

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı
Danışman: Doç.Dr. Bülent GÜRLER

**ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERİN TEK BAŞINA VE AMİKASİN İLE
KOMBİNASYONLARININ PSEUDOMONAS AERUGINOSA
SUŞLARINA KARŞI İN VİTRO ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

(DOKTORA TEZİ)

Ecz. Alev GERÇEKER (M.Sc.)

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANİSTON MEDİNE

İstanbul -1994



Tezimin yürütülmesinde danışmanlık görevini üstlenen ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Bülent Gürler'e, çalışmalarında her zaman desteğini gördüğüm Prof. Dr. Gülten Ötük Sanış'a, doktora eğitimimde katkıda bulunan, edindiğim bilgilerin ışığında tezimi yazmamı sağlayan Prof. Dr. Özdem Anđ ve değerli hocalarıma, tezimle ilgili istatistiksel değerlendirmelerde bana yardımcı olan Prof. Dr. Yakut İmakk Özden ve Dr. Günay Dağtekin'e, çalışmalarımı aksatmadan yürütmemi sağlayan İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve kütüphane görevlilerine teşekkür ederim.

Yaşamının her döneminde olduğu gibi doktora sırasında da teşvik ve desteğini gördüğüm sevgili anneme ve aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No.</u>
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
1. Pseudomonas aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisinde yer alan antibiyotikler.....	4
2. Piperasilin, seftazidim, aztreonam ve imipenemin yapısı, etki ve direnç mekanizması, in vitro etki spektrumu.....	5
2.1. Yapı-aktivite ilişkisi.....	5
2.2. Etki mekanizması.....	9
2.3. Direnç mekanizması.....	11
2.4. İn vitro etki spektrumu.....	16
3. Siprofloksasinin yapısı, etki ve direnç mekanizması, in vitro etki spektrumu.....	18
3.1. Yapı-aktivite ilişkisi.....	18
3.2. Etki mekanizması.....	19
3.3. Direnç mekanizması.....	21
3.4. İn vitro etki spektrumu.....	22
4. Amikasinin yapısı, etki ve direnç mekanizması, in vitro etki spektrumu.....	23
4.1. Yapı-aktivite ilişkisi.....	23
4.2. Etki mekanizması.....	24
4.3. Direnç mekanizması.....	24
4.4. İn vitro etki spektrumu.....	27
GEREÇ VE YÖNTEM	28
1. Kullanılan antibiyotikler ve çözeltileri.....	28
2. Kullanılan besiyerleri.....	29
2.1. Mueller Hinton Buyyonu.....	29
2.2. Triptik Soya Buyyonu.....	29
2.3. Triptik Soya Agar.....	29
3. İnokulumun hazırlanması.....	29
3.1. McFarland standardının hazırlanması.....	29
3.2. Bakteri süspansiyonlarının hazırlanması.....	30

	<u>Sayfa No.</u>
3.3. İnokulumdaki mikroorganizma sayısının saptanması.....	30
4. Diğer malzemeler.....	30
5. Minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) saptanması.....	31
5.1. Deney koşullarının standardizasyonu.....	31
5.2. Çalışmada kullanılan antibiyotiklere ait MİK değerlerinin saptanması.....	31
6. Minimum bakterisidal konsantrasyonun (MBK) saptanması.....	32
7. Mikrodilüsyon "checkerboard" yöntemiyle antibiyotiklerin kombinasyon halinde etkilerinin saptanması.....	32
8. İstatistiksel hesaplamalar.....	38
BULGULAR	39
1. Minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) saptanmasına ait bulgular.....	39
1.1. Deney koşullarının standardizasyonuna ait bulgular.....	39
1.2. Çalışmada kullanılan antibiyotiklerin MİK değerlerine ait bulgular.....	40
2. Minimum bakterisidal konsantrasyonun (MBK) saptanmasına ait bulgular.....	41
3. Mikrodilüsyon "checkerboard" yöntemiyle antibiyotiklerin kombinasyon halinde etkilerine ait bulgular.....	43
TARTIŞMA	49
SONUÇ	66
ÖZET	68
SUMMARY	69
KAYNAKLAR	70
ÖZGEÇMİŞ	82

G İ R İ Ő

Pseudomonas aeruginosa ilk kez Gessard tarafından 1882 yılında izole edilmiş ve bir patojen mikroorganizma olarak ilk kez Charrin tarafından 1890'da fark edilmiştir. Hastaların kanından infeksiyon etkeni olarak izole edildiğini belirten ilk olgular 1896 ve 1899 yıllarında yayınlanmıştır (138). 19. Yüzyılın sonunda insanın hemen hemen tüm anatomik bölgelerinden infeksiyon etkeni olarak izole edilmiş, 1917 de Fraenkel *P. aeruginosa* infeksiyonunun klasik tanımını yapmıştır (33). 1960'lı yıllarda *P. aeruginosa*'nın neden olduğu infeksiyonların özellikle hastane kaynaklı olduğu farkedilmiş ve zaman içinde bir hastane infeksiyonu etkeni olarak gittikçe artan sıklıkla izole edilmeye başlanmıştır. A.B.D.'de hastane infeksiyonu etkenlerinin epidemiyolojisini araştırmak amacıyla Centers for Disease Control (CDC) tarafından 1970'de kurulan National Nosocomial Infections Study (NNIS) ünitesinin verilerine göre, *P. aeruginosa* hastane infeksiyonu etkeni olarak 1976 yılında % 6.6 oranında görülürken, bu oran 1979 yılına kadar % 9.2'ye yükselmiş, 1980 yılında % 8.6'lık bir oranla hafif bir düşüş gözlenmişse de 1984 yılına kadar % 11.4'e varan bir yükselme sürecine girmiştir (18, 34). 1984 ve 1985 yıllarında Hacettepe Tıp Fakültesi'nde yapılan bir çalışmada ise *P. aeruginosa*'nın hastane infeksiyonuna neden olan suşların % 19'unu oluşturduğu bildirilmiştir (3). Ancak *P. aeruginosa*'nın hastane infeksiyonu etkeni olarak önem kazanmasının başlıca nedeni immün sistemi baskılanmış, kanser, kistik fibröz, travma ve yanık gibi belirli hasta gruplarını seçmesi ve bu hastaların tedavisinde güçlük yaratmasından dolayı yüksek oranda mortaliteye neden olmasıdır.

Ciddi *P. aeruginosa* infeksiyonlarına immün sistemi normal olan kişilerde çok ender rastlanılmaktadır. Konak, kendisini öncelikle epitel bariyeri daha sonra hümmoral ve hüccresel bağışıklık sistemleri ile savunmaktadır (120). Ancak konağın mekanik bariyeri trakeostomi, kateterizasyon, cerrahi girişim, yanık gibi travmalar sonucu hasara uğradığı takdirde, bakteri dokuya yerleşme imkanını bulabilmektedir. Bakteri bundan

sonra sahip olduğu virülans faktörleri ile yerleştiği bölgeye göre farklı tipte oluşturduğu infeksiyonlarını başlatmaktadır (14, 42, 57). Hastada ayrıca nötropeni, kanser, özellikle akut lösemi gibi altta yatan, immün sistemi zayıflatan bir hastalık bulunduğu takdirde, infeksiyonun gelişme süreci daha da kısalmaktadır (14, 69).

Bu tip hastalarda yüksek oranda mortaliteyle sonuçlanan *P. aeruginosa* bakteriyemisinin gelişme riski yüksek olmaktadır. Yapılan bir çalışmada % 65 oranında mortaliteyle sonuçlanan, hastane kaynaklı infeksiyonların % 10'undan ve bakteriyemilerin % 21'inden *P. aeruginosa*'nın sorumlu olduğu saptanmıştır (34). 200 hasta üzerinde yapılan bir diğer prospektif çalışmada ise *P. aeruginosa*'nın neden olduğu bakteriyemilerin % 77'sinin hastane kaynaklı olduğu ve bakteriyemilerin geliştiği hastaların % 58'inin immün sistemi baskılanmış durumda, % 84'ünün invazif işlemler geçirmiş oldukları saptanmıştır (69).

Hastanedeki infeksiyon kaynaklarını ise nemin bulunduğu her türlü ortam oluşturmaktadır. *P. aeruginosa* birçok organik maddeyi metabolize etme yeteneğinden kaynaklanan basit beslenme gereksiniminden dolayı, sulu sistemlerde aylarca canlı kalabilmekte ve dezenfektanlara direnç gösterebilmektedir (33, 126). Bu şekilde kontamine su veya dezenfektanların tatbik edilmiş olduğu, genel kullanımda yararlanılan araçlar ve tıbbi girişimler için kullanılan gereçler yoluyla bakteri hastalarda kolonize olabilmektedir (18). Buna virülan suşlara maruz kalma olasılığının fazla oluşu ve hastane ortamında yaygın bir şekilde antibiyotik kullanımının yarattığı selektif baskı ilave olunca kolonizasyon kolayca devamlılığını sürdürebilmektedir (14, 126). Bu nedenlerden dolayı hastaların hastanede kalış süreleri uzadığı oranda *P. aeruginosa* ile kolonize olma ve bir infeksiyonun ortaya çıkma riski artmaktadır.

Özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda yüksek oranda mortalite ile sonuçlanabilen *P. aeruginosa* infeksiyonlarını tedavi edilebilmek için kısa süre içersinde etkili bir tedaviye başlamak gerekmektedir (15, 69). Ancak *P. aeruginosa*'nın zaman içersinde antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi ve etkeni olduğu infeksiyonların tedavisinde güçlük yaratması,

farklı tedavi rejimlerinin denenmesine yol açmıştır. Bu nedenle 1980'li yılların başında antipseudomonal etkili antibiyotiklerin geliştirilmesine yönelik süreç başlamıştır. Çalışmamızın amacı bu süreç içerisinde geliştirilmiş olan ve antipseudomonal etkili kabul edilen antibiyotiklerin *P. aeruginosa* suşlarına karşı etkilerinin karşılaştırılması ve bu antibiyotiklerin amikasin ile kombine edilmesi sonucunda ortaya çıkan olası sinerjistik etkiye ait oranların araştırılmasıdır. Kombinasyonlarda amikasinin seçmemizin nedeni hızlı bakterisidal etki oluşturması, β -laktamlar ile kombine edildiğinde yüksek oranda sinerjistik etki göstermesi ve 1973 yılından beri tedavide kullanılmasına rağmen diğer aminoglikozitlere oranla bu antibiyotikle daha düşük düzeyde direncin görülmesidir (58, 102, 157, 160).



GENEL BİLGİLER

1. *Pseudomonas aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde yer alan antibiyotikler

Yeterli terapötik etkileri bulunmamasına rağmen, *P. aeruginosa*'nın etken olduğu infeksiyonların tedavisinde ilk kullanılan antibiyotikler polimiksin B ve ve kolistin olmuştur. 1963 yılında gentamisin klinik kullanıma girmesiyle tedavide etkili ilk antibiyotiğin kullanımına başlanmıştır. Bunu birkaç yıl sonra ilk antipseudomonal etkiye sahip bir β -laktam olan karbenisilin takip etmiştir. Ancak zaman içinde bu antibiyotiklere direncin gelişmesi, tedavide bu iki antibiyotiğin kombinasyon halinde denenmesine yol açmıştır. Daha sonra *P. aeruginosa*'ya karşı bu antibiyotiklerden daha etkili bir β -laktam ve aminoglikozit olan tikarsilin ve tobramisin kombinasyon halinde kullanılmıştır (14, 159). Elde edilen olumlu sonuçlar, özellikle immün yetmezliği bulunan hastalarda yüksek oranda mortaliteyle sonuçlanan *P. aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde hızlı bakterisidal etki sağlamak ve direnç gelişimini önlemek amacıyla antipseudomonal etkili bir β -laktam ile bir aminoglikozitin kombinasyon halinde kullanılmasından oluşan ampirik tedavi rejiminin benimsenmesine yol açmıştır (9, 59). Ancak 1980'li yıllarda Gram pozitif bakterilerin Gram negatif çomaklara oranla daha sık hastane infeksiyonu etkeni olarak izole edilmeleri, bu süreç içinde yeni β -laktamlar ve kinolonlar gibi *P. aeruginosa*'ya etkili antibiyotiklerin klinik kullanıma girmesi ve aminoglikozitlerin neden oldukları toksik etkilerden dolayı, araştırmacılar potansiyel alternatif tedavi rejimlerinin arayışına girmişlerdir (2, 67,158). Kullanıldıkları ilk dönemlerde oldukça etkili olan bu antibiyotiklerle *P. aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir (53, 107, 110, 112, 154). Ancak zaman içinde yeni β -laktamlarla monoterapi sırasında *P. aeruginosa*'nın direnç geliştirdiğini bildiren çalışmaların yayınlanması, bu problemi yine gündeme getirmiştir (17, 43, 81). Bu durum, aminoglikozitlerin toksik etkilerinden de kaçınmak için araştırmacıları tedavide iki β -laktam antibiyotiğin kombinasyon halinde kullanımına yöneltmiştir. Ancak iki β -laktamın

kullanıldığı kombinasyonlar özellikle indüklenebilen β -laktamaz enzimi taşıyan duyarlı *P. aeruginosa* suşlarının etken olduğu infeksiyonların tedavisinde başarısızlıkla sonuçlanmaktadır (129). Potansiyel antagonist etkileri dışında tedavide bu kombinasyonların kullanılmasıyla ortaya çıkabilen diğer problemler, tedavi sırasında β -laktamlara direncin gelişebilmesi, genelde β -laktamların kemik iliği üzerindeki toksik etkilerinden dolayı granülosit oluşumunu inhibe etmeleri ve ciddi süperinfeksiyonlara neden olabilmeleridir (5, 41, 105). Ayrıca yapılan çalışmalar, tedavide iki β -laktamın kombinasyon halinde kullanıldığı hastalarda iyileşme oranının bir β -laktamın bir aminoglikozitle oluşturulan kombinasyonlarına göre daha düşük oranda görüldüğünü göstermektedir (41). Bu durum aminoglikozitlerin, potansiyel toksik etkilerine rağmen özellikle immün yetmezliği bulunan hastalarda oluşan *P. aeruginosa* infeksiyonların tedavisinde β -laktamlarla kombinasyon halinde oluşturdukları hızlı bakterisidal etkiden dolayı, yeni gelişen antibiyotiklerin yanında tedavideki yerlerini koruyacaklarını göstermektedir.

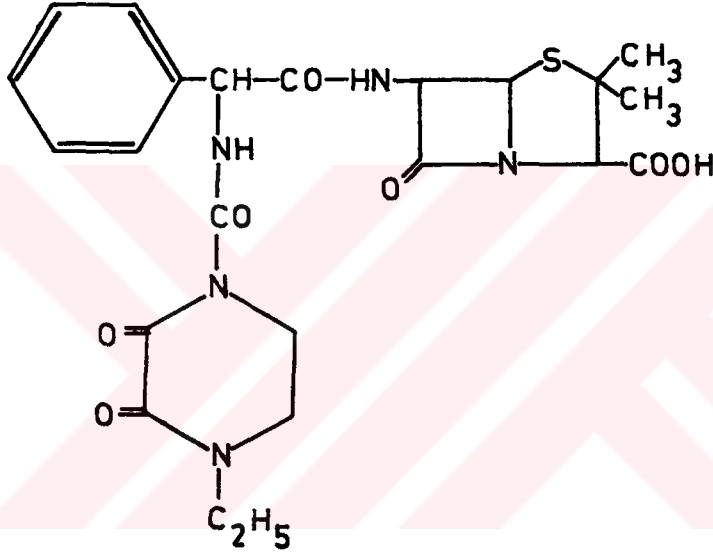
2. Piperasilin, seftazidim, aztreonam ve imipenemin yapısı, etki ve direnç mekanizması, in vitro etki spektrumu

2.1. Yapı-aktivite ilişkisi

β -Laktam grubu antibiyotikler içinde yer alan piperasilin, seftazidim, aztreonam ve imipenem sahip oldukları farklı çekirdek yapılarından dolayı sırasıyla penisilin, sefalosporin, monobaktam ve karbapenem olarak anılmaktadırlar.

Piperasilin β -laktam halkasına bağlı beş üyeli tiazolidin halkasından oluşan 6-amino-penisilanik asitten ibaret penisilin çekirdeğine sahiptir (Şekil 1). Yarı sentetik bir penisilin olan piperasilin, aminobenzilpenisilinin türevi olup, kimyasal yapısı sodyum 6-[D(-)-alfa-(4-etil-2,3-diokso-1-piperazinilkarbonilamino)-alfa-fenilasetamido] penisilinattan ibarettir (87). Ampisilin türevi olan piperasilinde, alfa-amino grubunun yerine bir üreido grubunun alması üç etkinin oluşumuna yol açmaktadır. Birinci etki; Gram pozitif mikroorganizmalara karşı gösterdiği aktivitenin ampisiline çok yakın olmasıdır; streptokokları penisilin G veya ampisiline yakın

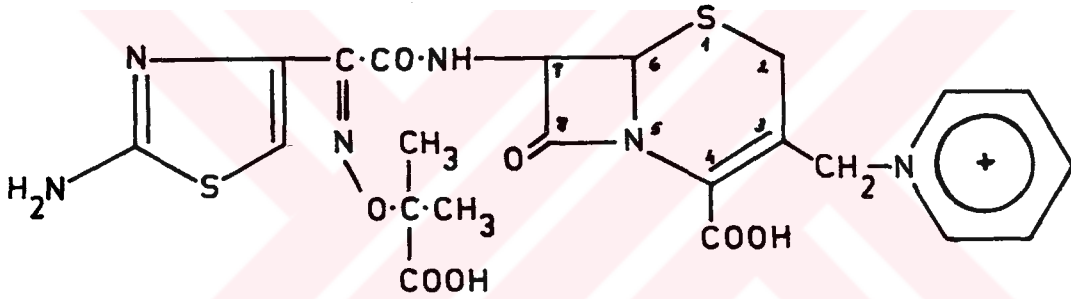
konsantrasyonlarda inhibe etmektedir. İkinci etki; karbenisilin veya tikarsiline dirençli Klebsiella cinsinden suşlara etkili olabildiği gibi, P.aeruginosa'ya karşı daha düşük konsantrasyonlarda etki etmesidir. P.aeruginosa'ya karşı oluşturduğu etkiye, sahip olduğu piperazinil halkası da katkıda bulunmaktadır. Üçüncü etki ise; moleküllerinin 9-C konumunda bir asidik fonksiyon içeren karbenisilin ve tikarsilin gibi bileşiklere göre Bacteroides fragilis gibi anaerop bakterileri daha düşük konsantrasyonlarda inhibe etmesidir. Bu durum penisilin bağlayan proteinlere (PBP) daha fazla ilgi göstermesinden kaynaklanmaktadır (53, 106, 147).



Şekil 1. Piperasiline'nin kimyasal yapısı

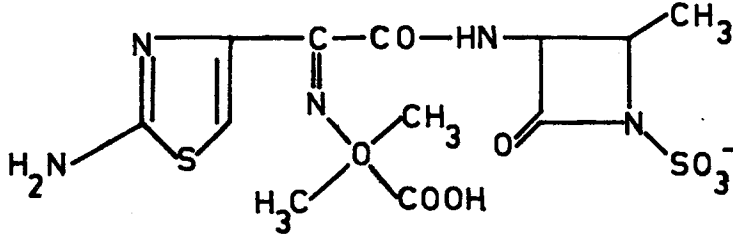
Seftazidim β -laktam halkasına bağlı altı üyeli dihidrotiazin halkasından oluşan 7-amino-sefalosporanik asitten ibaret sefalosporin (sefem) çekirdeğine sahiptir (Şekil 2). Sübstitüsyonlar 3 ve 7 numaralı karbon atomlarına ve açıl yan dallarına yapılmıştır. 3. karbon atomuna bağlı yan dallarda yapılan değişiklikler daha çok farmakolojik özellikleri etkilemekte ise de bazı grupların varlığı kısmen de olsa antibakteriyel aktivitenin değişmesine yol açmaktadır. Örneğin seftazidimde bulunan piridinium metil grubu bileşiğin antipseudomonal aktivitesinde katkıda bulunmaktadır. Molekülün 7. karbon atomuna bağlı yan dalda bulunan aminotiazolil grubu β -laktamazlara karşı stabilitede önemli bir etki sağlamazken, PBP'lere özellikle PBP 1b ve PBP 3'e olan ilgiyi ve periplazmaya girişi arttırmaktadır.

Bileşğin β -laktamazlara stabilitesini sağlayan grup ise oksim grubudur. Seftazidimin C-10 konumunda içerdiği karboksipropil oksiminino grubu β -laktamaz indüksiyonunun azalmasına neden olduğu gibi, β -laktamazlara stabiliteyi de arttırmaktadır. Ancak seftazidimin içerdiği karboksipropil grubu Gram pozitif bakterilere karşı belirgin, Enterobacteriaceae'deki suşlara karşı olan aktivitesinde metoksiimino bileşiklere göre orta derecede bir azalmaya neden olurken, *P. aeruginosa*'ya karşı olan aktivitesinde önemli bir artışın olmasına yol açmaktadır. Bu grubun bileşiğe kazandırmış olduğu bir diğer özellik, diğer aminotiazolil sefalosporinlere dirençli olan *Serratia*, *Acinetobacter* ve *P. maltophilia* suşlarına karşı etkili olmasını sağlamasıdır (106, 110).



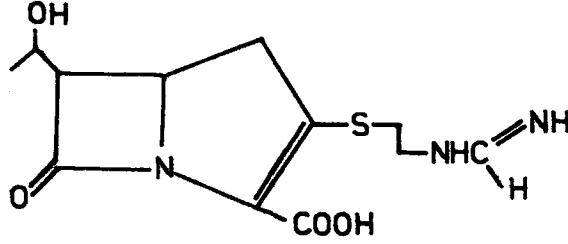
Şekil 2. Seftazidimin kimyasal yapısı

Bisiklik β -laktamların aksine yapısında sadece bir β -laktam halkası içeren aztreonam 3-amino-monobaktamik asitten (3-AMA) oluşan monobaktam çekirdeğine sahiptir (Şekil 3). Sentetik bir β -laktam olan aztreonamın, monobaktamik çekirdeğinin N-1 konumundaki azota bağlı içerdiği sülfonik asit grubu, bakteriyel hücre duvarının sentezini inhibe eden β -laktam halkasını aktive etmektedir. Açıl yan dalında içerdiği aminotiazol oksim grubu bileşğin aerop Gram negatif bakterilere karşı göstermiş olduğu aktiviteden sorumludur. Oksim grubuna bağlı olan iminopropilkarboksil grubu *P. aeruginosa*'ya karşı aktivitenin ve β -laktamazlara stabilitenin artmasına yol açmaktadır. 3-AMA çekirdeğinin 4-C konumunda bulunan alfa-metil grubu ise aztreonamı plazmit kaynaklı β -laktamazların hidrolizasyonuna karşı korumaktadır (16, 106, 112).



Şekil 3. Aztreonamın kimyasal yapısı

Diğer β -laktam grubu antibiyotiklerden farklı olarak karbapenemler β -laktam halkasının yanında doymamış beş üyeli bir halka ve bu halkada kükürt atomunun yerine bir karbon atomu içermektedirler (Şekil 4). Bu grubun ilk analogu olan tienamisin *Streptomyces cattleya*'dan elde edilmiş, sentez yoluyla daha sonraki türevleri geliştirilmiştir (12). Tienamisinin karbapen-2-em-3-karboksilik asitten oluşan çekirdeği, Enterobacteriaceae'deki birçok bakteriye karşı oldukça yüksek aktivite göstermesine yol açmaktadır. Moleküle bir 6-(1R-hidroksietil) yan dalının ilave edilmesi sonucunda stafilokoklara ve *P. aeruginosa* suşlarına karşı olan aktivite ve β -laktamazlara stabilite artmıştır. Bu yan dalın trans R konfigürasyonunda bulunması, molekülün β -laktamazlara yüksek derecede stabilite göstermesini sağlamaktadır. Ancak kimyasal açıdan stabil olmayan bu molekül, tienamisinin kristalin N-formimidoil türevi olan imipenemin geliştirilmesiyle bu sorun giderilmiş olduğu gibi *P. aeruginosa*'ya karşı olan aktivitede bir artış elde edilmiştir. İlginç olan amidinin nükleofilik olmadığı halde molekülün stabil ve yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olmasıdır (12,106,107). Ancak imipenem tek başına verildiğinde renal dehidropeptidazlarca inaktive edilmektedir. Silastatin ile birlikte kullanıldığında ise renal dehidropeptidaz I tarafından hidrolizasyona uğraması önlediği gibi, imipenemin tek başına uygulandığında neden olduğu nefrotoksik etkiler de bertaraf edilmektedir (12).



Şekil 4. İmipenemin kimyasal yapısı

2.2. Etki mekanizması

Bakteri hücrelerini sınırlayan ve ona belirli bir morfoloji veren peptidoglikan tabaka, ard arda dizilmiş N-asetilglukozamin (NAG) ve N-asetilmüramik asit (NAM) ünitelerinden oluşan peptidoglikan zincirlerden ve NAM ünitelerine bağlı tetrapeptit takılardan ibarettir. NAM ünitelerinin arasında çapraz peptid bağlarının oluşturulmasıyla peptidoglikan suda erimeyen ve dayanıklı olan kafes şeklindeki görünümünü kazanmaktadır (68, 145). Bu çapraz peptid bağlarının oluşumuna, NAM ünitesine bağlı ve son iki amino asidi D-alanin olan pentapeptitte D-alanil-D-alanin bağının kırılmasını ve sondaki D-alanin açığa çıkarken kalan D-alaninin bir diğer NAM ünitesindeki peptit takısının 3. amino asidi ile peptid bağının oluşmasını sağlayan transpeptidaz enzimleri neden olmaktadır. Transpeptidaz enzimlerinin yanısıra NAM'a bağlı pentapeptitten son D-alanini ayıran ancak öncekini bir başka amino aside bağlamayan karboksipeptidazlar ve çapraz peptid bağlarını ayıran endopeptidazlar da hücre duvarı sentezinde rol oynamaktadır. Bu enzimlerin aktif bölgeleri serin amino asidinin bulunduğu bölgedir. Bu aktif bölgeleri ile enzimler pentapeptit takının sonundaki D-alanil-D-alanine bağlanabildikleri gibi stereoik yapı benzerliğinden β -laktam halkasının -CO-N- bağıyla da bağlanabilmektedirler. Bu özelliklerinden dolayı hücre duvarı sentezinde rol oynayan transpeptidaz, karboksipeptidaz ve endopeptidaz enzimlerine penisilin bağlayan protein (PBP) denilmektedir (68). Bu şekilde üremekte olan bakterinin PBP'lerine bağlanarak hücre duvarındaki peptidoglikan sentezini çapraz bağların oluşumu safhasında

inhibe eden β -laktam antibiyotiklerin etki mekanizması gerçekleşmektedir. Bakteri hidrolazlarının da olaya katılması sonucunda, hücre duvarı örgüsünü kaybeden hücre ölür. Ancak β -laktam grubu antibiyotiklerin etkisi bakteri hücrelerinde kendilerine afiniteleri olan PBP'lerin hücredeki fonksiyonlarına, sayılarına, buldukları bakterinin türüne bağlı olarak değişmektedir. PBP'lerin fonksiyonları ile ilgili araştırmalar genellikle *Escherichia coli*'de yapılmışsa da, enterobakterilere ve *P. aeruginosa* gibi diğer Gram negatif çomaklara ait PBP'lerin *E. coli*'nin PBP'leriyle fonksiyonel benzerlik gösterdikleri ileri sürülmektedir (38). *E. coli*'de hücrenin sitoplazma zarında yer alan PBP'lerden molekül ağırlığı büyük olan PBP 1a, 1b, 2 ve 3 hücrenin yaşamı için önemli fizyolojik fonksiyonları üstlenirken, β -laktam grubu antibiyotikler için letal hedefleri oluşturmaktadır (68, 136). Bu proteinler hücrede transpeptidaz olarak fonksiyon görmektedirler. Bakterinin gelişmesinde elongasyon faktörü olarak rol oynayan PBP 1a ve 1b β -laktam antibiyotiklerle inhibe edildiğinde bakterinin uzaması durur ve ikincil bir etki olarak erimesine neden olmaktadır. Bunlardan PBP 1b hücrenin uzaması için daha fazla önem taşımaktadır. PBP 2 bloke edildiğinde ise çomak şeklindeki bakteri hücresi küresel şekil alır. Ancak daha yüksek konsantrasyonlarda uzun süre bekletildiğinde bakteri erimesi görülür. Septal peptidoglikan sentezinden sorumlu bir transpeptidaz olan PBP 3 β -laktam antibiyotiklerle bloke edildiğinde bakteri bölünemediği için filaman şeklini almaktadır (45, 68, 136). Düşük molekül ağırlığına sahip olan PBP'lerden PBP 4 karboksipeptidaz ve endopeptidaz aktivitesine, PBP 5 ve 6 daha çok karboksipeptidaz aktivitesine sahip olup, hücrenin yaşamı için yüksek molekül ağırlıklı PBP'ler kadar önemli değildirler (68). Piperasilin, seftazidim ve aztreonamın PBP 3'e olan yüksek ilgilerinden dolayı hücrede filaman oluşumuna, PBP 1a'ya olan ilgilerinden dolayı da hücrenin erimesine neden olmaktadır. PBP 1a'ya göre hücre için daha önemli rolü olan PBP 1b'ye olan ilgi aztreonam için zayıfken, piperasilin ve özellikle seftazidim için daha fazladır (45, 56, 68). İmipenem ise PBP'lerden 1, 2, 4, 5 ve 6'ya yüksek ilgi gösterirken PBP 3'e düşük oranda bağlanmaktadır (137). İmipenemin özellikle PBP 2'ye olan yüksek ilgisi bakteri hücrelerinin ozmotik olarak stabil küresel şekline dönüşmesine neden olmakta, PBP'lerden 1a ve 1b'ye olan ilgisi de hücrenin hızla erimesine yol açmaktadır (45, 137).

2.3. Direnç mekanizması

β -Laktam grubu antibiyotiklere direnç dış membran geçirgenliğinin azalması, bakterideki PBP'lerin antibiyotiğe afinitesinin azalması ve antibiyotiğin bakterinin oluşturduğu β -laktamazlarca tahrip edilmesi sonucunda ortaya çıkmaktadır (108, 136).

PBP'lerdeki bir mutasyon sonucu antibiyotiğe afinitenin değişmesine bağlı direnç Gram pozitif bakteriler, *Haemophilus influenzae* ve *Neisseria gonorrhoeae* gibi Gram negatif bakterilerde önemliyken hastane infeksiyonu etkeni Gram negatif patojenler ile ender görülmektedir (93). Genellikle β -laktam antibiyotiklerin bakteride birden fazla letal hedefleri olduğundan sadece bir PBP'nin değişmesi ile direnç gelişmemekte; ayrıca β -laktam antibiyotikler açıl-D-alanil-D-alanın grubunun strüktürel analogu gibi davrandıklarından mutasyon sonucu β -laktam antibiyotiğe afinitesini yitiren PBP, peptidoglikan sentezindeki fonksiyonunu da yitireceğinden bu mekanizma ile direnç yüksek seviyede olmamaktadır (68, 136).

β -Laktamazlarla direnç, enzime duyarlı antibiyotiklerin β -laktam halkalarındaki siklik amid bağının hidrolize edilmesi sonucunda antibakteriyel aktivitenin yitilmesiyle ortaya çıkmaktadır. Bu enzimler Gram pozitif bakterilerde ekstraselüler karakterdeyken, Gram negatif bakterilerde periplazmik mesafede yer almaktadır. β -Laktamaz enzimleri bakteri kromozomunda veya plazmitte kodlanmaktadırlar. Gram negatif bakterilerdeki kromozomal β -laktamaz enzimleri konstitütif veya indüksiyon sonucu oluşturulmaktadır (108, 141). İmipenem, seftazidim ve aztreonam Richmond ve Sykes'in sınıf I'de yer alan konstitütif β -laktamazlarına dirençliyken, aztreonam bazı *Klebsiella* cinsindeki suşlar tarafından oluşturulan sınıf IV'e ait K1 enzimlerince hidrolize edilmektedir (10, 77, 111, 112). Richmond ve Sykes'in sınıf I'de yer alan kromozom kaynaklı indüklenebilen β -laktamaz enzimleri ise *P. aeruginosa* suşlarının neredeyse tamamı, *Enterobacter* cinsinden suşların birçoğu *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, indol-pozitif *Proteus* türleri, *Providencia* ve *Serratia* tarafından oluşturulmaktadır (48, 108). Son yıllarda bu tip suşların etken olduğu infeksiyonların tedavisi sırasında " β -laktamazlara stabil" geniş spektrumlu β -laktam antibiyotiklere direncin gelişmesi, indüklenebilen β -laktamazların

klirik 6nemini arttırmıştır (43, 52, 81). İnd6klenebilen β -laktamaz enzimleri ile direnç farklı mekanizmalarla gelişmektedir. Bunlardan biri geriye d6n6ř6ml6 olup, sadece ortamda ind6kt6r madde bulunduğu s6rece enzimi içeren bakteri tarafından oluşturulmaktadır (130). İmipenem kuvvetli bir ind6kt6r olmasına rağmen bu enzimlerden etkilenmemektedir (152). Piperasilin zayıf bir ind6kt6r olmakla birlikte sınıf I β -laktamazlarına labil olduğundan, ortamda ind6kt6r madde bulunduğu takdirde hızla hidrolize olmaktadır. Sınıf I enzimlerine labil olan zayıf ind6kt6r antibiyotiklerin ind6klenebilen β -laktamaz oluşturan suşlara karşı aktivitelerinin imipenem veya sefoksitin gibi kuvvetli ind6kt6rlerce antagonize edilmesi, tedavide bu tip iki β -laktam antibiyotiğin kombinasyon halinde kullanıldığı durumlarda sorun yaratmaktadır. Zayıf ind6kt6rler olan seftazidim ve aztreonam ise bu enzimlere karşı daha stabildirler. Ortamda herhangi bir ind6kt6r bulunmadığı s6rece bu mekanizmayla zayıf ind6kt6r olan β -laktamlara direnç gelişmemektedir (89,130). Bir diğer mekanizma ise bakterinin spontan mutasyon sonucunda stabil-dereprese mutantlara d6n6şmesiyle ortamda ind6kt6r madde olmaksızın y6ksek seviyede β -laktamaz enzimlerinin oluşturulmasıdır. Bu durum tedavi sırasında kullanılan geniş spektrumlu β -laktam antibiyotiklere direncin gelişmesine neden olmaktadır (17, 81, 89, 130). İnd6klenebilen β -laktamaz pop6lasyonlarında stabil-dereprese mutantların g6r6lme sıklığı 10^{-8} - 10^{-5} arasında olmakta ve bakteriye, antibiyotiye, infeksiyon yerine ve konağa bağlı olarak değişmektedir. Bu durum en çok E. cloacae ve P. aeruginosa suşlarında g6r6lmekle birlikte, 6zellikle P. aeruginosa'nın etken olduğu infeksiyonların tedavisinde başarsızlıklara neden olmaktadır. β -Laktam antibiyotikler arasında sadece imipenem stabil-dereprese mutantları seğmemektedir. Diğer taraftan β -laktamazlara labil ve zayıf ind6kt6r olan β -laktamlar 6zellikle bunların arasında, mutant segregasyon s6recini azaltacağından, hızlı bakterisidal etkiye sahip olanlar diğer β -laktamlara g6re bu t6r mutantları daha y6ksek seviyede seğmektedirler. Piperasilin stabil-dereprese mutantlar tarafından hızla hidrolize edilirken, seftazidim β -laktamazlara stabil olduğu halde dereprese mutantlara karşı aktivitesi aztreonama oranla d6ř6kt6r (36, 89, 130). Bu durum muhtemelen seftazidimin bakteri h6cresinin dış membranından daha yavaş geçmesinden kaynaklanmaktadır (156). Bunların dışında dereprese mutantların seçimi 6zellikle kronik infeksiyonlarda ve

konağa alt savunma mekanizmalarının hasar gördüğü hastalarda daha sık rastlanmaktadır (52). İndüklenebilen β -laktamazlarla direnç non-hidrolytik bir mekanizmayla da ortaya çıkabilmektedir (128, 129). Bu mekanizmada, indüklenebilen β -laktamaz enzimi içeren bakteri veya stabil-dereprese mutant tarafından yüksek seviyede oluşturulan β -laktamaz enzimleri antibiyotiği hidrolyze etmeden bağlayarak, biyolojik olarak inaktif enzim-antibiyotik komplekslerinin oluşumuna neden olmaktadır. Böylece enzim miktarının artmasına bağlı olarak, antibiyotığın hedef aldığı PBP'lere ulaşmasını engelleyen bir non-hidrolytik bariyer oluşmaktadır. Bu mekanizmayla direnç daha çok aztreonam ve seftazidim gibi β -laktamazlara stabil olan, ancak antibakteriyel etkisini bakteri hücrelerinde birçok PBP'lere bağlanarak oluşturan β -laktam antibiyotiklerle görülmektedir. İmipenem ise bu mekanizmadan etkilenmemektedir. Çünkü bir bakteri hücrelerinde ortalama 20 adedin bulunduğu PBP 2'lere bağlanmakta ve etkisini gösterebilmek için birkaç molekül imipenemin bariyeri geçmesi yeterli olmaktadır (128, 129, 152). İmipenemin şimdiye kadar anlatılan direnç mekanizmalarından etkilenmemesi, onun çapraz dirençlerde yer almasına neden olmaktadır.

Klinik önemi olan β -laktamazların birçoğu plazmidlerle kodlandığı gibi transpozonlarda da taşınabilmektedir. TEM, OXA, SHV, HMS ve PSE gibi isimler alan bu enzimler bakteride konstitütif olarak sentezlenmektedir. Piperasilin farklı düzeyde de olsa tüm plazmidal β -laktamazlarca hidrolyze edilmekte, bunlardan TEM β -laktamazlarına karbenisilinden daha fazla duyarlık göstermektedir (53). Aztreonam ve seftazidim ise plazmidal β -laktamazlara genellikle yüksek seviyede direnç göstermektedir. Sık rastlanılan TEM-1 , TEM-2 ve bunlara oranla daha ender rastlanılan OXA-2 , SHV-1 β -laktamaz enzimlerinin aztreonama biraz etkisi bulunmakta, pseudomonaslara özgü PSE 1-4 enzimlerinden PSE-2 aztreonamı düşük oranda hidrolyze etmektedir (10, 140). Seftazidim ise tüm bu enzimlere yüksek stabilite göstermektedir (110, 140). Ancak son yıllarda ortaya çıkan geniş spektrumlu β -laktamazlardan TEM-5 (CAZ-1) ve CAZ-2 seftazidime diğer β -laktamlara oranla yüksek aktivite göstermektedir (74, 121). Aztreonam ve seftazidim TEM-6, TEM-9, SHV-4 ve SHV-5 gibi geniş spektrumlu β -laktamazlarca hidrolyze olabilirken, imipenem ne klasik ne de geniş

spektrumlu β -laktamazlar tarafından parçalanmaktadır (74, 90, 111, 121). Son yıllarda yapılan çalışmalarda bazı *Bacteroides fragilis*, *E. cloacae* ve *S. marcescens* suşlarında, suşlar arasında transfer edilemeyen, karbapenemleri hidrolize eden β -laktamazlar tanımlanmıştır (155). Ancak Japonya'da izole edilen bir *P. aeruginosa* suşunda birçok β -laktam antibiyotiğinin yanısıra imipenemi de hidrolize eden, suşlar arasında transfer edilebilen plazmit kaynaklı bir β -laktamazın tanımlanmış olması rahatsız edicidir (149). Dikkat çekici olan karbapenemleri hidrolize eden β -laktamazların genelde aktif bölgelerinde çinkonun yer aldığı metaloenzimler olmalarıdır (149).

Hücre duvarı geçirgenliğinin azalmasına bağlı direnç özellikle *P. aeruginosa* infeksiyonlarında önem kazanmaktadır. Gram negatif bakterilerin hücre duvarı kompleks bir yapı göstermektedir (Şekil 5). Hücre duvarındaki ince peptidoglikan tabakanın dışında lipopolisakkarit (LPS) ve fosfolipid içeren bir dış membran, iç kısmında fosfolipid yapıda bir sitoplazma zarı bulunmaktadır (127). Hidrofilik antibiyotikler hidrofob yapıdaki dış membrandan ancak porin proteinlerinin oluşturduğu su dolu kanallardan geçerek bakterideki hedeflerine ulaşabilmektedirler. Enterobakterilerden farklı olarak *P. aeruginosa*'daki porin proteinlerinin büyük bir kısmı, büyük molekül ağırlıklı maddelerin geçişini sağlayan F proteinleri oluşturmaktadır. Ancak bir hücrede bulunan F proteinlerinin sayısı 200.000 civarında olmasına rağmen, bunların % 1'inden azı aktif bir kanal olarak iş görmektedir. Bu fonksiyonel F proteinlerinin sayısını peptidoglikan ve LPS ile trimer oluşturan F proteinlerine nonkovalan olarak bağlı LPS molekülleri tayin etmektedir (65). *P. aeruginosa* suşlarında fonksiyonel F proteinlerinin azalmasına bağlı olarak birçok β -laktam antibiyotiğe direnç gelişirken, imipenemin aktivitesini sürdürebilmesi, bu antibiyotiğin dış membrandan geçerken farklı bir yol kullandığını göstermektedir (90, 148, 152). Yapılan çalışmalarda tedavi sırasında imipeneme direnç kazanan ancak diğer β -laktamlara duyarlı kalan *P. aeruginosa* suşlarında molekül ağırlığı 45.000 olan dış membran proteinlerinin eksik olduğu gösterilmiştir (26, 124). Diğer β -laktamlardan farklı olarak imipenem *P. aeruginosa*'nın dış membranından geçerken molekül ağırlığı 45.000 olan D2 proteinlerini tercih etmektedir (143, 144). Bu durum imipenem ile diğer β -laktam antibiyotikler arasında çapraz direncin görülmeşiğine neden olmaktadır (26). Bunun dışında molekülün

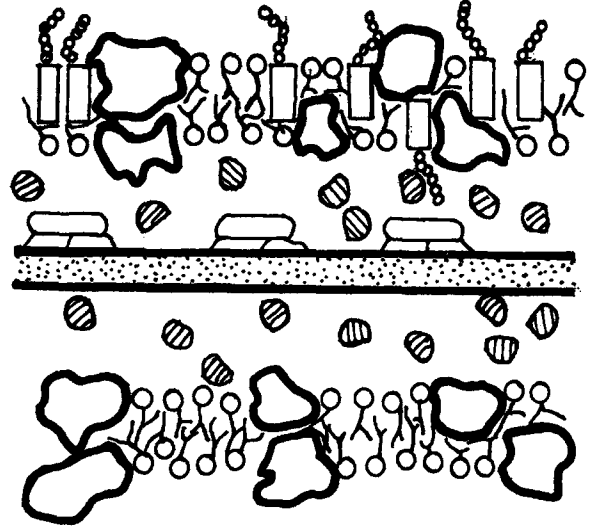
Dış membran

Periplazmik ara

Peptidoglikan

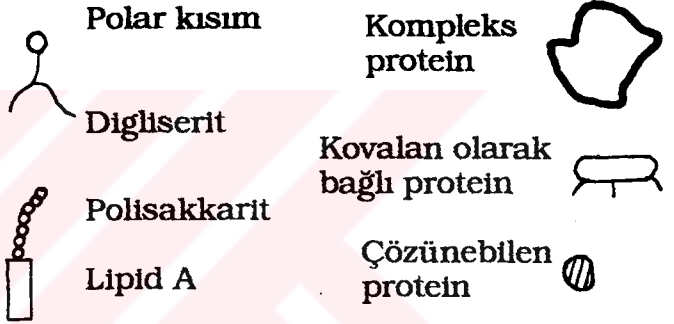
Periplazmik ara

Sitoplazma membranı



Fosfolipid

Lipopolisakkarit



Şekil 5. Gram negatif bakterinin yüzey tabakaları

hidrofobisitesi, taşıdığı elektrik yükü ve hacmi gibi antibiyotiğe ait özellikler de porinlerden geçişi etkilemektedir (114, 156). Molekülün hidrofobisitesi arttıkça porinlerden geçişi güçleşmektedir. Penisilinler sefalosporinlere oranla daha hidrofobik olmalarına rağmen geçiş yolu olarak fosfolipid tabakayı da kullanabilmektedirler. Molekülün taşıdığı negatif yük sayısı arttıkça porinlerden geçişi güçleşmektedir. İmipenem gibi zwitteriyonik özellik gösteren bileşikler diğer antibiyotiklere göre daha hızlı porinlerden geçebilmektedirler. Seftazidim gibi bir pozitif, iki negatif yük taşıyan bileşikler, piperasilin gibi monoanyonik bileşiklere göre, monoanyonikler ise aztreonam gibi dianyoniklere göre daha kolay geçiş göstermektedirler. Ancak seftazidimin sahip olduğu iyonik yapıya rağmen düşük permeabilite

göstermesi, oksim grubunda taşıdığı negatif yükten kaynaklanmaktadır. Benzer durum aynı grubu taşıyan aztreonam için de geçerli olmaktadır (156). Bu özelliklerin yanı sıra antibiyotiğin sahip olduğu yan dallara bağlı olarak hacmi büyüdükçe porinlerden geçişi yavaşlamaktadır. İmipenem zwitteriyonik olmasının yanı sıra sahip olduğu kompakt yapıdan dolayı β -laktamlar arasında en yüksek permeabilite gösteren antibiyotik özelliğini taşımaktadır. Aztreonamın diğer dianyonik bileşiklere göre daha yüksek geçirgenlik göstermesi ise sahip olduğu monobaktamik çekirdekten kaynaklanmaktadır. Piperasilin monoanyonik olmasına rağmen 7-C konumundaki yan dalında bir üreido grubu gibi geniş hacimli bir süstitüsyon içermesi porinlerden geçişinin yavaşlamasına neden olmaktadır (156). Dış membrandan geçişi yavaş olan β -laktam antibiyotikler β -laktamazlara stabil oldukları takdirde etkili periplazmik konsantrasyona ulaşabilmektedirler. Ancak bu antibiyotiklere direnç, daha önce bahsedildiği gibi, kromozomal β -laktamazlarca oluşturulan nonhidrolitik bariyer ile bloke edilmeleri sonucu ortaya çıkabilmektedir (129).

2.4. İn vitro etki spektrumu

Piperasilin β -laktamazlara stabil olmamasına rağmen, bakteri hücresi için önemli olan PBP'lere bağlanabilmesi ve dış membrandan geçebilme yeteneği antibakteriyel aktivitesine katkıda bulunmaktadır. Piperasilinin enterokoklar dışındaki streptokokların büyük bir kısmını ampisiline eşit konsantrasyonlarda; enterokok ve stafilokokları ise yakın, *Neisseria* ve *Haemophilus influenzae* suşlarını biraz daha yüksek konsantrasyonlarda inhibe etmektedir. Enterobacteriaceae'deki cinslere, *P. aeruginosa*'ya ve *Bacteroides fragilis* gibi anaerob bakterilere etkilidir. *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* ve *Bacteroides*'lere karşı etkisi karbenisilinden daha fazla olup, *P. aeruginosa*'ya karşı en yüksek aktivite gösteren penisilindir (53, 147).

Seftazidimin stafilokok ve streptokoklara karşı etkisinin penisilinler ve birinci jenerasyon sefelasporinlere oranla daha düşük olduğu gözlenmektedir. Enterokoklara karşı ise genellikle etkisizdir. Enterobacteriaceae'deki cinslerin büyük bir kısmına oldukça etkilidir. Bunların arasında sadece *Citrobacter freundii* ve *Enterobacter aerogenes* ile dirençli suşlara daha sık rastlanılmaktadır. Çoğul dirençli suşlar dahil olmak üzere

Haemophilus influenzae, *Neisseria gonorrhoeae* ve *N.meningitidis*'e etkilidir. *P. aeruginosa*'ya karşı en yüksek aktivite gösteren sefalosporindir. Ayrıca diğer *Pseudomonas* türlerinin çoğuna ve *Acinetobacter* türlerine etkilidir. *B. fragilis* suşlarına sefoksitinden daha düşük etki göstermektedir (60, 77, 110, 151).

Aztreonam strüktürel konfigürasyonundan dolayı gerekli PBP'lere bağlanamadığından Gram pozitif bakterilere ve anaeroplara etki gösterememektedir (56). Ancak buna karşın aerob Gram negatif bakterilere olan antibakteriyel aktivitesi oldukça yüksektir. Aztreonam *Enterobacteriaceae*'deki cinslerin büyük bir kısmına oldukça yüksek aktivite göstermektedir. Ancak seftazidime dirençli *C. freundii*, *Enterobacter cloacae* ve *E. aerogenes* suşları aztreonama da direnç göstermektedir. Çoğul dirençli suşlar dahil olmak üzere *H. influenzae* suşlarına ve *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* gibi Gram negatif koklara etkilidir. *P. aeruginosa*'ya oldukça etkilidir, ancak bu bakteriyi inhibe etmek için gereken konsantrasyon genellikle seftazidimin iki katı kadar olmaktadır. Diğer *Pseudomonas* türlerine genellikle etkisizdir. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* türleri aztreonama genellikle direnç göstermektedir (49, 112, 140). Penisilin ve sefalosporinlere göre aztreonamın klinik kullanımındaki üstünlüğü bu antibiyotikle oldukça düşük oranda immünolojik ilaç reaksiyonlarına ve çapraz-reaktiviteye rastlanılmasındadır (131). Araştırmalarda çapraz-reaktivitenin daha çok seftazidime allerjisi olan kişilerde görüldüğü ve bunun muhtemelen aynı yan dalı içermesinden kaynaklandığı gösterilmiştir (101).

İmipenem metisiline dirençli suşlar dahil olmak üzere *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı oldukça yüksek aktivite göstermektedir. Aynı şekilde diğer stafilokok türlerine ve enterokok dışındaki streptokoklara da etkilidir. Enterokoklardan *Streptococcus faecalis*'i inhibe etmek için yüksek konsantrasyon gerekmekte, *S. faecium* suşları ise direnç göstermektedir (31, 80, 86, 111). Ayrıca diğer β -laktamlardan farklı olarak *Listeria*'lara da etkilidir (31, 111). Bazı üçüncü jenerasyon sefalosporinlere dirençli suşlar dahil olmak üzere *Enterobacteriaceae*'deki cinslere yüksek aktivite göstermektedir. Bunların arasında bazı *C. freundii*, *Proteus vulgaris* ve *E. cloacae* suşlarında

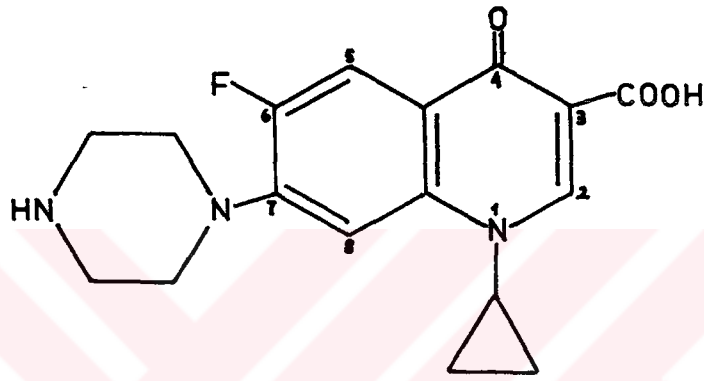
dirence rastlanmıştır (90, 111, 148). Çoğul dirençli suşlar dahil olmak üzere Haemophilus ve Neisseria'lara etkilidir. P. aeruginosa suşlarına oldukça yüksek aktivite göstermekte iken, P. maltophilia ve P. cepacia suşlarına genelde etkisizdir (80, 86, 97). Bazı Clostridium difficile suşları dışında anaeroblara, özellikle B. fragilis'e yüksek aktivite göstermektedir (31, 86, 111). İmipenemin stafilkokları, streptokokları, enterobakterileri, P. aeruginosa'yı, Bacteroides ve Clostridium gibi anaeroblara içine alan geniş etki spektrumuna sahip olması, onu diğer β -laktam antibiyotiklerden farklı kılmaktadır. Bir diğer özelliği, β -laktamların Gram negatif bakterilere karşı çok ender postantibiyotik etki göstermesine rağmen, imipenemin P. aeruginosa üzerinde iki saatlik postantibiyotik supressif etki oluşturmasıdır (24). Bu etki aminoglikozitlerin oluşturduğu postantibiyotik etki ile kıyaslanabilir düzeyde olup, imipeneme diğer β -laktamlardan farklı bir üstünlük kazandırmaktadır.

3. Siprofloksasinin yapısı, etki ve direnç mekanizması, in vitro etki spektrumu

3.1. Yapı-aktivite ilişkisi

Sentetik antibiyotikler olan florokinolonların klinik kullanıma giren ilk analogu, 1962'de idrar yolu infeksiyonlarının tedavisi için kullanılmaya başlanan, bir nonflorin bileşik olan nalidiksik asittir. Son yıllarda geliştirilen ve 1-sübstitüsyonlu 1,4-dihidro-4-okso-piridin-3 karboksilik asit kısmına sahip olan yeni kinolonlar, eski türevlerine göre daha geniş ve etkili bir antibakteriyel etki spektrumuna sahip olup, daha düşük oranda dirençli bakterilerin seleksiyonuna uğramaktadırlar. Kinolonların antibakteriyel aktivitesi, bakteri hücrelerine penetrasyonu ve DNA girazı inhibe edici potansiyeli oranında artmakta, kimyasal yapısında bulundurduğu sübstitüentlere bağlı olarak değişmektedir (20, 30, 70, 72). Kinolonların N-1 konumundaki sübstitüsyonu bileşiğin antibakteriyel aktivite yönünden özelliğini vermektedir. Siprofloksasinin N-1 konumunda içerdiği siklopropil sübstitüenti, onun diğer kinolonlara göre Enterobacteriaceae ailesindeki cinslere ve P. aeruginosa'ya karşı daha etkili olmasını sağlamaktadır (Şekil 6). Molekülün 3 ve 4 konumunda yer alan karboksilik asit ve keto grubu arasındaki bağ DNA giraza bağlanması için gereklidir. Bileşiğin C-6

konumunda içerdiği flor atomu DNA giraz inhibisyonunu ve bakteri hücre sine penetrasyonu arttırdığından antibakteriyel potansiyelin artmasına yol açmaktadır. Siprofloksasinin C-7 konumundaki piperazin halkası hücre geçirgenliğinden sorumlu olup, bileşiğin Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı eski kinolonlara oranla daha etkili olmasını, özellikle P. aeruginosa'ya karşı aktivitenin artmasını sağlamaktadır (30, 35).



Şekil 6. Siprofloksasinin kimyasal yapısı

3.2. Etki mekanizması

Siprofloksasinin diğer kinolonlar gibi bakteri hücre sinde hedef aldığı bölge, bakterinin yaşamını sürdürebilmesi için gerekli bir enzim olan deoksiribonükleik asit (DNA) girazdır (73). Bu enzim bakteri hücre sinin boyundan büyük olan kromozomal DNA'nın hücre içine sığmasını sağlamaktadır. DNA giraz enzimi tip II topoizomerazların bir üyesi olup gyrA ve gyrB genleri tarafından kodlanan iki A ve iki B alt birimlerden oluşmuştur. Saflaştırılmış DNA giraz, kovalan olarak bağlı bulunan sirküler DNA'nın içersinde negatif süpersarmal kıvrımlar oluşturmakta ve ATP'nin yardımıyla geriye dönüşümlü olarak çift iplikçikli DNA'yı keserek, onların bir zincirdeki halkalar gibi birbirine tekrar bağlanmasını sağlamaktadır. DNA ve saflaştırılmış DNA giraz, kinolonlar ve ardından bir iyonik deterjan ile muamele edildiğinde çift iplikçikli DNA , ayrılmış her iki DNA zincirinin 5' ucu ile giraz A alt biriminin tirozin-122 amino asidi arasındaki fosfotirozin

bağından bölgeye özgül bir şekilde kesilmektedir. Bu şekilde kinolonlar DNA girazın A alt birimine bağlanarak enzime ait olan kesme ve tekrar bağlanma fonksiyonunun tekrar bağlanma reaksiyonunu seçici bir şekilde inhibe etmektedirler. DNA giraz enzimi intraselüler DNA'da bulunan negatif süpersarmal kıvrımların oluşumundan sorumlu olduğu gibi DNA replikasyon çatalının başlaması ve ilerlemesi için de gereklidir. Kinolonlar replikatif DNA sentezini hızla durdurarak replikasyon çatalının ilerlemesini engellemektedirler. DNA giraz enzimi ayrıca belirli operonların transkripsiyonunda, DNA'nın tamirinde ve rekombinasyonda rol oynamaktadır. Tüm bu aktiviteler kinolonlarca antagonize edilmektedir (70,72,73).

Son çalışmalarda, kinolonların DNA girazın kendisinden ziyade, DNA girazın DNA üzerinde oluşturduğu özgül bölgelere bağlandıkları ileri sürülmektedir. Kinolonlar DNA veya saflaştırılmış DNA giraza çok düşük oranda bağlanırken, ATP varlığında oluşturulan DNA-DNA giraz komplekslerine yüksek oranda bağlanmakta ve ATP varlığında DNA'nın DNA giraz üzerinde yoğun bir şekilde katlanarak göstermiş olduğu strüktürel değişimi bloke etmektedirler (72). Bir diğer yaklaşım ise kinolonların oluşturduğu ilaç-DNA-DNA giraz kompleksinin hücreye zehire benzer bir etki gösterdiği şeklindedir (70). Kinolonların antibakteriyel potansiyelinin DNA giraza bağlı DNA-süper kıvrılma aktivitesini antagonize etme yeteneğine bağlı olarak arttığı ispat edilmişse de, biyolojik etkinliğinde hangi mekanizmanın daha önemli rol oynadığı ileri araştırmaları gerektirmektedir (70, 73).

Kinolonlar düşük konsantrasyonda DNA sentezini inhibe ederek bakterisidal etki gösterirken, yüksek konsantrasyonda protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki göstermektedirler(70). Rifampin ve kloramfenikolün kinolonların DNA sentezini inhibe edici etkilerini değiştirmeden bakterisidal aktivitelerini azaltmaları, kinolonların bakterileri öldürebilmek için DNA sentezi inhibisyonunun yanı sıra yeni RNA ve protein sentezine gereksinim duyduklarını göstermektedir. Ancak siprofloksasin ve ofloksasinin bakterisidal aktiviteleri diğer kinolonlara göre rifampinden daha az etkilenmektedir. Aynı şekilde yüksek konsantrasyonda RNA ve protein sentezinin inhibe edilmesine bağlı olarak yüksek konsantrasyonlarda kinolonların bakterisidal aktiviteleri azalırken, siprofloksasin ve ofloksasin ile

önemli bir değişiklik gözlenmemektedir. Kinolonların bakterisidal aktivite-lerine katkıda bulunan bir diğer özellikleri, bakteriyel SOS (RecA) DNA tamir sisteminin potansiyel uyarıcıları olmalarıdır. Bunun sonucunda bakteri hücrelerinde filamantasyon, vakuol oluşumu ve hücre lizisinde artış görülmektedir. Siprofloksasin MİK değerlerine eşit veya daha yüksek konsantrasyonlarda bu değişikliklere neden olmaktadır (72).

3.3. Direnç mekanizması

Siprofloksasin gibi yeni florokinolonlara karşı direnç, hedef aldığı DNA giraz enziminin değişikliğe uğraması ve dış membran geçirgenliğinin azalması şeklinde iki mekanizma ile gerçekleşmektedir. Kinolonları parçalayan veya inaktive edebilen bir bakteriyel enzim tanımlanmamıştır.

Genel olarak kinolonlara duyarlı bakterilerde direnç gelişimi tek basamaklı spontan mutasyonla olmaktadır. Kromozomal olan bu direnç, antibiyotiğin hedef aldığı *gyrA* geninin mutasyona uğraması sonucu oluşmaktadır (73). Siprofloksasin için bu tek basamaklı spontan mutasyonun görülme sıklığı birçok bakteri türü için 10^{-10} dan az iken, *P. aeruginosa* için 10^{-8} olarak hesaplanmıştır. Mutasyonla direnç gelişimine neden olan gen lokusları incelendiğinde ise, nalidiksik asit için en az on gen lokusu gösterildiği halde siprofloksasin için iki lokus saptanmıştır (73, 109). Ayrıca, bugüne kadar *gyrB* geninde nalidiksik aside karşı direnç oluşumuna neden olan iki mutasyon saptanmıştır. Bu mutasyonlardan biri (*nalD*) yeni kinolonlara karşı direncin artmasına neden olurken, diğeri (*nalC*) siprofloksasin gibi 7-C konumunda bir piperazinil sübstitüenti içeren kinolonlara duyarlığa yol açmaktadır (71, 73).

Siprofloksasinin DNA sentezini inhibe edebilmesi için öncelikle bir bariyer oluşturan dış membrandan geçmesi ve ardından hücre içersinde belirli bir konsantrasyona ulaşması gerekmektedir. Bunun için ilk basamak olan hücre yüzeyine bağlanma, düşük pH ve Mg iyonları varlığında azalmaktadır (11). Hücre içersine giriş basit difüzyonla olmakta ve bunun için porin yolu kullanılmaktadır. Bir diğer yol ise katyonik bileşiklerce kullanılan hidrofobik yol olup, kinolonların hidrofobisitesi oranında kullanımı artmaktadır (20, 66). Siprofloksasinde bu oran düşük olmasına rağmen, dış

membranın yapısal bütünlüğünü sağlayan Mg^{2+} iyonu ile etkileşerek lipopolisakkarit tabakada açtığı deliklerden hücre içine geçebilmektedir. Ancak genelde tercih ettiği yol porin yoludur. Kinolonlara karşı dış membran geçirgenliğinin değişmesine bağlı direnç genelde pleiotropik olmaktadır. Bakteride *cfxB* mutasyonunun meydana gelmesi sonucunda, *OmpF* porin dış membran proteinlerinin azalmasına bağlı olarak geçirgenlik azalmakta ve siprofloksasine karşı direnç gelişmektedir (28, 73). Ayrıca *P. aeruginosa* gibi dış membran geçirgenliğinin doğal olarak düşük olduğu bakterilerde bu tip dirence daha sık rastlanmaktadır (11, 65). Ancak siprofloksasin gibi 7-C konumunda bir piperazin halkası içeren kinolonlar, dirence neden olan bu bariyerden daha kolay geçebilmektedirler.

Siprofloksasine karşı plazmide bağlı dirence bugüne kadar rastlanmamıştır. Yapılan çalışmalarda siprofloksasinin subinhibitör konsantrasyonlarda plazmidi elimine, inhibitör konsantrasyonlarda ise konjugasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda ise antibiyotik letal etkisi hakim olmaktadır (150). Ancak genelde kinolonların plazmidler üzerindeki bu etkisi spesifik plazmidlere, konak bakteriye ve kinolon konsantrasyonuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Klinik açıdan kinolonlara önemli bir değer kazandıran bu durumun, plazmid profillerinin esas alındığı epidemiyolojik çalışmalarda komplikasyonlara neden olabileceği ileri sürülmektedir (72).

3.4. İn vitro etki spektrumu

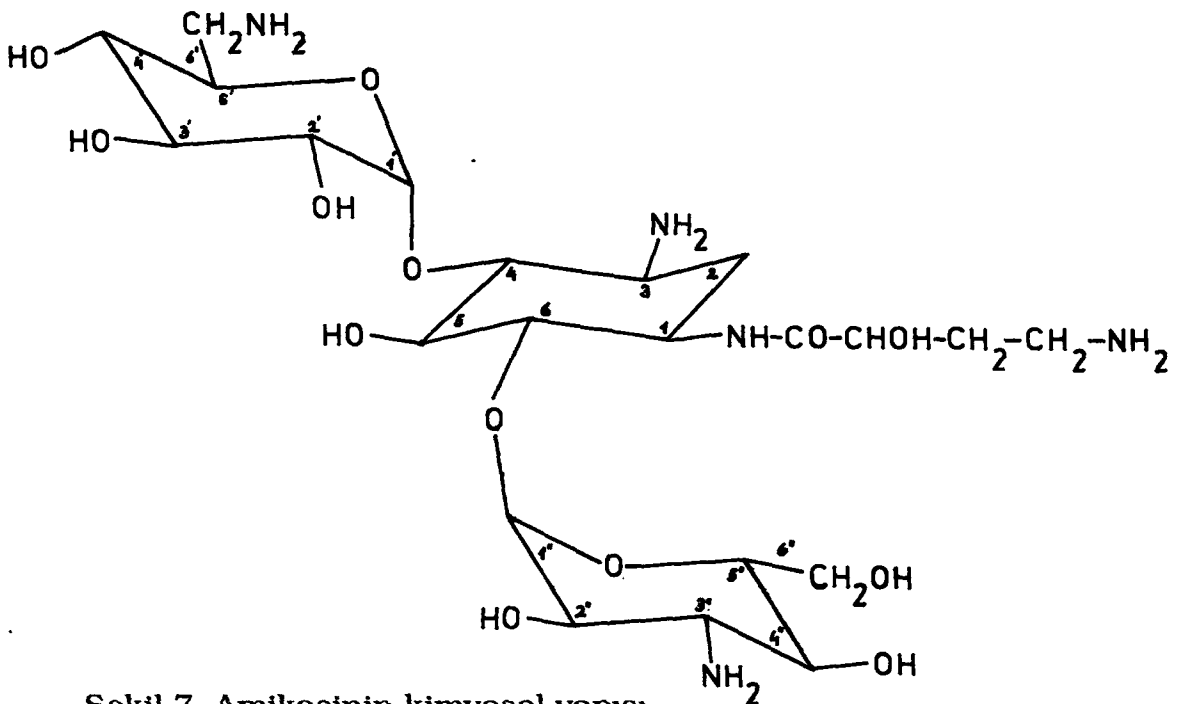
Siprofloksasin çoğul direnç gösteren suşlar dahil olmak üzere *Enterobacteriaceae* ailesindeki cinslere, *H. influenzae* dahil olmak üzere Gram negatif çomaklara, *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* ve *Branhamella catarrhalis* dahil olmak üzere Gram negatif koklara karşı çok iyi etki göstermektedir. En önemlisi *P. aeruginosa*'ya karşı oldukça yüksek aktivite gösteren ilk oral yolla kullanılabilen antibiyotik oluşudur. *S. aureus* ve diğer stafilokok türlerine karşı iyi etki gösterirken, streptokoklara karşı biraz daha düşük etkilidir. Siprofloksasin *Mycobacterium tuberculosis*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* ve *M. xenopi*'ye karşı etkiliyken, bu etki *M. avium* kompleksine karşı daha zayıf olmaktadır. Siprofloksasin ayrıca *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, riketsiya türlerine ve *Plasmodium falciparum*'a karşı

etkili bulunmuştur. Anaerob bakterilere karşı ise etkisi zayıf olup, *Candida albicans*'a karşı aktivite göstermektedir (153, 154).

4. Amikasinin yapısı, etki ve direnç mekanizması, in vitro etki spektrumu

4.1. Yapı-aktivite ilişkisi

Bir aminoglikozit grubu antibiyotik olan amikasin, *Streptomyces kanamyceticus*'un ürünü olan kanamisin A'nın asetillenmesi sonucu elde edilen yarısentetik türevidir (87, 134). Aminoglikozitler santral bir heksoza glikozid bağlarıyla bağlı genellikle iki aminoşekerden oluşmuş aminoglikozidik aminosiklitollerdir. Amikasinde bu heksoz, yani aminosiklitol, bir 2-deoksistreptamindir (Şekil 7). Yapılarında 2-deoksistreptamin halkası içeren aminoglikozitler, bakteri ribozomunun alt birimlerinde birçok bölgeye bağlanma yeteneğine sahiptirler (1, 98). Bu yeteneğinden dolayı ribozomda oluşabilecek tek basamaklı bir mutasyon sonucu antibiyotiğe direnç gelişemeyeceği gibi, antibakteriyel etkisini gösterebilmek için gerekli olan yeterli düzeydeki intraselüler birikimini sağlayabilmektedir. Amikasinin 2-deoksistreptamin halkasının 1-C konumundaki amino grubuna bağlı olarak içerdiği 2-hidroksi-4-aminobutiril yan dalı, bu antibiyotiği diğer aminoglikozitleri modifiye eden bakteriyel enzimlerin büyük bir kısmına karşı dirençli kılmaktadır (94, 95, 98).



Şekil 7. Amikasinin kimyasal yapısı

4.2. Etki mekanizması

Aminoglikozitlerin etki mekanizması üç aşamada gerçekleşmektedir. Birinci aşamada katyonik yapıdaki aminoglikozit negatif yüklü bakteri yüzeyine bağlandıktan sonra Gram negatif bakterilerin porin proteinlerinden geçerek sitoplazma zarına ulaşmakta ve burada bulunan fosfolipidlerin fosfat kısımlarına ve solunum kinonlarına iyonik olarak bağlanmaktadır. Aminoglikozitlerin *P. aeruginosa*'nın dış membranından geçebilmek için kullandıkları bir diğer yol, LPS molekülleri arasında çapraz köprüler kurarak dış membranın bütünlüğünü sağlayan Mg^{2+} iyonlarının yerine geçmeleri sonucu membranda açtıkları deliklerdir (66, 100). Bu ilk aşamayı enerjiye gereksinim gösteren iki aşama izlemektedir. Aminoglikozitlerin sitoplazma zarından hücre içine girebilmeleri için gerekli olan elektron transportunu taşıyıcı olan kinonlar sağlamaktadır (21). Yeterli miktardaki aminoglikozit ile bağlanan taşıyıcılar, redüksiyona uğrayarak negatif polarite oluştururlar. Bu şekilde membran potansiyelinin eşik düzeye ulaşmasıyla aminoglikozitler sitoplazma zarından geçirilirler. Aminoglikozitlerin ribozomdaki hedeflerine bağlanmaları oranında hücre içersindeki birikimleri artar (1). Belirli bir konsantrasyona ulaşıncaya, artan elektronegatifliğe bağlı olarak aminoglikozitlerin yüksek düzeydeki geçişlerinin gerçekleştiği enerjiye bağımlı ikinci aşama başlar (21). Ribozomların 30S alt birimlerindeki spesifik reseptörlerine dönüşümsüz bir şekilde bağlanan aminoglikozitler, m-RNA'nın şifreyi yanlış okumasına ve hatalı amino asitlerin peptide girmesine; bunun sonucunda işlevi olmayan proteinlerin üretimine yol açarak bakterinin ölümüne neden olurlar (98). Letaliteye katkıda bulunan bir diğer durum ise, her transferden sonra sitoplazma zarının bütünlüğünü yitiren hücreden önce K^+ gibi küçük iyonların, daha sonra daha büyük moleküllerin ve nihayet proteinlerin kaybolmasıdır (21).

4.3. Direnç mekanizması

Aminoglikozitlere direnç üç mekanizma ile gerçekleşebilmektedir. Bunlardan birincisi bakteride hedef aldığı ribozomların değişikliğe uğraması, ikincisi antibiyotiğin hücre içersine transportunun azalması veya engellenmesi, üçüncüsü ise bakteriye ait enzimlerce inaktive edilmesidir (40).

Aminoglikozitlerin bakteri hücrelerinde hedef aldığı ribozomların mutasyon sonucu değişikliğe uğramasıyla, antibiyotiğin antibakteriyel etkiyi oluşturacak yeterli düzeydeki intraselüler birikimi engellenmiş olmaktadır (1). Ancak amikasin gibi yapılarında bir 2-deoksistreptamin halkası içeren aminoglikozitler ribozomun alt birimlerinde birçok bölgeye bağlanma yeteneğine sahip olduklarından bu mekanizma ile direnç çok ender görülmektedir (98).

Aminoglikozitlerin hücre içersine transportunun azalmasına veya engellenmesine bağlı direnç, genellikle transport sistemindeki bir defekten dolayı yeterli düzeydeki antibiyotiğin hücre içinde birikmemesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu tip direncin karakteristik özelliği tüm aminoglikozitlere çapraz direncin oluşumuna yol açması, direncin düşük düzeyde olması ve dirençli suşların duyarlılara oranla daha yavaş üremesidir (40). Bu tür dirençte genellikle kinonlar gibi terminal elektron transportunu sağlayan komponentlerde veya membranın elektrik potansiyelinde bir azalma söz konusudur. Ayrıca pH, iki değerli katyonların konsantrasyonlarında ve üreme şartlarındaki değişimler gibi fenotipik faktörler de bu tür dirence neden olmakta; ancak uygun şartlar tekrar sağlandığında genellikle geriye dönüşümlü olabilmektedir (19). Örneğin anaerob şartlarda üretilen fakültatif bakterilerde gelişen aminoglikozit direnci, membranın elektrik potansiyelinin azalmasına bağlı olarak etkili bir proton motiv gücünün oluşturulamaması sonucu ortaya çıkmakta; ancak bu durum aerob şartlarda tekrar geriye dönebilmektedir (40, 98). Ancak *P. aeruginosa* suşlarında görülen bu mekanizmaya bağlı direnç, genellikle geriye dönüşümsüz olmakta ve dış membrandaki LPS'lerde oluşan S-R değişimi nedeniyle ortaya çıkmaktadır (19). Enzimatik modifikasyona karşı oldukça dayanıklı olan amikasine direnç, genellikle bu mekanizma ile görülmektedir. Bu tür direncin tehlikeli yanı, tüm aminoglikozitlere karşı oluşması ve amikasini de içine alan endemik aminoglikozit direncinin ortaya çıkmasına yol açmasıdır (94, 158).

Aminoglikozitleri modifiye eden enzimler plazmidler tarafından kodlandığı gibi transpozonlarda da taşınabilmekte ve etkilerine göre asetiltransferazlar (AAC), fosforilazlar (APH) ve nükleotidil transferazlar veya

adenil transferazlar (ANT veya AAD) olmak üzere üç grupta toplanmaktadırlar (94, 146). Bu enzimler amino gruplarını asetilleyerek, hidroksil gruplarını fosforilasyon veya adenilasyona uğratarak antibiyotiği modifiye etmektedirler. Bakterinin sitoplazma zarında veya periplazmik aralığında bulunan bu enzimler aminoglikozitleri modifiye ederek antibiyotiğin sitoplazmaya girişi için gerekli olan elektron transport sistemini işlemez hale getirmektedirler. Böylece sitoplazmada ribozomların alt birimlerine bağlanmak için gerekli olan antibiyotiğin yeterli miktardaki birikimi engellenmiş olmaktadır (1, 21). Bu mekanizmaya bağlı direnç, bakteriyel transport hızıyla enzimatik modifikasyon hızı arasında oluşan rekabetin sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (19). Aminoglikozitlere ve β -laktam antibiyotiklere direncin mekanizmaları arasında görülen önemli fark, aminoglikozitlere dirençte, kültür ortamında modifiye edilmiş antibiyotiğin bulunmaması ve aktif aminoglikozit konsantrasyonunun değişmeden kalmasıdır. Sadece plazmidal modifiye edici enzimleri taşıyan hücreler yaşamını sürdürebilmekte ve düşük miktardaki modifiye edilmiş aminoglikozit sadece hücre sitoplazmasından izole edilmektedir. Oysa β -laktamazlar kültür ortamındaki β -laktamların nerdeyse tamamını inaktive etmekte, bu şekilde tedavi sırasında duyarlı bakterilerin de yaşamını sürdürebilmesine yol açmaktadır (40). Yapılan çalışmalar aminoglikozitleri inaktive eden birçok enzimin bulunduğunu göstermektedir. Amikasin diğer aminoglikozitlerden ayıran önemli özelliği, içerdiği 2-hidroksi-4-aminobutiril yan dalından ötürü, inaktive edici enzimlerin büyük bir kısmına dirençli oluşudur. Amikasin sadece *P. aeruginosa*'da bulunan bir asetiltransferaz, bazı stafilokoklarda bulunan ancak klinik açıdan fazla önem taşımayan bir adeniltransferaz, bazı stafilokok ve enterokoklarda bulunan bir fosfotransferaz tarafından inaktive edilmektedir; bunlar sırasıyla AAC (6'), AAD (4') ve APH (3') enzimleridir (40, 98, 133, 134). Yapılan çalışmalarla *P. aeruginosa* suşlarında AAC (6'), ANT (2'') ve izoenzimleri dahil olmak üzere AAC (3) enzimlerini kodlayan genlerin bulunabildiği ve bunların dünyadaki dağılımının farklı olduğu gösterilmiştir (94, 133). Örneğin AAC (6') genini taşıyan suşlara Uzak Doğu'da; ANT (2'') genine Birleşik Amerika'da; AAC (3) genine ise Şili'de daha sık rastlanmaktadır. Amikasin bu enzimlerin arasında sadece AAC (6') ile inaktive edilmekte, ve bu oran aynı enzimle inaktive olan aminoglikozitlere

göre daha düşük olmaktadır (94). Bakterinin bu geni taşımasına rağmen amikasinine duyarlı kalmasının nedeni, büyük bir olasılıkla amikasinin asetilasyonuna ait Michaelis-Menten sabitesinin bu enzim için çok yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Ancak amikasinin yoğun kullanımıyla AAC (6') genini taşıyan suşların seleksiyona uğrayabileceği olasılığı göz ardı edilmemelidir (158). Bu nedenle bu antibiyotığın diğer aminoglikozitlere dirençli olan suşların etken olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılmak üzere rezerve antibiyotik olarak saklanması gerektiği düşünülmektedir.

4.4. İn vitro etki spektrumu

Amikasin diğer aminoglikozitler gibi anaerob bakterilere etki göstermemektedir. Streptokoklar ve *Listeria monocytogenes* genellikle dirençlidir. Ancak metisiline dirençli suşlar dahil olmak üzere *S. aureus* ve diğer stafilkoklara etkilidir (78, 98). *N. gonorrhoeae* ve *N. meningitidis*'i de içine alan tüm Gram negatif koklara etkilidir. Ampisiline dirençli suşlar dahil olmak üzere *H. influenzae*'ye etkilidir (78). Amikasin ayrıca *Mycoplasma*, *Legionella pneumophila* ve diğer aminoglikozitlerden farklı olarak *Mycobacterium fortuitum* ve *M. chelonae* suşlarına karşı aktivite göstermektedir (98). En önemlisi *Enterobacteriaceae*'deki cinslere ve *P. aeruginosa*'ya karşı, gentamisine dirençli suşlar dahil olmak üzere, yüksek aktivite göstermesidir (94, 134).

Diğer aminoglikozitler gibi amikasin de nefrotoksik potansiyele sahip olup, gösterdiği etki netilmisininkine eşit, gentamisine oranla daha düşük düzeyde olmaktadır. Vestibülotoksik potansiyeli gentamisin ve tobramisine eşit, kokleotoksisite ise kısmen daha yüksek oranda görülmektedir (79). Ancak yapılan çalışmalar aminoglikozitlerin neden olduğu düşünülen nefrotoksik etkilere hipotansiyon, diüretik, radyokontrast madde gibi diğer potansiyel kofaktörlerin sorumlu olabileceğini göstermektedir (157). Aminoglikozitlerin *P. aeruginosa* suşları üzerinde oluşturdukları post-antibiyotik etkiden yararlanılarak, doz aralıklarını uzatmak suretiyle olası toksik etkilerden kaçınılabilir (32).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın rutin laboratuvarlarında incelenen, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 152 adet *Pseudomonas aeruginosa* suşu kullanılmıştır. Bu suşların 64'ü idrardan, 44'ü boğaz salgısından, 37'si cerrahatten, 5'i kulak salgısından, 2'si kandan izole edilmiştir.

1. Kullanılan antibiyotikler ve çözeltileri

Çalışmada kullanılan antibiyotiklerden seftazidim (aktivitesi 987 µg/mg) Glaxo Müstahzarları A.Ş., aztreonam (aktivitesi 982.6 µg/mg) E.R. Squibb & Sons İlaçları A.Ş., siprofloksasin (aktivitesi 992 µg/mg) Bayer Türk, imipenem (aktivitesi 936 µg/mg) Merck Sharp & Dohme, piperasilin (aktivitesi 966 µg/mg) ve amikasin (aktivitesi 658.5 µg/mg) Eczacıbaşı İlaç Sanayii ve Ticaret A.Ş. tarafından temin edilmiştir.

Antibiyotiklerin stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bunun için aşağıdaki formülden yararlanılmıştır.

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

Antibiyotiklerin herbiri hesaplanan miktarda Mettler H72 terazisinde tartılmış, yeterli miktardaki uygun çözücüde çözündürüldükten sonra, steril seyreltici ile 2000 µg/ml'lik stok çözeltileri hazırlanmıştır. Çözücü olarak amikasin, piperasilin ve siprofloksasin için damatik su, imipenem için pH 7.2 fosfat tamponu, aztreonam için doymuş sodyumbikarbonat çözeltisi, seftazidim için sodyum karbonat çözeltisi* kullanılmıştır. Seyreltici olarak ise

*Sodyum karbonat çözeltisi, seftazidimin hesaplanan ağırlığının tam % 10'u kadar miktarda tartılan anhidrid sodyum karbonatın gerekli olan en az miktardaki damatik suda çözündürülmesiyle hazırlanmıştır. Antibiyotik, hazırlanan bu çözücüde çözündürüldükten sonra istenen hacime steril damatik suyla tamamlanmıştır.

imipenem için pH 7.2 fosfat tamponu, diğer antibiyotikler için damıtık su kullanılmıştır. İmipenem dışındaki antibiyotiklere ait stok çözeltileri bir ay içinde deneylerde kullanılmak üzere -20°C'de saklanmıştır, imipenem ise günlük hazırlanmıştır (6, 22, 104).

2. Kullanılan besiyerleri

2.1. Mueller Hinton Buyyonu (Difco)

Bu besiyerini hazırlamak için toz haldeki Mueller Hinton buyyonundan 21 g tartılıp, Erlen Meyer şişelerinde 200 ml'lik miktarlarda dağıtılmış ve otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

Hazırlanan bu besiyerine iki değerli katyonlar olan kalsiyum ve magnezyumun damıtık sudaki tuz çözeltileri ilave edilmiştir. Bunun için $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ve $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ kullanılarak iki değerli katyonların 10 mg/ml'lik çözeltileri hazırlanıp, membran filtre tekniğiyle (Sartorius 0.2 μm) steril edilmiştir. Hazırlanan bu çözeltiler 4°C'de saklanmıştır. Mueller Hinton buyyonuna magnezyum iyonlarını içeren stok çözeltiden 25 mg/l, kalsiyum iyonlarını içeren stok çözeltiden ise 50 mg/l olacak şekilde ilave edilerek katyon ilaveli Mueller Hinton buyyonu hazırlanmıştır.

2.2. Triptik Soya Buyyonu (Difco)

Toz haldeki triptik soya buyyonundan 30 g tartılıp, 1000 ml damıtık suda çözüldürüldükten sonra tüplere 3 ml miktarlarda dağıtılmış ve otoklavda 121°C'de 15 dakika bekletilerek steril edilmiştir.

2.3. Triptik Soya Agar (Difco)

Toz haldeki triptik soya agardan 40 g tartılıp, 1000 ml damıtık suda çözüldürüldükten sonra Erlen Meyer şişelerine 200 ml miktarlarda dağıtılmış ve otoklavda 121°C'de 15 dakika bekletilerek steril edilmiştir. Kullanılacağı zaman eritilerek Petri kutularına uygun miktarlarda dağıtılmıştır.

3. İnokulumun hazırlanması

3.1. McFarland standardının hazırlanması

Çalışmada 0.5 McFarland'ın standart bulanıklığı esas alınmıştır. Bunu

hazırlamak için 0.5 ml 0.048 M BaCl₂ çözeltisi (BaCl₂.2H₂O'nun % 1.175 lik çözeltisi a/h) 99.5 ml 0.18 M H₂SO₄ çözeltisine (H₂SO₄'ün % 1'lik çözeltisi h/h) ilave edilmiştir.

3.2. Bakteri süspansiyonlarının hazırlanması

Çalışmada kullanılacak *P. aeruginosa* suşlarının eğik triptik soya agar besiyerindeki kültürleri Petri kutusundaki triptik soya agar besiyerine azaltma yöntemiyle yayılmış, 37°C'de bir gecelik inkübasyondan sonra oluşan 3-4 koloniden içinde 3 ml triptik soya buyyonu bulunan tüplere ekim yapılmıştır. Ekim yapılan tüpler 37°C'lik etüvde 5 saat bekletildikten sonra, bulanıklığı steril damıtık su ile 0.5 McFarland standardına göre ayarlanarak *P. aeruginosa* suşlarının 10⁸ CFU/ml'lik süspansiyonları elde edilmiştir. Bu süspansiyonların 2.1 kısmında bildirilen katyon ilaveli Mueller Hinton buyyonunda 1/100 oranında seyreltilmesiyle, bakterilerin inokulum olarak kullanılan 10⁶ CFU/ml'lik süspansiyonları elde edilmiştir.

3.3. İnokulumdaki mikroorganizma sayısının saptanması

Hazırlanmış 3.2 kısmında bildirilen inokulum steril fizyolojik tuzlu suda 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ oranlarında seyreltilmiş ve her seyreltmeden 100'er µl alınarak Petri kutusundaki triptik soya agarının yüzeyine tatbik edilmiştir. Tatbik edilen sıvı steril cam çubuk yardımıyla besiyerinin tüm yüzeyine yayılmış, kuruduktan sonra 37°C'lik etüvde bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün oluşan koloniler sayılmış, seyreltme faktörü dikkate alınarak inokulum olarak kullanılan bakteri süspansiyonunun mililitresindeki mikroorganizma sayısı (CFU/ml) saptanmıştır.

4. Diğer malzemeler

Çalışmada U tabanlı 96 kuyu içeren mikropiplaklar kullanılmıştır. Mikropiplakların sterilizasyonu etilen oksit ile yapılmıştır.

Antibiyotik çözeltilerinin ve bakteri süspansiyonlarının mikropiplaklara uygulanması sekiz kanallı pipetör (Transferpette-8, Brand) yardımı ile gerçekleştirilmiştir. Pipetöre ait plastik uçların sterilizasyonu otoklavda 121°C'de 15 dakika bekletilerek yapılmıştır.

5. Minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) saptanması

5.1. Deney koşullarının standardizasyonu

Çalışmada kullanılan yöntemin uluslararası standartlara uygunluğunu saptamak amacıyla *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu kullanılmıştır (104, 142). Bu amaçla antibiyotiklerin 5.2 kısmında bildirilen konsantrasyonları, hazırlanışı 2.1 kısmında bildirilen katyon ilaveli Mueller Hinton buyyonunda mikrodilüsyon yöntemiyle hazırlanmıştır. Daha sonra kuyulara 3.2 kısmında bildirildiği şekilde hazırlanan *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunun süspansiyonu ilave edilmiş, mikroplağın üzeri kapatılarak 37°C'de 18-20 saat inkübasyona bırakılmış, üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon (MİK) saptanmıştır.

5.2. Çalışmada kullanılan antibiyotiklere ait MİK değerlerinin saptanması

Çalışmada mikrodilüsyon yöntemiyle 152 adet *P. aeruginosa* suşuna karşı piperasilin, seftazidim, aztreonam, imipenem, siprofloksasin ve amikasinin MİK değerleri araştırılmıştır.

Mikrodilüsyon yöntemiyle antibiyotiklerin MİK değerlerini saptamak için öncelikle mikroplağın 1 numaralı kolonu dışında kalan kuyularına hazırlanışı 2.1 kısmında bildirilen katyon ilaveli Mueller Hinton buyyonundan 50'şer μ l konulmuştur. Mikroplağın 1 ve 2 numaralı kolonlarına antibiyotiklerin katyon ilaveli Mueller Hinton buyyonundaki son konsantrasyonun iki misli konsantrasyondaki çözeltilerinden 50'şer μ l ilave edildikten sonra pipetör yardımıyla 2 numaralı kuyudan 11'inci kuyuya kadar bir seri dilüsyon yapılmıştır. Bundan sonra mikroplağın A kolonundaki 12 numaralı kuyusu dışında kalan tüm kuyularına, hazırlanışı 3.2 kısmında bildirilen 10^6 CFU/ml'lik bakteri süspansiyonunda 50'şer μ l konularak 1-11 numaralı kuyularda antibiyotiklerin istenen konsantrasyonlarına ulaşılmıştır. Bu konsantrasyonlar piperasilin ve aztreonam için 512-0.5 μ g/ml; seftazidim, imipenem ve amikasin için 128-0.125 μ g/ml; siprofloksasin için 16-0.015 μ g/ml değerleri arasında olacak şekilde hazırlanmıştır. A kolonunun 12 numaralı kuyusu besiyerinin sterilite, mikroplaktaki diğer tüm 12 numaralı kuyular ise deneyde kullanılan suşların üremesi için kontrol olarak

kullanılmıştır. Ekim yapılan mikroplakların üzeri steril bir plastik kapakla örtülmüş, buharlaşmayı önlemek amacıyla bir naylon kılıf içine yerleştirildikten sonra etüvde 37°C'de 18-20 saat inkübe edilmiştir. Ertesi gün üremenin gözle görülmediği en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edilmiştir (Şekil 8).

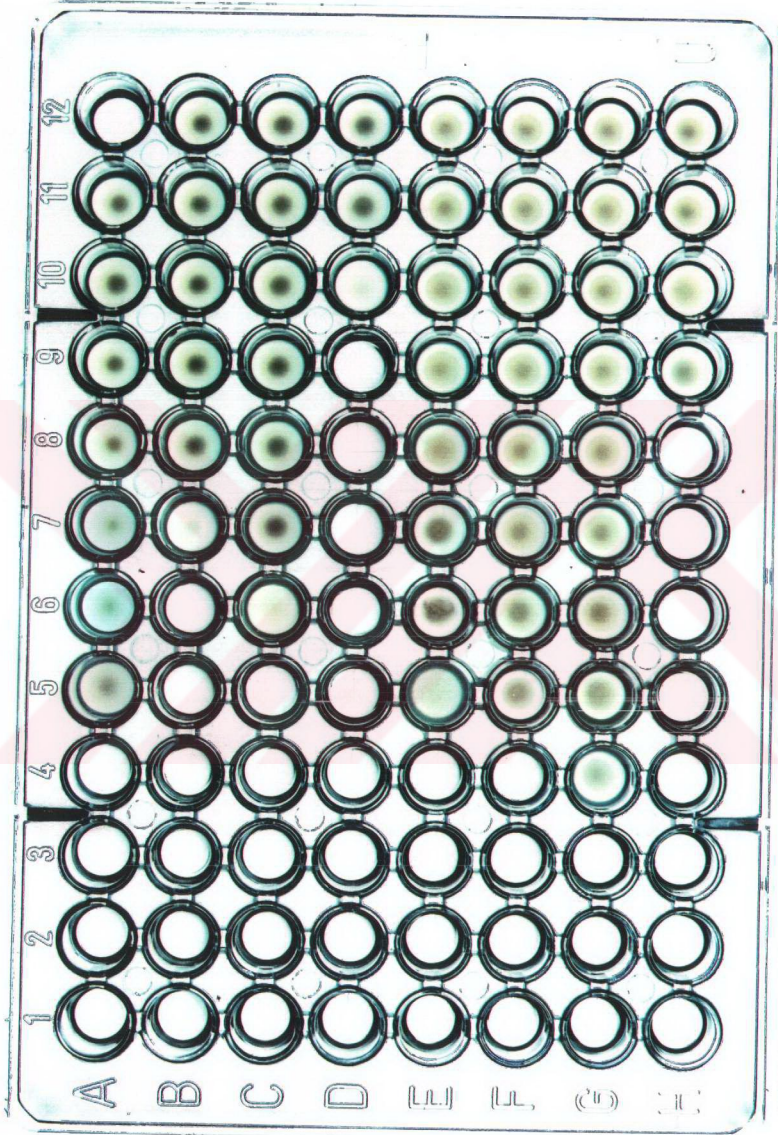
6. Minimum bakterisidal konsantrasyonun (MBK) saptanması

Çalışmada 152 adet *P. aeruginosa* suşuna karşı piperasilin, seftazidim, aztreonam, imipenem, siprofloksasin ve amikasinin MİK değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile saptandıktan sonra MBK değerleri araştırılmıştır.

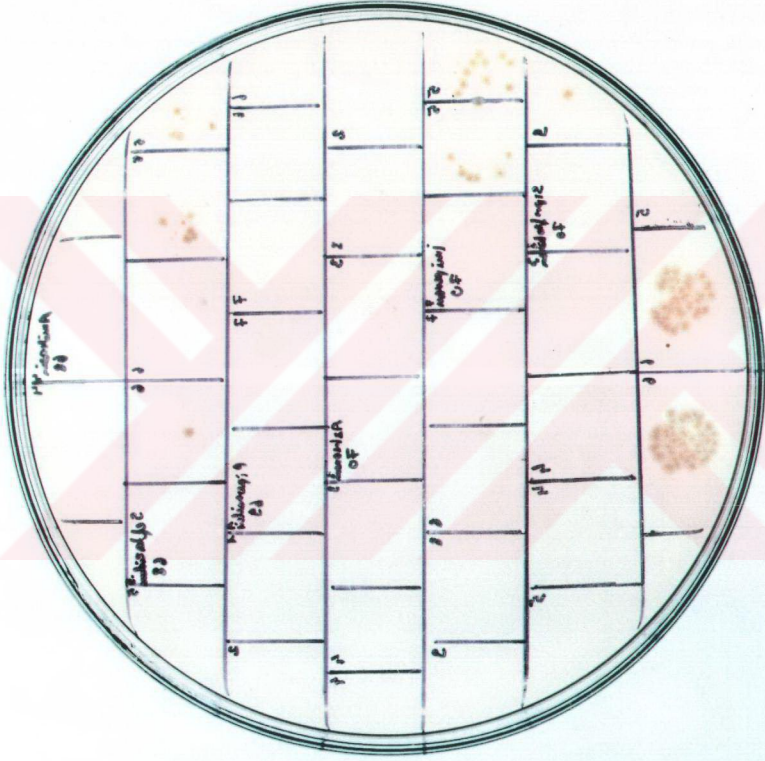
Antibiyotiklerin MBK değerlerini saptamak için, MİK değerleri tayin edildikten sonra üremenin görülmediği her kuyudan ikişer örnek olmak üzere pipetör yardımıyla 10'ar μ l alınarak Petri kutusundaki triptik soya agarın yüzeyine tatbik edilmiş, kuruduktan sonra 37°C'lik etüvde bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün oluşan koloniler sayılarak, 3.3 kısmında bildirildiği gibi CFU/ml'si saptanan inokulumun % 0.1'ini temsil eden rejeksiyon değerine eşit veya altında olan sayı tayin edilmiştir (103, 118). Bu şekilde rejeksiyon değeri esas alınarak inokulumun % 99.9'unu öldüren en düşük antibiyotik konsantrasyonu MBK değeri olarak kabul edilmiştir (Şekil 9).

7. Mikrodilüsyon "checkerboard" yöntemiyle antibiyotiklerin kombinasyon halinde etkilerinin saptanması

"Checkerboard" yönteminin esası, dikey düzlemde antibiyotiğin denenen suşa karşı saptanan MİK değerinin iki katı konsantrasyondaki çözeltileri bir seri kuyu içinde yukarıdan aşağıya doğru MİK değerinin dört dilüsyon altına kadar, yatay düzlemde ise çalışmada kullanılan diğer antibiyotiğin aynı suşa karşı saptanan MİK değerinin iki katı konsantrasyondaki çözeltileri bir seri kuyu içinde sağdan sola doğru antibiyotiğin MİK değerinin dört dilüsyon altına kadar seyreltilerek her kuyuda her iki antibiyotiğin farklı konsantrasyondaki çözeltilerini içeren kombinasyonlarının elde edilmesidir (85). Bu yöntem gere, denenen antibiyotiklere ait MİK değerlerinin katları olan konsantrasyonların kullanılmasıyla iki antibiyotiğin kombinasyon halinde dilüsyonlarının elde edilişi Şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 8. Mikrodüzyon yöntemi ile MİK değerlerinin saptanması



Şekil 9. Antibiyotiklere ait MBK değerlerinin saptanması

A		Antibiyotiği $\mu\text{g/ml}$						
		1	2	3	4	5	6	7
16	A	$\frac{16}{0}$					$\frac{16}{4}$	$\frac{16}{8}$
<input checked="" type="checkbox"/>	B	$\frac{8}{0}$				$\frac{8}{2}$		
4	C							
2	D	$\frac{2}{0}$			$\frac{2}{1}$			
1	E							
0.5	F		$\frac{0.5}{0.25}$					
0	G						$\frac{0}{4}$	

B
Antibiyotiği $\mu\text{g/ml}$

0 0.25 0.5 1 2 4 8

Antibiyotiğin MİK değeri

Şekil 10. "Checkerboard" yöntemi ile iki antibiyotiğin kombinasyon halinde denen konsantrasyonları.

Bu çalışmada dikey düzlemde piperasilin, seftazidim, aztreonam, imipenem veya siprofloksasinden biri, yatay düzlemde amikasin yukarıda açıklanan "checkerboard" yöntemine göre mikrolaktaki kuyulara uygulanarak farklı kombinasyonları *P. aeruginosa* suşlarına karşı denenmiştir.

Çalışmamızda, MİK değerleri piperasilin için 64-256 $\mu\text{g/ml}$, seftazidim ve aztreonam için 8-64 $\mu\text{g/ml}$, imipenem için 2-8 $\mu\text{g/ml}$ ve siprofloksasın için 1-8 $\mu\text{g/ml}$ arasında saptanan suşlara karşı, antibiyotiklerin amikasin ile kombinasyon halindeki etkileri araştırılmıştır.

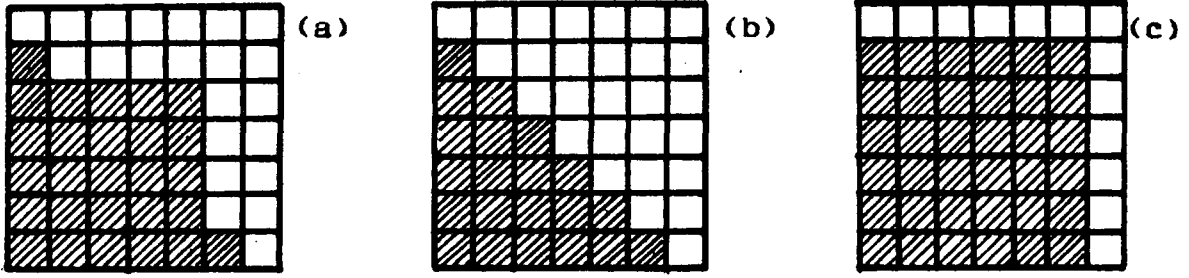
Bunun için antibiyotiklerin deneyde kullanılacak konsantrasyondaki çözeltileri, 2.1 kısmında hazırlanışı bildirilen katyon ilaveli Mueller Hinton buyyonunda hazırlanmış ve daha sonra mikrolaktaki kuyulara her iki antibiyotiğin bu çözeltilerinden 25'er μl ve deneyde kullanılan bakterinin 3.2 kısmında bildirildiği gibi hazırlanan süspanسیونundan 50'şer μl konularak, her kuyuda 100 μl hacminde karışım elde edilmiştir. Bir kuyuda iki farklı

antibiyotiğin konsantrasyonu bu şekilde dört defa seyreltilmiş olacağından, deneyde kullanılan antibiyotik çözeltilerinin gerekli olan son konsantrasyonunun dört misli konsantrasyondaki çözeltileri kullanılmıştır. Buna göre antibiyotiğin suşa karşı saptanan MİK değeri 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ise, mikroplağın A veya 7 numaralı kolonunda bulunan kuyulara ilave edilen antibiyotik çözeltisinin konsantrasyonu 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olacak şekilde hazırlanıp uygulanmıştır. Böylece mikroplağın A ve 7 numaralı kolonundaki kuyularda, denenen suşa karşı antibiyotiğin saptanan MİK değerinin iki katı konsantrasyondaki yani 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 'lik çözeltisi elde edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Sıvı besiyerinde uygulanan "checkerboard" yöntemi için antibiyotik çözeltilerinin seyreltmeleri

Antibiyotik / Kuyu		
Son konsantrasyon ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Stok çözeltinin konsantrasyonu ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Stok çözeltinin hacmi (μl)
0	0	25
0.06	0.25	25
0.125	0.5	25
0.25	1.0	25
0.5	2.0	25
1.0	4.0	25
2.0	8.0	25

Deney esnasında çalışma koşullarının ve besiyerinin sterilite kontrolünü yapmak için her mikroplaktaki bir kuyuya sadece besiyeri konmuştur. Ekim yapılan mikroplakların üzeri steril plastik bir kapakla örtülmüş, buharlaşmayı önlemek amacıyla bir naylon kılıfın içine yerleştirildikten sonra etüvde 37°C'de 18-20 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra üremenin görülmediği kuyularda kombinasyon halinde bulunan iki antibiyotiğin konsantrasyonları saptanmıştır (Şekil 11).



(a) Additif (b) Sinerjist (c) Antagonist

Şekil 11. "Checkerboard" yöntemiyle antibiyotik kombinasyonlarının değerlendirilmesi

Daha sonra saptanan bulgular fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu (FİK) indeksine göre değerlendirilmiştir (44). Her antibiyotığın FİK değeri üremenin görülmediği kuyudaki en düşük antibiyotik konsantrasyonunun, antibiyotığın tek başına aynı suşa karşı etkili olduğu MİK değerine bölünmesi ile elde edilmiştir. FİK indeksi ise, her iki antibiyotiğe ait FİK değerlerinin toplanmasıyla hesaplanmıştır.

$$\frac{A}{MİK_A} + \frac{B}{MİK_B} = FİK_A + FİK_B = FİK \text{ indeksi}$$

A : A antibiyotığının B antibiyotiğiyle birlikte üremeyi inhibe ettiği kuyudaki en düşük konsantrasyon

MİK_A : A antibiyotığının tek başına suşa karşı elde edilen MİK değeri

FİK_A : A antibiyotığının fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu

Aynı terimler B, MİK_B ve FİK_B için geçerlidir.

Buna göre FİK indeksi ≤ 0.5 olan değerler sinerjist, 1.0 olan değerler additif ve ≥ 2.0 olan değerler antagonist olarak değerlendirilmiştir.

8. İstatistiksel hesaplamalar

Çalışmada kullanılan 152 adet *P. aeruginosa* suşuna karşı piperasilin, seftazidim, aztreonam, imipenem, siprofloksasin ve amikasinine ait duyarlık oranlarının ve MBK/MİK oranlarının antibiyotikler arasında karşılaştırılması χ^2 yöntemine göre yapılmıştır. Piperasilin, seftazidim, aztreonam ve imipenemin amikasin ile kombine edilmesi sonucu elde edilen sinerjistik etki ϵ -testi ile karşılaştırılmıştır. Piperasilin, seftazidim ve aztreonamın amikasin ile kombine edilmesi sonucu elde edilen sinerjistik etkinin, β -laktamlara duyarlı ve dirençli *P. aeruginosa* suşlarına göre dağılımı dikkate alınarak irdelenmesi Fischer'in kesin χ^2 -analiziyle yapılmıştır.

B U L G U L A R

1. Minimum inhibitör konsantrasyonun (MİK) saptanmasına ait bulgular

1.1. Dency koşullarının standardizasyonuna ait bulgular

Çalışmada standart suş olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşu kullanılmış ve mikrodilüsyon yöntemi ile bu suşun piperasilin, seftazidim, aztreonam, imipenem, siprofloksasin ve amikasinine karşı saptanan MİK değerlerinin çalışma süresince National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) tarafından önerilen sınırlar içerisinde kalması kriter olarak alınmıştır (104). Çalışma süresince yapılan deneylerde antibiyotiklerin standart suşa karşı saptanan MİK değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Antibiyotiklerin *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşuna karşı saptanan MİK değerleri

Antibiyotik	MİK ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Piperasilin	2-4
Seftazidim	2-4
Aztreonam	2-4
İmipenem	1-2
Siprofloksasin	0.5-1
Amikasin	4-8

1.2. Çalışmada kullanılan antibiyotiklerin MİK değerlerine ait bulgular

Çalışmada kullanılan çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 152 adet *P. aeruginosa* suşuna karşı piperasilin, seftazidim, aztreonam, imipenem, siprofloksasin ve amikasinin mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerlerinin sınırları sırasıyla 2->512 µg/ml, 0.5->128 µg/ml, 2-256 µg/ml, 0.25-8 µg/ml, 0.063->16 µg/ml ve 1-32 µg/ml olarak bulunmuştur. Saptanan MİK değerlerinin sınırları, suşların % 50'sini ve % 90'ını inhibe eden en düşük antibiyotik konsantrasyonlarına ait bulgular Tablo 3' de gösterilmiştir.

Tablo 3. Antibiyotiklerin 152 *P. aeruginosa* suşuna karşı saptanan MİK değerleri

Antibiyotik	MİK (µg/ml)		
	Sınırları	% 50	% 90
Piperasilin	2 - > 512	16	128
Seftazidim	0.5 - > 128	4	32
Aztreonam	2 - 256	8	16
İmipenem	0.25 - 8	1	2
Siprofloksasin	0.063 - > 16	0.5	2
Amikasin	1 - 32	8	16

NCCLS'in belirlediği verilere göre piperasilin, seftazidim, aztreonam, imipenem, siprofloksasin ve amikasin için duyarlı sınırları sırasıyla ≤ 64 µg/ml, ≤ 8 µg/ml, ≤ 8 µg/ml, ≤ 4 µg/ml, ≤ 1 µg/ml ve ≤ 16 µg/ml; orta duyarlı sınırları sırasıyla 128 µg/ml, 16 µg/ml, 16 µg/ml, 8 µg/ml, 2 µg/ml ve 32 µg/ml; dirençli sınırları sırasıyla ≥ 256 µg/ml, ≥ 32 µg/ml, ≥ 32 µg/ml, ≥ 16 µg/ml, ≥ 4 µg/ml ve ≥ 64 µg/ml olarak kabul edildiğinde Tablo 4'de gösterilen sonuçlar elde edilmiştir (104).

Tablo 4. 152 P. aeruginosa suşunun antibiyotiklere duyarlık yüzdeleri

Antibiyotik	Duyarlık (%)		
	Duyarlı ^a	Orta duyarlı ^b	Dirençli ^b
Piperasilin	82.9	10.5	6.6
Seftazidim	78.3	8.6	13.1
Aztreonam	61.2	24.3	14.5
İmipenem	98.7	1.3	0
Siprofloksasin	87.5	5.3	7.2
Amikasin	98	2	0

^aSuşların duyarlık oranlarına ait değerler arasındaki fark p= 0.0035 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

^bSuşların duyarlık oranlarına ait değerler arasındaki fark p< 0.001 düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

2. Minimum bakterisidal konsantrasyonun (MBK) saptanmasına ait bulgular

Çalışmada kullanılan çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 152 adet P. aeruginosa suşuna karşı piperasilin, seftazidim, aztreonam, imipenem, siprofloksasin ve amikasinin mikrodilüsyon yöntemi ile saptanan MBK değerlerinin sınırları sırasıyla 4-> 512 µg/ml, 0.5-> 128 µg/ml, 4-512 µg/ml, 0.5-8 µg/ml, 0.125-> 16 µg/ml ve 1-64 µg/ml olarak bulunmuştur. Saptanan MBK değerlerinin sınırları, suşların % 50'sini ve % 90'ını öldüren en düşük antibiyotik konsantrasyonlarına ait bulgular Tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5. Antibiyotiklerin 152 P. aeruginosa suşuna karşı saptanan MBK değerleri

Antibiyotik	MBK ($\mu\text{g/ml}$)		
	Sınırları	%50	%90
Piperasilin	4 -> 512	16	128
Seftazidim	0.5 - > 128	4	32
Aztreonam	4 - 512	8	32
İmipenem	0.5 - 8	1	2
Siprofloksasin	0.125 - > 16	1	2
Amikasin	1 - 64	16	32

Çalışmada kullanılan antibiyotiklerden piperasilinin 152 P. aeruginosa suşundan 80'ini MİK değerine eşit, 65'ini MİK değerinin iki katı, 5'ini MİK değerinin dört katı konsantrasyonda öldürdüğü; seftazidimin 152 suştan 77'sini MİK değerine eşit, 72'sini MİK değerinin iki katı konsantrasyonda öldürdüğü; aztreonamın 152 suştan 92'sini MİK değerine eşit, 56'sını MİK değerinin iki katı, 4'ünü MİK değerinin dört katı konsantrasyonda öldürdüğü; imipenemin 152 suştan 97'sini MİK değerine eşit, 55'ini MİK değerinin iki katı konsantrasyonda öldürdüğü; siprofloksasinin 152 suştan 39'unu MİK değerine eşit, 82'sini MİK değerinin iki katı, 25'ini MİK değerinin dört katı konsantrasyonda öldürdüğü; amikasinin ise 152 suştan 65'ini MİK değerine eşit, 78'ini MİK değerinin iki katı, 9'unu MİK değerinin dört katı konsantrasyonda öldürdüğü saptanmıştır. Bunlara ait bulgular Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Antibiyotiklerin 152 P. aeruginosa suşuna karşı saptanan MBK/MİK oranlarına ait değerler

Antibiyotik	MBK/MİK oranı			
	Suş sayısı (%)			
	1 ^a	2 ^b	4 ^a	S ^c
Piperasilin	80 (52.6)	65 (42.8)	5 (3.3)	2 (1.3)
Seftazidim	77 (50.7)	72 (47.3)	-	3 (2.0)
Aztreonam	92 (60.5)	56 (36.9)	4 (2.6)	-
İmipenem	97 (63.8)	55 (36.2)	-	-
Siprofloksasin	39 (25.7)	82 (54.0)	25 (16.4)	6 (3.9)
Amikasin	65 (42.8)	78 (51.3)	9 (5.9)	-

^a MBK/MİK oranlarına ait değerler arasındaki fark $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

^b MBK/MİK oranlarına ait değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p = 0.0968$).

^c S = Saptanamayanlar.

3. Mikrodilüsyon "checkerboard" yöntemi ile antibiyotiklerin kombinasyon halinde etkilerine ait bulgular

Çalışmada, MİK değerleri piperasilin için 64-256 $\mu\text{g/ml}$, seftazidim ve aztreonam için 8-64 $\mu\text{g/ml}$, imipenem için 2-8 $\mu\text{g/ml}$ ve siprofloksasin için 1-8 $\mu\text{g/ml}$ arasında saptanan P. aeruginosa suşlarına karşı antibiyotiklerin amikasin ile kombinasyon halinde oluşturdukları etkileri mikrodilüsyon "checkerboard" yöntemi ile araştırılmış, bulgular FİK indeksine göre değerlendirilmiştir. Çalışmada kullanılan antibiyotiklerin "checkerboard" yöntemi ile P. aeruginosa suşları üzerinde oluşturdukları sinerjistik etki Şekil 12'de, additif etki Şekil 13'de gösterilmiştir.

Piperasilin-amikasin kombinasyonunun FİK indeksine göre çalışmada kullanılan 36 P. aeruginosa suşundan 33'üne sinerjistik, 3'üne additif etkili olduğu saptanmıştır. Suşların hiçbirine karşı antagonist etki görülmemiştir. Buna ait sonuçlar Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7. Piperasilin - amikasin kombinasyonunun P. aeruginosa suşlarına etkisi

Antibiyotik kombinasyonu	n	Sinerjist		Additif		Antagonist	
		FİK ≤ 0.5	%	FİK 1	%	FİK ≥ 2	%
Piperasilin + Amikasin	36	33	92	3	8	0	0

Seftazidim-amikasin kombinasyonunun çalışmada kullanılan 55 P. aeruginosa suşundan 48'ine sinerjist, 7'sine additif etkili olduğu saptanmıştır. Bu kombinasyon ile suşların hiçbirine karşı antagonist etki belirlenmemiştir. Bunlara ait bulgular Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Seftazidim - amikasin kombinasyonunun P. aeruginosa suşlarına etkisi

Antibiyotik kombinasyonu	n	Sinerjist		Additif		Antagonist	
		FİK ≤ 0.5	%	FİK 1	%	FİK ≥ 2	%
Seftazidim + Amikasin	55	48	87	7	13	0	0

Aztreonam-amikasin kombinasyonunun çalışmada kullanılan 116 P. aeruginosa suşundan 98'ine sinerjist, 18'ine additif etkili olduğu saptanmıştır. Suşların hiçbirine karşı antagonist etki görülmemiştir. Bunlara ait bulgular Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. Aztreonam - amikasin kombinasyonunun P. aeruginosa suşlarına etkisi

Antibiyotik kombinasyonu	n	Sinerjist		Additif		Antagonist	
		FİK ≤ 0.5	%	FİK 1	%	FİK ≥ 2	%
Aztreonam + Amikasin	116	98	84	18	16	0	0

İmipenem-amikasin kombinasyonunun çalışmada kullanılan 34 *P. aeruginosa* suşundan 12'sine sinerjistik, 22'sine additif etkili olduğu saptanmıştır. Suşların hiçbirine karşı antagonist etki görülmemiştir. Bunlara ait bulgular Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. İmipenem - amikasin kombinasyonunun *P. aeruginosa* suşlarına etkisi

Antibiyotik kombinasyonu	n	Sinerjistik		Additif		Antagonist	
		FİK ≤ 0.5	%	FİK 1	%	FİK ≥ 2	%
İmipenem + Amikasin	34	12	35	22	65	0	0

Siprofloksasin-amikasin kombinasyonunun çalışmada kullanılan 40 *P. aeruginosa* suşuna karşı additif etkili olduğu saptanmıştır. Bu kombinasyon ile suşların hiçbirine karşı sinerjistik ve antagonist etki belirlenmemiştir. Buna ait bulgular Tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Siprofloksasin - amikasin kombinasyonunun *P. aeruginosa* suşlarına etkisi

Antibiyotik kombinasyonu	n	Sinerjistik		Additif		Antagonist	
		FİK ≤ 0.5	%	FİK 1	%	FİK ≥ 2	%
Siprofloksasin + Amikasin	40	0	0	40	100	0	0

Piperasilin, seftazidim ve aztreonamın amikasin ile olan kombinasyonları sonucu elde edilen sinerjistik etkinin β -laktamlara duyarlı ve dirençli *P. aeruginosa* suşlarına göre dağılımı incelendiğinde, piperasilin-amikasin

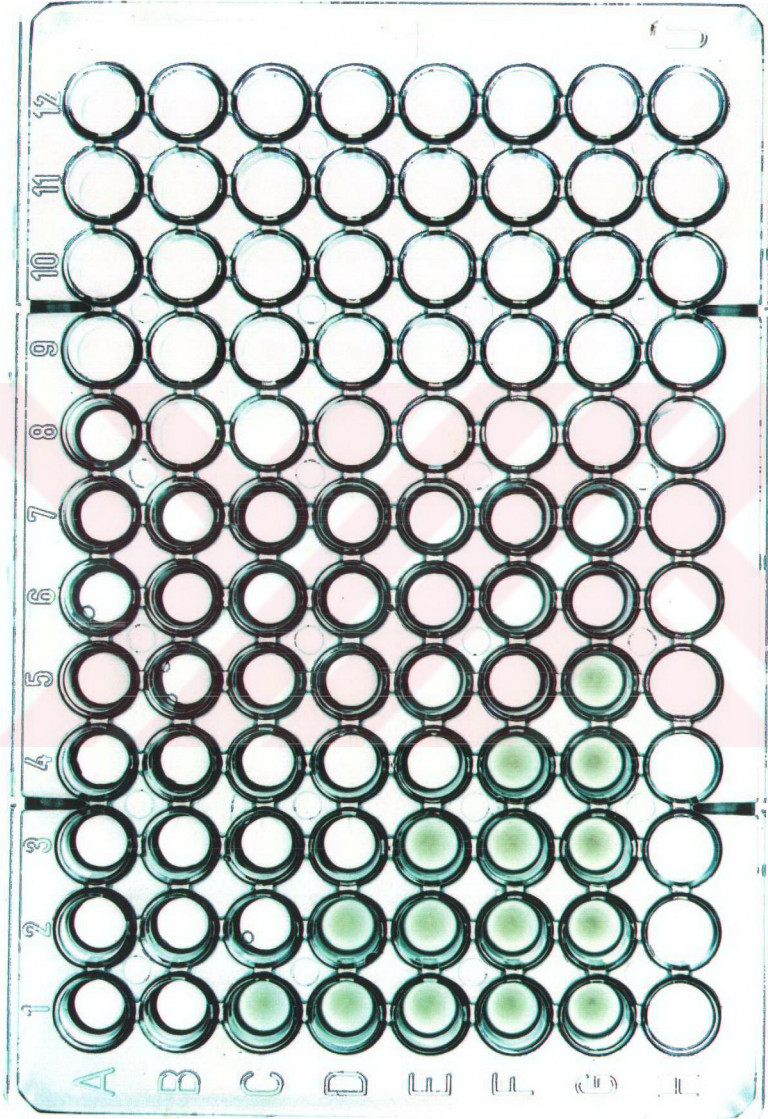
kombinasyonunun piperasiline duyarlı 28 suştan 26'sına, piperasiline dirençli 8 suştan 7'sine sinerjist etkili olduğu; seftazidim-amikasin kombinasyonunun seftazidime duyarlı 38 suşun tamamına, seftazidime dirençli 17 suşun 10'una sinerjist etkili olduğu; aztreonam-amikasin kombinasyonunun ise aztreonama duyarlı 96 P. aeruginosa suşundan 83'üne ve aztreonama dirençli 20 suştan 15'ine sinerjist etkili olduğu saptanmıştır. Bunlara ait bulgular Tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo 12. β -Laktam + amikasin kombinasyonlarıyla elde edilen sinerjist etkinin β -laktamlara duyarlı / dirençli P. aeruginosa suşlarına göre dağılımı

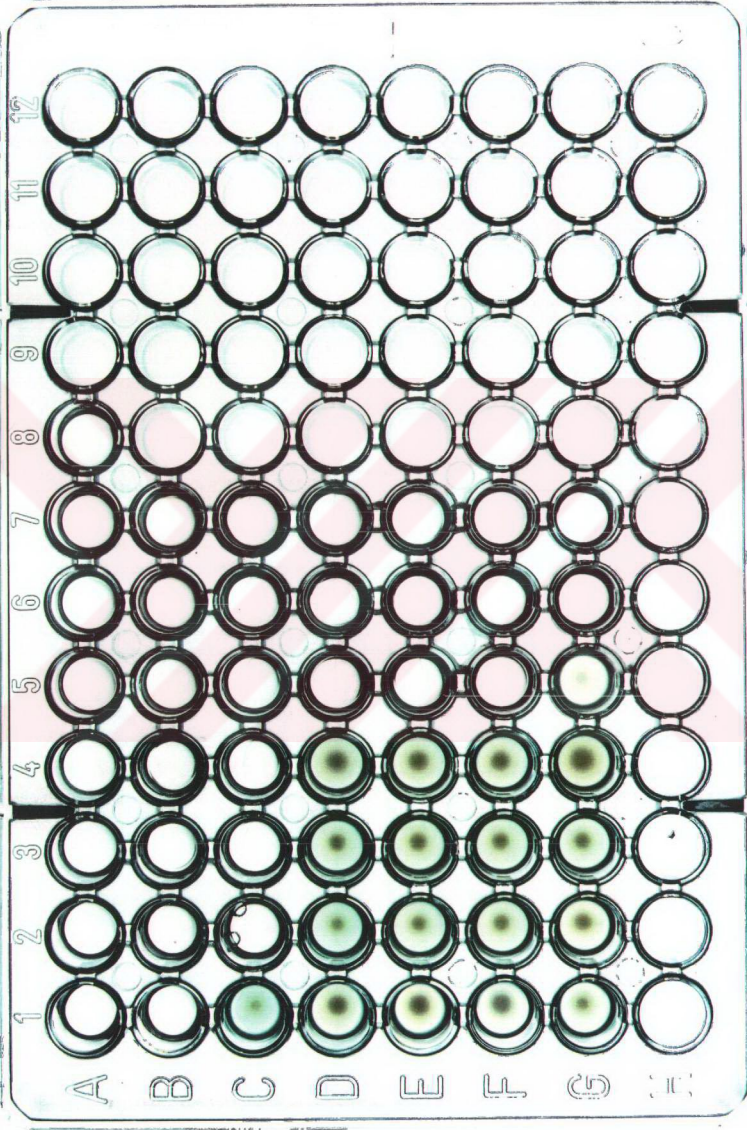
Antibiyotik kombinasyonu	n	Duyarlı	Dirençli
		Suş no. (%)	Suş no. (%)
Piperasilin + Amikasin ^b	36		
Sinerjist	33	26 (93)	7 (88)
Additif	3	2 (7)	1 (12)
Seftazidim + Amikasin ^a	55		
Sinerjist	48	38 (100)	10 (59)
Additif	7	0 (0)	7 (41)
Aztreonam + Amikasin ^b	116		
Sinerjist	98	83 (86)	15 (75)
Additif	18	13 (14)	5 (25)

^a Elde edilen sinerjist etkinin seftazidime duyarlı / dirençli suşlara göre dağılımı arasındaki fark $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

^b Elde edilen sinerjist etkinin β -laktamlara duyarlı / dirençli suşlara göre dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).



Şekil 12. Checkerboard yöntemine göre iki antibiyotik kombinasyon halinde *P. aeruginosa* suşuna karşı oluşturdıkları sinerjistik etki



Şekil 13. Checkerboard yöntemine göre iki antibiyotik kombinasyon halinde *P. aeruginosa* suşuna karşı oluşturdıkları additif etki

TARTIŞMA

Pseudomonas aeruginosa özellikle immün yetmezlik, kanser, kistik fibröz, yanık ve travmatik yara bulunan hastalarda yüksek oranda mortaliteyle sonuçlanabilen ciddi hastane infeksiyonlarına neden olan önemli bir etken olma özelliğini sürdürmektedir (14, 34). Hastanede sekonder bakteriyemilere neden olan başlıca mikroorganizmalardan biridir (34). Hastaların trakeostomi, kateterizasyon ve cerrahi girişim gibi invazif işlemler geçirmiş olmaları, immün sistemleri baskılanmış ve özellikle nötropenik durumda olmaları ve yeterli antibiyotik tedavisinin uygulanmamış olması bakteriyemi riskini arttırmaktadır (13, 69). Bu nedenle *P. aeruginosa*'nın neden olduğu infeksiyonların tedavisine kısa süre içinde, etkili bir antibiyotiğin seçimiyle başlamak gerekmektedir.

Bir üreidopenisilin olan piperasilin, karbenisiline dirençli suşlar dahil olmak üzere *P. aeruginosa*'ya karşı en etkili penisilin türevidir (53). George ve arkadaşlarının (55) 1978 yılında yapmış oldukları çalışmada, piperasilinin sefalotine dirençli *P. aeruginosa* suşlarının %50'sini 8 µg/ml, % 94'ünü 32 µg/ml konsantrasyonda inhibe ettiği gösterilmiştir. Fass (50) kan kültürlerinden izole edilen 52 *P. aeruginosa* suşuna karşı 2-64 µg/ml, çoğul dirençli suşlara karşı 16-128 µg/ml arasında saptanan MİK değerleriyle piperasilinin çalışmada araştırılan en etkili antibiyotik olduğunu bildirmiştir. Kistik fibrözlü hastalardan izole edilen *P. aeruginosa* suşlarına karşı piperasilinin etkisinin araştırıldığı çalışmalarda, Scribner ve arkadaşları (132) MİK değerlerini 1-128 µg/ml arasında, MİK₅₀ değerini 4 µg/ml, MİK₉₀ değerini 32 µg/ml, Ansorg ve arkadaşları (7) MİK değerlerini 1- > 64 µg/ml arasında, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerini sırasıyla 16 µg/ml ve > 64 µg/ml olarak saptamışlardır. Lyon ve arkadaşları (91) 103 *P. aeruginosa* suşundan % 85.4'ünün piperasiline duyarlı olduğunu, suşlardan % 50'sinin 4 µg/ml ve % 90'ının 256 µg/ml konsantrasyonda inhibe edildiğini göstermişlerdir. Chow ve arkadaşlarının (29) 270 *P. aeruginosa* suşu üzerinde çeşitli

antibiyotiklerin etkilerini araştırmış oldukları çalışmada, piperasilinin suşların % 50'sini 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$, suşların % 90'ını 128 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonda inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Cabezudo ve arkadaşlarının (27) yine 1989 yılında yapmış oldukları çalışmada, piperasilinin 153 *P. aeruginosa* suşundan % 50'sini ve % 90'ını sırasıyla 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve 128 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonda inhibe ettiği saptanmıştır.

Akalın ve arkadaşlarının (4) 1987 yılında yapmış oldukları çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 59 *P. aeruginosa* suşunun piperasiline duyarlılığı % 62.7 oranında belirlenmiştir. Köksal ve Aker (83) piperasiline duyarlı hastane infeksiyonu etkeni *P. aeruginosa* suşlarını 1989-1990 yılı içinde % 65, 1990-1991 yılı içinde % 84 oranında bildirmişlerdir.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 152 *P. aeruginosa* suşuna karşı piperasilinin mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerlerinin 2- > 512 $\mu\text{g}/\text{ml}$ arasında, suşların % 50'sini ve % 90'ını inhibe eden konsantrasyonların sırasıyla 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve 128 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olduğu belirlenmiştir. NCCLS'in verilerine göre piperasilin için duyarlık sınırları: ≤ 64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ duyarlı, 128 $\mu\text{g}/\text{ml}$ orta duyarlı, ≥ 256 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dirençli kabul edilmiştir (104). Buna göre çalışmamızda suşların % 82.9'unun duyarlı, % 10.5'inin orta duyarlı, % 6.6'sının dirençli olduğu gözlenmiş ve elde edilen bu bulguların diğer araştırmacıların sonuçları ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Bir aminotiazolil sefalosporin olan seftazidim içerdiği karboksipropil oksimino grubunun etkisiyle sefoperazon ve sefsulodine dirençli suşlar dahil olmak üzere *P. aeruginosa*'ya en fazla aktivite gösteren sefalosporin olma özelliğini göstermektedir (110). Jones ve arkadaşlarının (77) 1981 yılında yapmış oldukları çalışmada, seftazidimin 1153 *P. aeruginosa* suşundan % 95.8'ini 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonda inhibe ettiği bildirilmiştir. Kistik fibrözlü hastalardan izole edilen *P. aeruginosa* suşlarına karşı seftazidimin etkisinin araştırıldığı çalışmalarda, Scribner ve arkadaşları (132) MİK değerlerini 0.5-4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ arasında, MİK₅₀ değerini 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, MİK₉₀ değerini 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$, Prince ve Neu (122) MİK değerlerini < 1-250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ arasında, MİK₅₀ değerini 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$, MİK₉₀ değerini 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$, Ansorg ve arkadaşları (7) MİK değerlerini 0.5- > 64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ arasında, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini sırasıyla

4 µg/ml ve 64 µg/ml olarak saptamışlardır. Garcia ve arkadaşları (54) kanserli hastalardan izole edilen 63 *P. aeruginosa* suşuna karşı seftazidim ile saptanan MİK değerlerinin 0.78- >100 µg/ml arasında, MİK₅₀ değerinin 1.56 µg/ml, MİK₉₀ değerinin 50 µg/ml olduğunu bildirmişlerdir. Chow ve arkadaşlarının (29) 270 *P. aeruginosa* suşu üzerinde çeşitli antibiyotiklerin etkilerini araştırmış oldukları çalışmada, seftazidimin suşların % 50'sini 2 µg/ml, % 90'ını 32 µg/ml konsantrasyonda inhibe ettiği gösterilmiştir. Cabezudo ve arkadaşlarının (27) yine 1989 yılında yapmış oldukları çalışmada, seftazidimin 153 *P. aeruginosa* suşundan % 50'sini ve % 90'ını sırasıyla 4 µg/ml ve 32 µg/ml konsantrasyonda inhibe ettiği saptanmıştır. Ravizzola ve arkadaşları (125) 46 *P. aeruginosa* suşuna karşı aynı değerleri elde etmişlerdir.

Akalın ve arkadaşlarının (4) 1987 yılında yapmış oldukları çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının seftazidime duyarlılığı % 82.4 oranında belirlenmiştir. Köksal ve Aker (83) seftazidime duyarlı hastane infeksiyonu etkeni *P. aeruginosa* suşlarını 1989-1990 yılı içinde %86.2, 1990-1991 yılı içinde % 91.8 oranında saptamışlardır. Erdeniz ve Çetin (47) çalışmalarında, 50 *P. aeruginosa* suşundan % 92'sini seftazidime duyarlı veya orta duyarlı bulduklarını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 152 *P. aeruginosa* suşuna karşı seftazidimin mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerlerinin 0.5- > 128 µg/ml arasında, suşların % 50'sini ve % 90'ını inhibe eden konsantrasyonların sırasıyla 4 µg/ml ve 32 µg/ml olduğu belirlenmiştir. NCCLS'in verilerine göre seftazidim için duyarlık sınırları: ≤ 8 µg/ml duyarlı, 16 µg/ml orta duyarlı, ≥ 32 µg/ml dirençli kabul edilmiştir (104). Buna göre çalışmamızda suşların % 78.3'ünün duyarlı, % 8.6'sının orta duyarlı, % 13.1'inin dirençli olduğu gözlenmiş ve elde edilen bu bulguların diğer araştırmacıların sonuçları ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Bir sentetik monosiklik β-laktam olan aztreonamın *P. aeruginosa* dahil olmak üzere aerob Gram negatif bakterilere karşı belirgin bir aktivitesi bulunmaktadır (49, 140). Neu ve Labthavikul (112) 1983 yılında yapmış oldukları çalışmada, 61 *P. aeruginosa* suşuna karşı aztreonamın MİK

değerlerini 0.2- >100 µg/ml arasında, MİK₅₀ değerini 6.3 µg/ml, MİK₉₀ değerini 25 µg/ml olarak bildirmişlerdir. Paradelis ve arkadaşları (116) aztreonamın 500 P. aeruginosa suşundan % 50'sini 6.3 µg/ml, % 90'ını 16 µg/ml konsantrasyonda inhibe ettiğini saptamışlardır. Garcia ve arkadaşlarının (54) kanserli hastalardan izole edilen P. aeruginosa suşlarına karşı çeşitli antibiyotiklerin etkilerini araştırdıkları çalışmada, aztreonama ait MİK değerlerinin 0.78- >100 µg/ml arasında, MİK₅₀ değerinin 6.25 µg/ml, MİK₉₀ değerinin 100 µg/ml olduğunu bildirmişlerdir. Madhavan ve Fitzsimons (92) aztreonamın MİK değerlerini 2-128 µg/ml arasında, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini sırasıyla 4 µg/ml ve 32 µg/ml olarak saptamışlardır. Chow ve arkadaşlarının (29) 1989 yılında yapmış oldukları çalışmada, aztreonamın 270 P. aeruginosa suşundan % 50'sini 4 µg/ml, % 90'ını 32 µg/ml konsantrasyonda inhibe ettiği bildirilmiştir.

Akalin ve arkadaşlarının (4) 1987 yılında yapmış oldukları çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 55 P. aeruginosa suşunun aztreonama duyarlılığı % 100 oranında belirlenmiştir. Köksal ve Aker (83) aztreonama duyarlı hastane infeksiyonu etkeni P. aeruginosa suşlarını 1989-1990 yılı içinde % 90, 1990-1991 yılı içinde % 95 oranında bildirmişlerdir. Çuhadar ve arkadaşları (39) çalışmalarında, hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen P. aeruginosa suşlarını aztreonama % 63 oranında duyarlı bulduklarını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 152 P. aeruginosa suşuna karşı aztreonamın mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerlerinin 2-256 µg/ml arasında, suşların % 50'sini ve % 90'ını inhibe eden konsantrasyonların sırasıyla 8 µg/ml ve 16 µg/ml olduğu belirlenmiştir. NCCLS'in verilerine göre aztreonam için duyarlılık sınırları: ≤ 8 µg/ml duyarlı, 16 µg/ml orta duyarlı, ≥ 32 µg/ml dirençli kabul edilmiştir (104). Buna göre çalışmamızda suşların % 61.2'sinin duyarlı, % 24.3'ünün orta duyarlı, % 14.5'inin dirençli olduğu gözlenmiş ve elde edilen bulguların diğer araştırmacıların sonuçları ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

P. aeruginosa'ya etkili bir diğer β-laktam olan imipenem karbapenemler arasında yer almaktadır. Kesado ve arkadaşlarının (80) 231 P. aeruginosa

suşu ile yapmış oldukları çalışmada, imipenemin suşlardan % 50'sini 1 µg/ml, % 90'ını 2 µg/ml konsantrasyonda inhibe ettiği bildirilmiştir. Cohn ve arkadaşlarının (31) kandan izole edilen *P. aeruginosa* suşlarıyla yapmış oldukları çalışmada, suşların % 50'sini ve % 90'ını inhibe eden imipenem konsantrasyonlarının sırasıyla 1 µg/ml ve 4 µg/ml olduğunu saptamışlardır. Garcia ve arkadaşları (54) kanserli hastalardan izole edilen 63 *P. aeruginosa* suşuna karşı imipenem ile saptanan MİK değerlerini 0.39- > 25 µg/ml arasında, MİK₅₀ değerini 1.56 µg/ml, MİK₉₀ değerini 3.12 µg/ml olarak bildirmişlerdir. Vurma-Rapp ve arkadaşları (148) imipenemin seftazidime dirençli *P. aeruginosa* suşlarını 0.5-8 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarda inhibe ettiğini saptamışlardır. Cabezudo ve arkadaşları (27) çalışmalarında, imipenemin 153 *P. aeruginosa* suşuna karşı saptanan MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerini 2 µg/ml olarak bildirmişlerdir. Perl ve arkadaşlarının 1990'da (119), Enciso'nun 1991'de (46) yapmış oldukları çalışmalarda, *P. aeruginosa* suşlarına karşı imipenem ile elde edilen MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri sırasıyla 1 µg/ml ve 2 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Kocabeyoğlu ve arkadaşlarının (82) imipenemin *Pseudomonas* cinsinden suşlara karşı etkisini araştırdıkları çalışmada, suşların tamamı imipeneme duyarlı bulunmuş, saptanan MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri 1 µg/ml ve 4 µg/ml olarak bildirilmiştir.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 152 *P. aeruginosa* suşuna karşı imipenemin mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerlerinin 0.25-8 µg/ml arasında, suşların % 50'sini ve % 90'ını inhibe eden konsantrasyonların sırasıyla 1 µg/ml ve 2 µg/ml olduğu belirlenmiştir. NCCLS'in verilerine göre imipenem için duyarlık sınırları: ≤ 4 µg/ml duyarlı, 8 µg/ml orta duyarlı, ≥ 16 µg/ml dirençli kabul edilmiştir (104). Buna göre çalışmamızda suşların % 98.7'sinin duyarlı, % 1.3'ünün orta duyarlı ve suşlardan hiçbirinin direnç göstermediği gözlenmiştir. Elde edilen bu bulguların diğer araştırmacıların sonuçlarıyla uygunluk gösterdiği saptanmıştır.

Bir kinolon grubu antibiyotik olan siprofloksasinin önemli özelliklerinden biri, *P. aeruginosa*'ya etkili ilk oral yolla kullanılan antibiyotik

olmasıdır. Fass (51) 1983 yılında yapmış olduğu çalışmada *P. aeruginosa* suşlarının % 50'sini ve % 90'ını inhibe eden siprofloksasin konsantrasyonunu sırasıyla 0.25 µg/ml ve 0.5 µg/ml olarak bildirmiştir. Bustamante ve arkadaşları (25) siprofloksasinin imipeneme dirençli *P. aeruginosa* suşlarının % 50'sini 0.5 µg/ml, % 90'ını 1 µg/ml konsantrasyonda inhibe ettiğini saptamışlardır. Meyer ve Liu (96) çoğul dirençli 40 *P. aeruginosa* suşuna karşı saptadıkları MİK değerlerini 0.06- > 8.0 µg/ml arasında, MİK₅₀ değerini 0.5 µg/ml, MİK₉₀ değerini 1 µg/ml olarak bildirmişlerdir. Chow ve arkadaşlarının (29) 1989 yılında yapmış oldukları çalışmada, siprofloksasinin 270 *P. aeruginosa* suşundan % 50'sini ve % 90'ını inhibe eden konsantrasyonları sırasıyla 0.5 µg/ml ve 1 µg/ml olarak saptamışlardır. Ansorg ve arkadaşları (7) kistik fibrözlü hastalardan izole edilen 79 *P. aeruginosa* suşuna karşı siprofloksasinin MİK değerlerini 0.03 -> 16 µg/ml arasında, MİK₅₀ değerini 0.5 µg/ml, MİK₉₀ değerini 4 µg/ml olarak bildirmişlerdir. Enciso (46) 1991 yılında yapmış olduğu çalışmada *P. aeruginosa* suşlarının % 50'sini ve % 90'ını inhibe eden siprofloksasin konsantrasyonunu sırasıyla 0.25 µg/ml ve 0.5 µg/ml olarak saptamıştır.

Akalın ve arkadaşlarının (4) 1987 yılında yapmış oldukları çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 87 *P. aeruginosa* suşunun siprofloksasine duyarlılığı % 93.1 oranında belirlenmiştir. Çuhadar ve arkadaşları (39) 1991 yılında yapmış oldukları çalışmada, hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen *P. aeruginosa* suşlarını siprofloksasine % 93 oranında duyarlı bulduklarını bildirmişlerdir. Özdemir ve arkadaşları (115) 89 *P. aeruginosa* suşundan % 84'ünü siprofloksasine duyarlı olarak saptamışlardır.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 152 *P. aeruginosa* suşuna karşı siprofloksasinin mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan MİK değerlerinin 0.063- >16 µg/ml arasında, suşların % 50'sini ve % 90'ını inhibe eden konsantrasyonların sırasıyla 0.5 µg/ml ve 2 µg/ml olduğu belirlenmiştir. NCCLS'in verilerine göre siprofloksasin için duyarlılık sınırları: ≤ 1 µg/ml duyarlı, 2 µg/ml orta duyarlı, ≥ 4 µg/ml dirençli kabul edilmiştir (104). Buna göre çalışmamızda suşların % 87.5'inin duyarlı, % 5.3'ünün orta

duyarlı, % 7.2'sinin dirençli olduğu gözlenmiş ve elde edilen bu bulguların diğer araştırmacıların sonuçları ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Amikasinin aminoglikozitleri inaktive eden birçok enzimlere direnç göstermesi, onun gentamisine ve tobramisine dirençli suşlar dahil olmak üzere *P. aeruginosa*'ya yüksek aktivite göstermesine yol açmaktadır (78, 95). Kistik fibrözlü hastalardan izole edilen *P. aeruginosa* suşlarına karşı amikasinin etkisinin araştırıldığı çalışmalarda, Scribner ve arkadaşları (132) $MİK_{50}$ değerini $8 \mu\text{g/ml}$, $MİK_{90}$ değerini $16 \mu\text{g/ml}$, Ansorg ve arkadaşları (7) bu değerleri sırasıyla $8 \mu\text{g/ml}$ ve $32 \mu\text{g/ml}$ olarak saptamışlardır. Lyon ve arkadaşlarının (91) amikasinin 103 *P. aeruginosa* suşuna karşı etkisini araştırdıkları çalışmada, suşların % 50'sini ve % 90'ını inhibe eden konsantrasyonları $8 \mu\text{g/ml}$ ve $16 \mu\text{g/ml}$ olarak bildirmişlerdir. Parry (117) 230 *P. aeruginosa* suşu ile aynı değerleri saptamıştır. Bustamante ve arkadaşları (25) amikasinin imipeneme dirençli *P. aeruginosa* suşlarının % 50'sini $8 \mu\text{g/ml}$, % 90'ını $32 \mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Chow ve arkadaşlarının (29) 1989 yılında yapmış oldukları çalışmada, 270 *P. aeruginosa* suşuna karşı amikasin ile saptanan $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerlerinin sırasıyla $12.5 \mu\text{g/ml}$ ve $50 \mu\text{g/ml}$ iken, gentamisin ve tobramisine ait $MİK_{90}$ değerini $\geq 400 \mu\text{g/ml}$ olarak bildirmişlerdir. Ravizzola ve arkadaşlarının (125) aynı yılda yapmış oldukları çalışmada, 46 *P. aeruginosa* suşunun % 50'sini ve % 90'ını inhibe eden amikasin konsantrasyonunu sırasıyla $8 \mu\text{g/ml}$ ve $16 \mu\text{g/ml}$ olarak saptamışlardır.

Akahn ve arkadaşlarının (4) 1987 yılında yapmış oldukları çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 102 *P. aeruginosa* suşunun amikasinle duyarlılığı % 95.8 oranında belirlenmiştir. Köksal ve arkadaşları (84) hastane kaynaklı *P. aeruginosa* suşlarından % 90.6'sının amikasinle duyarlı olduğunu saptamışlardır. Erdeniz ve Çetin (47) 1991 yılında yapmış oldukları çalışmada, 50 *P. aeruginosa* suşundan % 100'ünü amikasinle duyarlı veya orta duyarlı bulduklarını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 152 *P. aeruginosa* suşuna karşı amikasinin mikrodilüsyon yöntemiyle saptanan $MİK$ değerlerinin $1-32 \mu\text{g/ml}$ arasında, suşların % 50'sini ve % 90'ını inhibe eden

konsantrasyonların sırasıyla 8 µg/ml ve 16 µg/ml olduğu belirlenmiştir. NCCLS'in verilerine göre duyarlık sınırları: ≤ 16 µg/ml duyarlı, 32 µg/ml orta duyarlı, ≥ 64 µg/ml dirençli kabul edilmiştir (104). Buna göre çalışmamızda suşların % 98'inin duyarlı, % 2'sinin orta duyarlı ve suşlardan hiçbirinin direnç göstermediği gözlenmiştir. Elde edilen bu bulguların diğer araştırmacıların sonuçlarıyla uygunluk gösterdiği saptanmıştır.

Çalışmamızda denenen antibiyotiklerin *P. aeruginosa* suşlarına karşı tek başına etkilere karşılaştırıldığında, aztreonamın diğerlerine oranla en az etkili antibiyotik olduğu gözlenmiştir. Seftazidim bu suşlara karşı aztreonamdan daha etkili bulunmuştur. Ancak *P. aeruginosa*'ya karşı en etkili sefalosporin olduğu bilinen seftazidime karşı, muhtemelen klinikteki yoğun kullanımından dolayı, çalışmamızda kullanılan suşların % 13.1'yle direncin gözlenmesi, bu antibiyotiğin *P. aeruginosa*'nın etken olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde aktivitesi araştırıldıktan sonra seçilmesi gerektiğini göstermektedir. Piperasilin, *P. aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan en eski β-laktam olmasına rağmen, suşların sadece % 6.6'sıyla direnç gözlenmiştir. Çalışmamızda denenen antibiyotikler arasında imipenem ve siprofloksasinin tartım bazında en etkili antibiyotikler oldukları belirlenmiştir. İncelenen suşların % 7.2'sinin siprofloksasine direnç göstermesi, tedavideki önemli yerine rağmen bu antibiyotiğe karşı dirençli suşların gelişmekte olduğunu göstermektedir. İmipenemin, çalışmamızda kullanılan *P. aeruginosa* suşlarına karşı en etkili antibiyotik oluşu ve suşların hiçbiriyile direncin gözlenmemesi dikkatimizi çeken noktalardan biri olmuştur. Bu antibiyotiğin PBP-2'ye olan yüksek ilgisi ve bakteri hücresinin dış membranından yüksek oranda geçebilmesini sağlayan özelliklere sahip olması, aktivitesinin artmasına, bakterinin klasik direnç mekanizmalarına karşı koymasına ve çapraz dirençlerde yer almamasına yol açmaktadır (128, 144, 152, 156). Bulgularımız ülkemizde klinik kullanıma yeni giren bu antibiyotiğin *P. aeruginosa*'nın neden olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde tek başına güvenle kullanılabileceğini göstermektedir. Ancak *P. aeruginosa* gibi sahip olduğu birçok biyolojik özelliklerden dolayı yüksek mortaliteyle sonuçlanan infeksiyonlara neden olan spesifik bir bakteri söz konusu olunca, imipenemin daha önce geliştirilen antipseudomonal etkili antibiyotikler gibi geliş güzel kullanılmamasına, bir rezerve antibiyotik olarak saklanmasına dikkat

edilmelidir. Çalışmamızda dikkatimizi çeken bir diğer nokta, 20 yıldır klinik kullanımda bulunmasına rağmen incelenen suşlardan hiçbirinin amikasinine direnç göstermemiş olmasıdır. Aminoglikozitlerin neden olduğu toksik etkilerden dolayı klinisyenler, yaşamı tehdit eden infeksiyonların tedavisinde yeni β -laktamlar ve kinolonlar gibi alternatif antibiyotiklerin kullanımına yönelmişlerse de, amikasinin sahip olduğu hızlı etki mekanizması, diğer antibiyotiklere dirençli suşlara etkinliği ve direnç gelişiminin hiç bir zaman β -laktamlarda görüldüğü hızda olmayacağı gerçeği, bu antibiyotiğin gelecekte de ciddi *P. aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisindeki yerini koruyacağını göstermektedir.

Tedavide uygulanacak antibiyotiğin seçimi için kullanılan duyarlık deneyleri genellikle antibiyotiğin bakteriyostatik veya inhibitör etkisini ölçmektedir. Pratikte bu veriler birçok infeksiyonun tedavisinde yeterli olmaktadır. Ancak yetersiz tedavinin genellikle mortaliteyle sonuçlandığı septisemi, endokardit ve menenjit gibi olguların, özellikle immün sistemi hasar görmüş kişilerde oluşan infeksiyonların tedavisinde bakterisidal aktivite gerekmektedir. Böyle durumlarda antibiyotiğe ait MİK değerlerinin yanı sıra MBK değerlerinin ve MBK/MİK oranının saptanması, tedavinin yönlendirilmesi açısından yarar sağlamaktadır.

Scribner ve arkadaşlarının (132) kistik fibrözlü hastalardan izole edilen 60 *P. aeruginosa* suşuna karşı çeşitli antibiyotiklerin bakterisidal etkilerini araştırdıkları çalışmada, piperasilinin MBK değerlerini 1-256 $\mu\text{g/ml}$ arasında, MBK₅₀ değerini 8 $\mu\text{g/ml}$, MBK₉₀ değerini 128 $\mu\text{g/ml}$, elde edilen MBK değerlerinin MİK değerlerine yakın konsantrasyonlarda olduğunu bildirmişlerdir. Lyon ve arkadaşları (91) 103 *P. aeruginosa* suşuna karşı piperasilinin MBK₅₀ ve MBK₉₀ değerlerini sırasıyla 16 $\mu\text{g/ml}$ ve > 512 $\mu\text{g/ml}$ olarak saptamışlardır. Ansorg ve arkadaşları (7) tarafından saptanan MBK₅₀ ve MBK₉₀ değeri > 64 $\mu\text{g/ml}$ olarak bildirilmiştir. Smith ve Henry (135) 102 *P. aeruginosa* suşuna karşı piperasilinin MBK₅₀ değerini 11.4 $\mu\text{g/ml}$, MBK₉₀ değerini > 256 $\mu\text{g/ml}$ ve MBK₉₀/MİK₉₀ oranını 3/1 olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 152 P. aeruginosa suşuna karşı piperasilinin MBK değerleri 4- > 512 $\mu\text{g}/\text{ml}$ arasında, MBK₅₀ ve MBK₉₀ değerleri sırasıyla 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve 128 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olarak belirlenmiş, suşlardan 80'ini MİK değerine eşit, 65'ini MİK değerinin iki katı, 5'ini ise MİK değerinin dört katı konsantrasyonda öldürdüğü gözlenmiştir. Elde edilen bu bulguların diğer araştırmacıların sonuçları ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Ng ve arkadaşları (113) yapmış oldukları çalışmada, seftazidimin bakterisidal etkiye sahip olduğunu, 32 P. aeruginosa suşuna karşı saptanan MBK₅₀ değerini 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$, MBK₉₀ değerini 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve elde edilen MBK değerlerinin genellikle MİK değerlerine eşit veya iki katı konsantrasyonlarda olduğunu bildirmişlerdir. Hallander ve arkadaşları (63) seftazidimin 43 P. aeruginosa suşundan % 50'sini ve % 90'ını sırasıyla 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve 128 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonlarda öldürdüğünü saptamışlardır. Ansorg ve arkadaşları (7) kistik fibrözlü hastalarda izole edilen 79 P. aeruginosa suşuna karşı seftazidimin MBK₅₀ değerini 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$, MBK₉₀ değerini > 64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olarak belirlemişlerdir. Smith ve Henry (135) 102 P. aeruginosa suşuna karşı seftazidimin MBK₅₀ değerini 3.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$, MBK₉₀ değerini 83.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve MBK₉₀/MİK₉₀ oranını 2/1 olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 152 P. aeruginosa suşuna karşı seftazidimin MBK değerleri 0.5- >128 $\mu\text{g}/\text{ml}$ arasında, MBK₅₀ ve MBK₉₀ değerleri sırasıyla 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olarak belirlenmiş, suşlardan 77'sini MİK değerine eşit, 72'sini MİK değerinin iki katı konsantrasyonda öldürdüğü gözlenmiştir. Elde edilen bu bulguların diğer araştırmacıların sonuçları ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Ng ve arkadaşları (113) çalışmalarında, aztreonamın bakterisidal etkiye sahip olduğunu, 32 P. aeruginosa suşuna karşı saptanan MBK₅₀ değerini 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$, MBK₉₀ değerini 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve elde edilen MBK değerlerinin genellikle MİK değerlerine eşit veya iki katı konsantrasyonlarda olduğunu bildirmişlerdir. Paradelis ve arkadaşları (116) aztreonamın 20 P. aeruginosa suşundan 6'sını MİK değerinin iki katı, 14'ünü ise MİK değerinin dört katı

konsantrasyonda öldürdüğünü saptamışlardır. Stutman ve arkadaşlarının (139) aztreonamın MBK değerlerini 0.25-32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ arasında saptadıkları çalışmada, 18 *P. aeruginosa* suşundan sadece ikisinin MİK değerinin dört katı konsantrasyonda öldürüldüğünü bildirmişlerdir.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 152 *P. aeruginosa* suşuna karşı aztreonamın MBK değerleri 4-512 $\mu\text{g}/\text{ml}$ arasında, MBK₅₀ ve MBK₉₀ değerleri sırasıyla 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olarak belirlenmiş ve suşlardan 92'sini MİK değerine eşit, 56'sını MİK değerinin iki katı, 4'ünü MİK değerinin dört katı konsantrasyonda öldürdüğü gözlenmiştir. Elde edilen bu bulguların diğer araştırmacıların sonuçları ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Cullmann ve arkadaşları (37) çalışmalarında, imipenemin *P. aeruginosa* suşlarına karşı göstermiş olduğu bakterisidal etkinin MİK'in en fazla iki katı konsantrasyondaki değerlerde olduğunu bildirmişlerdir. Pusztai-Markos ve Pranada (123) 40 *P. aeruginosa* suşundan % 90'ını inhibe eden ve öldüren imipenem konsantrasyonlarını sırasıyla 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olarak belirlemişler ve saptanan MİK ve MBK değerleri arasında önemli bir farkın gözlenmediğini bildirmişlerdir. Meyer ve Liu (96) çoğul dirençli 40 *P. aeruginosa* suşuna karşı imipenemin ortalama MBK/MİK oranını 2.3 olarak saptamışlardır.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 152 *P. aeruginosa* suşuna karşı imipenemin MBK değerleri 0.5-8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ arasında, MBK₅₀ ve MBK₉₀ değerleri sırasıyla 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olarak belirlenmiş, suşlardan 97'sini MİK değerine eşit, 55'ini MİK değerinin iki katı konsantrasyonda öldürdüğü gözlenmiştir. Elde edilen bu bulguların diğer araştırmacıların sonuçlarıyla benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Meyer ve Liu (96) 40 *P. aeruginosa* suşuna karşı siprofloksasinin MBK değerlerini 0.12- > 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ arasında, MBK₅₀ değerini 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, MBK₉₀ değerini 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olarak saptamışlardır. Parry (117) 230 *P. aeruginosa* suşuna karşı sırasıyla 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olarak saptamış olduğu MBK₅₀ ve MBK₉₀ değerlerinin, MİK değerlerinin iki katı veya dört katı konsantrasyonlarda olduğunu bildirmiştir.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 152 *P. aeruginosa* suşuna karşı siprofloksasinin MBK değerleri 0.125- > 16 µg/ml arasında, MBK₅₀ ve MBK₉₀ değerleri sırasıyla 1 µg/ml ve 2 µg/ml olarak belirlenmiş, suşlardan 39'unu MİK değerine eşit, 82'sini MİK değerinin iki katı, 25'ini MİK değerinin dört katı konsantrasyonda öldürdüğü gözlenmiştir. Elde edilen bu bulguların diğer araştırmacıların sonuçları ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Scribner ve arkadaşlarının (132) kistik fibrözlü hastalardan izole edilen 60 *P. aeruginosa* suşuna karşı çeşitli antibiyotiklerin bakterisidal etkilerini araştırdıkları çalışmada, amikasinin MBK değerlerini 0.5-64 µg/ml arasında, MBK₅₀ değerini 8 µg/ml, MBK₉₀ değerini 32 µg/ml ve elde edilen MBK değerlerinin MİK değerlerine yakın konsantrasyonlarda olduğunu bildirmişlerdir. Jones ve arkadaşları (78) amikasinin 10 *P. aeruginosa* suşundan 7'sini MİK değerine eşit, ikisini MİK değerinin iki katı, birini MİK değerinin dört katı konsantrasyonda öldürdüğünü saptamışlardır. Lyon ve arkadaşları (91) 103 *P. aeruginosa* suşuna karşı amikasinin MBK₅₀ ve MBK₉₀ değerlerini sırasıyla 8 µg/ml ve 32 µg/ml olarak belirlemişlerdir. Ansorg ve arkadaşları (7) tarafından saptanan MBK₅₀ ve MBK₉₀ değerleri ise, sırasıyla 16 µg/ml ve 64 µg/ml olarak bildirilmiştir.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 152 *P. aeruginosa* suşuna karşı amikasinin MBK değerleri 1-64 µg/ml arasında, MBK₅₀ ve MBK₉₀ değerleri sırasıyla 16 µg/ml ve 32 µg/ml olarak belirlenmiş, suşlardan 65'ini MİK değerine eşit, 78'ini MİK değerinin iki katı, 9'unu MİK değerinin dört katı konsantrasyonda öldürdüğü gözlenmiştir. Elde edilen bu bulguların diğer araştırmacıların sonuçları ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Çalışmamızda denenen antibiyotiklerin *P. aeruginosa* suşlarına karşı saptanan MBK₅₀ ve MBK₉₀ değerleri, MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerine yakın konsantrasyonlarda bulunmuştur. Tartım bazında en yüksek bakterisidal etkiye sahip olan antibiyotiklerin imipenem ve siprofloksasin olduğu gözlenmiştir. Ancak çalışmada incelenen antibiyotiklerin MBK/MİK oranlarına ait değerleri karşılaştırıldığında, siprofloksasinin diğer antibiyotiklere

oranla en az sayıdaki suşu MİK değerine eşit ve en fazla sayıdaki suşu MİK değerinin dört katı konsantrasyonda öldürdüğü gözlenmiştir. İncelenen *P. aeruginosa* suşlarına karşı bakterisidal etkilerini en fazla MİK değerinin iki katı konsantrasyonundaki değerlere kadar oluşturan antibiyotiklerin imipenem ve seftazidim olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda incelenen antibiyotikler arasında β -laktamların genelde suşların yarısından fazlasını MİK değerine eşit konsantrasyonlarda öldürmüş olmaları, bakterisidal aktivitenin gerektiği *P. aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde seçilebilir antibiyotikler olduklarını göstermektedir. Bu olumlu etki yönünden β -laktamları sırasıyla amikasin ve siprofloksasin takip etmektedir.

Antibiyotiklerin etki spektrumunu genişletmek, bakterisidal etkilerini arttırmak veya hızlandırmak ve suşların antibiyotiklere direnç geliştirmesini önlemek kombinasyon tedavisinin amaçlarını oluşturmaktadır. Ayrıca elde edilen sinerjistik etki, antibiyotiklerin daha düşük dozda uygulanmalarını ve buna bağlı olarak olası toksik yan etkilerin azaltılmasını sağlamaktadır (5). Genellikle immün yetmezlik bulunan kişilerde oluşan infeksiyonların, bakteriyel endokarditin ve sistemik *P. aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde, antibiyotiklerin bakterisidal etkilerini arttırmak ve hızlandırmak için kombinasyon halinde oluşturdukları sinerjistik etkiden yararlanılmaktadır. Bu durum özellikle immün sistemi baskılanmış kişilerde yetersiz tedavinin yüksek oranda mortaliteyle sonuçlandığı *P. aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde önem kazanmaktadır. Yapılan çalışmalar *P. aeruginosa*'nın etken olduğu bakteriyemilerde antibiyotiklerin tek başına kullanıldığı hastalarda mortalitenin % 47 oranında görüldüğünü, kombinasyon tedavisinin uygulandığı hastalarda ise bu oranın % 27'ye düştüğünü göstermektedir (69). *P. aeruginosa*'nın neden olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde sinerjistik etki gösteren kombinasyonlarla başarılı sonuçlar alınmaktadır (9, 59, 69). Hayvan ve insana ait bulguların elde edilmesinde ortaya çıkan güçlükler nedeniyle uygun bir kombinasyonun seçimi in vitro bilgilerin esas alınmasıyla gerçekleşmektedir. Bu amaçla kullanılan yöntemlerden biri olan mikrodilüsyon "checkerboard", birçok araştırmacılarca tercih edilmektedir (8, 91, 96).

Lyon ve arkadaşlarının (91) *P. aeruginosa* suşlarına karşı piperasilin, tikarsilin ve mezlosilinin dört aminoglikozit ile kombinasyon halindeki

etkilerini araştırdıkları çalışmada, amikasin içeren tüm kombinasyonların daha etkili olduğu, en fazla sinerjist etkinin gözlendiği amikasin-piperasilin kombinasyonunun (% 77) suşlardan % 96'sına karşı aktivite göstermek suretiyle en etkili kombinasyon olduğu bildirilmiştir. Aronoff ve Klinger (8) kistik fibrözlü çocuklardan izole edilen amikasine dirençli P. aeruginosa suşlarına karşı piperasilin tek başına % 13.6 oranında etkiliyken, amikasin ile kombine edildiğinden % 50 oranında etkili olduğunu saptamışlardır. Kurtz ve arkadaşları (88) amikasin-piperasilin kombinasyonunun amikasine dirençli P. aeruginosa suşlarına karşı % 88 oranında sinerjist etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Johnson ve arkadaşlarının (76) ntrogenik sıçanlarda oluşturdukları deneysel P. aeruginosa bakteriyemilerine karşı β -laktam-aminoglikozit kombinasyonlarıyla yapılan tedavinin, iki β -laktam grubu antibiyotik içeren kombinasyonlardan ve bu antibiyotiklerin tek başına kullanılmasından daha etkili olduğunu bildirdikleri çalışmada, piperasilinin tek başına uygulandığı tedavilerde sıçanların 9'u canlı kalırken, piperasilin-amikasin kombinasyonu ile tamamının iyileştiği bildirilmiştir. Çalışmaların hiçbirinde piperasilin-amikasin kombinasyonu ile P. aeruginosa suşlarına karşı antagonist etkinin oluştuğuna dair bulgulara rastlanmamıştır.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 36 P. aeruginosa suşuna karşı piperasilinin amikasin ile kombinasyon halinde oluşturduğu etki mikrodilüsyon "checkerboard" yöntemiyle araştırılmış, bulgular FİK indeksine göre değerlendirilmiştir. Buna göre suşların 33'öyle sinerjist, 3'öyle additif etkinin grldği ve hiçbiriyle antagonist etkinin gözlenmediği çalışmamızda, bulguların diğer araştırmacıların sonuçlarıyla uygunluk gösterdiği saptanmıştır.

Giamarellou ve arkadaşlarının (62) oğul dirençli 30 P. aeruginosa suşuna karşı çeşitli β -laktam antibiyotiklerin dört aminoglikozit ile kombinasyon halindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada, amikasin içeren kombinasyonlarla daha sık sinerjist etkinin elde edildiği, seftazidim-amikasin kombinasyonu ile % 93.3 oranında sinerjist etkinin gözlendiği bildirilmiştir. Meyer ve Liu (96) seftazidim-amikasin kombinasyonunun çoğul dirençli 40 P. aeruginosa suşundan 26'sına karşı sinerjist etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Johnson ve arkadaşlarının (76) ntrogenik sıçanlarda

oluşturdukları deneysel *P. aeruginosa* bakteriyemilerine karşı β -laktam-aminoglikozit kombinasyonlarının diğerk tedavi rejimlerine oranla daha etkili olduğunu bildirdikleri çalışmada, seftazidim tek başına uygulandığında 20 sıçandan 10'u canlı kalırken, amikasin ile kombine edildiğinde tamamının iyileştiği saptanmıştır. Moody ve arkadaşları (99) nötropenik tavşanlarda oluşturulan *P. aeruginosa* infeksiyonlarına karşı seftazidimin tek başına etki gösteremediğini, ancak amikasin ile kombine edildiğinde altı tavşandan beşinin iyileştiğini ve bu bulgunun in vitro deneylerle uygunluk gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmaların hiçbirinde seftazidim-amikasin kombinasyonu ile *P. aeruginosa* suşlarına karşı antagonist etkinin oluştuğuna dair bulgulara rastlanmamıştır.

Çalışmamızda seftazidim-amikasin kombinasyonunun çeşitli klinik örneklerden izole edilen 55 *P. aeruginosa* suşunun 48'ine sinerjistik, 7'sine additif etkili olduğu ve suşların hiçbirleriyle antagonist etkinin gözlenmediği saptanmıştır. Elde edilen bu bulgular diğerk araştırmacıların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Giamarellou ve arkadaşlarının (62) çoğul dirençli 30 *P. aeruginosa* suşuna karşı çeşitli β -laktam antibiyotiklerin dört aminoglikozit ile kombinasyon halindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada, aztreonam-amikasin kombinasyonu ile % 93.3 oranında sinerjistik etki saptadıklarını bildirmişlerdir. Aronoff ve Klinger (8) kistik fibröz lü çocuklardan izole edilen amikasin dirençli *P. aeruginosa* suşlarına karşı aztreonamın tek başına % 50 oranında etkiliyken, amikasin ile kombine edildiğinde % 81.8 oranında etkili olduğunu saptamışlardır. Buesing ve Jorgensen (23) çalışmalarında, aztreonam-amikasin kombinasyonu ile % 71 oranında sinerjistik etki elde ettiklerini ve indifferent etki gösteren kombinasyonların da bakterisidal etkiyi arttırdıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmaların hiçbirinde aztreonam-amikasin kombinasyonu ile *P. aeruginosa* suşlarına karşı antagonist etkinin saptandığına dair bulgulara rastlanmamıştır.

Çalışmamızda aztreonam-amikasin kombinasyonunun çeşitli klinik örneklerden izole edilen 116 *P. aeruginosa* suşunun 98'ine sinerjistik, 18'ine additif etkili olduğunu ve suşlardan hiçbirleriyle antagonist etkinin gözlenmediğini gösteren bulgularımız, diğerk araştırmacıların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Bustamante ve arkadaşları (25) imipenem-amikasin kombinasyonunun imipeneme duyarlı 22 *P. aeruginosa* suşuna karşı % 45 oranında sinerjistik etkili olduğunu bildirmişlerdir. Meyer ve Liu (96) bu kombinasyonun 40 *P. aeruginosa* suşundan 7'sine karşı sinerjistik etkili olduğunu saptamışlardır. Johnson (75) granülositopenik sıçanlarda oluşturulan *P. aeruginosa* bakteriyemisine karşı çeşitli β -laktamların tek başına ve amikasin ile kombinasyon halindeki etkilerini araştırdığı çalışmasında, imipenemin tek başına uygulandığında en etkili antibiyotik olduğunu ve amikasin ile kombine edildiğinde sıçanların tamamının canlı kaldığını bildirmiştir. Bu çalışmaların hiçbirinde *P. aeruginosa* suşlarına karşı imipenem-amikasin kombinasyonu ile antagonist etkinin saptandığına dair bulgulara rastlanmamıştır.

Çalışmamızda imipenem-amikasin kombinasyonunun çeşitli klinik örneklerden izole edilen 34 *P. aeruginosa* suşunun 12'sine sinerjistik, 22'sine additif etkili olduğunu ve suşlardan hiçbirisiyle antagonist etkinin gözlenmediğini gösteren bulgularımız, diğer araştırmacıların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Haller (64) çalışmasında, *P. aeruginosa* suşlarına karşı siprofloksasin-amikasin kombinasyonunun sadece additif veya indifferent etki gösterdiğini, sinerjistik veya antagonist etkinin elde edilmediğini bildirmiştir. Meyer ve Liu (96) siprofloksasin-amikasin kombinasyonunun 40 *P. aeruginosa* suşundan 39'una karşı additif, birine antagonist etki gösterdiğini saptamışlardır. Chow ve arkadaşları (29) siprofloksasin-amikasin kombinasyonunun 27 *P. aeruginosa* suşundan sadece biriyle sinerjistik etkinin saptandığını, antagonist etkinin gözlenmediğini bildirmişlerdir. Giamarellou ve Petrikos (61) çalışmalarında, bu kombinasyonun *P. aeruginosa*'nın sonradan tekrar üremesini önlediğini göstermişlerdir.

Çalışmamızda siprofloksasin- amikasin kombinasyonunun çeşitli klinik örneklerden izole edilen 40 *P. aeruginosa* suşunun tamamına additif etkili olduğu, suşların hiçbirisiyle sinerjistik ve antagonist etkinin gözlenmediği saptanmıştır. Elde edilen bu bulguların diğer araştırmacıların sonuçları ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Çalışmamızda denenen kombinasyonların *P. aeruginosa* suşlarına karşı etkileri karşılaştırıldığında, sinerjistik etkinin en sık amikasinin; piperasilin (% 92), seftazidim (% 87) ve aztrenonam (% 84) ile birlikte kullanıldığı kombinasyonlarla elde edildiği gözlenmiştir. Bu kombinasyonlarla elde edilen sinerjistik etkiye ait oranlar karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Bu üç β -laktamın amikasin ile kombine edilmesi sonucu elde edilen sinerjistik etkinin β -laktamlara dirençli ve duyarlı *P. aeruginosa* suşlarına göre dağılımı incelendiğinde, piperasilin ve aztrenonamın bulunduğu kombinasyonlarla önemli bir fark gözlenmemiş, benzer oranlarda sinerjistik etki saptanmıştır. Ancak seftazidim-amikasin kombinasyonu ile elde edilen bulgularda belirgin bir fark gözlenmiştir. Bu kombinasyon seftazidime duyarlı *P. aeruginosa* suşlarının tamamına sinerjistik etki gösterirken, bu oran dirençli suşlarda % 59'a inmiştir. Bu bulgu seftazidim-amikasin kombinasyonunun özellikle seftazidime duyarlı *P. aeruginosa* suşlarının etken olduğu infeksiyonlarda, hızlı bakterisidal etkinin gerektiği durumlarda, seçilebilir bir kombinasyon olduğunu göstermektedir. Amikasinin kombine edildiği β -laktam grubu antibiyotikler arasında, imipenem-amikasin kombinasyonu (% 35) en düşük oranda sinerjistik etki elde edilmiştir. Ancak çalışmamızda kullanılan suşlardan hiçbirinin imipeneme direnç göstermediği göz önüne alındığında, imipenemin dirençli *P. aeruginosa* suşlarının etken olduğu infeksiyonların tedavisinde tek başına veya antibakteriyel etkisini arttırmak amacıyla amikasin ile kombinasyon halinde seçilebilir bir antibiyotik olduğunu göstermektedir. Siprofloksasin-amikasin kombinasyonu dahil olmak üzere, çalışmamızda *P. aeruginosa* suşlarına karşı etkileri araştırılan kombinasyonların hiçbirisiyle antagonist etki saptanmamıştır. Ancak siprofloksasin-amikasin kombinasyonu ile sinerjistik etki de gözlenmemiştir; suşların tümüyle elde edilen additif etki, bu kombinasyonun belki, siprofloksasinin tek başına yeterli konsantrasyonlara ulaşamadığı infeksiyon bölgelerinde aktivitesini arttırmak amacıyla kullanılabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak; *P. aeruginosa*'nın neden olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde seçilebilir antibiyotikler ve kombinasyonlar hakkında fikir veren bulgularımızın, klinisyenlere yardımcı olabileceği düşüncesindeyiz.

SONUÇ

1. Çeşitli antibiyotiklerin tek başına ve amikasin ile kombinasyonlarının çeşitli klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarına karşı *in vitro* etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, 152 *P. aeruginosa* suşundan % 98.7'sinin imipeneme, % 98'inin amikasine, % 87.5'inin siprofloksasine, % 82.9'unun piperasiline, % 78.3'ünün seftazidime ve % 61.2'sinin aztreonama duyarlı olduğu saptanmıştır. İmipenemin çalışmamızda incelenen *P. aeruginosa* suşlarına karşı en yüksek aktivite gösteren antibiyotik oluşu ve suşlardan hiçbirisiyle direncin gözlenmemesi, ülkemizde henüz klinik kullanıma giren bu antibiyotiğin, *P. aeruginosa*'nın neden olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde tek başına güvenle kullanılabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda suşlardan hiçbirisiyle direncin gözlenmediği bir diğer antibiyotiğin amikasin olduğu saptanmıştır. Bu bulgumuz, 20 yıla yakın klinik kullanımda bulunan amikasinin, gelecekte de yeni gelişen antibiyotiklerin yanında tedavideki yerini koruyacağını göstermektedir.

2. Piperisilin, seftazidim, aztreonam, imipenem, siprofloksasin ve amikasinin *P. aeruginosa* suşlarına karşı elde edilen MBK₅₀ ve MBK₉₀ değerlerinin, saptanan MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerine yakın konsantrasyonlarda olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda incelenen antibiyotikler arasında β -laktamların genelde suşların yarısından fazlasını MİK değerine eşit konsantrasyonlarda öldürmüş olmaları, bakterisidal aktivitenin gerektiği *P. aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde seçilebilir antibiyotikler olduklarını göstermektedir. Bu olumlu etki yönünden β -laktamları sırasıyla amikasin ve siprofloksasin takip etmektedir.

3. Piperasilin, seftazidim, aztreonam, imipenem ve siprofloksasinin amikasin ile kombine edilmeleri sonucunda sinerjistik etkinin en sık piperasilin (% 92), seftazidim (% 87) ve aztreonam (% 84) içeren kombinasyonlarla elde edildiği gözlenmiştir. Piperasilin ve aztreonam içeren kombinasyonlar β -laktamlara duyarlı ve dirençli *P. aeruginosa* suşlarına karşı benzer oranda

sinerjistik etki gösterirken, seftazidim-amikasin kombinasyonunun ise seftazidime duyarlı suşlara karşı daha yüksek oranda sinerjistik etki gösterdiği saptanmıştır. Çalışmamızda amikasin ile kombine edilen β -laktam grubu antibiyotikler arasında, en düşük oranda sinerjistik etkinin gözlemlendiği kombinasyonun imipenem-amikasin (% 35) olduğu saptanmıştır. Ancak imipeneme suşlardan hiçbirinin direnç göstermediği göz önüne alınırsa, dirençli *P. aeruginosa* suşlarının etken olduğu infeksiyonlarda seçilebilir bir kombinasyon olduğu ortaya çıkmaktadır. Siprofloksasin-amikasin kombinasyonunun incelenen *P. aeruginosa* suşlarının tamamına additif etkili olduğu gözlemlenmiş olması, bu kombinasyonun siprofloksasinin tek başına yeterli konsantrasyonlara ulaşamadığı infeksiyon bölgelerinde, aktivitesini arttırmak amacıyla kullanılabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda, incelenen kombinasyonlardan hiçbirinin *P. aeruginosa* suşlarına karşı antimikrobiyel aktivitenin azalmasına neden olabilecek antagonist etkileşim riskine sahip olmadığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak; bulgularımız *P. aeruginosa*'nın neden olduğu ciddi infeksiyonlarda direnç gelişimini önlemek, antibiyotiklerin bakterisidal etkilerini arttırmak ve hızlandırmak için tedavide seçilebilecek antibiyotik kombinasyonları hakkında yönlendirici olacaktır.

Ö Z E T

Pseudomonas aeruginosa özellikle immün sistemi baskılanmış, kanser, kistik fibröz, yanık ve travmatik yara bulunan hastalarda yüksek oranda mortaliteyle sonuçlanabilen önemli bir hastane infeksiyonu etkeni olma özelliğini sürdürmektedir. Bu hastalarda *P. aeruginosa* infeksiyonları genellikle hızla geliştiğinden, başarılı sonuçlar ancak etkili bir antibiyotik tedavisi zamanında uygulandığı takdirde elde edilmektedir. Bu çalışmada piperasilin, seftazidim, aztreonam, imipenem ve siprofloksasinin tek başına ve amikasin ile kombinasyonlarının *P. aeruginosa* suşlarına karşı in vitro etkileri araştırılmıştır. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 152 *P. aeruginosa* suşuna karşı bu antibiyotiklerin minimum inhibitör ve bakterisidal konsantrasyonları (MİK ve MBK) mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmış, MİK değerleri esas alınarak, suşlardan % 98.7'sinin imipeneme, %98'inin amikasine, %87.5'inin siprofloksasine, %82.9'unun piperasiline, % 78.3'ünün seftazidime ve % 61.2'sinin aztreonama duyarlı olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda suşlardan hiçbirinin imipeneme ve amikasine direnç göstermemiş olması, bu antibiyotiklerin diğerlerinden üstün olduklarını göstermektedir. Bu antibiyotiklerle saptanan bakterisidal ve inhibitör etkilere ait değerler arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir. MBK değerleri genellikle MİK değerlerine eşit, iki katı veya dört katı konsantrasyonlarda saptanmıştır. Bu antibiyotiklerin amikasin ile kombinasyonlarının aynı suşlara karşı in vitro etkileri mikrodilüsyon "checkerboard" yöntemiyle araştırılmış, sonuçlar fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu (FİK) indeksine göre değerlendirilmiştir. Buna göre FİK indeksi ≤ 0.5 esas alındığında, sinerjistik etkileşimin en sık piperasilin (% 92), seftazidim (% 87) ve aztreonam (% 84), ve en az imipenem (% 35) ile olduğu gözlenmiştir. Siprofloksasin-amikasin kombinasyonu ile *P. aeruginosa* suşlarına karşı sadece additif etki elde edilmiştir. Kombinasyonların hiçbiriyile antagonist etki saptanmamıştır. Sonuç olarak; bulgularımızın ciddi *P. aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde antibiyotikler tek başına yetersiz kaldığında, uygun kombinasyonların seçiminde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

S U M M A R Y

Pseudomonas aeruginosa continues to be a major nosocomial pathogen which is a leading cause of mortality, particularly among patients with immunosuppression, malignancy, cystic fibrosis, burns and traumatic wounds. Since *P. aeruginosa* infections often progress rapidly in these patients, optimal results can only be achieved when timely administration of an effective antimicrobial therapy is ensured. With this purpose the in vitro activities of piperacillin, ceftazidime, aztreonam, imipenem, ciprofloxacin, either alone or in combination with amikacin were assessed in clinical isolates of *P. aeruginosa*. The minimum inhibitory and bactericidal concentrations (MIC and MBC) of these antibiotics were determined by microbroth dilution technique against 152 *P. aeruginosa* strains. According to the MIC values, 98.7 %, 98 %, 87.5 %, 82.9 %, 78.3 % and 61.2 % of the isolates were found susceptible to imipenem, amikacin, ciprofloxacin, piperacillin, ceftazidime and aztreonam, respectively. The finding that none of the strains were resistant to imipenem and amikacin, indicated the superiority of these antibiotics to the other agents. There was no major difference between bactericidal and inhibitory endpoints. The MBC values were generally equal to or two to four times greater than those of MIC. The in vitro activities of these antibiotics in combination with amikacin were determined by microbroth checkerboard technique against the same strains, and the results were interpreted by fractional inhibitory concentration (FIC) index. With a FIC index of ≤ 0.5 as borderline, synergistic interactions were most frequent with piperacillin (92 %), ceftazidime (87 %) and aztreonam (84 %), and less frequent with imipenem (35 %). The combination of ciprofloxacin with amikacin showed only additive effect against the *P. aeruginosa* strains. No antagonism was observed with any combination. Consequently, the findings of this study may play a useful role in selecting the appropriate combinations when a single agent is inadequate.

KAYNAKLAR

1. Ahmad M H, Rechenmacher A, Böck A: Interaction between aminoglycoside uptake and ribosomal resistance mutations, *Antimicrob Agents Chemother* 18: 798 (1980).
2. Akalın H E: Nötropenik hastalarda infeksiyon: etkenlerde gelişmeler, *ANKEM Derg* 7: 147 (1993).
3. Akalın H E, Baykal M, Akın S: Hastane infeksiyonlarına neden olan bakterilerin dağılımı ve antibiyotik duyarlıkları, *KÜKEM Derg* 8: 174 (1985).
4. Akalın H E, Köksal İ, Kardeş T, Baykal M: Çeşitli antibiyotiklerin Gram negatif bakterilere in-vitro aktiviteleri, *ANKEM Derg* 1: 79 (1987).
5. Allan J D, Moellering R C Jr: Management of infections caused by Gram-negative bacilli: the role of antimicrobial combinations, *Rev Infect Dis* 7 (Suppl 4): 559 (1985).
6. Anhalt J P, Washington J A: Preparation and storage of antimicrobial solutions "E H Lennette, A Ballows, W J Hausler, H J Shadomy (eds): *Manual of Clinical Microbiology* 4. baskı" kitabında s 1019, American Society for Microbiology, Washington D C (1985).
7. Ansorg R, Müller K D, Wiora J: Comparison of inhibitory and bactericidal activity of antipseudomonal antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients, *Chemotherapy* 36: 222 (1990).
8. Aronoff S C, Klinger J D: In vitro activities of aztreonam, piperacillin, and ticarcillin combined with amikacin against amikacin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *P. cepacia* isolates from children with cystic fibrosis, *Antimicrob Agents Chemother* 25: 279 (1984).
9. Baltch A L, Smith R P: Combinations of antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*, *Am J Med* 79 (Suppl 1A): 8 (1985).
10. Barry A L, Thornsberry C, Jones R N, Gavan T L: Aztreonam: antibacterial activity, β -lactamase stability, and interpretive standards and quality control guidelines for disk-diffusion susceptibility tests, *Rev Infect Dis* 7 (Suppl 4): 594 (1985).
11. Bedard J, Chamberland S, Wong S, Schollaardt T, Bryan L E: Contribution of permeability and sensitivity to inhibition of DNA synthesis in determining susceptibilities of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Alcaligenes faecalis* to ciprofloxacin, *Antimicrob Agents Chemother* 33: 1457 (1989).
12. Birnbaum J, Kahan F M, Kropp H, MacDonald J S: Carbapenems, a new class of beta-lactam antibiotics. Discovery and development of imipenem/cilastatin, *Am J Med* 78 (Suppl 6A): 3 (1985).

13. Bisbe J, Gatell J M, Puig J, Mallolas J, Martinez J A, Jimenez de Anta M, Soriano E: *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: univariate and multivariate analysis of factors influencing the prognosis in 133 episodes, *Rev Infect Dis* 10: 629 (1988).
14. Bodey G P, Bolivar R, Fainstein V, Jadeja L: Infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*, *Rev Infect Dis* 5: 279 (1983).
15. Bodey G P, Jadeja L, Elting L: *Pseudomonas* bacteremia. Retrospective analysis of 410 episodes, *Arch Intern Med* 145: 1621 (1985).
16. Bonner D P, Sykes R B: Structure activity relationships among the monobactams, *J Antimicrob Chemother* 14: 313 (1984).
17. Bosso J A, Allen J E, Matsen J M: Changing susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients with the clinical use of newer antibiotics, *Antimicrob Agents Chemother* 33: 526 (1989).
18. Botzenhart K, Rüden H: Hospital infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*, *Antibiot Chemother* 39: 1 (Karger, Basel 1987).
19. Bryan L E: Antibiotic uptake and the cytoplasmic membrane, *Antibiot Chemother* 36: 103 (Karger, Basel 1985).
20. Bryan L E, Bedard J: Impermeability to quinolones in Gram-positive and Gram-negative bacteria, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 10: 232 (1991).
21. Bryan L E, Kwan S: Roles of ribosomal binding, membrane potential, and electron transport in bacterial uptake of streptomycin and gentamicin, *Antimicrob Agents Chemother* 23: 835 (1983).
22. BSAC Working Party: A guide to sensitivity testing, *J Antimicrob Chemother* 27 (Suppl D) (1991).
23. Buesing M A, Jorgensen J H: In vitro activity of aztreonam in combination with newer β -lactams and amikacin against multiply resistant Gram-negative bacilli, *Antimicrob Agents Chemother* 25: 283 (1984).
24. Bustamante C I, Drusano G L, Tatem B A, Standiford H C: Postantibiotic effect of imipenem on *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 26: 678 (1984).
25. Bustamante C I, Drusano G L, Wharton R C, Wade J C: Synergism of the combinations of imipenem plus ciprofloxacin and imipenem plus amikacin against *Pseudomonas aeruginosa* and other bacterial pathogens, *Antimicrob Agents Chemother* 31: 632 (1987).
26. Büscher K H, Cullmann W, Dick W, Opferkuch W: Imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* resulting from diminished expression of an outer membrane protein, *Antimicrob Agents Chemother* 31: 703 (1987).

27. Cabezudo I, Pfaller M, Bale M, Wenzel R: In vitro comparison of cefpirome and four other beta-lactam antibiotics alone and in combination with tobramycin against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Diagn Microbiol Infect Dis* 12: 337 (1989).
28. Celesk R A, Robillard N J: Factors influencing the accumulation of ciprofloxacin in *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 33: 1921 (1989).
29. Chow A W, Wong J, Barlett K H, Shafran S D, Stiver H G: Cross-resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to ciprofloxacin, extended-spectrum β -lactams, and aminoglycosides and susceptibility to antibiotic combinations, *Antimicrob Agents Chemother* 33: 1368 (1989).
30. Chu D T W, Fernandes P B: Structure-activity relationships of the fluoroquinolones, *Antimicrob Agents Chemother* 33: 131 (1989).
31. Cohn D L, Reimer L G, Reller L B: Comparative in-vitro activity of MK0787 (N-formimidoyl thienamycin) against 540 blood culture isolates, *J Antimicrob Chemother* 9: 183 (1982).
32. Craig W A, Gudmundsson S: The postantibiotic effect "V Lorian (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 2. baskı" kitabında s 515, William & Wilkins, Baltimore, USA (1986).
33. Cross A S: Evolving epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* infections, *Eur J Microbiol* 4: 156 (1985).
34. Cross A, Allen J R, Burke J, Duce G, Harris A, John J, Johnson D, Lew M, MacMillan B, Meers P, Skalova R, Wenzel R, Tenny J: Nosocomial infections due to *Pseudomonas aeruginosa*: review of recent trends, *Rev Infect Dis* 5 (Suppl 5): 837 (1983).
35. Crumplin G C: Aspect of the chemistry of the 4-quinolone antimicrobial agents, *Rev Infect Dis* 10 (Suppl 1): 2 (1988).
36. Cullmann W, Büscher K H, Dick W: Selection and properties of *Pseudomonas aeruginosa* variants resistant to beta-lactam antibiotics, *Eur J Clin Microbiol* 6: 467 (1987).
37. Cullmann W, Opferkuch W, Stieglitz M, Werkmeister U: A comparison of the antibacterial activities of N-formimidoyl thienamycin (MK0787) with those of other recently developed β -lactam derivatives, *Antimicrob Agents Chemother* 22: 302 (1982).
38. Curtis N A C, Orr D, Ross G W, Boulton M G: Competition of β -lactam antibiotics for penicillin-binding proteins of *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella aerogenes*, *Proteus rettgeri* and *Escherichia coli*: comparison with antibacterial activity and effects upon bacterial morphology, *Antimicrob Agents Chemother* 16: 325 (1979).
39. Çuhadar F, Keskin K, Yenen O Ş: *Pseudomonas aeruginosa* infeksiyonları ve antibiyotik duyarlılığı, *ANKEM Derg* 5: 105 (1991).
40. Davies J E: Resistance to aminoglycosides: mechanisms and frequency, *Rev Infect Dis* 5 (Suppl 2): 261 (1983).

41. DeJace P, Klastersky J: Comparative review of combination therapy: two beta-lactams versus beta-lactam plus aminoglycoside, *Am J Med* 80 (Suppl 6B): 29 (1986).
42. Döring G, Maier M, Müller E, Bibi Z, Tümmler B, Kharazmi A: Virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*, *Antibiot Chemother* 39: 136 (Karger, Basel 1987).
43. Dworzack D L, Pugsley M P, Sanders C C, Horowitz E A: Emergence of resistance in Gram-negative bacteria during therapy with expanded-spectrum cephalosporins, *Eur J Clin Microbiol* 6: 456 (1987).
44. Elion G B, Singer S, Hitchings G H: Antagonists of nucleic acid derivatives. VIII. Synergism in combinations of biochemically related antimetabolites, *J Biol Chem* 208: 477 (1953).
45. Elliott T S J, Greenwood D: The morphological response of *Pseudomonas aeruginosa* to azthreonam, cefoperazone, ceftazidime and N-formimidoyl thienamycin, *J Med Microbiol* 17: 159 (1984).
46. Enciso M D: In vitro activity of aztreonam, ceftazidime and imipenem combined with ciprofloxacin against Gram-negative bacilli and compared with amikacin combinations against *Pseudomonas aeruginosa*, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 10: 90 (1991).
47. Erdeniz H, Çetin E T: Muayene maddelerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının aminoglikozid ve üçüncü kuşak sefalosporinlere duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 5: 124 (1991).
48. European Study Group on Antibiotic Resistance: Incidence of inducible beta-lactamases in Gram-negative septicemia isolates from twenty-nine European laboratories, *Eur J Clin Microbiol* 6: 460 (1987).
49. Fainstein V, Weaver S, Bodey G P: Comparative in vitro study of SQ26,776, *Antimicrob Agents Chemother* 21: 294 (1982).
50. Fass R J: Comparative in vitro activities of β -lactam-tobramycin combinations against *Pseudomonas aeruginosa* and multidrug-resistant Gram-negative enteric bacilli, *Antimicrob Agents Chemother* 21: 1003 (1982).
51. Fass R J: In vitro activity of ciprofloxacin (Bay o 9867), *Antimicrob Agents Chemother* 24: 568 (1983).
52. Follath F, Costa E, Thommen A, Frei R, Burdeska A, Meyer J: Clinical consequences of development of resistance to third generation cephalosporins, *Eur J Clin Microbiol* 6: 446 (1987).
53. Fu K P, Neu H C: Piperacillin, a new penicillin active against many bacteria resistant to other penicillins, *Antimicrob Agents Chemother* 13: 358 (1978).
54. Garcia I, Bodey G P, Fainstein V, Ho D H, LeBlanc B: In vitro activity of Win 49375 compared with those of other antibiotics in isolates from cancer patients, *Antimicrob Agents Chemother* 26: 421 (1984).

55. George W L, Lewis R P, Meyer R D: Susceptibility of cephalothin-resistant Gram-negative bacilli to piperacillin, cefuroxime, and other selected antibiotics, *Antimicrob Agents Chemother* 13: 484 (1978).
56. Georgopapadakou N H, Smith S A, Sykes R B: Mode of action of azthreonam, *Antimicrob Agents Chemother* 21: 950 (1982).
57. Gerçeker A: Pseudomonas aeruginosa'nın virülans faktörlerinin akut ve kronik infeksiyonların patogeneziindeki rolleri, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 22: 92 (1992).
58. Gerding D N, Larson T A: Aminoglycoside resistance in Gram-negative bacilli during increased amikacin use. Comparison of experience in 14 United States hospitals with experience in the Minneapolis Veterans Administration Medical Center, *Am J Med* 79 (Suppl 1A): 1 (1985).
59. Giamarellou H: Aminoglycosides plus beta-lactams against Gram-negative organisms. Evaluation of in vitro synergy and chemical interactions, *Am J Med* 80 (Suppl 6B): 127 (1986).
60. Giamarellou H, Avlami A, Matsakas V, Kosmidis J, Daikos G K: In-vitro studies with ceftazidime, *J Antimicrob Chemother* 8 (Suppl B): 73 (1981).
61. Giamarellou H, Petrikos G: Ciprofloxacin interactions with imipenem and amikacin against multiresistant Pseudomonas aeruginosa, *Antimicrob Agents Chemother* 31: 959 (1987).
62. Giamarellou H, Zissis N P, Tagari G, Bouzos J: In vitro synergistic activities of aminoglycoside and new β -lactams against multiresistant Pseudomonas aeruginosa, *Antimicrob Agents Chemother* 25: 534 (1984).
63. Hallander H O, Dornbusch K, Gezelius L, Jacobson K, Karlsson I: Synergism between aminoglycosides and cephalosporins with antipseudomonal activity: interaction index and killing curve method, *Antimicrob Agents Chemother* 22: 743 (1982).
64. Haller I: Comprehensive evaluation of ciprofloxacin-aminoglycoside combinations against Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa strains, *Antimicrob Agents Chemother* 28: 663 (1985).
65. Hancock R E W: The Pseudomonas aeruginosa outer membrane permeability barrier and how to overcome it, *Antibiot Chemother* 36: 95 (Karger, Basel 1985).
66. Hancock R E W, Wong P G W: Compounds which increase the permeability of the Pseudomonas aeruginosa outer membrane, *Antimicrob Agents Chemother* 26: 48 (1984).
67. Hathorn J W, Pizzo P A: Is there a role for monotherapy with β -lactam antibiotics in the initial empirical management of febrile neutropenic cancer patients ?, *J Antimicrob Chemother* 17 (Suppl A): 41 (1986).
68. Hayes M V, Ward J B: The role of penicillin-binding proteins in the antibacterial activity of β -lactam antibiotics "V Lorian (ed): Antibiotics in Laboratory Medicine, 2. baskı" kitabında s 722, William & Wilkins, Baltimore, USA (1986).

69. Hilf M, Yu V L, Sharp J, Zuravleff J J, Korvick J A, Muder R R: Antibiotic therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: outcome correlations in a prospective study of 200 patients, *Am J Med* 87: 540 (1989).
70. Hooper D C, Wolfson J S: Mode of action of the quinolone antimicrobial agents, *Rev Infect Dis* 10 (Suppl 1): 14 (1988).
71. Hooper D C, Wolfson J S: Bacterial resistance to the quinolone antimicrobial agents, *Am J Med* 87 (Suppl 6C): 17 (1989).
72. Hooper D C, Wolfson J S: Mode of action of the quinolone antimicrobial agents: review of recent information, *Rev Infect Dis* 11 (Suppl 5): 902 (1989).
73. Hooper D C, Wolfson J S, Ng E Y, Swartz M N: Mechanisms of action and resistance to ciprofloxacin, *Am J Med* 82 (Suppl 4A): 12 (1987).
74. Jacoby G A, Carreras I: Activities of β -lactam antibiotics against *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum β -lactamases, *Antimicrob Agents Chemother* 34: 858 (1990).
75. Johnson D: Use of discriminative models of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in granulocytopenic rats for testing antimicrobial efficacy, *Eur J Clin Microbiol* 4: 207 (1985).
76. Johnson D E, Thompson B, Calia F M: Comparative activities of piperacillin, ceftazidime, and amikacin, alone and in all possible combinations, against experimental *Pseudomonas aeruginosa* infections in neutropenic rats, *Antimicrob Agents Chemother* 27: 735 (1985).
77. Jones R N, Barry A L, Thornsberry C, Gerlach E H, Fuchs P C, Gavan T L, Sommers H M: Ceftazidime, a pseudomonas-active cephalosporin: in-vitro antimicrobial activity evaluation including recommendation for diffusion susceptibility tests, *J Antimicrob Chemother* 8 (Suppl B): 187 (1981).
78. Jones R N, Thornsberry C, Barry A L, Packer R R, Baker C N, Badal R E: Compound A49759, the 3-o-demethyl derivative of fortimicin A: in vitro comparison with six other aminoglycoside antibiotics, *Antimicrob Agents Chemother* 18: 773 (1980).
79. Kahlmeter G, Dahlager J I: Aminoglycoside toxicity - a review of clinical studies published between 1975 and 1982, *J Antimicrob Chemother* 13 (Suppl A): 9 (1984).
80. Kesado T, Hashizume T, Asahi Y: Antibacterial activities of a new stabilized thienamycin, N-formimidoyl thienamycin, in comparison with other antibiotics, *Antimicrob Agents Chemother* 17: 912 (1980).
81. King A, Shannon K, Eykyn S, Phillips I: Reduced sensitivity to β -lactam antibiotics arising during ceftazidime treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections, *J Antimicrob Chemother* 12: 363 (1983).
82. Kocabeyoğlu Ö, Koşan E, Birinci İ, Fidan A, Kanmaz M, Yılmaz M: İmipenemin çeşitli bakteri suşlarına etkinliğinin mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılması, *ANKEM Derg* 7: 66 (1993).

83. Köksal İ, Aker F: *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının bazı antibiyotiklere duyarlılık durumlarının değerlendirilmesi: iki yıllık karşılaştırmalı çalışma, ANKEM Derg 5: 123 (1991).
84. Köksal İ, Koç F, Cırav Z, Algan T: *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılık durumlarının araştırılması, ANKEM Derg 4: 206 (1990).
85. Krogstad D J, Moellering R C Jr: *Antimicrobial Combinations "V Lorian (ed): Antibiotics in Laboratory Medicine, 2. baskı" kitabında s 537, William & Wilkins, Baltimore, USA (1986).*
86. Kropp H, Gerckens L, Sundelof J G, Kahan F M: Antibacterial activity of imipenem: the first thienamycin antibiotic, *Rev Infect Dis* 7 (Suppl 3): 389 (1985).
87. Kucers A, Bennett N K: "The Use of Antibiotics, 3. baskı" kitabında s 170, 377, William Heinemann Medical Books Ltd, London (1979).
88. Kurtz T O, Winston D J, Bruckner D A, Martin W J: Comparative in vitro synergistic activity of new beta-lactam antimicrobial agents and amikacin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens*, *Antimicrob Agents Chemother* 20: 239 (1981).
89. Livermore D M: Clinical significance of beta-lactamase induction and stable derepression in Gram-negative rods, *Eur J Clin Microbiol* 6: 439 (1987).
90. Livermore D M, Williams R J, Williams J D: In-vitro activity of MK0787 (N-formimidoyl thienamycin) against *Pseudomonas aeruginosa* and other Gram-negative organisms and its stability to their β -lactamases, *J Antimicrob Chemother* 8: 355 (1981).
91. Lyon M D, Smith K R, Saag M S, Cloud G A, Cobbs C G: In vitro activity of piperacillin, ticarcillin, and mezlocillin alone and in combination with aminoglycosides against *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 30: 25 (1986).
92. Madhavan T, Fitzsimons B: Activity of ciprofloxacin in vitro against isolates of resistant *Pseudomonas aeruginosa* from a community hospital, *Rev Infect Dis* 10 (Suppl 1): 35 (1988).
93. Malouin F, Bryan L E: Modification of penicillin-binding proteins as mechanism of resistance, *Antimicrob Agents Chemother* 30: 1 (1986).
94. Mayer K H: Reviews of epidemic aminoglycoside resistance worldwide, *Am J Med* 80 (Suppl 6B): 56 (1986).
95. Meyer R D, Kraus L L, Pasiecznik K A: In vitro susceptibility of gentamicin-resistant Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* to netilmicin and selected aminoglycoside antibiotics, *Antimicrob Agents Chemother* 10: 677 (1976).
96. Meyer R D, Liu S: In vitro synergy studies with ciprofloxacin and selected beta-lactam agents and aminoglycosides against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Diagn Microbiol Infect Dis* 11: 151 (1988).

97. Michael P R, Alford R H, McGee Z A: Superior activity of N-formimidoyl thienamycin against gentamicin-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 20: 702 (1981).
98. Moellering R C Jr: In vitro antibacterial activity of the aminoglycoside antibiotics, *Rev Infect Dis* 5 (Suppl 2): 212 (1983).
99. Moody J A, Fasching C E, Peterson L R, Gerding D N: Ceftazidime and amikacin alone and in combination against *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacteriaceae*, *Diagn Microbiol Infect Dis* 6: 59 (1987).
100. Moore R A, Woodruff W A, Hancock R E W: Antibiotic uptake pathways across the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*, *Antibiot Chemother* 39: 172 (Karger, Basel 1987).
101. Moss R B, McClelland E, Williams R R, Hilman B C, Rubio T, Adkinson N F: Evaluation of immunologic cross-reactivity of aztreonam in patients with cystic fibrosis who are allergic to penicillin and/or cephalosporin antibiotics, *Rev Infect Dis* 13 (Suppl 7): 598 (1991).
102. Muscato J J, Wilbur D W, Stout J J, Fahrlender R A: An evaluation of the susceptibility patterns of Gram-negative organisms isolated in cancer centers with aminoglycoside usage, *J Antimicrob Chemother* 27 (Suppl C): 1 (1991).
103. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents; Proposed Guideline. NCCLS document M26-P. Villanova, NCCLS (1987).
104. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically-second edition; Tentative Standards. NCCLS Document M7-T2. Villanova, NCCLS (1988).
105. Neffel K A, Hauser S P, Müller M R: Inhibition of granulopoiesis in vivo and in vitro by beta-lactam antibiotics, *J Infect Dis* 152: 90 (1985).
106. Neu H C: Structure-activity relations of new β -lactam compounds and in vitro activity against common bacteria, *Rev Infect Dis* 5 (Suppl 2): 319 (1983).
107. Neu H C: Carbapenems: special properties contributing to their activity, *Am J Med* 78 (Suppl 6A): 33 (1985).
108. Neu H C: Antibiotic inactivating enzymes and bacterial resistance "V Lorian (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 2. baskı" kitabında s 757, William & Wilkins, Baltimore, USA (1986).
109. Neu H C: Bacterial resistance to fluoroquinolones, *Rev Infect Dis* 10 (Suppl 1): 57 (1988).
110. Neu H C, Labthavikul P: Antibacterial activity and β -lactamase stability of ceftazidime, an aminothiazolyl cephalosporin potentially active against *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 21: 11 (1982).

111. Neu H C, Labthavikul P: Comparative in vitro activity of N-formimidoyl thienamycin against Gram-positive and Gram-negative aerobic and anaerobic species and its β -lactamase stability, *Antimicrob Agents Chemother* 21: 180 (1982).
112. Neu H C, Labthavikul P: In vitro activity and β -lactamase stability of a monobactam, SQ 26,917, compared with those of aztreonam and other agents, *Antimicrob Agents Chemother* 24: 227 (1983).
113. Ng W W S, Chau P Y, Leung K, Livermore D M: In vitro activities of Ro 17-2301 and aztreonam compared with those of other new β -lactam antibiotics against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 27: 872 (1985).
114. Nikaido H, Rosenberg E Y, Foulds J: Porin channels in *Escherichia coli*: studies with β -lactams in intact cells, *J Bacteriol* 153: 232 (1983).
115. Özdemir R, Kaptan F, Ulusoy M, Türker M, Arpaz M, Erermiş O: Değişik muayene maddelerinden üretilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına kinolon ve aminoglikozitlerin etkisinin in-vitro değerlendirilmesi, *ANKEM Derg* 7: 61 (1993).
116. Paradelis A G, Stathopoulos G A, Salpigides G N, Crassaris L G: Antibacterial activity of aztreonam: a synthetic monobactam. A comparative study with thirteen other antibiotics, *Meth and Find Exptl Clin Pharmacol* 5: 375 (1983).
117. Parry M F: Efficacy of oral ciprofloxacin for the treatment of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*, *Rev Infect Dis* 10 (Suppl 1): 68 (1988).
118. Pearson R D, Steigbigel R T, Davis H T, Chapman S W: Method for reliable determination of minimal lethal antibiotic concentrations, *Antimicrob Agents Chemother* 18: 699 (1980).
119. Perl T M, Pfaller M A, Houston A, Wenzel R P: Effect of serum on the in vitro activities of 11 broad-spectrum antibiotics, *Antimicrob Agents Chemother* 34: 2234 (1990).
120. Peterson P K: Host defense against *Pseudomonas aeruginosa* "L D Sabath (ed): *Pseudomonas aeruginosa* the organism, diseases it causes, and their treatment" kitabında s 103, Hans Huber Publishers, Bern (1980).
121. Philippon A, Labia R, Jacoby G: Extended-spectrum β -lactamases, *Antimicrob Agents Chemother* 33: 1131 (1989).
122. Prince A S, Neu H C: Activities of new beta-lactam antibiotics against isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from patients with cystic fibrosis, *Antimicrob Agents Chemother* 20: 545 (1981).
123. Pusztai-Markos Z S, Pranada F: In vitro activity of N-formimidoyl-thienamycin in comparison to that of moxalactam and cefotaxime against gentamicin-resistant Gram-negative bacteria, *Eur J Clin Microbiol* 1: 49 (1982).

124. Quinn J P, Dudek E J, DiVincenzo C A, Lucks D A, Lerner S A: Emergence of resistance to imipenem during therapy for *Pseudomonas aeruginosa* infections, *J Infect Dis* 154: 289 (1986).
125. Ravizzola G, Pinsi G, Gonzales R, Colombrita D, Pirali F, Turano A: Antibacterial activity of the new carbapenem meropenem (SM-7338) against clinical isolates, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 8: 1053 (1989).
126. Rhame F S: The ecology and epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* "L D Sabath (ed): *Pseudomonas aeruginosa* the organism, diseases it causes, and their treatment" kitabinda s 31, Hans Huber Publishers, Bern (1980).
127. Richmond M H: Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to antibiotics "L D Sabath (ed): *Pseudomonas aeruginosa* the organism, diseases it causes, and their treatment" kitabinda s 176, Hans Huber Publishers, Bern (1980).
128. Sanders C C: Inducible β -lactamases and non-hydrolytic resistance mechanisms, *J Antimicrob Chemother* 13: 1 (1984).
129. Sanders C C, Sanders W E Jr: Microbial resistance to newer generation β -lactam antibiotics: clinical and laboratory implications, *J Infect Dis* 151: 399 (1985).
130. Sanders C C, Sanders W E Jr: Type I β -lactamases of Gram-negative bacteria: interactions with β -lactam antibiotics, *J Infect Dis* 154: 792 (1986).
131. Saxon A, Swabb E A, Adkinson N F: Investigation into the immunologic cross-reactivity of aztreonam with other beta-lactam antibiotics, *Am J Med* 78 (Suppl 2A): 19 (1985).
132. Scribner R K, Marks M I, Weber A H, Tarpay M M, Welch D F: Activities of various β -lactams and aminoglycosides, alone and in combination, against isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from patients with cystic fibrosis, *Antimicrob Agents Chemother* 21: 939 (1982).
133. Shannon K, Phillips I: Mechanisms of resistance to aminoglycosides in clinical isolates, *J Antimicrob Chemother* 9: 91 (1982).
134. Siegenthaler W E, Bonetti A, Luthy R: Aminoglycoside antibiotics in infectious diseases, *Am J Med* 80 (Suppl 6B): 2 (1986).
135. Smith J A, Henry D A: Comparison of bactericidal activity of selected β -lactam antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa*, *J Antimicrob Chemother* 22: 849 (1988).
136. Spratt B G, Cromie K D: Penicillin-binding proteins of Gram-negative bacteria, *Rev Infect Dis* 10 (Suppl 4): 699 (1988).
137. Spratt B G, Jobanputra V, Zimmermann W: Binding of thienamycin and clavulanic acid to the penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* K-12, *Antimicrob Agents Chemother* 12: 406 (1977).
138. Stanley M M: *Bacillus pyocyaneus* infections. A review report of cases and discussion of newer therapy including streptomycin, *Am J Med* 2: 253 (1947).

139. Stutman H R, Welch D F, Scribner R K, Marks M I: In vitro antimicrobial activity of aztreonam alone and in combination against bacterial isolates from pediatric patients, *Antimicrob Agents Chemother* 25: 212 (1984).
140. Sykes R B, Bonner D P, Bush K, Georgopapadakou N H: Azthreonam (SQ 26,776), a synthetic monobactam specifically active against aerob Gram-negative bacteria, *Antimicrob Agents Chemother* 21: 85 (1982).
141. Sykes R B, Matthew M: The β -lactamases of Gram-negative bacteria and their role in resistance to β -lactam antibiotics, *J Antimicrob Chemother* 2: 115 (1976).
142. Thrupp L D: Susceptibility testing of antibiotics in liquid media "V Lorian (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 2. baskı" kitabında s 93, William & Wilkins, Baltimore, USA (1986).
143. Trias J, Dufresne J, Levesque R C, Nikaido H: Decreased outer membrane permeability in imipenem-resistant mutants of *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 33: 1201 (1989).
144. Trias J, Nikaido H: Outer membrane protein D2 catalyzes facilitated diffusion of carbapenems and penems through the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 34: 52 (1990).
145. Töreci K: Sefalosporinler: I. Tarihçe, yapı, etki mekanizması, gruplandırma ve direnç mekanizmaları, *ANKEM Derg* 1: 90 (1987).
146. Töreci K: Antibiyotik direnç mekanizmaları, *ANKEM Derg* 3: 445 (1989).
147. Verbist L: In vitro activity of piperacillin, a new semisynthetic penicillin with an unusually broad spectrum of activity, *Antimicrob Agents Chemother* 13: 349 (1978).
148. Vurma-Rapp U, Kayser F H, Barberis-Maino L: Antibacterial properties of imipenem with special reference to the activity against methicillin-resistant staphylococci, cefotaxime-resistant Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*, *J Antimicrob Chemother* 18 (Suppl E): 27 (1986).
149. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsunashi S: Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 35: 147 (1991).
150. Weisser J, Wiedemann B: Briefreport: Effects of ciprofloxacin on plasmids, *Am J Med* 82 (Suppl 4A): 21 (1987).
151. Wilkinson I D, Gentry L O: In-vitro comparison of ceftazidime and nine other antimicrobial agents against hospital strains of Gram-negative bacteria, *J Antimicrob Chemother* 8 (Suppl B): 53 (1981).
152. Williams R J, Yang Y J, Livermore D M: Mechanisms by which imipenem may overcome resistance in Gram-negative bacilli, *J Antimicrob Chemother* 18 (Suppl E): 9 (1986).

153. Wolfson J S, Hooper D C: Fluoroquinolone antimicrobial agents, *Clin Microbiol Rev* 2: 378 (1989).
154. Wolfson J S, Hooper D C: The fluoroquinolones: structures, mechanisms of action and resistance, and spectra of activity in vitro, *Antimicrob Agents Chemother* 28: 581 (1985).
155. Yang Y, Wu P, Livermore D M: Biochemical characterization of a β -lactamase that hydrolyzes penems and carbapenems from two *Serratia marcescens* isolates, *Antimicrob Agents Chemother* 34: 755 (1990).
156. Yoshimura F, Nikaido H: Diffusion of β -lactam antibiotics through the porin channels of *Escherichia coli* K-12, *Antimicrob Agents Chemother* 27: 84 (1985).
157. Young L S: Use of aminoglycosides in immunocompromised patients, *Am J Med* 79 (Suppl 1A): 21 (1985).
158. Young L S, Hindler J: Aminoglycoside resistance: a worldwide perspective, *Am J Med* 80 (Suppl 6B): 15 (1986).
159. Zak O: Antibiotics and *Pseudomonas aeruginosa* "L D Sabath (ed): *Pseudomonas aeruginosa The Organism, Diseases It Causes, and Their Treatment*" kitabında s 133, Hans Huber Publishers, Bern (1980).
160. Zinner S H: Review of amikacin usage in the EORTC trials, *Am J Med* 79 (Suppl 1A): 17 (1985).

ÖZGEÇMİŞ

12.6.1961'de İstanbul'da doğdum. İlk öğretimime Almanya'da başlayıp Türkiye'de tamamladım. 1978 yılında orta ve lise eğitimimi yapmış olduğum Özel Işık Lisesi'nden mezun oldum. 1978 yılında başladığım Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 1982 yılında mezun oldum. 1982-1984 yılları arasında Kansuk A.Ş., 1984-1988 yılları arasında Birleşik Alman İlaç Fabrikaları T.A.Ş.'de eczacı olarak görev yaptım. Bu ilaç fabrikalarında çalıştığım süre içinde yeni teknikleri öğrenmek amacıyla Almanya'da Biotest GmbH, Bayer AG ve Schering AG firmalarında çalışmalarda bulundum. 1988 yılında İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Mikrobiyoloji Birimi'nde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım. Aynı yılın Eylül ayında İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı olarak başladığım Yüksek Lisans eğitimimi "Seftriaksonun amikasin, netilmisin ve tobramisin ile kombinasyonlarının Pseudomonas aeruginosa suşlarına karşı in vitro etkilerinin araştırılması" konulu tezimle 1990 yılında tamamladım. Aynı yıl İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı olarak doktora çalışmalarına başladım. Halen İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON BİRİMİ