıpta Uzmanlık Öğrencisi Dr. Betül SADIÇ' ın yürüteceği 2016/88 dosya numaralı "Ventilatör ilişkili pnömonilere (VİP) neden olan etkenlerde biyofilm oluşumu ve biyofilm tabakalarına etkili antibiyotiklerin araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 22/01/2016 tarih ve 02 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	**İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU**
	AÇIK ADRESİ:	**İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL**
	TELEFON	**0 (212) 414 21 53**
	FAKS	**0 (212) 414 21 53**
	E-POSTA	**itfetikkurul@istanbul.edu.tr.**

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	**"Ventilatör ilişkili pnömonilere (VİP) neden olan etkenlerde biyofilm oluşumu ve biyofilm tabakalarına etkili antibiyotiklerin araştırılması"**			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	**---**			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	**Prof. Dr. M. Oral ÖNCÜL**			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	**İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji**			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	**İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**			
	DESTEKLEYİCİ	**İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri**			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	**---**			
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐		
		Yüksek Doz Araştırması	☐		
		Diğer ise belirtiniz :			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ■	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ■	ULUSLAR ARASI ☐

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	**"Ventilatör ilişkili pnömonilere (VİP) neden olan etkenlerde biyofilm oluşumu ve biyofilm tabakalarına etkili antibiyotiklerin araştırılması"**

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	19.01.2016		Türkçe ■ İngilizce ☐ Diğer☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer☐
	OLGU RAPOR FORMU	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	**Belge Adı**	☐	**Açıklama**	
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐		
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	■		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
	DİĞER:	■	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgu Rapor Formu, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD	
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:02**	**Tarih: 22/01/2016**		
	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında görevli **Prof. Dr. M. Oral ÖNCÜL** 'ün sorumluluğunda ve Tıpta Uzmanlık Öğrencisi Dr. Betül SADIÇ' ın yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.			

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU	
ÇALIŞMA ESASI	**19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik**
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	**Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN**

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı	E ■	K ☐	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E ☐	K ■	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ■	K ☐	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ■	K ☐	E ☐	H ■	E ■	H ☐	
Dr. Sevda ÖZEL YILDIZ	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik	E ☐	K ■	E ☐	H ■	E ■	H ☐	

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığından izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik alt komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir.

EK 2: HASTA TAKİP FORMU

VİP'E NEDEN OLAN ETKENLERDE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN VE BİYOFİLM TABAKALARINA ETKİLİ ANTİBİYOTİKLERİN ARAŞTIRILMASI

ÇALIŞMA FORMU

Ad-soyad: **Yaş:**

KDKp	
VRE	
MRSA	

protokol:

Yatış tanısı		**Geldiği servis**	
MV tarihi		**SOFA skoru**	
Beslenme	□NG □TPN □PEG □Diğer	**APACHE-II skoru**	
Vazopresör kont.		**DVT profilaksi**	
Ülser profilaksisi		**VKİ**	□boy □kilo
Transplantasyon	□ yok □solid organ □ kemik iliği	**Travma**	□var □ yok
İnhalasyon tedavisi	□ evet □ hayır	**Kortikosteroid**	□var □ yok
İmmünosüpresif ilaç kullanımı?	□var □ yok	**Dekübitus ülseri**	□var □ yok

+1	**+2**	**+3**	**+6**
□Koroner arter hastalığı □Konjestif kalp yetmezliği □Kronik pulmoner hastalık □Peptik ülser hastalığı □Periferik damar hastalığı □Serebrovasküler hastalık □Diabetes mellitus □Karaciğer hastalığı (hafif derecede) □Bağ doku hastalığı □Nörolojik hastalıklar	□Diabetes mellitus (uç organ hasarının eşlik ettiği) □Renal hastalık (orta veya ağır derecede) □Hemipleji □Nonmetastatik solid tümör □Lösemi □Lenfoma □Multipl myelom	□Karaciğer hastalığı (orta veya ağır derecede)	□Metastatik solid tm □AIDS
		YAŞ	
		<50 : 0 50-59 : +1 60-69 : +2 70-79 : +3	
		Charlson komorbidite indeksi	

Bağımlılık yapıcı madde kullanımı var mı?
□ sigara □alkol □ıv drug

Ventilasyon indikasyonu:
□ acil □trakeostomi □reintübasyon □elektif

Son altı ayda hastane yatışı var mı? □var □ yok
Son altı ayda antibiyotik kullanımı var mı?
□ Beta-laktam/betalaktamaz inhibitörü □ Sefalosporin □ Karbapenem
□ Florokinolon □ Aminoglikozid □ Florokiniolon □ Tigesiklin □ Glikopeptid
□ Kolistin □ Diğer ……

Cerrahi geçirmiş mi?□ evet □ hayır
Cerrahi işlem yapılan bölge:
□kraniyal bölge □baş-boyun □ toraks □ karın
□ ürolojik girişimler □retroperitoneal bölge □pelvik bölge □ekstremiteler

Yabancı cisimler:
□ Sağ CVP □Sol CVP □ sağ femoral □sol femoral
□sağ radiyal □sol radial □ VP şant
□dren kateter bölgesi ve adedi: Karın içi:…….
Toraks: ……
Retroperitoneum: ……..
Diğer: ……..

Son bir ayda kan ürünü kullanımı var mı?
□Eritrosit süspansiyonu □TDP □Lökosit □ Random Trombosit
□Aferez trombosit □Tam kan □Albumin

<u>PROGNOZ</u>

□Sağkalım

□Ölüm: □7 gün □15 gün □30 gün

Bu sayfa VİP geliştiyse doldurulacak

VİP etkeni mikroorganizma(lar): **Etken üreme tarihi:**
……
……
……

Mikroorganizmanın direnç paterni:
□ MDR □ XDR □ PDR □ Diğer

Etken nerede üredi:
□ ETA □ BAL □ Plevral sıvısı

Koloni sayısı ……
Etken biyofilm oluşturuyor mu?.....

KPİS:…….

	0	**1**	**2**
Vücut sıcaklığı (ºC)	≥36.1, 38.4≤	≥38.5, 38.9≤	≥39, ≤36
Lökosit sayısı (πl)	≥ 4000, ≤1100	<4000, >1100	
Sekresyon	yok	pürülan değil	pürülan
PaO_2/FiO_2	>240 ya da ARDS	<240 ya da ARDS değil	
Akciğer grafisi	(infiltrasyon yok)	difüz-yamalı	(lokalize)
Mikrobiyoloji	üreme yok ya da hafif üreme var	orta ya da fazla üreme var	**Gram boyaması anlamlıysa +1 puan daha eklenir**

TEDAVİ

Tedavide hangi antibiyotik(ler), kaç gün kullanıldı?

……..
……..
……..
……..
……..
……..

WBC:		**LDH**	
HGB:		**GGT:**	
NEU:		**ALBUMİN:**	
PLT:		**URE:**	
AST		**KRE:**	
ALT:		**PROKALSİTONİN:**	
ALP:		**CRP:**	

APACHE-II skoru	
SOFA skoru	

Eşlik eden infeksiyon ve etkenleri

.....
.....
.....

ÖZGEÇMİŞ

Dr. Betül Sadıç

Doğum Tarihi ve Yeri: 08.02.1984 ve İzmit-Kocaeli

İlk ve Ortaokul: Derince Cumhuriyet İlköğretim Okulu (1990-1998)

Lise: Kocaeli Anadolu Lisesi (1998-2002)

Üniversite: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi (2003-2009)

Yabancı Dil: İngilizce

E-posta adresi: betul_sadic@hotmail.com

Mesleki Deneyim:

Eylül 2009-Aralık 2010 arasında İzmit Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi'nde pratisyen hekim, Ocak-Nisan 2011 arasında Kefken Aile Sağlığı Merkezi'nde ve Mayıs 2011-Eylül 2012 arasında Körfez Sevindikli Aile Sağlığı Merkezi'nde Aile Hekimi olarak çalıştım.

Ekim 2012'de İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda tıpta uzmanlık öğrencisi olarak göreve başladım ve halen bu görevimi sürdürmekteyim.

Yayınlar:

1) **Sadıç B,** Özmen C, Taşçıoğlu D, Başaran S, Çağatay A, Eraksoy H. Stafilokok bakteriyemilerindeki risk faktörleri ve mortalitenin gözden geçirilmesi [Özet]. *In:* Akalın H, ed. *XVI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi* (13-17 Mart 2013, Antalya) *Kitabı.* İstanbul: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2013: 271-2.

2) Başaran S, **Sadıç B,** Şimşek-Yavuz S, Çağatay A, Özsüt H, Eraksoy H. Hastanede yatan hastaların alt solunum yolu örneklerinde Stenotrophomonas maltophilia [Özet]. *In:* Ergönül Ö, Timurkaynak F, eds. *III. Ulusal Sağlık Bakımıyla İlişkili İnfeksiyonlar Simpozyumu* (7-9 Mart 2014, İstanbul) *Kitabı.* İstanbul: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2014:165.

3) **Sadıç B,** Başaran S, Kuşkucu M, Şimşek-Yavuz S, Midilli K, Çağatay A, Özsüt H, Eraksoy H. Skuamöz hücreli akciğer kanseri olan hastada Rothia mucilaginosa'nın etken olduğu erken başlangıçlı bir nozokomiyal pnömoni olgusu

a) [Özet]. *In:* Ergönül Ö, Timurkaynak F, eds. *III. Ulusal Sağlık Bakımıyla İlişkili İnfeksiyonlar Simpozyumu* (7-9 Mart 2014, İstanbul) *Kitabı.* İstanbul: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2014:212.

b) *Klimik Derg.*2014; 27(3): 121-3.

4) **Sadıç B,** Başaran S, Şimşek-Yavuz S, Çağatay A, Özsüt H, Eraksoy H. Stenotrophomonas maltophilia'ya karşı seftazidim-moksifloksasin kombinasyonun in vitro etkinliğinin araştırılması [Özet]. *In:* Ergönül Ö, Timurkaynak F, eds. *III. Ulusal Sağlık Bakımıyla İlişkili İnfeksiyonlar Simpozyumu* (7-9 Mart 2014, İstanbul) *Kitabı.* İstanbul: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2014:213-4.

5) Başaran S, Şimşek-Yavuz S, **Sadıç B**, Özmen C, Çağatay A, Özsüt H, Eraksoy H. Diyabetik ayak infeksiyonlarında Gram-pozitif çoğul dirençli yeni bir patojen: Corynebacterium spp. [Özet]. *In:* Saltoğlu N ed. *III. Ulusal Diyabetik Ayak İnfeksiyonları Simpozyumu* (8-10 Mayıs 2014, İstanbul) *Kitabı.* İstanbul: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2014:198.

6) **Sadıç B**, Başaran S, Çalışkan Y, Şimşek-Yavuz S, Çağatay A, Özsüt H, Eraksoy H. Renal transplantasyon sonrası asiklovir ve valgansiklovir profilaksilerinin karşılaştırılması [Özet]. *In:* Timurkaynak F, Şimşek-Yavuz S, eds. *XVII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi* (25-29 Mart 2015, Antalya) *Kitabı.* İstanbul: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2015: 371.

7) Başaran S, **Sadıç B**, Yir A, Şimşek-Yavuz S, Çağatay A, Özsüt H, Eraksoy H. Toplum kökenli ve sağlık bakımıyla ilişkili metisiline duyarlı Staphylococcus aureus bakteriyemilerinde mortalite açısından risk faktörleri [Özet]. *In:* Timurkaynak F, Şimşek-Yavuz S, eds. *XVII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi* (25-29 Mart 2015, Antalya) *Kitabı.* İstanbul: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2015: 271.

8) **Sadıç B**, Başaran S, Şimşek-Yavuz S, Çağatay A, Öncül O, Özsüt H, Eraksoy H. Yoğun bakım ünitesindeki hastaların endotrakeal aspiratlarından üretilen bakteriler: Son beş yıllık veriler [Özet]. *In:* Tekin S, ed. *Klimik 2016 30. Yıl Kurultayı* (9-12 Mart 2016, Antalya) *Özet Kitabı.* İstanbul: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2016: 371-2

9) **Sadıç B**, Başaran S, Şimşek-Yavuz S, Çağatay A, Öncül O, Özsüt H, Eraksoy H. Kolistine dirençli Klebsiella pneumoniae ile infekte hastaların yönetimi [Özet]. *In:* Büke AÇ, ed. *XVIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi* (22-16 Mart 2017, Antalya) *Kitabı.* İstanbul: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2017: 192-3