T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DELAFLOKSASİN'İN TEK BAŞINA VE ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERLE KOMBİNASYON HALİNDE *PSEUDOMONAS AERUGİNOSA* SUŞLARINA KARŞI İN VİTRO ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

SELİN MELİS ÇAKMAK

DANIŞMAN
DOÇ. DR. EMEL MATARACI KARA

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2023

İTHAF

Her zaman yanımda olup beni destekleyen Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Danışmanım olarak tüm yüksek lisans hayatım boyunca bana yol gösterip tecrübelerini paylaşan, tez döneminde her zaman arkamda olup destek olmuş sevgili hocam Doç. Dr. Emel Mataracı Kara'ya,

Benden yardımlarını esirgememiş anabilim dalımızdaki Prof. Dr. A. Seher Birteksöz Tan, Prof. Dr. Berna Özbek Çelik, Prof. Dr. Sibel Döşler, Prof. Dr. Çağla Bozkurt Güzel, Dr. Öğr Üyesi Mayram Hacıoğlu ve Kimyager Emine Tuncer'e

Deney sürecinde kafamda herhangi bir soru olduğunda ya da sorun yaşadığımda bana yardımcı olan Araş. Gör. Fatımanur Yılmaz, Araş. Gör. Bekir Özer ve Ahmet Kesim'e

Her şartta hayatım boyunca bana maddi ve manevi hep destek olmuş anneme, babama ve kardeşlerim Defne ve Arda'ya,

Tüm destekleri için teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2022-39360

İÇİNDEKİLER

İTHAF ..... İİ
TEŞEKKÜR ..... İİİ
İÇİNDEKİLER ..... İV
TABLOLAR LİSTESİ ..... Vİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... Vİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ X
ÖZET ..... Xİİ
ABSTRACT ..... Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Pseudomonas Türleri 3
2.2. Kullanılan Antibiyotikler Hakkında Genel Bilgiler 11
2.2.1. Delafloksasin 11
2.2.1.1. Yapı-Aktivite İlişkisi 11
2.2.1.2. Etki Mekanizması 12
2.2.1.3. Direnç Mekanizması 13
2.2.1.4. Etki Spektrumu 14
2.2.2. Levofloksasin 14
2.2.2.1. Yapı-Aktivite İlişkisi 14
2.2.2.2. Etki ve Direnç Mekanizması 15
2.2.2.3. Etki Spektrumu 16
2.2.3. Fosfomisin 16
2.2.3.1. Yapı-Aktivite İlişkisi 16
2.2.3.2. Etki Mekanizması 17
2.2.3.3. Direnç Mekanizması 18
2.2.3.4. Etki Spektrumu 19
2.2.4. Tobramisin 19
2.2.4.1. Yapı-Aktivite İlişkisi 19
2.2.4.2. Etki Mekanizması 20
2.2.4.3. Direnç Mekanizması 20
2.2.4.4. Etki Spektrumu 22

2.2.5. Kolistin....22
2.2.5.1. Yapı-Aktivite İlişkisi....22
2.2.5.2. Etki Mekanizması....23
2.2.5.3. Direnç Mekanizması....24
2.2.5.4. Etki Spektrumu....25
2.2.6. Meropenem....25
2.2.6.1. Yapı-Aktivite İlişkisi....25
2.2.6.2. Etki Mekanizması....26
2.2.6.3. Direnç Mekanizması....26
2.2.6.4. Etki Spektrumu....27
2.2.7. Seftazidim-Avibaktam....28
2.2.7.1. Yapı-Aktivite İlişkisi....28
2.2.7.2. Etki Mekanizması....28
2.2.7.3. Direnç Mekanizması....29
2.2.7.4. Etki Spektrumu....30
3. GEREÇ VE YÖNTEM....31
3.1. Bakteri Suşları....31
3.2. Antibiyotikler ve Çözeltileri....31
3.3. Kullanılan Besiyerleri....32
3.3.1. Triptik Soya Agar (TSA)....32
3.3.2. Katyon İlaveli Mueller Hinton Buyyonu (KİMHB)....32
3.4. İnokulum Hazırlanması....33
3.4.1. Bakteri Süspansiyonunun Hazırlanması....33
3.4.2. İnokulumdaki Bakteri Koloni Sayısının Tespiti....33
3.5. Diğer Malzemeler....33
3.6. Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun (MİK) Saptanması....34
3.6.1. Deney Koşullarının Standardizasyonu....34
3.6.2. Çalışmada Kullanılan Antibiyotiklere Ait MİK Değerlerinin Belirlenmesi....34
3.7. Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu (MBK) Değerlerinin Belirlenmesi....35
3.8. Antibiyotiklerin “Zamana Bağlı Öldürme” Yöntemiyle Etkilerinin Araştırılması35
3.8.1. Antibiyotiklerin Tek Başına ve Kombinasyon Halinde Etkilerinin Araştırılması....35
3.9. İstatiksel Analiz....37

4. BULGULAR.....38
4.1. Minimum İnhibitör Konsantrasyonun (MİK) Saptanmasına Ait Bulgular.....38
4.1.1. Deney Koşullarının Standardizasyonuna Ait Bulgular.....38
4.1.2. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *P. aeruginosa* Suşlarına Ait Bulgular38
4.2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) Değerlerine Ait Bulgular 42
4.3. Antibiyotiklerin Zamana-Bağlı Öldürme Eğrilerine Ait Bulgular.....43
4.3.1. Standart Suşa Ait Bulgular.....43
4.3.2. Klinik Suşlara Ait Bulgular.....44
5. TARTIŞMA 56
SONUÇ 64
KAYNAKLAR 66
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....88

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: 2016-2020 Yılları arasında Avrupa Birliği(AB)&Avrupa Birliği Dışında İzole edilen P. aeruginosa Sayıları ve Çeşitli Antibiyotiklere karşı Geliştirdiği Direnç Yüzdeleri (WHO 2020)9

Tablo 2.2: 2016-2020 Yılları arasında Türkiye'de İzole edilen P.aeruginosa Sayıları ve Çeşitli Antibiyotiklere karşı Geliştirdiği Direnç Yüzdeleri (WHO 2020)9

Tablo 4.1 : Antibiyotiklerin P. aeruginosa ATCC 27853 Standart Suşuna Karşı Saptanan MİK değerleri38

Tablo 4.2 : Antibiyotiklerin 40 Adet P.aeruginosa Suşuna Karşı Elde Edilen MİK Değerleri (µg/ml)39

Tablo 4.3 : Zamana-Bağlı Öldürme Deneylerinde Kullanılan Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilmiş Beş Adet P. aeruginosa Suşlarına Karşı Saptanan MİK Değerlerine Ait Bulgular40

Tablo 4.4 EUCAST (2022) Kriterlerine Göre Test Edilen Antibiyotiklerin P. aeruginosa Suşlarına Karşı Antimikrobiyal Duyarlılık Sınırları41

Tablo 4.5 Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen 40 adet P. aeruginosa suşunun antibiyotik duyarlılık yüzdeleri (%)42

Tablo 4.6 : Antibiyotiklerin Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen 40 Adet P. aeruginosa Suşuna Karşı Elde Edilen MBK Değerleri43

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Pseudomonas aeruginosa'nın Taramalı Elektron Mikroskopundaki (x10.000) Mikrograf Görüntüsü 3
Şekil 2.2: WHO Avrupa Bölgelerinde Karbapenemlere Dirençli İnvaziv P. aeruginosa izolatlarının Yüzdesi (EARS-Net ve CAESAR),2019 10
Şekil 2.3: Delafloksasin Molekülü..... 11
Şekil 2.4: Levofloksasin Molekülü 15
Şekil 2.5: Fosfomisin Molekülü..... 16
Şekil 2.6: Tobramisin Molekülü 19
Şekil 2.7: Kolistin Molekülü..... 22
Şekil 2.8: Meropenem Molekülü 26
Şekil 2.9: Avibaktam Molekülü..... 28
Şekil 4.1: 40 Adet P. aeruginosa Suşunun Tespit Edilen MİK Değerlerinin Dağılımına Ait Bulgular 39
Şekil 4.2: 40 Adet P. aeruginosa Suşunun Tespit Edilen MBK Değerlerinin Dağılımına Ait Bulgular 43
Şekil 4.3: Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde 1xMİK (A) Ve 4xMİK (B) Konsantrasyonlarında *P. aeruginosa* ATCC 27853 Suşuna Karşı Elde Edilen Zamana Bağlı Öldürme Eğrileri.....….47
Şekil 4.4: Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde 1xMİK (A) Ve 4xMİK (B) Konsantrasyonlarında PA-1 Suşuna Karşı Elde Edilen Zamana Bağlı Öldürme Eğrileri.....48
Şekil 4.5: Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde 1xMİK (A) Ve 4xMİK (B) Konsantrasyonlarında PA-2 Suşuna Karşı Elde Edilen Zamana Bağlı Öldürme Eğrileri……..49
Şekil 4.6: Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde 1xMİK (A) Ve 4xMİK (B) Konsantrasyonlarında PA-3 Suşuna Karşı Elde Edilen Zamana Bağlı Öldürme Eğrileri……..50
Şekil 4.7: Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde 1xMİK (A) Ve 4xMİK (B) Konsantrasyonlarında PA-4 Suşuna Karşı Elde Edilen Zamana Bağlı Öldürme Eğrileri……..51

Şekil 4.8: Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde 1xMİK (A) Ve 4xMİK (B) Konsantrasyonlarında PA-5 Suşuna Karşı Elde Edilen Zamana Bağlı Öldürme Eğrileri……..52
Şekil 4.9: 1xMİK Konsantrasyonunda Test Edilen Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde Oluşturdukları Antibakteriyel Etkilerin 5 Adet *P. aeruginosa* Suşu (PA1- PA5) İçin Ortalama Logaritmik Değerlerine Ait Bulgular…….53
Şekil 4.10: 4xMİK Konsantrasyonunda Test Edilen Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde Oluşturdukları Antibakteriyel Etkilerin 5 Adet *P. aeruginosa* Suşu (PA1- PA5) İçin Ortalama Logaritmik Değerlerine Ait Bulgular……..53
Şekil 4.11: 5 Adet *P. aeruginosa* Suşuna (PA1-PA5) Karşı Denenen Antibiyotik Kombinasyonlarının Oluşturduğu Sinerjist/Additif Etkilere Ait Bulgular……..54

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ATCC: American Type Culture Collection

ATP: Adenosin Trifosfat

Ca^{+2}: Kalsiyum

CAESAR: Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance

CL: Kolistin

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CO_2: Karbondioksit

CZA: Seftazidim-Avibaktam

DLX: Delafloksasin

DNA: Deoksiribonükleik Asit

EARS-Net: European Antimicrobial Resistance Surveillance Network

EPS: Ekstraselüler polimerik sübstans

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

EXO: Ekzoenzim

FDA: Food and Drug Administration

FOS: Fosfomisin

IL: İnterlökin

INFORM: International Network for Optimal Resistance Monitoring

KİMHB: Katyon İlaveli Mueller Hinton Buyyonu

KOB: Koloni Oluşturan Birim

LPS: Lipopolisakkarit

LTB: Lökotrien

LVX: Levofloksasin

MALDI-TOF MS: Matriks Assisted Lazer Desorption Ionization Time of Flight Massspectrometry

ÇİD: Çoku İlaç Direnci

MEM: Meropenem

Mg^{+2}: Magnezyum

MHB: Mueller Hinton Buyyonu

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu

mRNA: Mesajcı Ribonükleik Asit

MRSA: Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*

Mur: Muramyl ligase

NCCLS: National Committee Clinical and Laboratory Standards

PBP: Penisilin Bağlayan Protein

pH: Potansiyel hidrojen

PoxB : Piruvat oksidaz B

RNA: Ribonükleik Asit

rRNA: Ribozomal Ribonükleik Asit

TM: Tobramisin

TNF-α: Tümör Nekroz Faktör Alfa

TSA: Triptik Soya Agar

UDP-GlcNAc : Üridin difosfat-N-asetilglukozamin

ÖZET

Çakmak, S.M. (2023). Delafloksasin'in Tek Başına ve Çeşitli Antibiyotiklerle Kombinasyon Halinde *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarına Karşı In Vitro Etkilerinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul. 2023.

Pseudomonas aureginosa dünyanın her yerinde yaygın olarak bulunan, sulu ortamlarda rahatça hayatta kalabilen ve hastanede kullanılanlar dahil olmak üzere birçok antibiyotik ve dezenfektan maddeye karşı direnç gösterip ciddi sorunların ortaya çıkmasına neden olan bir bakteridir.

P. aeruginosa'nın antibiyotiklere karşı artan direncini göz önüne alınarak tedavide alternatif yeni antibiyotikler keşfedilmiştir. Bunlardan biri olan Delafloksasin, fluorokinolon grubu geniş spektrumlu yeni bir antibiyotiktir. Çalışmada Delafloksasin tek başına etkisi başta olmak üzere, tobramisin, kolistin, meropenem ve seftazidim-avibaktam ile kombinasyon halinde oluşturdukları in-vitro bakterisidal ve sinerjistik aktiviteleri klinik *P. aureginosa* suşlarına karşı araştırılmıştır. Çalışılan antibiyotiklerin Minimum inhibitör konsantrasyon değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Test edilecek antibiyotik kombinasyonlarının bakterisidal ve sinerjistik etkilerinin belirlenmesi için zamana bağlı öldürme tekniğinden yararlanılmıştır.

Çalışmalarımızın sonucunda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 40 adet *P. aeruginosa* suşuna karşı delafloksasin in vitro aktivitesinin, levofloksasine göre 4 kat güçlü olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda test edilen suşlarımızın tamamında hem 1xMİK hem de 4xMİK konsantrasyonda kolistinin bakterisidal etkili olduğu tespit edilmiştir. Herhangi bir karbapenemaz direnci taşıdığı tespit edilmeyen izolatlarda ise delafloksasin, tobramisin ve meropenemin 4xMİK konsantrasyonunda tek başlarına bakterisidal etkili oldukları gözlenmiştir. Antibiyotik kombinasyonu çalışmaları sonucunda delafloksasin+tobramisin ve delafloksasin+seftazidim/avibaktam kombinasyonlarının 1xMİK konsantrasyonlarında test edilen 5 suşun 2'sinde sinerjist etkili oldukları tespit edilmiştir. Kombinasyon çalışmalarında 4xMİK konsantrasyonlarında ise delafloksasin+meropenem ve delafloksasin+seftazidim/avibaktam kombinasyonunun sinerjist etki gösterdiği görülmüştür.

Çalışmamız, elde ettiğimiz bulgular ile, yeni bir antipseudomonal ajan olan delafloksasinin tek başına ve kliniklerde yaygın kullanılan çeşitli antibiyotiklerle kombinasyon halinde *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde bir alternatif olarak değerlendirilmesi için fikir verme potansiyeli ile öne çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Delafloksasin, *Pseudomonas aeruginosa*, Antibiyotik kombinasyon, Sinerji, Bakterisidal Aktivite

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2022-39360

ABSTRACT

Çakmak, S.M. (2023). In vitro activities of Delafloxacin alone and in combination with various antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* strains. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Microbiology, Master Thesis, Istanbul. 2023

P. aureginosa is common bacterium all over the world due to its ability to survive comfortably in watery environments and its resistance to many antibiotics and disinfectants, including those used in hospitals.

In order to fight against antibiotic resistance in *P. aeruginosa* infections new antibiotics have been discovered. Delafloxacin, is a new broad-spectrum antibiotic of the fluoroquinolone group. In this study, the bactericidal and synergistic activities of Delafloxacin alone and in combination with tobramycin, colistin, meropenem and ceftazidime-avibactam in vitro are studied against clinical P. aureginosa strains. Minimal inhibitory concentrations are determined by the microdilution method. Time-kill kinetics assay will be used to determine the bactericidal and synergistic effects of the antibiotic combinations.

As a result of our studies, in vitro activity of delafloxacin against 40 clinical P. aureginosa strains was 4 times stronger than levofloxacin. Colistin was found to be bactericidal at both 1xMIC and 4xMIC concentrations against *P. aeruginosa* strains. Delafloxacin, tobramycin and meropenem were observed to have bactericidal effects alone at 4xMIC concentrations in isolates that didn' have have any carbapenemase resistance. Also, delafloxacin+tobramycin and delafloxacin+ceftazidime/avibactam combinations were found to be synergistic in 2 of the 5 strains tested at 1xMIC concentrations. Moreover delafloxacin + meropenem and delafloxacin + ceftazidime / avibactam combination showed a synergistic effect at 4xMIC concentrations.

Our study stands out with its potential to provide insight into the evaluation of a new antipseudomonal agent, delafloxacin alone or in combination with various antibiotics as an alternative regimen in the treatment of *P. aeruginosa* infections.

Key Words: Delafloxacin, *Pseudomonas aureginosa*, Antibiotic combination, Synergy, Bactericidal activity

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. TYL-2022-39360

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda ülkemizde başta olmak üzere tüm dünyada görülen antibiyotiklere karşı direnç ve buna bağlı gelişen enfeksiyonların tedavisindeki yetersizlikler ve artış gösteren mortalite oranları bildirilmektedir. Özellikle *Pseudomonas aeruginosa* dünyanın her yerinde yaygın olarak görülen, sulu ortamlarda rahatça hayatta kalan ve hastanede kullanılanlar dahil olmak üzere birçok antibiyotik ve dezenfektan maddeye karşı direnç gösteren, hastane enfeksiyonlarının çoğu zaman sebebi olan bir bakteri türüdür.

Ülkemizde *P. aeruginosa* yoğun bakım ünitelerinde bazı dönemlerde ilk sıralarda, son yıllarda ise *Acinetobacter spp.*'den sonra ikinci sıradaki enfeksiyona sebep olan etkendir. Çoklu ilaç direnci (ÇİD) *P.aeruginosa* suşları özellikle ventilatör ilişkili pnömonilerde daha sık görülmektedir. Febril nötropeni gibi bağışıklığı baskılayan durumlarda da ciddi seyirli enfeksiyonların da sık rastlanan etkenlerindendir.

P. aeruginosa'nın çeşitli antibiyotiklere karşı artan direncini göz önüne alınarak geçtiğimiz yıllarda alternatif bir tedavi seçeneği olabilecek yeni antibiyotikler keşfedilmiştir. Günümüzde, ÇİD/Tam dirençli *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına karşı etkili, alternatif bir tedavi seçeneği olarak öngörülen yeni antibiyotikler keşfedilmiştir. (Gülay 2005; Öztürk 2008). Bunlardan biri olan Delafloksasin, 2017 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onay almış, yetişkinlerde duyarlı bakterilerin sebep olduğu akut bakteriyel cilt enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılması ön görülmüş yeni bir fluorokinolon grubu geniş spektrumlu antipseudomonal bir antibiyotiktir (Ocheretyaner ve Park 2018).

Yeni bir antibiyotik olması sebebiyle hali hazırda etkileri çok iyi bilinmeyen delafloksasinin klinik dirençli *P.aeruginosa* suşlarına karşı etkinliğinin araştırılması amacıyla çalışmamızda hem delafloksasinin tek başına hem de kliniklerde *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan tobramisin, kolistin, meropenem ve seftazidim-avibaktam ile kombinasyon halinde oluşturdukları in-vitro antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmamızda delafloksasinin in vitro etkinliği dünyada en çok reçetelenen antibiyotik ilaçlarından biri olan florokinolon grubu levofloksasin ile kıyaslanarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda delafloksasin tek başına etkisi başta olmak üzere *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında kullanılan çeşitli antibiyotiklerle birlikte etkileri araştırılarak bulunan

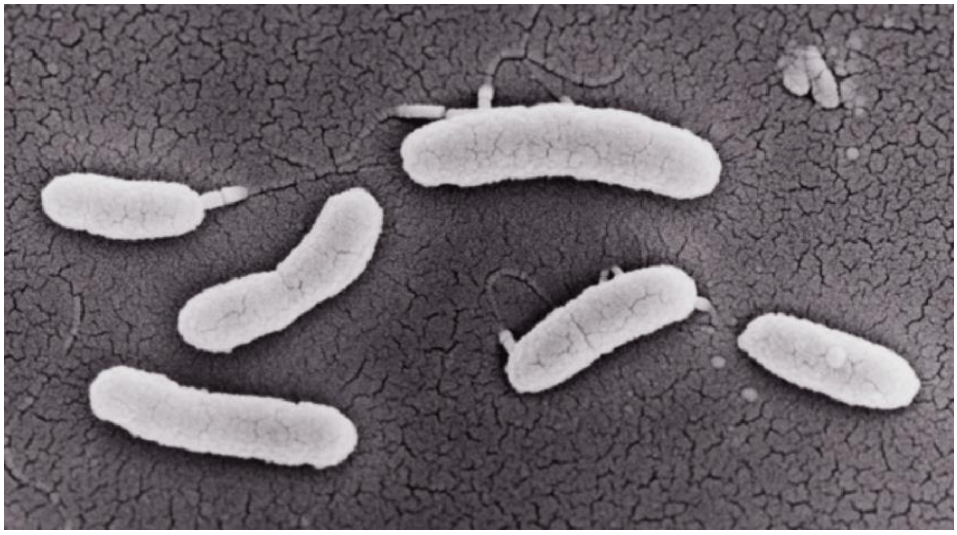
sinerjilerin yeni bir alternatif tedavi yöntemi için öncü bir çalışma olması amaçlanmıştır. Elde ettiğimiz bulguların özellikle dirençli *P. aeruginosa* olguları için klinisyenlere yol gösterici olacağı düşüncesindeyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pseudomonas Türleri

Pseudomonas cinsi, çoğu saprofitik olan 140'tan fazla tür içerir. İnsanlarda hastalığa neden olduğu bilinen psödomonadların çoğu, fırsatçı patojenlerdir. Bunlar arasında *Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas putrefaciens, Pseudomonas putida, Pseudomonas stutzeri, Pseudomonas cepacia, Pseudomonas fluorescens ve Pseudomonas maltophilia* bulunur. Bunlardan *Pseudomonas mallei ve Pseudomonas pseudomallei* insanlarda ruam ve melioidosis hastalıklarına sebep olur (Baron 1996).

Klinik araştırmalarda insan hastalıklarında sıklıkla karşılaşılma sebebiyle dikkati en çok *P. aeruginosa* çekmiştir. *P. aeruginosa* doğada yaygı olarak bulunan serbest yaşayan bir bakteridir. Karbon kaynağı olarak CO_2'yi kullanıp yüksek konsantrasyonda tuz içeren ortamlara tolere edebilen, 20 ila 42°C arası geniş bir sıcaklık aralığında ve nemli ortamlarda üreyebilen bir bakteridir. Zorunlu aerob Gram negatif bir çubuktur. Ancak *P. aeruginosa* nitratı son elektron alıcı olarakta kullanabilmesi sebebiyle oksijensiz ortamlarda da yaşayabilmektedir. Bu özelliği sulu bölgelerde bulunduğu ortama yapışıp biyofilm oluşturarak üreyebilmesindendir. Suşlar Şekil 2.1'de görüldüğü üzere bir polar flajel ile hareket eder ancak bazı suşlarda iki veya üç flagella da gözlenmiştir. Klinik suşlarda antifagositik olabilen ve bakteriyel bağlanmaya yardımcı olarak bakteri kolonizasyonunu destekleyen pili içerir. *P.oryzihabitans* ve *P. luteola* harici türleri oksidaz pozitiftir (Baron 1996; Sırıken ve Öz 2017).



Şekil 2.1: *Pseudomonas aeruginosa'nın* Taramalı Elektron Mikroskopundaki (x10.000) Mikrograf Görüntüsü

Bu bakteri kaynaklı enfeksiyonlarla ilişkili yüksek ölüm oranı, antibiyotiklere karşı bakteriyel direnç, zayıflamış konak savunması ve hücre dışı bakteriyel enzimlerin ve toksinlerin üretilmesinin bir kombinasyonundan kaynaklanmaktadır. *P. aeruginosa* ve *P. maltophilia,* psödomonadların neden olduğu fırsatçı enfeksiyonların yüzde 80'inden sorumludur. *P. aeruginosa* sağlıklı bireylerde nadiren hastalığa neden olmasına rağmen, özellikle kanser, kistik fibroz ve yanık gibi altta yatan ciddi hastalıklar nedeniyle hastanede yatan hastalar için büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Pseudomonas kaynaklı vaka ölüm oranı %50'dir. Pseudomonas türlerinin neden olduğu diğer enfeksiyonlar arasında pnömoni ve idrar yolu, merkezi sinir sistemi, yaralar, endokardit, kulaklar, gözler, deri ve kas-iskelet sistemi enfeksiyonları yer alır.

Pseudomonas'a bağlı gelişen enfeksiyonlarda bakteriye ve konağa ait çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bakterinin bu virulans faktörleri 2 grupta incelenebilmektedir. İlki hücre dışına salınımı sağlanan faktörler ikinci olarak ise hücrede bulunan faktörlerdir. Bakterinin enfeksiyona yol açabilmesi için öncelikle adezyonu ve kolonizasyon oluşturması gerekmektedir. Ardından bakteri lokal olarak yayılarak yaygın sistemik enfeksiyonlara sebep olur (Maçin 2014; Sırıken ve Öz 2017). Bu aşamalarda çeşitli virulans faktörleri rol alır. Pseudomonasların yüzme şeklinde hareketinden ve asiolaGM1 gibi siyalik asitsiz gangliozid reseptör yapıları aracılığıyla yüzeylere bağlanmasından flagella sorumludur. *P. aeruginosa* seğirme hareketini ve hücre tutunmasını bakteriye sağlayan piluslara ve dış membranını kaplayan liposakkaritlere sahiptir. Bunun dışında ekzopolisakkarit mukoid yapıda olan aljinatları vardır. Ayrıca *P. aeruginosa* suşlarının oluşturduğu kolonilerin alikali pH'da mavi rengi sağlayan piyosiyanin ve sarı-yeşil rengi sağlayan piyoverdin pigmentleri bulunur. Korneal enfeksiyonların patogenezinde rol alan alkali proteazlardan Proteaz IV *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında keratinin patogenezine sebep olur. LasA proteazı ile birlikte LasB elastazı kan damarlarındaki elastini parçalayıp *P. aeroginosa'*nın sebep olduğu ektima gangrenozum lezyonuna sebep olur (Delden ve Iglewski 1998). Fosfolipaz C ise *P.aeruginosa*'nın sebep olduğu akut akciğer hasarı ve inflamasyonununda fosfolipitleri hedef alarak patogenez etki gösterir. *P. aeruginosa'*nın önemli sayılan bir virulans faktörü olan ayrıca ADP-ribozil transferaz özelliğiyle tip II sekresyon yöntemiyle salgılanarak hücrelerde bulunan elangasyon faktör 2 (EF-2) inhibe eden ekzotoksin A (Exo-A) hücrenin protein sentezini durdurması sonucu hücre fonksiyonu yitirilerek ölüme sebep olur ve kronik akciğer enfeksiyonlarının ayrıca yanık yarasında doku hasarında büyük rolü vardır. İlk kez 1949 yılında Jarvis ve Jonhson

tarafından *P. aeruginosa'*lardan izole edilmiş ve akciğerde yüzey gerilimini düzenlemeye yardımcı komplekslerin fosfolipidlerini ramnolipit fosfolipaz C için çözünür hale getirerek etki göstermesine destek olur (Abdel-Mawgoud ve ark. 2010). Sitotoksin ise *P. aeruginosa* suşları tarafından salgılanan toksik, yetişkin solunum stresi sendromundaki akciğer hasarından da sorumlu nötrofilleri inhibe eden bir proteindir (Vasil ve Ochsner 1999; Kim ve ark. 2005; O'May ve ark. 2009; Sırıken ve Öz 2017). *P. aeruginosa* slime faktör sayesinde gerektiği birtakım durumlarda ürettiği polisakkarit kapsül yapısı slime tabakasını oluşturarak bakteriyi konağın bağışıklık sisteminden korur. Son olarak tip III sekresyon sistemi sayesinde konaktaki hücrelerde por açıp oluşturduğu köprülerle diğer hücrenin sitoplazmasına salgıladığı ekzoenzim S(exoS), T, Y ve U toksinlerini *P. aeruginosa*'nın elinde bulundurduğu virulans faktörleri olarak gösterebiliriz. Ekzoenzimlerin ise kendilerine özel farklı etkileri vardır. ExoT *P. aeruginosa*'nın makrofajlar tarafından götürülmesini engelleyerek yaraların iyileşmesini inhibe edici özelliğe sahiptir. Akciğer enfeksiyonlarında doku tahribatına sebep olup bakterinin üreyip koloniler halinde dağılmasını üstlenen ExoS ve fosfolipaza benzer özelliğe sahip görülen güçlü bir ekzotoksin olan ExoU ise bir diğer farklı özelliğe sahip olup bakteri enfeksiyonlarında rol oynayan toksinlerdir (Nicas ve Iglewski 1985; Shaver ve Hauser 2004; Kipnis ve ark. 2006; Hauser 2009).

Bakterilerin bulundukları yüzeylere ve yüzeylerin daha alt tabakalarına geri dönüşümsüz olarak tutunarak salgıladıkları ekstraselüler polimerik substans (EPS) matriksine biyofilm denir. Bu oluşum beş aşamada gerçekleşmedir. Bunların yüzeyin uygun duruma getirilmesi, geri dönüşümlü ardından geri dönüşümsüz tutunma, kolonizasyon ve son olarak kopmadan oluşur. Biyofilm oluşumu sayesinde bakteriler immün sistemine ait elemanlardaki antibiyotik ve diğer antimikrobiyal moleküllerden, kimyasal, fiziksel ya da biyolojik değişiklikler kaynaklı bakteride oluşabilecek stresten korunurlar. Bu da bakteride dirence böylelikle sağ kalarak ve üreme olanağı sağlar (Hassan ve ark. 2011; Nouraldin ve ark. 2016; Sırıken ve Öz 2017).

Bakteriler biyofilm oluşturabilmek amacıyla çevresindeki diğer bakterilerle iletişime geçip uyarabilmek için dış ortama küçük moleküller yayarlar. Bu sisteme Quarum Sensing (QS) adı verilir. Bakterilerin yüzeye tutunmasından sonra, biyofilm oluşturmak için farklılaşma işleminin başlaması, QS sistemiyle gerçekleşen iletişime bağlıdır. QS sistemi kendiliğinden sinyal üretebilen AI moleküllerinden oluşmaktadır.

QS tür içi ve türler arası olmak üzere iki farklı biçimde gerçekleşebilmekte ayrıca bazı mikroorganizmalarda QS için daha farklı moleküller kullanılmaktadır. Gram negatif bakteriler bir AI molekül olan N-acyl homoserin lakton, Gram pozitiflerde ise genellikle oligopeptidler kullanmaktadır (Sırıken ve Öz 2017).

P. aeruginosa'larda üç tane temel QS sistemi bulunmaktadır. Bu sistemler virulans faktörlerinin etki etmesinde ve biyofilm oluşumunda rol alırlar. Bunlar LasI-LasR, Rh1I-Eh1R ve son olarak PQS-MvfR QS sistemleridir. LasRI sisteminde AI sentaz geni oluşur. LasRI sistemi lasB'nin ifadesini düzenler ayrıca ekzotoksin A ve LasA proteaz gibi başka virulans etkeninin üretiminde gereklidir (Gambello ve ark. 1993). LasB geni, Las ve Rhl sisteminin aktivasyonunu denetleyen P. quinolone sinyali aracılığıyla oluşmuştur. PQS ekspresyonu LasR'le ilişkilidir ve Rh1R geni ekspresyonunu artırarak Las ve Rh1 sistemleri arasında bağ sağlar (Pesci ve ark. 1999). LasIR ve RhlI-RhlR QS sistemleri *P. aeruginosa*'nın virulans faktörlerini denetlerken art arda faaliyet gösterirler (Sırıken ve Öz 2017). *P.aeroginosa*'nın tespitinde karakteristik koloni morfolojisi, oluşturduğu pigment ve kokusu ayırt edici özellikleridir. Oluşturduğu koloniler genellikle düzdür ve yayılırlar. Metalik bir parlaklığa sahiptirler. Fakat kistik fibrozis hastalarında genellikle mukoid koloni morfolojisi görülmektedir. *P. aeruginosa*'nın belirlenmesinde yapılan oksidaz testi, 42 derecede üremeyebilme özelliği, besiyerlerinde mavi veya yeşil-sarımtırak pigment üretimi incelenebilir (Ceylan 2014).

P. aeruginosa, antimikrobiyal ajanlara karşı birçok mekanizma geliştirmiştir. *P. aeruginosa*'daki antimikrobiyal direnç, intrinsik direnç, kazanılmış direnç ve adaptif direnç olarak ayrılabilir. *P. aeruginosa*'da hem içsel hem de kazanılmış dirençlerin bir arada görüldüğü göz önüne alındığında, bu suşlar tarafından ortaya çıkan enfeksiyonları iyileştirmek daha güçtür.

P. aeruginosa gibi fırsatçı patojenler, çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı yüksek içsel dirence sahiptir. *P. aeruginosa'*daki bu tür direnç, dış zar geçirgenliğindeki azalma, ÇİD atılım pompalarıyla ve antibiyotikleri etkisizleştiren enzimlerin üretimi dahil olmak üzere çeşitli mekanizmaları içerir. Bakterinin dış membranında bulunan OprD porinlerindeki değişiklikler hücre zarının geçirgenliğini azaltarak karbapenem gibi bu porinleri hedef alır böylece bakteri hücrelerine giren antimikrobiyal moleküllerin hücreye alımı önlenir (Poole 2011; Cox ve Wright 2013; Hall ve ark. 2018).

Bakteriler özellikle antimikrobiyal molekülleri hedef alan enzimler sentezleyerek bu enzimlerin yarattığı kimyasal değişiklikler sonucunda antibiyotik moleküllerini etkisiz hale getirip yok eden bir direnç mekanizması görülmektedir (Munita ve Arias 2016; Arzanlou ve ark. 2017; Azam ve Khan 2019). Antibiyotik etkisizleştirici enzimlere örnek olarak bakteri genomunda kodlanmış AmpC beta-laktamazların ekspresyonuyla beta-laktamı hidrolize etmesi ve PoxB enzimiyle karbapenem grubu antibiyotiklerin hidrolizi *P.aeruginosa*'nın bir başka direnç mekanizmasına örnek gösterilebilir (Zincke ve ark. 2016; Azam ve Khan 2019). Enzime bağımlı direnç, kazanılmış veya içsel direncin gelişmesinden kaynaklanabilir.

P. aeruginosa'da kazanılmış direncin gelişimi, horizontal gen transferi ve kromozomal gen mutasyonları yoluyla dirençten sorumlu dış genlerin kazanılmasından kaynaklanabilir. Mutasyonlardan kaynaklanan kazanılmış direnç, beta-laktamlar, florokinolonlar, aminoglikozitler ve polikatyonik antimikrobiyaller dahil olmak üzere çeşitli antibiyotik sınıflarına karşı direnç kazandırır. Fluorokinolonlara karşı en sık görülen kazanılmış direnç mekanizmalarından biri, topoizomeraz IV (parC-parE) ve DNA giraz (gyrA-gyrB) enzimlerinin aşağı birimlerini kodlayan genlerde gerçekleşen mutasyonlardır. Ek direnç mekanizmaları arasında atılım pompalarının regülasyonu, yapılan mutasyonlar yoluyla antimikrobiyal moleküllerin bakterideki hedef bölge değişiklikleri, hücre membranının antibiyotiklere karşı geçirgenliğinin azalması; ve antibiyotik moleküllerinin yapısını değiştirici enzim üretimi gösterilebilir. Antibiyotiklerin kimyasal değişimine neden olan enzimlerin üretimi aynı zamanda kazanılmış direncin önemli bir mekanizmasıdır. Bu tür değişikliklerin en yaygın türleri fosforilasyon, asetilasyon ve adenilasyondur (Munita ve Arias 2016; Nouri ve ark. 2016; Azam ve Khan 2019).

Adaptif direnç ise antimikrobiyal ajanların varlığına veya ortam, pH, sıcaklık, oksijen ve diğer büyüme koşullarındaki bir değişiklik gibi diğer çevresel streslere (kimyasal veya fiziksel) yanıt olarak ortaya çıkan indüklenebilir bir dirençtir. Uyarlanabilir direncin aksine, içsel ve kazanılmış direnç, geri döndürülemez bir fenotip ile karakterize edilir ve antibiyotiklerin ve çevresel uyaranların varlığından bağımsızdır. Antibiyotiklere ek olarak, ısı şoku, DNA stresi (SOS yanıtı), poliaminler, besin eksiklikleri, biyositler, anaerobiyoz, katyon seviyeleri ve karbon kaynaklarındaki değişiklikler gibi çeşitli çevresel faktörler ve biyofilm oluşumu ve sürü hareketliliği gibi

sosyal davranışlar, adaptif direnci tetikleyebilmektedir (Breidenstein ve Hancock 2011; Fernandez ve Hancock 2011; Taylor ve Hancock 2014; Azam ve Khan 2019).

P. aeruginosa sayılan bu direnç faktörleri sayesinde amoksisilin-klavulanat, ampisilin, amoksisilin, 1. kuşak sefalosporinler ve 2. kuşak sefalosporinler, trimetoprim, seftriakson, nalidiksik asit, sefotaksim antibiyotik gruplarına doğal olarak direnç göstermektedir (Öztürk 2008). Bunun yanı sıra, *P. aeruginosa*, enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılan antibiyotiklere karşı da (seftazidim, piperasilin/tazobaktam, florokinolonlar, karbapenemler veya aminoglikozitler) kolaylıkla direnç geliştirebilir.

Tüm dünyada antibiyotiklere karşı bakteri direnci yıllar geçtikçe artmaktadır. 29 Avrupa Birliği/Avrupa Birliği Dışı ülkeden alınan EARS-Net'in verilerine göre 2016-2020 yılları arasında elde edilen *P. aeruginosa* suşlarının yüzde kaçının çeşitli grup antibiyotiklere karşı direnci olduğu belirtilmiştir. Bu verilere göre en yüksek direnç 2016-2020 yıl verilerine bakıldığında %19,6 ila %22 arasında değişen florokinolon olarak belirlenmiştir. En düşük direnç oranına sahip olan grup ise, 3 ve daha fazla antibiyotik grubuna karşı gelişen direnç olarak saptanmıştır. Ancak AB/AB dışı yüzdeleri aralığına baktığımızda yüzdenin en yüksek olduğu grup %4,4'ten %64,3'e kadar direncin yükselebildiği görülen piperasilin-tazobaktam antibiyotik grubuna karşı olmuştur. Her grup antibiyotiğin kendi yıllar içindeki yüzdelerine bakacak olduğumuzda da 2016'ya göre *P. aeruginosa'*nın tüm antibiyotiklere karşı geliştirdiği direncin azaldığı gözlemlenirken en çok direncin azaldığı grup 2016'da %15,6 oranlarında iken 2020 yılında %9,4'lere kadar düşen direnç yüzdesiyle aminoglikozidler olmuştur (EARS-Net 2020).

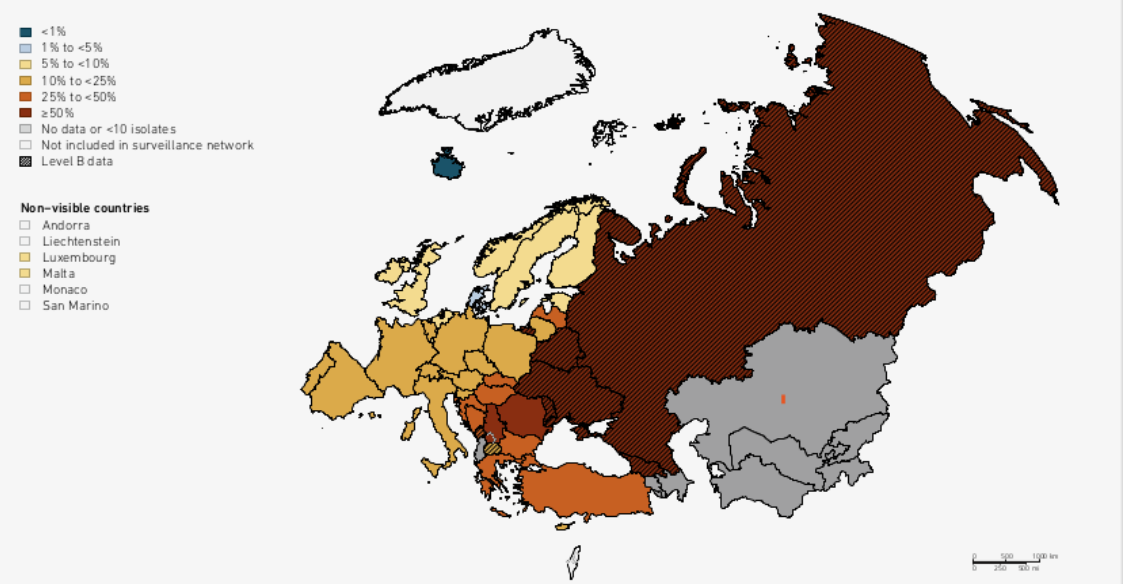
Tablo 2.1: 2016-2020 Yılları arasında Avrupa Birliği (AB)&Avrupa Birliği Dışında İzole edilen *P. aeruginosa* Sayıları ve Çeşitli Antibiyotiklere karşı Geliştirdiği Direnç Yüzdeleri (WHO 2020)

Antimikrobiyal grup/ajan	2016 İzolat sayısı	%	2017 İzolat sayısı	%	2018 İzolat sayısı	%	2019 İzolat sayısı	%	2020 İzolat sayısı	%	2020 AB /AB Dışı %
Piperasilin-tazobaktam direnci	13086	19,2	13731	18,4	16018	18,5	16894	18,6	19695	18,8	4,4-64,3
Seftazidim direci	13198	15,9	13832	16,1	16339	15,5	17328	15,7	20014	15,5	2,9-54,3
Karbapenem (imipenem/meropenem) direnci	13465	20,1	14305	19,1	16485	18,8	17496	18,1	20414	17,8	3,6-48,9
Florokinolon direnci	13385	20,6	14149	22	16472	21,2	17635	20,5	20279	19,6	3,2-52,9
Aminoglikozid direnci	13385	15,6	14148	14,5	16405	12,9	17552	12,6	12840	9,4	0,0-37,1
≥3 antibiyotik grubuna direnç	13497	15	14299	14,5	16535	14,1	17628	13,5	20421	12,1	0,0-47,1

Tablo 2.2: 2016-2020 Yılları arasında Türkiye'de İzole edilen *P.aeruginosa* Sayıları ve Çeşitli Antibiyotiklere karşı Geliştirdiği Direnç Yüzdeleri (WHO 2020)

Antimikrobiyal grup/ajan	2016 İzolat sayısı	%	2017 İzolat sayısı	%	2018 İzolat sayısı	%	2019 İzolat sayısı	%	2020 İzolat sayısı	%
Piperasilin-tazobaktam direnci	1203	30,9	1491	37,2	1646	34,0	1533	34,1	1365	32,1
Seftazidim direci	1286	24,3	1481	30,0	1700	26,8	1645	28,0	1468	27,2
Karbapenem (imipenem/meropenem) direnci	1281	37,3	1552	37,4	1682	37,5	1712	38,4	1547	36,2
Florokinolon direnci	11252	35,1	1525	35,6	1674	32,7	1637	35,2	1503	31,0
Aminoglikozid direnci	1205	27,2	1519	26,7	1730	19,0	1681	20,8	769	15,7
≥3 antibiyotik grubuna direnç	1090	28,2	1279	31,7	1451	27,8	1424	30,1	672	27,5

EARS-Net'in verilerine göre *P. aeroginosa'*nın en çok direnç geliştirdiği antibiyotik grubu, 5 yıl içinde ülkemizde en az %36,2 en çok %38,4 oranlarıyla karbapenemlere olarak saptanmıştır. En az antibiyotik direnç ise 2016 yılında %27,2 iken 2020 yılında bu oran %15,7'lere kadar gerilemiş olan aminoglizokid grubuna aittir *(EARS-Net 2020).*



Şekil 2.2: WHO Avrupa Bölgelerinde Karbapenemlere Dirençli İnvaziv *P. aeruginosa* izolatlarının Yüzdesi (EARS-Net ve CAESAR),2019

P. aeruginosa, özellikle bağışıklık sistemi zayıf olanlarda ve hastanede yatan hastalarda yaygın hastane kaynaklı pnömoni, kan dolaşımı ve idrar yolu enfeksiyonları dahil birçok enfeksiyon nedenidir. Pek çok antimikrobiyal ajana dirençlidir ve kontrol edilmesi zordur. CAESAR 2020 raporuna göre, Dünya Sağlık Örgütü Avrupa Bölgesi'nde 2019 yılına ait karbapenem dirençli *P. aeruginosa* oranlarına bakıldığında ise büyük farklılıklar görülmektedir. (Şekil 2). Karbapenemlere gelişen direnç İzlanda ve Danimarka'da %5'in altında gözlenirken, Beyaz Rusya, Sırbistan Gürcistan, Romanya, Rusya Federasyonu, Moldova Cumhuriyeti ve Ukrayna'da %50'yi aşan oranlar bildirmiştir. Türkiye'de ise direnç %25 ile %50 arasında gösterilmiştir (EARS-Net, CAESAR 2020).

2.2. Kullanılan Antibiyotikler Hakkında Genel Bilgiler

2.2.1. Delafloksasin

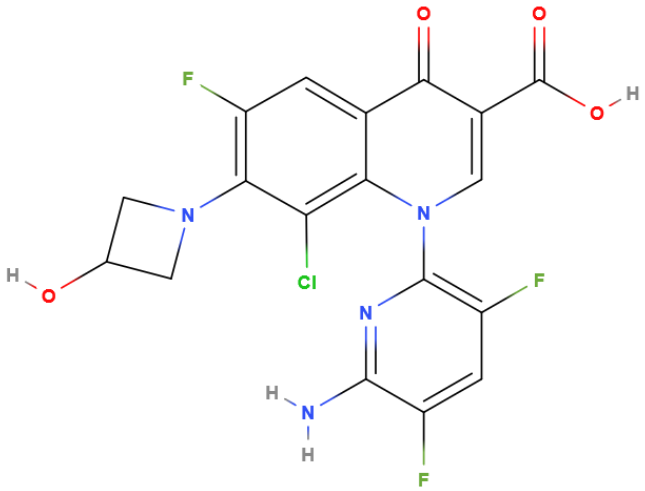
2.2.1.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

Nalidiksik asit, sinoksasin ve oksolinik asit içeren kinolonlar ilk olarak 1960'larda geliştirilmiştir. Kinolonlara flor eklenmesiyle pefloksasin, ofloksasin, siprofloksasin, moksifloksasin, norfloksasin, levofloksasin, gatifloksasin ve gemifloksasin gibi florokinolonları elde edilmiştir (Ocheretyaner ve Park 2018).

Artan dirençle mücadele etmek için yeni florokinolonlar üretilmeye odaklanılmıştır. Bu florokinolonlara örnek olarak delafloksasin, finafloksasin,, avarofloksasin, zabofloksasin ve florlanmamış nemonoksasini söyleyebiliriz.

Florokinolonlar, bakteride topoizomeraz IV ve DNA giraz (topoizomeraz II) enzimlerinin inhibisyonu yoluyla antibakteriyel etkiler sergiler.

Delafloksasin, Haziran 2017'de (BaxdelaTM; Melinta Therapeutics, Inc.), yetişkinlerde duyarlı bakterilerin neden olduğu akut bakteriyel deri enfeksiyonlarının (ABSSSI'ler) tedavisi amacıyla ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından uygun görülmüş yeni bir florokinolon grubu antibiyotiktir (Ocheretyaner ve Park 2018).



Şekil 2.3: Delafloksasin Molekülü

Delafloksasinin kimyasal yapısına baktığımızda 1-Deoksi-1-(metilamino)-D-glusitol,1-(6-amino-3,5-difluoropiridin-2-il)-8-kloro-6-fluro-7-(3-hidroksiazetidin-1-il)-4-okso-1,4-dihidrokinolin-3-karboksilat zincirinden oluşmaktadır. Diğer fluorokinolonlardan 3 farklı yapısal özelliği sayesinde daha fazla antibakteriyel özellikleri bulunmaktadır. Bunlardan ilki N1 pozisyonunda bulunan heteroaromatik halka sayesindeki geniş şekli (Van Bambeke 2015), ikinci olarak C6 ve C8 de elektron alan gruplar (CDC 2022) ve son olarak C7 pozisyonunda bir baz sübstitüsyonun olmamasından kaynaklı nötr pH ta gösterdiği anyonik karakter kinolon çekirdeğindeki benzersiz polariteyi sağlamasıdır (Kocsis ve ark. 2016; Ocheretyaner ve Park 2018). Florokinolonlar, C7'de bulunan bir bazik gruba sahiptir ve zwitteriyoniktir; ancak bu bazik grup, delafloksasinde mevcut değildir ve bu durum ona zayıf bir asit özelliği verir. Pozisyon 6 ya eklenen fluorinc atomu ve pozisyon 7 ye ilave edilen piperazinil grubu sayesinde ise yeni kinolonların etkileri geliştirilmiştir ve oluşturulan yeni birleşiklerin nalidik asite göre 100 kat veya daha güçlü olduğu belirlenmiştir.

2.2.1.2. Etki Mekanizması

Delafloksasin Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı konsantrasyona bağlı bakterisidal etki gösterir. Bunu bakterinin DNA transkripsiyonu, replikasyonu, rekombinasyonu ve onarımında rol alan enzimlerden hem topoizomeraz IV'ü hem de DNA girazı (topoizomeraz II) inhibe ederek gösterir (Melinda Therapeutics 2017; Ocheretyaner ve Park 2018). DNA giraz, replikasyon çatalının önündeki bakteriyel DNA çift sarmalında negatif süperhelikal bükülmeler başlatır ve böylece yavru kromozomların ayrılmasını katalize eder. DNA replikasyonu sırasında süper kıvrılmadan kaynaklanan moleküler gerilimi düşürmek için fosfodiester bağlarını önce kesip sonra kapatarak görev yapan bakterisel DNA topoizomerazlardandır. DNA girazın bu görevi proteinlerin DNA'ya bağlanıp DNA replikasyonunun başlamasına izin verir. GyrA ve GyrB monomerik alt birimlerden oluşur ve bu alt birimlerde GyrA ve GyrB genlerinde okunarak üretilir (Wang ve Lynch 1993; Pan ve Fisher 1997; Blondeau 1999; 2004). Topoizomeraz IV, dekatenasyondan, yani oluşan yeni DNA zinciriyle ana zincirin birbiriyle bağlanmasını ortadan kaldırarak 2 bağımsız DNA elde etmeyi sağlar. 4 tane monomerik alt birimden oluşmaktadır: iki ParC ve iki ParE. Bu iki alt birim aynı adı taşıyan ParC ve ParE genleri tarafından kodlanmıştır (Kato ve Ikeda 1992; Blondeau 2004). Bu iki enzim DNA'ya bağlı durumdayken florokinolonlar etkileşime girer. Bunun

sonucunda replikasyonun ilerlemesi durur. Florokinolonlar enzimlerin aktivitelerini inhibe ederek DNA sentezini engeller ve bunun sonucunda bakteriyel hücre ölümüyle sonuçlanır (Marians ve Hiasa 1997; Kampranis ve Maxwell 1998).

2.2.1.3. Direnç Mekanizması

Florokinolon karşı direnç iki ana mekanizma yoluyla gelişebilmektedir bunlar ilaç hedef enzimlerindeki değişiklikler ve ilaç hedef enzimlerine erişimdeki değişikliklerdir. İlaç hedef enzimlerindeki değişikliklere DNA girazdaki ve topoizomeraz IV'teki mutasyonları örnek verebiliriz. Bu mutasyonların florokinolon direnci üzerindeki etkileri bakteri türleri arasında farklılık göstermektedir. Florokinolon dirençli Gram-negatif bakterilerde genellikle DNA girazın alt birimlerinden GyrA ya da Gyr B nin mutasyon dirence sebep olmaktadır. Gyr A alt biriminde gerçekleşen mutasyonlar kinolon direncini belirleyen bölge (QRDR) olarak bilinen bölgede oluşma eğilimindedirler (Yoshida ve ark. 1990). Bu bölgedeki en yaygın mutasyonların, değiştirilmiş giraz-DNA kompleksinin antimikrobiyal moleküllere karşı azalan afinitesi sayesinde dirence sebep olduğuna inanılmaktadır (Willmott ve Maxwell 1993). GyrB alt biriminde oluşan mutasyonların ise GyrA ya göre daha az görüldüğü ve bu noktadaki mutasyonların ilaç direncine karşı etkili olduğu kesin olmamakla beraber GyrA ya göre daha az direnç gösterdiği bilinmektedir. Bu mutasyonlar Gram-pozitif bakterilerde de görülebilmektedir ancak topoizomeraz IV te görülen mutasyonlara göre dirence etkisi sorgulanmaktadır.

Gram-pozitiflerden özellikle S. aureus ve S. pneumoniae türleri üzerinde en çok topoizomeraz IV mutasyonları çalışılmıştır. Girazda olduğu gibi topoizomeraz IV te de mutasyon altbirimlerde özellikle ParC de görülmektedir. Gyr-A gibi QRDR bölgesinde gerçekleşen mutasyonlar direnç mekanizmasında kritik rol almaktadırlar. (Ng ve ark. 1996; Hooper 1999) Gram negatiflerde de görülebilen bu mutasyon direnç gelişiminde daha ikinci planda kalmaktadır (Breines ve ark. 1997; Khodursky ve ark. 1995).

Fluorokinolonların sitoplazmada bulunan hedeflerine ulaşabilmeleri için bakterinin hücre duvarını aşmaları gerekmektedir. Alternatif diğer direnç mekanizması ise çoklu ilaç direncinden çıkmıştır. Hücre zarında bulunan atılım pompalarının aşırı ekspresyonu sonucu florokinolon aktivitesini azalttığı ve düşük seviyeli dirence katkıda

bulunduğu gösterilmiştir. Ek olarak, Gram-negatif organizmalarda, genel difüzyon porinlerindeki azalmasında sitoplazma içinde ilaç birikimini azalttığı gösterilmiştir (Hirai, Aoyama ve ark.1986; Hirai,Suzue ve ark. 1987; Piddock ve Wise 1986; Wishart ve ark. 2006).

2.2.1.4. Etki Spektrumu

Florokinolonlar bakterisit etki gösterirler. Yan etki olma olasılığı az ve oluşan bakteriyel dirençler diğer gruplara göre azdır. Etki ettiği spektrum geniştir. Gram-negatif aerobik bakterilerin çoğuna karşı etki gösterir. Bunlara Enterobakter, Serratiae, Providencia, Shigella, Proteus, Salmonella, Klebsiella, Yersinia, İnfluenza, *Neisseria gonorrhoeae,* Haemophilus, *Neisseria meningitidis, Vibrio Cholerae,* Legionella'yı örnek gösterebiliriz. Enterobakterilerin çoğalmasını önlediklerinden, bakteriyel sindirim sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılırlar. Aminoglikozid ve yeni sefalosporinlere karşı dirençli olan Enterobacteriacea türlerine karşı da etki gösterir. Florokinolonlar ayrıca çeşitli antibiyotiklere dirençli olan Gram-negatif basillere karşı da etkilidirler (Hooper ve Wolfson 1985; Neer 1988; Paton ve Reeves 1988; Korten ve Murray 1993).

Gram-pozitiflere ve mikobacteri türlerine karşı da etkili oldukları görülmektedir. Gram-pozitif mikroorganizmalardan *Staphylococcus aureus.* Corynebakteriumlar, Mycoplasma türleri, Chlamydia türleri, Mycobacterium türleri ile streptokokların bazılarına sıralayabiliriz. Streptokoklar, florokinolonlara karşı staphilokoklardan daha az duyarlıdırlar (Bellido ve Pechère 1989; Chu ve Fernandes 1989; James 1989).

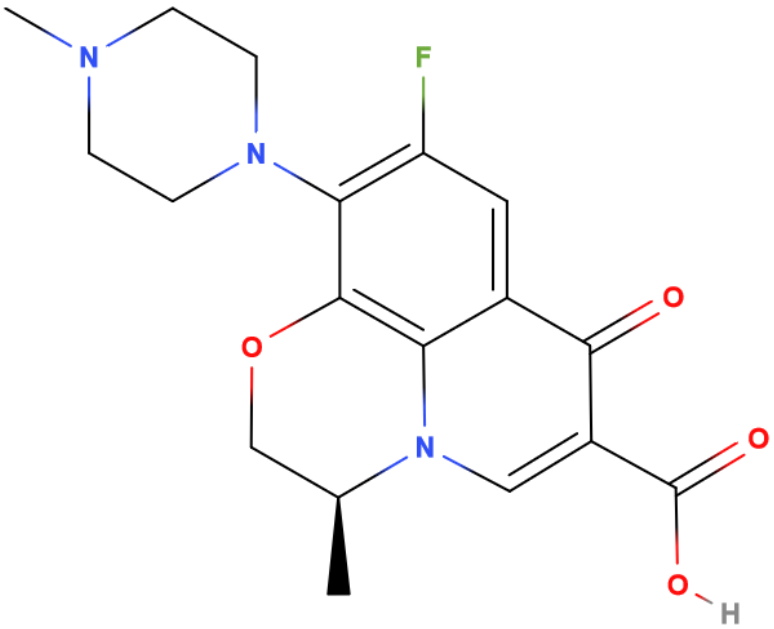
Anaerobiklerin birçoğu florokinolonlara dirençlidir ya da orta derecede duyarlılığı bulunmaktadır. *Clostridium difficile* dahil olmak üzere *Clostridium* ve *Bacteroides fragilis* genelde dirençlidir. *B. fragilis* 'e karşı difloksasin. ofloksasin, florokinolon türevleri az bir etki sergilerler (Akkaya 1997; Fernandes 1988; Neu 1989; Hooper ve Wolfson 1989).

2.2.2. Levofloksasin

2.2.2.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

Levofloksasin bir florokinolon antibiyotiktir ve rasemik ofloksasinin izomeridir. Levofloksasinin ofloksasine kıyasla Gram-pozitiflere ve Gram-negatif bakterilere karşı 8 ila 128 kat daha fazla aktivite taşıdığı bildirilmektedir. Levofloksasin, gatifloksasin ve

moksifloksasin gibi diğer kinolonlarla birlikte, solunum yolu enfeksiyonlarında yaygın olarak yer alan Gram-pozitif bakterilere karşı gelişmiş aktivitesi nedeniyle halk arasında "solunum kinolonları" olarak adlandırılan üçüncü nesil florokinolonların bir üyesidir. 3. kuşak kinolonların çekirdeklerindeki C-7 pozisyonundaki piperazin grubundaki değişiklik sebebiyle streptokoksik aktiviteleri bulunmaktadır. Ancak *P.aeruginosa'*ya karşı 2. kuşak kinolonlara göre daha az etkili olduğu görülmüştür (Leblebioğlu 2002; Zhanel ve ark. 2002; Fish 2003; Fabrega ve ark. 2009).



Şekil 2.4: Levofloksasin Molekülü

Levofloksasin ilk olarak 1996 yılında FDA tarafından onaylanmış ve kısa süre sonra Kanada ve birkaç Güney Amerika ülkesinde onaylanarak kullanılmaya başlanmıştır. Uzun yarı ömürleri sebebiyle günde tek doz alınması gerekmektedir (Fish ve Chow 1997; Wishart ve ark. 2006).

2.2.2.2. Etki ve Direnç Mekanizması

Levofloksasinin etki ve oluşan direnç mekanizması delafloksasin ile aynıdır. Her ikisi de florokinolon grubuna ait antibiyotikler olarak Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı konsantrasyona bağlı bakterisidal etki gösterir. Bakterinin DNA

replikasyonunda rol alan enzimlerden hem topoizomeraz IV'ü hem de DNA girazı (topoizomeraz II) inhibe eder.

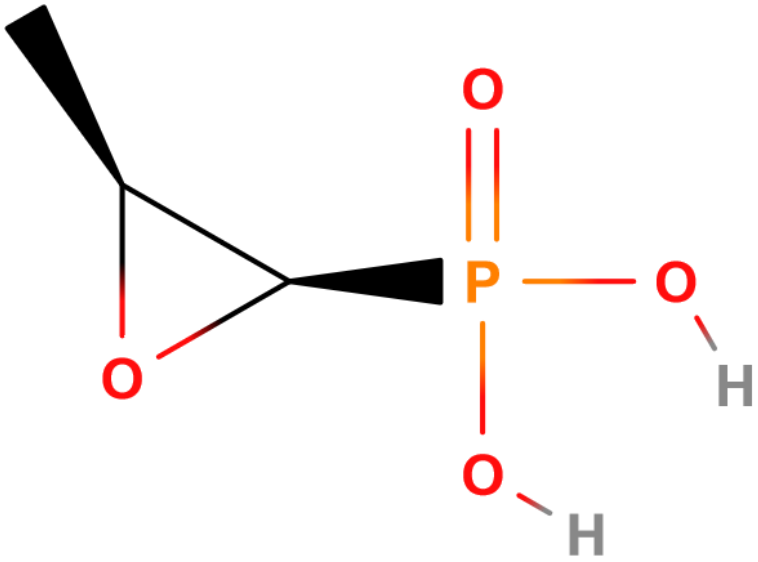
2.2.2.3. Etki Spektrumu

Bakterisit etki gösteren bu antibiyotiğin yan etki olma olasılığı düşük ve oluşan bakteriyel dirençler diğer gruplara göre azdır. Hem Gram-negatif aerobik bakterilerin çoğuna karşı hem de Gram-pozitiflere ve mikobakteri türlerine karşı etkili oldukları bilinmektedir (Akkaya 1997).

2.2.3. Fosfomisin

2.2.3.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

Fosfomisin, diğer ismi fosfonomisin, 1969 yılında *Streptomyces fradiae* ürünün fermentasyonu sonucu elde edilmiş bir fosfoenolpiruvat analoğu ve antimikrobiyal ve bakterisidal özelliklere sahip sentetik geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Suda çözünebilen polar, fosfonik asit derivesi bir moleküldür. FDA tarafından komplike olmayan sistit tedavisinde kullanılması için onay almıştır. Ayrıca yoğun bakım ünitesinde yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisi için öncelikle uygun bir antibiyotik olarak düşünülmektedir (Joukhadar ve ark. 2003; Hashemian ve ark. 2019). Diğer antibiyotiklere kıyasla 138 Da ağırlığına sahip bilinen en küçük moleküler yapıya sahiptir (Hazırolan 2020) Bu düşük moleküler kütlesi sayesinde tüm dokulara penetrasyonu daha kolaydır ve bu sayede kısa sürede yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmektedir.



Şekil 2.5: Fosfomisin Molekülü

2.2.3.2. Etki Mekanizması

Fosfomisin, bakterinin enolpiruvat transferaz enzimine bağlanıp etkisiz hale getirir. Bu, bakteri hücre duvarı sentezinin ilk adımlarından biri olan üridin difosfat-N-asetilglikozaminin p-enolpiruvat ile yoğunlaşmasının geri döndürülemez bir şekilde tıkanmasına yol açarak bakterilerin peptidoglikan sentezini glikopeptidler ve β-laktamlardan daha önceki basamakta inhibe eder ve böylece sonunda hücre parçalanmasına ve bakteriyel hücre ölümüne neden olur (NCBI 2022). Bu bakterisid özelliğini sitoplazmaya erişerek gerçekleştirir. Fosfomisin, bakteriye girmek için iki taşıma sisteminden yararlanır. Bunlar gliseraldehid-3-fosfat aracılığıyla indüklenen L-alfa-gliserofosfat taşıma sistemi diğeri ise glukoz-6-fosfat tarafından indüklenen heksoz monofosfat taşıma sistemidir. Bu taşıma sistemleri sayesinde sitoplazmaya ulaşan fosfomisin fosfoenolpiruvat analoğu olarak peptidoglikan biyosentezi için gerekli bir enzim olan MurA'nın (UDP-GlcNAc enolpiruvil transferaz) 115. sistein rezidüsüne bağlanarak enolpirüvil transferazı inhibe eder. Böylelikle, N-asetil-glukozamin ve fosfoenolpiruvattan N-asetilmuramik asit oluşumunu engelleyerek, sonunda bakteriyel hücre lizine ve bakterinin ölümüne neden olur.

Fosfomisinin ayrıca immünomodülatör rolü de bulunmaktadır. Monosit, lenfosit ve nötrofilleri etkileyerek, TNF-α, lökotrienlerin ve interlökin seviyelerini değiştirir. Monositlerden IL-8, T hücrelerinden IL-2 ve nötrofillerden LTB4 salınımını engeller.

Yapılan in vivo ve in vitro deneylerinde akut inflamatuar sitokin cevabına karşılık fosfomisinin IL-1β, IL-6 ve TNF-α'yı modüle ederek etki ettiği saptanmıştır (Hazırolan 2020; Michalopoulos ve ark. 2011; Falagas ve ark. 2016). Ayrıca fosfomisinin bakteri fimbrialarının sentezi ve hareketlerini azalttığı görülmüştür.

2.2.3.3. Direnç Mekanizması

Fosfomisin, diğer antibiyotiklere göre bakterilere karşı etki ettiği bölgenin değişik olması ve sahip olduğu kimyasal yapısı sebebiyle antibakteriyel ajanlarla çapraz direnç göstermez veya çok nadir görülmektedir. Fosfomisine karşı direnç plazmid aracılı veya çoğunlukla kromozomal olarak görülmektedir. Bu kromozomal gelişen direncin çoğu, fosfomisin molekülünün bakterinin içerisine taşınmasında rol olan proteinleri kodlayan genlerde mutasyon meydana gelmektedir. Bu mutasyon sonucu bakterinin L-alfa-gliserofosfat ve heksoz monofosfat taşıma mekanizmalarında bozulma meydana gelerek fosfomisinin hücre içine alımı azalır. Bu tür direnç *P.aeruginosa* ve *Escherichia coli* izolatlarında saptanmıştır (Patel ve ark. 1997; Afşar ve ark. 2005; Mert 2006; Falagas ve Kopterides 2007; Murray ve ark. 2007; Kumar ve ark. 2009; Baylan 2010).

Bir başka direnç ise MurA'nın yapısını etkileyen murA gen mutantları tarafından yapılan değişiklikler sonucunda MurA'nın fosfomisine karşı afinitesinin azaltılmasıyla olur. *Mycobacterium tuberculosis*, MurA'nın 117. pozisyonda sisteini aspartat ile değiştirir böylelikle fosfomisin bir substrat olarak hareket edip etkileşime giremez. MurA'nın değiştirilmiş aktif merkezine sahip mutantlara, *E. coli*'de sık rastlanır. Ayrıca MurA'nın aşırı üretilmesi durumunda mikroorganizmanın bu antibiyotiğin etkisine duyarlı olmaması nedeniyle fosfomisin tarafından yetersiz inhibisyona da neden olmaktadır.

Epidemiyolojik önemi nedeniyle en çok dikkat çeken mekanizma, fosfomisinin MurA üzerindeki inhibe edici etkisini bloke eden metaloenzimlerin neden olabileceği fosfomisin inaktivasyonudur. Fosfomisine bir su ve glutatyon molekülü dahil ederek epoksit halkasını açan FosX ve FosA metalloenzimleri fosfomisini inaktive eder. Başka bir metaloenzim olan FosB, fosfomisin'i bir sistein veya basillitiol molekülü ekleyerek inaktive eder. Ayrıca FosA'nın plazmitlere dahil edilmesi, *E. coli'*de fosfomisinin MİK değerlerini yükseltmektedir.

Çalışmalar ayrıca, fosfomisinin fosfonat grubunu fosforile ederek antimikrobiyal aktiviteden yoksun difosfat ve trifosfat bileşikleri oluşturan FormA ve FormB kinazları da tanımlamıştır. Bildirilen başka bir kinaz ise *Pseudomonas syringae*'de fosfomisini MurA'ya duyarlı olmayan fosfomisin monofosfata dönüştüren, FormA'nın homolog bir fosfotransferazı olan FosC'dir (Diez ve Canton 2019).

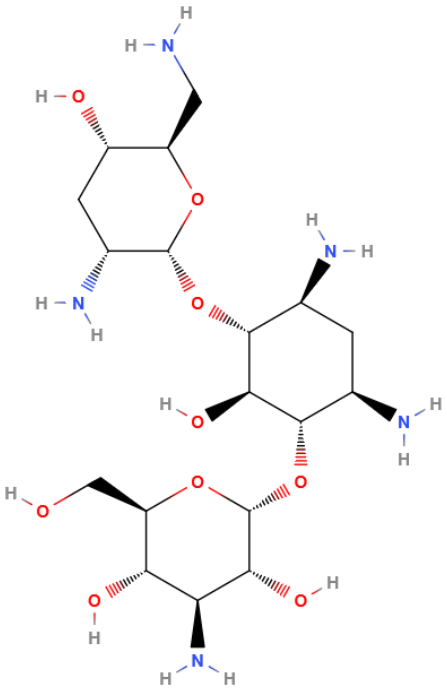
2.2.3.4. Etki Spektrumu

Fosfomisin, stafilokoklardan metisiline dirençli *Staphylococcus aureus,* vankomisine dirençli *Enteroccus faecium,* glikopeptide karşı duyarlı enterokoklar ayrıyeten dirençli olan enterokoklar dahil daha birçok grubu kapsayan geniş bir etki spektrumuna sahiptir. Genel olarak Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere etkilidir. *E. faecium, E. coli,* Klebsiella spp., Enterobacter spp., Serratia spp., Citrobacter spp., *Proteus mirabilis,* Salmonella spp., Shigella spp., Pseudomonas spp ve *Stenotrophomonas maltophilia*'ya karşı etki gösterir. Ancak direnç kaynaklı Acinetobacter spp., *Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus capitis,* Bacteroides spp ve *Burkholderia cepacia* bakterine karşı etkisizdir (Baylan 2010).

2.2.4. Tobramisin

2.2.4.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

Aminoglikozid sınıfı antibiyotiklere ait olan tobramisin 1967 yılında Streptomyces spp.'den türetilmiştir. Bu sınıfa ait elde edilen ilk antibiyotik olan streptomisin, 1948 yılında Selman Waksman tarafından *Streptomyces griseus*'un fermantasyon ortamından sağlanmıştır tüberkülosun ve Gram negatif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmıştır. Ardından neomisin (1957), kanamisin (1957), gentamisin(1963), tobramisin(1967), sisomisin(1970), amikasin(1972) ve netilmisin(1975) bulunmuştur. Tipik bir aminoglikozit, aminocyclitol çekirdeklerini çevreleyen glikozidik bir halkaya bağlı iki veya ikiden daha fazla aminoşekerden oluşmaktadır. Kimyasal yapıları kaynaklı yüksek polariteleri ve polikatyonik yapıları sebebiyle zarlardan difüzyon ile geçemezler. Sindirim kanalı tarafından emilimleri ayrıca beyin omurilik sıvısına girmeleri de zordur. Buna karşın suda iyi çözünürler (TEB 1990; Wishart ve ark 2006; Serio ve ark. 2018).



Şekil 2.6: Tobramisin Molekülü

2.2.4.2. Etki Mekanizması

Aminoglikozidler konsantrasyona bağımlı aktivite gösterirler. Kimyasal yapıları sebebiyle difüzyon yöntemiyle bakterinin hücre membranını geçemeyen bu tür antibiyotikler aktif transport yöntemini kullanarak hızlı bakterisid özelliği gösterir. Hücre membranından geçişleri için oksijen ve aktif transport gerekmesi sebebiyle bu transport sisteminden yoksun olan anaerop bakteriler aminoglikozidlere karşı dirençlidirler. Bu gruptaki antibiyotikler protein sentez inhibitörleridir. Streptomisinde bakteri ribozomlarının yalnızca 30S alt birimlerine bağlanarak protein sentezini inhibe ederken bu gruba ait diğerleri ribozomların 50S alt birimine de bağlanarak etki gösterebilmektedir. Proteine irrevesibl olarak bağlanarak kodonda değişikliğe sebep olurlar ve gelen mRNA'nın proteine düzgün şekilde bağlanmasını önlerler. Böylece mRNA'nın yanlış okunmasına neden olarak aminoasitlerin değişimine yol açarlar (Mataracı 2010; Bozkaya 2013; Kurt ve ark. 2013).

2.2.4.3. Direnç Mekanizması

Aminoglikozidler aminoasil taşıyıcı RNA nın ribozomda sahip olduğu üç bağlanma yeri olan A, P ve E konumlarından ribozomun 30S alt birimini oluşturan 16S

rRNA'nın A konumuna bağlanırlar. Böylelikle bakterinin polypeptit sentezini engelleyerek bakteri ölümüne sebep olurlar. Aminoglizokidlerin etki mekanizmalarına karşı direnç farklı birkaç şekilde gerçekleşebilmektedir bunlar 1- aminoglikozidlerin etki mekanizmasına aminoglikozit plazmidlerin kontrolünde yapılan enzimatik modifikasyonlar ile asetiltransferazlar, nükleotidiltransferazlar ve fosfotransferazların aminoglizidleri inaktive etmesi (Shaw ve ark. 1993; Ramirez ve Tolmasky 2010; Doi ve ark. 2016) 2- dışa atım pompalarının dışarı akışı hızlandırarak antimikrobiyal maddeler, metabolitler ve çekirdeği algılayan sinyal molekülleri dahil olmak üzere toksik maddeleri uzaklaştırarak mikroorganizmaların iç ortamlarını düzenlemesi (Soto 2013) 3- permeabiliteye bağlı direnç ve 4- aminoglikozitlerin bağlandığı 30S ribozomal alt biriminin modifikasyonlarıdır.

Enzimatik modifikasyona bağlı dirençlerde, bakterilerin plazmidlerinden sentezlenen enzimlerle aminoglikozidlerin etki mekanizmasına müdahalede bulunulmaktadır. Bu müdahaleye aminoglikozid asetiltransferazlar aminoglikozidlerin yapısında bulunan amino grubunu asetile ederek modifiye ederler, nükleotidiltransferazlar aminoglikozitlere ATP ile etkileşime sokarak moleküldeki hidroksil grubunu adenile ederler ve fosfotransferazlar ise aynı şekilde aminoglikozid molekülüne ATP ile reaksiyona sokarak moleküldeki hidroksil grubunu fosforile ederler.

Dışa atım pompaları bakterilerde bulunan ve endojen veya ekzojen kaynaklı olabilen kaynakların bakterinin dışına atılmasında görev alan membran transport proteinidir. Bakterilerin dışa atım pompaları genelde sekonder aktif transporta dahilken bir kısmı da primer aktif transport yani hücre dışı ve içi arasındaki maddelerin enerji kullanılarak taşınmasına bağlı olan pompalardan oluşur. Bu pompaları kullanılarak dışa atılım sisteminin aşırı ekspresyonuyla antibiyotiklerin hücre içinden atılımıyla antibiyotik konsantrasyonunun bakteri içerisinde yeterli seviyelere ulaşamamasından dolayı aminoglikozidlerde dahil birçok antibiyotik grubuna karşı azaltılmış duyarlılık, doğal direnç geliştiği bilinmektedir.

Aminoglikozidlerin etki mekanizması kısmında hücre membranından geçişleri için oksijen ve aktif transport gerektiği bu sebeple de bunlardan yoksun olan anaerop bakteriler aminoglikozidlere karşı dirençli olduğundan bahsedilmiştir. Bu tür dirençlerin düzeyi yüksek olmamasına rağmen aminoglikozid grubu antibiyotiklerde direnç

oluşturmaktadır. Permeabiliteye bağlı dirençlerin en çok rastlandığı bakteriler ise *P. aeruginosa* suşlarıdır (Pancoast 1988; Phillips ve Shannon 1984; Gür 1992).

Aminoglikozidler ribozomun 30S alt birimini oluşturan 16S rRNA'nın A konumuna bağlanırlar. Bakterilerde direnç ise aminoglikozitlerin bağlandığı bu 30S ribozomal alt birimindeki modifikasyonlarla sağlanmaktadır. Ribozomal proteindeki yapılan bir amino asit değişikliği gibi küçük modifikasyonlar aminoglikozid molekülüne karşı olan afinitenin düşmesine yol açmaktadır. Bu tarz direnci streptomisine karşı rastlanmıştır. Ribozomun 30S alt biriminde bulunan S12 proteininin diziliminde 42'inci sırada bulunan lizin asparajinle yer değiştirmesi streptomisinin 30S alt birimine bağlanmasını engelleyerek streptomisine karşı dirence rastlanmıştır. *Staphlylococcus aureus, Neisseria gonorrhoeae,* enterokoklar ve Pseudomonos'ın klinik suşlarında bu tarz dirence rastlandığı bildirilmiştir (Shannon ve Phillips 1982; Phillips ve Shannon 1984; Gür 1992).

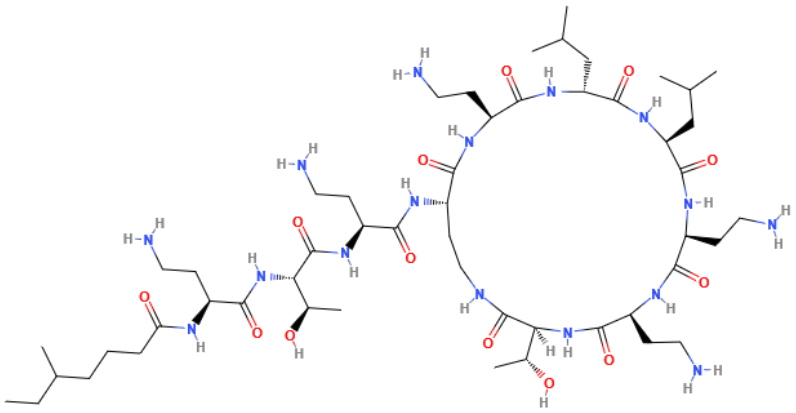
2.2.4.4. Etki Spektrumu

Hem Gram pozitif hem de Gram negatiflere karşı aktivite gösterip etki spektrumu geniş olan konsantrasyona bağlı bakterisidal antibiyotiklerdir. Pseudomonas cinsininde katıldığı aerop Gram negatif bakteriler üzerinde etkilidir ancak Gram pozitiflerde etkisi kısıtlıdır. Penisilin ve sefalosporinlerle aynı ortamda bulunduklarında aminoglikozitler geçimsizlik gösterirler (Bozkaya 2013).

2.2.5. Kolistin

2.2.5.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

Kolistin 1947 yılında *Bacillus polymyxa* suşunun alt türüne ait colistinus'tan izole edilen polimiksin grubuna ait bir siklil polipeptid antibiyotiğidir. Polimiksin A,B,C,D ve E diye 5 sınıfta toplanmıştır ve kolistin, polimiksin E olarak adlandırılmaktadır. Ancak klinik uygulamada sadece polimiksin B ve polimiksin E (kolistin) kullanılmıştır. Kolistin siklik heptapeptid yapısında tripeptid yan zinciri bulunan bir polipeptiddir. Molekülün N-terminalinde bulunan yağ asidi zinciri yan zincirlere kovalent şekilde bağlıdır. Hidrofobik özellikteki yağ asitleri kolistinin antimikrobiyal etki ve toksisitesinden sorumludur (Özer 2021).



Şekil 2.7: Kolistin Molekülü

Kolistin ilk olarak 1950'lerde Japonya'da ve Avrupa'da ve 1959'da Amerika Birleşik Devletleri'nde kolistimetat sodyum formunda kullanılmaya başlanmıştır. Kolistinin, Kolistin sülfat ve kolistimetat sodyum olmak üzere iki farklı formu bulunmaktadır. Ancak 1950 ila 1980 yılları arasında yoğun kullanılan bu antibiyotik grubunun intravenöz formülasyonları, 1980'lerin başlarında dünyanın birçok yerinde nefrotoksisite insidansının yüksek olması nedeniyle kullanımı kısıtlanmıştır. Daha sonralarındaysa sadece kistik fibrozlu hastalarda çoklu ilaca dirençli Gram-negatif bakterilere bağlı akciğer enfeksiyonlarının tedavisi için kolistinin intravenöz formülasyonu kullanılmıştır (Conway ve ark. 1997; Ledson ve ark. 1998; Cunningham ve ark. 2001; Falagas ve Kasiakou 2005).

2.2.5.2. Etki Mekanizması

Kolistinin hedefi bakterinin hücre zarıdır. Gram-negatif bakterilerin dış zarındaki katyonik polipeptit olan kolistinin bakteri zarı ile ilk etkileşimi ve anyonik lipopolisakarit molekülleriyle arasındaki elektrostatik etkileşimler yoluyla gerçekleşir ve bu etkileşim hücre zarının düzensizliğine yol açar. Kolistin, normalde lipopolisakarit moleküllerini stabilize eden magnezyum (Mg^{+2}) ve kalsiyumun (Ca^{+2}) yerini alarak dış zarın dengesini bozar. Bunun sonucunda ise hücre zarının geçirgenliğinde bir artış ardından hücre içeriğinin sızarak hücre ölümüne neden olur (Newton 1956; Davis ve ark. 1971; Schindler ve Osborn 1979).

Bakterisid etkisinin yanı sıra kolistin ayrıca güçlü anti-endotoksin aktiviteye sahiptir. Lipopolisakaritlerin lipid A kısmı Gram-negatif bakterilerin endotoksininidir ve kolistin, lipopolisakarite bağlanarak bu endotoksini de nötralize eder (Gough ve ark. 1996).

2.2.5.3. Direnç Mekanizması

Gram-negatif bakteriler diğer polimiksinlere ve kolistine karşı mutasyon veya adaptasyon mekanizmaları yoluyla kendilerini korumak için çeşitli mekanizmalar kullanmaktadırlar. Polimiksine dirençli *P. aeruginosa* suşları üzerinde yapılan araştırmalar, bakteri hücresinin dış zarındaki değişikliklerle negatif yükünün azaltılması durumunun direnç gelişime sebep olduğunu ortaya koymuştur. Lipopolisakaritlerdeki bu değişiklikler bakterinin iki öğeli regülatör sistem PmrAB ve PhoPQ tarafından sağlanmaktadır. PhoPQ ve PmrAB'deki değişikliklerin neden olduğu lipopolisakaritlerin yeniden modellenmesiyle daha az anyonik lipid bulunur ve böylelikle bakteriyel dış zara bağlanmanın azalmasıyla sonuçlanır. PmrA vePmr B sistemi hücre dışında düşük PH, düşük magnezyum konsantrasyonu ve yüksek demir konsantrasyonu görüldüğünde PmrE ve PmrHFIJKLM'yi uyararak gen ekspresyonunu sağlar. Lipopolisakaritlerin fosfat gruplarına etanolamin ve lipid A'ya aminoarabinoz ekler, böylelikle katyonik olan polimiksinlerin bağlanma affinitesi azaltır. Bir diğer bakteri dış membranındaki değişiklik OprH'nin aşırı sentezlenip membranda bulunan Mg^{+2} yerine geçmesiyle sağlanır. Eksojen poliaminlerin varlığı ve ortamdaki düşük magnezyum konsantrasyonu PhoPQ regülatör sistemi uyararak OprH geninin ekpresyonunu sağlar ve OprH protein sentezi gerçekleşir.

Başka bir direnç ise, plazmid aracılığıyla "mcr-1" geninin bakteriler arasında horizontal transferi sonucu, Lipit-A yapısına fosfoetanolemin eklenerek oluşan lipit-A fosfoetanolamin transferaz enziminin kolistini hidrolize etmesiyle de gerçekleşmektedir (Liu, Wang ve ark. 2016; Liu, Chandler ve ark. 2017).

Diğer bir direnç stratejisi, birçok bakterilerde olduğu gibi atılım pompası sistemlerinin aşırı çalışmasıdır. Yersinia türleri üzerinde yakın zamanda yapılan bir çalışma, bir akış pompası/potasyum sisteminin polimiksin B'ye dirençle ilişkili olabileceğini göstermiştir.

Kolistin ve polimiksin B arasında neredeyse tam bir çapraz direnç mevcuttur. Bakterilerin kolistine karşı enzimatik direnci bildirilmemiş olmasına rağmen, *Bacillus*

polymyxa alt türü colistinus, kolistini inaktive eden kolistinaz üretir (Bengoechea ve Skurnik 2000; Özer 2021).

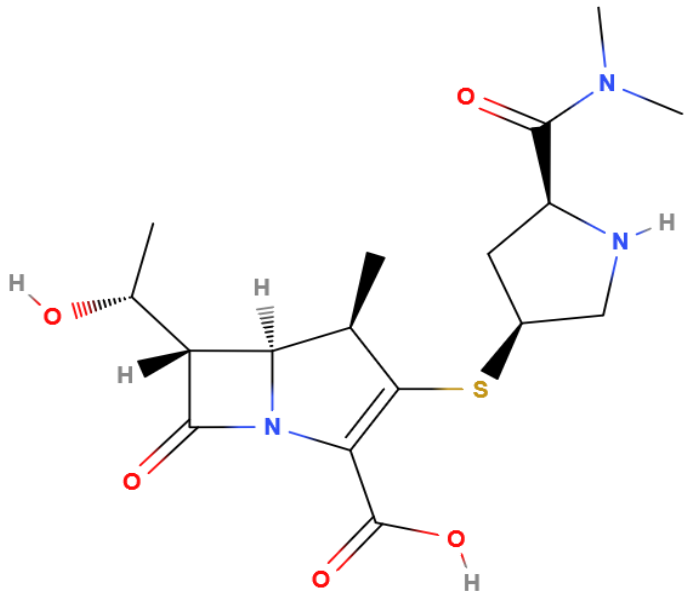
2.2.5.4. Etki Spektrumu

Kolistin aerop Gram negatif bakterilere karşı etkilir. En sık çoklu dirençli nozokomiyal patojenlerine karşı kullanılır. *P. aeruginosa,* Enterobacter spp. *Shigella spp., E. coli, Acinetobacter baumannii,* Klebsiella spp., Salmonella spp., *Stenotrophomonas maltophilia, Bordetella pertussis, Haemophilus influenzae* ve *Legionella pneumophila*'ya karşı etki gösterir. Buna karşın Gram pozitif ve anaerop bakteriler kolistine karşı doğal direnç gösterir. *Burkholderia cepacia, Serratia marcescens*, Providencia spp., Proteus spp., *Moraxella catarrhalis ve Morganella morganii* kolistine doğal dirençli bakterilerdir (Aydemir 2019).

2.2.6. Meropenem

2.2.6.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

Karbapenemler ilk kez *Streptomyces cattleya* bakterileri tarafından sentezlenen thienamycin isimli bileşiğin üzerinde yapılan amino ve hidroksil gruplarındaki değişikler sonucunda 1976'da keşfedilmiştir. 1 pozisyonunda bir kükürt atomu yerine bir karbon atomu ve C2-C3 pozisyonunda doymamış bir bağlanma onları penisilinlerden ayırır (Salmon-Rousseau ve ark. 2020). Beta-laktam grubu içerisinde en geniş spektruma sahip gruptur. Karbapenemlerin ilk öğesi imipenemdir. En geniş spektruma sahip Gram-pozitif, Gram-negatif, anaerob ve aerob mikroorganizmalara karşı etkilidir. Karbapenemlerin ikinci üyesi olan meropenem ise 1996 yılından sonra kullanılmaya başlanmıştır. Meropenem azetidin ve pirolin halkalarına sahip bir karboksilik asittir. Karbapenem halkasına 1-beta-metil grubunun ilave edilmesiyle oluşmuştur. Bakterilerin peptidoglikan tabaka oluşumları üzerinde etki gösterir. Günümüzde imipenem, doripenem, ertapenem ve meropenem bu gruptan kullanılan antibiyotiklerdir (Keskin ve ark. 1998; Öncül 2002; Alhan 2011; Bulut 2014).



Şekil 2.8: Meropenem Molekülü

2.2.6.2. Etki Mekanizması

Karbapenemlerinde içinde bulunduğu tüm beta-laktamlar penisilin bağlayan protein (PBP) aracılığıyla etki gösteren bakterisit antibiyotiklerdir. Transpeptidaz inhibisyonu, bakteriyel hücre duvarı sentezi sırasında karbapenemlerin ana enzim hedefidir. Transpeptidasyon aşamasında, molekül PBP'lerle bağ oluşturur. PBP'lerin etkinliklerinin baskılanması sonucu peptidoglikan sentezini bozar ve hücre duvarının canlılığı etkilenir, bakteri hücre duvarının glikan omurgası zayıflar ve sonunda hücre ölümüne sebep olur (Papp-Wallace ve ark. 2011; Meletis 2016; Codjoe ve Donkor 2017).

2.2.6.3. Direnç Mekanizması

Karbapenemlerin özellikle ampirik tedavilerde kullanılmış olması sebebiyle günümüzde bu gruba karşı direnç artmıştır. Bakterilerde görülen bu direnç 3 farklı mekanizma tarafından meydana gelebilmektedir.

Karbapenemlerin etki edebilmesi için hücre içine geçiş yapması gerekmektedir. Hücreye girişini sağlayan porinlerdeki değişiklikler ise ilacın hücre içinde yeterli konsantrasyona ulaşmamasına sebep olarak etkisiz hale getirmektedir. Bu porinlerde gelişen Opr D kaybı mekanizması meropenem ve diğer karbapenemlerde etkiliyken

imipenemde tek başına geçersizdir (Kohler ve ark. 1999). *P.aeruginosa* suşlarının temel olarak karbapenemlere karşı direnç bu mekanizma üzerine kuruludur. Aynı etkiye sebep olan bir diğer mekanizma ise aktif atılım pompalarının indüklenmesiyle sağlanır. *P.aeruginosa*'da MexA-MexB-OprM, MexC-MexD-OprJ, MexE-MexF-OprN, ve MexX-MexY-OprM adında 4 farklı antibakteriyel molekülleri dışarı atmayı sağlayan aktif pompa bulunmaktadır (Bulut 2014). Bu pompalar aracılığıyla antibiyotik moleküllerini dışarı atarak hücre içindeki antibiyotik konsantrasyonunu azaltır.

Bir diğer mekanizma ise PBP'ler üzerinde yapılan değişikliklerdir. Tek başına genellikle görülmeyen bu durum genelde başka mekanizmalarla birlikte gelişir. Kromozomal seviyede yapılan değişiklikler sayesinde PBP'nin beta-laktamlara karşı afinitesi azalır böylelikle beta-laktamlar PBP'ye bağlanamazlar ve peptidoglikan sentezini engelleyemezler.

Son olarak ise bakterilerin beta-laktamaz enzimleri üreterek beta-laktam halkalarının siklik amid bağını parçalayarak beta-laktam moleküllerini etkisiz hale getirmesiyle direnç gelişmektedir. Beta-laktamaz hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilerde üretilmektedir. Ancak Enterobacteriaceae başta olmak üzere Gram-negatif bakterilerin en önemli mekanizmasıdır (Gülay 2003). Günümüzde 600'ün üzerinde bilinen farklı beta-laktamaz enzimi mevcuttur (Bulut 2014).

2.2.6.4. Etki Spektrumu

Karbapenemler betalaktam antibiyotikleri arasında en geniş spektruma sahip antibiyotiklerdir. Gram-pozitif, Gram-negatif ve anaeroplara karşı etkilidirler. Etki ettiği bakterilere Gram pozitif aeroblardan streptokoklar, *Enterococcus fecalis* ve stafilokoklar, genel olarak Gram negatiflerden *Klebsiella pneumonia, Enterobacter cloacae, Klebsiella oxytoca, Morganella morganii,, Citrobacter koseri, Proteus vulgaris, Enterobacter aerogenes, Proteus mirabilis, Citrobacter freundii Serratia marcenscens'i* örnek verebiliriz. Ayrıca birçok betalaktamaza karşı direnç gösterirler. Ancak Legionella, *Enterococcus faecium, Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia* gibi edinilmiş dirençleriyle sorun olabilecek, Acinetobacter spp., *Stenotrophomonas maltophilia, ve Chlamydophila pneumoniae* gibi de meropeneme karşı doğal dirençli bakteriler bulunmaktadır (TİTCK 2020).

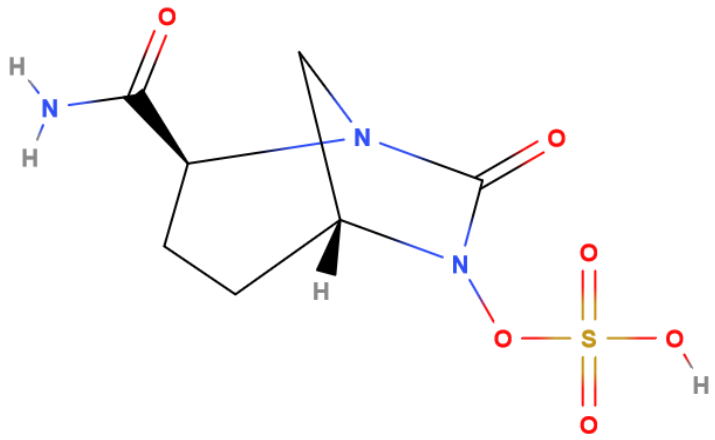
Aynı gruptaki imipeneme göre Gram negatiflere özellikle de *P.aeruginosa* 'ya etki gösterirken imipenem ise Gram-pozitiflere karşı meropeneme göre daha etki gösterir (Bulut 2014).

Ciddi enfeksiyonların ampirik tedavisinde, nozokomial enfeksiyonlarda ve mikst enfeksiyonlarında meropenem tedavi amaçlı kullanılmaktadır (TİTCK 2020).

2.2.7. Seftazidim-Avibaktam

2.2.7.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

Seftazidim-avibaktam anitibiyotiği, üçüncü kuşak sefalosporin seftazidim ve yeni, non-beta-laktam beta-laktamaz inhibitörü avibaktamın kombinasyonundan oluşmaktadır. 2015 yılında komplike üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisi ve intraabdominal enfeksiyonların tedavisinde kullanılmak amacıyla, 2018'de ise hastane kökenli ve ventilatör ilişkili pnömoni tedavisi için FDA tarafından onaylanmış yeni bir antibiyotiktir. Avibaktam diğer beta-laktamazlardan farklı olarak diazobisiklook yapıya sahip bir beta-laktamaz inhibitörüdür (Ayhan 2020).



Şekil 2.9: Avibaktam Molekülü

2.2.7.2. Etki Mekanizması

Seftazidim geniş spektruma sahip 3. jenerasyon bir sefalosporindir. Beta-laktam sınıfına ait olan bu antibiyotik diğer beta-laktamlar gibi penisilin bağlayan protein (PBP)i hedef alıp bağlanarak bakteri hücre duvarını oluşturan peptidoglikan tabakasının

oluşmasını engelleyerek bakterinin lize olup ölmesine sebep olur (Livermore ve ark. 2012; EMA 2018). Avibaktam ise beta-laktam olmayan bir beta-laktamaz inhibitörü olarak kendi başına belirgin bir antimikrobiyal aktivitesi olmasa da seftazidimi çeşitli serin beta-laktamazlar tarafından yıkımını önleyerek etki gösterir. Avibaktam, β-laktamazlara yavaş geri dönüşümlü kovalent asilasyonu yoluyla hidroliz olmadan deasilasyon yaparak etki eder (Stachyra ve ark. 2010; Ehmann ve ark. 2012; EMA 2018; Shirley 2018). Avibaktam A Sınıfı, AmpC 'nin dahil olduğu C sınıfı ve D sınıfı ß-laktamazları inaktive eder. Ancak, aktif bölgede serin bulunmadığından, B-tipi metalo-enzimlere karşı aktivite göstermez. Avibaktamda inhibisyon sırasında diğer beta-laktamazlarda olduğu gibi beta laktam halkaları açılmaz ve stabilite korunur (Rains ve ark. 1995; Bonnefoy ve ark 2004; Livermore ve ark. 2011; GSK 2018; Hoşbul ve ark. 2022).

2.2.7.3. Direnç Mekanizması

Yeni bir antibiyotik olması kaynaklı sınırlı kaynaklar sonucu edilen bilgiye göre şu anlık seftazidim-avibaktama karşı az direnç gelişmiştir (Livermore ve ark. 2012; Lahiri ve ark. 2015). En yaygın olarak görülen direnç mekanizması ise avibaktamın inhibisyonuna dirençli olan B sınıfı metallo beta-laktamazlar ve D sınıfı beta-laktamazların üretimiyle sağlanmaktadır. AmpC veya karbapenemaz enzimlerinki mutasyon sonucu da seftazidime-avibaktama karşı direnci gözlenmiştir. Ayrıca plazmidlerdeki KPC-3 geninde gerçekleşen mutasyonlar sonucu seftazidim-avibaktam da dahil karbapenem ve diğer beta-laktam antibiyotikleri direnci vakaları, ilişkilendirilmiştir. İlginç bir şekilde, seftazidim-avibaktam direnci veren bazı KPC-3 mutasyonlarının, karbapenemler ve diğer β-laktam antibiyotiklerin MİK değerlerinde azalmalarla ilişkisi olduğu bulunmuştur (Limvermore ve ark. 2015; Karlowsky ve ark. 2016; Nichols ve ark. 2016; Haidar ve ark. 2017; Shields ve ark. 2017; Sırıken ve Öz 2017; Shirley 2018).

2012-2014 INFORM verilerine göre 563 seftazidim-avibaktama dirençli *P. aeruginosa* suşunun 199'unda edinilmiş β-laktamaz geni tanımlanmadığı tespit edilmiştir. Bu da seftazidime-avibaktama karşı oluşan direncin farklı direnç mekanizmaları yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir (Maçin 2014). Diğer potansiyel direnç mekanizmalara ise PBP'lere yapılan mutasyonlar sunucu ilaç hedefindeki değişiklikleri, aktif atılım pompalarının indüklenmesi ile antibiyotiklerin hücreden dışarı atılımı ve bakteri hücresi

duvarındaki geçirgenliğin azalması sonucu bakteri içinde yeteri ilaç konsantrasyonunun elde edilememesi sıralanabilir.

2.2.7.4. Etki Spektrumu

Enterobacteriaceae, *Klebsiella pneumoniae* karbapenemazları *(KPC), P. aeruginosa* üzerinde etkilidir. Acinetobacter spp. anaeroblar, Gram pozitif bakteriler üzerinde ise az etki gösterir ancak genel olarak Gram negatif karbapeneme ve beta-laktamazlara dirençli bakteriler üzerinde etki gösterir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bakteri Suşları

Çalışmamızda İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda çeşitli klinik örneklerden Aralık 2018- Ocak 2020 dönemi boyunca geleneksel yöntemlerle izole edilip, MALDI-TOF MS ile tanımlanmış; *bla*$_{KPC}$, *bla*$_{NDM}$, *bla*$_{VIM}$, *bla*$_{IMP}$, *bla*$_{OXA-48}$, *bla*$_{OXA-51}$, *bla*$_{OXA-23}$, *bla*$_{OXA-58}$" karbapenemaz direnç genleri yönünden Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu kullanılarak incelenmiş ve İ.Ü.Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarı -80 ºC derin dondurucusunda muhafaza edilmiş 40 adet *Pseudomonas aeruginosa* suşu kullanılmıştır. Çalışmamızda bu suşlar PA1-PA40 olarak isimlendirilerek yer almıştır.

3.2. Antibiyotikler ve Çözeltileri

Çalışmamızda kullanılan antibiyotiklerden delafloksasin Sigma Aldrich (aktivitesi 980 µg/mg), kolistin sülfat Sanofi Dif İlaç A.Ş. (aktivitesi 1008 µg/mg), meropenem AstraZeneca İlaç A.Ş. (aktivitesi 1140 mg/mg), seftazidim/avibaktam AbbVie İlaç A.Ş. (aktivitesi 2.5g/ml), tobramisin Nobel İlaç San. ve Tic. A.Ş. (aktivitesi 993 µg/mg), levofloksasin Aventis İlaç A.Ş. (aktivitesi 500mg/100ml) ve fosfomisin Koçak Farma İlaç A.Ş. (aktivitesi 1g/ml) tarafından temin edilmiştir. Toz halinde bulunan bu antibiyotikler temin edildikleri uygun şişelerinde kapakları parafilmle sarılarak +4 ℃ de saklanmışlardır.

Deneyde kullanılacak olan antibiyotiklerin stok çözeltilerinin hazırlanmasında aşağıdaki formülden yararlanılmıştır:

$$\text{Antibiyotik miktarı (mg)} = \frac{\text{Kullanılan çözücü hacmi (ml)} \times \text{İstenilen konsantrasyon} \left[\frac{\mu g}{ml}\right]}{\text{Antibiyotiğin aktivitesi} \left[\frac{\mu g}{mg}\right]}$$

Antibiyotiklerin her birinden yukarıdaki formül kullanılarak uygun miktarlarda hassas terazide (Sartorius, CP224S) tartılarak, yeterli miktarda uygun çözücüde çözündürüldükten sonra, steril seyrelticisi ile stok çözeltileri hazırlanmıştır. Her antibiyotik için uygun çözücü ve seyrelticisi EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) kılavuzunda belirtilen şekilde hazırlanıp kullanılmıştır (EUCAST 2022). Tobramisin, fosfomisin, seftazidim/avibaktam ve kolistin hazırlanırken hem çözücü hem de seyreltici olarak steril distile su kullanılmıştır. Delafloksasin ve levofloksasin için 0,1 mol/L NaOH çözücü olarak kullanılmış ve çözüldükten sonra steril damıtık su ile istenilen hacme tamamlanmıştır. Meropenem dışında hazırlanan tüm antibiyotiklerin 5120 mg/ml stok çözeltileri altı ay süre ile -20ºC'de saklanmıştır. Meropenem için ise stok çözelti deney yapıldığı gün formüle uygun miktarlarda tartılarak distile su ile çözdürülerek hazırlanmıştır.

3.3. Kullanılan Besiyerleri

3.3.1. Triptik Soya Agar (TSA)

Toz halindeki TSA'dan (BD Difco) 1000 ml'lik cam balona 36 gram tartılarak 900 ml distile suda çözdürülmüştür. Ardından otoklava konularak 121°C'de 15 dakika tutularak steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrası Petri kutularına 20 ml olacak şeklinde dağıtılmıştır. Katılaştıktan sonra 1 gün 37ºC'lik etüvde bekletilip kontaminasyon kontrolü yapılmış ve sonrasında deneylerde kullanılmıştır.

3.3.2. Katyon İlaveli Mueller Hinton Buyyonu (KİMHB)

Toz halinde bulunan Mueller Hinton buyyon besiyeri (MHB) (Difco) üretici firmanın talimatları doğrultusunda 250 mililitrelik borosilikat cam şişelerde 4,2 gram tartılarak 200 ml distile suda çözündürülmüştür. Ardından otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle steril edilmiştir. Sonrasında etüvde 1 gün bekletilerek kontaminasyon olup olmadığı kontrol edilmiştir.

Önceden tartılıp distile suda çözündürülerek hazırlanan magnezyum (Mg^{+2}) ve kalsiyum (Ca^{+2}) katyonları 0,2 µm'lik membran filtrelerden (Sartorius) geçirilerek steril edilmişlerdir. Ardından önerilen miktarlar doğrultusunda Ca^{+2} 50 mg/l; Mg^{+2} katyonu ise 25 mg/l olacak şekilde steril MHB'ye eklenerek KİMHB hazırlanmıştır.

3.4. İnokulum Hazırlanması

3.4.1. Bakteri Süspansiyonunun Hazırlanması

Anabilim dalı araştırma laboratuvarımızda -80 ºC derin dondurucuda tutulan *P. aeruginosa* suşlarının stok kültürlerinden 3.3.1 de hazırlanışı anlatılan steril TSA besiyeri bulunan Petri kutularına azaltma yöntemi ile ekimleri yapılmış, ardından 37°C'de 24 saat inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonrası üreyen bakterilerden tek düşen 2-3 koloni steril tek kullanımlık bir öze yardımıyla alınarak içerisinde hazırlanışı 3.3.2'de belirtilen 3'er ml steril KİMHB bulunan tüplere aktarılmıştır. Vorteks yardımıyla homojen hale getirilen süspansiyon, McFarland densitometre cihazı (BioSan) yardımıyla 0,5 McFarland yoğunluğuna eşit bulanıklığa ayarlanmış ve böylelikle 10^8 koloni oluşturan birim (kob)/ml içeren bakteri süspansiyonları elde edilmiştir. Mikrodilüsyon deneylerinde kullanmak amacıyla ise bu tüplerden 1/100 seyreltme yapılmıştır. 9,9 ml hazırlanışı 3.3.2'de belirtilen steril KİMHB içeren tüplere, 100 µl 10^8 kob/ml bakteri süspansiyonundan alınarak eklenmiş, böylelikle 10^6 kob/ml içeren bakteri süspansiyonları elde edilmiştir.

3.4.2. İnokulumdaki Bakteri Koloni Sayısının Tespiti

Hazırlanışı 3.4.1 de anlatılan 10^8 kob/ml bakteri süspansiyonları steril tuzlu su ile 10^{-3} ve 10^{-4} oranlarında seyreltilerek 2x 100'er µl örnekler alınmış ve hazırlanışı 3.3.1'de anlatılan steril TSA besiyeri bulunan Petri kutularının yüzeyine yayılmıştır. Kuruduktan sonra ise 37°C'lik etüvde bir gün bekletilmiştir. Bekleme sonunda oluşan koloniler sayılmış, seyretme değerleri göz önüne alınarak bakteri koloni sayısı saptanmıştır.

3.5. Diğer Malzemeler

Delafloksasin, kolistin, seftazidim-avibaktam, meropenem, levofloksasin, tobramisin ve fosfomisinin Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) değerlerinin belirlenmesi deneylerinde U tabanlı 96 kuyulu steril mikroplaklar (Lp Italiana Spa.) ve steril tek kullanımlık polipropilen deney tüpleri kullanılmıştır. Besiyerlerinin, bakteri süspansiyonlarının ve antibiyotik çözeltilerinin mikroplağa aktarılmasında tek kanallı (Gilson, Pipetman) ve 8 kanallı (Gilson, Pipetman) otomatik pipetörlerden yararlanılmıştır. Otomatik pipetörler için gerekli polipropilen uçlar (Lp Italiana Spa.) ise

uç kutularına konulup 121 ℃'de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra kullanılmıştır.

3.6. Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun (MİK) Saptanması

3.6.1. Deney Koşullarının Standardizasyonu

Çalışmada mikrodilüsyon yöntemiyle çeşitli klinik örneklerinden izole edilmiş 40 adet *P. aeruginosa*'ya karşı delafloksasin, levofloksasin, kolistin, meropenem, seftazidim/avibaktam, tobramisin ve fosfomisinin MİK değerleri EUCAST önerileri doğrultusunda sıvı mikrodilüsyon yöntemine göre araştırılmıştır. MİK deneylerinin uluslararası standardizasyonlara uygunluğu için EUCAST kılavuzunun önerileri doğrultusunda *P. aeruginosa* ATCC 27853 standart suşu kullanılmıştır. Bu amaçla öncelikle, mikroplaklara hazırlanışı 3.2.2. bölümde belirtilen steril KİMHB besiyeri ile antibiyotiklerin seri dilüsyonları yapılmıştır. Seri dilüsyonlar sonucunda mikroplaklarda elde edilen antibiyotik aralıkları; delafloksasin, meropenem, tobramisin, fosfomisin, seftazidim/avibaktam, levofloksasin ve kolistin için 256-0,25 µg/ml'dir. Seftazidim/avibaktamın test edildiği tüm koşullarda avibaktamın son konsantrasyonu tüm kuyularda 4 µg/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu aşamanın ardından kuyuların hepsine hazırlanışı 3.4.1'de belirtilen 10^6 kob/ml bakteri süspansiyonundan 50 µl dağıtılmıştır. Mikroplaklar steril kapaklarla kapatılarak 37℃'de 18-24 saat tutulmuşlardır. İnkübasyon sonunda üremenin olmadığı en son kuyu, en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir.

3.6.2. Çalışmada Kullanılan Antibiyotiklere Ait MİK Değerlerinin Belirlenmesi

Antibiyotiklerin MİK değerlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan deneyde ilk olarak mikroplakların 1 numaralı kolonu dışında 2 numaradan 12 numaraya kadar tüm kuyulara hazırlanışı 3.3.2'de tarif edilen steril KİMHB'den 50'şer µl dağıtılıp, ardından 1. ve 2. kuyulara 50'şer µl hazırlanışı 3.2'de bildirilen antibiyotik çözeltilerinden eklenmiştir. Mikroplaklara 2 numaralı kuyudan 11 numaralı kuyuya kadar bir seri dilüsyon yapılmıştır. Mikroplakların A sırasındaki 12 numaralı sütun ise dışında tüm kuyulara 50'şer µl hazırlanışı 3.4.1'de bildirilen 10^6 kob/ml bakteri süspansiyonu dağıtılmıştır. A sırasındaki 12 numaralı kuyu besiyeri kontrolü amacıyla kullanılırken diğer sıraların 12 numaralı kuyuları ise deneyde kullanılan suşların üremesini kontrol etmek amacıyla kullanılmıştır. Mikroplaklar steril kapaklarla kapatılıp buharlaşmayı

önlemek amacıyla bir naylon poşet içine yerleştirildikten sonra 37°C'de 18-24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda ise üremenin saptanmadığı en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir. Deneyler üç tekrarlı yapılmıştır.

3.7. Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu (MBK) Değerlerinin Belirlenmesi

MİK değerlerinin saptanmasının ardından, üremenin görülmediği kuyulardan 10 µl alınarak hazırlanışı 3.3.1'de belirtilen steril TSA besiyeri içeren Petri kutularına damlatılmış ve kuruduktan sonra etüve kaldırılarak 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Ertesi gün üremenin görülmediği en düşük antibiyotik konsantrasyonu Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu (MBK) olarak kabul edilmiştir. Her koşul üç kez tekrar edilmiştir.

3.8. Antibiyotiklerin "Zamana Bağlı Öldürme" Yöntemiyle Etkilerinin Araştırılması

3.8.1. Antibiyotiklerin Tek Başına ve Kombinasyon Halinde Etkilerinin Araştırılması

"Zamana Bağlı Öldürme" yöntemi ile deneylerde kullandığımız delafloksasinin tek başına ve çeşitli antibiyotiklerle (kolistin, meropenem, seftazidim/avibaktam ve tobramisin) kombinasyon halindeki etkileri NCCLS'in önerileri doğrultusunda belirlenmiştir.

Zamana bağlı öldürme deneylerinde yapılışı 3.6.2 bölümünde anlatılan, MİK değerlerine göre değişik duyarlılık profillerine sahip oldukları tespit edilen 5 farklı klinik suş ile *P. aeruginosa* ATCC 27853 standart suşu kullanılmıştır. Çalışmada antibiyotiklerin 1xMİK ve 4xMİK değerlerinde zamana bağlı olarak test edilen mikroorganizmalar üzerinde bakterisidal etkinlikleri ile kombinasyon halinde iken oluşturacakları sinerjist etkinin tespit edilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla seçilen suşların tespit edilen MİK değerlerinin 40xMİK içeren stok çözeltileri hazırlanmıştır. Çalışılacak bakteri ise bir gün öncesinden TSA petrilerine ekilerek etüvde inkübe edilmiştir. Hazırlanan bu 40xMİK içeren çözeltilerden steril KİMHB besiyeri ile ¼ seyreltme yapılarak 10xMİK elde edilmiş ve hem 40xMİK hem de 10xMİK bulunan tüplerden birer mililitre alınarak içerisinde 8 ml, kombinasyon deneylerinde ise 7 ml steril KİMHB

besiyeri bulunan deney tüplerine eklenmiştir. Hazırlanışı 3.4.1'de anlatılan 10^8 kob/ml bakteri süspansiyonu, 1/10 seyreltilerek 10^7 kob/ml bakteri süspansiyonu elde edilmiştir. Ardından tüplere bu hazırlanan bakteri süspansiyonundan 1'er ml ilave edilerek tüplerden 0., 2., 4., 6. ve 24. saatlerde örnekler alınmıştır. Tüplerden alınan örnekler ya doğrudan ya da seyreltme doğrultusunda hazırlanışı 3.3.1'de anlatılan steril TSA içeren Petri kutularının yüzeyine yayılmış, ardından kuruduktan sonra 37ºC'lik etüvde bir gün bekletilmiştir. Tüpler ise tüm deney süresi boyunca 37°C'de 80 rpm'de çalkalayıcı su banyosunda (Memmert, WB14) inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün, Petri kutuları üzerinde oluşan koloniler sayılarak ve seyreltme faktörü dikkate alınarak ml'deki bakteri sayısı (kob/ml) hesaplanmıştır. Zamana bağlı öldürme deneylerinde tüm koşullar üreme kontrolü olarak antibiyotik içermeyen besiyeri ile de test edilmiştir. Tüm deneyler üç kez tekrar edilmiştir.

Elde edilen değerler doğrultusunda zaman-ölüm grafiği çizilmiş, zaman "x" ekseninde, bakteri sayısının logaritmik değeri "y" ekseninde gösterilmiştir. Sonuçlar NCCLS verilerine doğrultusunda yorumlanmıştır. Bu verilere göre 3 etki gözlemlenebilmektedir; bunlardan ilki sinerjist etkidir. Bakterilerin kombinasyon halindeki antibiyotiklerle 24 saat inkübasyonu sonucunda elde edilen bakteri sayısının, aralarında daha aktif olan antibiyotiğin kombinasyon halindeyken bakteri üzerindeki tesirinin tek başına oluşturduğu tesir sonucu elde edilen bakteri sayısına kıyasla 100 kat veya daha fazla ($\geq 2 \log_{10}$) azalmış olması sinerjist etki olarak kaydedilmiştir. Bir diğeri ise additif etkidir. Bakterilerin kombinasyon halindeki antibiyotiklerle 24 saat inkübasyonu sonucunda elde edilen bakteri sayısının, aralarında daha aktif olan antibiyotiğin kombinasyon halindeyken bakteri üzerindeki tesirinin tek başına oluşturduğu tesir sonucu elde edilen bakteri sayısına kıyasla <10 kat ($1 \log_{10}$) azalmış ya da artmış olması durumuna additif etki denmiştir. Son olarak ise aynı şekilde bakterilerin kombinasyon halindeki antibiyotiklerle 24 saat inkübasyonu sonucunda elde edilen bakteri sayısının, aralarında daha aktif olan antibiyotiğin kombinasyon halindeyken bakteri üzerindeki tesirinin tek başına oluşturduğu tesir sonucu elde edilen bakteri sayısına kıyasla 100 kat ya da daha fazla ($\geq 2 \log_{10}$) artmış olması durumu ise antagonist etki olarak görülmüştür.

Zamana bağlı öldürme deneyi sonuçlarında, delafloksasinin tek başına ve/veya antibiyotiklerle (kolistin, meropenem, seftazidim/avibaktam, tobramisin) kombinasyon

halinde test edilen *P. aeruginosa* suşları üzerinde göstermiş oldukları bakteri sayısındaki ≥ 3 $\log_{10}$'luk azalma NCCLS verilerine göre bakterisidal etki olarak yorumlanmıştır (Özbek 2005).

3.9. İstatiksel Analiz

Zamana bağlı öldürme çalışmalarında kullanılan *P. aeruginosa* suşlarına karşı delafloksasinin tek başına ve/veya çeşitli antibiyotiklerle (kolistin, meropenem, seftazidim/avibaktam, tobramisin) kombinasyon halinde göstermiş olduğu etkiler GraphPad 8.0 istatistiksel analiz programı ile Two-Way ANOVA Bonferroni's multiple comparison testi kullanılarak değerlendirilmiş ve elde edilen veriler $P<0.05$ olacak şekilde istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Minimum İnhibitör Konsantrasyonun (MİK) Saptanmasına Ait Bulgular

4.1.1. Deney Koşullarının Standardizasyonuna Ait Bulgular

Deney koşullarının standardizasyonu için *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşuna karşı delafloksasin, levofloksasin, fosfomisin, tobramisin, meropenem, seftazidim/avibaktam ve kolistine ait MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır (EUCAST 2022). Bu değerler Tablo 4.1'de görüldüğü üzere, delafloksasin için 1 µg/ml, levofloksasin için 4 µg/ml, fosfomisin için 8 µg/ml, tobramisin için 1 µg/ml, meropenem için 1 µg/ml, seftazidim/avibaktam için 4/4 µg/ml ve kolistin için 4 µg/ml olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.1: Antibiyotiklerin *P. aeruginosa* ATCC 27853 Standart Suşuna Karşı Saptanan MİK değerleri

Antibiyotikler	MİK (µg/ml)
Delafloksasin	1
Levofloksasin	4
Fosfomisin	8
Tobramisin	1
Meropenem	1
Seftazidim/Avibaktam	4/4
Kolistin	4

4.1.2. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *P. aeruginosa* Suşlarına Ait Bulgular

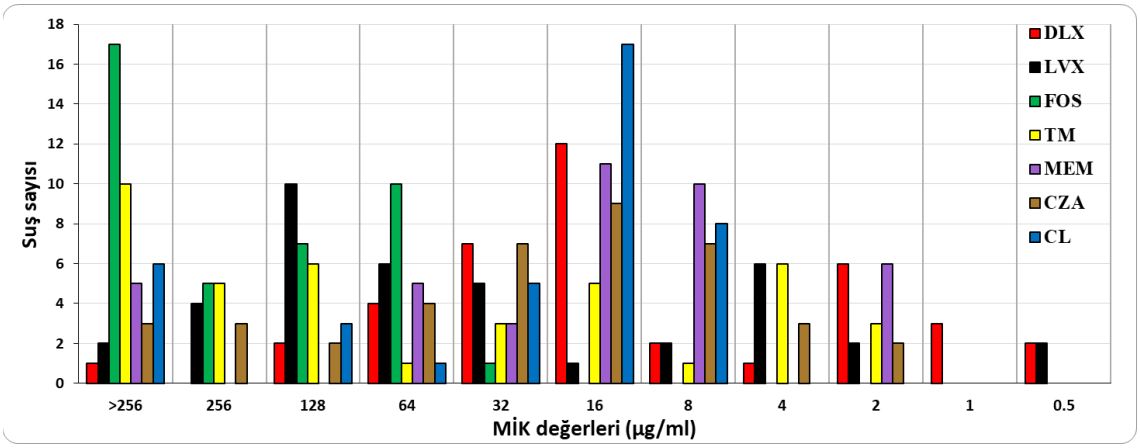
Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 40 adet *P. aeruginosa* suşuna karşı delafloksasin, levofloksasin, fosfomisin, tobramisin, meropenem, seftazidim/avibaktam ve kolistine ait MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir (EUCAST 2022). Elde edilen MİK değerlerinin sınırları Tablo 4.2'de görülebileceği üzere delafloksasin için 0,5->256 µg/ml, levofloksasin için 0,5->256 µg/ml, fosfomisin için 32->256 µg/ml, tobramisin için 2->256 µg/ml, meropenem için 2->256 µg/ml,

seftazidim/avibaktam için 2/4->256/4 µg/ml ve kolistin için 8->256 µg/ml olarak bulunmuştur. Ayrıca suşların %50'sini ($MİK_{50}$) ve %90'ını ($MİK_{90}$) inhibe eden MİK değerleri de Tablo 4.2'de gösterilmiştir. Çalışmamızda kullanılan 40 adet *P. aeruginosa* suşunun tespit edilen MİK değerlerinin dağılımına ait bulgular ise Şekil 4.1'de sunulmuştur.

Zamana-bağlı öldürme deneylerinde MİK sonuçlarına göre farklı duyarlılık profili sergilediği gözlemlenen beş klinik *P. aeruginosa* suşu kullanılmıştır. Bu suşlar, PA1-PA5 olarak numaralandırılmıştır. Zamana-bağlı öldürme deneyleri için seçilen suşlara ait bilgiler ile MİK değerlerini içeren bulgular Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.2: Antibiyotiklerin 40 Adet *P. aeruginosa* Suşuna Karşı Elde Edilen MİK Değerleri (µg/ml)

Antibiyotikler	**MİK(µg/ml)**		
	MİK Aralığı	**$MİK_{50}$**	**$MİK_{90}$**
Delafloksasin	0,5- >256	16	64
Levofloksasin	0,5->256	64	256
Fosfomisin	32->256	256	>256
Tobramisin	2->256	128	>256
Meropenem	2->256	16	>256
Seftazidim/Avibaktam	2/4->256/4	16/4	256/4
Kolistin	8->256	16	>256



Şekil 4.1: 40 Adet *P. aeruginosa* Suşunun Tespit Edilen MİK Değerlerinin Dağılımına Ait Bulgular

DLX: Delafloksasin, LVX: Levofloksasin, FOS: Fosfomisin, TM: Tobramisin, MEM: Meropenem, CZA: Seftazidim/avibaktam, CL: Kolistin.

Tablo 4.3: Zamana-Bağlı Öldürme Deneylerinde Kullanılan Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilmiş Beş Adet *P. aeruginosa* Suşlarına Karşı Saptanan MİK Değerlerine Ait Bulgular

	Suşlar				
	PA-1	**PA-2**	**PA-3**	**PA-4**	**PA-5**
Karbapenemaz	*bla*$_{VIM}$	*bla*$_{OXA-48}$	(-)*	(-)*	(-)*
Örnek türü	Kan	Kateter	İdrar	Kan	Yara
Antibiyotikler	Antimikrobiyal duyarlılık, MİK (µg/ml)				
Delafloksasin	0,5	4	32	1	2
Levofloksasin	0,5 (R)	8 (R)	64 (R)	128 (R)	4 (R)
Fosfomisin	64	>256	256	256	128
Tobramisin	4 (R)	4 (R)	32 (R)	2 (S)	32 (R)
Meropenem	2 (S)	8 (I)	32 (R)	8 (I)	2 (S)
Seftazidim/avibaktam	2/4 (S)	8/4 (S)	32/4 (R)	16/4 (R)	64/4 (R)
Kolistin	8 (R)	8 (R)	16 (R)	32 (R)	16 (R)

*: Bu suşlarda herhangi bir karbapenemaz geni tespit edilememiştir.

S: Duyarlı, I: Orta duyarlı, R: Dirençli

EUCAST kriterleri doğrultusunda antibiyotiklerin *P. aeruginosa* suşlarına karşı MİK duyarlılık sınırları Tablo 4.4'te gösterilmiştir. Delafloksasin ve fosfomisinin *P. aeruginosa* suşlarına karşı duyarlılık sınırı hakkında EUCAST verisi bulunmadığından

dolayı tablonun onlara ayrılmış bölümleri boş bırakılmıştır. Ancak delafloksasinin prospektüsünde 12 saatte bir 300 mg IV delafloksasin uygulamasıyla elde edilen serum konsantrasyonu 9,29 µg/ml olarak belirtilmiştir (Melinda Therapeutics 2017). Bu veriler doğrultusunda çalışmada kullanılan çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 40 adet *P. aeruginosa* suşunun antimikrobiyal direnç profillerinin duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olmak üzere yüzdesel olarak dağılımları ise Tablo 4.5'te verilmiştir. Çalışmamızdan elde edilen bulgulara göre test edilen klinik suşların tamamı kolistine dirençli (%100) bulunmuştur. Kolistin direncini %92,5 gibi bir oranla tobramisin direnci takip etmektedir. 2015 yılında FDA onayı alan bu nedenle diğer test edilen antibiyotiklere nazaran yeni olarak isimlendirebileceğimiz seftazidim/avibaktama karşı ise test edilen suşların %70'i dirençli bulunmuştur. Suşlarda meropenem direnci %60 düzeyindedir. Çalışmamızda yeni bir antibiyotik olan delafloksasinin EUCAST kriterlerine göre duyarlılık sınırları belirtilmediği için test edilen suşlar duyarlılık profili açısından detaylandırılamamıştır. Bununla birlikte, klinikte kullanımı yaygın başka bir florokinolon olan levofloksasin duyarlılık çalışmalarımıza dahil edilmiş ve levofloksasine karşı suşların %90'ı dirençli olarak rapor edilmiştir. Buna ilaveten delafloksasinin çalışmamızda test edilen çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 40 adet *P. aeruginosa* suşuna karşı oluşturduğu $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri levofloksasine göre dört kat daha düşük olduğu görülmüştür (Tablo 4.2).

Tablo 4.4: EUCAST (2022) Kriterlerine Göre Test Edilen Antibiyotiklerin *P. aeruginosa* Suşlarına Karşı Antimikrobiyal Duyarlılık Sınırları

Antibiyotikler	Duyarlılık (µg/ml)		
	Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli
Delafloksasin	-*	-	-
Levofloksasin	≤ 0,001	0,002-1	> 2
Fosfomisin	-	-	-
Tobramisin	≤ 2	-	> 2
Meropenem	≤ 2	4-8	> 8
Seftazidim/Avibaktam	≤ 8/4	-	> 8/4
Kolistin	≤ 4	-	> 4

*: EUCAST kılavuzunda duyarlılık aralığı bulunmamaktadır.

Tablo 4.5: Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen 40 adet *P. aeruginosa* suşunun antibiyotik duyarlılık yüzdeleri (%)

Antibiyotikler	% Duyarlılık		
	Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli
Delafloksasin	-*	-	-
Levofloksasin	-	10	90
Fosfomisin	-	-	-
Tobramisin	7,5	-	92,5
Meropenem	15	25	60
Seftazidim/Avibaktam	30	-	70
Kolistin	-	-	100

*: EUCAST kılavuzunda duyarlılık aralığı bulunmamaktadır.

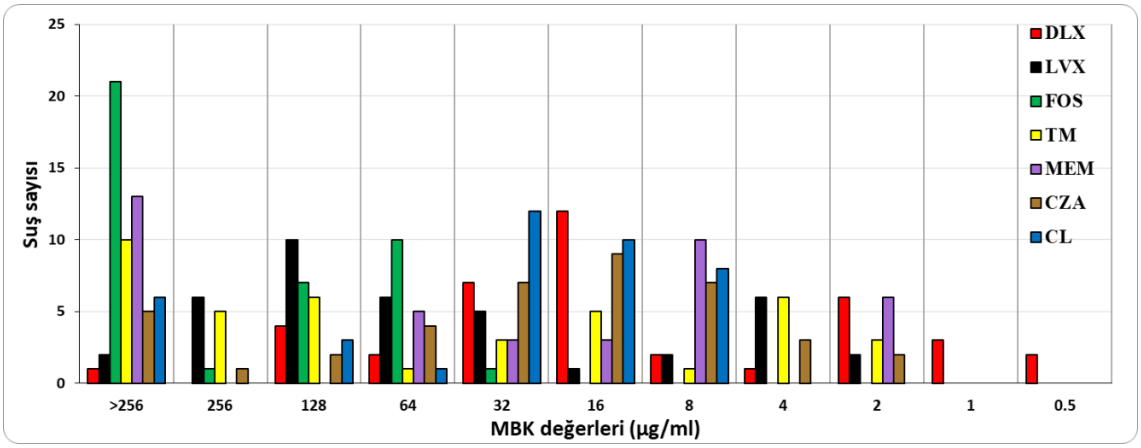
4.2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) Değerlerine Ait Bulgular

Çalışmada kullanılan çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 40 adet *P. aeruginosa* suşuna karşı delafloksasin, levofloksasin, fosfomisin, tobramisin, meropenem, seftazidim/avibaktam ve kolistinin mikrodilüsyon yöntemiyle elde edilen bakterisidal konsantrasyon değerleri ile çalışılan suşların %50'si ile %90'ı üzerinde –sidal aktivite gösteren konsantrasyonları içeren bulgular Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Çalışmamızdan elde edilen bulgulara göre, 40 adet *P. aeruginosa* suşlarına karşı delafloksasin için MBK aralığı 0,5->256 µg/ml; levofloksasin için 1->256 µg/ml; fosfomisin için 32->256 µg/ml; tobramisin için 2->256 µg/ml; meropenem için 2->256 µg/ml; seftazidim/avibaktam için 2/4->256/4 µg/ml; kolistin için 8->256 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan 40 adet *P. aeruginosa* suşunun tespit edilen MBK değerlerinin dağılımına ait bulgular ise Şekil 4.2'de sunulmuştur.

Çalışmamızda EUCAST'ın önerileri doğrultusunda standart olarak kullanılan *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşuna karşı MBK değerleri ise antibiyotiklerin tespit edilen MİK değerlerine eşit olarak bulunmuştur.

Tablo 4.6: Antibiyotiklerin Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen 40 Adet *P. aeruginosa* Suşuna Karşı Elde Edilen MBK Değerleri

Antibiyotikler	MBK(µg/ml)		
	MBK Aralığı	MBK_{50}	MBK_{90}
Delafloksasin	0,5->256	16	128
Levofloksasin	1->256	64	256
Fosfomisin	32->256	>256	>256
Tobramisin	2->256	128	>256
Meropenem	2->256	32	>256
Seftazidim/Avibaktam	2/4->256/4	16/4	>256/4
Kolistin	8->256	32	>256



Şekil 4.2: 40 Adet *P. aeruginosa* Suşunun Tespit Edilen MBK Değerlerinin Dağılımına Ait Bulgular

4.3. Antibiyotiklerin Zamana-Bağlı Öldürme Eğrilerine Ait Bulgular

4.3.1. Standart Suşa Ait Bulgular

P.aeruginosa ATCC 27853 standart suşuna karşı 1xMİK konsantrasyonundaki koşullarda tobramisin ve kolistinin tek başlarına 24. saatte bakteri sayısında > 3 log_{10} kob/ml azalma sağlayarak bakterisidal etkili oldukları tespit edilmiştir. 1xMİK kontsantrasyonunda delafloksasin+meropenem kombinasyonu ise bakteri sayısında 2 log_{10} kob/ml'den fazla azalma sağlayarak sinerjist etkili olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda 4xMİK konsantrasyonunun denendiği koşullarda ise tobramisin, meropenem ve kolistinin *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşuna karşı 24. saatte bakterisidal etki gösterdikleri görülmüştür. Delafloksasinin test edilen antibiyotiklerle 4xMİK konsantrasyonunda denendiği tüm koşullarda ise kombinasyonların additif etkili oldukları belirlenmiştir. *P. aeruginosa* suşuna karşı zamana bağlı ölüm deneylerinden elde edilen bulgular Şekil 4.3'te sunulmuştur. Çalışmamızda antagonist etki gözlenmemiştir.

4.3.2. Klinik Suşlara Ait Bulgular

MİK deneyleri sonucunda elde edilen bulgular neticesinde farklı duyarlılık profiline sahip oldukları tespit edilen, çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş beş adet *P. aeruginosa* suşu çalışmada kullanılmıştır (PA1-PA5). Seçilen suşlarına karşı delafloksasinin, tobramisin, meropenem, seftazidim/avibaktam ve kolistin ile kombinasyon halinde etkileri ile antibiyotiklerin tek başlarına göstermiş oldukları etkiler zamana-bağlı öldürme yöntemi ile araştırılmıştır. Zamana-bağlı ölüm deneyleri için seçilen bu beş suştan PA-1 bla_{VIM}, PA-2 ise $bla_{\text{OXA-48}}$ karbapenemaz geni taşıdığı bilinen izolatlardır. Test edilen antibiyotiklerin 1xMİK ve 4xMİK'te tek başına ve kombinasyon halinde etkileri seçilen suşlara karşı araştırılmıştır (PA1-PA5). PA-1 suşu için antibiyotiklerin 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonuna ait elde edilen bulgular sırasıyla Şekil 4.4'te; PA-2 için antibiyotiklerin 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonuna ait elde edilen bulgular sırasıyla Şekil 4.5'te; PA-3 için antibiyotiklerin 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonuna ait elde edilen bulgular sırasıyla Şekil 4.6'da; PA-4 için antibiyotiklerin 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonuna ait elde edilen bulgular sırasıyla Şekil 4.7'de ve PA-5 için ise antibiyotiklerin 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonuna ait elde edilen bulgular sırasıyla Şekil 4.8'de gösterilmiştir.

Çalışmamızda 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonlarının denendiği koşullarda karbapenemaz geni taşıyan PA-1 ve PA-2 suşlarında antibiyotiklerin tek başına kullanıldığı koşullarda sadece kolistinin bakteri sayısında > 3 $\log_{10}$ kob/ml azalma sağlayarak bakterisidal etkili olduğu tespit edilirken, herhangi bir karbapenemaz geni taşıdığı tespit edilmeyen suşlarda (PA-3, PA-4 ve PA-5) seftazidim/avibaktam dışında test edilen tüm antibiyotiklerin tek başlarına bakterisidal etkili oldukları görülmüştür. Antibiyotiklerin tek başlarına göstermiş oldukları bu bakterisidal etkiler Şekil 4.4- 4.8'de sunulmuştur.

Çalışmamızda test edilen tobramisin, meropenem, seftazidim/avibaktam ve kolistin, yeni bir antibiyotik olan delafloksasin ile kombinasyon halinde de çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş *P. aeruginosa* suşları üzerinde denenmiştir. 5 adet *P. aeruginosa* suşuna karşı denenen antibiyotik kombinasyonlarının test edilen koşullarda oluşturdukları sinerjist ve/veya additif etkilere ait bulgular Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Zamana-bağlı öldürme deneyleri için test edilen suşlara karşı çalışılan antibiyotiklerin 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonlarında oluşturdukları ortalama logaritmik değerlere ait bulgular ise sırasıyla Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da gösterilmiştir.

Antibiyotik kombinasyonu çalışmalarından elde edilen bulgulara göre, *bla*$_{VIM}$ geni taşıdığı bilinen PA-1 suşu için 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonlarının denendiği koşullarda delafloksasin ile test edilen antibiyotiklerin additif etkili oldukları gösterilmiştir. Bununla birlikte delafloksasinin 1xMİK konsantrasyonunda kolistin ile kombinasyonunun 6. saatte sinerjist etkili olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.4).

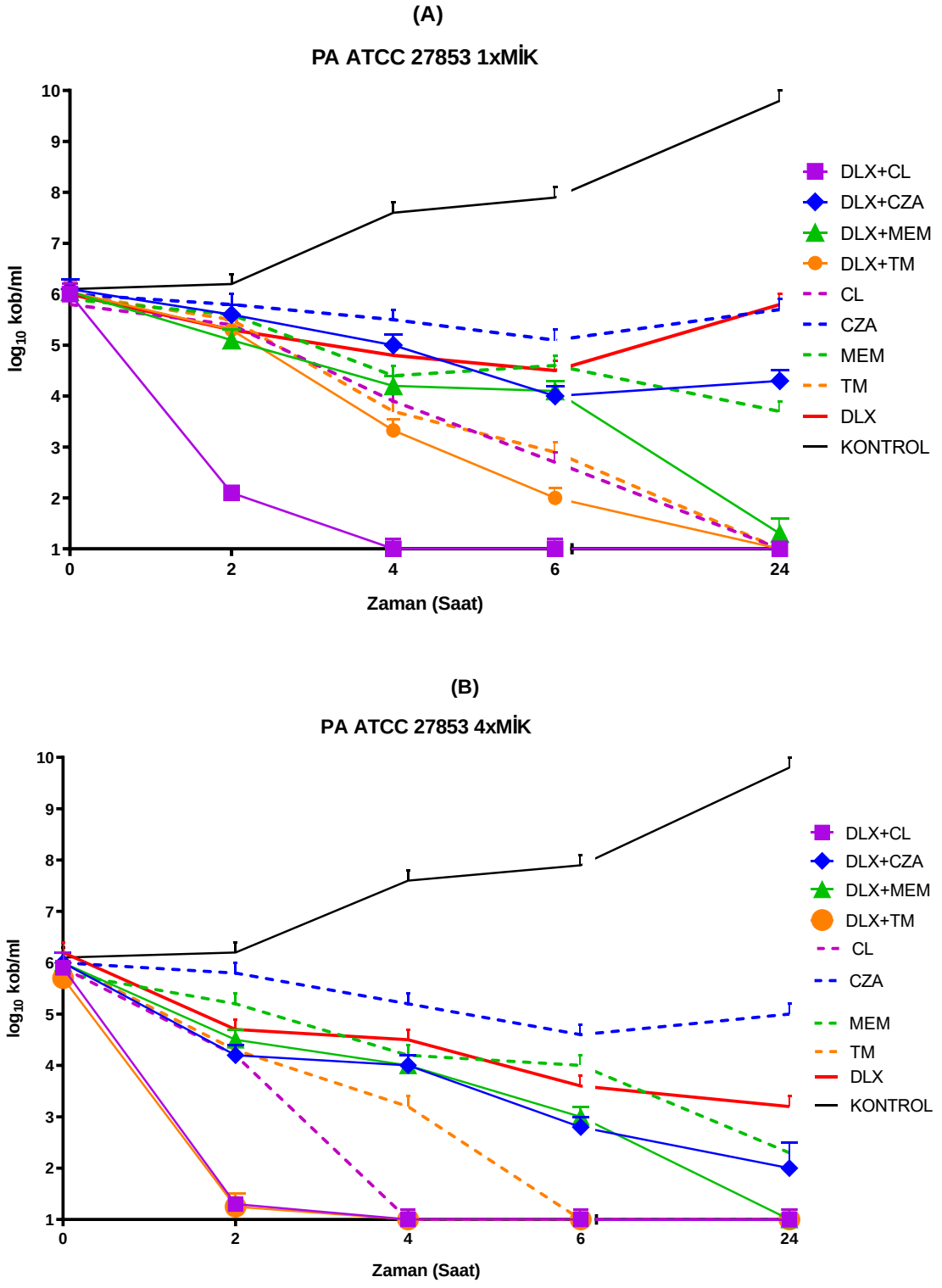
Çalışmamızda *bla*$_{OXA-48}$ karbapenemaz geni taşıdığı bilinen PA-2 suşu için 1xMİK konsantrasyonunun denendiği koşullarda delafloksasin+tobramisin ve delafloksasin+seftazidim/avibaktam kombinasyonlarının 24. saatte sinerjist etkili oldukları tespit edilmiştir. 4xMİK konsantrasyonunun test edildiği koşullarda ise delafloksasin+meropenem ve delafloksasin+seftazidim/avibaktam kombinasyonları 24. saatte sinerjist etkili bulunmuştur.

Çalışmamızda PA-3 suşu için delafloksasinin tobramisin, meropenem, seftazidim/avibaktam ve kolistin ile kombinasyon halinde test edildiği 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonlarında additif etkili olduğu görülmüştür (Şekil 4.6).

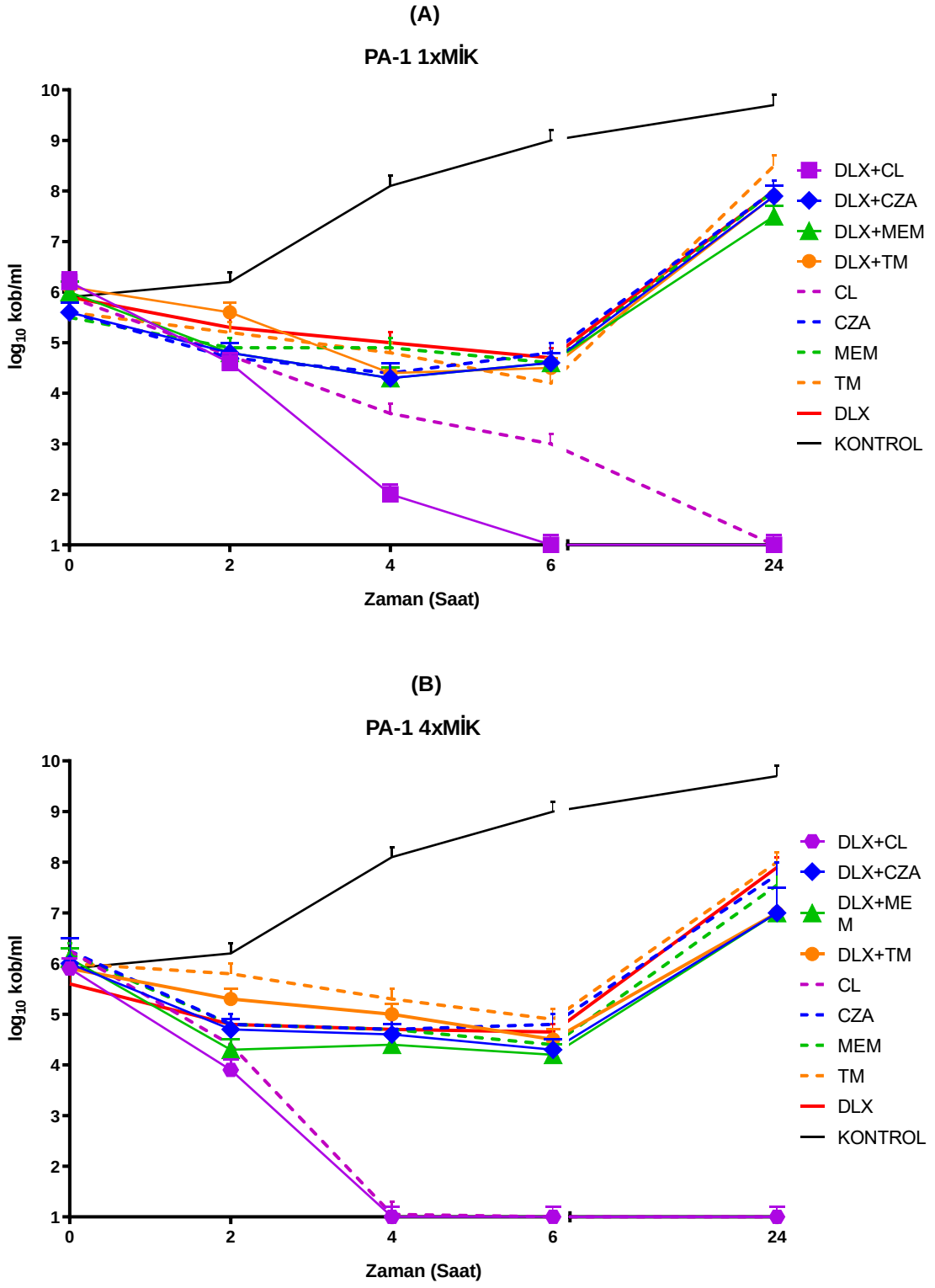
Çalışmamızda test edilen delafloksasin+tobramisin ve delafloksasin+seftazidim/avibaktam kombinasyonlarının PA-4 suşu için 1xMİK konsantrasyonlarında sinerjist etkili oldukları görülmüştür. Delafloksasinin çalışmamızda kullanılan antibiyotiklerle kombinasyon halinde test edildiği 4xMİK konsantrasyonlarında ise PA-4 suşu için additif etkili oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.7).

Çalışmamızda PA-5 suşu için delafloksasinin test edilen antibiyotikler ile kombinasyon halinde 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonlarında additif etkili olduğu görülmüştür (Şekil 4.8).

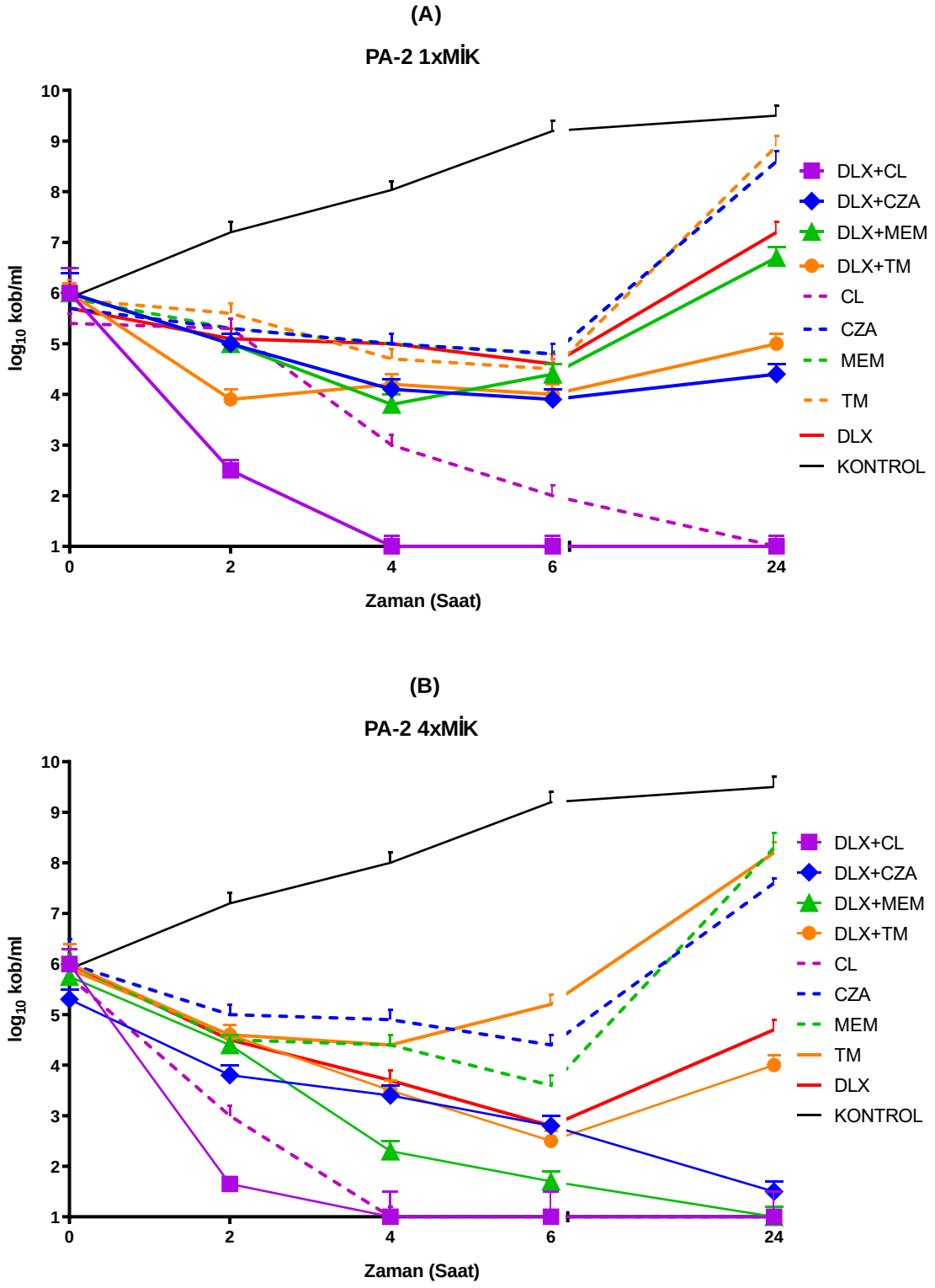
Çalışmamızda delafloksasin ile tobramisin, meropenem, seftazidim/avibaktam ve kolistinin kombinasyon halinde test edildiği tüm koşullarda antagonist etki gözlenmemiştir.



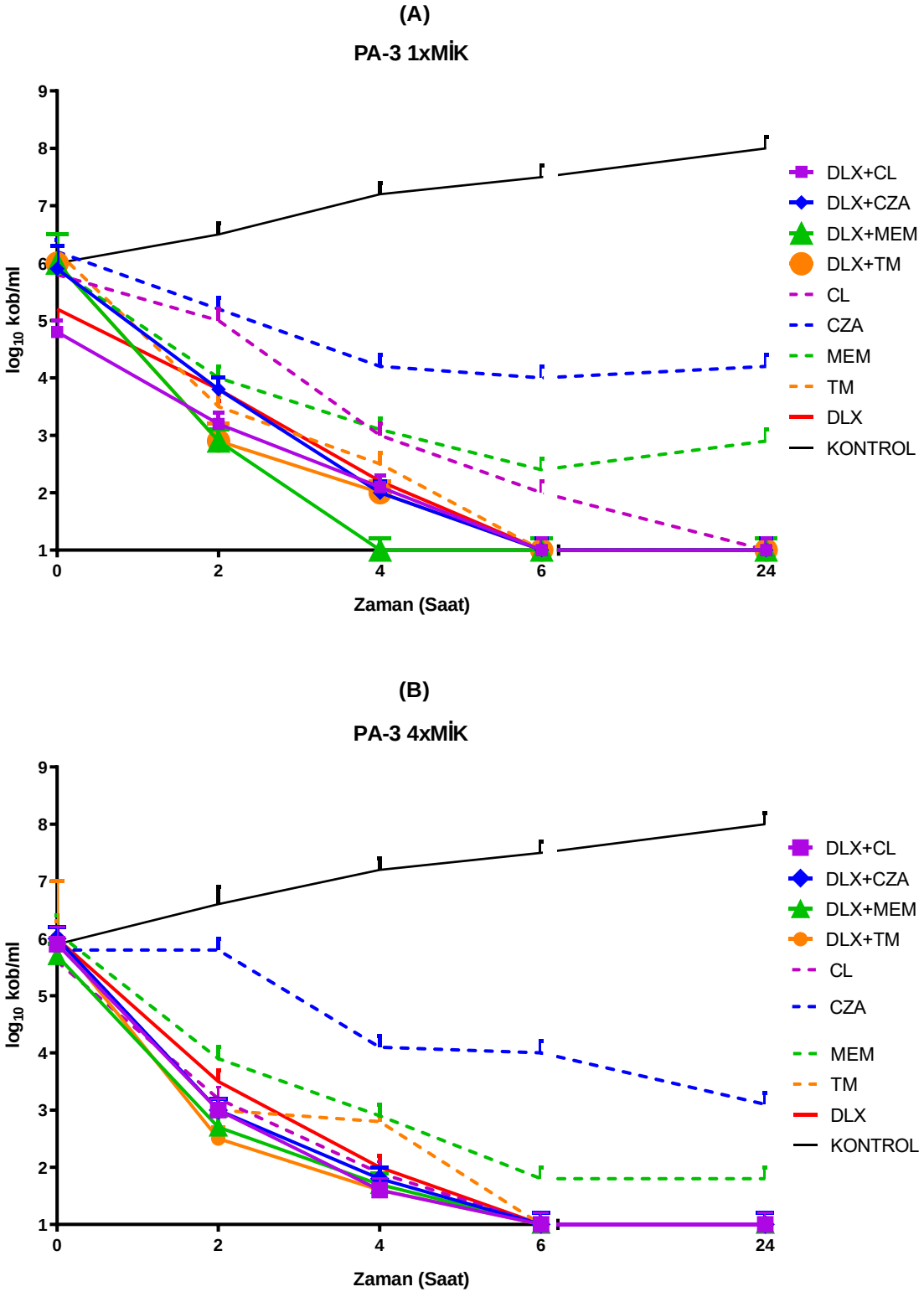
Şekil 4.3: Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde 1xMİK (A) Ve 4xMİK (B) Konsantrasyonlarında *P. aeruginosa* ATCC 27853 Suşuna Karşı Elde Edilen Zamana Bağlı Öldürme Eğrileri



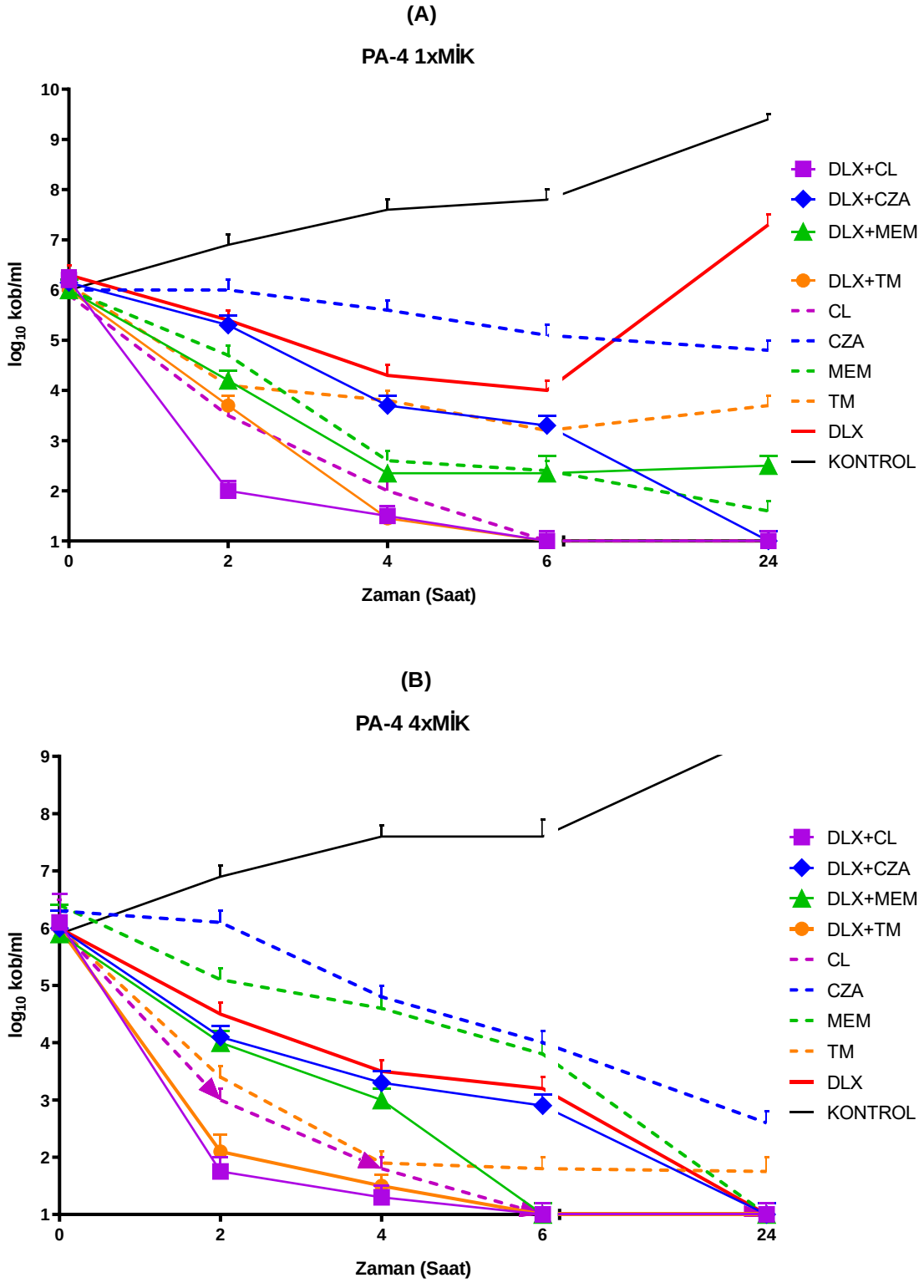
Şekil 4.4: Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde 1xMİK (A) Ve 4xMİK (B) Konsantrasyonlarında PA-1 Suşuna Karşı Elde Edilen Zamana Bağlı Öldürme Eğrileri



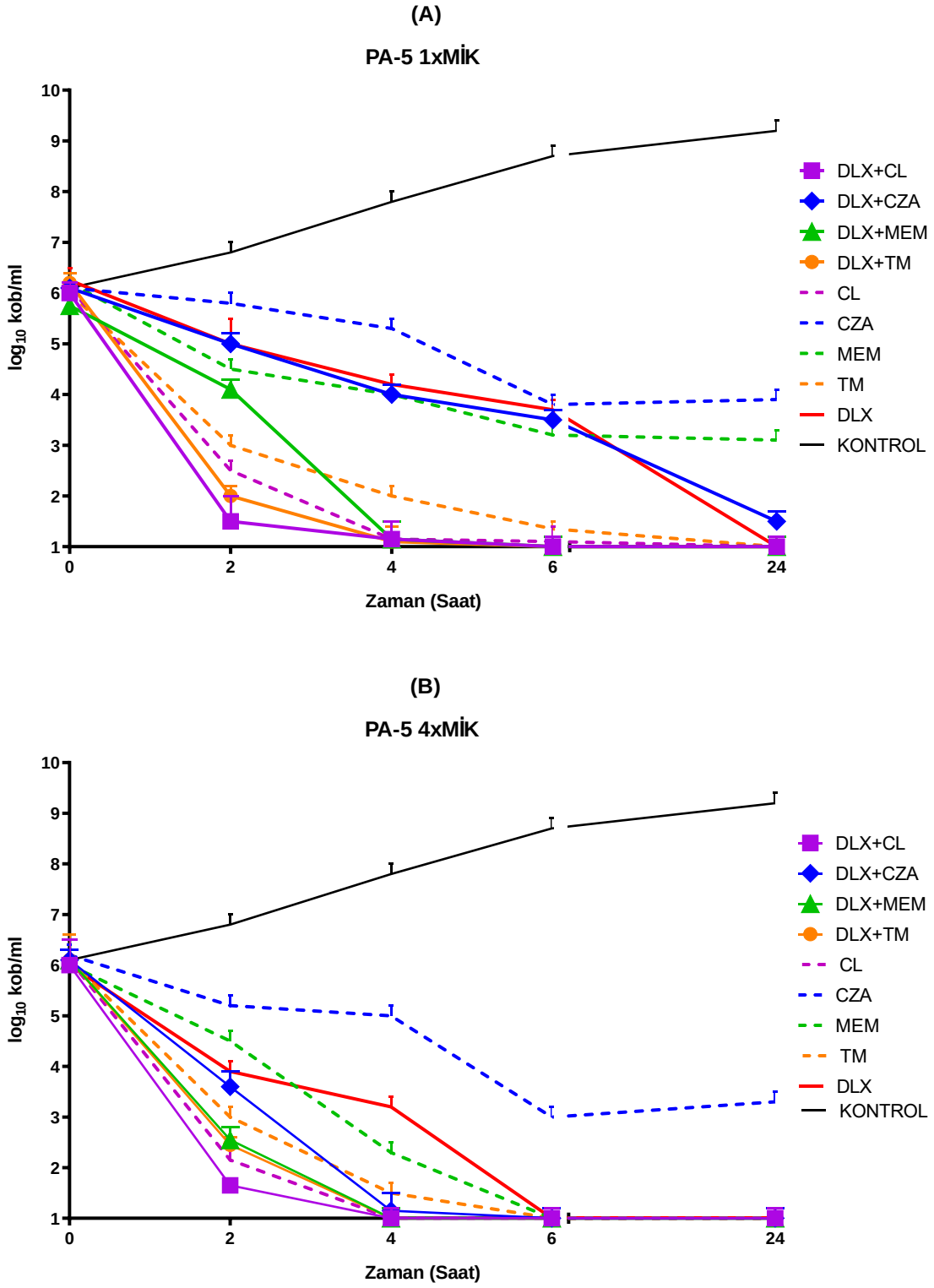
Şekil 4.5: Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde 1xMİK (A) Ve 4xMİK (B) Konsantrasyonlarında PA-2 Suşuna Karşı Elde Edilen Zamana Bağlı Öldürme Eğrileri



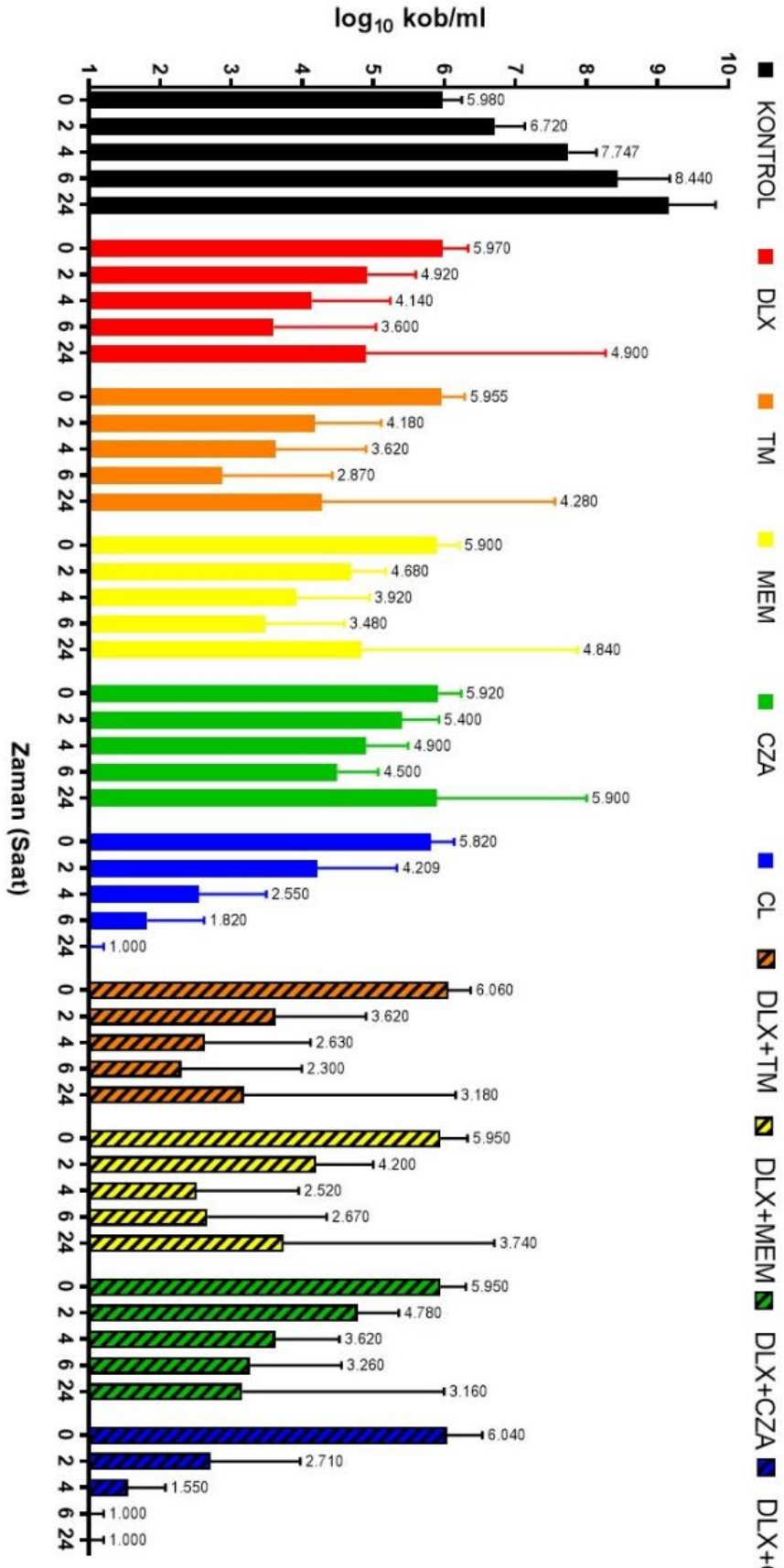
Şekil 4.6: Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde 1xMİK (A) Ve 4xMİK (B) Konsantrasyonlarında PA-3 Suşuna Karşı Elde Edilen Zamana Bağlı Öldürme Eğrileri



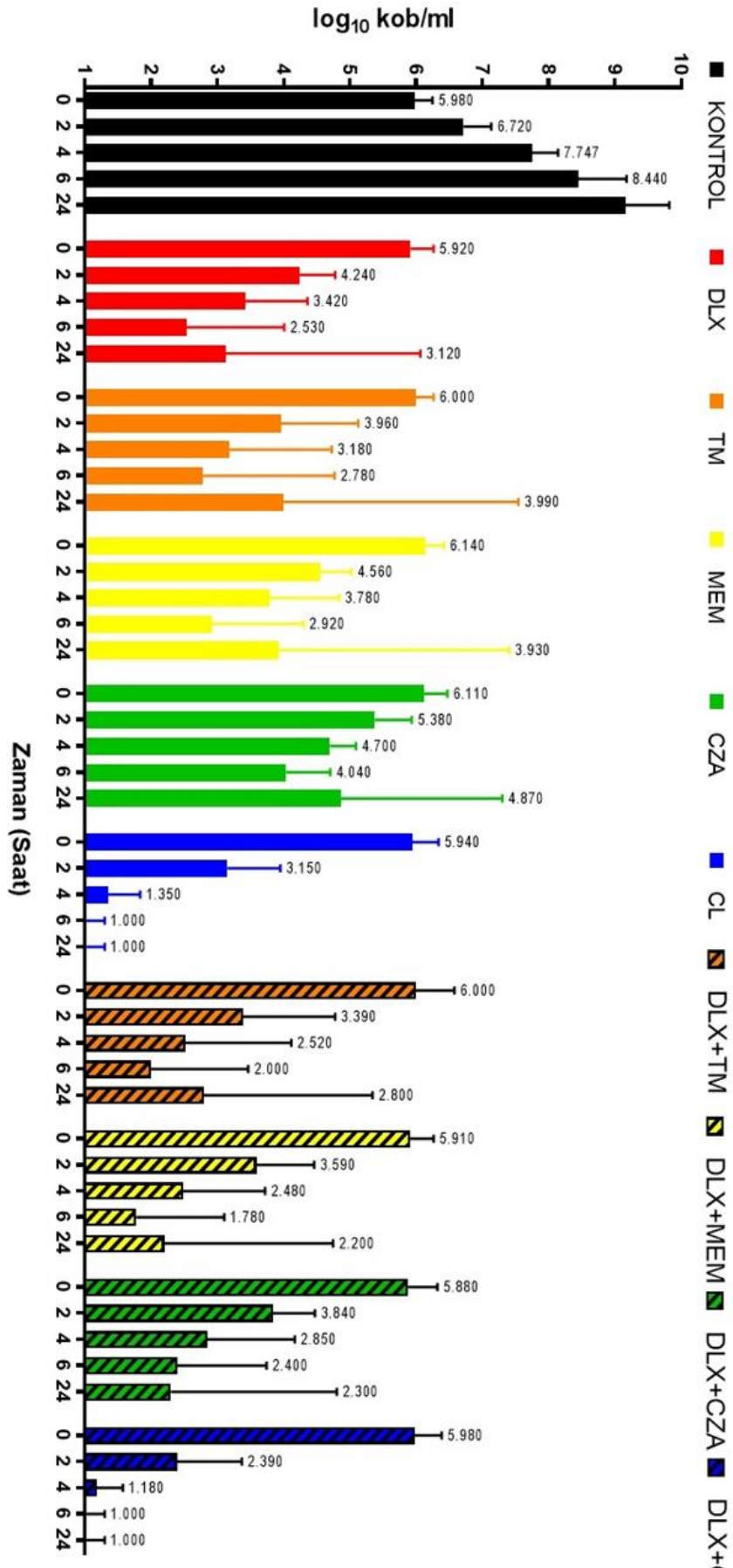
Şekil 4.7: Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde 1xMİK (A) Ve 4xMİK (B) Konsantrasyonlarında PA-4 Suşuna Karşı Elde Edilen Zamana Bağlı Öldürme Eğrileri



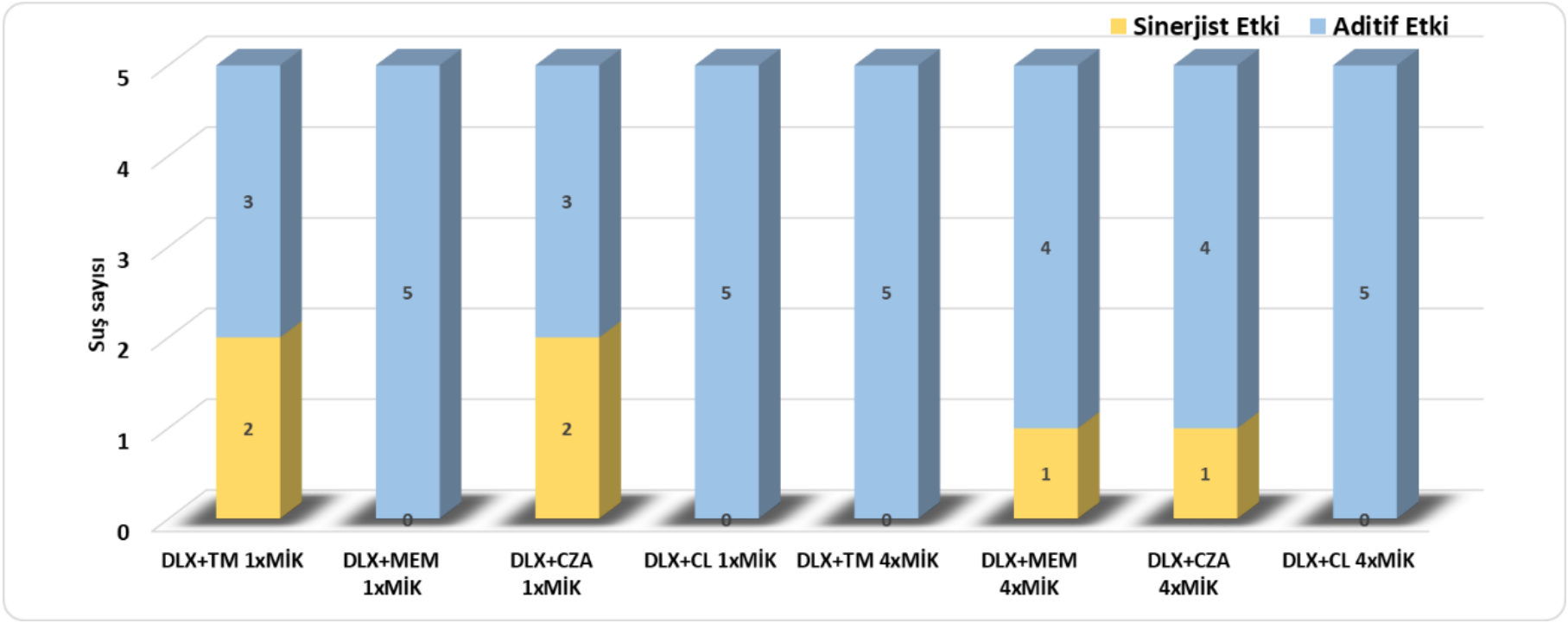
Şekil 4.8: Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde 1xMİK (A) Ve 4xMİK (B) Konsantrasyonlarında PA-5 Suşuna Karşı Elde Edilen Zamana Bağlı Öldürme Eğrileri



Şekil 4.9: 1xMİK Konsantrasyonunda Test Edilen Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde Oluşturdukları Antibakteriyel Etkilerin 5 Adet *P. aeruginosa* Suşu (PA1- PA5) İçin Ortalama Logaritmik Değerlerine Ait Bulgular



Şekil 4.10: 4xMİK Konsantrasyonunda Test Edilen Antibiyotiklerin Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halinde Oluşturdukları Antibakteriyel Etkilerin 5 Adet *P. aeruginosa* Suşu (PA1- PA5) İçin Ortalama Logaritmik Değerlerine Ait Bulgular



Şekil 4.11: 5 Adet *P. aeruginosa* Suşuna (PA1-PA5) Karşı Denenen Antibiyotik Kombinasyonlarının Oluşturduğu Sinerjist/Additif Etkilere Ait Bulgular

DLX: Delafloksasin, TM: Tobramisin, MEM: Meropenem, CZA: Seftazidim/avibaktam,CL: Kolistin.

5. TARTIŞMA

Antibiyotik dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar günümüzde toplum sağlığını ciddi tehdit eder boyutta görülmeye başlamıştır. Bu mikroorganizmaların tedavilerinde yaşanan zorluklar yüksek morbidite ve mortaliteyle sonuçlanmaktadır (Akova ve ark. 2012). Özellikle, 3 veya daha fazla sınıf antibiyotiğe direnç gösteren "Çoklu ilaç dirençli" (ÇİD) veya 1 veya 2 sınıf antibiyotik hariç tüm antibiyotiklere direnç şeklinde tanımlanan "Yaygın ilaç dirençli" [extensively drug resistant-(XDR)] suşların gelişimi ile birlikte günümüzde artık tüm antibiyotiklere dirençli "Tam dirençli" (Pan-Rezistan) mikroorganizmaların varlığı büyük bir endişeye neden olmaktadır (Kaye ve ark. 2015). ABD'de her yıl yaklaşık 2 milyon hastada bakteriyel enfeksiyonun geliştiği bildirilmekle birlikte bu enfeksiyonlarla ilişkili olarak gelişen antibiyotik direnci yüzünden 23000'den fazla kişinin hayatını kaybettiği rapor edilmektedir (Pontikis 2014). Bu ölümlerin çoğunluğu da Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üreten Enterobacteriaceae, karbapenem dirençli Enterobacteriaceae, ÇİD *Acinetobacter baumannii* ve *P. aeruginosa* gibi Gram negatif mikroorganizmaların neden olduğu intraabdominal enfeksiyonlar, idrar yolu enfeksiyonları, ventilatör ilişkili pnömoni ve bakteriyemi gibi çeşitli enfeksiyonlarla ilişkili olarak meydana gelmektedir.

ÇİD *P. aeruginosa* varlığı son yıllarda giderek artarak özellikle doğu Avrupa ülkelerinde %30'lara ulaşmıştır. Bunun yanı sıra bu izolatların bir bölümünü "tam dirençli" suşlar oluşturmaktadır. Oliver ve ark. tarafından 2015 yılında yapılan bir çalışmada kan dolaşımı enfeksiyon etkeni *P. aeruginosa*'ların %15'inin "tam dirençli" suşlar olduğu görülmüştür (Oliver 2015). ABD Hastalık Koruma ve Kontrol Merkezi'nin (CDC-Centers for Diseases Control and Prevention) yapmış olduğu bir araştırmada, 2017 yılında hastanede yatan hastalarda 32600 ÇİD *P. aeruginosa* vakası bildirilmiş ve bu enfeksiyonların 2700 ölüm ile 767 milyon dolarlık bir sağlık maliyetine neden olduğu rapor edilmiştir (CDC 2019).

ÇİD/tam dirençli *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının uygun olmayan ampirik antibiyotik tedavisi, artan mortalite, hastanede yatış süresinin uzunluğu ve hastane maliyetlerinin artmasıyla sonuçlanmaktadır. Bu enfeksiyonların tedavisi için antibiyotik kombinasyonları sıklıkla kullanılmaktadır, ancak kombinasyon tedavisinin monoterapiye göre değeri tartışmalıdır. Dahası, amikasin ve kolistin gibi ilaçlar, ÇİD/tam dirençli *P.*

aeruginosa'ya karşı en etkili antipseudomonal antibiyotikler arasındadır, ancak her ikisi de ciddi yan etkiler ve toksisiteye neden olmaktadır (Magill, Edwards, Bamberg ve ark. 2014; Ruiz-Garbajosa ve Canton 2017).

P.aeruginosa'da yüksek orandaki direnç oranları nedeniyle ampirik tedavide her kurum kendi verilerini dikkate alarak tedaviyi düzenlemelidir. Genel olarak bir antipseudomonal beta-laktam [(piperasilintazobaktam, seftazidim, sefepim, sefoperazon-sulbaktam, karbapenemler (imipenem/meropenem) ile aminoglikozitler (tobramisin, amikasin) veya kinolon (siprofloksasin)] kombine edilir. Seftazidim veya karbapenem ile aminoglikozit kombinasyonu ve imipenem+siprofloksasin kombinasyonu *P.aeruginosa* için sinerjistik etkili bulunmuştur (McGowan 2006; Gülay 2005). Ciddi *P.aeruginosa* enfeksiyonları tedavisinde temel esaslar şunlardır: Tedavi erken dönemde başlatılmalıdır, çünkü tedavide gecikme mortaliteyi artırır; kateterler vb. yabancı cimler çıkarılmalı; varsa apse boşaltılmalı/direne edilmeli, tıkanmalar giderilmelidir. Bazı yüksek riskli ve ciddi enfeksiyonlarda kombine tedavi uygulanmalıdır (Kanj ve Sexton 2019). Kombine tedavi uygulamanın asıl amacı *P.aeruginosa*'da çok ilaca yüksek direnç oranları nedeniyle kullanılacak antibiyotiklerden birine karşı direnç ihtimali bulunmasıdır. Günümüzde, ÇİD/tam dirençli *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına karşı etkili olan, alternatif bir tedavi seçeneği olarak öngörülen yeni antibiyotikler keşfedilmiştir.

2017 yılında Akut Bakteriyel Cilt Enfeksiyonları'nın tedavisi için FDA onayı alarak klinik kullanıma giren florokinolon grubu antipseudomonal, geniş spektrumlu yeni bir antibiyotik olan delafloksasin, 24 Ocak 2019 tarihinde ise Toplum Kökenli Pnömoni'nin tedavisi için onay almıştır (Gomez-Zorrilla ve ark. 2022). Delafloksasini mevcut florokinolon ajanlardan ayıran en büyük özelliği C7 pozisyonunda güçlü bir baza sahip olmaması nedeniyle anyonik karakter kazanması ve böylelikle asidik ortamlarda birikerek daha güçlü antibakteriyel etkinlik gösterebilmesidir. Bunun yanı sıra, C8 pozisyonundaki klor atomunun aromatik halka üzerinde elektron çekme etkisinin oluşu ve N1 konumunda, bir heteroaromatik varlığı, diğer florokinolonlara kıyasla moleküler yüzeyi arttırmasını sağlar. Kimyasal yapısındaki bu üç önemli değişiklik sayesinde kazandığı asidik anyonik bir molekül olma özelliği, delafloksasinin reaktif oksijen türlerinden (ROS) zengin bir mikroçevreye yönelimini sağlar ve bu bölgelerde enfekte dokularda yüksek düzeyde penatüre olabilir. Artan penatürasyon yeteneği biyofilm-

ilişkili enfeksiyonlar için önemlidir ve asidik ortamlara karşı artan aktivitesi delafloksasini özellikle Kistik Fibrozis gibi özel klinik durumlar için öne çıkarmaktadır (Garcia-Bustos ve ark 2022).

Mevcut kinolon ajanlara göre hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı artan duyarlılık aktivitesi rapor edilen (Ocheretyaner ve Park 2018; Millar ve ark. 2021; Nascimento-Carvalho 2021) delafloksasinin hali hazırda tek başına ve çeşitli antibiyotiklerle kombinasyon halinde etkisini inceleyen çalışmalar bulunmamaktadır. Bu amaçla çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarına karşı delafloksasinin tek başına ve klinikte sıklıkla kullanılan antibiyotiklerle kombinasyon halindeki etkilerinin in vitro incelenmesi planlanmıştır.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 40 adet *P. aeruginosa* suşuna karşı delafloksasin, levofloksasin, fosfomisin, tobramisin, meropenem, seftazidim/avibaktam ve kolistinin antimikrobiyal duyarlılıkları sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile incelenmiştir. Çalışmamızda test edilen suşların 8'i bla_{OXA-48}, 1', bla_{IMP}, 2'si bla_{VIM} ve 5'inde ise çeşitli oksasilinaz genleri ile (bla_{OXA-23}, bla_{OXA-51} vb.) bla_{KPC} ve/veya bla_{NDM} genleri barındırmaktadır.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgulara göre, test edilen suşların %90'ı levofloksasine dirençli olarak bulunmuştur. Delafloksasin için hem EUCAST (EUCAST 2022) hem de Clinical&Laboratory Standards Instute (CLSI) (CLSI 2022) kılavuzlarında bir duyarlılık sınırı tanımlı olmadığından, çalışmamızda delafloksasinin antimikrobiyal etkinliği levofloksasin ile kıyaslanarak değerlendirilmiştir. Delafloksasinin çalışmamızda test edilen suşlara karşı $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 16 µg/ml ve 64 µg/ml olarak saptanırken bu değerler levofloksasin için sırasıyla 64 µg/ml ve 256 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz bulgular delafloksasinin levofloksasine göre 4 kat artmış duyarlılık profili sergilediğini göstermektedir. Pfaller ve ark.'nın yapmış oldukları bir çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş kolistine duyarlı 200 adet *P. aeruginosa* suşuna karşı delafloksasin ile levofloksasinin $MİK_{50}$ değerleri sırasıyla 0,25 µg/ml ve 0,5 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Pfaller ve ark. 2017). Millar ve ark.'nın 2020 yılında yapmış oldukları bir çalışmada 52 adet *P. aeruginosa* suşuna karşı delafloksasin ve siprofloksasinin $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 0,56 mg/L and 2,19 mg/L ve 1,69 mg/L and 8,0 mg/L olarak tespit edilmiştir (Millar ve ark. 2021). Elde ettiğimiz bulgular diğer araştırmacıların bulguları ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda test edilen tüm suşlar kolistin dirençli olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte çalışmamızda test edilen suşlara karşı tobramisin, meropenem ve seftazidim/avibaktam duyarlılıkları sırasıyla %7,5, %40 ve %30 olarak rapor edilmiştir. Çalışmamızda test edilen suşlarda fosfomisin için MİK aralığı 32- >256 µg/ml olarak bulunmuştur. Mataracı-Kara ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 40 adet ÇİD *P. aeruginosa* izolatında tobramisin ve seftazidim/avibaktam duyarlılıkları sırasıyla %40 ve %52,5 olarak rapor edilmiştir. Aynı çalışmada test edilen izolatların %33'ü kolistine orta duyarlıdır (Mataraci Kara ve ark. 2020). Çalışmamızda antibiyotiklerin bakterisidal aktivite gösterdikleri konsantrasyonların tespiti için elde edilen MBK değerleri MİK'e eşit ya da MİK değerinin iki katı olacak şekilde gözlenmiştir.

Çalışmamızın ikinci aşamasında göstermiş oldukları farklı duyarlılık paternlerine göre seçilen 5 adet klinik suş zamana bağlı öldürme yöntemi kullanılarak delafloksasinin tek başına ve çeşitli antibiyotiklerle kombinasyon halindeki etkisinin değerlendirilmesi için seçilmiştir. Çalışmamızda levofloksasin, delafloksasin duyarlılığını kıyaslayabilmek için yer aldığından zamana bağlı öldürme çalışmalarında yer almamıştır. Test edilen suşların göstermiş olduğu yüksek MİK düzeyleri nedeniyle fosfomisin de zamana bağlı öldürme çalışmalarına dahil edilememiştir.

Delafloksasinin tek başına bakterisidal etkinliğinin değerlendirildiği zamana bağlı öldürme deneylerinde bla_{OXA-48} ve bla_{VIM} karbapenemaz geni taşıyan 2 izolat (PA-1 ve PA-2) üzerinde bakterisidal aktivite gösteremediği tespit edilmiştir. Bununla birlikte herhangi bir karbapenamaz geni tespit edilemeyen ve çalışmada kullanılan 3 adet *P. aeruginosa* suşuna karşı delafloksasinin tek başına test edildiği koşullarda 1xMİK konsantrasyonunda 2/3 izolat için; 4xMİK konsantrasyonunda ise 3/3 izolat üzerinde 24 saatte bakteri sayısında >3 $\log_{10}$ kob/ml sağlayarak bakterisidal etkili olduğu tespit edilmiştir.

Florokinolon sınıfı antibiyotikler günümüzde sağlık hizmetleriyle ilişkili enfeksiyonlarda ve toplumdan edinilmiş enfeksiyonlarda standart ampirik tedavi olarak kullanılmaktadır. Özellikle idrar yolu enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları, akut bakteriyel deri enfeksiyonları ve karın içi enfeksiyonların (Hooper 2000; Falagas ve ark. 2007; Dryden 2010; Van Bambeke 2014; Bassetti ve ark. 2015) tedavisi için endikedirler. Amerika Birleşik Devletleri'nde akut bakım hastanelerinde antimikrobiyal kullanımına ilişkin gerçekleştirilen bir nokta prevalans çalışmasında, levofloksasinin hem toplum

kaynaklı enfeksiyonlar hem de sağlık hizmeti kaynaklı enfeksiyonların tedavisi için reçete edilen en yaygın üçüncü antimikrobiyal ajan olduğu tespit edilmiştir (Magill, Edwards, Beldavs ve ark. 2014). Bu kadar geniş kullanım karşısında florokinolon direncinin yaygınlığı hem Gram-pozitif koklarda hem de Gram-negatif basillerde gözlenmektedir (Pfaller ve ark. 2017). Bu nedenle kombinasyon tedavileri özellikle ÇİD Gram negatif mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar için önem arz etmektedir.

ÇİD Gram negatif bakterilere karşı kolistin monoterapisi in vitro koşullarda hızlı ve güçlü bir öldürme etkisi gösterse de direncin ortaya çıkması ve tekrar üremenin görülebilmesi endişe vericidir (Bergen ve ark. 2010; Johansen ve ark. 2008). Bunun yanı sıra hastalarda neden olduğu nefrotoksisiste nedeniyle kolistin monoterapisinde bakteriyel ölümü arttırmak ve direnç gelişimini önleyebilmek için dozun arttırılması uygun bir seçenek değildir. Kolistin kombinasyon tedavileri bir seçenek olsa da, bu tür kombinasyonların nasıl optimize edileceğine dair bilgide önemli boşluklar vardır. Bu nedenle çalışmamızda delafloksasin ve kolistinin tek basına ve kombinasyon halindeki etkileri 5 adet çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş *P. aeruginosa* suşu üzerinde denenmiştir. Kolistinin tek başına 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonda denendiği tüm koşullarda test edilen tüm suşlar üzerinde bakteri sayısında >3 $\log_{10}$ kob/ml azalma sağlayarak bakterisidal etkili olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte delafloksasin+kolistin kombinasyonu 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonlarında test edilen suşlar üzerinde additif etkili olarak rapor edilmiştir. Baek ve ark.'nın yapmış oldukları bir çalışmada *P. aeruginosa*'da kolistin+siprofloksasin kombinasyonunun persister yani inatçı hücrelerin yok edilmesinde tek başına kullanımlarıan göre daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, ardışık yerine eş zamanlı bu iki antibiyotik ile tedavinin persister *P. aeruginosa* hücrelerinin yok edilmesinde daha etkili olabileceğini savunmaktadır (Baek ve ark. 2020). Buna ek olarak, kombinasyon tedavisi ile daha düşük dozlarda kolistin kullanılabilmesi ve böylelikle potansiyel toksik etkilerinin azaltılmasının mümkün olması da tedavide önem arz ettiğinden; delafloksasin+kolistin kombinasyonu ile tüm suşlar üzerinde elde ettiğimiz additif etkinin dirençli enfeksiyonların tedavisi için önemli bir bulgu olduğunu düşünmekteyiz.

Karbapenemler, *P. aeruginosa* enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan önemli bir antimikrobiyal ajan sınıfıdır (Castanheira, Deshpande ve ark. 2014). Bu nedenle, birçok *P. aeruginosa* izolatında karbapenemlere karşı direnç kazanılması

özellikle endişe vericidir. *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde, bir karbapenem ajanı ile kombinasyon tedavisinin, monoterapi ile karşılaştırıldığında görünüşte üstün bir tedavi seçeneği olduğunu öne sürülmektedir (Castanheira, Jones ve ark. 2009; Castanheira, Deshpande ve ark. 2014). Bu nedenle çalışmamızda delafloksasinin meropenem ile kombinasyon halindeki etkisi incelenmiştir. Çalışmamızda karbapenamaz geni tespit edilemeyen 3 izolat üzerinde meropenem tek başına 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonlarında denendiği koşullarda 24 saatte bakteri sayısında >3 $\log_{10}$ kob/ml azalma sağlayarak bakterisidal etkili olduğu tespit edilmiştir. Delafloksasin+meropenem kombinasyonunun 1xMİK ve 4xMİK konsantrasyonlarında denendiği koşullarda ise sırasıyla 5/5 ve 4/5 izolat üzerinde additif etkili olduğu gözlenirken, 4xMİK konsantrasyonunun test edildiği koşullarda ise sadece bla_{OXA-48} karbapenamaz geni taşıdığı bilinen PA-2 izolatı için sinerjist etkili olduğu tespit edilmiştir.

Seftazidim/avibaktam komplike idrar yolu enfeksiyonları ile komplike intra-abdominal enfeksiyonların (metronidazol ile birlikte) tedavisinde 2015 yılında FDA tarafından onay alan yeni bir antipseudomonal aktiviteye sahip antibiyotiktir. Avibaktam, sınıf A (GSBL, KPC), sınıf C (Amp C) ve bazı sınıf D (OXA-48 gibi) beta-laktamazları inhibe edebilen yeni bir beta-laktamaz inhibitörüdür. Ancak, metallo beta-laktamazlara karşı etkisizdir. Buna ilaveten, seftazidimle avibaktamın kombinasyonu antipseudomonal aktiviteyi yaklaşık olarak %10 arttırmaktadır (Berkhout ve ark. 2015; Buehrle ve ark. 2016; van Duin ve Bonomo 2016). Çalışmamızda seftaizidim/avibaktamın tek başına ve delafloksasinle kombinasyon halindeki etkileri zamana bağlı ölüm yöntemiyle test edilmiştir. Seftazidim/avibaktamın tek başına 1xMİK konsantrasyonunda test edildiği tüm koşullarda *P. aeruginosa* suşları üzerinde 24 saatte bakterisidal etki gösteremediği, ancak 4xMİK konsantrasyonunda denendiğinde ise sadece 1 izolatta (1/5) 24 saatte bakteri sayısında >3 $\log_{10}$ kob/ml azalma sağlayarak bakterisidal etkinlik gösterebildiği görülmüştür. Mataracı-Kara ve ark'nın 2020 yılında yapmış oldukları bir çalışmada kolistin-dirençli *P. aeruginosa* suşlarında seftazidim/avibaktamın çeşitli antibiyotiklerle kombinasyon halindeki etkisi incelenmiş ve test edilen izolatlar üzerinde bulgularımıza benzer şekilde 1xMİK konsantrasyonunun denendiği koşullarda bakterisidal aktivite tespit edilememiştir. Aynı çalışmada, seftazidim/avibaktam+levofloksasin kombinasyonunun etkinliği de değerlendirilmiş ve 1xMİK ve 4XMİK konsantrasyonlarında test edilen suşlar üzerinde kombinasyon additif etkili olarak rapor edilmiştir (Mataraci Kara ve ark 2020). Bununla birlikte çalışmamızda

delafloksasin+seftazidim/avibaktam kombinasyonu test edildiği 1xMİK konsantrasyonunda çalışılan 5 suşun 2'sinde, 4xMİK konsantrasyonunun denendiği koşullarda ise 5 suşun 1'inde sinerjist etkili olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz sinerjist etkiler istatistiksel açıdan da anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($P<0.05$). Benzer şekilde, Fish ve ark'nın yapmış oldukları bir çalışmada farklı duyarlılık profilinde bulunan *P. aeruginosa* suşları üzerinde seftazidim+florokinolon kombinasyonları %80 oranında sinerjist etkili olarak gösterilmiştir (Fish ve ark. 2002).

Tobramisin, amikasin ve gentamisin, *P. aeruginosa*'ya karşı etkili olan aminoglikozid grubu ajanlardır, ancak idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisi dışında tek ajan olarak kullanılmalarından kaçınılmalıdır (Ibrahim ve ark. 2020). Farklı ve etkinliği bilinen antimikrobiyal ajan sınıfları arasındaki üstünlükleri doğrulamak için karşılaştırmalı çalışmalar yapılmamasına rağmen, bir retrospektif çalışma, aminoglikozid monoterapisinin *P. aeruginosa* sepsisli hastalarda artmış mortalite riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Martinez ve ark. 2010). Karbapenem-dirençli *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde antipseudomal bir penisilin, sefalosporin veya florokinolonun bir aminoglikozid ajan ile kombinasyonu tedavi için önerilmektedir (Sy ve ark. 2022). Bu nedenle çalışmamızda yeni bir antipseudomal florokinolon olan delafloksasinin tobramisin ile kombinasyon halindeki etkileri incelenmiştir. Çalışmamızda tobramisinin tek başına denendiği 1xMİK konsantrasyonunun test edildiği koşullarda karbapenemaz geni içermeyen 3 izolatın ikisinde; 4xMİK konsantrasyonunun test edildiği koşullarda ise üç suşun tamamında 24 saatte bakteri sayısında $>3\log_{10}$ kob/ml azalma sağlayarak bakterisidal etkili olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, Montero ve ark. nın yapmış oldukları bir çalışmada yaygın ilaç direnci bulunan *P. aeruginosa* suşları üzerinde zamana bağlı öldürme çalışması ile amikasinin bakterisidal etkinliği değerlendirilmiş, 8 mg/L amikasin konsantrasyonunun test edilen suşlar üzerinde 24 saatte bakterisidal etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Montero ve ark. 2021). Mataracı-Kara'nın yapmış olduğu bir çalışmada ise kolistin-dirençli *P. aeruginosa* suşları üzerinde 4xMİK konsantrasyonunda tobramisinin test edilen 6 suşun 3'ünde 24 saatte bakteri sayısında >3 $\log_{10}$ kob/ml azalma sağlayarak bakterisidal etkili olduğu bildirilmiştir (Mataraci Kara ve ark. 2020). Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular bu çalışma ile uyumludur. Çalışmamızda delafloksasin+tobramisin kombinasyonunun test edildiği 1xMİK konsantrasyonunda suşların 2/5'inde sinerjist etkili olduğu tespit edilirken, 4xMİK konsantrasyonunun denendiği tüm koşullarda kombinasyon additif etkili olarak

değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz bu bulgular istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuşlardır ($P<0.05$).

Çalışmamızda test edilen kombinasyonlardan hiçbirinde *P. aeruginosa* suşlarına karşı antagonist etki gözlenmemiştir.

Sonuç olarak; yüksek lisans tez çalışmamızdan elde edilen bulgularımız, hem yeni bir antipseudomonal antibiyotik olan delafloksasinin etkinliği hakkında halihazırda sınırlı bilgi içeren literatüre önemli katkılar sunabilme, hem de kliniklerde sık karşılaşılan antibiyotiklerle kombinasyon halinde kolistin dirençli oldukları tespit edilen *P. aeruginosa* suşlarının neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek alternatif bir tedavi seçeneği olma potansiyeli açısından yol gösterici olacaktır.

SONUÇ

1- Delafloksasinin tek başına ve çeşitli antibiyotiklerle kombinasyon halinde klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarına karşı in vitro etkilerinin araştırıldığı çalışmamızda, ilk olarak 2017 yılında FDA onayı alarak klinik kullanıma giren florokinolon grubu yeni bir antipseudomonal antibiyotik olan delafloksasinin, saptanan $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri ile kliniklerde yaygın olarak kullanılan levofloksasinden 4 kat fazla antibakteriyel duyarlılığa sahip olduğu ortaya koyulmuştur. Bulgularımız, artmış antibakteriyel etkinliği ile delafloksasininin *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde yer alabilecek bir ajan olduğunu göstermektedir.

2- Çalışmamızda test edilen antibiyotiklerin zamana bağlı öldürme yöntemiyle bakterisidal aktivitelerinin araştırıldığı deneylerden elde edilen bulgular değerlendirildiğinde test edilen suşlarımızın tamamında hem 1xMİK hem de 4xMİK konsantrasyonda kolistinin bakterisidal etkili olduğu tespit edilmiştir. Herhangi bir karbapenemaz direnci taşıdığı tespit edilmeyen izolatlarda ise delafloksasin, tobramisin ve meropenemin 4xMİK konsantrasyonunda tek başlarına bakterisidal etkili oldukları gözlenmiştir. Çalışmamızda kolistin direnci tespit edilen suşlarımızda antibiyotiklerin tek başlarına sergiledikleri bu bakterisidal etkiler klinik kullanımları açısından önem arz etmektedir.

3- Antibiyotik kombinasyonu çalışmaları sonucunda delafloksasin+tobramisin ve delafloksasin+seftazidim/avibaktam kombinasyonlarının 1xMİK konsantrasyonlarında test edilen 5 suşun 2'sinde sinerjist etkili oldukları tespit edilmiştir. Antibiyotikler arasında bu etkileşimler istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Kombinasyon çalışmalarında 4xMİK konsantrasyonlarının denendiği koşullarda ise delafloksasin+meropenem ve delafloksasin+seftazidim/avibaktam kombinasyonunun sinerjist etki gösterdiği görülmüştür. Bulgularımız, söz konusu kombinasyonların, özellikle sinerjist etkinin gerekli olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisi için alternatif olabileceğini ortaya koymaktadır. Ancak var olan in vitro bulguların klinik çalışmalar ile desteklenmesi gerektiği de unutulmamalıdır.

4- Delafloksasin+kolistin kombinasyonu ile test edilen tüm koşullar için additif etki elde edilmiştir. Çalışmamızda kolistin tek başına test edildiği koşullarda her ne kadar bakterisidal etkinlik gösterse de *P. aeruginosa* suşlarında artan kolistin direnci varlığı ve

kolistinin sahip olduğu nefrotoksisite özelliği nedeniyle delafloksasin+kolistin kombinasyonunun gösterdiği additif etkinin klinik kullanım açısından faydalı olacağını düşünüyoruz.

5- Çalışmamızda denenen kombinasyonların hiçbirinde antagonist etki gözlenmemiştir. Bu durum da delafloksasinin test edilen antibiyotiklerle kombinasyon halinde olası klinik kullanımları için gelecekteki çalışmaları desteklemesi açısından olumlu bir sonuç olmuştur.

KAYNAKLAR

- Abdel-Mawgoud, A.M., Lepine, F. ve Deziel, E., (2010). Rhamnolipids: Diversity of structures, microbial origins and roles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86: 1323-1336.
- Afşar I, Gönül B, Şener AG, Türker M. (2005) In-vitro susceptibility of clinical isolates of Escherichia coli to fosfomycin trometamol and other antibiotics. *ANKEM*; 19: 77-9.
- Akkaya, R. (1997). Florokinolon Grubu Antibiyotikleri . Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi,9(1), 193-203.

  Retrieved from https://dergipark.org.tr/tr/pub/evmd/issue/61428/1019733
- Akova, M., Daikos, G. L., Tzouvelekis, L., & Carmeli, Y. (2012). Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *18*(5), 439–448. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03823.x
- Alhan, E. (2011). Yeni karbapenemler. J Pediatr Inf. 25(Suppl 1); 90-94. (31); 23-28.
- Arzanlou, M., Chai, W. C., & Venter, H. (2017). Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria. *Essays in biochemistry*, *61*(1), 49-59.
- Aydemir Ş.,(2019). Kolistin duyarlılığı: sorunlar ve çözüm önerileri. *EKMUD İzmir Günleri*
- Ayhan.M, (2020) Dirençli Gram-negatiflerde Yeni Tedavi Seçenekleri. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2020;73.
- Azam, M. W., & Khan, A. U. (2019). Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug discovery today*, *24*(1), 350–359. https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.07.003
- Baek, M. S., Chung, E. S., Jung, D. S., & Ko, K. S. (2020). Effect of colistin-based antibiotic combinations on the eradication of persister cells in *Pseudomonas*

aeruginosa. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *75*(4), 917–924. https://doi.org/10.1093/jac/dkz552

- Baron, S. (Ed.). (1996). *Medical Microbiology*. (4th ed.). University of Texas Medical Branch at Galveston. Chapter 27. Pseudomonas
- Bassetti, M., Della Siega, P., Pecori, D., Scarparo, C., & Righi, E. (2015). Delafloxacin for the treatment of respiratory and skin infections. *Expert opinion on investigational drugs*, *24*(3), 433–442. https://doi.org/10.1517/13543784.2015.1005205
- Baylan, O. (2010). Fosfomisin: dünü, bugünü ve geleceği. *Mikrobiyol Bul*, *44*(2), 311-321.
- Bellido, F., & Pechère, J. C. (1989). Laboratory survey of fluoroquinolone activity. *Reviews of infectious diseases*, *11 Suppl 5*, S917–S924. https://doi.org/10.1093/clinids/11.supplement_5.s917
- Bengoechea, J. A., & Skurnik, M. (2000). Temperature-regulated efflux pump/potassium antiporter system mediates resistance to cationic antimicrobial peptides in Yersinia. *Molecular microbiology*, *37*(1), 67-80.
- Bergen, P. J., Bulitta, J. B., Forrest, A., Tsuji, B. T., Li, J., & Nation, R. L. (2010). Pharmacokinetic/pharmacodynamic investigation of colistin against *Pseudomonas aeruginosa* using an in vitro model. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *54*(9), 3783–3789. https://doi.org/10.1128/AAC.00903-09
- Berkhout, J., Melchers, M. J., van Mil, A. C., Nichols, W. W., & Mouton, J. W. (2015). In vitro activity of ceftazidime-avibactam combination in in vitro checkerboard assays. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *59*(2), 1138–1144. https://doi.org/10.1128/AAC.04146-14
- Blondeau J. M. (1999). Expanded activity and utility of the new fluoroquinolones: a review. *Clinical therapeutics*, *21*(1), 3–2. https://doi.org/10.1016/s0149-2918(00)88266-1
- Blondeau, J. M. (2004). Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Survey of ophthalmology*, *49*(2), S73-S78.

- Bonnefoy, A., Dupuis-Hamelin, C., Steier, V., Delachaume, C., Seys, C., Stachyra, T., Fairley, M., Guitton, M., & Lampilas, M. (2004). In vitro activity of AVE1330A, an innovative broad-spectrum non-beta-lactam beta-lactamase inhibitor. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *54*(2), 410–417. https://doi.org/10.1093/jac/dkh358
- Bozkaya, E. (2013). *Tıbbi Mikrobiyoloji* (Cilt 1). Nobel Tıp Kitabevi.
- Breidenstein, E. B., de la Fuente-Núñez, C., & Hancock, R. E. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends in microbiology*, *19*(8), 419-426.
- Breines, D. M., Ouabdesselam, S., Ng, E. Y., Tankovic, J., Shah, S., Soussy, C. J., & Hooper, D. C. (1997). Quinolone resistance locus nfxD of Escherichia coli is a mutant allele of the parE gene encoding a subunit of topoisomerase IV. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *41*(1), 175–179. https://doi.org/10.1128/AAC.41.1.175
- Buehrle, D. J., Shields, R. K., Chen, L., Hao, B., Press, E. G., Alkrouk, A., Potoski, B. A., Kreiswirth, B. N., Clancy, C. J., & Nguyen, M. H. (2016). Evaluation of the In Vitro Activity of Ceftazidime-Avibactam and Ceftolozane-Tazobactam against Meropenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *60*(5), 3227–3231. https://doi.org/10.1128/AAC.02969-15
- Bulut A. (2014). Enterobacteriaceae Üyelerinde Karbapenem Direnci ve Dirençten Sorumlu Enzimlerin Varlığının Araştırılması, Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. Afyonkarahisar
- Castanheira, M., Deshpande, L. M., Costello, A., Davies, T. A., & Jones, R. N. (2014). Epidemiology and carbapenem resistance mechanisms of carbapenem-non-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* collected during 2009-11 in 14 European and Mediterranean countries. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *69*(7), 1804–1814. https://doi.org/10.1093/jac/dku048
- Castanheira, M., Jones, R. N., & Livermore, D. M. (2009). Antimicrobial activities of doripenem and other carbapenems against *Pseudomonas aeruginosa*, other nonfermentative bacilli, and Aeromonas spp. *Diagnostic microbiology and*

infectious disease, *63*(4), 426–433. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.01.026

- CDC (*Centers for Disease Control and Prevention)* (2019). Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA: U.S. accessed:

  https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf

- CDC. (2022). *Centers for Disease Control and Prevention*. About Antimicrobial Resistance. Accessed 5 October 2022 :

  https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html

- Ceylan Ö. (2014). Hastane Enfeksiyonlarında *Pseudomonas Aeruginosa* Epidemiyolojisinin REP-PZR ile Araştırılması. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yan Dal Uzmanlık Tezi, Mersin

- Chu, D.T.W. and Fernandes, P.B. (1989) : Structure-Activity Relationships of the Fluoroquinolones. Antimicrobial agents and Chemotherapy Vol. 33(2): 131-135

- CLSI. (2022). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 32nd ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute

- Codjoe, F. S., & Donkor, E. S. (2017). Carbapenem Resistance: A Review. *Medical sciences (Basel, Switzerland)*, *6*(1), 1.

- Conway, S. P., Pond, M. N., Watson, A., Etherington, C., Robey, H. L., & Goldman, M. H. (1997). Intravenous colistin sulphomethate in acute respiratory exacerbations in adult patients with cystic fibrosis. *Thorax*, *52*(11), 987-993.

- Cox, G., & Wright, G. D. (2013). Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions. *International journal of medical microbiology : IJMM*, *303*(6-7), 287–292. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.009

- Cunningham, S., Prasad, A., Collyer, L., Carr, S., Lynn, I. B., & Wallis, C. (2001). Bronchoconstriction following nebulised colistin in cystic fibrosis. *Archives of disease in childhood*, *84*(5), 432-433.

- Davis, S. D., Iannetta, A., & Wedgwood, R. J. (1971). Activity of colistin against *Pseudomonas aeruginosa*: inhibition by calcium. *Journal of Infectious Diseases*, *124*(6), 610-612.
- Delden, C.V. ve Iglewski, B.H., (1998). Cell-to-cell signalling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 4: 551-9.
- Diez-Aguilar, M., & Canton, R. (2019). New microbiological aspects of fosfomycin. Revista espanola de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia, 32 Suppl 1(Suppl 1), 8–18.
- Doi, Y., Wachino, J. I., & Arakawa, Y. (2016). Aminoglycoside Resistance: The Emergence of Acquired 16S Ribosomal RNA Methyltransferases. *Infectious disease clinics of North America*, *30*(2), 523–537. https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.011
- Dryden M. S. (2010). Complicated skin and soft tissue infection. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *65 Suppl 3*, iii35–iii44. https://doi.org/10.1093/jac/dkq302
- Ehmann, D. E., Jahić, H., Ross, P. L., Gu, R. F., Hu, J., Kern, G., Walkup, G. K., & Fisher, S. L. (2012). Avibactam is a covalent, reversible, non-β-lactam β-lactamase inhibitor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(29), 11663–11668.
- EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) (2022). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, http://www.eucast.org.
- EMA (European Medicines Agency) (2018). Zavicefta: summary of product characteristics. http://www.ema.europa.eu. Accessed 16Mar 2018
- Fabrega, A., Madurga, S., Giralt, E., & Vila, J. (2009). Mechanism of action of and resistance to quinolones. *Microbial biotechnology*, *2*(1), 40–61. https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2008.00063.x
- Falagas, M. E., & Kasiakou, S. K. (2005). Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections.

Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, *40*(9), 1333–1341. https://doi.org/10.1086/429323

- Falagas, M. E., & Kopterides, P. (2007). Old antibiotics for infections in critically ill patients. *Current opinion in critical care*, *13*(5), 592–597. https://doi.org/10.1097/MCC.0b013e32827851d7
- Falagas, M. E., Matthaiou, D. K., & Bliziotis, I. A. (2007). Systematic review: fluoroquinolones for the treatment of intra-abdominal surgical infections. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, *25*(2), 123–131. https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2006.03154.x
- Falagas, M. E., Vouloumanou, E. K., Samonis, G., & Vardakas, K. Z. (2016). Fosfomycin. *Clinical microbiology reviews*, *29*(2), 321–347. https://doi.org/10.1128/CMR.00068-15
- Fernandes P. B. (1988). Mode of action, and in vitro and in vivo activities of the fluoroquinolones. *Journal of clinical pharmacology*, *28*(2), 156–168. https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1988.tb05967.x
- Fernandez, L., Breidenstein, E. B., & Hancock, R. E. (2011). Creeping baselines and adaptive resistance to antibiotics. *Drug Resistance Updates*, *14*(1), 1-21.
- Fish D. N. (2003). Levofloxacin: update and perspectives on one of the original 'respiratory quinolones'. *Expert review of anti-infective therapy*, *1*(3), 371–387. https://doi.org/10.1586/14787210.1.3.371
- Fish, D. N., & Chow, A. T. (1997). The clinical pharmacokinetics of levofloxacin. *Clinical pharmacokinetics*, *32*(2), 101–119. https://doi.org/10.2165/00003088-199732020-00002
- Fish, D. N., Choi, M. K., & Jung, R. (2002). Synergic activity of cephalosporins plus fluoroquinolones against *Pseudomonas aeruginosa* with resistance to one or both drugs. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *50*(6), 1045–1049. https://doi.org/10.1093/jac/dkf211
- Gambello, M.J., Kaye, S. ve Iglewski, B.H., (1993). LasR of *Pseudomonas aeruginosa* is a transcriptional activator of the alkaline protease gene (apr) and an enhancer of exotoxin A expression. Infection and Immunity, 61:1180–1184.

- Garcia-Bustos, V., Cabañero-Navalón, M. D., & Salavert Lletí, M. (2022). Resistance to beta-lactams in Gram-negative bacilli: relevance and potential therapeutic alternatives. *Revista espanola de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia*, *35 Suppl 2*(Suppl 2), 1–15. https://doi.org/10.37201/req/s02.01.2022

- Gomez-Zorrilla, S., Sendra, E., & Horcajada, J. P. (2022). A profile of delafloxacin in the treatment of adults with community-acquired bacterial pneumonia. *Expert review of clinical pharmacology*, *15*(6), 671–688. https://doi.org/10.1080/17512433.2022.2100346

- Gough, M., Hancock, R. E., & Kelly, N. M. (1996). Antiendotoxin activity of cationic peptide antimicrobial agents. *Infection and immunity*, *64*(12), 4922–4927. https://doi.org/10.1128/iai.64.12.4922-4927.1996

- GSK (GlaxoSmithKline Manufacturing S.p.A.) AVYCAZ® (ceftazidime and avibactam): Highlights of Prescribing Information US prescribing information. 2018. Accessed 17 Dec 2022.

  https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/206494s004lbl.pdf

- Gülay Z. (2005) Gram negatif çomaklarda antibiyotik direnci. 2003-2004 Türkiye Haritası. *ANKEM Derg.*19 (Ek 2): 66-77.

- Gülay Z., (2003), Hücre Duvar Sentezini Etkileyen Antibakteriyeller, *ANKEM Derg* 17(NO.3): 192-204.

- Gür D.(1992). Aninoglikozit Grubu Antibiyotikler ve Bunlara Karşı Gelişen Direnç Mekanizmaları. *ANKEM Derg* 6 (No.2) 307-311

- Haidar, G., Clancy, C. J., Shields, R. K., Hao, B., Cheng, S., & Nguyen, M. H. (2017). Mutations in *bla*KPC-3 That Confer Ceftazidime-Avibactam Resistance Encode Novel KPC-3 Variants That Function as Extended-Spectrum β-Lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *61*(5), e02534-16. https://doi.org/10.1128/AAC.02534-16

- Hall, C. W., Hinz, A. J., Gagnon, L. B., Zhang, L., Nadeau, J. P., Copeland, S., Saha, B., & Mah, T. F. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Antibiotic Resistance Gene *ndvB* Expression Requires the RpoS Stationary-Phase Sigma

Factor. *Applied and environmental microbiology*, *84*(7), e02762-17. https://doi.org/10.1128/AEM.02762-17

- Hashemian, S. M. R., Farhadi, Z., & Farhadi, T. (2019). Fosfomycin: the characteristics, activity, and use in critical care. *Therapeutics and clinical risk management*, *15*, 525–530. https://doi.org/10.2147/TCRM.S199119
- Hassan, A., Usman, J., Kaleem, F., Omair, M., Khalid, A. ve Iqbal, M., (2011). Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*,15(4):305–11.
- Hauser, A.R., (2009). The type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*: infection by injection. Nature Reviews Microbiology, 7 (9): 654-665
- Hazırolan G. Fosfomycin: Flashback. *Klimik Dergisi*. 2020; 33(3): 213-22.
- Hirai, K., Aoyama, H., Irikura, T., Iyobe, S., & Mitsuhashi, S. (1986). Differences in susceptibility to quinolones of outer membrane mutants of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *29*(3), 535–538. https://doi.org/10.1128/AAC.29.3.535
- Hirai, K., Suzue, S., Irikura, T., Iyobe, S., & Mitsuhashi, S. (1987). Mutations producing resistance to norfloxacin in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *31*(4), 582–586. https://doi.org/10.1128/AAC.31.4.582
- Hooper D. C. (1999). Mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*, *2*(1), 38–55. https://doi.org/10.1054/drup.1998.0068Hooper DC. (1999). Mechanisms of fluoroquinolone resistance. Drug Resist Updates 2:38–55
- Hooper D. C. (2000). New uses for new and old quinolones and the challenge of resistance. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *30*(2), 243–254. https://doi.org/10.1086/313677
- Hooper, D. C., & Wolfson, J. S. (1985). The fluoroquinolones: pharmacology, clinical uses, and toxicities in humans. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *28*(5), 716–721. https://doi.org/10.1128/AAC.28.5.716

- Hooper, D. C., & Wolfson, J. S. (1989). Treatment of genitourinary tract infections with fluoroquinolones: clinical efficacy in genital infections and adverse effects. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *33*(10), 1662–1667. https://doi.org/10.1128/AAC.33.10.1662
- Hoşbul, T. , Aydogan, C. N. , Kaya, S. , Bedir, O. , Özcan, H. & Gümral, R. (2022). In Vitro Activity Of Ceftazidime-Avibactam And Colistin Against Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates. Journal of Istanbul Faculty of Medicine , 85 (3) , 355-361 . DOI: 10.26650/IUITFD.1092556
- Ibrahim, D., Jabbour, J. F., & Kanj, S. S. (2020). Current choices of antibiotic treatment for *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Current opinion in infectious diseases*, *33*(6), 464–473. https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000677
- James, D. G. (1989). Therapeutic focus. The fluoroquinolones. *The British Journal of Clinical Practice*, *43*(2), 66-67.
- Johansen, H. K., Moskowitz, S. M., Ciofu, O., Pressler, T., & Hoiby, N. (2008). Spread of colistin resistant non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* among chronically infected Danish cystic fibrosis patients. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, *7*(5), 391–397. https://doi.org/10.1016/j.jcf.2008.02.003
- Joukhadar, C., Klein, N., Dittrich, P., Zeitlinger, M., Geppert, A., Skhirtladze, K., Frossard, M., Heinz, G., & Müller, M. (2003). Target site penetration of fosfomycin in critically ill patients. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *51*(5), 1247–1252. https://doi.org/10.1093/jac/dkg187
- Kampranis, S. C., & Maxwell, A. (1998). Conformational changes in DNA gyrase revealed by limited proteolysis. *The Journal of biological chemistry*, *273*(35), 22606–22614. https://doi.org/10.1074/jbc.273.35.22606
- Kanj, S. S., & Sexton, D. J. (2019). *Pseudomonas aeruginosa* infections of the eye, ear, urinary tract, gastrointestinal tract, and central nervous system. *UpToDate. Waltham, MA.(citirano 4.5. 2019.)*.
- Karlowsky, J. A., Biedenbach, D. J., Kazmierczak, K. M., Stone, G. G., & Sahm, D. F. (2016). Activity of Ceftazidime-Avibactam against Extended-Spectrum-

and AmpC β-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Collected in the INFORM Global Surveillance Study from 2012 to 2014. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *60*(5), 2849–2857. https://doi.org/10.1128/AAC.02286-15

- Kato, J., Suzuki, H., & Ikeda, H. (1992). Purification and characterization of DNA topoisomerase IV in Escherichia coli. *The Journal of biological chemistry*, *267*(36), 25676–25684.
- Kaye, K. S., & Pogue, J. M. (2015). Infections Caused by Resistant Gram-Negative Bacteria: Epidemiology and Management. *Pharmacotherapy*, *35*(10), 949–962. https://doi.org/10.1002/phar.1636
- Keskin, K. Özsoy, FM. Koçak, N. Çavuşoğlu, Ş. Çakıcı, N. Altunay, H. Yenen, Ş.O. (1998). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* şuslarına karşı meropenemin etkinliği. Klimik Derg, 11(1): 26-29
- Khodursky, A. B., Zechiedrich, E. L., & Cozzarelli, N. R. (1995). Topoisomerase IV is a target of quinolones in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *92*(25), 11801–11805. https://doi.org/10.1073/pnas.92.25.11801
- Kim, E.J., Wang, W., Deckwer, W.D., ve Zeng, A.P., (2005). Expression of the quorum-sensing regulatory protein LasR is strongly affected by iron and oxygen concentrations in cultures of *Pseudomonas aeruginosa* irrespective of cell density. Microbiology (Reading, England). 151(Pt 4):1127–38.
- Kipnis, E., Sawa, T., Wiener-Kronish, J., (2006). Targeting Mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. Medecine Et Maladies Infectieuses, 36:78-91.
- Kocsis, B., Domokos, J., & Szabo, D. (2016). Chemical structure and pharmacokinetics of novel quinolone agents represented by avarofloxacin, delafloxacin, finafloxacin, zabofloxacin and nemonoxacin. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, *15*(1), 1-8.

- Kohler, T. Michea-Hamzehpour, M, Epp, S.F. Pechere, J.C. (1999). Carbapenem activities against *Pseudomonas aeruginosa*: respective contributions of OprD and efflux systems. Antimicrobial agents and chemotherapy, 43 (2), 424-27.
- Korten, V., & Murray, B. E. (1993). Impact of the fluoroquinolones on gastrointestinal flora. *Drugs*, *45 Suppl 3*, 125–133. https://doi.org/10.2165/00003495-199300453-00021
- Kumar, S., Parvathi, A., Hernandez, R. L., Cadle, K. M., & Varela, M. F. (2009). Identification of a novel UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase (MurA) from Vibrio fischeri that confers high fosfomycin resistance in *Escherichia coli*. *Archives of microbiology*, *191*(5), 425–429. https://doi.org/10.1007/s00203-009-0468-9
- Kurt H., Gündeş S., Geyik MF. (2013) *Enfeksiyon Hastalıkları*, Nobel Tıp Kitabevleri
- Lahiri, S. D., Walkup, G. K., Whiteaker, J. D., Palmer, T., McCormack, K., Tanudra, M. A., Nash, T. J., Thresher, J., Johnstone, M. R., Hajec, L., Livchak, S., McLaughlin, R. E., & Alm, R. A. (2015). Selection and molecular characterization of ceftazidime/avibactam-resistant mutants in *Pseudomonas aeruginosa* strains containing derepressed AmpC. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *70*(6), 1650–1658. https://doi.org/10.1093/jac/dkv004
- Leblebioğlu H. (2002). Yeni Kinolonlarda Mikrobiyolojik ve Klinik Etkinlik. *ANKEM Dergisi.* 16(No.3): 226-231.
- Ledson, M. J., Gallagher, M. J., Cowperthwaite, C., Convery, R. P., & Walshaw, M. J. (1998). Four years' experience of intravenous colomycin in an adult cystic fibrosis unit. *European Respiratory Journal*, *12*(3), 592-594.
- Liu, Y. Y., Chandler, C. E., Leung, L. M., McElheny, C. L., Mettus, R. T., Shanks, R. M. Q., Liu, J. H., Goodlett, D. R., Ernst, R. K., & Doi, Y. (2017). Structural Modification of Lipopolysaccharide Conferred by *mcr-1* in Gram-Negative ESKAPE Pathogens. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *61*(6), e00580-17. https://doi.org/10.1128/AAC.00580-17

- Liu, Y. Y., Wang, Y., Walsh, T. R., Yi, L. X., Zhang, R., Spencer, J., Doi, Y., Tian, G., Dong, B., Huang, X., Yu, L. F., Gu, D., Ren, H., Chen, X., Lv, L., He, D., Zhou, H., Liang, Z., Liu, J. H., & Shen, J. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet. Infectious diseases*, *16*(2), 161–168. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7

- Livermore, D. M., Mushtaq, S., Barker, K., Hope, R., Warner, M., & Woodford, N. (2012). Characterization of β-lactamase and porin mutants of Enterobacteriaceae selected with ceftaroline + avibactam (NXL104). *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *67*(6), 1354–1358. https://doi.org/10.1093/jac/dks079

- Livermore, D. M., Mushtaq, S., Warner, M., Zhang, J., Maharjan, S., Doumith, M., & Woodford, N. (2011). Activities of NXL104 combinations with ceftazidime and aztreonam against carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *55*(1), 390–394. https://doi.org/10.1128/AAC.00756-10

- Livermore, D. M., Warner, M., Jamrozy, D., Mushtaq, S., Nichols, W. W., Mustafa, N., & Woodford, N. (2015). In vitro selection of ceftazidime-avibactam resistance in Enterobacteriaceae with KPC-3 carbapenemase. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *59*(9), 5324–5330. https://doi.org/10.1128/AAC.00678-15

- Maçin, S., (2014). Pigmentli Ve Pigmentsiz Pseudomonas aerugınosa Suşlarının Virulans Faktörlerinin Fenotipik Ve Genotipik Olarak Karşılaştırılması. T.C. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara.

- Magill, S. S., Edwards, J. R., Bamberg, W., Beldavs, Z. G., Dumyati, G., Kainer, M. A., Lynfield, R., Maloney, M., McAllister-Hollod, L., Nadle, J., Ray, S. M., Thompson, D. L., Wilson, L. E., Fridkin, S. K., & Emerging Infections Program Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial Use Prevalence Survey Team (2014). Multistate point-prevalence survey of health care-associated

infections. *The New England journal of medicine*, *370*(13), 1198–1208. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1306801

- Magill SS, Edwards JR, Beldavs ZG, et al. (2014) Prevalence of Antimicrobial Use in US Acute Care Hospitals, May-September 2011. *JAMA.*;312(14):1438–1446. doi:10.1001/jama.2014.12923
- Marians, K. J., & Hiasa, H. (1997). Mechanism of quinolone action. A drug-induced structural perturbation of the DNA precedes strand cleavage by topoisomerase IV. *The Journal of biological chemistry*, *272*(14), 9401–9409. https://doi.org/10.1074/jbc.272.14.9401
- Martinez, J. A., Cobos-Trigueros, N., Soriano, A., Almela, M., Ortega, M., Marco, F., Pitart, C., Sterzik, H., Lopez, J., & Mensa, J. (2010). Influence of empiric therapy with a beta-lactam alone or combined with an aminoglycoside on prognosis of bacteremia due to gram-negative microorganisms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *54*(9), 3590–3596. https://doi.org/10.1128/AAC.00115-10
- Mataraci Kara, E., Yilmaz, M., İstanbullu Tosun, A., & Özbek Çelik, B. (2020). Synergistic activities of ceftazidime-avibactam in combination with different antibiotics against colistin-nonsusceptible clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Infectious diseases (London, England)*, *52*(9), 616–624. https://doi.org/10.1080/23744235.2020.1767803
- Mataracı E.(2010), *Pseudomonas eruginosa'nın Planktonik ve Biyofilm Kültürlerine Karşı Çeşitli Dezenfektanların Antimikrobik Etkilerinin Araştırılması*, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.
- McGowan J. E., Jr (2006). Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum. *The American journal of medicine*, *119*(6 Suppl 1), S29–S70. https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.03.014
- Meletis, G. (2016). Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. *Therapeutic advances in infectious disease*, *3*(1), 15-21.

- Melinta Therapeutics, Inc.(2017). Baxdela® (delafloxacin): *Highlights of Prescribing Information*.Lincolnshire, IL.
- Mert D.(2006) N*onkomplike üriner infeksiyonlu hastalarda fosfomisin trometamol ve siprofloksasinin klinik etkinliğinin karşılaştırılması.* T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi.
- Michalopoulos, A. S., Livaditis, I. G., & Gougoutas, V. (2011). The revival of fosfomycin. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, *15*(11), e732–e739. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.07.007
- Millar, B. C., McCaughan, J., Rendall, J. C., & Moore, J. E. (2021). Delafloxacin--A novel fluoroquinolone for the treatment of ciprofloxacin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis. *The clinical respiratory journal*, *15*(1), 116–120. https://doi.org/10.1111/crj.13262
- Montero, M. M., Domene Ochoa, S., López-Causapé, C., Luque, S., Sorlí, L., Campillo, N., López Montesinos, I., Padilla, E., Prim, N., Angulo-Brunet, A., Grau, S., Oliver, A., & Horcajada, J. P. (2021). Time-Kill Evaluation of Antibiotic Combinations Containing Ceftazidime-Avibactam against Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and Their Potential Role against Ceftazidime-Avibactam-Resistant Isolates. *Microbiology spectrum*, *9*(1), e0058521. https://doi.org/10.1128/Spectrum.00585-21
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiology spectrum*, *4*(2), 4-2.
- Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Landry, M.L. and Pfaller, M.A. (2007) Manual of Clinical Microbiology. 9th Edition, American Society for Microbiology, Washington, DC.
- Nascimento-Carvalho C. M. (2021). Delafloxacin as a treatment option for community-acquired pneumonia infection. *Expert opinion on pharmacotherapy*, *22*(15), 1975–1982. https://doi.org/10.1080/14656566.2021.1957098

- NCBI (National Center for Biotechnology Information) (2022). PubChem Compound Summary for CID 446987, Fosfomycin. Retrieved December 8, 2022 from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fosfomycin.
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (1993). Performance Standard for Antimicrobial Disc Susceptibility Tests. Approved Standard. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, P.A. Publication M2-A5. USA
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents-approved guideline M26-A. Wayne, , 19.
- Neer T. M. (1988). Clinical pharmacologic features of fluoroquinolone antimicrobial drugs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *193*(5), 577–580.
- Neu H. C. (1989). Synergy of fluoroquinolones with other antimicrobial agents. *Reviews of infectious diseases*, *11 Suppl 5*, S1025–S1035. https://doi.org/10.1093/clinids/11.supplement_5.s1025
- Newton B. A. (1956). The properties and mode of action of the polymyxins. *Bacteriological reviews*, *20*(1), 14–27. https://doi.org/10.1128/br.20.1.14-27.1956
- Ng, E. Y., Trucksis, M., & Hooper, D. C. (1996). Quinolone resistance mutations in topoisomerase IV: relationship to the flqA locus and genetic evidence that topoisomerase IV is the primary target and DNA gyrase is the secondary target of fluoroquinolones in Staphylococcus aureus. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *40*(8), 1881–1888.

  https://doi.org/10.1128/AAC.40.8.1881
- Nicas, T.I. ve Iglewski, B.H, (1985). The Contribution of Exoproducts to Virulence of *Pseudomonas-Aeruginosa*. *Can J Microbiol*, 31 (4), 387-392. 68
- Nichols, W. W., de Jonge, B. L., Kazmierczak, K. M., Karlowsky, J. A., & Sahm, D. F. (2016). In Vitro Susceptibility of Global Surveillance Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* to Ceftazidime-Avibactam (INFORM 2012 to 2014).

Antimicrobial agents and chemotherapy, *60*(8), 4743–4749. https://doi.org/10.1128/AAC.00220-16

- Nouraldin, A.A.M., Baddaour, M.M., Harfous, A.H., ve Essa, A.A.M., (2016). Bacteriophage-antibiotic synergism to control planktonic and biofilm producing clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Alexandria Journal of Medicine,* 52 (2); 99-105
- Nouri, R., Ahangarzadeh Rezaee, M., Hasani, A., Aghazadeh, M., & Asgharzadeh, M. (2016). The role of gyrA and parC mutations in fluoroquinolones-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Iran. *brazilian journal of microbiology*, *47*, 925-930.
- O'May, C.Y., Sanderson, K., Roddam, L.F., Kirov, S.M. ve Reid, D.W., (2009). Iron-binding compounds impair *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation, especially under anaerobic conditions. *Journal of Medical Microbiology*, 58(Pt 6):765–73
- Ocheretyaner, E. R., & Park, T. E. (2018). Delafloxacin: a novel fluoroquinolone with activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and *Pseudomonas aeruginosa*. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, *16*(7), 523-530.https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1489721
- Oliver, A., Mulet, X., López-Causapé, C., & Juan, C. (2015). The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*, *21-22*, 41–59. https://doi.org/10.1016/j.drup.2015.08.002
- Öncül, O. (2002). Antibiyotikler I. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi.
- Özbek B. (2005). Sefepim, Sefpirom ve Seftazidimin Amikasin ve Siprofloksasin ile Kombinasyonlarının *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarına Karşı In Vitro Etkilerinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

- Özer B. (2021). Eravasiklinin tek başına ve çeşitli antibiyotikler ile kombinasyon halinde oluşturdukları etkilerinin achromobacter cinsi klinik suşlara karşı araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.
- Öztürk R.(2008). Çoklu ilaç dirençli *Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* ile oluşan infeksiyon hastalıklarında antimikrobiyal tedavi. ANKEM Derg; 228 Ek 2 :36-43.
- Pan, X. S., & Fisher, L. M. (1997). Targeting of DNA gyrase in *Streptococcus pneumoniae* by sparfloxacin: selective targeting of gyrase or topoisomerase IV by quinolones. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *41*(2), 471–474. https://doi.org/10.1128/AAC.41.2.471
- Pancoast S. J. (1988). Aminoglycoside antibiotics in clinical use. *The Medical clinics of North America*, *72*(3), 581–612. https://doi.org/10.1016/s0025-7125(16)30760-x
- Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., & Bonomo, R. A. (2011). Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *55*(11), 4943-4960.
- Patel, S. S., Balfour, J. A., & Bryson, H. M. (1997). Fosfomycin tromethamine. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy as a single-dose oral treatment for acute uncomplicated lower urinary tract infections. *Drugs*, *53*(4), 637–656. https://doi.org/10.2165/00003495-199753040-00007
- Paton, J. H., & Reeves, D. S. (1988). Fluoroquinolone antibiotics. Microbiology, pharmacokinetics and clinical use. *Drugs*, *36*(2), 193–228.

  https://doi.org/10.2165/00003495-198836020-00004
- Pesci, E.C., Milbank, J.B., Pearson, J.P., McKnight, S., Kende, A.S., Greenberg, E.P. ve Iglewski, B.H., (1999). Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa*. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 28;96(20):11229-34.

- Pfaller, M. A., Sader, H. S., Rhomberg, P. R., & Flamm, R. K. (2017). *In Vitro* Activity of Delafloxacin against Contemporary Bacterial Pathogens from the United States and Europe, 2014. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *61*(4), e02609-16. https://doi.org/10.1128/AAC.02609-16

- Phillips, I., & Shannon, K. (1984). Aminoglycoside resistance. *British medical bulletin*, *40*(1), 28–35. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a071943

- Piddock, L. J., & Wise, R. (1986). The effect of altered porin expression in Escherichia coli upon susceptibility to 4-quinolones. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *18*(4), 547–549. https://doi.org/10.1093/jac/18.4.547

- Pontikis, K., Karaiskos, I., Bastani, S., Dimopoulos, G., Kalogirou, M., Katsiari, M., Oikonomou, A., Poulakou, G., Roilides, E., & Giamarellou, H. (2014). Outcomes of critically ill intensive care unit patients treated with fosfomycin for infections due to pandrug-resistant and extensively drug-resistant carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *International journal of antimicrobial agents*, *43*(1), 52–59.

  https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2013.09.010

- Poole K. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: resistance to the max. *Frontiers in microbiology*, *2*, 65. https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00065

- Rains, C. P., Bryson, H. M., & Peters, D. H. (1995). Ceftazidime. An update of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. *Drugs*, *49*(4), 577–617. https://doi.org/10.2165/00003495-199549040-00008

- Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*, *13*(6), 151–171.

  https://doi.org/10.1016/j.drup.2010.08.003

- Ruiz-Garbajosa, P., & Canton, R. (2017). Epidemiology of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Implications for empiric and definitive therapy. *Revista espanola de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia*, *30 Suppl 1*, 8–12.

- Salmon-Rousseau, A., Martins, C., Blot, M., Buisson, M., Mahy, S., Chavanet, P., & Piroth, L. (2020). Comparative review of imipenem/cilastatin versus meropenem. *Medecine et maladies infectieuses*, *50*(4), 316–322. https://doi.org/10.1016/j.medmal.2020.01.001
- Schindler, M., & Osborn, M. J. (1979). Interaction of divalent cations and polymyxin B with lipopolysaccharide. *Biochemistry*, *18*(20), 4425–4430. https://doi.org/10.1021/bi00587a024
- Serio, A. W., Keepers, T., Andrews, L., & Krause, K. M. (2018). Aminoglycoside Revival: Review of a Historically Important Class of Antimicrobials Undergoing Rejuvenation. *EcoSal Plus*, *8*(1), 10.1128/ecosalplus.ESP-0002-2018. https://doi.org/10.1128/ecosalplus.ESP-0002-2018
- Shannon, K., & Phillips, I. (1982). Mechanisms of resistance to aminoglycosides in clinical isolates. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *9*(2), 91–102. https://doi.org/10.1093/jac/9.2.91
- Shaver, C.M., ve Hauser, A.R., (2004). Relative contributions of *Pseudomonas aeruginosa* ExoU, ExoS, and ExoT to virulence in the lung. Infection and Immunity, 72 (12): 6969-6977
- Shaw, K. J., Rather, P. N., Hare, R. S., & Miller, G. H. (1993). Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiological reviews*, *57*(1), 138–163. https://doi.org/10.1128/mr.57.1.138-163.1993
- Shields, R. K., Chen, L., Cheng, S., Chavda, K. D., Press, E. G., Snyder, A., Pandey, R., Doi, Y., Kreiswirth, B. N., Nguyen, M. H., & Clancy, C. J. (2017). Emergence of Ceftazidime-Avibactam Resistance Due to Plasmid-Borne *bla*KPC-3 Mutations during Treatment of Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae Infections. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *61*(3), e02097-16. https://doi.org/10.1128/AAC.02097-16
- Shirley M. (2018). Ceftazidime-Avibactam: A Review in the Treatment of Serious Gram-Negative Bacterial Infections. *Drugs*, *78*(6), 675–692.

- Sırıken, B. & Öz, V. (2017). *Pseudomonas aeruginosa*: Özellikleri ve Quorum Sensing Mekanizması . Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi , 0 (18) , 42-52 . Retrieved from https://dergipark.org.tr/tr/pub/bursagida/issue/39981/475192
- Soto S. M. (2013). Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. *Virulence*, *4*(3), 223–229. https://doi.org/10.4161/viru.23724
- Stachyra, T., Péchereau, M. C., Bruneau, J. M., Claudon, M., Frère, J. M., Miossec, C., Coleman, K., & Black, M. T. (2010). Mechanistic studies of the inactivation of TEM-1 and P99 by NXL104, a novel non-beta-lactam beta-lactamase inhibitor. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *54*(12), 5132–5138.
- Sy, C. L., Chen, P. Y., Cheng, C. W., Huang, L. J., Wang, C. H., Chang, T. H., Chang, Y. C., Chang, C. J., Hii, I. M., Hsu, Y. L., Hu, Y. L., Hung, P. L., Kuo, C. Y., Lin, P. C., Liu, P. Y., Lo, C. L., Lo, S. H., Ting, P. J., Tseng, C. F., Wang, H. W., … Wang, F. D. (2022). Recommendations and guidelines for the treatment of infections due to multidrug resistant organisms. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*, *55*(3), 359–386. https://doi.org/10.1016/j.jmii.2022.02.001
- Taylor, P. K., Yeung, A. T., & Hancock, R. E. (2014). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: towards the development of novel anti-biofilm therapies. *Journal of biotechnology*, *191*, 121-130.
- TEB. Türk Eczacılar Birliği. (1990). *Antibiyotikler*. Eczacı Odası Yayınları. Retrieved December 17, 2022, from https://e-kutuphane.teb.org.tr/arsiv.php?anabelge_no=559.
- TİTCK. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu. (2020). Kısa Ürün Bilgisi, https://titck.gov.tr/storage/Archive/2020/kubKtAttachments/yaynlanavakkbmeronem1000mg_60d6353e-8ad4-4d16-87d6-4eaea7b8041e.pdf
- Van Bambeke F. (2014). Renaissance of antibiotics against difficult infections: Focus on oritavancin and new ketolides and quinolones. *Annals of medicine*, *46*(7), 512–529. https://doi.org/10.3109/07853890.2014.935470

- Van Bambeke, F. (2015). Delafloxacin, a non-zwitterionic fluoroquinolone in phase III of clinical development: evaluation of its pharmacology, pharmacokinetics, pharmacodynamics and clinical efficacy. *Future microbiology*, *10*(7), 1111-1123.
- van Duin, D., & Bonomo, R. A. (2016). Ceftazidime/Avibactam and Ceftolozane/Tazobactam: Second-generation β-Lactam/β-Lactamase Inhibitor Combinations. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *63*(2), 234–241. https://doi.org/10.1093/cid/ciw243
- Vasil, M.L. ve Ochsner, U.A., (1999). The response of *Pseudomonas aeruginosa* to iron: genetics, biochemistry and virulence. *Molecular Microbiology*,34(3):399–413.
- Wang, J. C., & Lynch, A. S. (1993). Transcription and DNA supercoiling. *Current opinion in genetics & development*, *3*(5), 764–768. https://doi.org/10.1016/s0959-437x(05)80096-6
- Willmott, C. J., & Maxwell, A. (1993). A single point mutation in the DNA gyrase A protein greatly reduces binding of fluoroquinolones to the gyrase-DNA complex. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *37*(1), 126–127. https://doi.org/10.1128/AAC.37.1.126
- Wishart, D. S., Knox, C., Guo, A. C., Shrivastava, S., Hassanali, M., Stothard, P., Chang, Z., & Woolsey, J. (2006). DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. *Nucleic acids research*, *34*(Database issue), D668–D672. https://doi.org/10.1093/nar/gkj067
- WHO (World Health Organization) (2020). Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance, Annual Report 2020, access:

  https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/uamdss/WHO-CAESAR-Annual-report-2020-eng.pdf
- Yoshida, H., Bogaki, M., Nakamura, M., & Nakamura, S. (1990). Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase gyrA gene of Escherichia coli.

Antimicrobial agents and chemotherapy, *34*(6), 1271–1272. https://doi.org/10.1128/AAC.34.6.1271

- Zhanel, G. G., Ennis, K., Vercaigne, L., Walkty, A., Gin, A. S., Embil, J., Smith, H., & Hoban, D. J. (2002). A critical review of the fluoroquinolones: focus on respiratory infections. *Drugs*, *62*(1), 13–59. https://doi.org/10.2165/00003495-200262010-00002
- Zincke, D., Balasubramanian, D., Silver, L. L., & Mathee, K. (2016). Characterization of a carbapenem-hydrolyzing enzyme, PoxB, in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *60*(2), 936-945.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

DELAFLOKSASİN'İN TEK BAŞINA VE ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERLE KOMBİNASYON HALİNDE PSEUDOMONAS AERUGİNOSA SUŞLARINA KARŞI İN VİTRO ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORİJİNALLİK RAPORU

%13	%12	%3	%4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%6
2	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	%2
3	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%1
4	www.ankemdernegi.org.tr İnternet Kaynağı	<%1
5	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	<%1
6	dspace.marmara.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
7	pubmed.ncbi.nlm.nih.gov İnternet Kaynağı	<%1
8	fbe.marmara.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
	9lib.net	