EMEL MATARACI KARA

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2016

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .

↓

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ; Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERİN KLEBSIELLA PNEUMONIAE BİYOFİLMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İN-VİTRO KATETER MODELDE ARAŞTIRILMASI

EMEL MATARACI KARA

DANIŞMAN
DOÇ. DR. BERNA ÖZBEK ÇELİK

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2016

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Programında Emel MATARACI KARA tarafından hazırlanan Çeşitli Antibiyotiklerin Klebsiella Pineumoniae BiyofilmiÜzerine Etkilerinin İn Vitro Katater Modelde Araştırılması başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

15 / 04 / 2016

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) İmzası

1.Doç.Dr.Berna ÖZBEK ÇELİK (İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı)

2. Prof.Dr.Ümran SOYOĞUL GÜRER (Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı)

3.Doç.Dr.Mesut YILMAZ (İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı)

4.Doç.Dr.Zuhal ZEYBEK İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı)

5.Doç.Dr.A.Seher BİRTEKSÖZ TAN (İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı)

BEYAN

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

EMEL MATARACI KARA



İTHAF

Anneme / Oğluma / Eşime ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim esnasında her konuda yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, danışmanım olarak tezimi hazırlamamda büyük titizlik gösteren ve sürekli yanımda olarak, içtenlikle bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, bilim sevgisini aşılayan, canım hocam Doç.Dr.Berna ÖZBEK ÇELİK'e, doktora eğitimim boyunca ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız, değerli hocam Prof.Dr.Gülten ÖTÜK'e, tez çalışmamın her safhasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, yakınlık ve anlayış gösteren Anabilim Dalı'mızdaki değerli hocalarım Doç.Dr.Seher BİRTEKSÖZ TAN, Doç.Dr.Sibel DÖŞLER ve Doç.Dr.Çağla BOZKURT GÜZEL ile Kimyager Emine TUNCER'e sonsuz teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimimden itibaren bana yol gösteren, bilim sevgisi aşılayan, hayatın her alanında ilgi ve desteğini gördüğüm, değerli hocam Prof.Dr.A.Alev GERÇEKER'e çok teşekkür ederim. Tezim için gerekli suşları temin etmeme yardımcı olan Doç.Dr.Mesut YILMAZ'a değerli katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca destek ve sevgi ile yanımda olan canım anneme ve babama benim için yaptıkları her türlü fedakarlık için çok teşekkür ederim.

Sevgili kardeşlerim Esra ve Derya'ya, oğlum Halil Efe'ye ve eşim Fırat'a hayatıma kattıkları zenginlik için teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 31167

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... İX
ŞEKİLLER LİSTESİ X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... Xİİ
ÖZET ..... XİV
ABSTRACT XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. *K. pneumoniae*'nin Genel Özellikleri 4
2.2. *K. pneumoniae*'nin Biyofilm Oluşturma Özelliği 6
2.2.1. Geriye Dönüşümlü Bağlanma 6
2.2.1.1. *K. pneumoniae* Tip 1 Ve 3 Pili Hareketi 7
2.2.2. Geriye Dönüşümsüz Bağlanma 8
2.2.3. Olgunlaşma-1 9
2.2.4. Olgunlaşma-2 11
2.2.5. Dağılma 12
2.3. Kateter Enfeksiyonları Ve Biyofilm İlişkisi 13
2.3.1. Antimikrobiyal Kilit Tedavisi (AKT) 16
2.4. Çalışmada Kullanılan Antibiyotikler İle Esomeprazol Hakkında Genel Bilgiler 18
2.4.1. Tigesiklin 18
2.4.1.1. Yapı-Aktivite İlişkisi 18
2.4.1.2. Etki Mekanizması 19
2.4.1.3. Direnç Mekanizması 19
2.4.1.4. Etki Spektrumu 20
2.4.2. Kolistin Sülfat 22
2.4.2.1 Yapı-Aktivite İlişkisi 22

2.4.2.2. Etki Mekanizması....23
2.4.2.3. Direnç Mekanizması....23
2.4.2.4. Etki Spektrumu....23
2.4.3. Siprofloksasin....24
2.4.3.1. Yapı-Aktivite İlişkisi....24
2.4.3.2. Etki Mekanizması....25
2.4.3.3. Direnç Mekanizması....26
2.4.3.4. Etki Spektrumu....29
2.4.4. Tobramisin....29
2.4.4.1. Yapı-Aktivite İlişkisi....29
2.4.4.2. Etki Mekanizması....30
2.4.4.3. Direnç Mekanizması....31
2.4.4.4. Etki Spektrumu....32
2.4.5. Doripenem....33
2.4.5.1. Yapı-Aktivite İlişkisi....33
2.4.5.2. Etki Mekanizması....34
2.4.5.3. Direnç Mekanizması....34
2.4.5.4. Etki Spektrumu....35
2.4.6. Klaritromisin....36
2.4.6.1.Yapı-Aktivite İlişkisi....36
2.4.6.2. Etki Mekanizması....37
2.4.6.3. Direnç Mekanizması....37
2.4.6.4. Etki Spektrumu....38
2.4.7. Proton Pompası İnhibitörü; Esomeprazol....38
3. GEREÇ VE YÖNTEM....41
3.1. Bakteri Suşları....41
3.2. Kullanılan Antibiyotikler İle Esomeprazolün Ve Çözeltilerinin Hazırlanması....41
3.3. Besiyerleri Ve Çözeltiler....42
3.3.1. Triptik Soya Agar....42
3.3.2. Triptik Soya Buyyonu....42
3.3.3. Mueller Hinton Buyyonu....43
3.4. Deneylerde Kullanılan İnokulumların Hazırlanması....43
3.4.1. Mueller Hinton Buyyonunda $1x10^6$ kob/ml'lik İnokulum....43

3.4.2. Triptik Soya Buyyonunda $5x10^5$ kob/ml'lik İnokulum 43
3.4.3. İnokulumdaki Bakteri Sayısının Saptanması 44
3.5. Deneylerde Kullanılan Suşların Biyofilm Oluşumu Yönünden İncelenmesi 44
3.5.1. İn-vitro Kateter Modelde Bakteri Biyofilminin Hazırlanması.....45
3.5.2. Biyofilmdeki Bakteri Sayısının Saptanması 45
3.6. Diğer Malzemeler 45
3.7. MİK Saptanması 46
3.7.1. Deney Koşullarının Standardizasyonu.....46
3.7.2. Çalışmada Kullanılan Antibiyotiklere Ait MİK Değerlerinin Saptanması.....46
3.8. İn-vitro Kateter Modelde Antimikrobiyal Kilit Çalışmalarının Yapılması 47
3.9. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Verileri Doğrultusunda Antibiyotiklerin 24 Saatin Sonunda Göstermiş Oldukları Etkilerin Değerlendirilmesi.....48
3.10. İn-vitro Kateter Model Üzerinde Antimikrobiyal Kilit Çözeltilerinin Etkinliğinin Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope-SEM) ile Görüntülenmesi.....50
3.11. İstatistiksel Analiz.....50
4. BULGULAR.....51
4.1. MİK Saptanmasına Ait Bulgular 51
4.1.1. Standart Suşa Ait Bulgular.....51
4.1.2. Klinik Örneklerden İzole Edilmiş Ve Standart *K. pneumoniae* Suşlarına Ait Bulgular.....52
4.2. İn vitro Kateter Modelde Antimikrobiyal Kilit Çalışmalarına Ait Bulgular 53
4.2.1. Standart Suşa Ait Bulgular.....53
4.2.2. Klinik Örneklerden İzole Edilmiş *K. pneumoniae* Suşlarına Ait Bulgular.....55
4.3. İn-vitro Kateter Model Üzerinde Antimikrobiyal Kilit Çözeltilerinin Etkinliğinin SEM ile Görüntülenmesine Ait Bulgular.....61
4.4. İstatistiksel Analize Ait Bulgular.....63
5. TARTIŞMA 64
KAYNAKLAR 75
ETİK KURUL KARARI 91
ÖZGEÇMİŞ 94

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 4-1: Antibiyotikler ile esomeprazolün *E. coli* ATCC 25922 suşuna karşı saptanan MİK değerleri (µg/ml) 51
Tablo 4-2: Antibiyotikler ile esomeprazolün *K. pneumoniae* suşlarına karşı saptanan MİK değerleri (µg/ml) 53

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Biyofilm oluşum aşamaları.. 12
Şekil 2-2: Santral venöz kateterler 16
Şekil 2-3: Minosiklinin kimyasal yapısı 18
Şekil 2-4: Tigesiklinin kimyasal yapısı 19
Şekil 2-5: Kolistinin kimyasal yapısı 22
Şekil 2-6: Siprofloksasinin kimyasal yapısı 25
Şekil 2-7: Tobramisinin kimyasal yapısı 30
Şekil 2-8: Doripenemin kimyasal yapısı 33
Şekil 2-9: Klaritromisinin kimyasal yapısı 37
Şekil 2-10: a) Omeprazolün kimyasal yapısı b) Esomeprazolün kimyasal yapısı 40
Şekil 3-1: Antibiyotik kombinasyonlarının değerlendirilmesini gösteren eğriler 49
Şekil 3-2: Antibiyotiklerin bakterisidal etkisini gösteren eğriler 49
Şekil 4-1: Antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin ile kombinasyon halinde KP-5 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri 54
Şekil 4-2: Antibiyotiklerin tek başlarına ve esomeprazol ile kombinasyon halinde KP-5 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri 54
Şekil 4-3: Antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin ile kombinasyon halinde KP-1 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri 56
Şekil 4-4: Antibiyotiklerin tek başlarına ve esomeprazol ile kombinasyon halinde KP-1 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri 56
Şekil 4-5: Antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin ile kombinasyon halinde KP-2 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri 57
Şekil 4-6: Antibiyotiklerin tek başlarına ve esomeprazol ile kombinasyon halinde KP-2 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri 57
Şekil 4-7: Antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin ile kombinasyon halinde KP-3 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri 58
Şekil 4-8: Antibiyotiklerin tek başlarına ve esomeprazol ile kombinasyon halinde KP-3 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri 58
Şekil 4-9: Antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin ile kombinasyon halinde KP-4 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri 59

Şekil 4-10: Antibiyotiklerin tek başlarına ve esomeprazol ile kombinasyon halinde KP-4 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri 59
Şekil 4-11: Çalışmada kullanılan antibiyotiklerin tek başlarına ve kombinasyon halinde beş *K. pneumoniae* biyofilmi üzerine 24 saatlik ortalama etkinlikleri 60
Şekil 4-12: Tobramisin, tigesiklin ve kolistinin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halindeki kateter biyofilmi üzerine etkilerini gösteren SEM görüntüleri.. 62

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz

LPS: lipopolisakkarit

IDSA: Infectious Diseases Society of America

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

AKT: Antimikrobiyal Kilit Tedavisi

PPİ: Proton Pompa İnhibitörü

UAMDSS: Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi

EARS-Net: Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı

DNA: Deoksiribonükleik asit

RNA: Ribonükleik asit

QS: Quorum sensing

SVK: Santral venöz kateter

KNS: Koagülaz negatif Stafilokok

MRSA: Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*

VRE: Vankomisin dirençli Enterokok

FDA: Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi

MSSA: Metisilin duyarlı *Staphylococcus aureus*

TEST: Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial

PRSP: Penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae*

RND: Resistance-Nodulation Division

MFS: Major Family Superfamily

qnr: Quinolon resistance

EDP: Energy dependent phase

APH: fosfotransferazlar

ANT: nükleotidil transferazlar

PBP: Penislin bağlayan protein

C_{max}: Maksimum plazma konsantrasyonu

AUC: Konsantrasyon-zaman eğrisinin altında kalan alan

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

SEM: Taramalı elektron mikroskobu

YBÜ: Yoğun bakım üniteleri

NNIS: National Nosocomial Infection Surveillance

ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control

ÖZET

Mataracı Kara E. Çeşitli antibiyotiklerin Klebsiella pneumoniae biyofilmi üzerine etkilerinin in-vitro kateter modelde araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Mikrobiyoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2016.

Gram negatif, genellikle kapsüllü, hareketsiz, sporsuz, çomak şeklinde bir bakteri olan Klebsiella pneumoniae günümüzde toplum ve hastane kökenli enfeksiyonların önemli etkenlerinden biridir. Bu bakteri kateter yüzeyinde bir mikrobiyal biyofilm oluşturarak kateter ilişkili enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Kateter ilişkili enfeksiyonların tedavisinde en etkili tedavi yöntemi enfekte kateteri çıkarmak ve sistemik antibiyotik tedavisine başlamak olsa da bu işlem hastanın sağlık durumu ile ilgili nedenlerle her zaman yapılamamaktadır. Enfekte kateterin çıkartılamadığı hastalarda sistemik antimikrobiyal tedavi ile birlikte yardımcı bir tedavi seçeneği olarak antibiyotik kilit tedavisi kullanılması Infectious Diseases Society of America ve Centers for Disease Control and Prevention gibi sağlık kuruluşları tarafından önerilmektedir. Çalışmamızın amacı, biyofilme gömülü K. pneumoniae suşuna karşı kolistin, siprofloksasin, tobramisin, doripenem ve tigesiklinin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile olan kombinasyonlarının kilit solüsyonu olarak 24 saatlik in-vitro etkisinin araştırılmasıdır. Antibiyotik kilit solüsyonlarının etkinlikleri bir in-vitro kateter modelde, kateter ucundan izole edilmiş K. pneumoniae suşlarına karşı araştırılmıştır. Çalışmamızda, doripenem ve tobramisinin kilit solüsyonu olarak kullanılmaları sonucu güçlü bakterisidal etkiye sahip oldukları gözlemlenmiştir. Kolistin, klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde kullanıldığında iki suş ile sinerjist etki elde edilirken; tobramisin, doripenem, tigesiklin ve siprofloksasin, klaritromisin ve esomeprazol ile kombinasyon halinde kullanıldıklarında ise tüm suşlara karşı aditif etki görülmüştür. Antagonist etki saptanmamıştır. Sonuç olarak, bulgularımız, K. pneumoniae'nin etken olduğu kateter enfeksiyonlarında antibiyotik kilit çözeltileri olarak denen antibiyotiklerin ve kombinasyonlarının in-vitro etkinliği konusunda önemli bilgiler içermektedir.

Anahtar Kelimeler: Santral venöz kateter; Klebsiella pneumoniae; Biyofilm; Antimikrobiyal Kilit Tedavisi; Kombinasyon.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 31167

ABSTRACT

Mataracı Kara E. Investigation of the effects of various antibiotics against Klebsiella pneumoniae biofilms on in-vitro catheter model. İstanbul University, Institute of Health Science, Pharmaceutical Microbiology Department. PhD Thesis. İstanbul. 2016.

Klebsiella pneumoniae which is a gram negative, generally capsulated, non-moving, non-sporing bacteria, continous to be an important cause of community-acquired and nosocomial infection. This bacteria can cause catheter related infections by forming biofilm on the surface of catheter. The most effective treatment method of catheter related infection is to remove infectious catheter and start antibiotic treatment but this process can't be practiced in all cases due to the patients' health conditions. Infectious Diseases Society of America and Centers for Disease Control and Prevention suggest that systemic antibiotic therapy and antibiotic lock therapy, as an adjuvant therapy, for patients whose infectious catheter can't be removed. The aims of our study is, to determine the in-vitro stability and efficacy of colistin, ciprofloxacin, tobramycin, doripenem and tigecycline alone or in combination with clarithromycin or esomeprazole as 24 hour lock solutions against biofilm-embedded K. pneumoniae strains. The efficacy of antibiotic lock solutions was tested in an in-vitro catheter biofilm model against K. pneumoniae isolated from catheter tip. In our study, we observed that the use of doripenem and tobramycin as a lock solution had potent bactericidal effects. When colistin was used in combination with clarithromycin or esomeprazole, the combinations had a synergistic effect on two strains, tobramycin, doripenem, tigecycline and ciprofloxacin were used in combination with clarithromycin or esomeprazole, the combinations had an additive effect on all strains. No antagonistic effect was observed. Consequently, the findings of our study have important informations for effectiveness of tested antibiotic lock solution with these antibiotics alone or in combination in the catheter related infections with K. pneumoniae.

Key Words: Central venous catheter; Klebsiella pneumoniae; Biofilm; Antimicrobial lock theraphy; Combination.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 31167

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Klebsiella pneumoniae, Gram negatif, genellikle kapsüllü, hareketsiz, sporsuz, çomak şeklinde bir bakteridir. Doğada özellikle su ve toprakta bol miktarda bulunmakla birlikte, sağlıklı insanlarda gastrointestinal sistem, gözler, solunum sistemi ve ürogenital sistem florasında yerleşim göstermektedir (184). Tüm vücut bölgelerinde enfeksiyona neden olmakla birlikte, özellikle pnömoni, bakteriyemi gibi ciddi enfeksiyona da neden olabilmektedir (9, 131). Günümüzde toplum kökenli ve hastane enfeksiyonların önemli bir etkeni olan *K. pneumoniae,* 1993-2004 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde Gram negatif bakterilerin etken olduğu yoğun bakım enfeksiyonlarını kapsayan bir araştırmaya göre bu enfeksiyonların % 15'inden sorumlu olduğu ortaya koyulmuştur (90). İsrail'de intravasküler kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları üzerine yapılan epidemiyolojik bir çalışmada ise *K. pneumoniae, Staphylococcus aureus*'tan sonra bu enfeksiyonlardan sorumlu en yaygın ikinci etken olarak tespit edilmiştir (152). Roma merkezli hastane enfeksiyonu etkenlerinin araştırıldığı bir diğer çalışmada ise *K. pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa*'dan sonra en sık rastlanılan ikinci önemli Gram negatif bakteri olarak rapor edilmiştir (111). Diğer yandan yapılan çalışmalarda hastanelerde *Klebsiella* kolonizasyonunun da yüksek oranda görülmekte olduğu ve bunun en önemli sebebinin hastane ortamında artmış antibiyotik kullanımı olduğu ortaya koyulmuştur. Ayrıca, hastanede kalma süresinin uzamasına bağlı olarak da kolonizasyon oranı artmaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalarda hastanede iki hafta yatıştan sonra *Klebsiella* kolonizasyon oranlarında 2-4 kat artış olduğu saptanmıştır (59, 131, 176, 184). 2013 yılında ABD'de yapılan bir çalışmada *K. pneumoniae*'nin etken olduğu hastane enfeksiyonlarına uzun süreli yoğun bakım tedavisi uygulanan hastalarda daha sık rastlanıldığı rapor edilmiştir (176). Bu enfeksiyonun yayılmasında ise özellikle mekanik solunum aletleri gibi tıbbi cihazların kontaminasyonu, kan ürünleri, hastaların gastrointestinal sistemleri ile hastane personelinin ellerinin rol oynadığı görülmüştür (9, 176).

Son yıllarda *K. pneumoniae* suşlarında artan direnç oranları endişe verici rakamlara ulaşmıştır. *K. pneumoniae'*de antibiyotik direncinden sorumlu olan genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) enzimlerinin varlığının yanı sıra karbapenemaz etkinliği olan enzimlerin aktivitesindeki artış, tedavi seçeneklerini

önemli oranda azaltmaktadır (9). Karbapenem dirençli *K. pneumoniae*'lerin etken olduğu enfeksiyonlarda kullanılacak antibiyotik tedavi seçeneklerinin sınırlı olması nedeniyle bu enfeksiyonlarda yüksek mortalite oranları dikkat çekmektedir (62). Bununla birlikte karbapenemaz aktivitesi pozitif olan suşların dünya çapında hızlı yayılımı, ölümcül bir "pandemi korkusunu" da beraberinde getirmektedir (9, 131). Diğer yandan, kazanılan yeni direnç mekanizmaları nedeniyle ortaya çıkan "çoklu ilaç direnci" gelişen enfeksiyonların tedavisi konusunda endişeleri daha da arttırmaktadır (131). Günümüzde özellikle beta laktam grubu antibiyotiklere, karbapenemlere ve kinolon grubu antibiyotiklere dirençli *K. pneumoniae* suşlarına ülkemiz kliniklerinde de sıklıkla rastlanmaktadır (131).

Bu bakteri ile yaşanan tıbbi zorlukların bir nedeni de *K. pneumoniae*'nin sahip olduğu polisakkarit kapsül, lipopolisakkarit (LPS) ve tip 1 ve 3 fimbriyaları gibi virülans faktörleri yardımıyla oluşturduğu biyofilm oluşturma yeteneğidir (176). Modern tıp her geçen gün biraz daha fazla olarak biyofilmler ve biyofilm enfeksiyonları ile karşı karşıya kalmaktadır. Tıbbi uygulamalarda kalıcı tıbbi araçların kullanımının artışı biyofilm enfeksiyonlarındaki artışı da beraberinde getirmektedir. İlk dönemde genellikle asemptomatik olan biyofilm enfeksiyonları, konakçı direnci düştüğünde biyofilmden periyodik olarak kopup ayrılan planktonik mikroorganizmalar nedeniyle akut enfeksiyona yol açabilir. Antibiyotiğin kullanım dozları bu mikroorganizmaları kontrol ettiği halde biyofilmi etkilemez. Kateter gibi tıbbi cihazlar üzerinde gelişen biyofilmler sürekli bir enfeksiyon odağı oluşturarak enfeksiyonun kan yoluyla yayılımı açısından da bir risk kaynağı sayılmaktadırlar. Santral venöz kateter (SVK) gibi cerrahi girişimlerle yerleştirilmeyen tıbbi cihazların kolonizasyonu sıklıkla cihazın girdiği yerdeki cilt dokusundan kaynaklanmaktadır. Bu tür cihazların kolonizasyonu ayrıca hastane kaynaklı da olabilmektedir (50, 169).

Geleneksel antibiyotik duyarlılık testleri sonuçlarına bağlı olarak yapılan kateter ilişkili bakteriyemi gibi enfeksiyonların tedavilerinde başarısızlık görülmekte ve bu enfeksiyonların tedavisi son derece karışık ve zor olmaktadır. Bu durum biyofilme gömülmüş bakterilerin planktonik şekillerine kıyasla antimikrobiyal ajanlara 100 kattan fazla direnç göstermesiyle açıklanabilir. Kateter yüzeyinde biyofilm geliştiğinde en etkili yöntemin enfekte kateteri çıkarmak ya da değiştirmek olduğu bilinmektedir. Ancak, hastada koagulopati, trombositopeni, nötropeni, sürekli parenteral ilaç kullanımı, total parenteral beslenme zorunluluğu, damar girişinin

sınırlı olması gibi durumların varlığında, bu uygulma hayatı tehdit edici ciddi sakıncalar içerebilir. Enfekte kateterin çıkarılmasının sakıncalı olduğu hasta grubunda Infectious Diseases Society of America (IDSA) ve Centers for Disease Control and Prevention (CDC) gibi sağlık kurumları kateter ilişkili enfeksiyonların tedavisinde sistemik tedaviye ek etkili bir yardımcı tedavi seçeneği olarak antimikrobiyal kilit tedavisi (AKT)'ni önermektedirler. Kateter enfeksiyonlarından korunmada profilaksi amacıyla da kullanımı önerilen AKT ile kateter lümeni içerisine yüksek konsantrasyonda antimikrobiyal maddenin doldurulması ve saatlerce ya da günlerce tutulmasıyla biyofilme gömülü mikroorganizmaların öldürülmesi amaçlanır. Kateter ilişkili bakteriyel enfeksiyonlara başlıca *S. aureus* gibi Gram pozitif bakteriler neden olduğundan AKT araştırmalarının çoğu bu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlara odaklanmıştır. Ancak *K. pneumoniae* gibi Gram negatif bakterilerin de kateter ilişkili enfeksiyonlara neden olduğu göz ardı edilmemelidir (5, 88, 98, 136).

Bu amaçla çalışmamızda, oluşturulan in-vitro kateter biyofilm modeli üzerinde SVK enfeksiyonundan izole edilen 4 adet *K. pneumoniae* suşu ile biyofilm oluşturduğu bilinen standart *K. pneumoniae* suşuna karşı antimikrobiyal kilit çözeltisi olarak kolistin, tigesiklin, doripenem, siprofloksasin ve tobramisinin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyonlarının etkinliği incelenmiştir. Çalışmamıza klaritromisin, biyofilm parçalayıcı özelliği nedeniyle ilave edilmiştir (78). Bir proton pompa inhibitörü (PPİ) olan esomeprazolün çalışmamızda seçilme nedeni ise yeni saptanan antimikrobiyal özellikleri nedeniyle umut vaat edici olmasıdır (154).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *K. pneumoniae*'nin Genel Özellikleri

Enterobacteriaceae ailesine ait *Klebsiella* cinsi içinde yer alan türler yapılan çalışmalar sonucında, *K. pneumoniae*'nin alt türleri olarak kabul edilmiştir. Bu türler; *K. pneumoniae subsp. pneumoniae (K. pneumoniae), K. pneumoniae subsp.ozaenae, K. pneumoniae subsp. rhinoscleromatis, K. oxytoca, K. ornithinolytica, K. planticola, ve K. terrigena*'dır. Bunlar arasında, *K. pneumoniae,* Gram negatif, hareketsiz, sporsuz, kısa, uçları yuvarlak, 1-2 μm boy ve 0.5-0.8 μm ende çomak şeklinde bir bakteridir. Normal florada kolonize olup, hastane enfeksiyonlarına neden olabilen önemli bir patojen mikroorganizmadır. Genellikle uzun süre hastanede yatan hastaların florasına hakim olmaktadır. *K. pneumoniae*'nin kanser hastaları, şeker hastaları, kronik alkolikler, yeni doğan ve uzun süreli hastanede yatan immün sistemi baskılanmış kişilerde fırsatçı enfeksiyon yapma eğilimi taşıdığı bilinmektedir (4, 131). Bu bakteri yara enfeksiyonu, üriner sistem enfeksiyonları gibi hastalıkların yanı sıra hayatı tehdit eden pnömoni, bakteriyemi ve cerrahi operasyon sonrası gelişen menenjit gibi hastane kökenli enfeksiyonlara da sıklıkla neden olabilmektedir. Özellikle, farklı nedenlerle mekanik solunum cihazına bağlı olmak, damar içi ya da idrar yolu kateteri kullanımı, uzun süreli sistemik antibiyotik kullanımı hastayı *K. pneumoniae* enfeksiyonu gelişimi açısından riskli hale getirmektedir (51, 70, 184).

K. pneumoniae'yi tedavi açısından sorunlu bakteriler arasına sokan antibiyotik direnç mekanizmaları esasen *Escherichia coli* ile büyük benzerlikler göstermektedir. *K. pneumoniae* suşlarında genellikle çoklu ilaç direnci görülmekte ve bu durum sıklıkla plazmit aracılığıyla gelişmektedir. *K. pneumoniae*'de plazmit aracılı direncin yanı sıra sahip olduğu kromozomal SHV beta-laktamazı nedeniyle aminopenisilinlere de doğal direnç görülmektedir. Avrupa'da ve ülkemizde GSBL oranlarının artması ile *Enterobacteriaceae* enfeksiyonlarında yaygın olarak karbapenemler klinik kullanıma girmiştir. Bunun sonucunda *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenem direnci giderek artan oranlarda görülmeye başlanmıştır. *K. pneumoniae*'de karbapenem direncinden sorumlu en önemli mekanizma ise karbapenemleri de hidrolize edebilen beta-laktamazlar olan karbapenemaz

enzimlerinin üretimidir. Günümüzde, sırasıyla Ambler sınıflandırması A, B ve D'de yer alan üç enzim; KPC, NDM ve OXA-48, farklı ülkelerden köken alıp tüm dünyaya yayılmıştır (179). Bunlar arasında ülkemiz için en önemlisi OXA-48'dir. Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi (UAMDSS)'nden elde edilen verilere göre, ülkemiz kliniklerinde 2013 yılında 7120 adet *K. pneumoniae* suşu izole edilmiş, bu suşların 1655 tanesi ilk izolat olup, antibiyotik değerlendirmelerinde bu suşlar göz önüne alınmış ve buna göre invaziv *K. pneumoniae* izolatlarında direnç oranları değerlendirildiğinde en yüksek direnç oranının 3. kuşak sefalosporinler ile (> % 50), en düşük direnç oranını ise amikasine ile (% 10.9) olduğu görülmüştür. Bu çalışma ile ülkemiz genelinde invaziv *K. pneumoniae* suşlarında karbapenem direncinin % 15'i aştığı rapor edilmektedir (imipenem % 16.00, meropenem % 15.40). Sürveyans verilerinden elde edilen bilgiler doğrultusunda 2013 yılına ait *K. pneumoniae* suşlarının GSBL pozitiflik oranı % 49.90 olarak belirlenirken bu oranın 2012 yılı sürveyans verilerinde % 47.50 olduğu belirtilmektedir. Coğrafi yakınlık nedeniyle Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı (EARS-Net, 2013) Raporu ile UAMDSS 2013 Sürveyans verileri birlikte değerlendirildiğinde; EARS-Net 2013 raporunda invaziv *K. pneumoniae* izolatlarında üçüncü kuşak sefalosprorinlere direnç oranı Avrupa ortalaması % 30 olarak bildirilmiştir. Ülkemizde ise seftazidim direnci % 59, sefotaksim/seftriakson direnci % 55 olarak saptanmıştır. Florokinolon direnç oranları ise EARS-Net 2013 raporunda Avrupa ortalaması % 29.20 iken UAMDSS 2013 verilerinde siprofloksasin direnci % 43.00, levofloksasin direnci ise % 39 olarak bulunmuştur. Ülkemizde *K. pneumoniae* izolatlarında amikasine karşı direnç oranı % 10.90, gentamisine ise % 32.20 olarak saptanmış iken bu oran Avrupa ülkelerinde büyük farklılıklar göstermektedir. EARS-Net 2013 yılı verilerine göre *K. pneumoniae* izolatlarının aminoglikozit direncinde Avrupa ortalaması % 24.50 olarak saptanmış ve bu oranın % 0 (İzlanda) ile % 64.0 (Slovenya) arasında değiştiği tespit edilmiştir. *K. pneumoniae* izolatlarında karbapenem direncinde ise Avrupa ortalaması % 8.30 olarak tespit edilirken, ülkemizde imipenem direnci yukarıda da belirtildiği gibi % 16.00, meropenem direnci ise % 15.40 olarak saptanmıştır (2, 170).

2.2. *K. pneumoniae*'nin Biyofilm Oluşturma Özelliği

Biyofilm, canlı veya cansız bir yüzeye yapışarak oluşturduğu polimerik matriks içerisinde birbirleriyle haberleşerek varlıklarının devamı için gerekli işlevlerini yerine getiren bakteri topluluğunun oluşturduğu organize bir yapıdır (35, 95). Biyofilm içeriğinin % 97'den fazlasını su, mikrobiyal hücreler (çeşitli türler için % 2-5), polisakkaritler (% 1-2), proteinler (< % 1 veya 2), deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA) (% 2 veya < % 1), demir ve çeşitli minareller oluşturur (165). Biyofilm yapısı, kendisini oluşturan bakteri topluluklarına planktonik yapıda olanlara göre önemli yararlar sağlamaktadır. Biyofilmlerin sahip oldukları polimerik matriks, karbon, nitrojen ve fosfat gibi çevredeki besin kaynaklarının yakalanıp, konsantre edilmesini sağladığı gibi bakterilerin birbirine fiziki olarak yakın olmaları, genlerin yatay (horizontal) geçişini ve metabolik yan ürünlerin paylaşımını da kolaylaştırmaktadır. Biyofilm yapısının bakteriye sağladığı diğer yararlardan bazıları antimikrobik maddelere ve bozulmayı önleyici ajanlara, konağın savunma mekanizmasına ait oksijen radikalleri ve proteazlara karşı da direnç sağlamalarıdır. Antimikrobik etkili faktörlere karşı olan bu doğal direnç, biyofilmin oluşturduğu bariyerin yanı sıra, derine gömülmüş bakterilerin çok düşük seviyede metabolik aktivite göstermeleri ve çok düşük hızda üremelerinden de kaynaklanmaktadır. Diğer yandan biyofilmin yapıştığı yerden kopup ayrılması sonucunda yayılma potansiyeli de oluşturmaktadır. Biyofilmin sahip olduğu bu özellikler antimikrobik etkili maddelere ve konağın savunma sistemine dirençli bakteri kaynağının sürekliliğine izin verdiği gibi aynı zamanda kaynak görevinide üstlenmektedir (39, 95, 151).

K. pneumoniae'de biyofilm oluşumu; geriye dönüşümlü bağlanma, geriye dönüşümsüz bağlanma, olgunlaşma-1, olgunlaşma-2 ve dağılma şeklinde beş aşamada incelenebilir (144).

2.2.1. Geriye Dönüşümlü Bağlanma

Biyofilm gelişimindeki ilk aşama, hareket eden planktonik bakteri ile yüzey arasındaki etkileşimdir. Birkaç dakika süren bu aşamada bakterilerin bir kısmı yüzeye kısa bir süre için yapışır, sonra ayrılırlar. Koşullar biyofilm oluşumu için uygun değilse, bakteri hücresi kendisini yüzeye bağlayan kuvvetlerin üstesinden gelerek, tekrar planktonik faza geçer ve yeni yüzey çevrelerinin arayışına girer (167).

2.2.1.1. *K. pneumoniae* Tip 1 Ve 3 Pili Hareketi

Enfeksiyon oluşumunda ilk kritik adım mikroorganizmanın konak mukozal yüzeye mümkün olduğunca yaklaşması ve konak hücrelerine yapışarak bu yakınlığı koruyabilmesidir. *Enterobacteriaceae* ailesinde bu adezyon yeteneği genellikle değişik türdeki pililer yardımıyla olmaktadır. Pililer bakterinin yüzeyindeki flagel yapısında olmayan filamentöz oluşumlardır. Bu yapılar 10 µm boyunda 1-11 nm çapında olup 15-26 kDa moleküler ağırlığında polimerik globuler protein alt ünitelerinden (pilin) oluşmaktadır (9, 131).

Pililer çeşitli hayvan türlerinde eritrositleri aglütine etme yeteneklerine dayanarak gösterilirler. D-mannoz tarafından reaksiyonun inhibe edilip edilmediğine bağlı olarak bu adezinler mannoz duyarlı (Mannose sensible haemagglutinin-MSHA) ve mannoz dirençli (Mannose resistance haemagglutinin-MRHA) hemaglutininler olarak adlandırılırlar. *Enterobacteriaceae* ailesinde farklı tipte pililer tanımlanmakla birlikte *K. pneumoniae*'de 2 tip pili önem kazanmaktadır (131).

Tip-1 (Genel) pili bakteriyel adezinler içinde en iyi araştırılmış olanıdır. Bu pilide adezyon proteini fimbriyal gövde üzerine yerleşmiştir ve konak glikoproteinlerinin mannoz içeren trisakkaritlerine yapışma yeteneğine sahiptir. Kısa oligomannoz zincirler içeren şeker yapıları glikoproteinlere N-glukozit bağıyla bağlıdır. Bu pilinin bakteriyel virülansa etkisinin esas olarak, ürogenital, solunum ve sindirim yollarının epitel hücrelerine veya mukusuna bakterinin yapışmasını sağlamasıyla ortaya çıktığı düşünülmektedir (176).

Tip-1 pilinin üriner sistem enfeksiyonlarının patogenezindeki rolü çoğunlukla *E. coli* üzerinde yapılan çalışmalarda gösterilmiş olmasına rağmen, *K. pneumoniae*'de de yapılan hayvan modelleriyle açıklanmıştır (113, 131). Tip-1 pililer primer olarak alt üriner sistem enfeksiyonlarının patogenezi ile ilgili olmakla beraber aynı zamanda piyelonefritlerin patogenezinde de rol alırlar. Bu yapının piyelonefritlerde proksimal tübül hücrelerine yapışmayı sağladıkları gösterilmiştir (175). Tip-1 fimbriyalar ayrıca idrarda veya tükrükte bulunan Tamm-Horsfall proteini gibi çözünür mannozil içeren glikoproteinlere de yapışma yeteneğine sahiptir (11). Bu bulgular, Tip-1 pililerin bakterinin ürogenital ve solunum sistemine kolonizasyonunda rol oynadığını ortaya koymaktadır. Bakterinin solunum sistemine adezyonu üst solunum yolunda kolonizasyon direncinin bozulmasına yol açmaktadır.

Bunun sonucunda fakültatif bakterinin proliferasyonu gelişmektedir. Bu bozulma özellikle uzun süreli mekanik solunum cihazına bağlı hastalarda pnömoni gelişimi ile sonuçlanabilmektedir. Tip-1 pilinin konak kolonizasyonu için önemli olduğu bilinmekle birlikte patojenitenin sonraki adımlarındaki katkısı henüz çok açık değildir (9, 131).

Tip-3 pili ise diğer fimbriyalardan farklı olarak sadece tannin ile muamele edilmiş olan eritrositi aglutine eder. Adının mannoz dirençli *Klebsiella* benzeri hemaglutinasyon (MR/K-HA) olmasına ve bu fimbriyal pilinin sadece *Klebsiella* tarafından sentez edildiğinin ortaya konmuş olmasına rağmen, daha sonraki çalışmalar Tip-3 pilinin birçok enterik türlerde de görüldüğünü ortaya koymuştur. Üstelik, serolojik çalışmaların antijenik çeşitlilik göstermesinden dolayı, Tip-3 pilinin *Enterobacter*'lerin tüm türlerinde tanı koydurucu olmadığı görülmektedir (9). Tip-3 piliye sahip *K. pneumoniae* suşları endotelyal hücrelere, solunum sisteminin epiteline ve üroepitelyal hücrelere yapışırlar. Bu pililer, bakterinin böbreklerde tübüler bazal membranlara, Bowman kapsüllerine ve renal damarlara adezyonuna aracılık ederler. Patojenite sürecinde bu fimbiyal tipin rolü çoğunlukla bilinmemektedir. Günümüze kadar, Tip-3 MrkD hemaglutinin ile hastalık arasındaki ilişkiyi kanıtlayacak tek bulgu Tip-3 pilinin *Providencia stuartii*'nin neden olduğu katater ile ilgili bakteriürilerde ortaya çıkışının gözlenmiş olmasıdır (85, 145).

Tip-3 pilinin canlı ve cansız yüzeyler ile endotel ve mesane epitel hücre hattına yapışıp biyofilm oluşumuna da aracılık ederek katkı sağladığı gösterilmiştir. Özellikle, cansız yüzeylerde *K. pneumoniae*'nin çoğalması MrkA tip 3 fimbriyal protein tarafından kolaylaştırılırken, insan ekstrasellüler matriks ile kaplı yüzeylerde çoğalma Tip-3 fimbriyal adezin MrkD'nin varlığını gerektirir. Son zamanlardaki araştırmalar Tip-3 fimbriyal gen ekspresyonunun kısmen siklik di-guanosin mono fosfatın hücre içi seviyeleriyle düzenlendiğini doğrulamaktadır (85, 86, 145).

2.2.2. Geriye Dönüşümsüz Bağlanma

Biyofilm gelişimindeki ikinci aşamada bakteri, yüzeye geriye dönüşümsüz bir şekilde bağlanır ve hareketliliğini kaybeder. Yaklaşık iki saat süren bu sürecin sonunda yüzeye ve birbirine yapışan bakteriler mikrokoloni oluşumunu başlatmış olur (144). Yüzey kimyası ve koşullarının biyofilm oluşumuna etkisi büyüktür. Canlı

ve cansız çok çeşitli yüzeylerde gösterilmiş olan bakteriyel biyofilmlerin en sık oluştuğu canlı yüzeyler arasında safra kesesi, kalp kapakçıkları, ciğerler ve dişler sayılabilir (37, 49). Bakteri hücre yüzeyi ile yapışma yüzeyi arasındaki etkileşimler (örn. hidrofobiklik) kolonizasyonda önemli bir rol oynar. Kuvvetler uygun değil ise hücreler yüzeye yakın olabilmek için enerji bariyerinin üstesinden gelmelidir. Bazı çalışmalar yüzey hidrofobikliğinin bakteriyel yapışmayı olumsuz olarak etkilediğini söylerken, diğerleri mikroorganizmaların yüzeye yapışmayı sürdürebilmek için hidrofobik etkileri değiştirebildiklerini ve bu etkinin bakteriye avantaj kazandırdığını ortaya çıkarmışlardır (45, 49). Sıvı çevredeki yüzey koşulları da bakteriyel yapışmada bir diğer önemli faktördür. Ayrıca yüzey koşulları diğer bakteri türlerinin kolonizasyonuyla da uygun hale getirilebilmektedir. Örneğin, *S. aureus* ve *Haemophilus influenzae*'nin adezyonu sonrasında kistik fibrozlu hastalarda *P. aeruginosa* dokuya invazyonu olasılığının arttığı düşünülmektedir (43, 49).

2.2.3. Olgunlaşma-1

Biyofilm gelişiminin üçüncü aşaması olan olgunlaşma-1'de, hücre dışı (ekstraselüler) polisakkarit maddeler, hücre dışı DNA ve proteinlerden ibaret matriks oluşur. Biyofilm gelişiminin ikinci aşamasında başlayan mikrokoloni oluşumu artarak, çok tabakalı bir hal almaya başlar ve bu tabakaların kalınlığı 10 μm'ye kadar ulaşır (144). Bu aşamada gerçekleşen birçok olay ancak belirli bir çoğunluğa ulaşmış bakteriler arasında gerçekleşebilen "Quorum sensing (QS)" denilen haberleşme sisteminin kontrolü ve çevre koşullarının etkisi altında gerçekleşmektedir (34).

QS sistemi ancak bakteri topluluğu kritik bir çoğunluğa ulaştığı zaman, yeterli konsantrasyonda salgıladıkları bileşiklere karşı gelişen bir oto-indükleyici yanıttır (149, 151). Bu nedenle, belirli bir amaca yönelik olarak gelişen fonksiyonunun oluşabilmesi için, bakteri hücresinin belirli bir çoğunluğa ulaşması gerekmektedir. Gram negatif bakteriler virülans faktörlerinin ekspresyonunu düzenlemek için açil-homoserin lakton (AHL) esaslı QS sistemini kullanmaktadır (125).

Yüzeylere bakterinin yapışması, besinlere erişim, yüzey kimyası ve konak yanıtı gibi çeşitli faktörler tarafından etkilenen kompleks bir süreçtir. Bunların yanı sıra hidrodinamikler, oksijene erişim, tuz konsantrasyonlarının varlığı da biyofilm oluşumunda etkili olmaktadır. Biyofilm oluşumunda besinlere erişim temel bir rol

oynamaktadır. İlk yapışma ve yüzeylere kolonizasyonun besin desteğinden etkilendiği bilinmektedir (43, 49).

Demir bakterinin üremesi için temel elementtir. Demir, bakterinin üremesi için proteinlerin yapımında; oksijen ve elektron transport sisteminde yer alan redoks katalizörü olarak görev yapan temel bir faktördür (131). Konak dokuda bakterinin çoğalması sadece konak savunma mekanizmasıyla değil aynı zamanda kendi mevcut demir kaynağıyla da sınırlandırılır. Demir hücre içinde hemoglobülin, ferritin, hemosiderin, miyoglobine, hücre dışında ise transferin gibi proteinlere bağlı veya yüksek oranda bağlanma eğiliminde olduğundan, bakteri için elverişli serbest demirin konaktan sağlanması güçtür. Enfeksiyonların patogenezinde konak hücresinde sağlanan demirin belirgin etkisi *Klebsiella* için gösterilmiştir. Parenteral olarak bir kobaya demir verilmesinden sonra *Klebsiella* enfeksiyonlarına olan duyarlılıkta dramatik olarak artış görülmüştür (25, 82, 131). Birçok bakteri konakta ihtiyacı olan demiri sağlamayı, siderofor adı verilen, konak proteinlerine bağlı demiri alabilen yüksek duyarlıklı, düşük molekül ağırlıklı şelatlar ile oluşturur. Konak ile ilgili demir eksikliği durumlarında *Enterobacter*'ler farklı iki kimyasal gruba ait çeşitli tipte siderofor sentezlerler. Bunlardan biri fenolat-tip, diğeri ise hidroksimat-tip sideroforlardır (9, 131).

Fenolat-tip sideroforlar, en çok görülen tiptir. Bir 2-3-dihidroksi-benzoil-serin trimeri olan fenolat-tip sideroforların en çok bilinen adı enterobaktin (aynı zamanda enteroşelin)'dir. Bu siderofor *Enterobacter*'lerin temel demir alım sistemini oluşturmakta olup klinik *E. coli* ve *Salmonella* türlerinin çoğunda sentez edilmektedir (9).

Hidroksimat-tip sideroforlar arasında ferrikromlar (sadece fungal etkenlerle sentezlenirler), ferrioksaminler ve aerobaktin en önemlilerindendir. Enterobaktinin aksine aerobaktinin bakteri virülansını sağlamaktaki rolü açıkça ortaya konmuştur. Aerobaktin, stabilitesi ve daha iyi eriyebilirliği nedeni ile enterobaktinden daha fazla etkilidir. Bunun haricinde, enterobaktin demir elde edilmesinden sonra bir esteraz ile hidrolize olurken, aerobaktin her demir transportundan sonra tekrar kullanılabilmektedir (9, 40, 131).

Klebsiella türlerinde enterobaktin ve aerobaktin yapımı gösterilmiştir. Enterobaktin tüm suşlar tarafından sentezlenirken, aerobaktin-pozitif *Klebsiella*

izolatları, tür veya izolat kaynağına bakmaksızın az gözlenir (131, 180). Aerobaktin üreten *Klebsiella*'lar ilgili verilere bakıldığında, *Klebsiella* türlerinin patojenitesinde asıl rolü oynamadığı görülmektedir. Bununla birlikte kendisi aerobaktin üretmeyen klinik *K. pneumoniae* izolatlarının tek başına demir kaynağı olarak dışarıdan aerobaktin sağlayabildiklerine dikkat çekilmelidir. Bu suşlar, yapısal olarak aerobaktin reseptörü sentezleyerek, karışık enfeksiyonlardaki aerobaktin sentezleyen bakterilere göre bir avantaj sahibi olabilir. Aerobaktin aracılı demir alımı *Klebsiella* türünün patojenitesinde dolaylı yoldan katkı sağlamaktadır (130, 131, 181).

Hastaya uygulanan protein içerikli sıvıların biyofilm üremesini destekleyici etkisinin yanı sıra, yaygın olarak reçete edilen farmasötik ajanları da dikkate almak gerekir. Adrenalin, noradrenalin, dopamin gibi katekolamin hormonları intravasküler kateterlerde Gram negatif ve Gram pozitif türlerin üremesini teşvik ettiği gösterilmiştir. Deneysel olarak bu bileşiklerin fırsatçı patojenlere demir olanağı sağlayarak bakteriyemi riskini arttırabilecekleri de ifade edilmiştir (49, 58).

Biyofilmin pH değişikliği gibi olumsuz çevre koşullarına karşı mikroorganizmayı korumasına rağmen, aslında ortamın pH değişiminin biyofilm yapısını önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir (140). Stoodley ve ark. pH'ın 3 ile 10 arasındaki değişiminin biyofilm kalınlığında geriye dönülebilir bir genişleme veya daralmaya neden olduğunu göstermişlerdir. Bu geri dönülebilir etki hidrojen bağ yapısıyla ilgilidir ve düşük pH'da Gram negatif bakterilerin genellikle ekstrasellüler polimerik maddesinde bulunan yüklü karboksilat grupları arasında itme kuvveti değişimi meydana gelmektedir (158). pH'daki değişikliğin aynı zamanda *E. coli* de epitel hücrelerine yapışmayı azaltarak biyofilm oluşumunu etkilediği de gösterilmiştir (41).

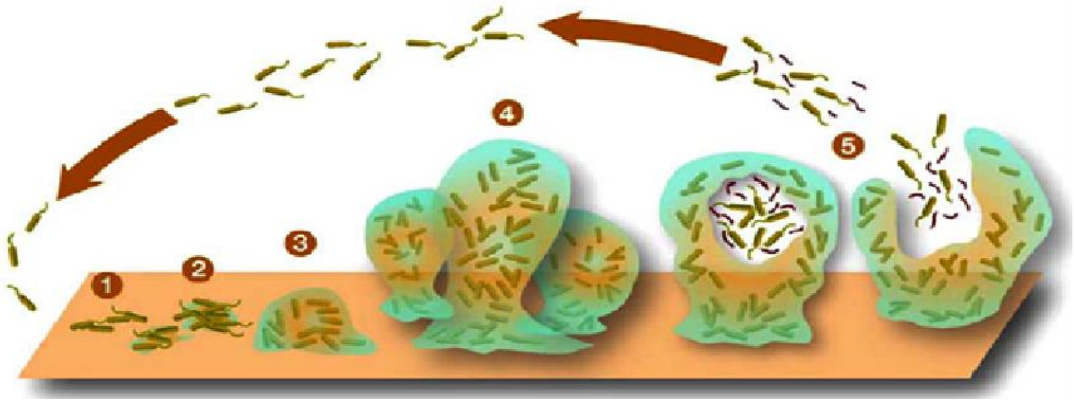
2.2.4. Olgunlaşma-2

Biyofilm gelişiminin dördüncü aşaması olan olgunlaşma-2'de biyofilm maksimum kalınlığına ulaşır (yaklaşık 100 μm). Yapılan mikroskobik incelemelerde kümelenmiş bakterilerin hareketsiz olduğu, mantar veya koni şeklinde oluşan bu kümelerin ulaşabildikleri en büyük boyuta ulaştıkları görülür. Bu aşamanın önemli özelliği, olgunlaşma-2 fazındaki hücreler planktonik hücreler ile karşılaştırıldığında

800'den fazla proteinin ekspresyon seviyesinde altı kattan fazla değişimin görülmesidir, bu da neredeyse planktonik hücrede eksprese edilen proteinlerin % 50'sinden fazlasını oluşturmaktadır. Muhtemelen bu durum ortamda azalan oksijen miktarına bağlı olarak, ortama uyabilmek için bakterinin eksprese ettiği ilave genlerden kaynaklanmaktadır (95, 144).

2.2.5. Dağılma

Biyofilm gelişiminin beşinci ve son aşaması ise dağılmadır. Bu aşamada biyofilmden bakteri kümeleri koparak ayrılır ve sıvının akışıyla gittiği diğer bölgelerde, yapıştığı bakir yüzeylerde yeni olgun biyofilmlerin oluşumuna neden olur. Bu dönemin ilginç yanı, bakterilerin eksprese etmiş oldukları proteinlerin profiline bakıldığında olgunlaşma-2 dönemindeki bakterilerden ziyade planktonik bakterilerle benzerlik göstermesi ve biyofilmin olgunlaşma safhaları boyunca süren yükselen protein ekspresyonunun sadece bu dönemde azalma göstermesidir (144). Bu bulgular dağılma döneminde bakterinin biyofilmden planktonik fenotipine geçtiğini göstermektedir (23). Şekil 2.1'de bakteriyel biofilm gelişim evreleri şematize şekilde gösterilmektedir. (95, 103).



Şekil 2-1: Biyofilm oluşum aşamaları. Planktonik hücreler (1) önce geriye dönüşümlü daha sonra geriye dönüşümsüz bir şekilde yüzeye bağlanır (2) ve mikrokoloniler oluşarak olgunlaşma-1 aşaması tamamlanır (3); Olgunlaşma-2 safhasında maksimum kalınlığa ulaşan biyofilm (4) bundan sonra son aşama olan dağılma safhasına girer (5) ve başka yüzeylerde yeni biyofilm oluşumunu başlatır (95, 103).

2.3. Kateter Enfeksiyonları Ve Biyofilm İlişkisi

Forssmann tarafından ilk kez 1929 yılında tanıtılan SVK tekniği 1956 yılında kendisi ve iki çalışma arkadaşına Nobel Tıp ödülünü getirmiştir (146). Ardından ilk defa 1945 yılında Meyer tarafından kullanılmaya başlanan plastik damar içi kateterler günümüzde hastada damar yolu sağlamak, total parenteral beslenme, kan ve kan ürünlerinin uygulanması, damar basıncı ölçümü, hemodiyaliz, kemoterapi gibi sıvı tedavileri, hasta izlemi, çeşitli ilaçların infüzyonu gibi pek çok tıbbi girişim için sıklıkla uygulanmaktadırlar (92). Cinslerine ve uygulandıkları vücut bölgesine göre insan vücudunda birkaç gün gibi kısa süreli ya da aylarca kalıcı olarak uygulabilen tıbbi cihazlar olan kateterlerin hem hastanedeki hem de evdeki hasta bakımlarında kullanımları artmaktadır (32, 44, 51). ABD'de her yıl yaklaşık 150 milyon damar içi kateterin kullanıldığı bildirilmektedir (98). Özellikle yoğun bakım üniteleri kateter uygulamalarının en yoğun yaşandığı birimler olarak dikkati çekmektedir. Rutinde birçok tıbbi uygulama için olanak sağlayan kateterler aynı zamanda tromboemboliler, kanama, pnömotoraks ve enfeksiyonlar gibi çeşitli sorunların da kaynağı olabilmektedir. Kateterlere bağlı enfeksiyonlar, hastaların hastanede kalış sürelerini, hastane maliyetlerini, hastaya ait mortalite ve morbidite oranını arttırmaktadır (110, 118). CDC'nin 2002 yılında yayımlanan kılavuzunda ABD'de yılda 250.000'den fazla kateter ilişkili enfeksiyon görüldüğü bildirilmiştir (109). İntravasküler kateterlere, kateter giriş yeri, kateter birleşme yeri, kontamine infüzyon sıvısı veya başka bir enfeksiyon odağından kan yoluyla yayılım olmak üzere başlıca dört şekilde ulaşabilen mikroorganizmalar (92, 171), European Prevalence of Infection in Intensive Care'in yaptığı bir çalışmaya göre % 12'lik sıklıkla tüm hastane enfeksiyonları içinde en sık karşılaşılan dördüncü enfeksiyon çeşidi olarak belirlenmiştir (174). Başka bir çalışmada ise hastane kökenli primer kan dolaşım enfeksiyonlarının % 85'inin kateterlere, özellikle SVK'e bağlı olduğu bildirilmektedir (110, 171). Gelişen SVK enfeksiyonları hastanede yatış süresini 7 ile 12 gün arasında uzatıp, hasta bakım maliyetinde önemli bir artışa neden olmaktadır (44). Hastanelerde özellikle yoğun bakım ve yanık üniteleri, onkoloji-hematoloji kliniklerinde enfeksiyon kontrol önlemlerinin aksaması ile birlikte kateter enfeksiyonlarının sıklıkları belirgin olarak artmaktadır (33, 97). Kateter ile ilişkili enfeksiyonlar için risk faktörleri hastanenin tipi ve büyüklüğüne, ünitenin tipine, kateterin uygulama bölgesine, kateterin kalış süresine, kateter bakım işlemlerine,

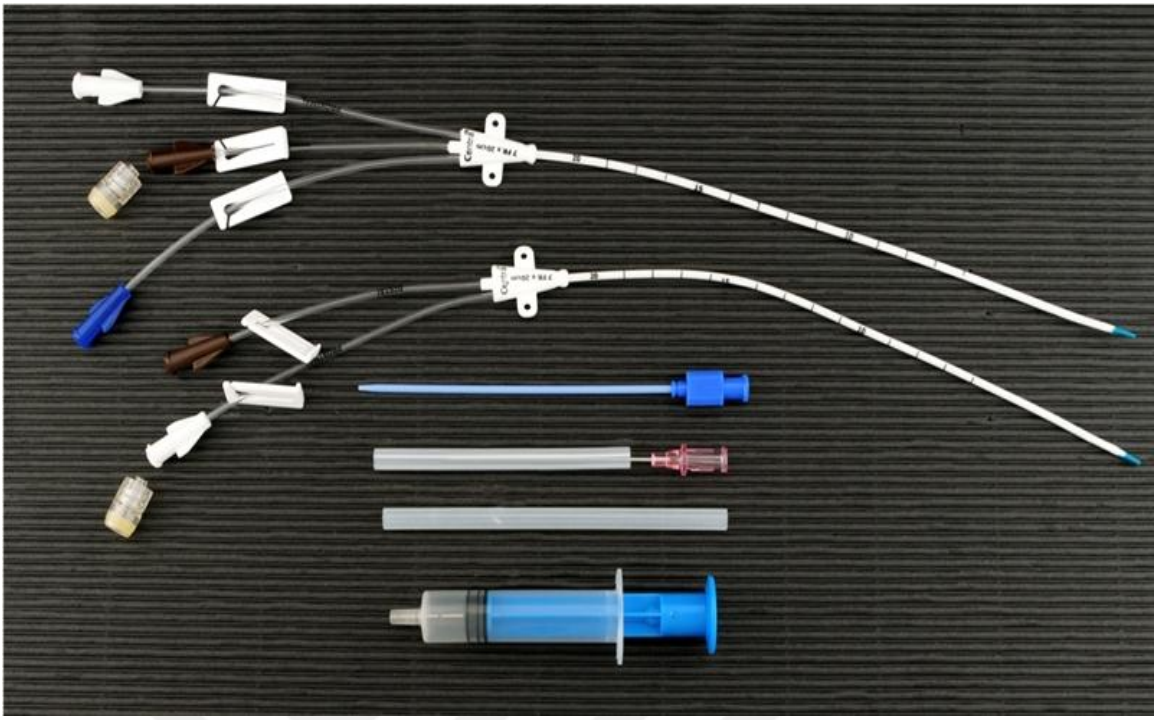
personelin eğitimine, hastanın altta yatan hastalığına göre değişebilir. On günden az bir süre için yerleştirilmiş kateterlerde (kısa süreli kateterler) mikroorganizmaların çoğunlukla dış yüzeylerde kolonize olduğu, uzun süreli kateterlerde ise (30 günden fazla) daha yoğun olarak lümende kolonize oldukları rapor edilmiştir (44, 165). Kısa süreli kullanılan kateterlerde, kateterin deriden giriş yeri en önemli patojen kaynağıdır. Deriye giriş yerinden göçle, deri altında kalan kateter segmenti kolonize olur, migrasyon ve kolonizasyon kateterin ucuna kadar devam eder. Tünelli ve hazneli olan, uzun süreli kullanılan kateterlerde veya implante portu olan kateterlerde lümenin haznesi ve portun kendisi esas kaynaktır. Mikroorganizmalar bu bölgelere temas halinde olan tıbbi personelin elleriyle taşınır (115, 163).

Oldukça geniş spektrumda mikroorganizma kateter ile ilişkili enfeksiyonlara yol açabilir. Özellikle stafilokoklar (koagülaz negatif-KNS ve pozitif), aerobik Gram negatif çomaklar ve *Candida albicans* bu enfeksiyonlarda öne çıkmaktadırlar. Stafikoloklar tüm kateter ile ilişkili enfeksiyonların % 75-90'ını oluştururken KNS'ler ise bu enfeksiyonların % 35-50'sinden sorumludurlar. *S. aureus* ise KNS'lerden sonra ikinci sıradaki (% 15-20) en sık etkendir ancak bazı merkezlerde *Enterococcus* türleri ikinci sırayı alabildiği gösterilmiştir. Her iki durumda da direnç varlığı (metisilin dirençli *S. aureus*-MRSA, vankomisin dirençli enterokok-VRE) nedeniyle tehlikeli enfeksiyonlara yola açarlar. Gram negatif bakterilerden; Gram negatif enterik bakteriler (*E. coli, Enterobacter cloacae, Klebsiella* türleri, *Citrobacter* türleri), nonfermentatif Gram negatif bakteriler (*P. aeruginosa,* diğer psödomonas türleri, *Acinetobacter* türleri, *Stenotrophomonas maltophilia*) etken olabilirler. Mikobakteriler özellikle atipik olanlar enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkabilir. Mantarlardan *Candida* türleri ve *Fusarium, Malassezia furfur, Rhodotorula, Trichosporon* türleri vb özellikle bağışıklığı baskılanmış hastalarda önemli etkenler olarak karşımıza çıkmaktadırlar (10, 163). Kateterin takılma yeri ve tipine göre de enfeksiyon etkenleri değişebilmektedir. Ancak KNS'ler tüm kateter tiplerinde en sık etkendir. Kasıkta uygulanan SVK enfeksiyonlarında en sık Gram negatif çomaklar ve enterokoklar, uzun süreli SVK'larda KNS'yi takiben *S. aureus*, Gram negatif çomaklar ve *Candida* türleri enfeksiyon etkenleri olarak öne çıkmaktadır. Tünelsiz kısa süreli SVK'lar ve pulmoner kateterlerde KNS, *S. aureus*, ve enterokoklar en sık etkenlerdir. Uzun

süreli tünelli kateterlerde KNS, *S. aureus*, entokoklar, Gram negatif çomaklar, *Candida* türleri ve küfler öne çıkmaktadır (76, 137, 163).

Kateterlerin mikroorganizmalarla kolonizasyonu, kateterin derideki giriş yerinden hasta mikroflorası aracılığıyla, sağlık personelinin elleri vasıtasıyla sağlık çalışanının mikroflorasından olabileceği gibi kontamine infüzyon maddelerinden de kaynaklanabilir (44, 165). Kontamine infüzyon sıvısı, epidemik hastane kökenli bakteriyemilerin en sık nedenidir. Farklı parenteral sıvılarda mikroorganizmaların üreyebilme potansiyelleri farklıdır; % 5 dekstroz solüsyonunda bazı *Enterobacteriaceae* üyeleri (*Klebsiella* türleri, *Enterobacter* türleri, *Citrobacter* türleri); distile suda *P. aeruginosa, Acinetobacter, Serratia* türleri; laktatlı ringer solüsyonunda *P. aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri hızlı üreme gösterir. Serum fizyolojik solüsyonunda *Candida* türlerinin genellikle zor üremesine rağmen birçok bakteri türü üreyebilmektedir. Aminoasit ve hipertonik glikoz içeren solüsyonlarda *Candida* türleri iyi ürerken, bu sıvı çoğu bakterinin üremesini inhibe eder; % 10 lipid solüsyonu da birçok mikroorganizmanın üremesi için uygundur. *E. cloacae, S. marcescens, Achromobacter, Flavobacterium, Pseudomonas, Salmonella* ve *Yersinia* cinsi bakteriler kan ve kan ürünlerini sıklıkla kontamine edebilmektedir (66, 115).

Şekil 2.2.'de kliniklerde en sık kullanılan kateter tiplerinden olan ve büyük toplardamarın içerisine yerleştirilen (subklavyen, juguler, femoral) iki santral venöz kateter gösterilmektedir.



Şekil 2-2: Santral venöz kateterler

2.3.1. Antimikrobiyal Kilit Tedavisi (AKT)

Katetere bağlı enfeksiyonların tedavisinde en etkili tedavi yöntemi enfekte kateteri çıkarmak ve sistemik antimikrobiyal tedaviye başlamak olsa da bu işlem hastada trombositopeni, koagülopati, total parenteral beslenme zorunluluğu, sürekli intravenöz ilaç kullanımı, damar girişinin sınırlı olması gibi hayatı tehdit edici sakıncalar içerebilir (70, 92). Bu gibi tıbbi sebeplerle kateteri çıkarılamayan hasta gruplarında sistemik antimikrobiyal tedavinin yanında 7-14 gün süreyle kateter lümeni içine yüksek doz antimikrobiyal madde uygulaması olan AKT, IDSA ve CDC gibi birçok sağlık kuruluşları tarafından hazırlanan enfeksiyon tedavi rehberlerinde, kateter ilişkili enfeksiyonlardan korunma ve tedaviye yönelik önerilen yardımcı tedavi şeklidir (56, 93, 98, 147, 157). Krishnasami ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada kateter ilişkili bakteriyemi gelişen hastalarda enfekte kateteri çıkarmadan sistemik antibiyotik tedavisi ile birlikte AKT uygulamasının hastaların % 64.5 'unda iyileşmeyi sağladığı rapor edilmiştir (84). Benzer şekilde, Funalleras ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada ise Gram negatif bakteriyemi gelişen 37 hastada sistemik antibiyotik tedavisi ile birlikte AKT uygulamasının % 95 oranında tedavi sağladığı tespit edilmiştir (60).

Kateter lümenindeki biyofilm tabakada bulunan sesil mikroorganizmaların öldürülmesi için gereken antimikrobiyal madde konsantrasyonu serbest (planktonik) mikroorganizmaların öldürülmesi için gerekenden 100-1000 kat daha fazla olduğundan, antimikrobiyal kilit uygulaması kateter lümeninin yüksek doz antimikrobiyal madde solüsyonu ile doldurulup etkinliğini göstermesi için burada belli bir süre bekletilmesi esasına dayanmaktadır (21, 22, 57).

İnsan, hayvan ve in-vitro model sistemlerinin kullanıldığı laboratuvar çalışmalarından elde edilen sonuçlar bu teknikle biyofilmi yok etme olasılığının biyofilmdeki organizmanın cinsine, biyofilmin yaşına ve tedavi uygulanış süresine bağlı olduğunu göstermişlerdir. Bu nedenle AKT için seçilecek etkili antimikrobiyal ajanların biyofilmin hücre dışı polimerik madde içeren matriksinden az etkilenen, hızlı bakterisidal etkili ve organizmanın büyüme hızına bağlı olmayan bir etki mekanizmasına sahip olması istenir. AKT için yüksek konsantrasyonlarda kullanılan bu ajanların dolaşıma difüze olması ya da yanlışlıkla karışması durumunda, hasta için olası toksisiteye neden olarak yan etki oluşturacağı tedavi boyunca akılda tutulmalıdır. Bu yüksek konsantrasyonların kullanımına biyofilm ilişkili organizmanın antimikrobiyal ajanlara artan direnci neden olmaktadır. Bekleme süresinin uzunluğunu belirlemede ise ilacın farmakokinetik özelliklerden ziyade kateterin kullanım süresi gibi uygulama koşulları öne çıkmaktadır (21, 44, 100, 178).

Gram pozitif bakterilerin biyofilmlerine karşı en etkili olduğu tespit edilen ajanlar vankomisin, teikoplanin, linezolid, rifampin ve siprofloksasin iken, gentamisin, Gram negatif organizmaların biyofilmlerine karşı etkilidir. Farklı etki mekanizmasına sahip antimikrobiyal ajanların kombinasyon halinde AKT'lerinde kullanımı da oldukça etkilidir. Örneğin, makrolidlerin biyofilmlerin ekstrasellüler polisakkarit matriksini bozarak bu matriks boyunca kombinasyondaki diğer bakterisidal ajanların difüzyonunu arttırdığı bilinmektedir (44, 49, 78, 119, 120).

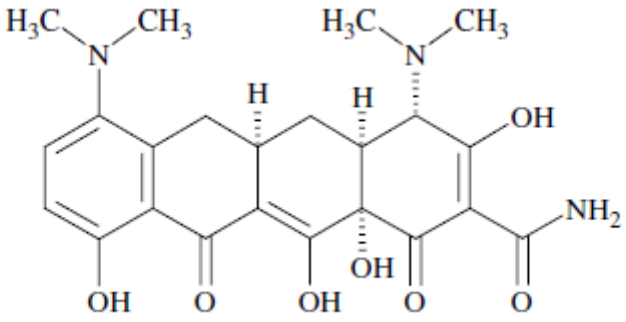
2.4. Çalışmada Kullanılan Antibiyotikler İle Esomeprazol Hakkında Genel Bilgiler

2.4.1. Tigesiklin

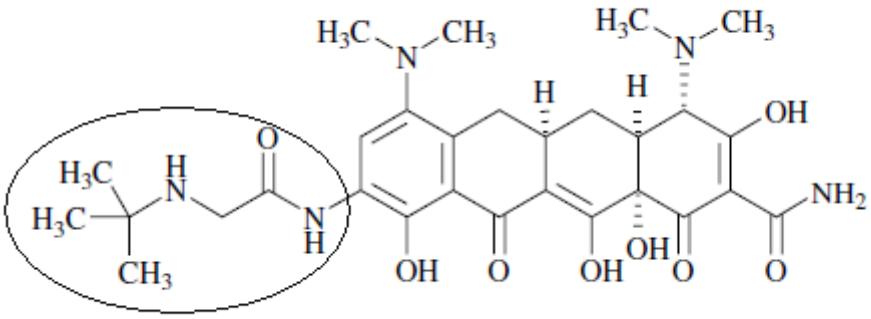
2.4.1.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

ABD'de 1948 yılında *Streptomyces aureofaciens*'den izole edilen tetrasiklinler grubundan ilk antibiyotik olan klortetrasiklinin bulunmasından sonra, 1953'te klortetrasiklinin dehalojenasyonuyla tetrasiklin izole edilerek tedaviye sokulmuştur. Diğer *Streptomyces* türlerinden izolasyon ya da yarı sentetik yolla değişik tetrasiklin türevleri elde edilmiştir (46). Çoğu 1950'lilerde bulunan tetrasiklinlerin (oksitetrasiklin, tetrasiklin, demeklosiklin, doksisiklin ve minosiklin) son üyesi, yaklaşık 20 yıl aradan sonra, 2005'de kullanıma girmiş olan tigesiklindir. Bir minosiklin türevi olan tigesiklin, Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA) tarafından 15 Haziran 2005 tarihinde onaylanan glisilsiklin grubundan ilk antibiyotiktir ve 2008 yılında da ülkemizde kullanılmaya başlanmıştır (80, 116, 164). Tigesiklin, yapıca tetrasiklinlere benzer şekilde merkezde dört-halkalı karboksilik iskelete sahiptir ve D-9 pozisyonunda modifiye glikamido grubu bulundurur. Minosiklinin 9-t-butilglikamido türevidir (Şekil 2.3, Şekil 2.4) (123).

Tigesiklin, yapısal olarak tetrasiklinlere benzerlik göstermesine karşın, tetrasikline karşı bakterilerin geliştirdikleri iki önemli direnç mekanizmasından etkilenmemektedir. Bunlardan ilkinde tetrasikline özgül pompa mekanizması için, tigesiklin zayıf substrat özelliği göstermektedir. İkinci direnç mekanizması olan ve bakteri ribozomlarında tetrasiklin bağlanmasını engelleyen Tet(M) proteininin neden olduğu değişiklikten, tigesiklin etkilenmemekte ve ribozomlara bağlanabilmeyi sürdürmektedir (36).



Şekil 2-3: Minosiklinin kimyasal yapısı



Şekil 2-4: Tigesiklinin kimyasal yapısı

2.4.1.2. Etki Mekanizması

Tetrasiklin grubu antibiyotik olan tigesiklin bakteriyostatik etkiye sahiptir. Bu etki bakteri hücresi ribozomlarının 30S alt ünitelerine geri dönülebilir bir şekilde bağlanarak, protein sentezi inhibisyonuyla meydana gelmektedir (20, 36, 164). Tigesiklinin bağlanma noktası tetrasiklinlerden farklı olduğu için Tet(M) proteininden etkilenmez ve tetrasiklinden beş kat daha güçlü olarak bağlanır (15, 36). *Enterobacteriaceae* ve *Acinetobacter* türlerinde tetrasiklin direncinden sorumlu Tet(A-E) ve Stafilokoklardaki dirençten sorumlu olan Tet(K) efluks pompalarından etkilenmediği için tetrasiklinlerden daha geniş etki spektrumuna sahiptir (20). Genel olarak bakteriyostatiktir ancak bazı mikroorganizmalara karşı bakterisidal aktivitesi olduğu da bildirilmiştir (72).

2.4.1.3. Direnç Mekanizması

Tetrasiklinlere direnç primer olarak azalmış influks veya artmış efluks ile hücre içindeki antibiyotiğin miktarının azaltılması ile gelişir. Bu sınıftan bir antibiyotiğe direnç gelişir gelişmez, tipik olarak tüm tetrasiklinlere karşı direnç gelişir. Ancak bakteri türleri arasında dirençte farklılıklar vardır.

Direnç genleri plazmid veya transpozon gibi diğer transfer edilebilen elementler ile oluşur. Direnç genlerinin bir ribozom koruyucu tipini taşıyan bakteriler bir sitoplazmik protein üretirler. Bu proteinler ribozomlar ile ilişki kurar ve ribozomlar ilacın hücre içinde yüksek seviyelerde olmasına rağmen protein sentezini yapmasını sağlarlar. Mobil tet genlerini alan bakteri efluks pompa proteinlerini

sentezler (Örneğin; tet A-E, tet G-L) veya ribozomları koruyan proteinleri kodlar (Örneğin; tet M, tet O). AcrAB çok ilaç için olan efluks pompasının aşırı üretimi tigesiklin duyarlılığındaki azalmaya yol açan temel faktördür (38, 128, 138, 164). Tigesikline karşı gelişen dirençten bu "çoklu ilaç dirençli" efluks pompalarının gelişmesi sorumlu tutulmaktadır. Tigesiklinin faz 3 çalışmalarında beş dirençli suş tanımlanmışır: Bunların ikisi *K. pneumoniae*, diğerleri *E. cloacae*, *Morganella morganii* ve *A. baumannii*'dir. Bu dirençlerden kromozom-aracılı efluks pompasının up-regülasyonu sorumlu gibi görünmektedir (36).

Tigesikline direnç potansiyeli düşüktür ve tüm tetrasiklinleri etkileyen iki direnç mekanizmasından etkilenmez: ribozomal koruyucu proteinler ve efluks pompaları. Bu nedenle tigesiklin tetrasiklinlere dirençli mikroorganizmalara da etkilidir.

Glisilsiklin sınıfı antibiyotikler tetrasiklinin dört halkalı karboksilik iskeletinde D halkasına büyük modifiye glisilamid parçasının eklenmesi ile geliştirilmiştir. Bu değişim tigesiklinin hem efluks (eklenen büyük parça nedeni ile) hem de ribozomal tip direncin (ribozomal mutasyona affinitenin düzelmesi) üstesinden gelmesini sağlamıştır. Bu nedenle tigesiklin ribozomun 30S alt ünitine bağlanmasını ribozomal korunma mekanizmalarının varlığında bile gerçekleştirir (128, 164).

Tigesiklin yapısı nedeni ile de bakteriler tarafından sık kullanılan direnç mekanizmalarından etkilenmez. Ancak *A. baumannii*'de tigesiklin MİK değerlerinde hızla gelişen artış ve direnç rapor edilmiştir. Mekanizması tam belli olmamakla birlikte *A. baumannii* iki efluks pompasına sahip olabilir (134). Bir çalışmada 82 klinik izolattan elde edilen 19 farklı klon saptanan çok ilaca dirençli *A. baumannii* suşlarının % 66'sının tigesikline dirençli ve % 12'sinin orta duyarlı olduğu gösterilmiştir (91).

2.4.1.4. Etki Spektrumu

Tigesiklin aerobik Gram pozitif, Gram negatif ve anaerob patojenlere karşı etkinlik gösterir. Tigesiklin in-vivo olarak metisiline duyarlı ve dirençli *S. aureus* (MSSA, MRSA), *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus pyogenes*, vankomisine-duyarlı *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *Bacteroides fragilis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*,

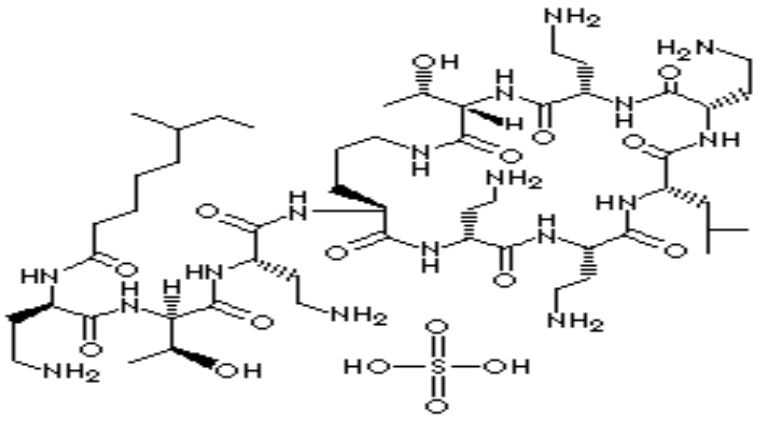
Bacteroides thetaiotaomicron, Bacteroides uniformis, Bacteroides vulgatus, Clostridium perfringens, Peptostrepococcus micros türlerine karşı etkili bulunmuştur (36, 72). Yukarıda sayılanlara ek olarak *Enterococus avium, Enterococcus casseliflavus, Enterococcus faecium*, vankomisine dirençli (VRE) ve duyarlı *E. faecalis, Listeria monocytogenes, Staphylococcus epidermidis* (vankomisine duyarlı ve dirençli), *Staphylococcus haemolyticus, A. baumannii, Aeromonas hydrophilia, Citrobacter koseri, Enterobacter aerogenes, Pasteurella multocida, Serratia marcescens* ve *Stenotrophomonas maltophilia* türlerine karşı da in-vitro etkinlik gösterilmiştir (89). GSBL sentezleyen *E. coli* izolatlarında tigesiklin aktivitesinin imipenem-silastatine benzer olduğu gösterilmiştir. Uluslararası, çok merkezli bir in-vitro duyarlılık araştırması olan 'Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST)' çalışmasında 3989 toplum kökenli ve hastane kökenli Gram pozitif ve Gram negatif izolatta tigesiklin aktivitesi incelenmiştir: *Enterobacteriaceae* türlerinin çoğunluğunda imipenem-silastatine benzer $MİK_{90}$ değerleri görülmüştür. MRSA, penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae* ve VRE türleri de dahil bir çok Gram pozitif izolatta tigesiklin $MİK_{90}$ değerleri daha düşük saptanmıştır (36, 102). *Acinetobacter* türleri çoklu ilaç direnci olan bir diğer grup patojendir ve OXA karbapenemaz veya metallo-beta-laktamaz enzim üretimi sonucu karbapenemlere dirençli suşların sıklığı artmaktadır (36, 121). Tigesiklin karbapenemaz üreten *Acinetobacter* suşlarına karşı etkili bulunmuştur. Tigesiklin, *Fusobacterium, Prevotella, Peptostreptococcus* ve *Bacteroides* türlerine karşı anareobik aktivite göstermiştir. Yüksek antimikrobial direncin olduğu bölgelerde metronidazol, imipenem, amoksisilin-klavulanat veya piperasilin-tazobaktama tigesiklin alternatif olarak kullanılabilir. Tigesikline gentamisin eklenmesi ile VRE ve vankomisin dirençli *S. aureus* izolatlarında daha iyi antibakteriyel aktivite gösterilmiştir. Bu verilerin klinik etkisini anlamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Tigesikline karşı *P. aeruginosa* ve Proteus türlerindeki direncin efluks pompalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. *S. maltophilia*'nın tigesiklin direnci levofloksasine benzer ancak trimetoprim-sulfametoksazolden daha düşüktür. *Mycoplasma pneumoniae* ve *Morexella catarrhalis*'e karşı etkinliği vardır. *Mycobacterium marinum, Mycobacterium fortuitum, Mycobacterium abscessus* ve *Mycobacterium chelonae* karşı $MİK_{90}$ değerleri doksisikline göre oldukça düşüktür (6, 36, 79).

2.4.2. Kolistin Sülfat

2.4.2.1 Yapı-Aktivite İlişkisi

Kolistin, siklik yapılı katyonik polipeptit antibiyotikler olan polimiksinlerin bir üyesidir. 1947 yılında keşfedilen polimiksinler, 1962 yılından itibaren Gram negatif bakterilerin etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde parenteral olarak kullanılmaya başlanmıştır. 1980'li yıllarda ciddi nefrotoksisiteleri nedeniyle parenteral kullanımı terk edilen polimiksinler, sadece topikal ve oral yoldan kullanımda kalmıştır. Günümüzde ise çoklu ilaç direnci bulunan Gram negatif bakteriler (*P. aeruginosa, A. baumannii, K. pneumoniae*) ile oluşan enfeksiyonların sıklığındaki artış ve tedavilerinde yaşanan sorunlar polimiksinleri tekrar gündeme getirmiştir (46, 159).

Polimiksinler, *Bacillus polymyxa* subspecies *colistinus* tarafından ribozom dışı sentez edilen ürünlerdir. Kimyasal olarak 5 farklı bileşikten (polimiksin A-E) oluşur. Klinikte ise sadece polimiksin B ve polimiksin E (kolistin) kullanılmaktadır (46, 55). Kolistinin iki farklı ticari formu mevcut olup, bunlar kolistimetat sodyum ve kolistin sülfat olarak adlandırılır. Kolistin sülfat ve kolistimetat sodyum, yapılarındaki yağ asitlerine göre farklı özellikler taşır. Kolistimetat sodyum, kolistin sülfata göre hem etkinliği (4 ya da 8 kat daha az aktif) hem de toksisitesi daha az olan bir moleküldür. Kolistin sülfat katyonik ve stabil bir molekül olmasına rağmen, kolistimetat sodyum kolistinin inaktif formu olduğu için anyonik ve stabil olmayan bir moleküldür. Bir ön ilaç olan kolistimetat sodyum, vücuda girdikten sonra hidrolize uğrayarak aktif form olan kolistine dönüşür (46, 55, 117) (Şekil 2.5).



Şekil 2-5: Kolistinin kimyasal yapısı

2.4.2.2. Etki Mekanizması

Kolistinin hedef bölgesi bakteri membranıdır. Bakterilerin hücre membranında bulunan anyonik lipopolisakkarit yapısındaki moleküller, katyonik bir peptit olan kolistin için yüksek bir bağlanma bölgesi oluşturur. Lipopolisakkarit moleküllerini bir arada stabil halde tutan divalan katyonların (Ca^{+2}, Mg^{+2}) yerini değiştirerek, dış membranda bozulma ve permeabilite artışı sonucu bakterinin ölümüne neden olur (55, 159).

Kolistin ayrıca lipopolisakkaritin lipit A kısmına bağlanarak endotoksinin etkisini de bloke eder. Bakterilerin kolistine duyarlılığı, hücre membranının içerdiği fosfolipid miktarı ve ortamda bulunan divalan katyonların düzeyi ile ilişkilidir (55).

2.4.2.3. Direnç Mekanizması

Gram negatif bakterilerde kolistine karşı direnç, mutasyon veya adaptasyon mekanizmalarıyla gerçekleşir. Direnç gelişimi, kolistinin hücreye bağlanma alanlarında ve dış membran polaritesinde azalmayla ilişkilidir. Direnç gelişiminde *Pmr*A- *Pmr*B ve *Pho*Q- *Pho*P regülatör sistemleri rol oynar. Ayrıca polimiksinler arasında çapraz direnç de görülebilir (55, 159). Yunanistan'da 2007 yılında yapılmış bir çalışmada, çoklu ilaç direnci bulunan patojenlerle enfeksiyon nedeniyle kolistin kullanılan yoğun bakım hastalarında kolistine dirençli *K. pneumoniae* ile bronşiyal ve bağırsak kolonizasyon oranı % 37 olarak saptanmıştır (3, 159). İtalya'da 2010-2013 yıllarını kapsayan bir araştırmaya göre *K. pneumoniae* suşlarında kolistin direnci % 36.6 olarak saptanmıştır (132).

2.4.2.4. Etki Spektrumu

Kolistin, *Acinetobacter* spp., *P. aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *E. coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Citrobacter* spp., *Haemophilus influenzae*, *Yersinia pseudotuberculosis* ve *Bordetella pertussis*'e karşı bakterisidal etkinlik gösterir. *Stenotrophomonas maltophilia*'nın neden olduğu enfeksiyonlarda genellikle etkin olmakla birlikte, duyarlılığının değişken olabileceği unutulmamalıdır. Kolistine karşı bazı bakterilerde indüklenebilir direnç gelişimi izlenebilirken, başta Gram pozitif ve anaerob bakteriler olmak üzere bazı bakterilerde

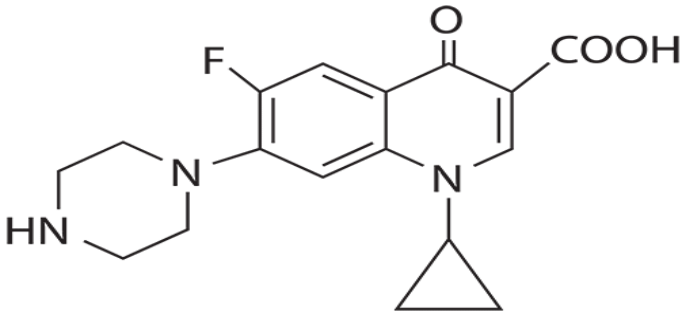
(*Burkholderia cepacia, Burkholderia pseudomallei, Proteus mirabilis, Providencia* spp., *Morganella morgani, Neisseria* spp., *Brusella* spp. ve *Moraxella catarrhalis*) de doğal direnç görülür (46, 55, 159). Kolistinin bazı mikobakteri türlerine (*Mycobacterium intracellulare, Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium xenopi, Mycobacterium fortuitum, Mycobacterium phlei* ve *Mycobacterium smegmatis*) karşı da etkin olduğu bildirilmiştir (55).

2.4.3. Siprofloksasin

2.4.3.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

Kinolonlar, sentez yoluyla elde edilen kinolein türevi antibiyotiklerdir. 1962'de nalidiksik asit'in Gram negatif (*Enterobacteriaceae*) idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisi için piyasaya çıkarılmasından sonra, benzer kimyasal yapıda dar spektrumlu ve sadece üriner enfeksiyonlarda kullanılan kinolon bileşikleri tedaviye sokulmuşlardır. Nalidiksik asidin yapısındaki modifikasyon ile ilk florokinolon norfloksasin geliştirilmiştir. Siprofloksasin, kinolon grubu antibakteriyel ajanların florokinolonlar grubundandır ve norfloksasine göre Gram pozitif etkinliği daha fazladır. Bununla birlikte siprofloksasinin solunum yolu enfeksiyonlarının en sık etkeni olan *S. pneumoniae*'ye etkisi zayıftır (46, 87, 161).

Kinolonların temel çekirdeği iki halkadan (nafridin) oluşmaktadır. Birinci pozisyonda (N), üçüncü pozisyonda (COOH) ve dördüncü karbon atomunda (O) içeren temel yapı antibakteriyel etki için şarttır (87, 114). Tüm yeni kinolonlarda C6 pozisyonunda antibakteriyel aktivite için gerekli olan bir flor (F) bulunur (Şekil 2.6). Bu değişiklik Gram negatif mikroorganizmalara etkinliği arttırırken, kinolonun hücre içine girişini kolaylaştırır. Florokinolon halkasındaki bu yapı değişikliği kinolonların etkinliği, farmakokinetik özellikleri ve yan etki profillerinde değişikliğe neden olur. Siprofloksasinin 7. konumundaki piperazin halkası hücre geçirgenliğinden sorumlu olarak Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı (özellikle de *P. aeruginosa*) aktivitenin artmasını sağlamaktadır (31, 46, 87).



Şekil 2-6: Siprofloksasinin kimyasal yapısı

2.4.3.2. Etki Mekanizması

Kinolonlar duyarlı bakteri suşları üzerine bakterisidal etkiye sahiptirler. Antimikrobiyal etki için kinolonların hücre içine girmesi gerekir ve bu geçiş basit difüzyon iledir. Ayrıca Gram negatif mikoorganizmalarda dış membrandaki porinler aracılığıyla da hücre içine alınırlar (46, 87). Kinolonlar mikroorganizmada DNA sentezini bozarlar. Bakteriyel büyüme ve reprodüksiyon sırasında DNA-giraz (topoizomeraz II) ile etkileşerek bakteriyel DNA'nın replikasyonunu inhibe ederler. Topoizomerazlar, DNA zincirini süper sarmal durumuna getirerek DNA'nın konfigürasyonunu ya da topolojisni değiştiren enzimlerdir. Böylece çok uzun olan DNA'nın hücre içine yerleşmesi sağlanır. DNA-giraz enzimi *gyr*A tarafından kodlanan A ve *gyr*B tarafından kodlanan B olmak üzere 2 alt bölümden oluşur. Kinolonlar, topoizomeraz II türü olan DNA-giraz enziminin A-alt ünitesi üzerine etkileyerek, DNA'nın süper sarmal oluşmasını engellerler. Bunun sonucu DNA üzerinde negatif süper sarmal oluşmadığından, bakteri hücresinde DNA replikasyonu ve transkripsiyonu mekanik olarak meydana gelmez, hücre anormal bir şekilde uzayarak parçalanır. Bunun sonucu kinolonlarla karşılaşan bakteriler bölünemezler ve anormal şekilde uzayarak ölürler (87, 114, 161). Kinolonlar ayrıca topoizomeraz IV'e de etkilidir. Topoizomeraz IV *gyr*A ve *gyr*B'ye benzeyen *par*C ve *par*E genlerinden oluşur. Gram negatif bakterilerde birincil hedef DNA-giraz (topoizomeraz II) ikincil hedefi ise topoizomeraz IV iken, Gram pozitif bakterilerde tam tersi söz konusudur. İnsan hücresinde de topoizomerazlar vardır ancak DNA süper sarmalı oluşumuna yol açmadığından ve bakteri topoizomerazına göre afinitesi düşük olduğundan kinolonlar bakteri hücresinde gösterdikleri etkiyi insan hücresinde oluşturamazlar (63, 87, 114, 161).

Kinolonlar düşük konsantrasyonda DNA-giraz sentezini inhibe ederek bakterisidal etki gösterirken, yüksek konsantrasyonda protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki göstermektedirler (87, 106).

2.4.3.3. Direnç Mekanizması

Bakterilerde kinolonlara karşı direnç bakteri hücresindeki DNA-girazın alt ünitesinde meydana gelen değişiklik (kromozomal mutasyon), hedef enzimin değişikliğe uğraması ve Gram negatif bakterilerin hücre duvarı geçirgenliğini kontrol eden proteinlerin (porinler) azalmasıyla ilaç molekülünün bakteri hücresi içine girememesi sonucu oluşmaktadır. Kinolonlar arasında çapraz direnç de oluşabilmektedir. Ancak florokinolonlara karşı direnç oluşumuna, genellikle daha az rastlanmaktadır (46, 69, 106, 161).

Mutasyon sonucu ya hedef enzim (DNA-giraz) değişimi veya bakteriyel membranda geçirgenlik azalması sonucu direnç ortaya çıkmaktadır. Bu tip kromozomal mutasyonlar kinolon direncinde hala en sık ve en temel mekanizmadır. Direnç sorunu özellikle başlangıç MİK değerleri yüksek olan *P. aeruginosa* ve *S. aureus* gibi suşlarda sorun olmaktadır. Özellikle kronik enfeksiyon, tekrarlayan ve uzun süreli kullanım, yabancı cisim varlığı, suboptimal konsantrasyonlarda kullanım direnç gelişiminde rol oynayan önemli faktörlerdir. Ayrıca profilaktik olarak siprofloksasin kullanılan kanser hastalarında kan izolatı *E. coli* suşlarında da direnç bildirilmektedir (161).

Kinolon direnç mekanizmaları arasında üzerinde en fazla çalışılanı, hedef enzimlerdeki değişimlerdir. Bu değişimler, enzim alt ünitesini kodlayan genlerdeki spontan mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Gram negatif bakterilerdeki kinolon direncinin daha çok *Gyr*A ünitesindeki değişimlere bağlı olduğu belirlenmiştir. Dirençli bakterilerin *Gyr*A alt üniteleri ele alındığında, dirence neden olan aminoasit değişimlerinin genellikle amino ucundaki enzim aktif bölgesinde bulunan (Tyr-122) molekülünün çevresinde yer aldığı görülmektedir (63, 73). Bu bölgeye kinolon direncini belirleyen bölge (quinolone resistance determining region; QRDR) adı verilmektedir. QRDR, *E. coli* suşlarında *Gyr*A'nın 67-106. aminoasitleri arasında bulunmaktadır. Bu bölge, *E. coli* yanısıra *Acinetobacter* spp., *Salmonella* spp., *P. aeruginosa* ve başta *S. aureus* olmak üzere Gram pozitif koklarda, türe bağlı değişimler dışında, yüksek düzeyde korunmuştur. *par*C, *Gyr*B ve *par*E alt

ünitelerinde de benzer QRDR bölgelerinin varlığı gösterilmiştir (73). Gram negatif bakterilerde ilacın birincil hedefi DNA-giraz iken, Gram pozitif bakterilerde topoizomeraz IV'tür (63, 166). Kinolon direnci, her biri MİK düzeylerini yükselten birkaç mutasyon sonucunda gelişmektedir (63).

Florokinolonların hücre içinde etkin konsantrasyona ulaşmasını engelleyen temel mekanizma aktif pompa sistemleridir (73). Kinolon grubu antibiyotiklerin atılımı ile ilgili pompalar, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. cepacia*, *S. maltophilia*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* gibi insan sağlığı açısından birçok önemli türde bulunmaktadır. Gram negatif bakterilerin kinolon pompa sistemleri RND (Resistance- Nodulation division), Gram pozitif bakterilerde ise genellikle MFS (Major family superfamiliy) üst ailesinde yer almaktadır. Kinolon direncinin görülebilmesi için genellikle pompa sistemlerinin aşırı üretilmesi gerekmektedir. Bu da pompa proteinlerinin ekspresyonunu arttıran ve kontrol genlerini ilgilendiren kromozomal bir mutasyondan kaynaklanmaktadır. Pompa sistemlerinin indüklenmesi ile sadece florokinolonlara değil, pompanın substratları olan beta laktamlar, kloramfenikol, tetrasiklinler, trimetoprim gibi farklı antibiyotiklere karşı çoğul direnç görülmektedir (mar-multi antimicrobial resistance-fenotipi) (126). Kinolon grubu ajanların yapılarına bağlı olarak pompa sistemlerinden etkilenmeleri değişebilmektedir. Hidrofobik ve C7 pozisyonunda büyük bir grup taşıyan kinolonların, pompa sistemlerinden daha az etkilendiği bildirilmektedir (63, 69).

Kinolonlarda plazmit aracılı direncin varlığı ise ilk kez 1998 yılında Martinez-Martinez ve ark. tarafından Alabama Üniversitesi'ndeki bir hastanın idrar örneğinden 1994 yılında izole edilen siprofloksasine dirençli *K. pneumoniae* suşunda gösterilmiştir. Kinolonlara dirençte yeni bir dönem açan bu çalışmada suşta saptanan pMG252 plazmidinin kinolonlara, beta laktamlara, aminoglikozitlere, sülfonamidlere, trimetoprim ve kloramfenikole direnç genlerini taşıdığı görülmüştür (94). Benzer plazmit aynı zamanda ve aynı kurumda izole edilen başka bir *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşunda da saptanmıştır. pMG252 plazmidinin klonlanması sonucu, 218 aminoasitten oluşan tekrarlayan pentapeptit ailesine ait bir proteini kodlayan ve *qnr* (quinolon resistance; *qnr*A1) ismi verilen gen bölgesinin, plazmit aracılı kinolon direncine neden olduğu belirlenmiştir. İn-vitro çalışmalarla saflaştırılmış *qnr* proteininin *E. coli* DNA-girazını siprofloksasinin inhibisyonundan koruduğu gösterilmiştir. *qnr* proteini tek başına düşük düzey kinolon direncine neden

olmasına rağmen, kromozomal farklı mekanizmaların birlikteliği ile yüksek düzey kinolon direncine yol açabilmektedir (94, 106). Daha sonraki yıllarda *qnr* geni, yeni varyantlarının bulunması ile (*qnr*, *qnr*A, *qnr*A1 gibi) tekrar isimlendirilmiştir. Ardından yapılan çalışmalarla 2005 yılında *qnr*S, 2006 yılında *qnr*B, 2008 yılında *qnr*C, 2009 yılında da *qnr*D genlerinin varlığı bildirilmiştir (106).

Genel olarak *qnr* proteinleri nalidiksik aside dirence ve norfloksasin, siprofloksasin, levofloksasin gibi florokinolonların duyarlılığında azalmaya neden olmasına rağmen *qnr*D pozitif suşların siprofloksasine azalmış duyarlılık gösterdikleri, nalidiksik asite ise duyarlı oldukları bildirilmiştir. *qnr* genleri, SHV, CTX-M, FOX, KPC, VEB, OXA, DHA gibi birçok farklı tipte beta laktamazla birlikte bulunmaları yanında, aadA1, aadA2, dfrA1, dfrA12, cmlA1, catB2, aac(6')-Ib-cr, sulI gibi birçok farklı antimikrobiyal direnç geni ile de ilişkilendirilmiştir (77, 139).

Diğer plazmit aracılı kinolon direncine neden olan *qep*A (quinolon efflux pump) geni ise 2007 yılında Japonya ve Belçika'da *E. coli* suşlarında gösterilmiştir. *qep*A geni 14 transmembran geri atım pompalarının MF (major facilitator) ailesiyle ilişkili olan 511 aminoasitlik bir proteini kodlayarak norfloksasin ve siprofloksasin gibi hidrofilik kinolonların hücre dışına pompalanmasına neden olmakta, böylece bu antibiyotiklerin MİK'lerini arttırmaktadır. Bundan bir yıl kadar sonra Fransa'dan *qep*A'nın bir varyantı olan *qep*A2'nin varlığı bildirilmiştir (46, 69, 106). Yakın zamanda ise Velasco ve ark. *Serratia marcescens* suşlarında kromozom kaynaklı *smaqnr* genini keşfetmişler, bu genin kinolon ve florokinolonlarda azalmış duyarlılığa neden olduğunu göstermişlerdir (173). Bugüne kadar yapılmış çalışmalara bakıldığında, plazmit aracılı kinolon direnci genlerinin sıklığının % 1 - % 50 gibi geniş bir aralıkta değiştiği görülmektedir. Bu durum, çalışmalarda belli ve farklı özellikte bakterilerin seçilmesinden kaynaklanmaktadır. Plazmit aracılı kinolon direnç genlerinin kinolonlara duyarlı bakterilerde bulunabildiği gösterilmiş olmakla birlikte, çalışmaların çoğunda kinolonlara dirençli bakteriler -*Enrerobacteriaceae* üyeleri- incelenmiştir (69, 106).

Türkiye'de ilk plazmit aracılı kinolon direnci geni, *qnr*, 2005 yılında Nazik ve ark. tarafından bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada 49 GSBL pozitif suşta *qnr*A geni varlığı araştırılmış, bir *E. cloacae* ve bir *C. freundii* suşunda (% 4) bulunduğu gösterilmiştir. Daha sonra, İstanbul, Ankara, İzmir, Kuzey Doğu Anadolu'dan

plazmitte kodlanan çeşitli (*qnr*A, *qnr*B, *qnr*S, aaa(b)-1b-cr) kinolon direnç genleri bildirilmiştir (106).

2.4.3.4. Etki Spektrumu

Siprofloksasin, tüm florokinolonlar gibi enterik Gram negatif çomaklar (çoğul direnç gösteren *Enterobacteriaceae* ailesindeki cinslere) da dahil aerobik Gram negatif çomaklara oldukça düşük konsantrasyonlarda (≤ 1 mg/L) hatta in-vitro olarak diğer kinolonlardan daha düşük konsatrasyonlarda etkilidir (46). *N. gonorrhoeae, N. meningitidis, M. catarrhalis* gibi Gram negatif koklara karşı ise çok etkili olduğu gösterilmiştir. *P. aeruginosa*'ya en etkili kinolondur. Hastane enfeksiyonu kökenli iki Gram negatif patojen *S. maltophilia* ve *Acinetobacter calcoacetius* ise değişken duyarlılık göstermektedir. Ayrıca *Mycobacterium, Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae*'ya orta düzeyde ve *Legionella pneumophila*'ya ise oldukça etkilidir. Ofloksasinle birlikte ikinci basamak antitüberküloz ajanlar arasında kabul edilmektedir. Gram pozitif bakterilere etkinlik iyi olmamakla birlikte, MSSA ve *Staphylococcus sapprophytiicus* gibi koagülaz negatif (KNS) bazı stafilokoklara etkilidir. MRSA suşlarının ise florokinolonlara karşı hızla direnç kazandıkları bilinmektedir. Streptokoklar az duyarlıdır, enterekok duyarlılığı değişkendir, anaerob etkinliği ise yoktur.

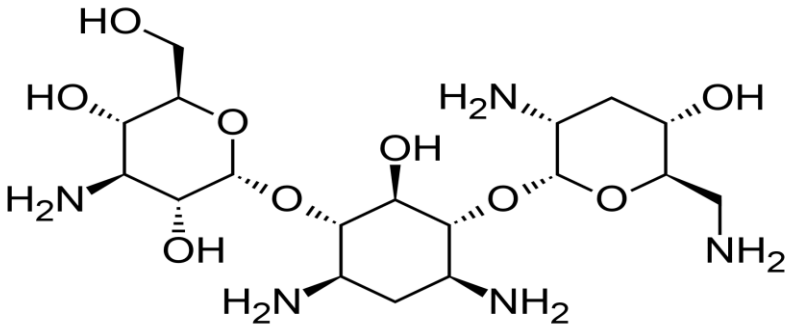
Antibakteriyel etkinlik, aminoglikozitler gibi konsantrasyona bağımlıdır. Ayrıca 1-2 saatlik bir post antibiyotik etkileri de söz konusudur. Diğer antibiyotiklerle kombinasyon genellikle herhangi bir etkileşime yol açmamaktadır. Rifampisin ile kombinasyonları ise *S. aureus*' a antogonistik etki göstermektedir (46, 161).

2.4.4. Tobramisin

2.4.4.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

İlk aminoglikozit grubu antibiyotik olan streptomisin, 1944 yılında *Streptomyces griseus*'un fermentasyonu ile elde edilmiş ve tüberküloz tedavisinde önemli bir gelişmenin başlangıcına neden olmuştur (28). Gram negatif bakterilerin etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde aminoglikozitlerin kullanılması ise ilk olarak 1957'de kanamisinin keşfedilmesiyle başlamış, daha sonra bunu etki spektrumlarına *P. aeruginosa*'nın da dahil olduğu aminoglikozitler izlemiştir.

Aminoglikozitler santral bir hekzoza glikozit bağlarıyla bağlı genellikle iki aminoşekerden oluşmuş aminoglikozitik aminosiklitollerdir. Tobramisin (1967), kimyasal olarak kanamisin B'ye benzemekte, iki hidroksil grubu yerine hidrojen girmesiyle yapısı oluşmaktadır. Tobramisin, *P. aeruginosa* üzerine gentamisinden daha aktiftir. Ancak Enterekoklar üzerine fazla aktivitesi yoktur. Tobramisinin oftalmik preparatları da vardır (19, 28, 46) (Şekil 2.7).



Şekil 2-7: Tobramisinin kimyasal yapısı

2.4.4.2. Etki Mekanizması

Aminoglikozitler mikoorganizmaların protein sentezini geri dönüşümsüz bir şekilde inhibe ederek bakterisit bir etki oluştururlar. Bakteri hücresinin periplazmik aralığında porlu kanallara kadar girerler. Sitoplazmik membrana penatrasyonları aktiftir ve enerji ile oksijen varlığı gerektirir. Aminoglikozitlerin ilk hedefi ribozomların 30S alt ünitesidir. Streptomisin hariç diğer aminoglikozitler 30S alt ünitesi üzerinde birçok bölgeye ve aynı zamanda ribozomun 50S alt ünitesine de bağlanırlar. Ribozomun deformasyonu protein sentezinin başlangıç fazını bozar. Aminoglikozitler aynı zamanda mRNA'nın yanlış okunmasına neden olarak aminoasitlerin değişimine yol açarlar (46, 65). Aminoglikozitler ribozomdaki hedeflerine ulaşmak için bakterilerin önce dış membranlarını sonra da sitoplazmik membranlarını aşmak zorundadırlar. Bu geçiş genellikle oldukça hızlı bir şekilde olmaktadır. Dış membrana bağlandıktan sonra, aminoglikozitler Gram pozitif bakterilerin dış membranlarının peptidoglikan aralıklarına ya da Gram negatif bakterilerin dış membranlarındaki porlarına sızarak pasif transportla geçiş yaparlar. Ribozomlara aktif transportla bir enerjiye dayalı olarak taşınabilmek için sitoplazmik membrana bağlanırlar. Enerji bağımlı olan bu faza EDP (energy dependent phase I) adı verilir. Ribozomların bağlanma alanları aminoglikozit moleküleriyle

doyduğunda antibiyotiğin serbestlenmesi hızlanır. Bu ikinci faz tam olarak aydınlatılmış değildir, fakat bir enerjiye (EDP_2) bağlı olarak meydana geldiği ve antibiyotiğin bakterisit etkisinin ortaya çıkmasını sağladığı belirtilmektedir. Sitoplazmik membranda K^+ iyonlarının, nükleotitlerin ve olasılıkla proteinlerin serbestlenmesi eşliğinde değişiklikler oluştuğu gösterilmiştir (19, 28, 46, 65).

2.4.4.3. Direnç Mekanizması

Aminoglikozitlere karşı gelişen direnç 3 mekanizma ile oluşabilmektedir. Bunlar, bakteri ribozomundaki hedef bölgelerin değişimi, antibiyotiğin hücre içine permeabilitisindeki azalma ve enzimatik dirençtir (46, 65).

Aminoglikozitlerin ribozomlarda bağlandıkları bölge olan 30S alt birimi 21 protein ve tek bir 16S RNA molekülünden oluşmaktadır. Bir ribozomal proteinde oluşan tek bir aminoasit değişikliği, o ribozomun antibiyotiğe düşük afinite göstermesine yol açmaktadır. Bu tip direncin en iyi örneği, streptomisine karşı oluşan dirençte gözlenmektedir. Bu şekilde streptomisine direnç geliştirmiş suşlarda diğer aminoglikozitlere karşı çapraz direnç görülmemektedir (65).

Aminoglikozitlerin hücre membranından transportu, oksijene bağımlı, enerji gerektiren bir olaydır. Anaerobik organizmalar ve anaerobik koşullarda üreyen fakültatif organizmalar bu nedenle aminoglikozitlere doğal bir direnç göstermektedirler. Bu tip dirençte direnç düzeyinin yüksek olmamasına karşın tüm aminoglikozitlere direnç oluşmaktadır. Klinikte permeabiliteye bağlı direncin en sık gözlendiği bakteriler *P. aeruginosa* suşlarıdır. Enterokoklarda aminoglikozitlere karşı gözlenen dirençte bu tiptir. Permeabiliteye bağlı diğer türde bir direnç te EDP-I'in engellendiği suşlarda gözlenmektedir. Bu suşlara klinikte de rastlanmaktadır (24, 46, 65).

Aminoglikozitlere dirençli klinik izolatlarda en sık gözlenen mekanizma, plazmit kontrolünde sentezlenen enzimler ile bu antibiyotiklerin inaktive edilmesidir. Bu enzimler hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilerde bulunmaktadırlar ve 3 gruba ayrılmaktadırlar. Bunlar, aminoglikozit molekülündeki hidroksil grubunu fosforile eden fosfotransferazlar (APH), hidroksil grubunu adenile eden adeniltransferazlar (ya da nükleotidil transferazlar ANT) ve amino grubunu asetile eden asetiltransferazlardır.

Aminoglikozitleri inaktive eden enzimlerden bazıları sadece yapısal olarak ilişkili bileşikleri etkilemektedir. Örneğin, Gram pozitif bakterilerde bulunan APH(2") enzimi 4,6-deoksistreptaminleri inaktive etmektedir. Buna karşın bazı enzimler birbiriyle ilişkili olmayan bileşiklere etki gösterebilmektedir. Örneğin, Gram pozitif bakterilerin APH (3') (5")-III enzimi hem 4,5 hem de 4,6 deoksistreptaminleri inaktive etmektedir. Enzimlerin substrat profillerinin benzer olduğu durumlarda aynı bileşik farklı enzimler tarafından inaktive edilebilmektedir. Ayrıca bir bakteride aminoglikozitleri modifiye eden birden fazla enzim sentezlenmesi, bazı enzimlerin substratları olmayan antibiyotikler kullanıldığında bile seleksiyona uğrayacağını göstermektedir. Bu enzimler bakterilerde konstitütif olarak sentezlenmekte ve konakçıya bağlı bir direnç fenotipi göstermektedir. Örneğin, AAC(6') enzimi *Pseudomonas'*ta geniş bir direnç spektrumu gösterirken, *E. coli*'de sadece kanamisine direnç oluşturmaktadır. Ayrıca bu enzimlerin dağılımlarında da bir özgüllük söz konusudur. Örneğin, ANT(2") *Klebsiella* türlerinde daha yaygındır. Aminoglikozitleri inaktive eden enzimler transpozonlarca da taşınabilmektedir. Aminoglikozit antibiyotiklere direncin sıklığı bu ilaçların kullanımına bağlı olarak değişmektedir. ANT(2"), tobramisine karşı oluşan dirençten sorumlu enzimdir. Tobramisine karşı gelişen direnç kullanış sıklığına ve uzunluğuna bağlı olarak artmaktadır (24, 26, 46, 65, 148).

2.4.4.4. Etki Spektrumu

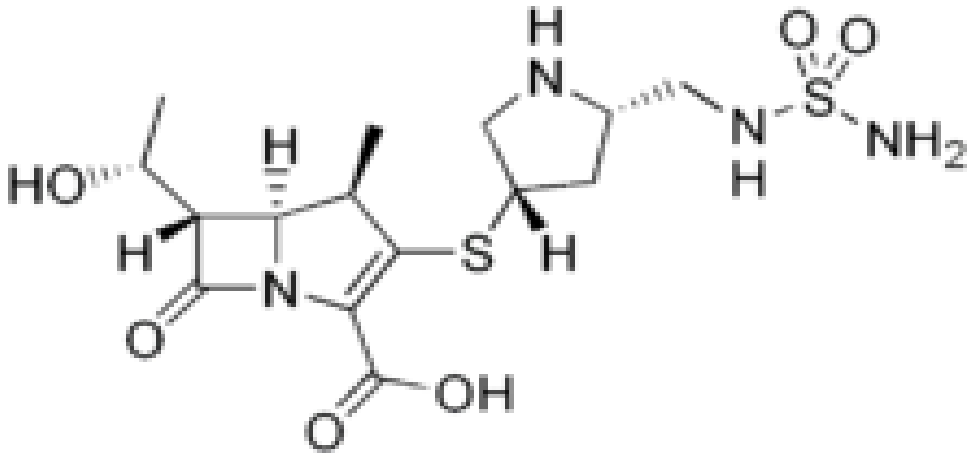
Aminoglikozitler doza bağımlı etki gösterirler. Antibiyotiğin konsantrasyonu MİK değerinin altına düşse de in-vivo ve in-vitro antibakteriyel etki devam etmektedir (post antibiyotik etki). Aminoglikozitler, anaeroblara, Streptokoklara ve *Listeria monocytogenes*'e karşı etkili değillerdir. Ancak özellikle aerob Gram negatif mikroorganizmalara karşı güçlü bakterisit etkiye sahiptirler. Atipik mikobakteriler ise bu grup antibiyotiklere dirençlidirler. Tobramisin, *P. aeruginosa*'ya karşı en etkili olan aminoglikozit grubu antibiyotiktir. Bu grup antibiyotikler beta laktam grubu antibiyotiklerle kombine edildiklerinde Streptokoklara, Enterokoklara ve Metisiline dirençli Stafilokoklara karşı sinerjist etki sağlandığı görülmüştür (28, 46, 143).

2.4.5. Doripenem

2.4.5.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

Diğer beta laktam grubu antibiyotiklerden farklı olarak karbapenemler beta laktam halkasının yanında doymamış beş üyeli bir halka ve bu halkada kükürt veya oksijen atomunun yerine bir karbon atomu içerirler. Karbapenemler üzerine ilk yapılan çalışmalarda, C-1 pozisyonundaki bu karbon atomunun beta laktamazlara karşı karbapenemlerin stabiliteleri ve etki spektrumlarında önemli bir rol oynadığı görülmüştür (124). İmipenem ve meropenemin 1980'li yıllardan bu yana ciddi enfeksiyonlarda güvenle kullanımını takiben 2001 yılında ertapenem ve daha sonra doripenemin dahil olması ile karbapenem grubu genişleme göstermiştir. Karbapenem grubunun 2007 yılında FDA (Food and Drug Administration) onayı alan en son üyesi doripenem monohidrattır (46, 127, 160). Doripenem (S-4661) bir 1-beta-metil grubu içeren sentetik bir analogtur (Şekil 2.8). Doripenem, diğer karbapenemler gibi konsantrasyona değil, zamana bağımlı bakterisidal etki göstermektedir.

Karbapenemler hem plazmit kökenli hem de kromozom kökenli beta-laktamazlara dayanıklıdırlar. Ancak son dönemlerde karbapenemleri parçalayan metallo-beta-laktamaz ve serin karbapenemazların ortaya çıkışı endişe uyandırmaktadır (46, 124).



Şekil 2-8: Doripenemin kimyasal yapısı

2.4.5.2. Etki Mekanizması

Beta laktam grubu antibiyotiklerin etkinliği bakteri hücresinde kendilerine afiniteleri olan penisilin bağlayan proteinlerin (PBP) hücredeki fonksiyonuna, sayısına ve bulunduğu bakterinin türüne göre değişmektedir. Her bakteri farklı sayıda PBP taşımaktadır (46). PBP'lerden 1a, 1b, 2 ve 3 bakteri hücresinin yaşaması için önemli fonksiyonları üstlenen büyük molekül ağırlıklı moleküllerdir ve beta laktam antibiyotikler için öldürücü hedef oluştururlar. Bunlardan PBP 1a, 1b, ve 2 bakteri hücresinin erimesine neden olurken, PBP 3 ise beta laktam antibiyotiklerle bloke edildiğinde hücre bölünemediğinden filaman şeklini alır. Düşük molekül ağırlığına sahip olan PBP'lerden PBP 4, 5 ve 6 ise karboksipeptidaz aktivitesine sahip olup büyük molekül ağırlıklı PBP'ler kadar önemli değillerdir. PBP 4 ayrıca hücre içinde endopeptidaz aktivitesine sahiptir. Doripenem, bütün beta laktam antibiyotikler gibi PBP'lere bağlanarak bakterinin hücre duvarı sentezini inhibe eder. Doripenemin öncelikle bağlandığı PBP'ler bakteriye göre değişmekle birlikte, PBP 1a, 1b, 2 ve 3 öncelikli olarak bağlandığı bölgelerdir. *P. aeruginosa*'da PBP 2,3 ve 4'e, *E. coli*'de PBP 2 ve 4'e bağlanırken *S. aureus*'ta ise PBP 1'e bağlanır. Sonuçta hücre morfolojisini değiştirerek ölümüne neden olur (46, 96, 160).

2.4.5.3. Direnç Mekanizması

Doripenem, *Amp*C ve GSBL'yi de içeren birçok genişletilmiş spektrumlu kromozomal ve plazmid aracılı beta laktamaz tarafından hidrolize karşı stabildir. Öte yandan diğer karabapenemler gibi karabapenemazlara (sınıf A, B (metallo beta laktamaz) ve D beta laktamazlar) karşı duyarlıdır. Sınıf A (SME, IMI, NMC, GES, KPC) ve D karbapenemazlar (OXA) serin bazlı hidrolitik mekanizma ile aktivitelerini gösterirken, sınıf B karbapenemazlar (IMP, VIM, SPM, GIM ve SIM) ise aktivite göstermek için çinko kullanırlar (13, 127, 160).

Tüm karbapenemlerin PBP 2a ve 5'e bağlanma afiniteleri düşüktür. PBP 2a, MRSA ve PBP 5 ise *E. faecium* için hedef bağlanma proteini olup, bu durum MRSA ve *E. faecium*'un gerek doripenem gerekse de diğer karbapenemlere direncini açıklar (96, 160). Doripeneme karşı direnç gelişimi için birkaç mekanizmaya ihtiyaç vardır. Bu mekanizmalardan ilki *Opr*D dış zar porin proteinlerinin yapımının azalması veya kaybolmasıdır. Bu durumda doripenemin MİK değerlerinde artış izlenir. İkinci mekanizma, ilacın hücre dışına atılmasını sağlayan efluks pompası ekspresyonudur.

Bu mekanizma doripenem ve meropeneme direnç gelişiminde etkili iken, imipenem bu mekanizmadan etkilenmez. Üçüncü yol ise bazı PBP'lerin değişime uğrayarak direnç gelişimine neden olmasıdır (18, 127).

Doripeneme direnç gelişmesi için birden fazla basamağa ihtiyaç duyulması nedeniyle direnç gelişimi azdır. Örneğin doripenem ve meropenem *P. aeruginosa'*ya karşı imipenemden daha etkindir. Çünkü direnç gelişimi için hem *Opr*D dış zar porin proteininde değişiklik olması, hem de efluks pompası varlığı şeklinde 2 basamak varlığı gereklidir (96, 160).

2.4.5.4. Etki Spektrumu

Doripenemin Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı in-vitro antimikrobik etkinlik spektrumu imipenem ve meropeneminkine benzer. Gram pozitif bakterilerden metisiline duyarlı *S. aureus* ve metisiline duyarlı koagulaz-negatif stafilokokların çeşitli suşlarına karşı en etkin karbapenemdir. Doripenem, *E. faecalis* suşlarına ve *E. faecium* dışı enterokok suşlarına karşı meropenem ve ertapenemden iki kat daha etkin, imipenemden ise iki kat daha az etkindir. Öte yandan vankomisine dirençli *E. faecium* suşlarının tümü doripeneme dirençlidir. Penisiline duyarlı, orta duyarlı ve dirençli *S. pneumoniae*'ye, penisiline duyarlı ve dirençli viridans streptokoklara ve ceşitli beta-hemolitik streptokoklara karşı in-vitro etkinlik göstermektedir (12, 18, 81, 142). Karbapenem sınıfı antibiyotikler, karbapenemleri hidrolize eden enzimler dışında, genel olarak beta-laktamazlarca parçalanmaya dayanıklıdır. Doripenem, dereprese *Amp*C beta-laktamazlar ve GSBL'lerce parçalanmaya karşı yüksek bir dayanıklılık gösterir.

Gerek dereprese *Amp*C ve GSBL oluşturan, gerekse vahşi tipteki (GSBL oluşturmayan) *Enterobacteriaceae* suşlarına karşı etkinliği, meropeneminkine benzer. Doripenem, GSBL oluşturan bakterilere karşı imipenemden 2-4 dilüsyon daha üstündür (142). Doripenem, *H. influenzae* ve *Moraxella catarrhalis* (beta-laktamaz oluşturan suşlar dahil) gibi yaygın solunum yolu patojenlerine karşı da etkinlik gösterir (18, 142). Doripenemin edinsel direnç mekanizmaları göstermeyen (vahşi tipteki) *P. aeruginosa* suşlarına karşı etkinliği, meropeneminkine benzer; imipeneminkinden ise 2 dilusyon kadar üstündür. Ayrıca imipenem ya da meropeneme dirençli kimi *P. aeruginosa* suşları doripeneme duyarlı olabilir.

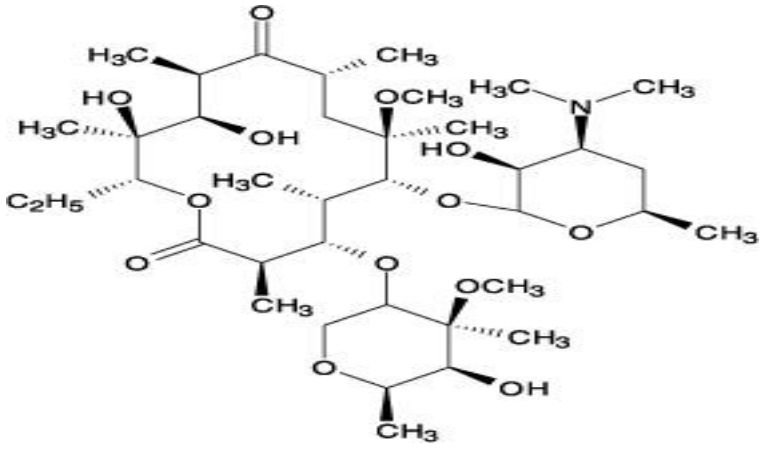
Laboratuar açısından bakılacak olursa, imipenem ya da meropeneme orta duyarlı ya da dirençli bulunan bakterilerin doripeneme duyarlılığının ayrıca test edilmesi gerekir (14, 142). Doripenemin *B. cepacia* suşlarına karşı etkinliği değişkendir ve meropeneminkinden daha düşük, imipeneminkine ise benzerdir. *S. maltophilia*, doripenem dahil tüm karbapenemlere belirgin direnç göstermektedir (18, 142). Doripenem, *Bacteroides* türleri, *Prevotella* türleri, *Clostridium* türleri, *Fusobacterium* türleri ve anaerob Gram pozitif koklar gibi klinik olarak önemli anaeroblara karşı iyi bir etkinlik gösterir (14).

MRSA, metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokoklar (MRKNS), *E. faecium, S. maltophilia, Chryseobacterium indologenes, Elizabethkingia meningoseptica (Chryseobacterium meningosepticum), Mycobacterium spp.* ve *Sutterella wadsworthensis* doripeneme dirençli olan bakterilerdir (13, 18, 160).

2.4.6. Klaritromisin

2.4.6.1.Yapı-Aktivite İlişkisi

Filipinler'de topraktan izole edilen bir *Saccharopolyspora erythraea* (orijinal adı *Streptomyces erythreus*) suşundan 1952 yılında elde edilen eritromisin, makrolidlerin ilk üyesidir. On dört üyeli makrosiklik lakton halkası içermektedir. Bu yapıya bir amino şeker olan dezozamin ve bir nötral şeker olan L-kladinoz adlı iki şeker molekülü yarı yarıya bağlıdır (16). Adlarını makrosiklik lakton halkasından alan makrolid antibiyotikler, halka sayısına göre sınıflandırılmaktadırlar (8, 16). Eritromisinden başka on dört üyeli diğer makrolidler, roksitromisin, klaritromisin, diritromisin, fluritromisin, on beş üyeli azitromisin, on altı üyelilerden spiramisin, josamisin, midekamisin, rokitamisin, miokamisin sayılabilir. Klaritromisin, on dört üyeli halka yapısına sahip bir makroliddir. Eritromisinin lakton halkasının C6 hidroksi grubu bir metoksi grubu içerecek şekilde değiştirilmiştir (Şekil 2.9). Bu değişiklik ile mide asidine dayanıklılık ve oral biyoyararlanım arttırılmış, gastrointestinal intolerans azaltılmıştır. Klaritromisinin film kaplı tabletleri, yavaş salınımlı tablet, intravenöz uygulama için flakon ve granül şeklinde oral süspansiyonları bulunmaktadır (185).



Şekil 2-9: Klaritromisinin kimyasal yapısı

2.4.6.2. Etki Mekanizması

Tüm makrolidler bakterilerde RNA bağımlı protein sentezini geri dönüşümlü olarak inhibe ederek bakteriyostatik etki ederler. Bu etkinliklerini 70S ribozomun 50S alt ünitine bağlanarak aynı yere t-RNA molokülünün bağlanmasını ve peptit zincirinin uzamasını önleyerek sağlarlar. Makrolidler yüksek intrasellüler konsantrasyona erişip intrasellüler patojenlerin tedavisinde yararlı sonuçlar vermektedir (8, 16, 112).

2.4.6.3. Direnç Mekanizması

Makrolidlere karşı hücre içine girişte azalma veya ilacın dışarı atılmasında artma, hedef bölgede değişiklik ve antibiyotik inaktivasyonu ile direnç gelişebilmektedir. *Enterobacteriaceae*'de antibiyotiğin hücre duvarından geçişi yetersizdir. *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp. eritromisine karşı intrinsik direnç gösterirler. Bunların dışında makrolid grubu antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde değişik mekanizmaların rolü vardır. Bakteri hücre duvar permeabitesi azalması, efluks pompa sistemi, 50S ribozom alt ünitindeki mutasyon ve/veya 50S ribozomal alt ünitindeki 23S ribozomal RNA'nın adenin metilasyonu ile tüm makrolidlere direnç gelişebilmektedir. Mikroorganizmaların makrolidlerle (M) birlikte, linkozamidlere (L) ve streptograminlere (SB) de dirençli hale gelmesinden dolayı bu direnç biçimi, MLSB direnci olarak adlandırılır. Örneğin, *S. epidermidis* ve *S. aureus*'da plazmit aracılı *msrA* geni ile kodlanan eritromisin direnci, antbiyotiğin dışarı pompalanması ile gelişmektedir (MLSB fenotipi). Diğer bir efluks sistemi ise, eritromisin ve diğer 14 ile 15 üyeli makrolidler için tanımlanmıştır. Eritromisin

dirençli *S. pyogenes, S. pneumoniae,* grup C streptokok ve enterokoklarda tanımlanan bu direnç (M fenotipi), *mef*A geni tarafından kodlanmaktadır (8, 16, 46).

Bakterinin 50S ribozomal alt ünitesinin 23S rRNA'sında adeninin dimetilasyonu ile oluşan değişim ile eritromisin ve birçok makrolid, linkozamidler ve streptogramin B'ye karşı direnç gelişmektedir (MLSB fenotipi). Bu direnç, plazmid üzerindeki *erm* genleri veya kromozomlar üzerindeki transpozonlar ile ilişkilidir. Eritromisin ve diğer bazı 14, 15 ve 16 üyeli makrolid antibiyotiklerin fosfodiesterazlarla enzimatik inhibisyonu da tanımlanmıştır (16, 46).

2.4.6.4. Etki Spektrumu

Enterobacteriaceae grubu ile *P. aeruginosa*'ya etkili olmayan makrolid grubu antibiyotikler birçok Gram pozitif mikroorganizmaya ve bazı Gram negatiflere etkili olmaktadırlar. Makrolidlerin etkili oldukları mikroorganizmalar gözden geçirildiğinde penisiline duyarlı *S. pneumoniae, Streptococcus viridans, S. pyogenes, H. influenzae, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Listeria monocytogenes, M. catarrhalis, Bordetella pertussis, Legionella pneumophila, Chlamydia pneumoniae, Chlamydia trachomatis, Campylobacter jejuni, Mycoplasma pneumoniae, Ureaplasma urealyticum, H. pylori, Borrelia burgdorferi, Mycobacterium avium* ve bazı Rickettsia suşları dikkat çekmektedir. Gram pozitif bakterilere eritromisinin etkinliğinin en az iki katı oranında klaritromisin ve azitromisin etkinliği söz konusudur. Klaritromisin ek olarak *Mycobacterium chelonae, Mycobacterium fortuitum, Mycobacterium leprae, Toxoplasma gondii* ve *Babesia microti* üzerine etkilidir (8, 46).

Klaritromisin ayrıca biyofilm yapısını parçalayıcı özelliği vardır. Özellikle *P. aeruginosa* biyofilmlerine karşı etkinliği ortaya koyulmasına rağmen diğer bakterilerle ilgili bu alanda yapılmış çok fazla çalışma günümüzde mevcut değildir (78).

2.4.7. Proton Pompası İnhibitörü; Esomeprazol

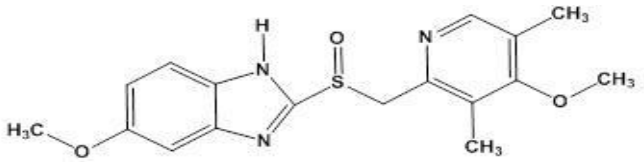
1980'lerin başlarında, paryetal hücreden H^+ iyon sekresyonu için H/K-ATPaz (proton pompası) gerekliliği gösterilmiş ve proton pompasına etkili ilaçlar geliştirilmeye çalışılmıştır. 1988 yılında ilk proton pompa inhibitörü (PPİ) olan omeprazol, klinikte kullanılmaya başlanmıştır. Bunu takiben diğer PPİ'ler olan

lansoprazol (1995), pantoprazol (1997), rabeprazol (1999) kullanıma sunulmuştur. En son omeprazolun bir izomeri olan esomeprazol (2001) geliştirilmiştir. Proton pompası inhibitörleri, paryetal hücredeki proton pompasında bulanan H/KATPaz'ı inhibe ederek mide asidini baskılarlar. İlaç kısa ömürlü olmasına karşın, H/K-ATPaz'ı geri dönüşümsüz olarak inaktive ettiğinden, etkileri uzun süreli olmaktadır. Bu nedenle günde tek doz kullanımları, genellikle yeterli olmaktadır. PPİ'ler, peptik ülser ve komplikasyonlarında, gastroözefajial reflü hastalıklarında, non-steroid antiinflamatuvar ilaçların kullanımına bağlı gastrointestinal lezyonlarda, Zollinger Elisson Sendromu'nda, dispepsi ve iki antibiyotik ile beraber *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda kullanılırlar (7, 83). Yaygın bir kullanım alanı olan PPİ'ler, yaklaşık 20 yıldır klinik kullanımda olup güvenilir bir görüntü sergilemektedirler (53).

PPİ'ler, benzimidazol türevleridir ve ön ilaç özelliği taşırlar. İlaçların oral yolla emilimi iyi olup, bağırsaktan emildikten sonra paryetal hücrelerin salgılanma kanalcıklarının asit ortamında, aktif şekillerine dönüşürler. Aktif şekillerine, paryetal hücrede dönüşebilmeleri için bağırsakta dağılan kaplamalı ilaç şeklinde alınmaları gerekir. Aksi halde, midenin asit ortamında aktif şekle dönüşür ve mide mukusu ile besinler içindeki proteinlerin sülfidril grubuna bağlanması neticesinde paryetal hücrelere yeterince ulaşamazlar. Paryetal hücrelerde, aktif sülfenik asit ve sülfonamid türevlerine dönüştükten sonra, disülfid bağlarıyla H/K-ATPaz'a kovalent olarak bağlanırlar ve 36 saat üzerinde, asit sekresyonunu inhibe ederler (141). PPİ'leri, proton pompaları aktif olduğu zaman daha etkili olmaktadırlar. Açken midedeki proton pompalarının % 5'i aktifken yemek sonrası % 60-70'i aktif hale geçmektedir. Bu nedenle PPİ'lerin yemekten önce alınmaları tavsiye edilir (182).

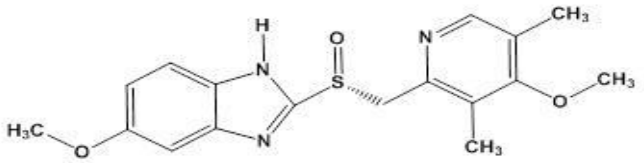
Omeprazol, S-omeprazol (esomeprazol) ve R-omeprazol olmak üzere iki enantiomerden oluşur (150) (Şekil 2.10).

a)



OMEPRAZOL (mezcla racémica de los dos enantiómeros)
5-Metoxi-2-(((4-metoxi-3,5-dimetilpiridin-2-il)metil)sulfinil)1H-benzo[d]imidazol

b)



ESOMEPRAZOL

Şekil 2-10: a) Omeprazolün kimyasal yapısı b) Esomeprazolün kimyasal yapısı

Omeprazol veya esomeprazol, yüksek doz veya tekrar edilen dozlarda alındığında ilk geçiş etkisinin ve sistemik eliminasyonunun azalması nedeniyle, maksimum plazma konsantrasyonuna (Cmax) ulaşmakta ve konsantrasyon-zaman eğrisinin altında kalan alan (area under the maximal plasma concentration-time curve)(AUC), lineer olmayan bir şekilde artış göstermektedir. Esomeprazol, R-omeprazol ve omeprazol ile karşılaştırıldığında, daha düşük oranda metabolize olması nedeniyle daha yüksek AUC değerine sahiptir. Benzer olarak gastroözefajial reflü hastalığı olan bireylerde, esomeprazolün 7. gün maksimum plazma konsantrasyonu ve AUC değeri, 1. güne kıyasla % 50 den % 80 varan bir artış göstermektedir (68). Esomeprazolun yaklaşık her dozunun % 80'i metabolitlerine dönüştürülerek idrarla atılmaktadır (7, 83).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bakteri Suşları

Çalışmamızda İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın rutin laboratuvarlarında incelenip, SVK'lerden izole edilen dört adet *K. pneumoniae* suşu kullanılmıştır. API 20 E (BioMerieux) uygulanarak tanısı yapılan bu suşlar KP-1, KP-2, KP-3 ve KP-4 olarak isimlendirilmiştir. Deney koşullarının standardizasyonu için antibiyotik duyarlılık deneylerinde European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing'in (EUCAST) önerileri doğrultusunda *E. coli* ATCC 25922 standart suşu kullanılmıştır (54). Antimikrobiyal kilit modeli deneylerinde ise biyofilm oluşturduğu bilinen *K. pneumoniae* ATCC 700603 standart suşu kullanılmış ve tüm çalışma boyunca KP-5 olarak isimlendirilmiştir (75). Deneylerde kullanılan dört adet *K. pneumoniae* suşunun antibiyotik direnç profilleri Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi ile İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmış ve KP-1, KP-2 suşları OXA-48 pozitif, KP-3 suşu VIM pozitif olarak bulunmuş, KP-4 suşunda ise direnç geni tespit edilmemiştir.

3.2. Kullanılan Antibiyotikler İle Esomeprazolün Ve Çözeltilerinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan antibiyotiklerden tigesiklin Wyeth İlaç A.Ş. (aktivitesi 986 µg/mg), kolistin sülfat Sanofi Dif İlaç A.Ş. (aktivitesi 1008 µg/mg), siprofloksasin Bayer İlaç A.Ş. (aktivitesi 992 µg/mg), tobramisin Nobel İlaç San. ve Tic. A.Ş. (aktivitesi 993 µg/mg), doripenem Johnson & Johnson İlaç A.Ş. (aktivitesi 998 µg/mg), klaritromisin Abbott Lab. İth. İhr. ve Tic. Ltd. Şti (aktivitesi 999 µg/mg) ve esomeprazol Astra Zeneca İlaç San. ve Tic. A.Ş. (aktivitesi 1000 µg/mg) tarafından temin edilmiştir.

Antibiyotiklerin stok çözeltilerini hazırlamak için aşağıdaki formülden yararlanılmıştır.

$$\text{Tartılan antibiyotik miktarı (mg)} = \frac{\text{Çözücünün hacmi (ml) x İstenen konsantrasyon (µg/ml)}}{\text{Antibiyotiğin aktivitesi (µg/mg)}}$$

Antibiyotiklerin her birinden uygun miktarlarda hassas terazide (Sartorius, CP224S) tartılmış, yeterli miktarda uygun çözücüde çözündürüldükten sonra, steril seyrelticisi ile stok çözeltileri hazırlanmıştır.

Tigesiklin, siprofloksasin, tobramisin, esomeprazol ve kolistinin çözündürülmelerinde ve seyreltilmelerinde steril damıtık su, doripenem için ise çözücü seyreltici olarak % 0.85 serum fizyolojik kullanılmıştır. Klaritromisinin çözündürülmesinde metanol, seyreltilmesinde ise 0,1 mol/L pH 6.5 fosfat tamponu kullanılmıştır. Kolistin, siprofloksasin, tobramisine ait stok çözeltiler altı ay içinde deneylerde kullanılmak üzere -80°C'de saklanmıştır. Doripenem, klaritromisin, tigesiklin ve esomeprazolün ise her deney öncesinde stok çözeltileri taze olarak hazırlanmıştır.

3.3. Besiyerleri Ve Çözeltiler

3.3.1. Triptik Soya Agar

Toz halindeki triptik soya agardan (Difco) 40 g tartılmış, damıtık suda çözündürülüp, 1000 ml'ye tamamlandıktan sonra tüplere 5 ml veya 15 ml olacak şekilde dağıtılmış, ardından otoklavda 120°C'de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyonun ardından 5'er ml besiyeri içeren tüpler yatık durumda bekletilerek soğutulmuş ve eğik triptik soya agar besiyerleri elde edilmiştir. 15 ml triptik soya agar besiyeri bulunan tüpler ise kullanılacağı zaman Petri kutularına dökülmüştür.

3.3.2. Triptik Soya Buyyonu

Toz halindeki triptik soya buyyonundan (Difco) 30 g tartılıp, damıtık suda çözündürülüp, 1000 ml'ye tamamlandıktan sonra tüplere 3 ml ve Erlen Meyer şişelerine 200 ml olacak şekilde dağıtılmış ve otoklavda 120°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

3.3.3. Mueller Hinton Buyyonu

Toz halindeki Mueller Hinton buyyonundan 21 g tartılıp, 1000 ml damıtık suda çözündürüldükten sonra, deney tüplerine 3 ml, Erlen Meyer şişelerine 200 ml olacak şekilde dağıtılmış ve otoklavda 120°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

Deneylerde katyon ilaveli Mueller Hinton buyyonu kullanılacağı zaman Erlen Meyer şişelerinde hazırlanan 200 ml'lik besiyerine iki değerli katyonlar olan kalsiyum ve magnezyum tuzlarının damıtık sudaki çözeltileri ilave edilmiştir. Bu amaçla $MgCl_2.6H_2O$ ve $CaCl_2.2H_2O$'nun 10 mg'lık çözeltileri hazırlanmış ve membran filtreden (Sartorius 0.2 µm) geçirilerek steril edilmiştir. Hazırlanan bu stok çözeltiler +4°C'de saklanmıştır. Mueller Hinton buyyonuna magnezyum iyonlarını içeren stok çözeltiden 25 mg/L, kalsiyum iyonlarını içeren stok çözeltiden ise 50 mg/L olacak şekilde ilave edilerek katyon ilaveli Mueller Hinton buyyonu hazırlanmıştır.

3.4. Deneylerde Kullanılan İnokulumların Hazırlanması

3.4.1. Mueller Hinton Buyyonunda $1x10^6$ kob/ml'lik İnokulum

Çalışmada kullanılacak *K. pneumoniae* suşlarının -80°C'de saklanan kültürlerinden Petri kutusundaki triptik soya agar besiyerine azaltma yöntemi ile ekimleri yapılmış; 37°C'lik etüvde bir gece inkübe edildikten sonra oluşan birbirine benzeyen 3- 4 koloniden içinde 3 ml Mueller Hinton buyyonu bulunan tüplerde bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Ekim yapılan bu tüplerdeki bakteri süspansiyonlarının spektrofotometrede (Hitachi, U-1800) 600 nm'de 0.170 absorbsiyon veren, $1x10^8$ kob/ml'lik süspansiyonları elde edilmiştir. Daha sonra hazırlanan bu bakteri süspansiyonları mikrodilüsyon deneylerinde kullanılmak üzere hazırlanışı 3.3.3.'de bildirilen Mueller Hinton buyyonunda 1/100 oranında seyreltilerek inokulum olarak kullanılan $1x10^6$ kob/ml'lik bakteri süspansiyonları elde edilmiştir.

3.4.2. Triptik Soya Buyyonunda $5x10^5$ kob/ml'lik İnokulum

Çalışmada kullanılacak *K. pneumoniae* suşlarının -80°C'de saklanan kültürlerinden Petri kutusundaki triptik soya agar besiyerine azaltma yöntemi ile ekimleri yapılmış; 37°C'lik etüvde bir gece inkübe edildikten sonra oluşan birbirine

benzeyen 3- 4 koloniden içinde 3 ml triptik soya buyyonu bulunan tüplerde bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Ekim yapılan bu tüplerdeki bakteri süspansiyonlarının spektrofotometrede (Hitachi, U-1800) 600 nm'de 0.170 absorbsiyon veren, 10^8 kob/ml'lik süspansiyonları elde edilmiştir. Daha sonra hazırlanan bu bakteri süspansiyonları biyofilm çalışmalarında kullanılmak üzere hazırlanışı 3.3.2.'de bildirilen triptik soya buyyonunda 1/200 oranında seyreltilerek inokulum olarak kullanılan $5x10^5$ kob/ml'lik bakteri süspansiyonları elde edilmiştir.

3.4.3. İnokulumdaki Bakteri Sayısının Saptanması

Hazırlanan inokulumlardaki bakteri sayısını saptamak amacıyla, 10^{-3}, 10^{-4} oranlarında steril fizyolojik tuzlu su ile seyreltmeler yapılmış ve hazırlanan her sayreltmeden 2 x 100'er µl alınarak, ayrı Petri kutularındaki triptik soya agar besiyerlerinin yüzeyine yayılarak tatbik edilmiştir. Yüzeyi kuruyan Petri kutuları 37°C'lik etüvde bir gece bekletildikten sonra, ertesi gün oluşan koloniler sayılmış, seyreltme faktörü dikkate alınarak inokulumların mililitresinde bulunan bakteri sayısı (kob/ml) saptanmıştır.

3.5. Deneylerde Kullanılan Suşların Biyofilm Oluşumu Yönünden İncelenmesi

Çalışmamızda kullanılan antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde oluşturduğu antimikrobiyal etkilerin biyofilmler üzerine etkisini saptamak amacıyla yapılan deneylere elverişli, istenen bakteri yoğunluğuna sahip, düzgün ve tekrarlanabilir biyofilmler elde edilebilmesi için deneylerin öncesinde suşlar biyofilm oluşumu yönünden incelenmiştir. Bu amaçla mikroplaklarda en uygun statik biyofilmi oluşturan koşullar belirlenmiştir. Bakterinin hazırlanışı 3.4.2.'de bildirilen triptik soya buyyonundaki kültüründen 24 kuyuluk mikroplaklara 500'er µl dağıtılmış, 48 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra üst sıvı alınarak kuyular steril fizyolojik tuzlu su ile bir defa yıkanmıştır. Bu şekilde elde edilen biyofilmin kütlesi, kristal viyole deneyi ile belirlenmiştir. Bu amaçla, kuyulara 500'er µl metanol ilave edilmiş, 15 dakika bekleme süresinin sonunda biyofilm tespit edilmiştir. Biyofilmler % 0,1'lik kristal viyole çözeltisiyle 5 dakika boyandıktan sonra, çeşme suyuyla boya fazlası akıtılmış, biyofilm oluşumu kontrast faz mikroskobunda (Olympus CKX 41) gözlemlenmiştir. Biyofilme difüze olan boyanın serbest bırakılması amacıyla mikroplaklara % 95'lik etanol ilave edildikten

sonra orbital çalkalayıcıda 30 dakika tutulmuştur. Biyofilm kültelerinin serbest bırakmış olduğu kristal viyolenin verdiği absorbans değerleri etanole karşı mikroplak okuyucusunda 595 nm'de (Bio-Rad 3550) ölçülmüştür. Her suş için deneyler üç kez tekrar edilmiştir.

3.5.1. İn-vitro Kateter Modelde Bakteri Biyofilminin Hazırlanması

Çalışmamızda in-vitro kateter modelde biyofilm oluşturulması amacıyla 7 French 3 lümenli SVK'lar (Fornia, Türkiye) kullanılmıştır. Bu amaçla, aseptik şartlarda kateterler 1'er cm olacak şekilde steril neşter yardımıyla kesilmiş, elde edilen bu kateter segmentleri, bakterinin hazırlanışı 3.4.2.'de bildirilen triptik soya buyyonundaki kültüründe cam Petri kutuları içerisinde 48 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra, bu kateter segmentleri steril pens yardımıyla alınarak steril tuzlu su ile 10 kez yıkanmış ve kateter biyofilmleri deneylerde kullanılmak üzere hazırlanmıştır (135, 136). Her koşul için tüm deneyler boyunca üçer kateter segmenti kullanılmış ve tüm deneyler üç kez tekrar edilmiştir.

3.5.2. Biyofilmdeki Bakteri Sayısının Saptanması

Hazırlanan biyofilmdeki bakteri sayısını saptamak amacıyla steril tuzlu su ile yıkanmış kateter segmentlerinden 3'er adet alınarak 1 ml steril tuzlu su içeren 15 ml'lik polipropilen tüpe aktarılmıştır. Segmentler üzerindeki biyofilmi parçalamak amacıyla 5 dakika süren sonikasyon (Bandelin Sonopuls HD 2200, 2. devir) işleminin ardından 1 dakika süreyle girdap karıştırıcıda (Heidolph Reax Top) çalkalanmıştır. Hazırlanan süspansiyon içerisindeki bakteri sayısı (kob/ml), uygun seyreltmeler yapılarak 3.4.3. kısmında bildirildiği şekilde belirlenmiştir.

3.6. Diğer Malzemeler

Çalışmamızda, Minimum inhibitör konsantrasyonlarının (MİK) deneylerinde 96 kuyulu, polistiren, U tabanlı steril mikroplaklar (Greiner); biyofilm kültürleri için ise 24 kuyulu, düz tabanlı polistirenden yapılmış steril mikroplaklar (Greiner), cam malzemeden yapılmış steril Petri kutuları ile 15 ml'lik polipropilen tüpler (Greiner) kullanılmıştır. Besiyerlerinin, antibiyotik çözeltilerinin ve bakteri süspansiyonlarının mikroplaklara ve kateter biyofilmlerine tatbik edilmesinde 8 kanallı otomatik pipetör (Gilson, Pipetman) veya tek kanallı otomatik pipetörler (Gilson, Pipetman) ile

pipetlere uygun, otoklavda 120°C'de 15 dakika steril edilmiş pipetörlere ait polipropilen uçlar kullanılmıştır. İn vitro kateter modelde antimikrobiyal kilit deneyleri sırasında ise 37°C'lik çalkalamalı su banyosu kullanılmıştır.

3.7. MİK Saptanması

3.7.1. Deney Koşullarının Standardizasyonu

Çalışmada kullanılan yöntemlerin uluslararası standartlara uygunluğunun saptanması amacıyla *E. coli* ATCC 25922 standart suşu kullanılmıştır (54). Bu amaçla hazırlanışı 3.3.3. kısmında belirtilen Mueller Hinton buyyonunda, antibiyotiklerin 3.7.2. kısmında bildirildiği şekilde seri dilüsyonları yapılmış; bunun sonucunda kolistin, tobramisin, siprofloksasin, klaritromisin ve doripenemin 256-0.25 µg/ml, tigesiklinin 64-0.03 µg/ml ve esomeprazolün 5000-2.44 µg/ml arasında değişen konsantrasyonları elde edilmiştir. Daha sonra kuyulara *E. coli* ATCC 25922 suşunun 3.4.1. kısmında belirtildiği şekilde hazırlanan süspansiyonu ilave edilmiştir. Mikroplağın üzeri steril bir kapakla kapatılarak, 37°C'lik etüvde 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun sonunda üremenin görülmediği en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edilmiştir.

3.7.2. Çalışmada Kullanılan Antibiyotiklere Ait MİK Değerlerinin Saptanması

Çalışmada İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın rutin laboratuvarlarında SVK'li hastalardan izole edilen 4 adet *K. pneumoniae* ile biyofilm oluşturduğu bilinen ve KP-5 olarak isimlendirilen *K. pneumoniae* ATCC 700603 standart suşuna karşı kolistin, tigesiklin, doripenem, tobramisin, siprofloksasin, klaritromisin ve esomeprazolün MİK değerleri araştırılmıştır.

Mikrodilüsyon yöntemiyle antibiyotiklerin MİK değerlerini saptamak için, mikroplağın 1 numaralı kolonu dışında kalan her kuyusuna hazırlanışı 3.3.3. kısmında bildirilen Mueller Hinton buyyonundan 50'şer µl dağıtılmış, sonra 1 ve 2 numaralı kolonlara antibiyotiklerin katyon ilaveli Mueller Hinton buyyonundaki son konsantrasyonunun iki katı konsantrasyondaki çözeltilerinden 50'şer µl ilave edilerek 2-11 numaralı kuyular arasında bir seri dilüsyon yapılmıştır. Bundan sonra mikroplağın A sırasındaki 12 numaralı kuyusu dışında kalan tüm kuyularına,

hazırlanışı 3.4.1.'de bildirilen bakteri süspansiyonundan 50'şer µl konularak, 1-11 numaralı kuyularda gereken antibiyotik konsantrasyonuna ulaşılmıştır. A sırasının 12 numaralı kuyusu besiyerinin sterilite; mikroplaktaki diğer 12 numaralı kuyular ise denenen suşların üreme kontrolü için kullanılmıştır. Ekim yapılan mikroplağın üzeri steril bir kapakla kapatılıp, buharlaşmayı önlemek için bir naylon kılıf içine yerleştirildikten sonra 37°C'de 18-20 saat inkübe edilmiştir. Ertesi gün üremenin görülmediği en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edilmiştir. Her suş için deneyler üç kez tekrar edilmiştir (54).

3.8. İn-vitro Kateter Modelde Antimikrobiyal Kilit Çalışmalarının Yapılması

Bu amaçla, hazırlanışı 3.2. kısmında bildirilen antibiyotiklerin (kolistin, tigesiklin, doripenem, tobramisin, siprofloksasin) final konsantrasyonu 400 x MİK olacak şekilde çözeltileri hazırlanmıştır (136). Klaritromisin 200 mg/ml (serum konsantrasyonunun yaklaşık 10 katı) ve esomeprazol ise 0.25 mM konsantrasyonlarında kullanılmışlardır (119, 154). İstenen konsantrasyonlarda hazırlanan antibiyotik çözeltileri tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde olacak şekilde 15 ml'lik polipropilen tüplere 1'er ml dağıtılmış, hazırlanışı 3.5.1. kısmında bildirilen biyofilmli kateter segmentlerinden 3'er adet alınarak bu antibiyotikli tüplere ilave edilmiştir. Deney boyunca kontrol olarak kullanılan kateter segmentleri ise içinde 1 ml triptik soya buyyonu bulunan tüplere koyulmuştur. Tüpler 24 saat boyunca 37°C'de çalkalamalı su banyosunda tutulmuştur. Her tüpten 0., 2., 4., 6. ve 24. saat aralıklarla 3'er kateter segmenti alınmış, bu segmentler 3 kez 1 ml steril tuzlu su ile yıkanmış ve içinde 1 ml steril tuzlu su bulunan 15 ml'lik polipropilen tüplere aktarılmıştır. Segmentler üzerindeki biyofilmi parçalamak amacıyla 5 dakika süren sonikasyon (Bandelin Sonopuls HD 2200 2.devir) işleminin ardından 1 dakika süreyle girdap karıştırıcıda (Heidolph Reax Top) çalkalanmıştır. Hazırlanan süspansiyon içindeki canlı bakteri sayısı (kob/ml) uygun seyreltmeler yapılarak 3.4.3. kısmında bildirildiği şekilde hesaplanmıştır. Her koşul için tüm deneyler boyunca 3'er kateter segmenti kullanılmış ve tüm deneyler 3 kez tekrar edilmiştir (119).

3.9. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Verileri Doğrultusunda Antibiyotiklerin 24 Saatin Sonunda Göstermiş Oldukları Etkilerin Değerlendirilmesi

Çalışmamızın 3.8. bölümünde anlatılan in-vitro kateter modelde antimikrobiyal kilit deneylerinde kolistin, tigesiklin, doripenem, tobramisin, siprofloksasinin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile olan kombinasyonlarının beş *K. pneumoniae* suşu üzerine göstermiş oldukları etkilerden elde edilen değerler zaman "x" ekseninde, bakteri sayısının logaritmik değeri "y" ekseninde olacak şekilde gösterilerek zaman-ölüm eğrileri çizilmiş, sonuçlar NCCLS verilerine göre (105) aşağıdaki şekilde yorumlanmıştır.

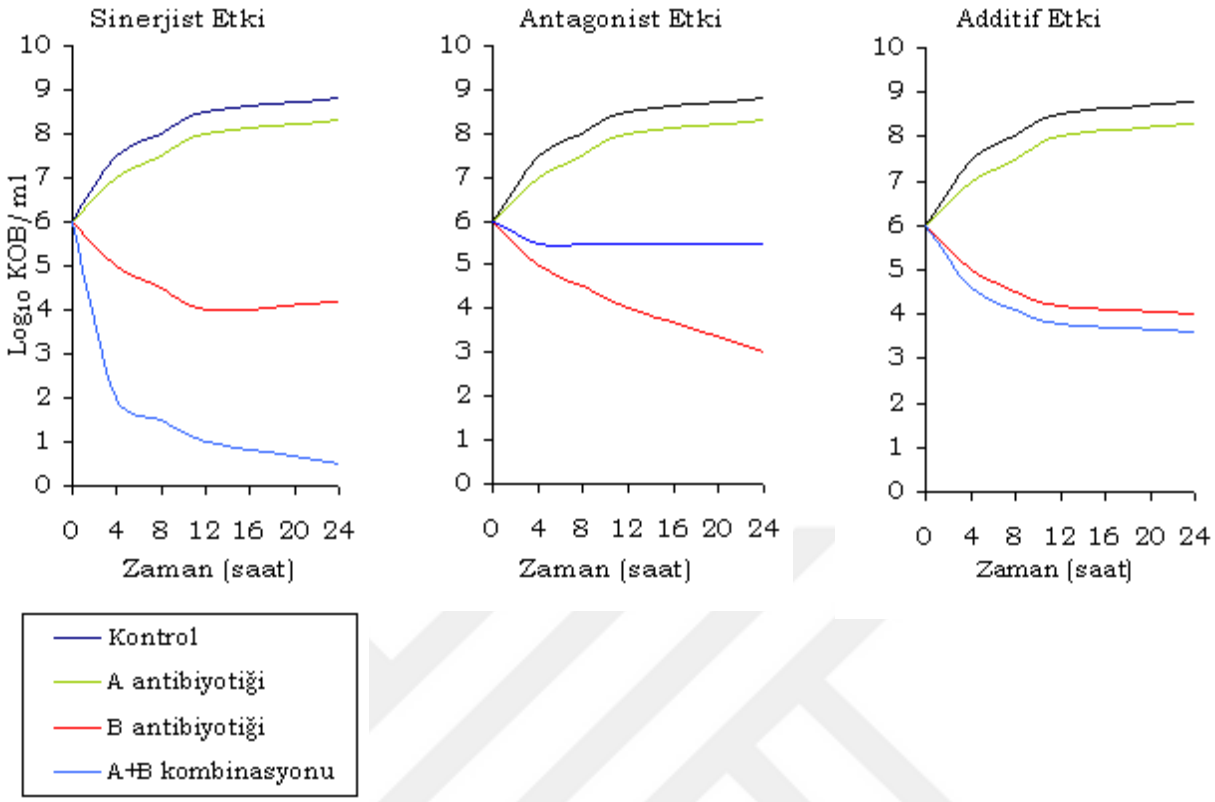
a) Sinerjist etki: Antibiyotiklerin 24. saatte kombinasyon halinde oluşturduğu etki sonucu elde edilen bakteri sayısının, kombinasyonda bulunan antibiyotiklerden daha aktif olanın tek başına oluşturduğu etki sonucu elde edilen bakteri sayısına göre 100 kat ya da daha fazla ($\geq$ 2 $\log_{10}$) azalmış olması sinerjist etki olarak kabul edilmiştir.

b) Additif etki: Antibiyotiklerin 24. saatte kombinasyon halinde oluşturduğu etki sonucu elde edilen bakteri sayısının, kombinasyonda bulunan antibiyotiklerden daha aktif olanın tek başına oluşturduğu etki sonucu elde edilen bakteri sayısına göre <10 kat (1 $\log_{10}$) azalmış ya da artmış olması additif etki olarak kabul edilmiştir

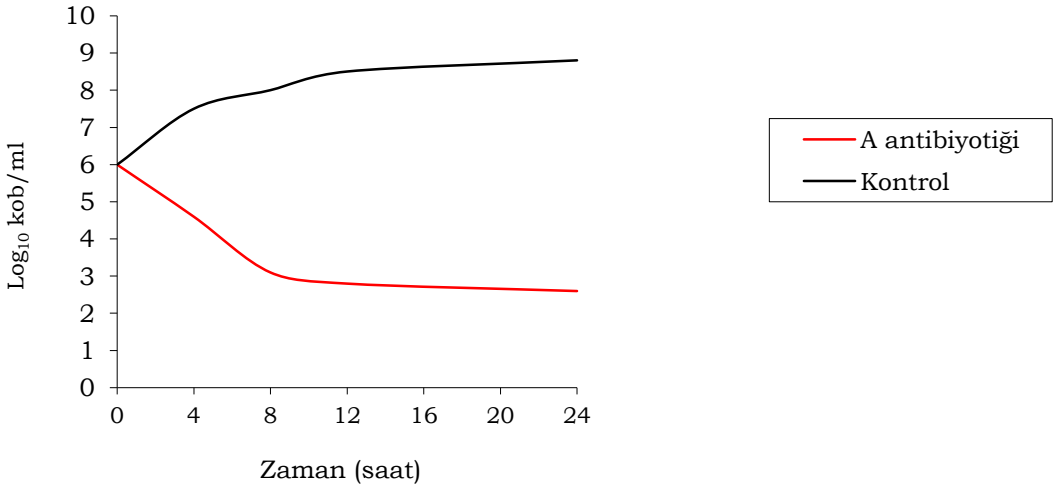
c) Antagonist etki: Antibiyotiklerin 24. saatte kombinasyon halinde oluşturduğu etki sonucu elde edilen bakteri sayısının, kombinasyonda bulunan antibiyotiklerden daha aktif olanın tek başına oluşturduğu etki sonucu elde edilen bakteri sayısına göre 100 kat ya da daha fazla ($\geq$ 2 $\log_{10}$) artmış olması antagonist etki olarak kabul edilmiştir.

Bu değerlendirmelere ait grafikler Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

Antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde kombinasyon halinde göstermiş oldukları $\geq$ 3 $\log_{10}$'luk azalma ise NCCLS verilerine göre bakterisidal etki olarak yorumlanmıştır. Bakterisidal etkiye ait grafik Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3-1: Antibiyotik kombinasyonlarının değerlendirilmesini gösteren eğriler



Şekil 3-2: Antibiyotiklerin bakterisidal etkisini gösteren eğriler

3.10. İn-vitro Kateter Model Üzerinde Antimikrobiyal Kilit Çözeltilerinin Etkinliğinin Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope-SEM) ile Görüntülenmesi

Çalışmamızda kullandığımız üç antibiyotiğin, tobramisin, tigesiklin ve kolistinin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde kateter biyofilmi üzerinde oluşturdukları fiziki değişiklikler SEM ile görüntülenmiştir. SEM, çok küçük bir alana odaklanan yüksek enerjili elektronlarla yüzeyin taranması prensibiyle çalışan bir görüntüleme yöntemidir. Bu yöntemde, elektronlar, numune yüzeyinin 10 nm veya daha düşük derinliklerinden gelerek, özellikle numune yüzeyinin engebeli (topografik) yapısıyla ilişkili yüksek çözünürlüğe sahip bir görüntüsünü oluşturmaktadırlar (108). Bu nedenle çalışmamızda antibiyotiklerin kateter biyofilmi üzerinde oluşturdukları değişimlerin görüntülenmesinde SEM tercih edilmiştir. Görüntü çekimleri İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi'nde hizmet alımı ile yapılmıştır. SEM çekimleri hizmet alımı şeklinde yapıldığından kateter biyofilmleri üzerine benzer etkili bulunan antibiyotiklerden birinin tercih edilmesi esas alınmış, bu nedenle doripenem ve siprofloksasine ait sonuçların fotoğraf çekimi yapılmamıştır.

Görüntüleme çalışmalarında, 3.8. bölümünde anlatıldığı şekilde kateter segmentleri alüminyum altlık üzerine çift taraflı karbon bant ile yapıştırılmış, hazırlanan örnekler kaplama cihazında 90 saniye boyunca altın ile kaplanmıştır. Altın ile kaplanan örnekler SEM cihazına yerleştirilerek görüntü çekimi yapılmıştır.

3.11. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda kolistin, tigesiklin, doripenem, tobramisin, siprofloksasinin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde beş adet *K. pneumoniae* suşuna karşı etkinliklerini gösteren bulguların istatistiksel analizi ve elde edilen sonuçların kontrolle karşılaştırılması için tek yönlü varyans analiz testi olan ANOVA ile birlikte Bonferroni'nin çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. MİK Saptanmasına Ait Bulgular

4.1.1. Standart Suşa Ait Bulgular

Deney koşullarının standardizasyonu için *E. coli* ATCC 25922 suşuna karşı mikrodilüsyon yöntemiyle denenen antibiyotiklerin MİK değerlerinin EUCAST tarafından önerilen sınırlar içerisinde olması esas alınmıştır (54). Çalışma süresince yapılan deneylerde antibiyotiklerin ve esomeprazolün standart suşa karşı saptanan MİK değerleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4-1: Antibiyotikler ile esomeprazolün *E. coli* ATCC 25922 suşuna karşı saptanan MİK değerleri (µg/ml)

Antibiyotikler ve Esomeprazol	MİK
Siprofloksasin	0.008
Tobramisin	0.5
Doripenem	0.03
Tigesiklin	0.125
Kolistin	0.5
Klaritromisin	256
Esomeprazol	> 512

4.1.2. Klinik Örneklerden İzole Edilmiş Ve Standart *K. pneumoniae* Suşlarına Ait Bulgular

Çalışmada kullanılan SVK'lerden izole edilen KP-1, KP-2, KP-3, KP-4 suşları ile standart KP-5 suşuna karşı mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerleri (µg/ml) siprofloksasin için sırasıyla 128, 8, 2, 0.25, 0.25; tobramisin için sırasıyla 64, 16, 32, 0.5, 8; doripenem için sırasıyla 8, 2, 0.25, 0.5, 0.125; tigesiklin için sırasıyla 4, 0.5, 0.06, 1, 0.5; kolistin için sırasıyla 0.25, 0.125, 0.125, 0.125, 0.125; klaritromisin için sırasıyla > 256, 256, > 256, > 256, > 256 ve esomeprazol için sırasıyla > 5000, 5000, 5000, > 5000, > 5000 olarak belirlenmiş ve bunlara ait sonuçlar Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

EUCAST'in mikrodilüsyon duyarlılık kriterlerine göre siprofloksasin için duyarlı sınırları ≤ 0.5 µg/ml ve dirençli sınırı > 1 µg/ml; tobramisin için duyarlı sınırı ≤ 2 µg/ml ve dirençli sınırı > 4 µg/ml; doripenem ve tigesiklin için duyarlı sınırı ≤ 1 µg/ml ve dirençli sınırı > 2 µg/ml; kolistin için duyarlı sınırı ≤ 2 µg/ml ve dirençli sınırı > 2 µg/ml olarak kabul edilmektedir. Bu veriler doğrultusunda, çalışmamızda kullanılan ve OXA-48 direnç geni taşıdığı tespit edilen KP-1 suşunun doripenem, siprofloksasin, tobramisin ve tigesikline karşı dirençli, OXA-48 direnç geni taşıdığı tespit edilen KP-2 suşunun ise doripenem, siprofloksasin ve tobramisine karşı dirençli, VIM direnç geni taşığıdı tespit edilen KP-3 suşunun da siprofloksasin ve tobramisine dirençli olduğu tespit edilmiştir (54). KP-4 suşu çalışılan tüm antibiyotiklere karşı duyarlı iken KP-5 suşu ise tobramisine karşı dirençli bulunmuştur. *K. pneumoniae*'nin tedavi protokolünde yeri olmayan klaritromisine karşı tüm suşlarda yüksek MİK değerleri saptanmıştır. Bir PPİ olan esomeprazol ile 5000 ve > 5000 µg/ml değerlerinde MİK saptanmıştır.

Tablo 4-2: Antibiyotikler ile esomeprazolün *K. pneumoniae* suşlarına karşı saptanan MİK değerleri (µg/ml)

Bakteri	Direnç	MİK						
		Sip	Tob	Dor	Tig	Kol	Kla	Eso
KP-1	OXA-48	128	64	8	4	0.25	> 256	> 5000
KP-2	OXA-48	8	16	2	0.5	0.125	256	5000
KP-3	VIM	2	32	0.25	0.06	0.125	> 256	5000
KP-4	-	0.25	0.5	0.5	1	0.125	> 256	> 5000
KP-5	-	0.25	8	0.125	0.5	0.125	> 256	> 5000

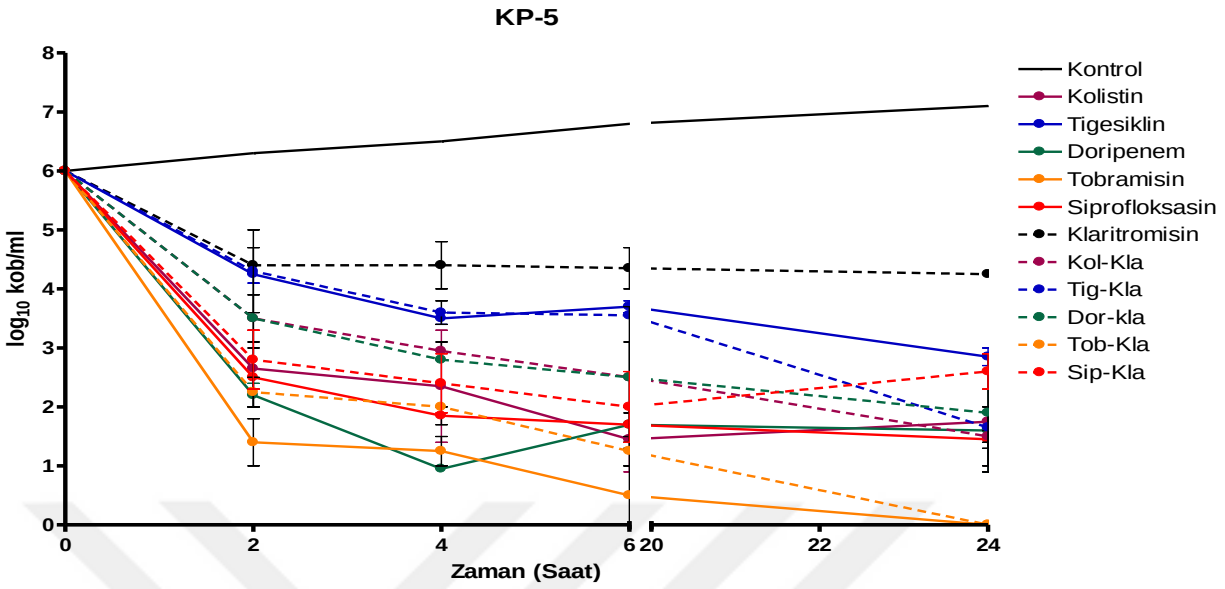
Sip: siprofloksasin, Tob: tobramisin, Dor: doripenem, Tig: tigesiklin, Kol: kolistin, Kla: klaritromisin, Eso: esomeprazol.

4.2. İn vitro Kateter Modelde Antimikrobiyal Kilit Çalışmalarına Ait Bulgular

4.2.1. Standart Suşa Ait Bulgular

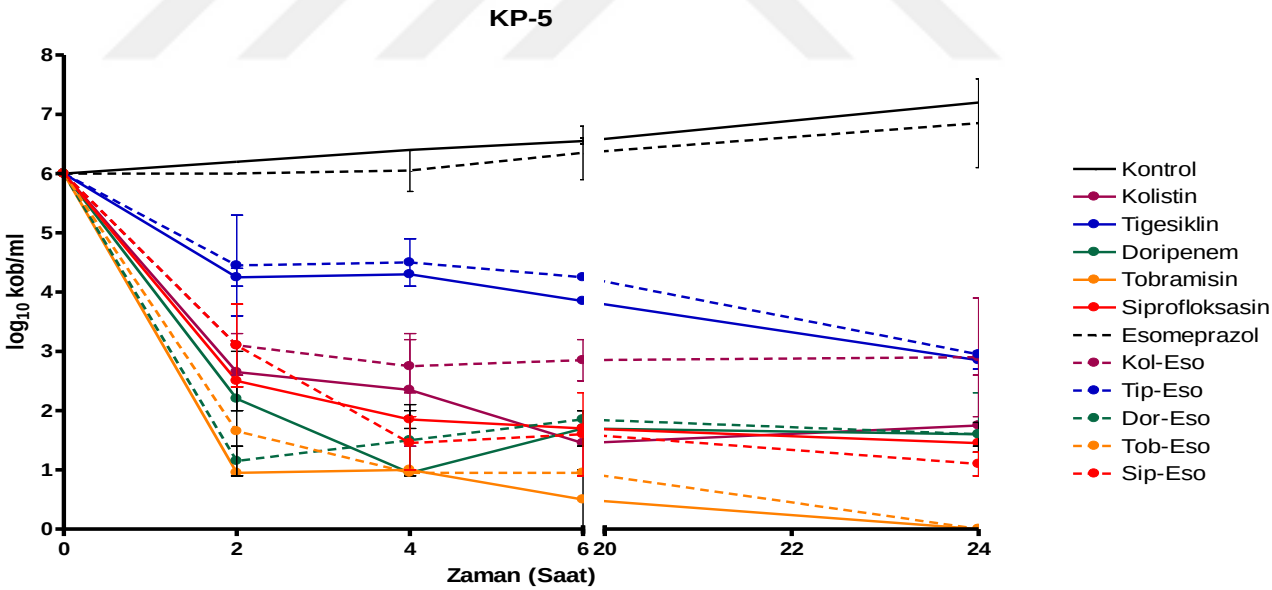
Çalışmada kullanılan ve KP-5 olarak isimlendirilen *K. pneumoniae* ATCC 700603 standart suşuna ait biyofilm oluşturma yeteneği 3.5. bölümünde anlatıldığı gibi çalışılmış ve bu suş biyofilm pozitif olarak tespit edilmiştir. Daha sonra bu suşun in-vitro kateter modelde hazırlanmış biyofilmlerine karşı denenen antibiyotiklerin 400 x MİK konsantrasyonları tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde uygulanmıştır. Antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin ile kombinasyon halindeki sonuçları Şekil 4.1'de; esomeprazol ile olan kombinasyonları ise Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Buna göre, çalışılan tüm antibiyotikler tek başlarına uygulandıklarında, in-vitro kateter modelde hazırlanmış biyofilmdeki canlı bakteri sayısını 24 saat sonunda > 3 $\log_{10}$ azaltarak bakterisidal etki göstermişlerdir ($p < 0.001$). Ayrıca KP-5 suşuna karşı tobramisin tek başına uygulandığı kilit çözeltisinde ise 24 saatin sonunda biyofilmin tamamen eradike olduğu ve canlı bakteri sayısının tespit edilemediği görülmüştür. Çalışılan tüm antibiyotiklerin klaritromisin veya esomeprazol

ile olan kombinasyonlarının ise additif etki gösterdikleri tespit edilmiştir.



Şekil 4-1: Antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin ile kombinasyon halinde KP-5 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri

Kol; kolistin, Tig; tigesiklin, Dor; doripenem, Tob; tobramisin, Sip; siprofloksasin, Kla; klaritromisin.



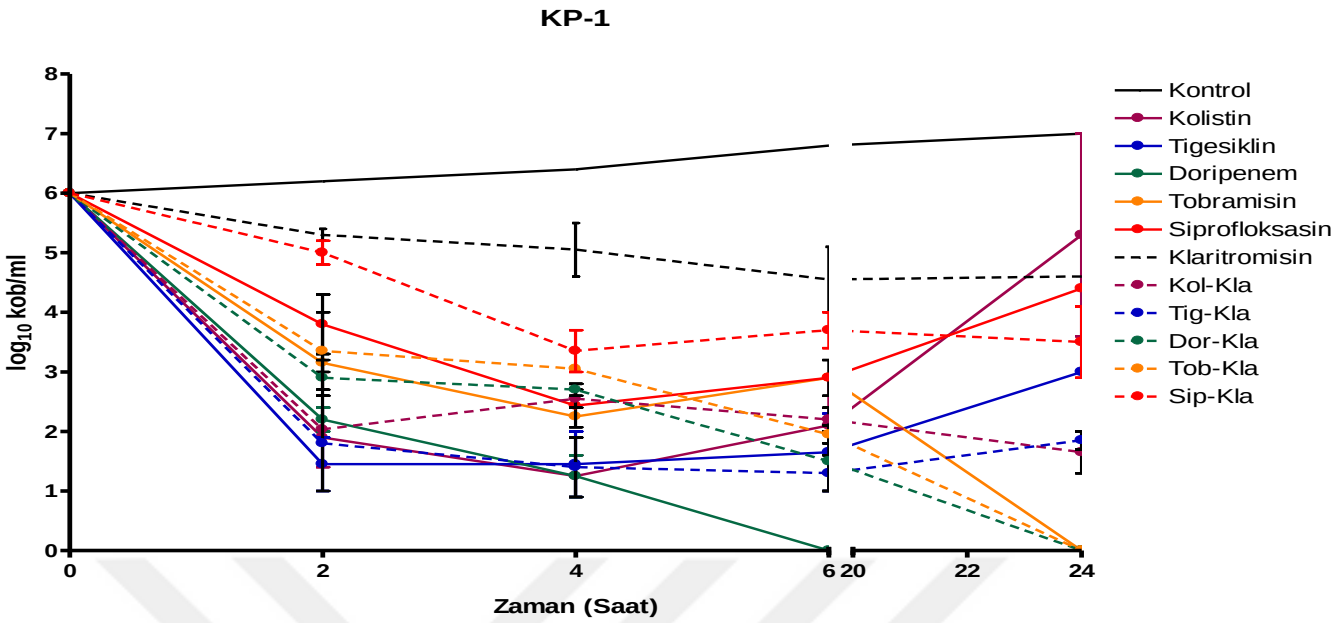
Şekil 4-2: Antibiyotiklerin tek başlarına ve esomeprazol ile kombinasyon halinde KP-5 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri

Kol; kolistin, Tig; tigesiklin, Dor; doripenem, Tob; tobramisin, Sip; siprofloksasin, Eso; esomeprazol

4.2.2. Klinik Örneklerden İzole Edilmiş *K. pneumoniae* Suşlarına Ait Bulgular

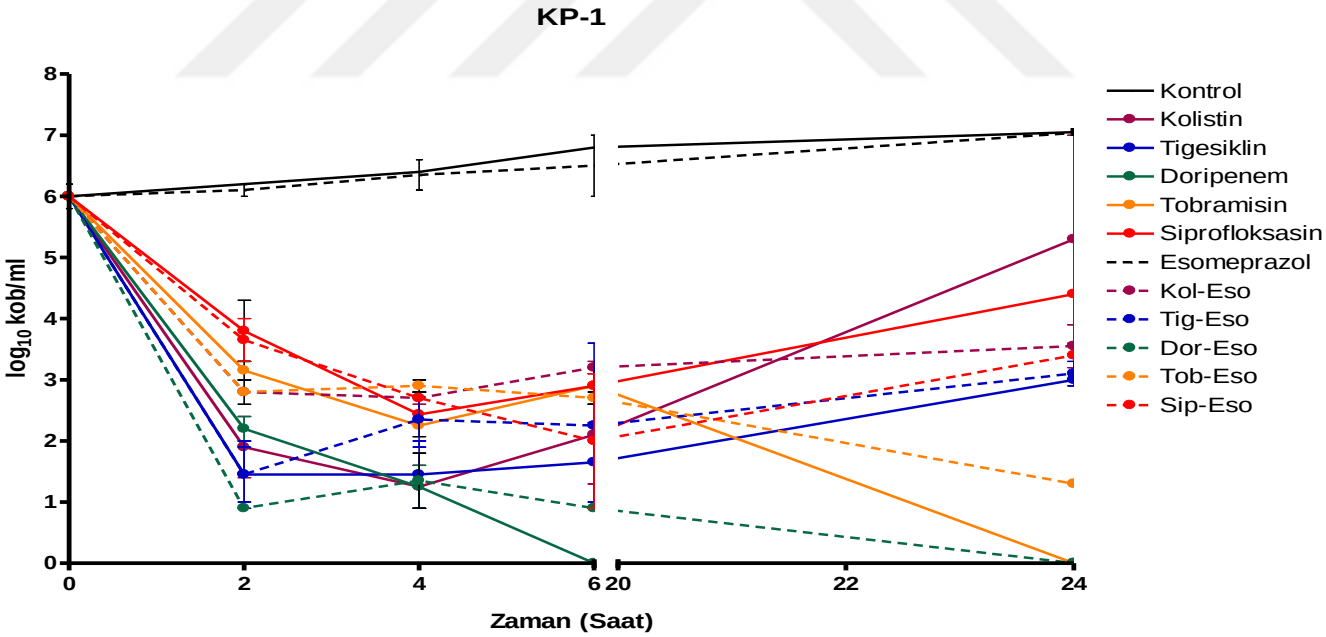
Çalışmada kullanılan klinik kökenli suşların in-vitro biyofilm oluşturma yeteneği 3.5. bölümünde anlatıldığı gibi çalışılmış ve biyofilm pozitif olarak tespit edilmişlerdir. SVK'lerden izole edilmiş bu suşlara, KP-1, KP-2, KP-3, KP-4, karşı antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde oluşturdukları antibakteriyal etkiler in-vitro kateter modelde hazırlanmış biyofilmlere karşı araştırılmış ve elde edilen bulgular sırasıyla Şekil 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, ve 4.10'da gösterilmiştir.

Bulgularımız doğrultusunda, tobramisin ve doripenem tek başlarına uygulandığında çalışılan tüm suşlar için 24 saat sonunda in-vitro kateter modelde hazırlanmış biyofilmdeki canlı bakteri sayısını > 3 $\log_{10}$ azaltarak bakterisidal etki göstermişlerdir ($p < 0.001$). Tobramisin ve doripenemin klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyonları additif etki göstermiştir. Tigesiklinin tek başına uygulandığı kilit çözeltisinde ise 24 saatin sonunda KP-1, KP-2 ve KP-4 suşları için in-vitro kateter modelde hazırlanmış biyofilmdeki canlı bakteri sayısını > 3 $\log_{10}$ azaltarak bakterisidal etki gösterdiği ($p < 0.001$), KP-3 suşunda ise < 2 $\log_{10}$ etkili olduğu tespit edilmiştir ($p > 0.001$). Tigesiklinin klaritromisin veya esomeprazol ile olan kombinasyonunun tüm suşlar üzerinde additif etkili olduğu görülmüştür. Kolistinin tek başına uygulandığı kilit çözeltisinin ise 24 saatin sonunda in-vitro kateter modelde KP-2 ve KP-3 suşları ile hazırlanmış biyofilmdeki canlı bakteri sayısını > 3 $\log_{10}$ azaltarak bakterisidal etki gösterdiği ($p < 0.001$), KP-1 ve KP-4 suşlarında ise < 2 $\log_{10}$ etkili olduğu tespit edilmiştir ($p > 0.001$). Kolistinin klaritromisin veya esomeprazol ile olan kombinasyonlarının ise KP-1 ve KP-4 suşları için sinerjist, KP-2 ve KP-3 suşları için ise additif etki gösterdiği tespit edilmiştir. Siprofloksasinin tek başına uygulandığı kilit çözeltisinde ise 24 saatin sonunda KP-1 suşu hariç çalışılan tüm suşlar için in-vitro kateter modelde hazırlanmış biyofilmdeki canlı bakteri sayısını > 3 $\log_{10}$ azaltarak bakterisidal etki gösterdiği ($p < 0.001$), KP-1 suşunda ise > 2 $\log_{10}$ etkili olduğu tespit edilmiştir ($p > 0.001$). Siprofloksasinin klaritromisin veya esomeprazol ile olan kombinasyonunun ise çalışılan tüm suşlar için additif etki gösterdiği tespit edilmiştir.



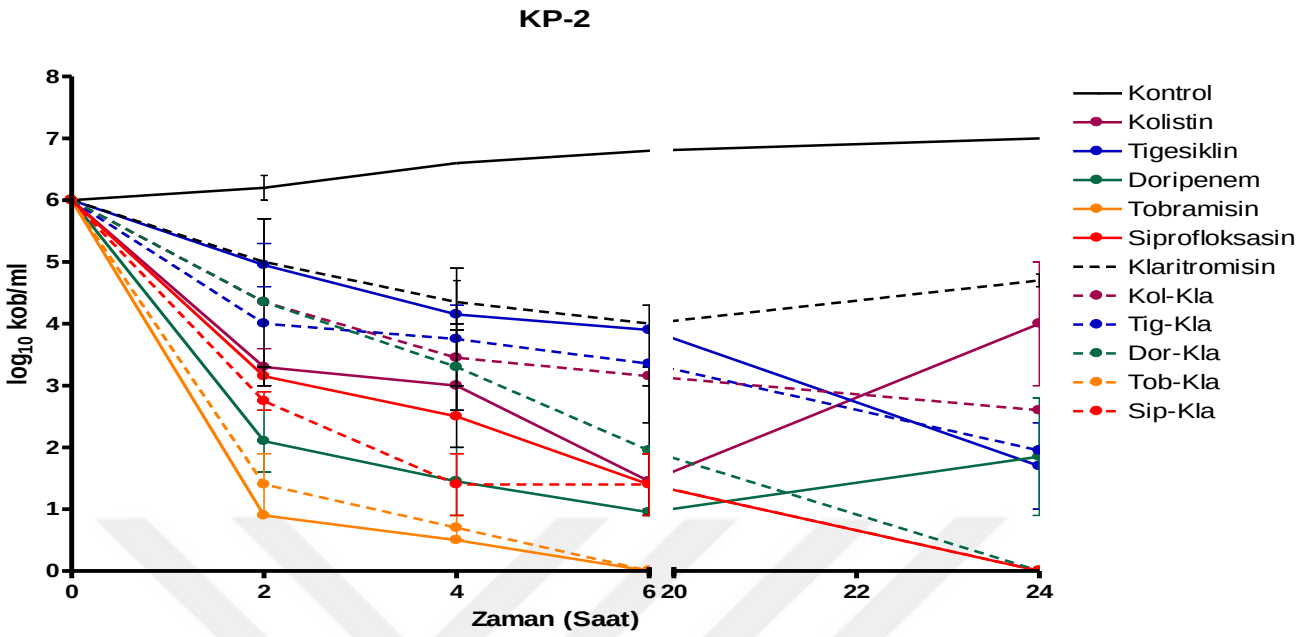
Şekil 4-3: Antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin ile kombinasyon halinde KP-1 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri

Kol; kolistin, Tig; tigesiklin, Dor; doripenem, Tob; tobramisin, Sip; siprofloksasin, Kla; klaritromisin.



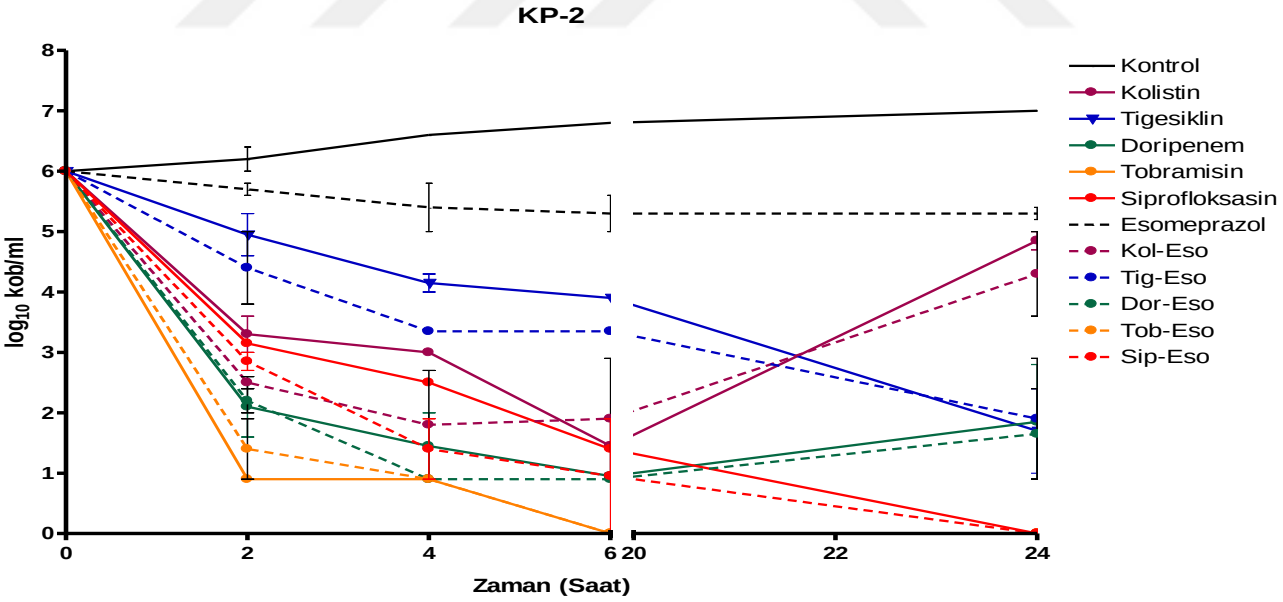
Şekil 4-4: Antibiyotiklerin tek başlarına ve esomeprazol ile kombinasyon halinde KP-1 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri

Kol; kolistin, Tig; tigesiklin, Dor; doripenem, Tob; tobramisin, Sip; siprofloksasin, Eso; esomeprazol



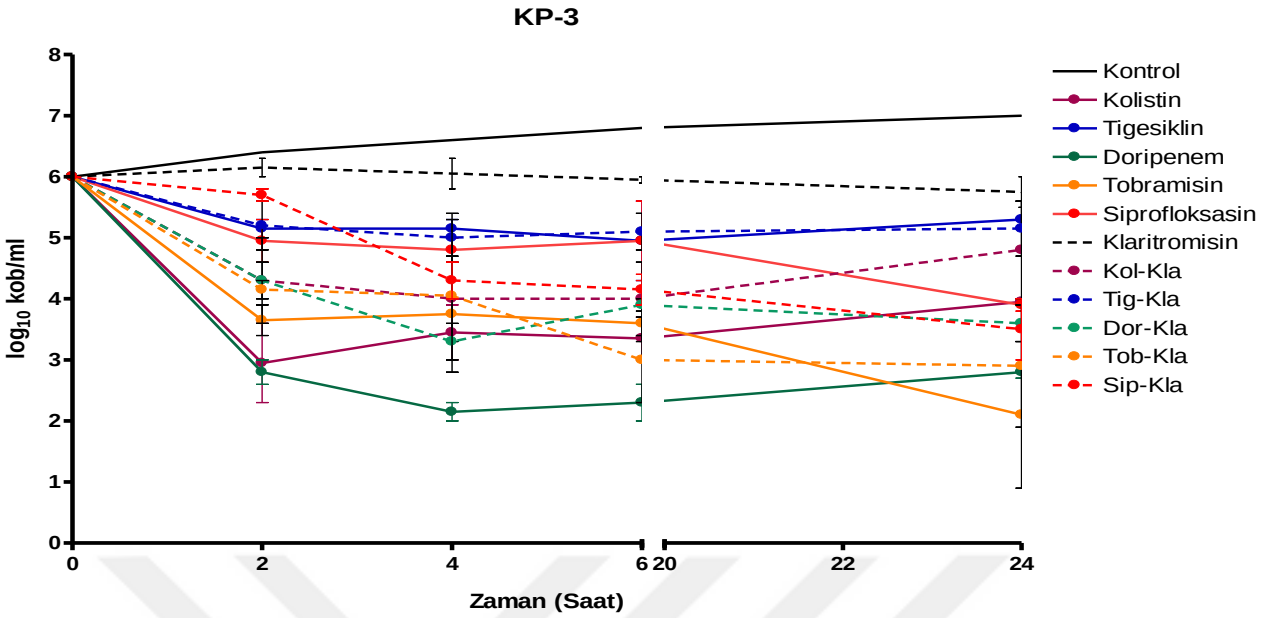
Şekil 4-5: Antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin ile kombinasyon halinde KP-2 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri

Kol; kolistin, Tig; tigesiklin, Dor; doripenem, Tob; tobramisin, Sip; siprofloksasin, Kla; klaritromisin.



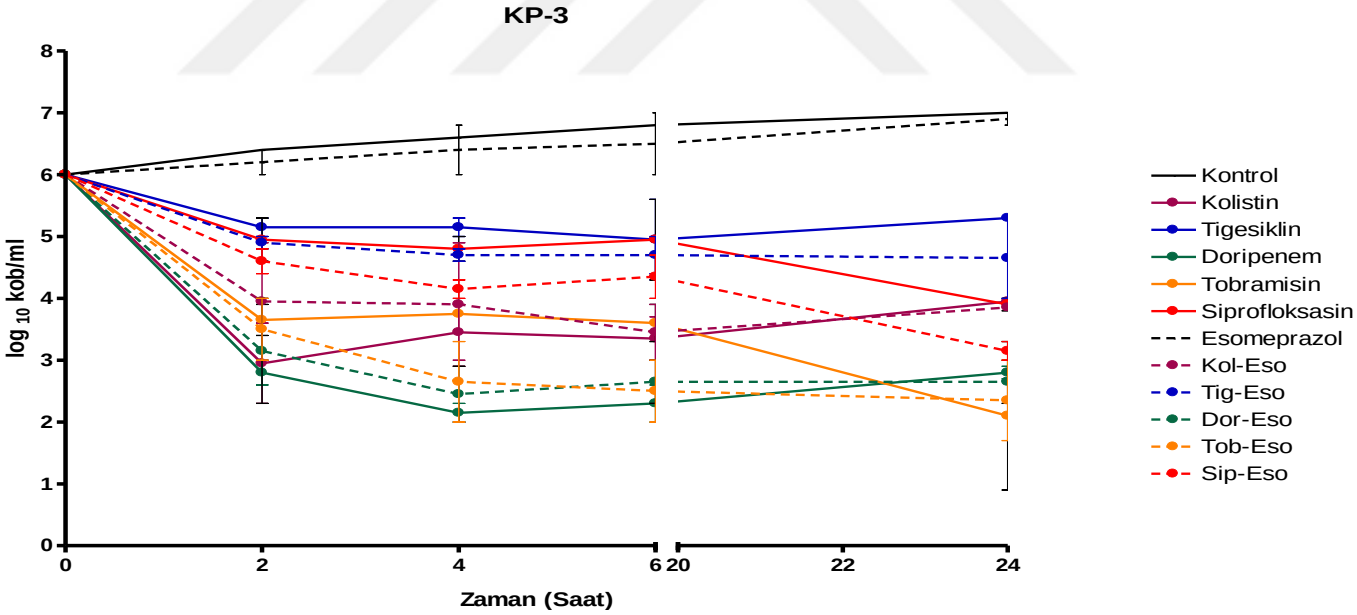
Şekil 4-6: Antibiyotiklerin tek başlarına ve esomeprazol ile kombinasyon halinde KP-2 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri

Kol; kolistin, Tig; tigesiklin, Dor; doripenem, Tob; tobramisin, Sip; siprofloksasin, Eso; esomeprazol



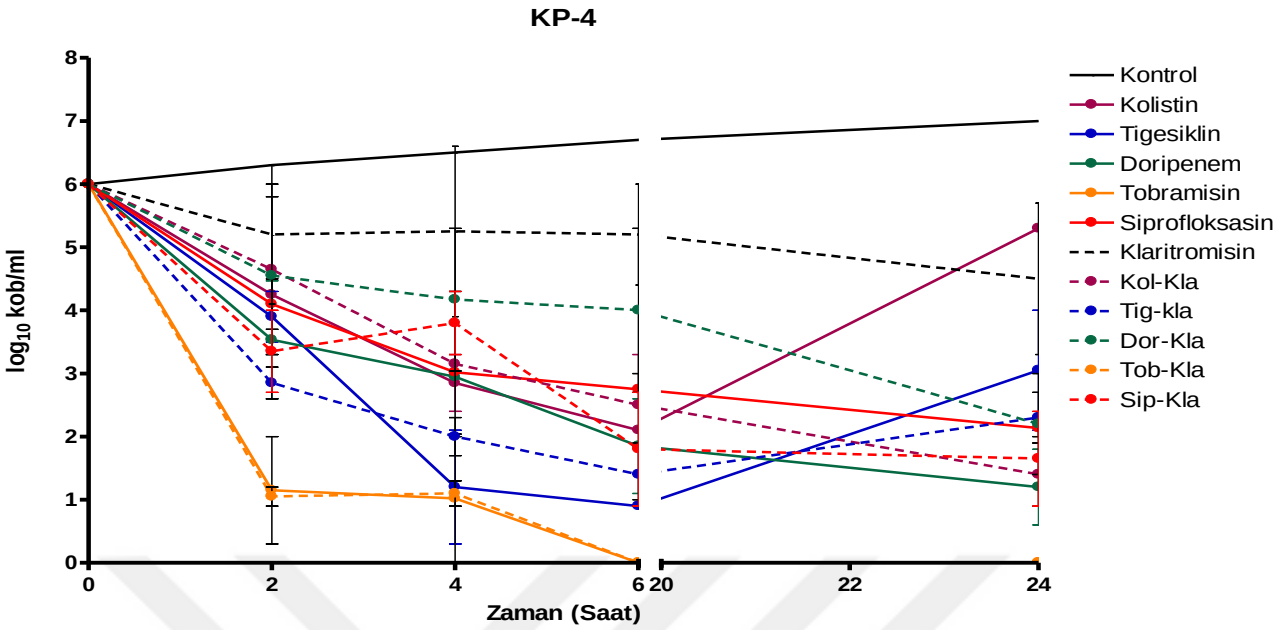
Şekil 4-7: Antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin ile kombinasyon halinde KP-3 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri

Kol; kolistin, Tig; tigesiklin, Dor; doripenem, Tob; tobramisin, Sip; siprofloksasin, Kla; klaritromisin.



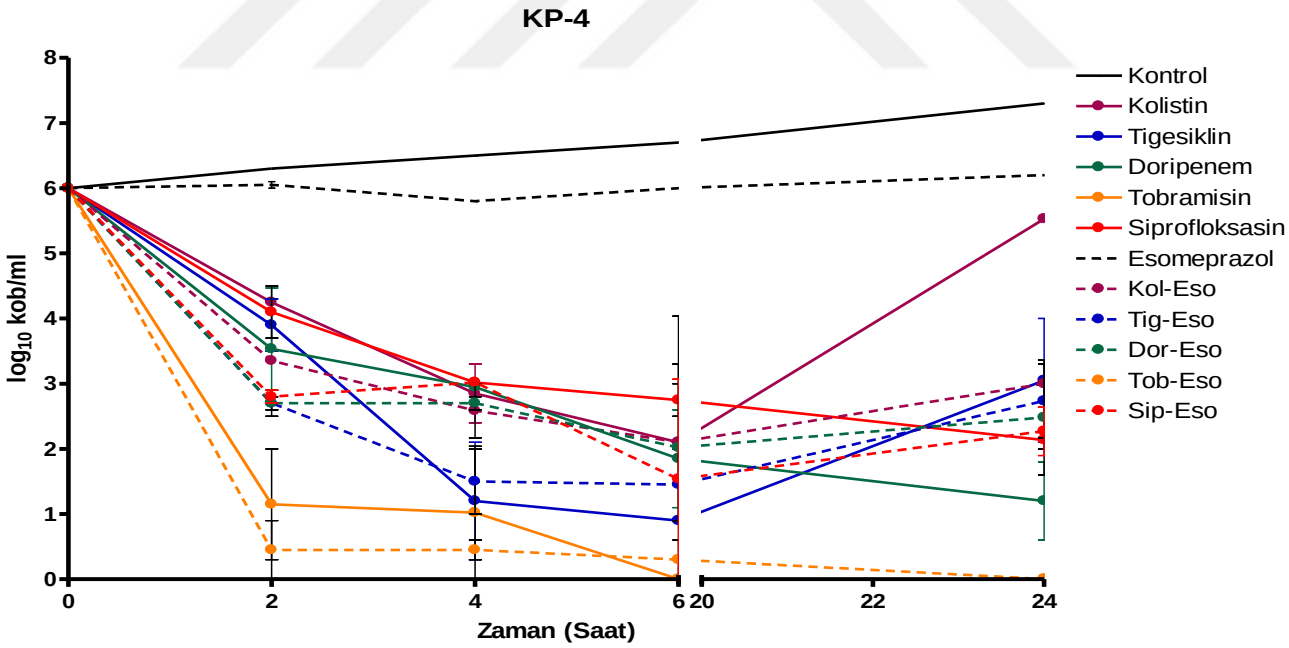
Şekil 4-8: Antibiyotiklerin tek başlarına ve esomeprazol ile kombinasyon halinde KP-3 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri

Kol; kolistin, Tig; tigesiklin, Dor; doripenem, Tob; tobramisin, Sip; siprofloksasin, Eso; esomeprazol



Şekil 4-9: Antibiyotiklerin tek başlarına ve klaritromisin ile kombinasyon halinde KP-4 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri

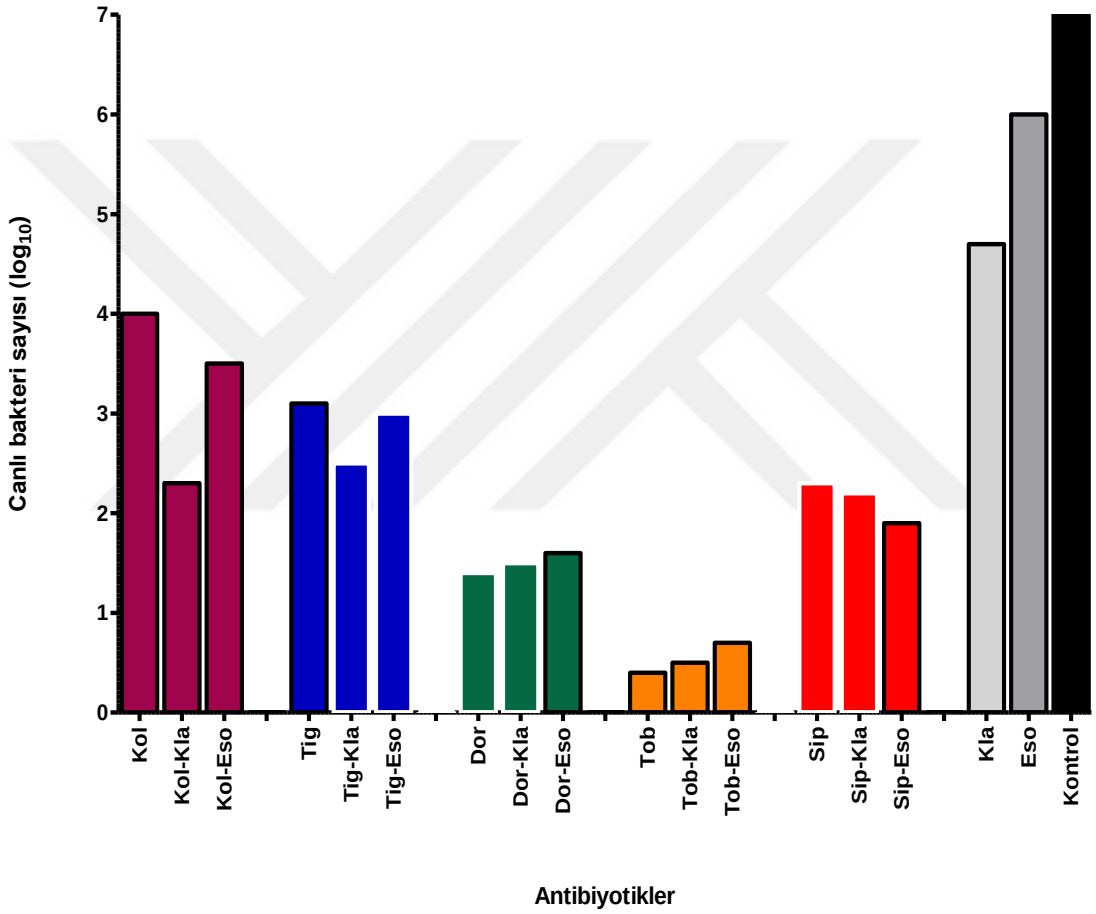
Kol; kolistin, Tig; tigesiklin, Dor; doripenem, Tob; tobramisin, Sip; siprofloksasin, Kla; klaritromisin.



Şekil 4-10: Antibiyotiklerin tek başlarına ve esomeprazol ile kombinasyon halinde KP-4 suşuna karşı elde edilen zaman-ölüm eğrileri

Kol; kolistin, Tig; tigesiklin, Dor; doripenem, Tob; tobramisin, Sip; siprofloksasin, Eso; esomeprazol

Çalışmada kullanılan antibiyotiklerin tek başlarına ve kombinasyon halinde deneylerimizde kullanılan beş *K. pneumoniae* biyofilmi üzerinde 24. saatte canlı bakteri sayısında yaptığı azalmanın ortalamasını gösteren bir grafik Şekil 4.11'de gösterilmiştir.

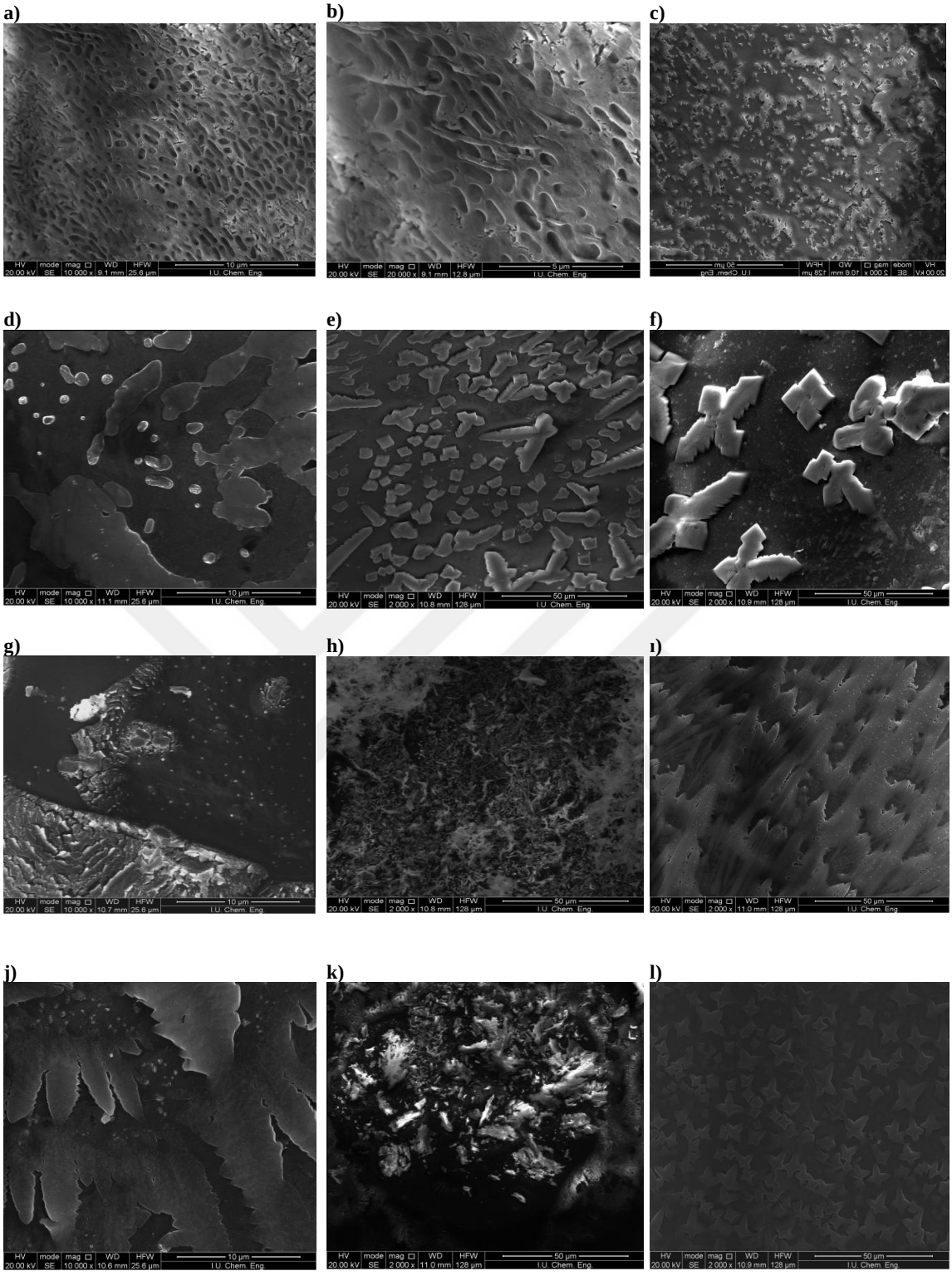


Şekil 4-11: Çalışmada kullanılan antibiyotiklerin tek başlarına ve kombinasyon halinde beş *K. pneumoniae* biyofilmi üzerine 24 saatlik ortalama etkinlikleri

Kol; kolistin, Tig; tigesiklin, Dor; doripenem, Tob; tobramisin, Sip; siprofloksasin; Kla; klaritromisin, Eso; esameprazol.

4.3. İn-vitro Kateter Model Üzerinde Antimikrobiyal Kilit Çözeltilerinin Etkinliğinin SEM ile Görüntülenmesine Ait Bulgular

Çalışmamızda kolistin, tigesiklin ve tobramisinin tek başına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde kateter biyofilmi üzerinde oluşturdukları fiziksel değişimlerin incelenmesi amacıyla SEM kullanılarak elde edilen görüntüler Şekil 4.12'de gösterilmiştir. Çekimlerde 5, 10 ve 50 µm'lik farklı ölçekler kullanılmıştır. Şekil 4.12'de ise denenen antibiyotik ve kombinasyonunun kateter biyofilmi üzerinde yaptığı değişiklikleri en iyi ifade eden ölçeklerdeki fotoğraflar seçilmiştir.



Şekil 4-12: Tobramisin, tigesiklin ve kolistinin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halindeki kateter biyofilmi üzerine etkilerini gösteren SEM görüntüleri. a, b, c: kontrol (kullanılan ölçekler sırasıyla; 10, 5, 50 µm); d: tob (10 µm); e: tob-kla (50 µm); f: tob-eso (50 µm); g: tig (10 µm); h: tig-kla (50 µm); ı: tig-eso (50 µm); j: kol (10 µm); k) kol-kla (50 µm); l) kol-eso (50 µm).

tob: tobramisin; kla: klaritromisin; eso: esomeprazol; tig: tigesiklin; kol: kolistin.

4.4. İstatistiksel Analize Ait Bulgular

Çalışmada kullanılan *K. pneumoniae* suşlarına karşı kolistin, tigesiklin, doripenem, tobramisin ve siprofloksasinin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde elde edilen verilerin istatistiksel analizi, tek yönlü varyans analiz testi olan ANOVA ile birlikte Bonferroni'nin çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. $p < 0.001$ istatiksel olarak anlamlı kabul edildiğinde sadece tobramisin ve doripenemin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde uygulandığı tüm koşullarda kontrole göre anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Diğer antibiyotik değerlendirmelerinde ise bazı koşullarda anlamlı sonuçlar ($p < 0.001$) saptanmıştır.

5. TARTIŞMA

Fırsatçı bir patojen olan *K. pneumoniae* yara enfeksiyonu, üriner sistem enfeksiyonu gibi daha basit enfeksiyonların yanı sıra hayatı tehdit eden pnömoni, bakteriyemi, cerrahi operasyon sonrası gelişen menenjit gibi ciddi enfeksiyonlara da neden olabilmektedir (9, 131). *K. pneumoniae* kullanımda olan tüm antibiyotiklere özellikle karbapenemlere hızlı bir şekilde direnç kazanmasıyla önemli bir hastane enfeksiyonu etkeni olmayı sürdürmektedir. European Centre for Disease Prevention and Control'ün (ECDC) 2013 verilerine göre *K. pneumoniae*'de kinolon direnç oranı İngiltere'de % 9, Almanyada % 15, Fransa'da % 29, İtalya'da % 54, Yunanistan'da % 68; üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı direnç oranı İngiltere'de % 14, Almanya'da % 16, Fransa'da % 28, İtalya'da % 55 ve Yunanistan'da % 70, karbapenemlere karşı direnç oranı ise İngiltere'de % 0.5, Almanya ve Fransa'da % 0.7, İtalya'da % 34 ve Yunanistan'da % 59 olarak tespit edilmiştir (2). Prabash ve ark. tarafından 2010 yılında Hindistan'da yapılan bir çalışmaya göre ise *K. pneumoniae* suşlarının % 63'ünün GSBL pozitif olduğu, bu suşların ise % 63'ünün kinolonlara, % 71'inin seftazidime ve % 46'sının da amikasine dirençli olduğu gösterilmiştir (133). Sievert ve ark. tarafından ABD'de 2009-2010 yıllarını kapsayan bir çalışmada ise hastane enfeksiyonu etkeni *K. pneumoniae* suşlarının % 13'ünde karbapenem direnci tespit edilmiştir (153). Ülkemizde ise Metan ve ark. tarafından 2013 yılında yapılan bir çalışmaya göre *K. pneumoniae* suşlarının % 25'inde kinolonlara ve piperasilin/tazobaktama karşı direnç tespit edilmiştir (101). Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'nde 2013 yılında yapılan bir diğer çalışmada ise kan kültüründen üretilen *K. pneumoniae* izolatlarının % 44'ünde karbapenemlere direnç görülmüştür ve bu izolatların % 90'ının OXA-48 direnç geni taşıdığı saptanmıştır (64). *K. pneumoniae* suşlarında tüm antibiyotik sınıflarına karşı direnç oluşturan *K. pneumoniae* karbapenemazı (KPC) tipi enzimlerin varlığının günden güne artması bu etkenle oluşan enfeksiyonların tedavisinde yaşanan zorlukları arttırmaktadır. Diğer yandan çoklu ilaç dirençli Gram negatif bakterilerin tedavisinde kullanılabilecek yeni bir antibiyotik sınıfının ticari olarak yıllardır kullanıma girememiş olması bu mikroorganizmanın etken olduğu enfeksiyonların ciddiyetini daha da arttırmaktadır (9, 131). Çalışmamızda kullandığımız ve SVK ucundan izole edilmiş ve rastgele

seçilmiş dört *K. pneumoniae* suşundan 3'ünde siprofloksasin ve tobramisin, 1'inde doripenem ve tigesiklin direci görülmüştür. Denenen dört suşunda kolistine duyarlı olduğu saptanmıştır. Bu suşların hastanede yatan hastalardan izole edilmesi ve ikisinin OXA-48, birinin VIM pozitif suş olması ülkemiz direnç oranlarıyla paralellik arz etmektedir.

Kateterlerin hasta bakım ve tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmasına paralel olarak kateter ilişkili enfeksiyonlarının sayısında da ciddi artışlar ülkemizde ve dünyada rapor edilmektedir. ABD'de her yıl 75000 kateter ilişkili enfeksiyon meydana geldiği tahmin edilmekte ve bu tedaviler için 300 milyondan 2.3 milyar dolara kadar ek harcama gerekmektedir. Özellikle yoğun bakım ünitesindeki ve immunsuprese hastalarda olmak üzere kateter ilişkili gelişen bakteriyemilerde mortalite oranı % 13-25 arasında değişmektedir (99). Ülkemizde kateter enfeksiyonları ile ilgili olarak Bayraktar ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada değerlendirilen 122 kateter ucu kültürünün 68'inde üreme saptanmış (% 56) ve kateter kültürlerinden en sık izole edilen etkenler sırasıyla Stafilokok türleri (% 56), *Pseudomonas* türleri (% 10), *Acinetobacter* türleri (% 8) olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada MRSA % 11, metisilin duyarlı KNS % 20 olarak bulunmuştur (17). Pişkin ve ark. yapmış oldukları çalışmada ise kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu olan 37 hastanın 18'inde etken Stafilokok türleri, 10'unda *Enterobacteriaceae*, 4'ünde nonfermentatif Gram negatif çomaklar, 3'ünde *Candida* türleri, birinde Enterokok ve birinde alfa hemolitik Streptokok izole edilmiştir (129). Gazi ve ark. yapmış olduğu bir diğer çalışmada ise kateter ucu kültürlerinde en sık izole edilen mikroorganizmalar KNS (% 22.8), *P. aeruginosa* (% 18.3) ve *A. baumannii* (% 17.3) olarak tespit edilmiştir (61).

Yüksek direnç potansiyelinin yanı sıra hastada solunum cihazı veya damar içi kateter gibi tıbbi cihazların kullanımı da özellikle hastane ilişkili *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının görülme sıklığını arttırmaktadır (74). Bu amaçla çalışmamızda SVK enfeksiyonlarından izole edilen *K. pneumoniae* suşlarına karşı kolistin, tigesiklin, doripenem, tobramisin ve siprofloksasinin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halindeki etkileri in-vitro kateter modelde oluşturulan biyofilm üzerinde incelenmiştir. Çalışmamızda seçilen antibiyotiklerin 400 x MİK'lik çözeltileri kullanılmış ve klaritromisin 200 mg/ml, esomeprazol ise 0.25 mM konsantrasyonlarında deneylere ilave edilmişlerdir.

Klaritromisinin biyofilm yapısını parçalayıcı özelliği bizim ve diğer bazı araştırmacıların farklı bakteriler ile yaptığı önceki çalışmalarla ortaya konmuş olmasından dolayı kombinasyon çalışmalarımızda tercih edilmiştir (78, 119, 120, 162). Ayrıca Yasuda ve ark. klaritromisinin biyofilm parçalama mekanizmasıyla ilgili olarak yapmış olduğu bir çalışmada ise klaritromisinin *S. epidermidis* biyofilmlerinde heksoz ve ekzapolisakkarit konsantrasyonlarını azalttığı ve böylelikle biyofilm içine ofloksasin veya sefotiaminin difüzyonunu arttırdığı da gösterilmiştir (183). Kombinasyon çalışmalarımızda kullanılmak üzere esomeprazolün seçilmesinin nedeni ise, yakın zamanda PPİ'lerini antimikrobiyal etkisinin gösterilmiş olmasıdır (107, 154, 155). Bu konuda yapılan bir çalışmada Sjostrom ve ark. benzimadazol'ün *H. pylori*'ye karşı direkt antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir (155). 2005'te yapılan bir diğer in-vitro çalışmada ise Nguyen ve ark. benzimidazolün antibiyofilm etkinliğini ağız streptokokları üzerinde göstermişlerdir (107).

Çalışmamızda antimikrobiyal kilit çözeltisi olarak tobramisinin etkinliği incelendiğinde tek başına 400 x MİK'lik çözeltisinin 24 saatlik temas süresinin sonunda denenen tüm suşlar üzerinde biyofilmdeki canlı bakteri sayısında > 3 $\log_{10}$'luk azalma sağlayarak kuvvetli bir bakterisidal etki oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1-4.10). KP-3 suşu hariç çalışılan tüm suşlarda ise bu bakterisidal etkinin biyofilmi tamamiyle yok ettiği ve bu örneklerde 24. saatte canlı bakterinin tespit edilemediği görülmüştür. Bulgularımız kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Tobramisinin, klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde kullanımının tek başına etkinliği ile karşılaştırıldığında ise additif etkili olduğu görülmüştür. Bulgularımıza benzer sonuçlar bu konuda çalışan diğer araştırmacılar tarafından da farklı Gram negatif bakteriler ile elde edilmiştir (30, 168). Chiu ve ark. tarafından *P. aeruginosa*'nın etken olduğu sinüzit üzerine yapılan bir in-vivo çalışmada deney tavşanın üst çene kemiğine yerleştirilen kateter boyunca değişik konsantrasyonlarda topikal tobramisin uygulanmış, 400 x MİK tobramisin ile nazal yıkama sonrası bakterinin tam olarak yok edildiği rapor edilmiştir (30). Tre-Hardy ve ark. tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise kistik fibrözlü hastadan izole edilen *P. aerugionsa*'nın olgun biyofilmine karşı klaritromisin ve tobramisinin tek başlarına ve kombinasyon halinde etkisi incelenmiş, kombinasyon tedavisinin tobramisinin tek başına olan etkisine

eşdeğer bir etki oluşturduğu rapor edilmiştir (168). Gentamisinin antimikrobiyal kilit çözeltisi olarak kullanıldığı bir çalışmada ise bir gün içinde *K. pneumoniae* biyofilmini yok etmekte oldukça etkili olduğu rapor edilmiştir (44). Ceri ve ark. (1999) ile Domingue ve ark. (1994) tarafından yapılan çalışmalarda ise *P. aeruginosa* biyofilmine karşı tobramisin etkili bulunurken, gentamisin ve amikasin ise etkisiz olarak rapor edilmiştir (27, 42). Aminoglikozitlerin hücre membranından difüzyonunun oksijene bağımlı, enerji gerektiren bir olay olduğu bilinmesine (24, 104) rağmen Walters ve ark. 2003 yılında yapmış oldukları bir çalışmada pozitif yüklü aminoglikozitlerin negatif yüklü matriks bileşeninden yavaş difüzyonla *P. aeruginosa* biyofilmine geçebildiğini göstermişlerdir (177). Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgularda ise tobramisinin tek başına in-vitro kateter modeldeki *K. pneumoniae* biyofilmlerini çok etkili biçimde yok etmesindeki mekanizmanın da benzer biçimde yüksek düzey tobramisinin biyofilm matriksi içine difüze olabilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle güçlü bakterisidal etkisi nedeniyle deneylerimizde kullanılan konsantrasyondaki tobramisin AKT olarak gerekli görüldüğü kateter enfeksiyonlarının tedavisinde öncelikle seçilebilecek bir antimikrobiyal ajan olduğu görülmüştür. Tobramisinin klaritromisinle ve esomeprozol ile kombinasyon halinde kullanımının ise tobramisine karşı direnç gelişiminin önlenmesi açısından yararlı olacağı düşüncesindeyiz.

Çalışmamızda antimikrobiyal kilit çözeltisi olarak doripenemin tek başına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halindeki etkisi incelenmiş, doripenemin tek başına 400 x MİK'lik çözeltisinin 24 saatlik temas süresinin sonunda denenen tüm suşlar üzerinde biyofilmdeki canlı bakteri sayısında > 3 $\log_{10}$ azalma sağlayarak güçlü bir bakterisidal etki oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1-4.10) . KP-1 suşunda ise bu etki 6 saat gibi kısa bir süre sonunda gerçekleşmiş ve biyofilmin yok edildiği bu örnekte 24. saate kadar da tekrar üremenin tespit edilmediği görülmüştür (Şekil 4.3, 4.4). Bulgularımız kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Bunun yanı sıra doripenemin klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyonlarında tek başına olan etki ile karşılaştırıldığında additif etki tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar benzer çalışmalarla da paralellik göstermiştir. Chen ve ark. 2014 yılında yapmış oldukları çalışmada in-vitro statik akım koşullarındaki çoklu ilaç dirençli *K. pneumoniae*'nin etken olduğu biyofilmlere karşı değişik konsantrasyonlarda imipenemin etkisini

incelemiş ve imipenemin 6.25 μg/ml ya da daha yüksek dozlarının biyofilmdeki canlı hücre sayısında > 3 $\log_{10}$ azalma meydana getirdiğini saptamışlardır. Aynı koşullarda 25 μg/ml imipenem uygulaması ise var olan *K. pneumoniae* biyofilmini 5 saatte tamamiyle yok etmiştir. Bu bulgular SEM görüntüleriyle de desteklenmiş ve mikroskop görüntüleri *K. pneumoniae* biyofilmlerinin imipenemle muamelesi sonucunda biyofilmdeki hücrelerin çomak morfolojiden küresel yuvarlak bir hale geçtiklerini de göstermiştir (29). Beta laktam grubu antibiyotiklerin logaritmik üreme fazındaki bakterilere hızlıca etki ederek öldürebildiği ancak durağan dönemde olan ya da yavaş üreyen mikroorganizmalara karşı bu etkilerinin azalabildiği bilinmektedir (120). Bununla birlikte Eng ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada meropenemin logaritmik fazda olmayan bakterilere karşı da önemli bir bakterisidal aktivite gösterdiği görülmüştür (52). Elde ettiğimiz bulgular da bu sonuçlar uyum göstermektedir ve biyofilme gömülü *K. pneumoniae* hücrelerinin tümünün bir beta laktam olan doripenemden bakterisidal olarak etkilendiği saptanmıştır. Bu sonuç, gerekli durumlarda doripenemin kateter enfeksiyonlarında AKT çözeltisi olarak tercih edilebileceğini ortaya koymaktadır. Doripenemin klaritromisinle ve esomeprozol ile kombinasyon halinde kullanımının ise doripeneme karşı direnç gelişiminin önlenmesi açısından yararlı olacağı düşümcesindeyiz.

Siprofloksasinin antimikrobiyal kilit çözeltisi olarak denendiği çalışmalarımızda ise siprofloksasinin tek başına 400 x MİK'lik çözeltisinin 24 saatlik temas süresinin sonunda KP-1 suşu hariç çalışılan tüm suşlarda biyofilmdeki canlı bakteri sayısında > 3 $\log_{10}$ bir azalma sağlayarak bakterisidal etki oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1, 4.2, 4.5-4.10). KP-2 suşunda ise bu bakterisidal etkinin biyofilmdeki bakterilerin tamamiyle yok edilmesini sağladığı ve bu örnekte 24. saatte canlı bakteri tespit edilemediği görülmüştür (Şekil 4.5, 4.6). Bu bulgularımız kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). OXA-48 pozitif ve siprofloksasine dirençli KP-1 suşunda siprofloksasini tek başına içeren kilit çözeltisi biyofilmdeki canlı bakteri sayısında > 2 $\log_{10}$ bir azalma göstermiştir ancak bu bulgu istatistiksel olarak kontrole karşı anlamlı bulunamamıştır ($p < 0.001$) (Şekil 4.3, 4.4). Siprofloksasinin klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyonlarında ise additif etkili olduğu tespit edilmiştir. Lee ve ark. tarafından yapılan bir antimikrobiyal kilit çözeltisi çalışmasında siprofloksasine duyarlı *K. pneumoniae* suşlarının etken olduğu in-vitro kateter biyofilm modeli üzerinde siprofloksasinin 1

mg/ml konsantrasyonun 72 saatlik uygulama süresi sonunda biyofilmi yok edebildiği, bu örneklerde canlı bakteri sayısının tespit edilemediği gözlemlenirken, siprofloksasine dirençli *K. pneumoniae* suşlarında biyofilmin yok edilmesi için 5 mg/ml konsantrasyona ihtiyaç duyulduğu görülmüştür. Bu durum *K. pneumoniae* biyofilmine karşı antimikrobiyal kilit çözeltisinin etkinliğinin antibiyotik direnci ile ilgili olduğu şeklinde yorumlanmıştır (88). Ancak bizim çalışmamızda 24. saat sonuçları esas alındığında siprofloksasine hem duyarlı KP-4 ve KP-5 hem de dirençli KP-2 ve KP-3 suşları ile bakterisidal etki gözlemlenirken, siprofloksasine çok yüksek oranda direnç gösteren (MİK 128 µg/ml) KP-1 suşunda ise > 2 $\log_{10}$ azalma tespit edilmiştir. Diğer bir çalışmada ise Droste ve ark. in-vitro kateter modelinde 0.8 mg/ml siprofloksasin ile 10000 U/ml heparin kombinasyonunun 24 saatlik ve 7 günlük *P. aeruginosa* biyofilmlerinde eradikasyonu sağladığını tespit etmiş ancak aynı koşullarda daha düşük konsantrasyonlarda siprofloksasin (0.2 mg/ml) uygulanmasının biyofilmdeki hücreleri inhibe edemediği göstermişlerdir (48). Ali-Abdi ve ark. tarafından 2006 yılında yapılan bir çalışmada kateter parçaları üzerinde oluşan *P. aeruginosa* biyofilmlerinin 4 µg/ml siprofloksasin (16 x MİK) ve 32 µg/ml ofloksasin (64 x MİK) uygulaması ile 6 günde ortadan kalktığı rapor edilmiştir (1). Hücrelerde DNA-girazın aktivitesini etkileyerek bakterisidal aktivite gösteren florokinolon grubu antibiyotiklerin biyofilm içine hızla difüze olabildikleri Vrany ve ark. 1997 yılında yapmış oldukları bir çalışma ile gösterilmiştir (172). Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarımız, florokinolon grubu bir antibiyotik olan siprofloksasine duyarlı ve dirençli suşların neden olduğu kateter ilişkili enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek bir AKT seçeneği olarak düşünülmesine olanak sağlamaktadır. Saptanan aditif etki nedeniyle klaritromisin ve esomeprozol ile kombinasyon halinde kullanımının ise AKT içindeki siprofloksasine karşı direnç gelişiminin önlenmesi açısından yararlı olacağı düşüncesindeyiz.

Tigesiklinin tek başına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halindeki etkinliğinin incelendiği çalışmamızda ise tigesiklinin 400 x MİK'lik çözeltisinin 24 saatlik temas süresi sonunda KP-3 suşu hariç çalışılan tüm suşlarda biyofilmdeki canlı bakteri sayısında > 3 $\log_{10}$ bir azalma sağlayarak bakterisidal etki oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1-4.6, 4.9, 4.10). Elde edilen bu sonuçlar kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). KP-3 suşunda ise tigesiklinin tek başına olduğu kilit çözeltisinin 24 saatin sonunda

biyofilmdeki canlı bakteri sayısında < 2 $\log_{10}$ bir azalmaya neden olduğu görülmüştür (Şekil 4.7, 4.8). Tigesiklinin klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyonları tüm suşlar için incelendiğinde ise additif etkili olduğu görülmüştür. Tigesiklinin biyofilm oluşumuna etkisinin araştırıldığı bir çalışmada Song ve ark. bu antibiyotiğin 1/4 x MİK'lik çözeltisinin *A. baumannii* biyofilminin oluşumunu 48 saatlik temasın sonunda % 85.5 oranında inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Bu etkinin tigesiklinin ribozomlar üzerinde etkisi sonucu QS mekanizmasının yeniden düzenlenmesiyle biyofilmde toksik maddeleri uzaklaştırmakta oldukça aktif bir mekanizma olan efluks pompalarındaki değişimden meydana geldiği düşünülmüştür (156). Raad ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise in-vitro kateter modelde olgun MRSA biyofilmine karşı 2 mg/ml tigesiklin içeren antimikrobiyal kilit çözeltisinin 3 gün boyunca günde 4 saat uygulanmasıyla biyofilmdeki bakterilerin yok edildiği gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada tigesiklin, MRSA biyofilmine karşı linezolid, rifampin ve vankomisinden daha etkili olarak rapor edilmiştir (135). Diğer yandan tetrasiklin grubu antibiyotiklere karşı biyofilm içinde yavaş üreyen veya üremenin durağan fazında bulunan *P. aeruginosa* suşlarının duyarlılığının önemli ölçüde değiştiği Drenkard ve ark. tarafından yapılan bir çalışma ile gösterilmiştir (47). Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar yüksek konsantrasyon tigesiklinin tek başına *K. pneumoniae* biyofilmine karşı 24 saatte bakterisidal ve antimikrobiyal etkili olduğunu ancak hiçbir suş ile biyofilmi tam olarak yok edemediğini göstermiştir. Bu durumun biyofilm içindeki yavaş üreyen hücrelerden kaynaklandığı düşünülmüştür. Bakteriyostatik bir antibiyotik olan tigesiklinin tek başına *K. pneumoniae* biyofilmlerindeki bakteri varlığını tam olark yok edemese de AKT olarak proflaksi amacıyla kullanılabileceği düşünülmüştür. Saptanan aditif etki nedeniyle klaritromisinle ve esomeprozol ile kombinasyon halinde kullanımının ise AKT içindeki tigesikline karşı direnç gelişiminin önlenmesi açısından yararlı olacağı düşüncesindeyiz.

Çalışmamızda antimikrobiyal kilit çözeltisi olarak denenen son antibiyotik olan kolistinin tek başına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halindeki etkisinin incelenmesi sonucunda, bu antibiyotiğin tek başına 400 x MİK'lik çözeltisinin 24 saatlik temas süresinin sonunda KP-2, KP-3 ve KP-5 suşlarında biyofilmdeki canlı bakteri sayısında > 3 $\log_{10}$ bir azalma sağlayarak bakterisidal etki oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1, 4.2, 4.5-4.8). Bu bulgularımız kontrol ile

karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). KP-1 ve KP-4 suşlarında ise kolistinin tek başına olduğu kilit çözeltisinin 24 saatin sonunda biyofilmdeki canlı bakteri sayısında < 2 $\log_{10}$ bir azalmaya neden olduğu görülmüştür (Şekil 4.3, 4.4, 4.9, 4.10). Bu bulgularımız kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.001$) Ancak kolistinin klaritromisin ile kombinasyon halindeki etkisi incelendiğinde KP-1 ve KP-4 suşları üzerinde sinerjist etkili olduğu görülmüştür (Şekil 4.3, 4.9) . KP-1 ve KP-4 suşları üzerinde kolistinin esomeprazol ile kombinasyonları ise klaritromisin ile kombinasyonuna benzer şekilde sinerjist etkili bulunmuştur (Şekil 4.4, 4.10). Kolistinin klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyonlarının KP-1 ve KP-4 suşları hariç çalışılan tüm suşlar üzerinde kolistinin tek başına olan etkisi ile karşılaştırıdığında additif etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bulgularımıza benzer olarak, Hengzhuang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada *P. aeruginosa*'nın etken olduğu fare akciğer enfeksiyonu biyofilm modelinde kolistinin serum konsantrasyonunun 64 x MİK çözeltisinin (128 mg/ml doz) hücre sayısında 1 $\log_{10}$ azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (71). Pamp ve ark. tarafından 2008 yılında yapılan bir başka çalışmada ise *P. aeruginosa* biyofilminde düşük metabolizma hızı gösteren alt popülasyonlarındaki hücrelerin kolistine duyarlı olduğu ve kolistin uygulaması ile öldükleri gösterilirken, biyofilmin yüzeye yakın kısmında yer alan yüksek metabolizma hızı gösteren diğer alt popülasyonundaki hücrelerin ise kolistin tedavisine dayanıklı oldukları gösterilmiştir (122). Kolistinin biyofilmdeki alt popülasyonlar üzerindeki bu farklı etkinliği Haagensen ve ark. PAO1 biyofilmi üzerine yapmış oldukları çalışmayla da tespit edilmiştir (67). Çalışmamızda *K. pneumoniae* biyofilmlerine karşı kolistin uygulamasıyla elde ettiğimiz sonuçlarda bakterisidal ve antimikrobiyal etkiler görülmesine rağmen hiçbir suş ile kateter biyofilmine gömülü hücreler 24 saatte yok edilememiştir. Bu durumun biyofilme gömülü farklı duyarlılık gösteren popülasyondaki hücrelerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Saptanan sinerjist etki nedeniyle klaritromisin veya esomeprozol ile kombinasyon halinde kullanımı ise AKT içindeki kolistinin bakterisidal etkisini arttıracağını ortaya koymaktadır.

Diğer yandan çalışmamızda, 200 mg/ml konsantrasyonda çalışılan klaritromisinin tek başına denenen tüm suşlar üzerinde 24 saatlik temas süresi sonunda biyofilmdeki canlı bakteri sayısında yaklaşık 1 $\log_{10}$'luk bir azalma yaptığı tespit edilmiştir (Şekil 4.1, 4.3, 4.5, 4.7, 4.9). Bulgularımız kontrol ile

karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıstır ($p > 0.001$). Biyofilmdeki canlı hücre sayısında klaritromisinin sağladığı bu azalış, biyofilmin ekstrasellüler matriksini bozması sonucu, hücrelerin koparak ayrılmasına neden olmasıyla açıklanmıştır (78).

Çalışmamızda 0.25 mM konsantrasyonunda kullanılan esomeprazolün tek başına KP-2 suşu hariç çalışılan tüm suşlar üzerinde 24 saatlik temas süresi sonunda kontrolle karşılaştırıldığında biyofilmdeki canlı bakteri sayısında bir değişikliğe yol açmadığı, KP-2 suşunda ise esomeprazolün tek başına kullanıldığı antimikrobiyal kilit çözeltisi biyofilmdeki canlı bakteri sayısında yaklaşık 1 $\log_{10}$'luk bir azalma meydana getirdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.6). Benzer olarak Singh ve ark. tarafından ABD'de yapılan bir çalışmada *P. aeruginosa* ve *S. aureus* biyofilmlerine karşı 0.25 mM konsantrasyondaki esomeprazolün 72 saat sonundaki etkisi incelenmiş ve biyofilmlerdeki canlı bakteri sayısında 1 $\log_{10}$'luk azalma tespit edilmiştir (154). Bu bulgu çalışmamızda elde etmiş olduğumuz değerle uygunluk göstermektedir.

Çalışmamızda tobramisin, tigesiklin ve kolistinin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halindeki 24 saatlik etkilerinin SEM ile görüntülenmesi yapılmıştır. Görüntüleme çalışmaları İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi'nde hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Tobramisinin tek başına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde olduğu koşullarda kateterlerdeki biyofilmler üzerinde kontrol ile kıyaslandığında parçalanma tarzı bozulmalar (Şekil 4.12 d, e, f); tigesiklinin tek başına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde olduğu koşullarda kateterlerdeki biyofilmler üzerinde kontrol ile kıyaslandığında erime tarzı bozulmalar (Şekil 4.12 g, h, ı); kolistinin tek başına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyon halinde olduğu koşullarda kateterlerdeki biyofilmler üzerinde kontrol ile kıyaslandığında ise kristallenme tarzı bozulmalar (Şekil 4.12 j, k, l) meydana geldiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak,

(i) tobramisin ve doripenemin kateter üzerinde oluşturulmuş biyofilmdeki tüm *K. pneumoniae* suşlarına bakterisidal etkili olduğu, tobramisinin çalışılan dört suş (KP-1, KP-2, KP-4, KP-5), doripenemin ise bir suş (KP-1) için biyofilmi tamamiyle yok ettiği;

(ii) siprofloksasin ve tigesiklinin kateter üzerinde oluşturulmuş biyofilmdeki dört *K. pneumoniae* suşuna bakterisidal etkili olduğu, siprofloksasinin bir suşta (KP-1) biyofilmdeki canlı hücre sayısında > 2 $\log_{10}$, tigesiklinin ise bir suşta (KP-3) biyofilmdeki canlı hücre sayısında < 2 $\log_{10}$ azalma yaptığı;

(iii) kolistinin kateter üzerinde oluşturulmuş biyofilmdeki canlı bakteri sayısında diğer antibiyotiklerle kıyaslandığında daha az etkili olduğu, üç suşta (KP-2, KP-3, KP-5) bakterisidal etki, iki suşta (KP-1 ve KP-4) ise biyofilmdeki canlı hücre sayısında < 2 $\log_{10}$ azalma yaptığı; hiçbir biyofilmde canlı bakteri sayısını tamamen yok edemediği;

(iv) tobramisin, doripenem, tigesiklin ve siprofloksasinin kateter üzerinde oluşturulmuş biyofilme gömülü *K. pneumoniae* suşlarına karşı klaritromisin ile kombinasyon halinde additif etkili olduğu;

(v) tobramisin, doripenem, tigesiklin ve siprofloksasinin kateter üzerinde oluşturulmuş biyofilme gömülü *K. pneumoniae* suşlarına karşı esomeprazol ile kombinasyon halinde additif etkili olduğu;

(vi) kolistinin kateter üzerinde oluşturulmuş biyofilme gömülü KP-1 ve KP-4 suşlarına karşı klaritromisin ile kombinasyon halinde sinerjist etkili olduğu;

(vii) kolistinin kateter üzerinde oluşturulmuş biyofilme gömülü KP-1 ve KP-4 suşlarına karşı esomeprozol ile kombinasyon halinde sinerjist etkili olduğu görülmüş;

(viii) Çalışmamızda denenen hiçbir kombinasyon ile antagonist etki saptanmamıştır.

(ix) Çalışmamızda tobramisin, tigesiklin ve kolistinin tek başlarına ve klaritromisin veya esomeprazol ile kombinasyonlarının SEM ile görüntülenmesi ile de seçili antibiyotik ve kombinasyonlarının biyofilm üzerinde kontrollerle karşılaştırıldığında biyofilmin fiziksel yapısında bozulmalara neden oldukları görülmüştür.

Bulgularımızın *K. pneumoniae*'nin etken olduğu kateter enfeksiyonlarının yardımcı tedavisi olarak seçilecek antimikrobiyal kilit çözeltilerinin belirlenmesi, bunların kullanım konsantrasyonları, süreleri ve etkinlikleri konusunda klinisyenlere yol gösterici olacağı düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Ali-Abdi A, Mohammadi- Mehr M, Agha Alaei YA. Bactericidal activity of various antibiotics against biofilm producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents* 2006; **27:**196-200.
2. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2013. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm, Sweden.
3. Antoniadou A, Kontopidou F, ve ark. Colistin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* emerging in intensive care unit patients: first report of a multiclonal cluster. *J Antimicrob Chemother* 2007; **59:**786-790.
4. Archibald LK, Gaynes RP. Hospital -acquired infections in the United States: the importance of interhospital comparisons. *Infect Dis Clin N Am* 1997; **11:**245-255.
5. Aslam S, Darouiche RO. Mechanical Integrity of hemodialysis catheters is maintained after exposure to a novel catheter lock solution. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2010; **31(11):**1124-9.
6. Aslam S, Trautner BW, Ramanathan V, Darouiche RO. Combination of Tigecycline and N-Acetylcysteine reduces biofilm embedded bacteria on vascular catheters. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; **51(4):**1556-1558.
7. Aydın D. Dört farklı proton pompa inhibitörünün gastrik asit salınımı üzerindeki etkinliklerinin karşılaştırılması. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi. 2009.
8. Aydın K. Makrolidler ve linkozamidler. *ANKEM Derg* 2007; **21(Ek 2):**57-61.
9. Aydoğan H, Başustaoğlu A. Nozokomiyal patojen olarak *Klebsiella* türlerinin mikrobiyolojik, klinik ve epidemiyolojik özellikleri *Hastane İnf Derg.* 2000;1-9.
10. Aygün G. Damar içi kateter enfeksiyonlarının önlenmesi ve kontrolü. *İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fak. Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri,* Hastane Enfeksiyonları: Korunma ve Kontrol Sempozyum Dizisi 2008; 79-88.

11. Babu JP, Abraham SN, Dabbous MK, Beachey EH. Interaction of a 60-Kilodalton D-mannose-containing salivary glycoprotein with type 1 fimbriae of *Escherichia coli. Infect Immun* 1986; **54:**104–108.
12. Baquero F, Culebras E, Patron C, Perez-Diaz JC, Vicente MF. Postantibiotic effect of imipenem on gram-positive and gram-negative micro-organisms. *J Antimicrob Chemother* 1986; **18 (Suppl E):**47-59.
13. Bassetti M, Nicolini L, Esposito S, Righi E, Viscoli C. Current status of newer carbapenems. *Curr Med Chem* 2009; **16(5):**564-575.
14. Başaran S, Korten V. Doripenem: klinik uygulamada yeni bir karbapenem. *Klimik Derg* 2010; **23(1):**2-5.
15. Bauer G, Berens C, Projan SJ, Hillen W. Comparison of tetracycline and tigecycline and tigecycline binding to ribosomes mapped by dimethylsulphate and drug-directed FE2+ clevage of 16s rRNA. *J Antimicrob Chemother* 2004; **53(4):**592-599.
16. Bayındır Y. 1986'dan 2010'a makrolidler. *ANKEM Derg* 2010; **24(Ek 1):**19-26.
17. Bayraktar B, Borsa BA, Bulut E. Kateter ile ilişkili enfeksiyonlarda kateter uçlarından izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotiklere dirençleri. *ANKEM Derg* 2007; **21:**46-49.
18. Bazan JA, Martin SI, Kaye KM. Newer beta-lactam antibiotics: doripenem, ceftobiprole, ceftaroline, and cefepime. *Infect Dis Clin North Am* 2009; **23(4):**983-996.
19. Begg EJ, Barclay ML. Aminoglycosides-50 years on. *Br J Clin Pharmac* 1995; **39:**597-603.
20. Bergeron J, Ammirati M, ve ark. Glycyclines bind to the high affinity tetracycline ribosomal binding site and evade Tet(M)-and Tet(O)-mediated ribosomal protection. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; **40(9):**2226-2228.
21. Berrington A, Gould FR. Use of antibiotic locks to treat colonized central venous catheters. *J Antimicrob Chemother* 2001; **48:**597-603.
22. Bestul MB, Vandenbussche HL. Antibiotic lock technique: review of the literature. *Pharmacotherapy* 2005; **25:**211-227.
23. Boyd A, Chakrabarty AM. Role of alginate lyase in cell detachment of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol* 1994; **60(7):** 2355-2359.

24. Bryan LE. Antibiotic uptake and the cytoplasmic membrane. *Antibiot Chemother* 1985; **36:**103-110.
25. Bullen JJ, Rogers HJ, Griffiths E. Role of iron in bacterial infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 1978; **80:**1–35.
26. Carlier C, Courvalin P. Resistance towards aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics in bacteria. *J Antimicrob Chemother* 1981; **8 (Suppl A):**57-63.
27. 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:**1771-1776.
28. Chambers HF. The Aminoglycosides. İçinde Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG editor. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Goodman & Gilman's, USA: 2001. pp. 1219-38.
29. Chen P, Seth AK, bercrombie JJ, Mustoe TA, Leung KP. Activity of ımıpenem against *Klebsiella pneumoniae* biofilms in vitro and in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; **58(2):**1208-1213.
30. Chiu AG, Antunes MB, Palmer JN, Cohen NA. Evaluation of the in vivo efficacy of topical tobramycin against *Pseudomonas* sinonasal biofilms. *J of Chemother* 2007; **59:**1130-1134.
31. Chu DT, Fernandes PB. Structure-activity relationships of the fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; **33:**131-135.
32. Collignon P, Munro R, Sorrell T. Systemic sepsis and intravenous devices. *Med J Aust* 1984; **141:**345-348.
33. Collignon P, Soni N, Pearson I, Sorrell T, Woods P. Sepsis associated with central vein catheters in critically ill patients. *Intensive Care Med* 1988; **14:**227-231.
34. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; **49:**711-745.
35. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; **284:**1318-1322.
36. Çalık N, Akova M. Tigesiklin. *ANKEM Derg* 2007; **21(Ek 2):**29-33.
37. Davey ME, O'Toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; **64:**847-867.

38. Dean CR, Visalli MA, Projan SJ, Sum PE, Bradford PA. Efflux-mediated resistance to tigecycline (GAR-936) in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; **47(3):**972-978.
39. de Kievit TR. Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Environmental Microbiology* 2009; **11(2):**279–28.
40. de Lorenzo V, Martinez JL. Aerobactin production as a virulence factor: a reevaluation. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis* 1988; **7:**621– 629.
41. Di Martino P, Merieau A, Phillips R, Orange N, Hulen C. Isolation of an *Escherichia coli* strain mutant unable to form biofilm on polystyrene and to adhere to human pneumocyte cells: involvement of tryptophanase. *Can J Microbiol* 2002; **48:**132-137.
42. Domingue G, Ellis B, Dasgupta M, Costerton JW. Testing antimicrobial susceptibilities of adherent bacteria by a method that incorporates guidelines of the National Committe for Clinical Laboratory Standards. *J Clin Microbiol* 1994; **32:**2564-2568.
43. Donlan RM. Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clin Infect Dis* 2001; **33:**1387-1392.
44. Donlan RM. Biofilms on central venous catheters: ıs eradication possible? İçinde Romen T, editör. *Bacterial Biofilms Current Topics in Microbiology and Immunology* 322 2008. pp. 133-161.
45. Doyle RJ. Contribution of the hydrophobic effect to microbial infection. *Microbes Infect* 2000; **2:**391-400.
46. Dökmeci İ. *Farmakoloji Temel Kavramlar.* İstanbul Nobel Tıp Kitabevi; 2000.
47. Drenkard E, Ausubel FM. *Pseudomonas* biofilm formation and antibiotic resistance are linked to phenotypic variation. *Nature* 2002;740-743.
48. Droste JC, Jeraj HA, MacDonald A, Farrington K. Stability and in vitro efficacy of antibiotic-heparin lock solutions potentially useful for treatment of central venous catheter related sepsis. *J of Antimicrob Chemother* 2003; **51:**849-855.
49. Ebrey R, Hamilton MS, Cairns G, Lappin-Scott HM. Biofilms and hospital acquired infections. İçinde Ghannoum M, O'Tooole GA editör. *Microbial Biofilms.* ASM Press; 2004. pp.294-313.

50. Ehrlich GD, Hu FZ, Post JC. Role for biofilms in infectious disease. İçinde Ghannoum M, O'Tooole GA editör. *Microbial Biofilms.* ASM Press; 2004. pp.332-359.
51. Elliot TSJ. Intravasküler- device infections. *J Med Microbiol* 1988; **27:**161-167.
52. Eng RHK, Padberg FT, Smith SM, Tan EN, Cherubin CE. Bactericidal effects of antibiotics on slowly growing and nongrowing bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; **35:**1824–1828.
53. Esplugues JV, Martí-Cabrera M, Ponce J. Safety of proton pump inhibitors. *Med Clin (Barc)* 2006; **127:**790–795.
54. European Committe on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 5.0, 2015.
55. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram negative bacterial infections. *Clin Infect Dis* 2005; **40:**1333-1341.
56. Fatkenheuer G, Cornely O, Seifert H. Clinical management of catheter-related infections. *Clin Microbiol Infect* 2002; **8:**545- 550.
57. Fortun J, Grill F, Martin-Davila P. Treatment of long-term intravascular catheter-related bacteraemia with antibiotic-lock therapy. *J Antimicrob Chemother* 2006; **58:**816-821.
58. Freestone PPE, Haigh RD, Williams PH, Lyte M. Stimulation of bacterial growth by heat-stable, norepinephrine-induced autoinducers. *FEMS Microbiol Lett* 1999; **172:**53-60.
59. Fridkin SK, Welbel SF, Weinstein RA. Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit. *Infect Dis Clin N Am* 1997; **11:**479-496.
60. Funalleras G, Fernandez-Hidalgo N ve ark. Effectiveness of antibiotic-lock therapy for long-term catheter-related bacteremia due to Gram negative bacilli: a prospective observational study. *Clin Infect Dis.* 2011; **53:**129–32.
61. Gazi H, Teker A, Sürücüoğlu S, Kurutepe S, Özbakkaloğlu B. Hastanede yatan hastalara ait kateter ucu kültürlerinden izole edilen bakterilerde antibiyotik direnci. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2006; **36:**150-154.

62. Gupta K, Hooton TM, ve ark. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the ınfectious diseases society of America and the European Society for microbiology and ınfectious diseases. *Clin Practice Guidelines (CID)* 2011; **52:**103-120.
63. Gülay Z. Kinolonlarda Direnç Problemi. *ANKEM Derg* 2002; **16(3):**232-237.
64. Gülay Z. *Enterobacteriaceae* moleküler epidemiyolojisi. *ANKEM Derg* 2014; **28(2):**73-76.
65. Gür D. Aminoglikozid grubu antibiyotikler ve bunlara karşı gelişen direnç mekanizmaları. *ANKEM Derg* 1992; **6(2):**307-311.
66. Gürsoy B, Gelecek S, Yorgancı K. Santral venöz kateter infeksiyonları. *Yoğun Bakım Derg* 2006; **6(4):**196-203.
67. Haagensen JA, Klausen M, ve ark. Differentiation and distribution of colistin- and sodiumdodecyl sulfate-tolerant cells in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *J Bacteriol* 2007; **189:**28–37.
68. Hassan-Alin M, Andersson T, ve ark. A pharmacokinetic study comparing single and repeated oral doses of 20 mg and 40 mg omeprazole and its two optical isomers, Someprazole (esomeprazole) and R-omeprazole, in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; **60:**779–784.
69. Hawkey PM, Jones AM. The changing epidemiology of resistance. *J Antimicrob Chemother* 2009; **64(Suppl 1):**i3-i10.
70. Henderson DK. Infections caused by percutaneous intravascular devices. İçinde Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. editör. *Principles and Practice of Infectious Diseases.* 6th ed. Philadelphia: Churchill -Livingstone. 2005: 3347-3362.
71. Hengzhuanng W, Wu H, ve ark. In vivo pharmocokinetics/ pharmacodynamics of colistin and imipenem in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; **56:**2683-2690.
72. Hoellman DB, Pankuch GA, Jacobs MR, Appelbaum PC. Antipneumococal activities of GAR-936 (a new glycylcycline) compared to those of nine other agents against penicillin-susceptible and -resistant pneumococci. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; **44(4):**1085-1088.

73. Hooper DC. Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis* 2001; **7:**337.
74. http://www.cdc.gov/HAI/organisms/klebsiella/klebsiella.html
75. http://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/700603.aspx?geo_country=tr
76. Huebner J, Pier GB, Maslow JN, Muller E, Shiro H, Parent M, Kropec A, Arbeit RD, Goldmann DA. Endemic nosocomial transmission of *Staphylococcus epidermidis* bacteremia isolates in a neonatal intensive care unit over 10 years. *J Infect Dis* 1994; **169:**526- 531.
77. Jacoby G, Cattoir V, ve ark. Qnr gene nomenclature. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **52(7):**2297-2299.
78. Kandemir O, Oztuna V, ve ark. Clarithromycin destroys biofilms and enhances bactericidal agents in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 2005; **430:**171- 175.
79. Karaiiskos I, Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother* 2014; **15(10):**1351-1370.
80. Kaya I, Göker G, Bal Kayacan Ç, Gürler N. Yoğun bakım izolatı Gram negatif bakterilerde tigesiklin duyarlılığı. *ANKEM Derg* 2007; **21(3):**142-145.
81. Keam SJ. Doripenem. A review of its use in the treatment of bacterial infections. *Drugs* 2008; **68(14):**2021-2057.
82. Khimji PL, Miles AA. Microbial iron-chelators and their action on *Klebsiella* infections in the skin of guinea-pigs. *Br. J. Exp. Pathol* 1978; **59:**137–147.
83. Klotz U. Pharmacokinetic considerations in the eradication of *Helicobacter pylori*. *Clin Pharmacokinet* 2000; **38:**243–270.
84. Krishnasami Z, Carlton D ve ark. Management of hemodialysis catheter related bacteremia with an adjunctive antibiotic lock solution. *Kidney Int.* 2002; **61:**1136–1142.
85. Langstraat J, Bohse M, Clegg S. Type 3 fimbrial shaft (MrkA) of *Klebsiella pneumoniae*, but not the fimbrial adhesin (MrkD), facilitates biofilm formation. *Infect Immun* 2001; **69:**5805-5812.
86. Lavender HF, Jagnow JR, Clegg S. Biofilm formation in vitro and virulence in vivo of mutants of *Klebsiella pneumoniae. Infect Immun* 2004; **72:**4888-4890.

87. Leblebicioğlu H. Yeni kinolonlarda mikrobiyolojik ve klinik etkinlik. *ANKEM Derg* 2002; **16(3):** 226-231.
88. Lee MY, Ko KS, Song JH. In vitro effectiveness of the antibiotic lock technique (ALT) for the treatment of catheter-related infections by *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae. J Antimicrob Chemother* 2007; **60:**782–787.
89. Livermore DM. Tigecycline: what is it, and where should it be used? *J Antimicrob Chemother* 2005; **56(4):**611-614.
90. Lockhart SR, Abramson MA, ve ark. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli causing infections in intensive care unit patients in the United States between 1993 and 2004. *J Clin Microbiol* 2007; **45:**3352-3359.
91. MacGowan AP. Tigecycline pharmacokinetic/pharmacodynamic update. *J Antimicrob Chemother* 2008; **62(Suppl 1):**S11-16.
92. Maki DG. Pathogenesis, prevention and management of infections due to intravascular devices used for infusion therapy. İçinde Bisno AL, Waldvogel FA editör. *Infections associated with indwelling medical devices*.1st ed.Amer Soc Microb, Washington DC, 1989:161-177.
93. Manian FA. IDSA guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter related bloodstream infection. *Clin Infect Dis* 2009; **49:** 1770-1701.
94. Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998; **351(9105):**797-799.
95. Mataracı E. *Pseudomonas aeruginosa*'nın planktonik ve biyofilm kültürlerine karşı çeşitli dezenfektanların antimikrobik etkilerinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 2010.
96. Matthews SJ, Lancaster JW. Doripenem monohydrate, a broad-spectrum carbapenem antibiotic. *Clin Ther* 2009; **31(1):**42- 63.
97. Mermel LA. Prevention of intravascular catheter-related infections. *Ann Intern Med* 2000; **132:**391-402.
98. Mermel LA, Allon M ve ark. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of ıntravascular catheter-related infection: 2009 update by the infectious diseases society of America. IDSA Guidelines for Intravascular Catheter-Related Infection *Clin Infect Dis* 2009; **49:**1-45.

99. Mermel LA, Farr BM, Sherertz RJ, Raad II, O'Grady N, Harris LS, Craven DE. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis* 2001; **32:**1249–1272.

100. Messing B, Peitra-Cohen S, Debure A, Beliah M, Bernier JJ. Antibiotic-lock technique: a new approach to optimal therapy for catheter-related sepsis in home-parenteral nutrition patients. *J Paren Enteral Nutrit* 1988; **12:**185-189.

101. Metan G, Demiraslan H, Kaynar LG, Zararsız G, Alp E, Eser B. Factors influencing the early mortality in heaematological malignancy patients with nosocomial Gram negative bacilli bacteraemia: a retrospective analysis of 154 cases. *The Bralizian J of Infectious Diseases: An official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases* 2013; **17:**143-149.

102. Milatovic D, Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC. Activities of the glycylcycline tigecycline (GAR-936) against 1924 recent Europeian clinical bacterial isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; **47(1):**400-404.

103. Monroe D. Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms. *PLOS Biol* 2007; **5(11):**e307.

104. Mulcahhy LR, Isabella VM, Lewis K. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in disease. *Microb Ecol* 2014; **68(1):**1-12.

105. National Committee for Clinical Laboratory Standards: methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents- approved guideline M26-A. Wayne, NCCLS, 1999.

106. Nazik H, Öngen B. Türkiye'de plazmit aracılı kinolon direnci. *ANKEM Derg* 2010; **24(1):**46-54.

107. Nguyen PT, Baldeck JD, Olsson J, Marquis RE. Antimicrobial actions of benzimidazoles against oral streptococci. *Oral Microbiol Immunol* 2005; **20:**93–100.

108. Oatley CW, Nixon WC, Pease RFW (1965) Scanning electron microscopy. *Adv Electronics Electron Phys* 1965; **21:**181–247.

109. O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *CID*, 2002: **35:**1281-307.

110. O'Grady NP, Alexander RN, Burns LA. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Am J Infect Control* 2001; **39:** S1-S34.

111. Orsi GB, Scorzolini L, Franchi C, Mondillo V, Rosa G, Venditti M. Hospital- acquired infection surveillance in neurosurgiical intensive care unit. *J Hosp Infect* 2006; **64:**23-29.

112. Osono T, Umezawa H. Pharmacokinetics of macrolides, lincosamides and streptogramins. *J Antimicrob Chemother* 1985; **16(Suppl A):**151-166.

113. Ottow JCG. Ecology, physiology, and genetics of fimbriae and pili. *Annu Rev Microbiol* 1975; **29:**79–108.

114. Owens RCJr, Ambrose PG. Clinical use of the fluoroquinolones. *Med Clin North Am* 2000; **84:**1447.

115. Öcal D, Dolapçı İ. Santral venöz kateter ile ilişkili enfeksiyonlar. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2012; **42(1):**1-9.

116. Öksüz L, Gürler N. Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli Stafilokok suşlarının son yıllarda kullanıma giren antibiyotiklere in-vitro duyarlılık sonuçları. *ANKEM Derg* 2009; **23(2):**71-77.

117. Öncül O. Kolistin: endikasyon ve klinik kullanımı. *ANKEM Derg* 2012; **26(Ek 2):**12-18.

118. Öncül A, Koşulu S, Elevli K. Bir devlet hastanesinin yoğun bakım ünitelerinde kazanılan hastane enfeksiyonlarının epidemiyolojisi. *Şişli Etfal Hast Tıp Bült* 2012; **46:**60-66.

119. Özbek Çelik B, Mataraci E. In vitro effectiveness of colistin, tigecycline and levofloxacin alone and combined with clarithromycin and/or heparin as lock solutions against embedded *Acinetobacter baumannii* strains *J of Antimicrob Chemother* 2013; **68:**827-830.

120. Özbek Çelik B, Mataraci Kara E. Comparative in vitro efficacies of various antipseudomonal antibiotics based catheter lock solutions on eradication of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *J of Chemother* 2014; **25:**1-5.

121. Pachon-Ibanez ME, Jimenez-Mejiaz ME, Pichardo C, Lianos AC, Pachon J. Activity of tigecycline (GAR-936) against *Acinetobacter baumannii* strains, including those resistant to imipenem. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48(11):**4479- 4481.

122. Pamp SJ, Gjermansen M, Johansen HK, Nielsen TT. Tolerance to the antimicrobial peptide colistin in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms is linked to metabolically active cells, and depends on the pmr and mexAB-oprM genes. *Molecular Microbiology* 2008; **68(1):**223–240.

123. Pankey GA. Tigecycline. *J Antimicrob Chemother.* 2005; **56(3):**470-480.

124. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; **55(11):**4943-4960.

125. Passador L, Cook JM, Gambello MJ, Rust L, Iglewski BH. Expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes requires cell-to-cell communication. *Science* 1993; **260:** 1127–1130.

126. Paterson DL. "Collateral Damage" from cephalosporin or quinolone antibiotic therapy. *Clin Infect Dis* 2004; **38(Suppl 4):**S341- 345.

127. Paterson DL, DePestel DD. Doripenem. *Clin Infect Dis* 2009; **49:**291-298.

128. Peterson LR. A review of tigecycline-the first glycylcycline. *Int J Antimicrob Agents* 2008; **32(Supp 4):**S215-222.

129. Pişkin N, Aydemir H, ve ark. İntravasküler kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarının incelenmesi. *ANKEM Derg* 2008; **22:**10-13.

130. Podschun R, Fischer A, Ullmann U. Siderophore production of *Klebsiella* species isolated from different sources. *Zentbl. Bakteriol.* 1992; **276:** 481–486.

131. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. As nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev* 1998; **11:(4)**589- 603.

132. Pontikis K, Karaiskos I, ve ark. Outcomes and critically ill intensive care unit patients treated with fosfomycin for infectious due to pandrug-resistant and extensively drug-resistant carbapenemase-producing Gram negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2014; **43:**52-59.

133. Prabhash K, Medhekar A, ve ark. Bloodstream infections in cancer patients: a single center experience of isolates and sensitivity pattern. *Indian J of Cancer* 2010; **47:**184-188.

134. Qu J, Ye H, Yu R, Lü X. Role of efflux pumps in resistance to tigecycline in *Acinetobacter baumannii*. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2014; **16:94(46):**3661-3665.

135. Raad I, Hanna H, ve ark. Comparative activities of daptomycin, linezolid, and tigecycline against catheter related methicliin resistant Staphylococcus bacteremic isolates embedded in biofilm. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; **51(5):**1656-1660.

136. Raad I, Hanna H, Dvorak T, Chaiban G, Hachem R. Optimal antimicrobial catheter lock solution, usingg different combinations of minocyccline, EDTA, and 25- percent ethanol, rapidly eradicates organisms embedded in biofilm. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; **51(1):**78-83.

137. Raad II, Hanna H, Maki D. Intravascular catheter-related infections: advances in diagnosis, prevention, and management. *Lancet Infect Dis* 2007; **7:**645-*6*57.

138. Roberts MC. Tetracycline therapy: update. *Clin Infect Dis* 2003; **36(4):**462-467.

139. Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis* 2006; **6(10):**629-640.

140. Rowbury RJ. An assessment of environmental factors influencing acid tolerance and sensitivity in *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and other Enterobacteria. *Lett Appl Microbiol* 1995; **20:**333-337.

141. Sachs G, Shin JM, Howden CW. Review article: the clinical pharmacology of proton pump inhibitors. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; **23(Suppl 2):**2–8.

142. Sahm D. In vitro activity of doripenem. *Clin Infect Dis* 2009; **49(Suppl 1):**S11- 16.

143. Sandoe JAT, Wysome J, West AP, Heritage J, Wilcox MH. Measurement of ampicillin, vancomycin, linezolid, and gentamicin activity against enterococcal biofilms. *J Antimicrob Chemother* 2006; **57:**767-770.

144. Sauer K, Camper AK, Ehrlich GD, Costerton JW, Davies DG. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J Bacteriol* 2002; **184(4):** 1140-1154.

145. Schroll C, Barken KB, Krogfelt KA, Struve C. Role of type 1 and type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation. *BMC Microbiol* 2010; **10:**179.

146. Sette P, Dorizzi RM, Azzini AM. Vascular access: an historical perspective from Sir William Harvey to the 1956 Nobel Prize to Andre F. Cournand, Werner Forsmann and Dickinson W. Richards. *J Vasc. Access* 2012; **13(2):** 137-144.

147. Shah H, Bosch W, Thompson KM, Hellinger WC. Intravascular catheter-related bloodstream infection. *The Neurohospitalist*, 2013; **3(3):**144-51.

148. Shannon K, Phillips I. Mechanisms of resistance to aminoglycosides in clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 1982; **9:**91-102.

149. Shapiro JA. Thinking about bacterial populations as multıcellular organısms. *Annu Rev Microbiol* 1998; **52:** 81–104.

150. Shi S, Klotz U. Proton pump inhibitors: an update of their clinical use and pharmacokinetics. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; **64:**935-951.

151. Shirtliff ME, Mader JT, Camper AK. Molecular interactions in biofilms. *Chem Biol* 2002; **9:**859-871.

152. Siegman-Igra Y, Golan H, Schwartz D, Cahaner Y, de-Mayo G, Orni-Wasserlauf R. Epidemiology of vascular catheter- related bloodstream infections in a large university hospital in Israel. *Scand J Infect Dis* 2000; **32:**411-415.

153. Sievert DM, Ricks P, ve ark. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013; **34(1):**1-14.

154. Singh V, Arora V, Alam JM, Garey KW. Inhibition of biofilm formation by esomeprazole in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother* 2012; **56(8):**4360- 4364.

155. Sjostrom JE, Kuhler T, Larsson H. Basis for the selective antibacterial activity in vitro of proton pump inhibitors against *Helicobacter* spp. *Antimicrob. Agents Chemother* 1997; **41:**1797–1801.

156. Song JY, Cheong HJ, Noh JY, Kim WJ. In vitro comparison of anti-biofilm effects against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: imipenem,

colistin, tigecycline, rifampicin and combinations. *Infect Chemother* 2015; **47(1):**27-32.

157. Stanford Hospital and Clinics Pharmacy Department policies and procedures. Antibiotic lock therapy guideline. Rev. Tarihi 01/2015. http://med.stanford.edu/content/dam/sm/bugsanddrugs/documents/clinicalpathways/SHC%20abx%20lock%20therapy%202015-01-15.pdf
158. Stoodley P, DeBeer D, Lappin-Scott HM. Influence of electrical fields and pH on biofilm structure as related to the bioelectric effect. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; **41:**1876-1879.
159. Sümer Ş, Dikici N. Kolistin. *Yoğun Bakım Derg* 2010; **9(4):**182-187.
160. Sümer Ş, Dikici N. Yeni bir karbapenem: doripenem monohidrat. *Tıp Araştırma Derg* 2013; **11(3):**135-139.
161. Şenol E. Siprofloksasin. *ANKEM Derg* 2002; **16(3):**382- 384.
162. Tanaka G, Shigeta M, Komatssuzawa H, Sugai M, Suginaka H, Usui T. Effect of clarithromycin on *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Chemotheraphy* 2000; **46:**36-42.
163. Taşova Y. Kateterlerde enfeksiyon riski ve önlenmesi Türk Hematoloji Derneği - Hematoloji Pratiğinde Uygulamalı Kateterizasyon Kursu 2006.
164. Taşova Y. Tetrasiklinden tigesikline. *ANKEM Derg* 2010; **24(Ek 2):**36-44.
165. Thomas JG, Ramage G, Lopez -Ribot JL. Biofilms and ımplant ınfections. İçinde Ghannoum M, O'Tooole GA editör. *Microbial Biofilms.* ASM Press; 2004:269-293.
166. Thomson CJ. The global epidemiology of resistance to ciprofloxacin and the changing nature of antibiotic resistance: a 10 year perspective. *J Antimicrob Chermother* 1999; **43(Suppl A):**31.
167. Toutain CM, Caiazza NC, O'Toole GA. Molecular basis of biofilm development by *Pseudomonas*. İçinde Ghannoum M, O'Toole GA, editörler. *Microbial biofilms*. USA: ASM Pres; 2004. pp.43-63.
168. Tre-Hardy M, Traore H, El Mansossouri N, Vanderbist F, Vaneechoutte M, Devleeschouwer MJ. Evaluation of long term co-administration of tobramycin and clarithromycin in mature biofilm model of cystic fibrosis clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa. Int J Antimicrob Agents* 2009; **34(4):**370-374.

169. Uludağ Altun H, Şener B. Biyofilm infeksiyonları ve antibiyotik direnci. *Hacettepe Tıp Derg* 2008; **39:**82-88.

170. Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi, 2013 Yıllık Raporu. TC Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı, Ankara 2015.

171. Ulusoy S. Hastane Enfeksiyonları ve Kontrolü Derneği, Damar İçi Kateter Enfeksiyonlarının Önlenmesi Çalışma Grubu. "Damar içi kateter infeksiyonlarının önlenmesi kullanım kılavuzu", *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 2005; **9(Ek 1):**E3-32.

172. Varny JD, Stewart PS, Suci PA. Comparison of recalcitrance to ciprofloxacin and levofloxacin exhibited by *Pseudomonas aeruginosa* biofilms displaying rapid-transport characteristics. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; **41(6):**1352-1358.

173. Velasco C, Rodriguez-Mertinez JM, Briales A, DiazdeAlba P, Calvo J, Pascual A. Smaqnr, a new chromosome-encoded quinolone resistance determinant in *Serratia marcescens. J Antimicrob Chemother* 2010; **65(2):**239-242.

174. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) study. *JAMA*, 1995; **274:**639-644.

175. Virkola RB, Westerlund H, ve ark. Binding characteristics of *Escherichia coli* adhesins in human urinary bladder. *Infect. Immun* 1988; **56:**2615–2622.

176. Vuotto C, Longo F, Pia Balice M, Donelli G, Varaldo PE. Antibiotic resistance related to biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae. Pathogens* 2014; **3:**743-758.

177. Walters MC 3rd, Roe F, Bugnicourt A, Fraanklin MJ, Stewart PS. Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; **47(1):**317-323.

178. Ward KH, Olson ME, Lam K, Costerton JW. Mechanisms of persistent infection associated with peritoneal implants. *J Med Microbiol* 1992; **36:**406-413.

179. Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler class A extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; **47(8):**2385-2392.

180. Williams P, Chart H, Griffiths E, Stevenson P. Expression of high affinity iron uptake systems by clinical isolates of *Klebsiella. FEMS Microbiol. Lett* 1987; **44:**407–412.

181. Williams P, Smith MA, Stevenson P, Griffiths E, Tomas JMT. Novel aerobactin receptor in *Klebsiella pneumoniae. J. Gen. Microbiol* 1989; **135:**3173–3181.

182. Wolfe MM, Sachs G. Acid supression: optimizing therapy for gastroduedenal ulcer healing, gastroesophageal reflux disease and stres related erosive syndrom. *Gasroentorolgy*, 2000; **118:**S9-31.

183. Yasuda H, Ajiki Y, Koga T,Yokata T. Interaction between clarithromycin and biofilms formed by *Staphylococcus epidermidis. Antimicrob Agents Chemother* 1994; **38:**138-141.

184. Yu VL, Hansen DS, ve ark. Virulence characteristics of *Klebsiella* and clinical manifestations of *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Emerg Infect Dis* 2007; **13:**986–993.

185. Zuckerman JM, Qamar F, Bono BR. Macrolides, ketolides, and glycylcyclines: azithromycin, clarithromycin, telithromycin, tigecycline. *Infect Dis Clin North Am* 2009; **23(4):**997-1026.

ETİK KURUL KARARI

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

Sayı : 45 **Tarih : 15.01.2013**

Konu : Doç. Dr. Berna ÖZBEK ÇELİK

Sayın Doç. Dr. Berna ÖZBEK ÇELİK
Eczacılık Fakültesi Dekanlığı

İlgi :Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 23/11/2012 gün ve 1355 sayılı yazısı

Sorumlu araştırıcılığını üstlendiğiniz ve Doktora Öğrencisi Emel MATARACI'nın yürüteceği 2012/1675-1268 dosya numaralı "Çeşitli antibiyotiklerin tek başlarına ve kombinasyon halinde in vitro biyofilm modelinde klebsiella pneumoniae suşlarına karşı etkilerinin araştırılması" başlıklı tez çalışması kurulumuzun 04/01/2013 tarihli 01 sayılı toplantısında 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: Tutanak

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	**"Çeşitli antibiyotiklerin tek başlarına ve kombinasyon halinde in vitro biyofilm modelinde klebsıella pneumonıae suşlarına karşı etkilerinin araştırılması"**			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	**Doç. Dr. Berna ÖZBEK ÇELİK**			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	**Eczacılık**			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	**İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi**			
	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 : Deneysel			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ■	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ■	ULUSLARARASI ☐

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	20/11/2012		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:01	**Tarih: 04/01/2013**
	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde görevli **Doç. Dr. Berna ÖZBEK ÇELİK** 'ın sorumluluğunda ve Doktora Öğrencisi **Emel MATARACI**'nın 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	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik	E ☐	K ■	E ☐	H ■	E ■	H ☐	

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma

Bu karar araştırma projesinin etik açıdan değerlendirme sonucunu bildirmektedir. Klinik ilaç araştırması projeleri için, etik kurulu onayı sonrasında, Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmeliğin 5/a .maddesi gereğince, Sağlık Bakanlığına da başvurulması ve gerekli iznin alınması gerekmektedir.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Emel	**Soyadı**	Mataracı Kara
Doğ.Yeri	Şişli	**Doğ.Tar.**	03.06.1985
Uyruğu	T.C.	**TC Kim No**	65140222798
Email	emataraci@istanbul.edu.tr	**Tel**	05325620219

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	2016
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	2010
Lisans	İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2007
Lise	Şişli Anadolu Lisesi	2003

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	Araştırma Görevlisi	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2008-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
İngilizce	İyi	İyi	İyi	68.75	

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	77.96	78.73	69.73
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Microsoft Office, GraphPad Prism İstatistik Programı, İnternet Explorer	Çok iyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Yayınlar/Tebliğler :

A. Uluslararası hakemli dergilerde (Science Sitation Index) yayımlanan makaleler :

1. Tüyün AF, Bayrak N, Yıldırım H, Onul N, **Mataracı Kara E**, Özbek Çelik B. Synthesis and biological evaluation of aminonaphtoquinones and benzo(b)phenazine-6,11-dione derivatives as potential antibacterial and antifungal compounds. *J of Chem* 2015; 1-8. Article ID 645902, doi:10.1155/2015/645902.
2. Başpınar Küçük H, **Mataracı Kara E,** Özbek Çelik B. A new series of Cu (II) and Ni (II) complexes of NO bidentate 4-NO_2- benzoylhdrazones synthesis, characteriization, and biological studies. *Turk J Chem* 2015; **39:** 939 – 954.
3. Özbek Çelik B, **Mataracı Kara E,** Er S, Özdamar M, Yılmaz M. In vitro activities of colistin, tigecycline and tobramycin, alone or in combination, against carbapenem resistant Enterobacteriaceae strains. *J of Global Antimicrobial Resistance* 2015; **3:**278-282.
4. Özbek Çelik B, **Mataracı Kara E.** Comparative in vitro efficacies of various antipseudomonal antibiotics based catheter lock solutions on eradication of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *J Chemother* 2014; **25:**1-5.
5. Özbek Çelik B, **Mataracı Kara E,** Yılmaz M. Effects of various antibiotics alone or in combination with doripenem against *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in an intensive care unit. *Biomed Res Int* 2014;1-6.
6. Döşler S, **Mataracı E.** In vitro pharmacokinetics of antimiicrobial cationic peptides alone and in combination with antibiotics against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* biofilms. *Peptides* 2013; **49:**53-58.
7. Ozbek B, **Mataraci E.** In vitro effectiveness of colistin, tigecycline and levofloxacin alone and combined with clarithromycin and/or heparin as lock solutions against embedded *Acinetobacter baumannii* strains. *J Antimicrob Chemother* 2013; **68:** 827–830.
8. **Mataraci E,** Dosler S. In vitro activities of antibiotics and antimicrobial cationic peptides alone and in combination against Methicillin-resistant

Staphylococcus aureus biofilms. *Antimicrob Agents and Chemother* 2012; **56(12):**6366-71.

9. Kucuk HB, Yusufoglu A, **Mataraci E**, Dosler S. Synthesis and biological activity of new 1,3-dioxolanes as potential antibacterial and antifungal compounds *Molecules* 2011; **16:**6806-6815.

B. <u>Yazılan uluslararası kitaplar veya kitaplardaki bölümler :</u>

1. Özbek Çelik B, **Mataracı E.** Comparative in vitro efficacies of colistin-levofloxacin, colistin-tigecycline and tigecycline-levofloxacin based catheter lock solutions on eradication of Acinetobacter baumannii biofilms. İçinde *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education.* Mendez-Vilas A. editör. Formatex Research Center, Madrid, 2013; 1-8.

C. <u>Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :</u>

1. Döşler S, **Mataracı E,** Başpınar Küçük H, Yusufoğlu A. Antibacterial and antibiofilm activities of new chiral and racemic 1,3-dioxolanes. *J Fac of Pharm of Istanbul University* 2015; **45(1):**19-28.

2. Mataracı E, Gerceker AA. Çeşitli dezenfektanların minimum bakterisidal konsantrasyonlarının *Pseudomonas aeruginosa*'nın biyofilm kültürlerine karşı araştırılması. *ANKEM Derg* 2011; **25(4):**209-214.

D. <u>Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler :</u>

1. Özbek Çelik B, **Mataracı E,** Er S, Özdamar M, Yılmaz M. In vitro synergistic effects of colistin, tigecycline, tobramycin and doripenem alone or in combinations against carbapenem resistant Enterobacteriaceae strains. 6th Congress of European Microbiologist, Maastrich, Hollanda. 7-11 Temmuz 2015 (Poster).

2. Özbek Çelik B, **Mataracı E.** Comparative in vitro efficacies of various antipseudomonal antibiotics based catheter lock solutions on eradication of *Pseudomonas aeruginosa*. 4th International Meeting on

Pharmacy&Pharmaceutical Sciences, İstanbul, Türkiye. 18-21 Eylül 2014 (Poster).

3. Eroğlu Özkan E, Özbek Çelik B, **Mataracı Kara E.** Biological activities of *Muscarii negllectum* growing in Turkey. EJFA 11. International Ethnobotany Symposia, Antalya, Türkiye. 2-5 Kasım 2013 (Poster).
4. Özbek Çelik B, **Mataracı E.** Comparative in-vitro efficacies of colistinlevofloxacin, colistin-tigecycline and tigecycline-levofloxacin based catheter lock solutions on eradication of *Acinetobacter baumannii* biofilms. 9th International Symposium on the Biology of Acinetobacter, Almanya. 19-21 Haziran 2013 (Poster).

E. <u>Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:</u>

1. **Mataracı Kara E,** Özbek Çelik B. Kolistin, tigesiklin ve tobramisinin tek başlarına ve kombinasyon halinde çeşitli örneklerden izole edilen Enterobacteriaceae türlerine karşı in vitro etkilerinin araştırılması. 11. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, İstanbul 18-20 Nisan 2014. sayfa.171 (Poster).
2. Özbek Çelik B, **Mataracı E.** Tigesiklini tek başına ve klaritromisin ve/veya heparin ile kombinasyon halinde içeren antibiyotik kilit çözeltilerinin *Acinetobacter baumannii* suşları tarafından oluşturulan santral venöz kateter biyofilm modeline in-vitro etkilerinin araştırılması. 35.Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı (P-334), 3-7 Kasım 2012 Kuşadası/Aydın (Poster).
3. **Mataracı E,** Er S, Yılmaz M, Özbek Çelik B. Çeşitli antibiyotiklerin tek başlarına ve kombinasyon halinde bakteriyemili hastalardan izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarına karşı oluşturduğu in vitro etkilerin araştırılması. 35.Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı (P-37), 3-7 Kasım 2012 Kuşadası/Aydın (Poster).
4. Döşler S, **Mataracı E.** Antimikrobik katyonik peptitlerin tek başlarına ve kombinasyon halinde MRSA biyofilmi üzerine etkinliklerinin araştırılması. 35.Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı (P-56), 3-7 Kasım 2012 Kuşadası/Aydın (Poster).

5. **Mataracı E,** Gerçeker AA. *Pseudomonas aeruginosa*'nın planktonik ve biyofilm kültürlerine karşı çeşitli dezenfektanların minimum bakterisidal konsantrasyonlarının araştırılması. 26. ANKEM Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi, Kızılağaç/Manavgat, 18-22 Mayıs 2011 **Sözel Sunu (S-7),** *ANKEM Derg* 2011;(25)(Ek 1).

Sertifikalar :

1. Eppendorf Pipette Clinic&Centrifuges Clinic Semineri. İncekaralar Tıbbi Cihazlar A.Ş., 5 Nisan 2011, İstanbul.
2. Cytotoxicity and Genotoxicity Testing Systems, Xenometrix, 8-11 Şubat 2011, İstanbul.
3. cGMP (current Good Manufacturing Practices) Eğitimi Başarı Belgesi, Quality Academia, 6-7 Mart 2010 İstanbul.
4. Bilgisayar Meslek Dalı Eğitim Programları Kurs Sertifikası 04.03.2006-25.05.2006 Milli Eğitim Bakanlığı, İstanbul.

Ödüller :

1. "Başarılı Araştırıcı Ödülü" İstanbul Üniversitesi, 2014.
2. "Başarılı Araştırıcı Ödülü" İstanbul Üniversitesi, 2013.
3. "Ecz.Erol TOKSÖZ İlaç Araştırma Ödülleri" kapsamında 3.'lük ödülü. Sanovel İlaç A.Ş., 2013.

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Kitap okumak, Müzik dinlemek, Sinema ve tiyatroya gitmek.