

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GRAM NEGATİF BASİLLERDE TİGESİKLİNİN İNVİTRO
AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Esin DOĞANTEKİN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN

ELAZIĞ
2010

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr.

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr.

Danışman

Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN

Uzmanlık Jüri Üyeleri

..... _____
..... _____
..... _____
..... _____
..... _____

TEŞEKKÜR

Beni bugünlere getiren; hayatımın her döneminde maddi ve manevi desteklerini, sevgilerini, esirgemeyen; başarı ya da başarısızlığımda hep yanımda olan; kendileriyle gurur ve onur duyduğum çok değerli anne ve babama,

Hayat arkadaşım; sevgili eşim Akif'e

İşim uğruna ona zaman ayıramamama rağmen beni sevmekten vazgeçmeyen, hayatımın anlamı biricik kızım İmran'a,

Çok sevgili ağabeyim Doç. Dr. Engin AVCI' ya,

Uzmanlık eğitim süreci içerisinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Anabilim Dalı başkanımız Prof.Dr. Mustafa YILMAZ'a,

Uzmanlık eğitimim süresince ve tez çalışma aşamasında bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen başta tez danışman hocam Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN olmak üzere hocalarım Doç.Dr.Ahmet KIZIRGİL, Prof.Dr.Adnan SEYREK, Doç.Dr. Yasemin BULUT'a,

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarım ve tüm laboratuvar çalışanlarımıza,

Katkılarından dolayı Wyeth İlaçları A.Ş. firmasına teşekkür ederim.

ÖZET

Hastane enfeksiyonları, morbidite ve mortalite oranlarının yüksek olması, hastanede kalış süresinin uzaması ve yüksek tedavi maliyeti nedeniyle önemli bir sağlık sorunudur. Son yıllarda özellikle yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere hastane enfeksiyonlarında en sık izole edilen etkenlerin başında gram negatif basiller gelmektedir.

Günümüzde gram negatif basillere bağlı olarak oluşan enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı giderek artan direnç tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Bu durum yeni antimikrobialerin geliştirilmesini gerektirmektedir.

Tigesiklin yeni geliştirilen antimikrobiyal ajanlardan biridir. Glisilsiklin grubu ilaçların ilk üyesidir. Tigesiklin bakterileriyel ribozomun 30S alt ünitesine bağlanır ve rRNA'nın hedefine ulaşmasını engelleyerek protein sentezini inhibe eder.

Bu çalışmada, Fırat Üniveristesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 25 *Escherichia coli*, 25 *Klebsiella spp.*, 25 *Acinetobacter baumannii* ve 25 *Pseudomonas aeruginosa* olmak üzere 100 Gram negatif basilin tigesiklin duyarlılığının araştırılması amaçlandı. Bu suşların antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle belirlenirken, tigesiklin duyarlılığı ise broth mikrodilasyon yöntemi ile test edilmiştir.

Test edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarının %100'ü, *Acinetobacter baumannii* suşlarının %96'sı tigesikline duyarlı bulunurken, *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının %100'ü tigesikline dirençli tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, *Pseudomonas aeruginosa* dışında gram negatif basillerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde tigesiklinin uygun klinik endikasyonlarda kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Broth mikrodilasyon yöntemi, tigesiklin, gram negatif basil, antimikrobiyal ajan.

ABSTRACT

EVALUATION OF IN VITRO ACTIVITY OF TIGECYCLINE AGAINST GRAM NEGATIVE BACILLI

Nosocomial infections are important healthcare issues by reason of their high mortality and morbidity rate, prolonged hospital stay and high treatment costs. In recent years, the most isolated agents at nosocomial infections, especially in intensive care units, are gram negative bacilli.

At the present day, gradually increasing resistance to antimicrobial agents utilised for infections related to gram negative bacilli have become an important healthcare problem in our country, as in the whole world. This situation requires to develop new antimicrobial agents.

Tigecycline is one of the last recent developed antimicrobial agents. It is the first member of glycilcycline group of drugs. Tigecycline binds to 30S subunit of the bacterial ribosome and through blocking to reach rRNA to its target, it inhibits protein synthesis.

In this study, that planned to search sensitivity of tigecycline 100 Gram negative bacilli, 25 of them *Escherichia coli*, 25 of them *Klebsiella spp*, 25 of them *Acinetobacter baumannii*, 25 of them *Pseudomonas aeruginosa* that isolated from differant clinical specimens in Firat University Microbiology Laboratory. While antimicrobial susceptibility of these strains were determined with disc diffusion method, tigecycline susceptibility was tested by broth microdilution method.

100% of 25 *Escherichia coli*, 100% of 25 *Klebsiella spp.*, 96% of *Acinetobacter baumannii* strains tested were detected susceptible to tigecycline while 100% of 25 *Pseudomonas aeruginosa* strains were determined resistant to tigecycline.

Consequently, it is suggested that tigecycline may be used in the treatment of infections caused by gram negative bacilli except *Pseudomonas aeruginosa*.

Key words: Broth microdilution method, tigecycline, gram negative bacilli, antimicrobial agent.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK	I
ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ	IX
KISALTMALAR LİSTESİ	X
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>Escherichia coli</i>	2
1.1.1. <i>Escherichia coli</i> ' nin Yol Açtığı Başlıca Enfeksiyonlar	3
1.1.1.3. Hastane Kaynaklı <i>E.coli</i> Kökenlerinde Direnç Problemi	6
1.2. <i>Klebsiella spp.</i>	7
1.2.1. Hastane Kaynaklı <i>Klebsiella</i> Türlerinde Direnç Problemi	8
1.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
1.3.1. Hastane Kaynaklı <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Kökenlerinde Direnç Problemi	12
1.4. <i>Acinetobacter</i> türleri	13
1.4.1. Hastane Kaynaklı <i>Acinetobacter</i> Kökenlerinde Direnç Problemi	15
1.5. Tigesiklin	16
1.5.1. Tigesiklinin Etki Spektrumu	16
1.5.2. Tigesiklinin Farmakolojik Özellikleri	17
1.5.3. Tigesiklinin Kullanım Dozu	18
1.5.4. Tigesikline Direnç Gelişim Mekanizması	18
1.6. Antimikrobiyal İlaçlara Direnç Mekanizmaları	19
1.6.1. Konjugasyon	20
1.6.2. Transdüksiyon	21
1.6.3. Transformasyon	21
1.6.4. Çeşitli Antibiyotik Gruplarına Direnç Gelişiminde Önemli Olan Mekanizmalar	22

1.7. Antibiyotiklere Direnç Fenotipinin Belirlendiği Yöntemler	29
1.7.1. İnhibitör Aktivite İle İlgili Yöntemler	29
1.7.2. Bakterisidal Aktivite ile İlgili Testler	30
2. GEREÇ VE YÖNTEM	32
2.1. Gereç	32
2.1.1. Besiyerleri	32
2.1.2. 96 Kuyucuklu plastik plaklar	32
2.1.3. Antibiyotik Diskleri	32
2.1.4. Tigesiklin (Wyeth Research, Pearl River, NY, ABD) aktif maddesi	33
2.1.5. Diğer malzemeler	33
2.2. Yöntem	33
2.2.1. Antibiyotik Duyarlılık Testleri	34
3. BULGULAR	37
4. TARTIŞMA	43
5. KAYNAKLAR	54
6. ÖZGEÇMİŞ	72

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. <i>Escherichia coli</i> ve <i>Klebsiella spp.</i> için antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılan antibiyotikler ve zon çapları .	35
Tablo 2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ve <i>A.baumannii</i> suşları için antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılan antibiyotikler ve zon çapları.	35
Tablo 3. <i>Escherichia coli</i> ve <i>Klebsiella spp.</i> için FDA (Food and Drug Administration) tarafından açıklanan MİK değerleri (µg/ml).	36
Tablo 4. Çalışmaya alınan bakterilerin soyutlandığı klinik örneklerin dağılımı.	37
Tablo 5. Gram negatif basillerin soyutlandığı örneklerin gönderildiğı kliniklere göre dağılımı .	37
Tablo 6. Çalışmaya dahil edilen mikroorganizmaların türleri, sayıları ve %'leri.	38
Tablo 7. <i>Escherichia coli</i> suşlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal duyarlılık sonuçları.	38
Tablo 8. <i>Klebsiella</i> suşlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal duyarlılık sonuçları.	39
Tablo 9. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> suşlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal duyarlılık sonuçları.	39
Tablo 10. Çalışmada kullanılan <i>A.baumannii</i> suşlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal duyarlılık sonuçları.	40
Tablo 11. Çalışmada kullanılan <i>E.coli</i> , <i>Klebsiella spp</i> , <i>A.baumannii</i> , <i>P. aeruginosa</i> suşlarının mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenen tigesiklin MİK değerleri (µg/ml).	42
Tablo 12. Mystic 2003 sonuçları (% direnç).	45
Tablo 13. Hitit çalışması (2004) sonuçları (% direnç).	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.** Tigesiklinin kimyasal yapısı. 16
- Şekil 2.** Gram negatif izolatların tigesiklin duyarlılığının broth mikrodilüsyonla gösterilmesi. 41

KISALTMALAR LİSTESİ

AK	: Amikasin
AMP	: Ampisilin
CAMHB	: Cation Adjusted Mueller Hinton Broth Agar
CAZ	: Seftazidim
CIP	: Siprofloksasin
CLSI	: Clinical laboratory standarts institute
CRO	: Seftriakson
CTX	: Sefotaksim
DHFR	: Dihidrofolat redüktaz
DHPS	: Dihidropteorat sentaz
EARSS2007	: European Antimicrobial Resistance Surveillance System 2007
EAggEC	: Enteroagregatif <i>E.coli</i>
EHEC	: Enterohemorajik <i>E.coli</i>
EIHEC	: Enteroinvaziv <i>E.coli</i>
EPEC	: Enteropatojenik <i>E.coli</i>
EMB	: Eosin metilen blue
EUCAST	: Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Komitesi
FDA	: Food and Drug Administration
FEP	: Sefepim
GN	: Gentamisin
GSBL	: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz
IPM	: İmipenem
KAT	: Kloramfenikol Asetiltransferaz
LPS	: Lipopolisakkaritl Konsantrasyon
MBK	: Minimum Bakterisid Konsantrasyon
MDR	: Muli Drug Resistant
MEM	: Meropenem
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MLSB	: Makrolid Linkozamid Streptogramin B Direnci
MRSA	: Methicillin Resistant Staphylococcus aureus

MSSA	: Methicillin Duyarlı Staphylococcus aureus
Mystic	: Meropenem Yearly Suspectibility Test Collection
NN	: Tobramisin
NNIS	: National Nosocomial Infections Surveillance System
PBP	: Penisilin Bağlayan Protein
PDR	: Pan Drug Resistant
PİP/TAZ	: Piperasilin/Tazobaktam
SXT	: Trimetoprim/sulfametaksazol
TSİ	: Tree Sugar Iron

1. GİRİŞ

Mikroorganizmalar yeryüzünün en eski canlılarıdır. Bunun en önemli nedeni değişen yaşam koşullarına hızla uyum sağlayabilme yetenekleridir. Bu yetenekleri sayesinde kendilerine karşı geliştirilen her yeni antibiyotikten korunacak bir yol bulmaktadırlar. Sonuçta, enfeksiyonlarla savaşta en önemli engel olan antibiyotiklere direnç sorunu ortaya çıkmaktadır (1).

Antimikrobik maddelere karşı gelişen direnç günümüzde bütün insanlığı tehdit edecek düzeyde önemli bir sorundur. Birden fazla ilaca karşı dirençli kökenlerle gelişen hastane enfeksiyonları, hastanede kalış süresini ve ölüm oranlarını artırmakta ve oldukça fazla ek maliyet oluşmasına neden olmaktadır. Artık günümüzde sadece hastane kökenleri değil, toplumdan kazanılmış kökenlerde de direnç önemli oranlarda artmakta ve bu olay sorunu daha da büyütüp ciddi boyutlara taşımaktadır.

Gram negatif bakteriler, dış membran porin proteinlerindeki değişim ve aktif pompa sistemleri nedeniyle antibiyotiğin hedefine etkin konsantrasyonda ulaşmasının engellenmesi, antibiyotiği inaktive eden enzimlerin üretimi veya antibiyotiğin hedefi olan yapıdaki değişimler nedeniyle sağaltımda kullanılan antibakteriyellere direnç kazanmaktadır (2, 3).

Gram negatif basillerin etken olarak sık görüldüğü toplum kökenli enfeksiyonların başında üriner enfeksiyon ve gastrointestinal enfeksiyonlar gelmektedir (4). Toplum kökenli sepsisler için de önemli bir kaynak oluşturan toplum kökenli üriner enfeksiyonlarının en sık görülen etkeni *Escherichia coli* (*E.coli*)'dir ve bu enfeksiyonların sağaltımında sıklıkla florokinolonlar, trimetoprim/sulfametaksazol ve beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları uygulanmaktadır. Ancak son yıllarda kinolonlara karşı %30' lara, diğer antibakteriyeller için ise %50' lere varan direnç oranları bildirilmektedir (5-8).

Gram negatif bakteriler arasında en önemli hastane enfeksiyonu etkenleri: *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*), *E.coli*, *Klebsiella türleri*, *Acinetobacter baumannii* (*A.baumannii*) gelmektedir (2, 9). Bu bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılık oranları; türlerine, izole edildikleri enfeksiyon bölgesine, izole edildikleri hastane ve servise göre değişmekle birlikte, enfeksiyonlarının sağaltımında sıklıkla

geniş spektrumlu, antipsödomonal nitelikte beta-laktam antibiyotikler, florokinolonlar tek başına veya kombine edilerek uygulanmaktadır (10).

1.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli, mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık izole edilen ve hemen her doku ve organ sistemiyle ilgili enfeksiyonlarda rol alan Gram negatif basillerdir. Bunlar, insan kalın barsak florasının büyük bölümünü oluştururlar. Ortalama 2-6µm boyunda 1µm eninde bir basil olan *E.coli* aerobik koşullarda inkübe edildiğinde 37°C' de genel kullanım besiyerleri veya seçici besiyerlerinde kolayca ürer. 1-2µm çapında ve S tipi koloniler yapar. 15-45°C' de üreyebilmeleri ayırt edici bir özelliktir. Diğer *Enterobacteriaceae* üyelerinin de ürediği ve morfolojik olarak enterik patojenleri ayırımının yapıldığı MacConkey veya Eosin-Methylene-Blue (EMB) agarda izole edilirler. Birçok şekeri asit ve gaz yaparak parçalarlar. *E.coli* türlerinin ancak %90' ı laktoz pozitifdir, bazı diyarejenik *E.coli* türleri örneğin Enteroinvaziv *E.coli* (EIHEC) laktoz negatifdir. İndol testi ise *E.coli* lerde %99 pozitifdir ve *E.coli*'leri diğer *Enterobacteriaceae* türlerinden ayırt edilebilecek tek ve en iyi test olarak değerlendirilir (11).

Metil kırmızısı testi olumlu, Voges Proskauer olumsuzdur. Simon'un sitratlı besiyerinde üremezler. Bu durumda İMVİC testi sonucu +++- dir. Bazı kökenleri dışında üreyi parçalamazlar ve KCN testi olumsuzdur (12).

Mikroskopta kapsül varlığının görülmesi nadir olmasına rağmen birçok köken polisakkarit yapıda ancak serolojik deneylerle ortaya konabilen M ve K antijeni içeren mikrokapsüle sahiptir. H antijeni içeren *E.coli* kökenleri çoğunlukla fimbria oluşturur ve bunlar protein yapıdadır. Fimbrialar hücrelere ve yüzeye tutunma özellikleri ile virulansta rol oynarlar (13).

Escherichia türleri oldukça dirençli bakterilerdir. 60°C ısıda 30 dakika, oda ısısında uygun ortam koşullarında uzun süre canlı kalabilirler. *E.coli* kökenlerinin çoğu bakteriden bakteriye kolayca geçebilen direnç plazmidleri taşıdıklarından özellikle hastane ortamında çeşitli antimikrobiklere karşı kolayca direnç geliştirirler (11, 12).

Escherichia coli basilleri O antijenlerine göre gruplara ve K antijenine göre serovarlara ayrılır. O antijenleri somatik ısıya dayanıklı lipopolisakkarit yapıda

antijenlerdir. Kaynatmaya ve alkole dirençli, formole dayanıksızdır. *E.coli*'lerde 170'den fazla O serogrubu belirlenmiştir (11).

Hareketli suşlardaki H kirpik antijenleri protein yapıda ve termolabildir, alkole dayanıksızdır. 60' a yakın H antijeni belirlenmiştir (11).

K, kapsül antijeni polisakkarit yapıda olup ısıya dayanıklıdır. Yaklaşık 80 çeşidi saptanmıştır (14).

Fimbria antijenleri çok sayıda fimbria oluşturan bakterilerde O aglutinasyonunu engelleyebilen, oda sıcaklığında oluşturulmayıp 37°C' de oluşturulan, protein yapıda çeşitli hücrelere bakterinin aderensini sağlayan antijenlerdir (13).

Kaufman 1944 yılında *E.coli*'lerin serolojik tiplendirilmeleri için bir şema hazırlanmıştır ve halen modifiye edilmiş şekliyle bu şema kullanılmaktadır. Bu şemaya göre *E.coli*'ler O (somatik), H (flagella), K (kapsül) yüzey antijenlerine göre sınıflandırılırlar. Başlangıçta O antiserumu ile aglutinasyon vermeyen, ısıtıldıktan sonra veren türlerin K antijenine sahip olduğu düşünülür. O ve H antijenlerinin spesifik kombinasyonu izole edilen bir *E.coli*'nin serotipini tanımlar. Antijenler tek başlarına virulansı göstermezler ancak spesifik virulan klonlarla ilişkili kromozomal göstergelerdir (14).

Birçok *E.coli* kökeni patojen olmadığı ve değişik hastalıklarda farklı kökenler etken olduğu için salgınlarda ve çeşitli hastalıklarda üreyen *E.coli* kökenlerinin sınıflandırılması önemlidir. Örneğin serogrup O86 üyeleri insan barsak florasında bulunurken, O55 serogrubundakiler sıklıkla hastalıkla ilişkilidirler. Serotip O157: H7 böbrek yetmezliğine yol açan bir barsak enfeksiyonuyla ilişkilidir. K kapsül antijenine göre K1 olarak sınıflandırılanlar ise yenidoğanlarda sistemik enfeksiyona yol açarlar (13).

Son yıllarda bu serolojik sınıflamaya virulans faktörlerine dayanan ve 'Virotyping' adı verilen bir sınıflama daha eklenmiştir. Bu sınıflama ile *E.coli* kökenlerinin virulans faktörleri ile ilgili bilgi de edinilmektedir (12, 14).

1.1.1. *Escherichia coli*' nin Yol Açtığı Başlıca Enfeksiyonlar

Escherichia coli toplum veya hastane kökenli enfeksiyonlara yol açmaktadır. *E.coli*' nin meydana getirdiği enfeksiyonlar barsaklarda ve barsak dışında oluşan

enfeksiyonlar olmak üzere ikiye ayrılır.

1.1.1.1. Barsaklarda Oluşan *E. coli* Enfeksiyonları

Beş farklı *E. coli* türü barsaklarda hafif diyareden, kolera benzeri ağır sıvı kayıplarıyla seyreden diyareye ya da beraberinde hemolitik üremik sendrom (HÜS) gibi hayatı tehdit eden komplikasyonları olan kanlı diyareye kadar değişen hayatı tehdit eden komplikasyonları olan kanlı diyareye kadar değişen ağırlıkta gastrointestinal hastalıklara neden olmaktadır(11).

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC): Daha çok gelişmekte olan ülkelerde iki yaşın altındaki çocuklarda görülen bakteriyel diyarelerin ve turist diyaresinin en önemli etkenidir. ETEC, plazmit tarafından kodlanan, ısıya duyarlı (LT) ve ısıya dirençli (ST) olmak üzere iki tip toksin üretir. Bu toksinlere bağlı olarak bol sulu diyare oluşur (15, 16, 17, 18). Beş gün içinde hastalık kendiliğinden iyileşir. Nadiren dehidratasyona yol açan ciddi bir ishal ve yenidoğanlarda kolera infantum adı verilen ve daha ağır seyirli bir ishale de neden olabilir (11, 13).

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC): EPEC, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, bebek ve küçük çocuklarda görülen diyarenin en önemli etkenlerindedir. Hastalık, mikroorganizmaların barsak epitel hücresi plazma membranına yapışarak mikrovilluslarda tahribata yol açmasıyla gelişir. Bu özelliğinden dolayı bu kökenlere enteroaderan *E. coli* de denilmektedir. EPEC'in yol açtığı hastalık, bebek ve küçük çocuklarda, ağır, uzun süren kansız diyare, kusma ve ateş ile karakterizedir (13).

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC): EIEC kökenleri kolon epitel hücrelerine invaze olup, genellikle sulu, bazen de basilli dizanteri benzeri kanlı diyare oluştururlar (12).

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC): EHEC Shiga toksin benzeri bir toksin üretir. Bu toksin vero hücreleri üzerine de toksik etkili olduğundan toksine verotoksin, bunu üreten kökenler de verotoksin üreten *E. coli* (VTEC) veya shiga toksin üreten *E. coli* (STEC) kökenleri olarak da adlandırılmaktadır. Bu toksin lizojen bir bakteriyofaj tarafından kodlanır ve protein sentezini inhibe eder. EHEC izolatlarının çoğu O157: H7 veya O: 157 NM serotipleridir. O157: H7 ve diğer serotipler hafif seyreden kansız diyareden, ağırkanlı diyareye (hemorajik kolit) ve HÜS'e kadar değişen çeşitlilikte hastalık oluşturabilirler. Kuzey Amerika ve

Avrupa'da en sık izole edilen *E.coli* serotipleridir. O157 EHEC, ABD'de her yıl tahminen 73.000 hastalık ve 60 ölüm vakasına neden olmaktadır (19).

Enterogregatif *E.coli* (EAggEC): Bu *E.coli* kökenleri, invazyona ve inflamasyona yol açmaksızın yalnız intestinal mukozaya aderans özellikleri ile diyareye neden olurlar. EAggEC geliştirmekte olan ülkelerde, daha çok çocuklarda kronik diyareye yol açar (15, 17, 18).

1.1.1.2. Barsak Dışındaki *E.coli* Enfeksiyonları

Bu enfeksiyonlar; idrar yolu enfeksiyonları, yenidoğan menenjit, bakteremi ve solunum yolu enfeksiyonlarıdır. Tüm yaş gruplarında, toplumsal ya da hastanede kazanılmış idrar yolu enfeksiyonlarında en sık etken *E.coli*'dir. Komplike olmayan üretrit, sistit, piyelonefrite neden olur. Bu enfeksiyonlarda kadınlar en büyük risk grubudur. Normal üriner akımın tıkanmasına yol açan prostat hipertrofisi, taş konjenital anomaliler gibi nedenler ve sonda gibi yabancı cisimlerin varlığı komplike üriner sistem enfeksiyonuna katkıda bulunan etkenlerdir. Komplike olmayan enfeksiyonlar için özgün virülans faktörlerine gerek vardır. Bunlardan en önemlisi P fimbriadır. O4, O6, O7, O75 serotipleri hemolizin üretmeleri ve üriner sistem epiteline bağlanma gibi özellikleri nedeniyle en sık üriner sistem enfeksiyonu oluşturan kökenlerdir (17).

Escherichia coli, B grubu streptokoklarla birlikte yeni doğan menenjitinin en sık karşılaşılan etkenidir. Bu hastalığa yol açan *E.coli* kökenlerinin %75'inde K1 kapsül antijeni tespit edilmiştir. *E.coli* fırsatçı bir patojendir ve diğer fırsatçı patojenlerde olduğu gibi primer enfeksiyon bölgelerinden kana karışarak bakteremi yapabilir. Bu primer odak genellikle üriner veya gastrointestinal sistem olmakla beraber *E.coli* ile enfekte olmuş çeşitli yaralar da olabilir. Ayrıca nozokomiyal sepsis ve endotoksik şoka da yol açabilir. Ölüm oranı, enfeksiyon kaynağına ve altta yatan diğer hastalıklara bağlıdır. Bağışıklık sistemi baskılanmış ve barsak perforasyonu görülen hastalarda oran oldukça yüksektir. *E.coli* solunum yolu enfeksiyonlarına da neden olabilir. Hastane kaynaklı pnömonilerde %12-50 oranında etken *E.coli*'dir. Çoğu hastalar 50 yaşın üzerindedir ve altta yatan kronik bir hastalıkları vardır (18, 19).

1.1.1.3. Hastane Kaynaklı *E.coli* Kökenlerinde Direnç Problemi

Escherichia coli, hastane enfeksiyonlarında önemli bir etkidir. Hastane ortamında güç yaşayan bir bakteri olduğundan, bu bakteriye bağlı hastane enfeksiyonlarının çoğu endojendir ve barsak florasından köken almaktadır. İdrar yolu enfeksiyonlarında en sık rastlanan etkidir ve nozokomiyal sepsislerin yaklaşık %15'inin etkeni *E.coli*'dir. *Escherichia coli*'nin neden olduğu diğer enfeksiyonlar arasında cerrahi alan enfeksiyonları, intraabdominal apseler, peritonit ve pnömoni sayılabilir. Genellikle bu enfeksiyonlar sekonder bakteremi ile birlikte gelir. Bağışıklığı kırılmış hastalarda, primer bakteremi nedeni olarak da karşımıza çıkabilirler (17).

Hastane kökenli *E.coli* suşlarında direnç problemi giderek büyümektedir. Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişmesinde beta-laktamaz enziminin yapımı ve bakteri içine antibiyotik girişinin azalması, florokinolonlara karşı dirençte hedef molekülde değişiklik ve bakteri içine antibiyotik girişinin azalması aminoglikozitlere karşı dirençte ise sentezlenen enzimlerle aminoglikozitlerin modifikasyonu önemli rol oynamaktadır (20).

Ülkemizde hastane enfeksiyonu etkeni *E.coli* kökenlerinde GSBL yapım oranı %0-27 arasında değişmektedir. Plazmit kontrolünde yapılan bu enzime sahip olan bakteriler sefotaksim, seftazidim, seftriakson ve aztreonam gibi beta-laktam antibiyotiklere dirençlidirler (21).

Escherichia coli'de aminoglikozitlere duyarlılık hastane kökenli izolatlarda %76-89 arasında değişmektedir. Aminoglikozitlere dirençte en çok rol oynayan enzimler AAC (3)-II, AAC (6')-I ve AAC (6')-IV olarak saptanmıştır (21).

Escherichia coli'de direnç mutasyonları GyrA'nın aminoterminalinde kinolon-dirençini-belirten bölge (QRDR) olarak tanımlanan 67. ve 106. aminoasitler arasında oluşmaktadır. Bunun sonucunda, enzimin kinolona bağlandığı bölgede değişim oluşmakta ve enzim-DNA kompleksinin ilaca afinitesi azalmaktadır. Sadece GyrB'deki mutasyonlara bağlı direnç düşük düzeydedir. ParC mutasyonları yüksek düzeyde dirençli mutantlarda gösterilmiştir (21).

Escherichia coli'nin antibiyotiklere çoğul dirençli Mar mutantları tetrasiklin, kloramfenikol, penisilinler, sefalosporinler, puromisin, nalidiksik asit, rifampin ve florokinolonlara dirençlidir. Bu mutantlarda bir transkripsiyon aktivatörü

olan MarA'nın ifadesi artmakta, bu da sonuçta OmpF' nin miktarında azalmaya yol açmaktadır. Sadece OmpF azalmasının direnç için yeterli olmayıp enerjiye bağımlı bir pompa sisteminin de bulunduğu gösterilmiştir. Bu da membran efluks pompasıdır. Bu pompa *E.coli'* nin beta-laktamlara karşı direncinde de etkilidir (18).

Bu bakteri ile oluşan enfeksiyonların oldukça büyük bölümü hastane ortamında oluşmakta ve kullanımda bulunan antibiyotiklere karşı oldukça hızlı direnç geliştirmektedirler. Bu nedenle antibiyotik seçiminde sınırlı bildirim kurallarına dikkat edilmelidir(18).

1.2. *Klebsiella*

Klebsiella cinsi 1900'lerin sonlarında yaşamış olan Alman mikrobiyolog Edwin Klebs'in anısına isimlendirilmiştir. Carl Friedlander'in ciddi, sıklıkla ölümcül bir pnömoni etkeni olan bu Gram negatif basili tanımlamış olması nedeniyle de uzun yıllar *Klebsiella* "Friedlander basili" olarak anılmıştır. Drancourt ve ark.ları, 16S rRNA ve rpoB genlerinin karşılaştırmalı sekans analizlerini yaparak 2001 yılında yayınladıkları makalede *Klebsiella* cinsinin taksonomik değişikliklerini belirtmişlerdir. Bu çalışmaya göre 9 klebsiella türü tanımlanmış, heterojen özellikteki genusta 3 ayrı grup tanımlanmıştır. Birinci grupta *Klebsiella pneumoniae* (*K.pneumoniae*), *Klebsiella pneumoniae subspecies pneumoniae*, *K.pneumoniae subspecies rhinoscleromatis* (*K.rhinoscleromatis*), *K.pneumoniae subspecies ozanae* (*K.ozanae*) ve *Klebsiella granulomatis* (*K.granulomatis*); ikinci grupta *Klebsiella ornithinolytica* (*K.ornithinolytica*), *Klebsiella planticola* (*K.planticola*), *Klebsiella trevisanii* (*K. trevisanii*), ve *Klebsiella terrigena* (*K.terrigena*) üçüncü grupta *Klebsiella oxytoca* (*K.oxytoca*) yer almıştır. Elde edilen genetik veriler sonucu ikinci grupta yer alan *Klebsiellalar*, *Raoultella* cinsi olarak tanımlanmıştır. *K.oxytoca'* da iki genetik gruptan oluşmuş ve bunlar oxy-1 ve oxy-2 olarak isimlendirmişlerdir (14, 22).

Klebsiella ve *Raoultella* türleri doğada yaygın olarak bulunurlar. İnsan ve hayvan gastrointestinal sistemin florasında da yer alırlar. İlk izole edildiklerinde besiyerinde büyük mukoid koloniler oluştururlar (13). MacConkey agarda oluşturdukları koloniler tipik olarak geniş, mukoid ve kırmızıdır. Etrafindaki agara doğru yayılan kırmızı renk laktoz fermantasyonu ve asit üretiminin göstergesidir.

Bazı mukoid *Enterobacter* türleri inceleme sırasında *Klebsiella* ile karışabilir. Tüm *Klebsiella* türleri ornitini dekarboksile etmezken, karakteristik olarak *Enterobacter* türlerinin büyük çoğunluğu ornitin dekarboksilaz pozitifdir (14). *Klebsiella* türlerinin hepsi hareketsizdir. Çoğu *Klebsiella* üreyi yavaş hidrolize eder ve Christensen'in jelozunun kenarlarında açık pembe bir renk oluşturur. *K.pneumoniae* indol olumsuzdur (15, 16).

Klebsiella cinsi içinde *K.pneumoniae* klinik örneklerden en çok izole edilen türdür. Bu bakteriler deri, nazofarenks ve barsaklarda kolonize olurlar. Dışkı en önemli enfeksiyon kaynağını oluşturur. Hastaların yaklaşık üçte birinin dışkılarında *K.pneumoniae* bulunur, ancak hastanede yatma ve antimikrobiyal ilaç kullanma durumunda bu oran erişkinlerde üç katına kadar çıkabilir. Çocuklarda ise bu oran antibiyotik kullanılmaması durumunda bile %90-100 civarındadır. Normal insanların farenksinde %1-6 oranında rastlanmasına rağmen, hastanede yatan hastalarda bu oran %20'ye çıkabilir. Bu kolonizasyon oranı özellikle alkolizm, diabetes mellitus ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi durumlarda ortaya çıkan akciğer enfeksiyonlarının kaynağını açıklayabilir (17).

Klebsiella pneumoniae akciğerler dışında üriner sistem enfeksiyonları, septisemi, yenidoğan menenjit ve enterit gibi enfeksiyonlara da yol açar (17).

1.2.1. Hastane Kaynaklı *Klebsiella* Türlerinde Direnç Problemi

Klebsiellalar, özellikle *K.pneumoniae* nozokomiyal enfeksiyonların önemli etkenlerinden biridir. *Klebsiella* türleri hastane enfeksiyonlarının yaklaşık %8'inden sorumlu tutulmaktadır. Bu enfeksiyonları oluşturan en yaygın odaklar; üriner sistem, alt solunum yolu, safra yolları ve cerrahi alanlardır. Hastane kökenli *E.coli*'lerde olduğu gibi *K.pneumoniae* kökenlerinde de antibiyotiklere direnç gelişimi önemli bir sorundur. *Klebsiella* hastaneden kazanılmış üriner sistem enfeksiyonlarının en yaygın ikinci etkeni iken, toplumdaki kazanılmış idrar yolu enfeksiyonlarının üçüncü en yaygın etkenidir (23, 24).

Klebsiella pneumoniae kökenlerinde beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde en önemli mekanizma beta-laktamaz sentezidir. TEM-1 ve SHV-1 enzimleri, nokta mutasyonlar sonucu oluşan, etki spektrumları geniş olan, GSBL enzimleridir (23).

Bu türde beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişmesinde beta-laktamaz enziminin yapımı ve bakteri içine antibiyotik girişinin azalması, florokinolonlara karşı dirençte hedef molekülde değişiklik ve bakteri içine antibiyotik girişinin azalması, aminoglikozitlere karşı dirençte ise sentezlenen enzimlerle aminoglikozitlerin modifikasyonu önemli rol oynamaktadır (20, 21).

TEM ve SHV tipi beta-laktamazlardaki mutasyonlar ile oluşan GSBL'ler, ilk olarak 1982 yılında bu bakterilerde tanımlanmıştır. Bu enzimlerin yapımı plazmit aracılığı ile kontrol edilmekte ve sıklıkla aminoglikozitleri modifiye eden enzimleri kodlayan direnç genleri ile bir arada bulunmaktadır (20, 21).

Kinolon direnci ile GSBL üretimi arasında da güçlü bir birliktelik olduğu gösterilmiştir. Plazmit kontrolündeki GSBL enzimlerini üreten bakteriler sefotaksim, seftazidim, seftriakson ve aztreonama dirençlidirler. GSBL olumlu kökenlerin %40'ı, in vitro çalışmalarda en azından bir üçüncü kuşak sefalosporine duyarlı görünmektedir. Bu duyarlılık farklılığı, üçüncü kuşak sefalosporinlerin beta-laktamazların hidrolizine karşı koymadaki ve bakteri içine geçme hızlarındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Ayrıca GSBL üreten kökenlerde sefepim, piperasilin-tazobaktam, sefoperazon-sulbaktam, amikasin ve siprofloksasine karşı da yüksek direnç oranları saptanmıştır (21).

Klebsiella türlerinin neden olduğu enfeksiyonların oldukça yaygın görülmesi ve kullanımdaki antimikrobiyallere çabuk direnç geliştirmesi bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda kullanılacak yeni antimikrobiyallerin gereksinimini ve önemini artırmaktadır (20).

1.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas büyük ve kompleks bir Gram negatif bakteri cinsi olup klinik ve çevresel açılardan dikkate alınması gereken pek çok tür içerdiğinden önemli bir bakteri grubudur. İlk kez Migula tarafından 1894'te tanımlanan *Pseudomonas* cinsi tür düzeyinde tanımlama metotlarındaki gelişmelere bağlı olarak pek çok kez revizyona uğramıştır. *Pseudomonas* cinsinin, 1970'lerin başında gerçekleştirilen ribozomal RNA-DNA hibridizasyon çalışmaları sonucunda birbirinden ilişkisiz beş gruptan oluştuğu belirlenmiştir. *Pseudomonas* *Proteobacteria*'ların gama alt sınıfında olup rRNA homoloji grup I' dir . Günümüzde *Pseudomonas* genusu içinde

160 tür olup, bunlar içinde sadece 12 tür klinik öneme sahiptir. *Pseudomonas* cinsinin en yakın filogenetik komşuları *Azomonas*, *Azotobacter*, *Cellvibrio*, *Chrysomonas* ve *Flavimonas* cinsleridir (25).

Klinik hastalıklarla ilişkili *Pseudomonas* türlerinin çoğu belirgin bir heterojenite göstermektedirler ve biyovar ve genomovarlara bölünmüşlerdir. Genomovarlara tür düzeyinde tanımlama gerektiren, ancak fenotipik tanımlayıcı özellikleri bulunmayan genetik olarak farklı gruplar olup, DNA-DNA yeniden birleşme deneyleri ve 16s rRNA gen sekansı ile birlikte kemotaksonomik total yağ asidi analizi ve total protein patern analizi ile tanımlanmaktadır (25).

Bilinen tüm türler içerisinde genetik düzeyden yüksek farklılık gösteren *Pseudomonas stutzeri* (*P.stutzeri*) olup en az 18 genomovara sahiptir. Klinik izolatlar serotip 1 ve 2'ye aittir. *P.stutzeri*'yi ayrı türler olarak tanımlamaya yeterli güvenilir fenotipik farklılıklar bulunmamaktadır (24).

Pseudomonas fluorescens (*P.flouescens*) A, B, C, D, E, F ve G biyotiplerine (A' dan E' ye kadar olan biyotipler biyovar I, II, III, IV, V olarak da anılmaktadır) ayrılmıştır. Biyotip D ve E artık *Pseudomonas chlororaphis* (*P.chlororaphis*) olarak tek bir tür olarak birleştirilmiştir ve floresan *Pseudomonas* grubu üyesi olarak kabul edilmektedir (25).

Pseudomonas putida (*P.putida*) biyovar A ve B'yi içermektedir. Biyovar A tipik *P.putida* olarak kabul görürken, biyovar B *P.flouescens*'e daha yakın görülmektedir. Daha fazla *P.putida* biyovarı olması yüksek ihtimaldir (26).

Özellikle bitki, toprak, biyoteknoloji ve deniz bilimleri açısından önem taşıyan *P.stutzeri*, *P.flouescens* ve *P.putida* türlerinde yoğun bir heterojenite izlenmektedir. Klinik tıp açısından kısıtlı öneme sahiptirler. Polifazik sınıflandırmadaki ilerlemelere bağlı olarak yeni değişikliklerin ortaya çıkması kaçınılmazdır ancak klinik laboratuvar bu değişiklikleri izleyerek bu izolatları klinik olarak daha önemli olan diğer *Pseudomonas* türlerinden ayrabilmelidir. Klinik izolatlardan en sık izole edilen ve mikrobiyolojik açıdan en önemli tür ise *P.aeruginosa*'dır (25).

Pseudomonas aeruginosa oksidaz pozitif olması, glikozu fermente etmemesi ile *Enterobacteriaceae*'dan ayırt edilir. Bakterinin; *Enterobacteriaceae*'daki gibi fermentatif, yani karbonhidratlardan asit ve gaz oluşturduğu veya *P.aeruginosa* gibi

nonfermentatif bir bakteri olduğu oksidasyon-fermentasyon (O-F) besiyeri kullanılarak belirlenir. Fermentatif bakteriler hem hava içeren hem de havasız ortamda glikozu parçalayıp asid ve gaz oluşturur. Nonfermentatif bakteriler ise havasız ortamda glikozu parçalamayan, hava alabilen tüpte ise okside ederek biraz parçalayabilen (oksidatif) ya da hiç parçalayamayan (nonoksidatif) bir gruptur. Bütün *P.aeruginosa* suşları glikozu okside eden, polar flagella ile hareketli, oksidaz pozitif ve 42°C' de de üreyebilen bakterilerdir. *P.aeruginosa*'nın 42°C' de de üreyebilmesi birçok *Pseudomonas* cinsi bakteride olan bir özellik olmasına karşın floresan pigment oluşturarak tanınmasını zorlaştıran *P.fluorescens* ve *P.putida* ile ayırımında önem kazanır (16).

Pseudomonas aeruginosa laboratuvarında rutinde kullanılan bütün besiyerlerinde kolayca ürer. 3-5mm büyüklüğünde kenarları düzensiz, üzeri düz, β-hemolitik koloniler oluşturur. Özellikle kistik fibrozlu hastalardan izole edilen "alginate" oluşturan koloniler mukoid görünümündedir. Kolonilerin kendine özgü fazla olgunlaşmış üzüme benzetilen tipik bir kokusu vardır. Çoğu suş turkuaz veya mavi renkte, suda eriyebilen, kloroformda çözünen, Müller Hinton gibi renksiz besi yerlerinde özellikle belirginleşen pyosiyanın adı verilen bir pigmente sahiptir. Başka hiçbir bakteride olmayan bu pigment sayesinde *P.aeruginosa* kolaylıkla tanınır (12, 14). Piyosiyanın ve fluoresein pigmentleri nedeniyle enfeksiyonlarında oluşturduğu pürülan eksuda ve kültürlerindeki kolonileri yeşil renklidir. Bazı suşları ise kırmızı-kahverengi piyorubin pigmenti de üretebilirler (27).

Pseudomonas aeruginosa vejetatif bakteriler içinde çevre koşullarına uyum sağlayabilen mikroorganizmalardandır. Yeterli nem sağlandığında çok az besin maddesi ile uzun süre canlı kalabilir. Hastane ortamında solunum cihazları, duşlar, banyolar, soğuk su nemlendiricileri, yataklar, çarşafklar, gazlı bezler, tamponlar, yerler gibi çok sayıda alandan izole edilebilir. Dezenfektan olarak kullanılan kimyasal maddelere ve birçok antibiyotiğe dirençlidir (17, 21).

Hastane dışındaki sağlıklı insanlarda kolonizasyon prevalansı kısmen düşüktür. Ciltte %0-2, burun mukozasında %0-3.3, nazofarenkste %0-6.6 ve dışkıda %2.6-24 oranında bulunabilir. Hastaneye yatıştan sonra kolonizasyon oranlarında ciddi bir artış olmaktadır. Hastanede yatan hastalarda bu oran ortalama %18'e ve gastrointestinal sistem cerrahisi geçiren hastalarda ise %73'e kadar çıkabilir. Bu

artış özellikle ciddi yanıkları olan hastaların cildinde, mekanik ventilasyon desteğindeki hastaların alt solunum yollarında, kanser kemoterapisi alan hastaların gastrointestinal sisteminde veya antibiyotik alan hastalarda ise yaygın şekilde olmaktadır (18).

1.3.1. Hastane Kaynaklı *P.aeruginosa* Kökenlerinde Direnç Problemi

Pseudomonas aeruginosa primer olarak nozokomiyal bir patojendir. *P.aeruginosa* onkoloji, hematoloji, yanık, cerrahi ve yoğun bakım ünitelerinde yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan enfeksiyonlar oluşturur. Çapraz kontaminasyon ile hastadan hastaya geçiş bakterinin hastane ortamında yayılmasında en önemli etkenlerden biridir (18, 21).

İnsanlarda endokardit, solunum sistemi enfeksiyonları, bakteremi, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, kulak ve göz enfeksiyonları, kemik-eklem enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları, gastrointestinal sistem enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olurlar (17, 28).

Pseudomonas aeruginosa birçok antibiyotiğe dirençlidir. Bu çoğul dirençten sorumlu en önemli mekanizma antibiyotiğe karşı bakteriyel dış membranda geçirgenlik azalması ve aktif pompa sistemi ile antibiyotiğin dışarı atılmasıdır. *P.aeruginosa*'da indüklenebilir kromozomal AmpC tipi beta-laktamaz mevcuttur. Bu beta-laktamazlar penisilin ve sefalosporinlere dirençte önemli rol oynarlar. MexAB-OprN pompa sisteminin aktivasyonu; florokinolonlar, penisilinler, sefalosporinler ve meropenem direnç gelişmesine neden olabilir. MexCD-OprJ ve MexEF-OprM aktivasyonu ise aminoglikozitlere karşı direnç gelişimine neden olabilir. Florokinolon ve beta-laktamlara direnç gelişiminde permeabilite mutasyonları da önemli rol oynamaktadır. Mutasyona bağlı olarak permeabilitede azalma, karbapenemlere direnç gelişiminde önemlidir ve burada OprD porin kaybı söz konusudur. OprD porini, karbapenemleri içeri alan fakat diğer beta-laktamları içeri almayan bir özelliğe sahiptir. OprD kaybı imipenem direncine ve meropenem duyarlılık azalmasına yol açar. MexEF-OprN aktivasyonu OprD porin kaybına neden olur ve florokinolonlar bu pompa sistemini aktive ederler (29).

Bu bakterinin oluşturduğu enfeksiyonların tedavisi oldukça güçtür. Çünkü enfeksiyonları çoğu kez hastane ortamında meydana gelir ve etken olan kökenler

birçok antibiyotiğe direnç kazanmışlardır. Bu nedenle kullanılacak ilaç mutlaka antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre belirlenmelidir (29).

1.4. *Acinetobacter*

Acinetobacter türleri çevresel olarak toprak, su ve atık sularda, daha önemlisi hastane ortamı florasında bulunabilirler. İnsanda ise derinin bakteriyel florasında özellikle aksilla, kasık, tırnak gibi nemli bölgelerde bulunmakla beraber oral kavite ve solunum yolunda da bulunabilmektedir (30).

Genellikle fırsatçı patojen olarak ifade edilirler ve son zamanlarda hastanede yatan hastalarda septisemi, pnömoni, yaraya bağlı sepsis, endokardit, menenjit, ürogenital yol, cerrahi alan enfeksiyonu gibi birçok nozokomiyal enfeksiyon salgınlarına neden oldukları bildirilmektedir. Hastanede yatan hastalarda fırsatçı olmalarına rağmen, toplumdan kazanılmış enfeksiyonlara da sebep olurlar. *Acinetobacter* türleri arasında klinik örneklerden en sık soyutlanan tür *A.baumannii*'dir. Bu tür ilk olarak Beijerinck tarafından 1911'de izole edilmiş ve *Micrococcus calco-aceticus* olarak adlandırılmıştır (30). Daha sonra 1939 yılında DeBord'un Gram negatif kokobasilleri üretral örnekten izole etmesiyle birkaç isim daha almış, 1950'de *Acinetobacter* olarak tanımlanmaya başlanmıştır (31). *Acinetobacter* türleri günümüze kadar 15'in üzerinde farklı jenerik isimle adlandırılmıştır. Bunlardan en iyi bilinenleri *Bacterium anitratum*, *Herellea Vaginicola/Mima polymorpha*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Micrococcus calcoaceticus*, *B5W*, *Moraxella glucidolytica* ve *Moraxella lwoffii*'dir. Taksonomik çalışmalar sonucu *Acinetobacter* cinsi günümüzde *Moraxella*, *Psychrobacter* ve ilgili diğer cinslerle birlikte *Moraxellaceae* ailesi içinde yer almaktadır (32).

Acinetobacter türleri *Neisseriaceae* ailesine dahil iken, yapılan en son moleküler taksonomik çalışmalarla yeni bir aile olan *Moraxellaceae* ailesine dahil edilmiştir (33). Hareketsiz, Gram negatif ve sıklıkla diplokok şeklinde görülen nonfermentatif bakterilerdir. Ancak zaman zaman Gram pozitif olabilirler. Kanlı agarda 24 saat sonra gelişen kolonileri 1.0×1.5 ile 1.5 × 2.5 µm çapında, yarı saydam, opak ve konveks şekillidir. Basit besiyerlerinde ürerler. Çoğu suş en iyi MacConkey agarda soluk pembe renkte üremektedir. Üremek için herhangi bir

üreme faktörüne ihtiyaç duymayıp, en iyi 30-35°C’de ürerler. Oksidaz negatif ve katalaz pozitifdir. *A.baumannii* sakkaroliktir ve karbonhidratlardan asit oluşturur.

Acinetobacter cinsi içinde DNA-DNA hibridizasyon bazlı çalışmalarda 25 farklı genomik suş tanımlanmış olup, günümüzde bunların 17’si resmi olarak geçerli kabul edilmektedir. *A.baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus* (*A.calcoaceticus*) ve *Acinetobacter lwoffii* (*A.lwoffii*) klinik literatürde en sık rapor edilen suşlardır. Fenotipik karakterlerine göre *Acinetobacter* suşlarını birbirinden ayırmak zor olduğundan sıklıkla *Acinetobacter calcoaceticus–Acinetobacter baumannii complex* terimi kullanılmaktadır (34).

Virulans potansiyelleri düşük olduğundan bağışıklık sistemi normal olanlarda enfeksiyon oluşturma olasılığı oldukça düşüktür. Asidik pH’da ve düşük ısıda üreyebilme özellikleri yanında bilinen sitotoksin üretimi yoktur. Hücre duvarında bulunan lipopolisakkaritin endotoksijenik özelliği çok az bilinmektedir. *Acinetobacter* sepsisinin semptomlarından *invivo* endotoksin üretimi sorumludur. Bakterinin insan vücudunda üreyebilmesi için gerekli olan demiri sağlayabilme özelliği de önemli virulans faktörlerindedir. Bazı *Acinetobacter* türlerinin dış membran reseptör proteinleri gibi sideroforları ürettikleri gösterilmiştir (32).

Santral venöz kateter kaynaklı enfeksiyonlar, hastane enfeksiyonları arasında önemli bir yer tutmaktadır. *A.baumannii*’nin biyofilm oluşturmaya, hastane ortamında ve aygıtların yüzeyinde uzun süre canlı kalabilmesi nedeniyle, özellikle kateter kaynaklı enfeksiyonlarda önemli bir virülans faktörüdür. Biyofilm oluşturma özelliği hastane ortamında uzun süre canlı kalmasını sağlamasının yanısıra, bakteriyi bazı antimikrobiyal ajanlara karşı da korumaktadır. Diğer bakterilerde tutunma özelliğini inceleyen çalışmalarda, bakteri ve yüzey arasında gelişen bağlantılardan bakteride oluşan ekzopolimerik yapıların oluşturulması, pili ve flajella gibi uzantıların sorumlu olduğu gösterilmiştir (35).

Acinetobacter standart kültürlerden kolaylıkla izole edilebilir, ancak diğer Gram negatif basillere göre rölatif olarak biyokimyasal testler açısından non reaktiftir (30). Rutin laboratuvar koşullarında biyokimyasal reaksiyonlara ve üreme özelliklerine göre *Acinetobacter* tür ayrımı yapılmaktadır. *Acinetobacter* cinsinin genotip tür ayrımı bu şekilde yapılabilmektedir. Bu ayırmada glikozaoksidatif etki, hemoliz ve 44°C’de üreyebilme genellikle yeterli olmaktadır. Glukozu oksitleyen ve

hemoliz yapmayan izolatlar genellikle *A.baumannii*'dir. *A.baumannii* 44°C'de üreyebilme yeteneğiyle diğerlerinden kolayca ayırt edilebilir. Glukoz negatif kökenlerden hemoliz yapmayan *A.lwoffii*, hemoliz yapan *A.haemolyticus* olarak adlandırılır. *A.johnsonii* diğer türlerden 37°C'de üreyememesi nedeni ile ayırt edilebilir (36).

1.4.1.Hastane Kaynaklı *Acinetobacter* Kökenlerinde Direnç Problemi

Acinetobacter baumannii suşlarına bağlı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı giderek artan direnç tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Bu bakteri 1980'li yıllardan bu yana hastane enfeksiyonlarında çoğul dirençli etken olarak izole edilmeye başlamıştır (37).

Acinetobacter enfeksiyonları 1970'li yıllarda ampisilin, ikinci jenerasyon sefalosporinler, minosiklin, kolistin veya gentamisin gibi antimikrobiklerle kolaylıkla tedavi edilebiliyordu. 1980 ile 1990 yılları arasında multidrug-resistant *A.baumannii* (MDR-AB) ve karbapenem-resistant *A.baumannii* (CR-AB) insidansının artmasını takiben *A.baumannii* enfeksiyonlarında tedavi yönetiminde aksamlar görüldü (38).

Acinetobacter türleri de *Pseudomonas* türleri gibi içsel direnç mekanizmaları taşımaktadır ve yüzey porinlerinin özelliği dolayısıyla birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençlidir. Bu cinsin en önemli özelliği sulbaktam başta olmak üzere betalaktam inhibitörlerine duyarlı olmasıdır. *Acinetobacter* kökenlerinde bulunan genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) olan PER-1 enzimi ilk kez Türkiye'den bildirilmiştir. GSBL türü direnç *Acinetobacter* türleri arasında çok az bildirilmekle birlikte ülkemizde ilginç olarak izolatların yaklaşık %40'ında PER-1 enzimi (GSBL) bulunmaktadır ve bu izolatların sulbaktam içeren kombinasyonlara duyarlılığı da azalmaktadır (39).

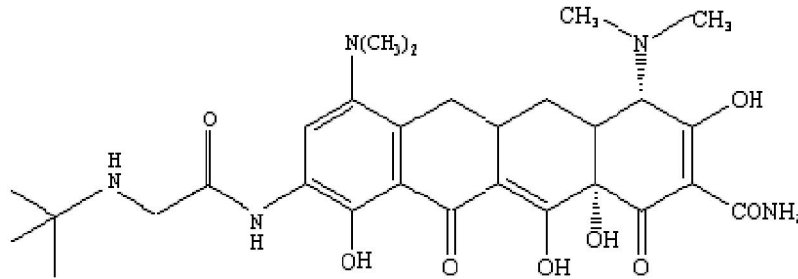
Acinetobacter baumannii'de diğer bir sorun da multi-drug rezistans (MDR) ve pan-drug rezistans (PDR) tanımlamalarıyla ilgili sorundur. *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* suşlarının farklı genotipik ve fenotipik özelliklerine göre büyük oranda MDR ve PDR terimleri kullanılır. Bu araştırmacılar ve klinisyenler arasında hatırı sayılır bir kafa karışıklığına neden olmaktadır (40).

Acinetobacter baumannii'de MDR terimi ile ilgili olarak bugün standart bir tanımlama yoktur. Kökenin tedavide kullanılan kinolon, sefalosporin ve karbapenem gibi antibiyotik sınıflarından üçüne veya daha fazlasına direnç göstermesi durumunda MDR terimi kullanılır (41, 42).

Bu bakteriler, karbapenemler dahil birçok antibiyotiğe karşı hızla geliştirdikleri çoklu ilaç direnci, hatta dezenfektanlar içinde bile yaşamaya devam edebilmeleri nedeni ile güncel bir sorun olarak önemlerini sürdürmektedir (43).

1.5.Tigesiklin

Glisilsiklinler, tetrasiklin grubu antiyotiklerin semisentetik analoglarıdır. Tigesiklin, glisilsiklin grubu antibiyotiklerin ilk üyesidir. Yapısal olarak minosiklinin semisentetik bir derivativesidir. Tigesiklinin kimyasal yapısı Şekil 1'de görülmektedir. Ribozomal korunma ve efluks mekanizmalarıyla tetrasikline direnç geliştiren Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı etkili olması en önemli özelliğidir. Tigesiklin, bakterilerin 30 S ribozomal alt ünitesine bağlanır ve tRNA'nın hedefine ulaşmasını engelleyerek protein sentezini inhibe eder. Bakteriyostatik etkili bir antibiyotiktir (44-46).



Şekil 1. Tigesiklinin kimyasal yapısı.

1.5.1.Tigesiklinin Etki Spektrumu

Tigesiklin; aerobik Gram pozitif, Gram negatif ve anerob patojenlere karşı güçlü ve geniş spektrumlu aktivitelerinden dolayı komplike cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, intraabdominal enfeksiyonlar ve *P.aeruginosa* hariç çoklu dirençli patojenlerle oluşan nozokomiyal enfeksiyonların tedavisinde kullanılır (47, 48). Tigesiklin in-vivo olarak metisiline duyarlı ve dirençli *Staphylococcus aureus* (MSSA; MRSA), *Streptococcus agalactiae* (*S.agalactiae*), *Streptococcus anginosus*

(*S.anginosus*), *Streptococcus pyogenes* (*S.pyogenes*), vankomisine duyarlı *Enterococcus faecalis* (*E.faecalis*), *E.coli*, *Bacteroides fragilis* (*B.fragilis*), *Citrobacter freundii* (*C.freundii*), *Enterobacter cloacae* (*E.cloacae*), *K.oxytoca*, *K.pneumoniae*, *Bacteroides thetaiotaocron* (*B.thetaiotaocron*), *Bacteroides uniformis* (*B.uniformis*), *Bacteroides vulgatus* (*B.vulgatus*), *Clostridium perfringens* (*C.perfringens*), *Peptostreptococcus micros* (*P.micros*) türlerine karşı etkinlikleri vardır (49, 50).

Geniş spektrumlu beta-laktamaz sentezleyen *E.coli* izolatlarında tigesiklin aktivitesi imipenem-silastatine benzerdir. (MIC₉₀: 0.25 µg/ml) *K.pneumoniae* için MIC₉₀ değeri tigesiklin ile 1 µ g/ml iken imipenem-silastatin için 5µg/ml' dir (51).

Acinetobacter türleri çoklu ilaç direnci olan bir diğer grup patojendir ve OXA karbapenemaz veya metallo-beta-laktamaz enzim üretimi sonucu karbapenemlere dirençli suşların sıklığı artmaktadır (52). Tigesiklin, karbapenemaz üreten *Acinetobacter* suşlarına karşı etkilidir (MIC₉₀≤2µg/ ml) (53).

Tigesiklin, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus* ve *Bacteroides* türlerine karşı anaerobik aktivite göstermiştir. Tigesiklinin *B.fragilis* için MIC₉₀ değeri 8 mg/L, metronidazol için MIC₉₀ 2 µg/ml' dir. Yüksek antimikrobial direncin olduğu bölgelerde metronidazol, imipenem, amoksisilin-klavulanat veya piperasilin-tazobaktama tigesiklin alternatif olarak kullanılabilir (54, 55).

Tigesiklinin *P.aeruginosa* için MIC₉₀ değeri 16 µg/ml' nin üzerindedir. *Proteus mirabilis* (*P.mirabilis*) ve *Proteus vulgaris* (*P.vulgaris*) MIC₉₀ değerleri sırasıyla 8 ve 4µg/ml' dir *P.aeruginosa* ve *Proteus* türlerindeki direncin efluks pompalarından kaynaklandığı düşünülmektedir (56, 57).

1.5.2. Tigesiklinin Farmakolojik Özellikleri

Tigesiklin intravenöz olarak kullanılır ve lineer farmakokinetiğe sahiptir. Maksimum plazma konsantrasyonu (C_{max}) 100 mg dozun ardından 0.911 mg/ L, günde iki defa 50 mg uygulandığında 10 gün sonunda C_{max} 0.621 mcg/ ml bulunmuştur. Dağılım hacminin geniş olması ve dokulara hızlı yayılması tedavi için önemlidir ancak bakteremi tedavisi planlandığı zaman düşük C_{max} düzeylerine dikkat edilmelidir (58). Plazma yarılanma ömrü 36 saattir. Plazma proteinlerine bağlanma oranı %71- %89 civarındadır. Farklı dokularda, serumdakine göre bulunma oranı şu

şekildedir: safra kesesinde 38 kat, kolonda 2.1 kat, alveol hücrelerinde 78 kat, akciğerde 8.6 kat, epitelyum sıvısında %32, cilt vezikül sıvılarına geçişi %74 dür. Kemik ve sinoviyal sıvılara geçişi kötüdür (57).

Atılımı safra yoluyla veya feçesle (%59), böbrek yoluyla (%32) olur ve %22'si değişmeden idrarla atılır. İdrarla atılımı düşük olduğu için üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılması önerilmemektedir. Sitokrom P450 enziminden bağımsız olarak etki gösterdiğinden ilaç etkileşimi azdır (58).

1.5.3.Tigesiklinin Kullanım Dozu

Önerilen tigesiklin dozu 100 mg yükleme dozunu takiben idame doz olarak 12 saatte bir 50 mg' dır. İlaç intravenöz yoldan 30-60 dakika içinde verilmelidir. Oral formu mevcut değildir. Günlük 300 mg dozun üzerinde yan etkilerinden dolayı kullanılamaz (59).

Böbrek bozukluğu olan veya hemodiyalize giren hastalarda doz ayarlanmasına gerek yoktur (59, 60). Hafif ve orta dereceli karaciğer bozukluğunda doz ayarlaması gerekmez ancak ciddi karaciğer yetmezliği olanlar için önerilen doz 100 mg yükleme dozunu takiben 12 saatte bir 25 mg' dır (59).

1.5.4. Tigesikline Direnç Gelişim Mekanizması

Tigesiklin klinik kullanımda çok uzun süredir bulunmadığı için direnç gelişimi çok anlaşılammıştır. Bazı Gram negatif bakterilerde nadir de olsa tigesikline direnç gelişmeye başlamıştır. *E.coli*, *K.pneumoniae* ve *Enterobacter* spp. ile *P.aeruginosa*, *Proteus*, *Providenciae* ve *Morganella* türlerinde intrinsik olarak tigesikline azalmış duyarlılık saptanmıştır. *Enterobacteriaceae* familyasında AcrAB multidrug efluks pompasının aktivitesinde değişim sonucu çok nadir olarak tigesikline direnç geliştiği görülmüştür . Bu direnç transpozon veya plazmitlere bağlı olarak *acrA*, *acrB* veya *ram A* genlerinde meydana gelen değişim sonucu gelişir ve bu da AcrAB'nin aşırı üretimine veya benzer bir fonksiyonun ortaya çıkmasına sebep olur (61).

Pseudomonas aeruginosa kökenlerinde ise tigesikline karşı görülen intrinsek direnç, MexAB-OprM ve MexXY (Opr-M) efluks pompalarına bağlıdır.Bu kökenlerde MexXY geninin kaybolması ile tigesiklin duyarlılığının arttığı da belirtilmiştir (46).

1.6. Antimikrobiyal İlaçlara Direnç Mekanizmaları

Bir mikroorganizmanın yapısı nedeniyle antibiyotiklere karşı dirençli oluşu yapısal (intrinsik) direnç olarak tanımlanmaktadır ve bir türün tüm üyeleri için söz konusudur (62, 63). Örneğin, bir çok Gram negatif bakteri vankomisin ve metisline, enterokoklar ise sefalosporinlere duvar yapıları nedeniyle yapısal olarak dirençlidir (63, 64). Aminoglikozidlerin hücre membranından transportu oksijene bağımlı, enerji gerektiren bir olay olduğundan, oksidatif fosforilasyonun olmadığı veya az olduğu mikroorganizmalarda ilacın hücreye alınması sırasındaki enerji gerektiren bir olay olduğundan, oksidatif fosforilasyonun olmadığı veya az olduğu mikroorganizmalarda ilacın hücreye alınması sırasındaki enerji gerektiren evreler kullanılamaz ve yeterli miktarda ilaç hücre içine giremez; bu nedenle de anaerop mikroorganizmalar ve enterokoklar gibi fakültatif anaerop mikroorganizmalar aminoglikozid antibiyotiklere yapısal olarak dirençlidir (65).

Edinsel direnç ise yapısal veya düzenleyici genlerdeki mutasyonlar, ya da yeni bir DNA kazanılması veya bu iki mekanizmanın kombinasyonu ile ortaya çıkmakta ve aynı türün tüm bireylerinde değil, duyarlı bir atadan gelen belirli bir bakteri soyunda ortaya çıkmaktadır (62, 63).

Bakterilerin antimikrobik ilaçlara karşı gösterdiği direnç mekanizmaları dört ana başlık altında toplanabilir:

1. Hücredeki antibiyotik miktarının azaltılması;
 - a. Dış membran geçirgenliğinin azaltılması
 - b. İç membrandan geçişin engellenmesi
 - c. Aktif atım pompası ile olabilir
2. İlacın hedefinde değişiklik oluşturulması
 - a. Mutasyon ile
 - b. Enzimatik değişiklik ile oluşturulabilir
3. Sentezlenen enzimle ilacın inaktive edilmesi
4. Antimikrobik ilaçtan etkilenmeyen farklı bir metabolik yol kullanılması

(64, 66, 67).

Kromozomal mutasyon ve seleksiyon sonucu oluşan edinsel direnç “dikey evrim” olarak tanımlanmaktadır (63). Bu tip direnç, kromozomda bir spontan mutasyon oluşması sonucu ortaya çıkmaktadır. DNA replikasyonu sırasında her

gende 10^{-9} ila 10^{-10} sıklığında rastgele baz değişikliği olmakta, ayrıca kopyalama sırasındaki hatalar belirli genlerin kısmen veya tamamen delesyonuna neden olabilmektedir (67).

Sonuçta ilacın hedefinde değişiklik olabilir, ilaç aktivasyonu ve atım pompa sistemlerinin ifadesi artabilir ya da azalabilir, porin ve aktif taşıyıcılar kaydedilebilir veya aktive edilebilir (63, 67). Ortamda bulunan antibiyotikler yeni mutantların çıkışına yol açmamakta, ancak duyarlı mikroorganizmalar baskılanacağı için dirençli mutantların seleksiyonuna neden olmaktadır (67, 68).

Bakterilerin dirençli mikroorganizmalardan yeni genetik madde olarak direnç kazanması “yatay evrim” olarak isimlendirilmektedir. Bu alışveriş aynı tür içinde olabileceği gibi değişik türler ve cinsler arasında da olabilir (63). Genetik madde geçişi konjugasyon, transdüksiyon ve transformasyon ile oluşabilmektedir (62, 63, 68).

1.6.1. Konjugasyon

Konjugasyon, Gram negatif bir bakteriden direnç genlerini içeren plazmidin pilus adı verilen bir protein uzantıdan duyarlı bakteriye geçmesidir. Gram pozitif bakterilerde ise konjugasyon genellikle verici ve alıcı bakterilerin bir araya toplanmasını kolaylaştıran cinsel fenomenların salgılanması ile başlatılmaktadır (63, 68).

Plazmidler kromozomdan bağımsız olarak replike olan, kromozom dışı genetik elementlerdir. Klinikte görülen direnç daha çok plazmidlere bağlıdır. R-plazmidi adı verilen direnç plazmidleri, sayıları 10’a varabilen farklı antibiyotiğe karşı direnç genlerini taşımaktadır. R-plazmidi içeren bakteriler bu özelliklerini duyarlı bakterilere aktararak onların da dirençli hale gelmesine neden olmaktadır (62, 68, 69, 70). Bulaşıcı tipteki bu direnç, daha çok antibiyotiği inaktive eden veya hücrenin geçirgenliğini değiştiren enzimlerle olmaktadır (71). Antibiyotik kullanımı, direnç genlerini taşıyan bakteriler yararına bir seleksiyona yol açmakta, özellikle hastaneler gibi, antibiyotik kullanımının yoğun olduğu yerlerde dirençli bakteriler artış göstermektedir (68).

Direnç genlerini taşımalarının yanında plazmidler, transpozon ve integron gibi diğer direnç elemanları için bir araç görevi de görmektedir (62). Transpozonlar,

bir DNA molekülünden diğerine geçebilen DNA dizileridir. Bunların plazmidlerden farkı, bağımsız olarak replike olmamalarıdır. Bu nedenle, kromozom veya plazmid içinde bulunmakta, bunlar arasında yer değiştirebilmektedirler (62, 68).

Son yıllarda bazı transpozon veya plazmidlerde “integron” adı verilen ve “kaset” olarak tanımlanan küçük hareketli elementleri içeren genetik yapılar bulunmuştur. Bazı integronlar hareketli, bazıları ise kromozomaldır. Antibiyotiklere direnci yöneten kasetler daha çok hareketli integronlarda bulunmaktadır (66). İntegronlar özellikle sülfonamid streptomisin direnç genlerinin yayılımında önemlidir. Ayrıca OXA, PSE, VIM ve IMP beta-laktamazları ve aminoglikozidleri değiştiren enzimlerin genleri de integronlarda bulunmaktadır. Bir bakterinin çok kısa bir süre içinde birçok antibiyotiğe birden “çoklu dirençli” duruma gelişinde bu elementlerin rolü olduğu anlaşılmıştır (62, 66, 68, 69). Buna karşın daha yaygın olan direnç genlerinin integronlarda değil, transpozonlarda taşındığı gözlenmektedir. Örneğin en yaygın olan TEM türü beta-laktamaz genleri transpozonlarda taşınırken integron ile ilişkili olan OXA ve PSE beta-laktamazları daha nadirdir (67). Bugüne değin dört grup integron tanımlanmıştır; enterik bakterilerde en sık saptanan türü, grup 1 integronudur (62, 66).

1.6.2. Transdüksiyon

Transdüksiyonda direnç genleri bakteriyofaj aracılığı ile bir bakteriden diğerine geçmektedir (63, 68). Antibiyotik direncini kodlayan geni içeren virus (faj) alıcı bakteriye bu geni taşımaktadır. Bu mekanizma oldukça ender görülmektedir (2).

1.6.3. Transformasyon

Bu mekanizmada bakteriler bir bakterinin lizisi ile ortama dağılan DNA parçacıklarını kendi DNA'larına katmaktadır (63, 68). Kazanılan yeni gen antibiyotik ile inhibisyona daha dirençli ise bakterinin duyarlılığında bir azalma söz konusu olmaktadır. Bu mekanizmaya en iyi örnek *S.pneumoniae*'da penisilin ve sefalosporinlere karşı oluşan dirençtir (72).

1.6.4. Çeşitli Antibiyotik Gruplarına Direnç Gelişiminde Önemli Olan Mekanizmalar

1.6.4.1. Beta-laktam Antibiyotiklere Direnç

Beta-laktam ajanlara kazanılmış direnç mekanizmaları arasında önde geleni beta-laktamaz üretimidir. Bunun dışında, penisilin bağlayan proteinlerdeki değişimler, beta-laktamlara duyarlı olmayan yeni penisilin bağlayan protein (PBP) yapımı veya dış zar proteinlerindeki değişimler de bu grup ajanlara direnç gelişimine yol açabilmektedir (73).

a.Beta-laktamazlar: Beta-laktamazlar, penisilinler, sefalosporinler ve benzeri beta-laktam antibiyotikleri hidrolize eden ve bu antibiyotiklere direnç gelişimine neden olan enzimlerdir. Bu enzimler beta-laktam halkasındaki karbonil grubu ile bir ester köprüsü kurup siklik amid bağımlı bozar ve bir açil-enzim türevi oluştururlar. Bu bir enzim-penisiloyil veya bir enzim-sefalosporil molekülüdür. Reaksiyonu gerçekleştiren üç grup protein vardır:

1. Düşük molekül ağırlıklı PBP' ler (D-D karboksi peptidazlar)
2. Yüksek molekül ağırlıklı PBP' ler (Transpeptidazlar)
3. Beta-laktamazlar

Bütün PBP' ler ve beta-laktamazların çoğunluğu aktif bölgelerinde bir serin aminoasidi bulunan ve bu nedenle 'serin peptidazlar' olarak adlandırılan bir enzim üst ailesinde yer alırlar. Bu enzimlerin beta-laktam ajanlara bağlanması sırasında önce bir açil-enzim türevi oluşmaktadır. Bunu izleyen basamakta ise, bir deaçilasyon işlemi ile enzim açil molekülünden ayrılarak rejenere olur. PBP' ler ve beta-laktamazlar arasındaki farkı bu deaçilasyon basamağının hızı oluşturur. Beta-laktamazlar açil türevinden kısa sürede ayrılırken PBP' lerde bu basamak gerçekleşmez ve antibiyotik yerine enzimin inaktivasyonu ile sonlanır (74, 75).

Çok geniş bir enzim grubu olan beta-laktamazlar moleküler yapılarına ve işlevsel özelliklerine göre sınıflandırılırlar. Günümüze değin beta-laktamazlarda dört farklı moleküler sınıf (A, B, C, D) tanımlanmıştır. A, C ve D moleküler sınıflarında bulunan beta-laktamazlar yukarıda açıklanan serin-ester aracılıklı mekanizma ile işlev görürler. Sınıf B beta-laktamazlar ise, kofaktör olarak çinko (Zn^{+2}) iyonu gereksinen metalloenzimlerdir (76).

Sınıf A, yeğlenen substratı penisilinler olan beta-laktamazlardan oluşur. Bu grup enzimler içerisinde *S.aureus*' un beta-laktamazları (Grup 2a) ve Gram negatif bakterilerin TEM ve SHV tipi enzimleri (Grup 2b, 2be, 2br) sayılabilir. Sınıf B (Grup 3) metallobeta-laktamazlar, *S.maltophilia*, *B.fragilis*, *Aeromonas* ve *Legionella spp.* de saptanabilen, penisilinler ve sefalosporinlerin yanısıra karbapenemleri de hidrolize eden ve beta-laktamaz inhibitörleri ile inaktive olmayan enzimlerdir (76).

Gram negatif bakterilerde bulunan sınıf C beta-laktamazlar (Amp C; Grup 1), kromozomal ve plazmid kökenli sefalosporinazları ve sınıf D beta-laktamazlar da (Grup 2d) oksasilini hidrolize eden enzimleri kapsamaktadır (74, 77).

Beta-laktamazlar arasında TEM ve SHV grubu enzimler, mikrobiyoloji laboratuvarında sık soyutlanan türlerde yaygın olmaları ve plazmidlerce taşınmaları nedeniyle klinik önem açısından ön planda gelmektedir. TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 beta-laktamazları, penisilinler ve 1. kuşak sefalosporinleri etkin bir biçimde parçaladıkları halde, sefotaksim, seftazidim ve aztreonam gibi genişlemiş spektrumlu beta-laktam ajanların klinik tedavide yaygın kullanımları sonucunda, bu ana enzimleri kodlayan genlerdeki nokta mutasyonlarına bağlı olarak yeni enzimler gelişmiştir. Bu enzimler genişlemiş spektrumlu beta-laktam ajanları inaktive edebilmekte ve bu nedenle genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) olarak adlandırılmaktadır (Grup 2be). Günümüzde sayıları 50 civarındadır. En sık *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında bulunmakta ve bu türler ile oluşan enfeksiyonların tedavisinde sorun yaratmaktadır. GSBL mutasyonları genellikle seftazidim ve/veya sefotaksim MİK değerlerinde ancak orta dereceli bir artışa neden olduğu için bu enzimlerin rutin laboratuvarlarda tanımlanmaları güçlük göstermekte, bunun sonucunda da antimikrobiyal duyarlılık yanlış değerlendirilerek genişlemiş spektrumlu bir beta-laktam ile uygun olmayan bir dozda sağaltıma başlanabilmektedir. Bu nedenle GSBL saptanması için çift disk sinerji testi gibi özel yöntemler kullanılmaktadır (77).

Gerek TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gerekse bunların genişlemiş spektrumlu türevleri, klavulanik asit, tazobaktam ve daha az oranda sulbaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır. Son yıllarda, penisilinlere etkili ancak klavulanik asite kısmen dirençli TEM benzeri enzimler de bildirilmiştir (78).

Bunların yanısıra, birçok bakteri türünde kromozomal sefalosporinazlar da bulunmaktadır. Bu enzimlerin bir kısmı indüklenebilir niteliktedir. İndüklenebilir beta-laktamazlar, normal olarak düşük düzeyde üretilmekte ancak beta-laktam antibiyotik varlığında bu miktar birkaç yüz katına çıkabilmektedir. İndüklenebilir sefalosporinazların bulunduğu türler arasında *P.aeruginosa*, *E.cloacae*, *C.freundii* ve *S.marcescens* sayılabilir. Bu türlerde, sıklıkları az olduğu için rutin duyarlılık testleri ile saptanamayan, sürekli ve yüksek düzeyde enzim üretebilen mutantlar görülebilmektedir. Özellikle oksimino beta-laktamların kullanımı sırasında bu mutantların seçilmesi, tedavi başarısızlığına sebep olmaktadır. Bu enzimleri üreten suşların saptanmasında da özel yöntemler uygulanmaktadır (79).

b.Penisilin Bağlayan Protein Değişimleri: Hedef yapısındaki değişim sonucunda antibiyotiğin bağlanamaması beta-laktam antibiyotiklere dirençte önemli bir diğer mekanizmadır. Bu durumda dirençli suşların PBP'lerinin bağlanma özelliklerinde değişim meydana geldiği görülür. PBP' ler peptidoglikan sentezinde rol alan enzimlerdir. Bunlar arasında transpeptidazlar 'yüksek molekül ağırlıklı PBP'; D-D karboksipeptidazlar ise 'düşük molekül ağırlıklı PBP' olarak adlandırılırlar. PBP değişimine bağlı direnç, Gram pozitif bakterilerde daha fazla görülmektedir ve günümüzde özellikle *S.pneumoniae* ve *S.aureus* gibi türlerin beta-laktam ajanlarla tedavisinde sorun yaratmaktadır. Bu tip dirence yol açan genetik özellikler arasında en iyi incelenmiş olanı metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) suşlarında bulunan mec A genidir. Bu gen beta-laktam ajanlara bağlanmayan veya düşük oranda bağlanan ve PBP 2a olarak adlandırılan yeni bir PBP yapımına neden olur. Bu yeni tip proteini üreten bakteriler beta-laktam antibiyotik varlığında da peptidoglikan sentezini sürdürürler (80).

Penisiline dirençli *S.pneumoniae* suşlarında da beta-laktam afinitesinin düşmesine neden olan PBP değişimleri görülebilir. Penisiline duyarlı pnömokok suşlarında PBP 1a, 1b, 2a, 2b, 2x ve 3 olarak numaralandırılan altı PBP bulunmaktadır. PBP 1a, 2b ve 2x' deki değişimler penisilin ve sefalosporin direncine yol açmaktadır. İlginç olarak, bu değişimlerin nokta mutasyonlarından değil, *S.mitis* gibi penisiline dirençli yakın bir türden gelen yabancı DNA' dan kaynaklandığı düşünülmektedir (79).

Bu iki mekanizma dışında, Gram negatif bakterilerin porin değişikliklerine bağlı olarak geçişliliğin azalması da beta-laktam ajanlara direnç gelişmesine neden olur. Buna örnek olarak *E.coli* suşlarında OMP F ve OMP C değişimleri sonucunda beta-laktam ajanlara, *P.aeruginosa* 'da özel bir kanal proteini olan Opr D kaybına bağlı olarak karbapenemlere direnç gelişmesi verilebilir (80).

Aktif pompa sistemleri ile de beta-laktam antibiyotiğin hücre içinde birikmesi engellenebilir. Örneğin *E.coli* suşlarında ki MarRAB operonunun mutasyonları sonucunda, bu tür bir mekanizma ile, beta-laktamlar, tetrasiklinler, kloramfenikol ve kinolonları kapsayan birçok antibiyotik sınıfına birden direnç gelişebilmektedir (80).

1.6.4.2.Aminoglikozidlere Direnç

Aminoglikozidler özellikle aerop Gram negatif basil ve Gram pozitif kok türlerine etkili antibiyotiklerdir. Bu antibiyotiklere doğal direnç genellikle hücre içine transportun bozulmasından, kazanılmış direnç ise antibiyotiğin yapısını değiştiren plazmid kökenli enzimlerden kaynaklanmaktadır. Bunun dışında ribozomdaki bağlanma bölgesinin veya antibiyotik alınımının değişmesi ile ilgili kromozomal mutasyonlar da kazanılmış dirence neden olabilmektedir (81).

a. Antibiyotiğin Hücre İçine Alınımının Bozulması: Aminoglikozidlerin hücre içine taşınmasının engellenmesi bu gruptaki tüm ajanlara çapraz direnç gelişmesine neden olmaktadır. Aminoglikozidler, hedefleri olan ribozomlara ulaşmadan önce hücre duvarını ve sitoplazmik membranı geçmek zorunda olan, pozitif yüklü bileşiklerdir. Bu katyonik bileşikler Gram negatif bakterilerin dış zarında yer alan lipopolisakkarit (LPS) tabakasındaki divalan katyonlarla yer değiştirirler ve membran bütünlüğünün bozulmasıyla hücre içine geçerler. Zardaki LPS, dış membran proteinleri, porinler ve fosfolipidlerin yapısındaki değişiklikler aminoglikozidlerin hücre içine alınmasını engeller (81).

Aminoglikozidlerin hücre zarından geçmesini ise elektron transport zinciri ile kazanılan elektriksel potansiyel sağlamaktadır. Bu nedenle, elektron transport sistemi bulunmayan anaerobik mikroorganizmalar aminoglikozidlere doğal olarak dirençlidirler (81).

b. Aminoglikozid Yapısını Değiştiren Enzimler: Plazmid yada transpozon kökenli enzimlerin üretimi aminoglikozidlere karşı kazanılmış dirençte en sık

görülen mekanizmadır. Aminoglikozid yapısını değiştiren üç grup enzim bulunmaktadır. Bunlar;

1. Asetil transferazlar (AAC)
2. Adenil transferazlar (ANT)
3. Fosfotransferazlar (APH)' dir.

Bu enzimler antibiyotik molekülüne, asetil, adenil, fosforil grupları ekleyerek etkinliğini yitirmesine neden olurlar. Antibiyotiğin yapısının değiştirilmesi, hücre içine taşınmasını ve protein sentezini önleme yeteneğini bozmaktadır (82).

c.Ribozomal Hedefin Değiştirilmesi: Bu mekanizmanın özellikle streptomisin direncinde önemli olduğu bildirilmektedir (82).

1.6.4.3. Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin Grubu Antibiyotiklere Direnç

Makrolid, linkozamid ve streptogramin B kimyasal olarak birbirinden farklı fakat etki mekanizmaları benzer olan ve bu nedenle de MLS grubu olarak adlandırılan antibiyotiklerdir. Gram negatif basiller hücre duvarının hidrofobik bileşikleri geçirmemesi nedeniyle MLS grubu antibiyotiklere doğal olarak dirençlidir. Bu grup antibiyotiklere kazanılmış direnç ise en sık ribozomal hedefin değişmesinden kaynaklanmaktadır. Bunun yanı sıra enzimatik inaktivasyon ve aktif pompa sistemleri ile de direnç gelişimi bildirilmiştir (83).

a.Ribozomal Hedefin Değiştirilmesi: MLS grubu antibiyotikler 50S ribozomal alt üniteye bağlanarak peptid zincirinin uzamasına engel olurlar. Bu antibiyotiklere direnç, genellikle 23S rRNA' da spesifik bir adenin molekülünün metilasyonundan sorumlu enzimleri kodlayan erm (eritromisin rezistans metilazı) genlerinin kazanılmasına bağlıdır. Metilasyon, ribozomal bağlanma bölgesinin özelliklerini değiştirerek tüm MLS grubu antibiyotiklere direnç gelişmesine neden olur (Çapraz direnç). MLS direnç genleri, Tn 1545 ve Tn 917 gibi sıçrayıcı genler (transpozonlar) ile taşınmaktadır (83).

b.Enzimatik İnaktivasyon: Eritromisine dirençli *Enterobacteriaceae* türlerinde gösterilmiş olan eritromisin esteraz (I, II) ve 2' fosfotransferaz enzimleri antibiyotik yapısını bozarak makrolid antibiyotiklere direnç gelişmesine neden olmaktadır (83).

c.Aktif Pompa Sistemi: *Staphylococcus epidermidis* suşlarında saptanan msr A geninin 14- ve 15- üyeli makrolidlere direnç oluşmasına yol açan indüklenebilir bir transport proteininin sentezine yol açtığı gösterilmiştir (84).

1.6.4.4. Tetrasiklin Direnci

Tetrasiklin direnci doğada en sık karşılaşılan antibiyotik direncidir. Bu direnç, hücre duvarı geçirgenliğini etkileyen kromozomal mutasyonlar sonucunda gelişebileceği gibi daha sık olarak aktif pompa sistemi veya ribozomal hedef korunması ile ilgili değişimlere neden olan eksojen DNA' nın alınmasından kaynaklanmaktadır (84).

1.6.4.5. Sulfonamidlere ve Trimetoprim Karşı Direnç Gelişimi

Sulfonamid ve trimetoprim, bakterilerin tetrahidrofolik asit sentez yolundaki dihidropteorat sentaz (DHPS) ve dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimlerini inhibe ederek antibakteriyel etkinlik gösterirler. Bu antibiyotiklere doğal direnç, dış membran geçirgenliğinin düşük olması ile ilişkilidir. Trimetoprim kazanılmış direnç ise en sık plazmid kökenli DHFR enzimlerinin sentezi sonucunda gelişmektedir. Gram negatif basillerde 11 değişik tip DHFR enzimi saptanmıştır (81).

Staphylococcus aureus ve *Neisseria* türlerinde kromozomal mutasyonlara bağlı olarak yüksek düzeyde PABA üretimi sulfonamid direncine yol açmaktadır. Bunun yanısıra, DHPS enziminde plazmid veya kromozomal kökenli olabilen değişiklikler de sulfonamid afinitesinde azalmaya dolayısıyla bu grup antibiyotiklere dirence yol açmaktadır (81).

1.6.4.6. Kinolon Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç Gelişimi

Kinolon direnci genellikle DNA giraz enziminin A alt ünitesinde değişime yol açan gyr A mutasyonlarından kaynaklanmaktadır. Bunun dışında dış zar değişiklikleri ile antibiyotiğin hücre içine girişinin engellenmesi de kinolon direncindeki bir diğer mekanizmadır. Bunun yanısıra, *S.aureus* suşlarında nor A adı verilen bir genin bu grup antibiyotikleri hücre dışına atan bir aktif pompa sisteminin yapımını sağlayarak dirence yol açtığı gösterilmiştir. Benzer şekilde, MAR fenotipindeki mutantlarda da kinolon direnci görülmektedir. *Escherichia coli* suşlarının tetrasiklin veya kloramfenikol ile karşılaşması sonucunda, bu ajanların yanısıra bunlarla ilişkisiz bir dizi antibakteriyel ajana karşı da direnç geliştirdiği

gösterilmiştir. Bu direnç fenotipine MAR adı verilir ve marRAB operonu ile ilgilidir (85).

1.6.4.7. Kloramfenikole Karşı Direnç Gelişimi

Kloramfenikol direncindeki temel mekanizma, ilacın etkinliğini yitirmesine yol açan Kloramfenikol Asetiltransferaz (KAT) enziminin üretilmesidir. KAT enzimi, kloramfenikol molekülünde bulunan iki hidroksil grubunu asetilleyerek etki gösterir. Bunun sonucunda yapısal olarak değişmiş antibiyotik 50S ribozomal alt üniteye bağlanamaz. KAT enzimleri Gram pozitif ve Gram negatif bakteri türlerinde yaygın olarak bulunmakta ve bakteriler arasında plazmid yada transpozonlar aracılığı ile aktarılmaktadır. Bazı Gram negatif bakteri türlerinde, dış membran geçirgenliğinin azalması ve aktif pompa sistemi gibi mekanizmaların birleşimi de kloramfenikol direncine neden olabilmektedir (81, 83).

1.6.4.8. Glikopeptid Direnci

Glikopeptid antibiyotikler olan vankomisin ve teikoplanin peptidoglikan öncüllerindeki peptidil D-alanil- D-alanin uç kısmına bağlanıp hücre duvar sentezini engelleyerek etki gösterirler. Glikopeptid direnci özellikle *Enterococcus* enfeksiyonlarının sağaltımında önde gelen sorundur. *Enterococcus*'larda, vankomisin direnci ile ilgili üç genotip tanımlanmıştır: van A, van B, van C. Bu genler düzenleyici diğer genlerin de katılımı ile D-ala-D-lak dipeptidine düşük oranda bağlandıkları için bu durum direnç gelişimine yol açmaktadır (79).

Vankomisin direnci *Staphylococcus* türlerinde *Enterococcus*'lardan daha az görülmesine rağmen, antibakteriyel kemoterapinin geleceği açısından daha büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Koagülaz negatif *Staphylococcus* türleri arasında *S.epidermidis* ve *S.haemolyticus*' da glikopeptid direnci bildirilmiştir. Bu türlerde de *Enterococcus*'larda olduğu gibi değişik fenotipler söz konusudur. Suşların çoğu vankomisine duyarlı iken (MİK \leq 4 μ g/ml) teikoplaninne yüksek düzeyde dirençlidir. Bu türlerde kesin direnç mekanizması bilinmemektedir. Bunun yanısıra, *S.aureus*'da da vankomisin direnci saptandığı bildirilmiştir (79, 86).

1.6.4.9. Rifampisin Direnci

Rifampin, Gram pozitif bakteriler ile mikobakterilere karşı etkili ve DNA'ya bağımlı RNA polimeraz aktivitesini engelleyerek etki gösteren bir antibakteriyel

ilaçtır. RNA polimerazın beta alt ünitesinde aminoasit değişikliklerine yol açan kromozomal mutasyonlar, bu ilaca direnç gelişmesine neden olmaktadır. Bunun dışında rifampin hidrofobik bir bileşik olduğu ve dış zardan geçemediği için Gram negatif bakterilerin çoğu bu antibiyotiğe karşı doğal olarak direçlidir (81).

1.7. Antibiyotiklere Direnç Fenotipinin Belirlendiği Yöntemler

Bunlar direnç genlerinin ekspresyonu sonrası ortaya çıkan fenotipin duyarlılık düzeyinin belirlendiği yöntemlerdir:

a) İnhibitör aktivite ile ilgili testler

1. Katı veya sıvı besiyerinde sulandırım (dilüsyon) yöntemleri
2. Disk diffüzyon yöntemi
3. E testi
4. Antimikrobiyal ajanları inaktive eden enzimlerin saptanması

b) Bakterisidal aktivite ile ilgili testler (87).

1.7.1. İnhibitör Aktivite İle İlgili Yöntemler

1) **Sulandırım Yöntemleri:** Katı veya sıvı besiyerinde uygulanabilmekte ve in vitro duyarlılık testleri arasında 'altın standart' olarak kabul edilmektedir. Bu yöntemde standart sayıda bir bakteri topluluğu (inokulum), iki katlı dilüsyonlar şeklinde değişen yoğunluklarda antimikrobiyal ajan ile karşılaştırılır. İnkübasyon süresi (18 saat) sonunda gözle görülür üremeyi engelleyen en düşük antimikrobiyal ilaç yoğunluğu saptanır. Buna **Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK)** denir. MİK değerinin duyarlılığı mı yoksa direnci mi temsil ettiğini belirlemek için, bulunan konsantrasyon duyarlılık sınırı adı verilen bir değer ile karşılaştırılır. MİK, bu sınırdan düşük ise, mikroorganizma söz konusu ajana 'duyarlı' olarak değerlendirilir. Duyarlılık sınırı, sağaltım sırasında ulaşılan serum düzeyleri ile duyarlılık özelliği kesin olarak bilinen bakterilerin MİK değerleri göz önüne alınarak belirlenmektedir. Her antimikrobiyal ajan için ayrı bir sınır değeri söz konusudur. Genel olarak sağaltıma başlanabilmesi için MİK değerinin serum düzeyine kıyasla 4-16 kez düşük olması istenmektedir. Sulandırım temeline dayanan testler kantitatif sonuç verdikleri için yeğlenmektedir. Ancak teknik güçlükleri nedeniyle diğer yöntemler de geliştirilmiştir. Günümüzde MİK değerlerini otomatik olarak saptayabilen sistemler bulunmaktadır. Ancak, bu sistemlerde kullanılan inokulum

yoğunluğunun az olması nedeniyle, bazı silik direnç mekanizmaları (Örneğin GSBL üretimi veya heterorezistans vb) atlanabilmektedir. Sıvı besiyerinde sulandırım yöntemleri, tüpte uygulanıyorsa mikro (tüp) dilüsyon, mikrotitrasyon plaklarında, küçük hacim kullanılarak uygulanıyorsa mikrodilüsyon olarak adlandırılır (87).

2) Disk Diffüzyon Yöntemi; Bu yöntemde belirli bir miktar antimikrobiyal ajan içeren diskler, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakları yüzeyine yerleştirilir. Böylece diskteki antibiyotik agar içerisine yayılır ve bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi engeller. Bunun sonucunda disk çevresinde bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı oluşur. Bu alanın çapı ölçülerek, her antibiyotik için farklı olabilen duyarlılık sınırı değerleri ile karşılaştırılır. İnhibisyon alanının büyüklüğüne göre ‘duyarlı’, ‘orta’ veya ‘dirençli’ şeklinde duyarlılık kategorisi belirlenir. Bunlarla ilgili sınır değerleri, her antimikrobiyal ajan için MİK ve ulaşılabilir serum düzeyleri göz önüne alınarak saptanır. Disk difüzyon yöntemi sulandırım temelli yöntemlere kıyasla daha kolay ve ucuzdur. Bu nedenle de rutin laboratuvar uygulamalarında sık olarak kullanılmaktadır. Gerek sulandırım yöntemleri gerekse disk difüzyon testi, uluslar arası standartlara göre ve kalite kontrolü yapılarak uygulanmalıdır (87).

3) E Testi: Yayılım temeline dayanan ancak diskler yerine plastik stripler üzerinde bulunan antimikrobiyal ajanın MİK değerinin saptanabildiği yeni bir antimikrobiyal duyarlılık yöntemidir. Stripin bir tarafında ilaç belirli ve sürekli bir konsantrasyon değişimi olacak şekilde ve kurutulmuş olarak bulunmaktadır. Diğer yüzünde de antimikrobiyal ajanın stripin ucundan olan uzaklığa karşılık gelen konsantrasyonları bir cetvel gibi sıralanmıştır. Standart bakteri inokulumu katı ve test için uygun besiyeri yüzeyine yayıldıktan sonra stripler yerleştirilir. İnkübasyon süresi sonunda, elips şeklindeki inhibisyon alanının stripi kestiği konsantrasyon MİK olarak belirlenir. Günümüzde bu yöntem ile ilgili en önemli problem maliyettir (87).

4) Antimikrobiyal Ajanları İnaktive Eden Enzimlerin Saptanması: Enzimatik aktivitenin saptandığı hızlı yöntemler arasında beta-laktamaz ve kloramfenikol asetil transferaz aktivitesinin saptandığı tarama testleri sayılabilir (87).

1.7.2. Bakterisidal Aktivite ile İlgili Testler

İlaçların bakterisidal etkinliği;

1. Bir mikroorganizmayı öldürmek için gereken minimal konsantrasyonun, (Minimal Bakterisidal Konsantrasyon, MBK),

2. İlaç varlığında zamana bağlı mikroorganizma ölüm hızının,

3. Mikroorganizmayı öldürmek için gerekli hasta serumu titresinin (seum bakterisidal konsantrasyon) saptanması ile belirlenir. Bakterisidal testler, özellikle tolerans saptanması veya endokardit, osteomyelit, septik artrit, ampiyem, bakteriyemi gibi klinik tablolarda antimikrobiyal tedaviye hasta yanıtının incelenmesinde kullanılmaktadır. Tolerans, MBK ve MİK değerleri arasında 16 kattan fazla fark bulunması şeklinde tanımlanır (87).

Yaşanan tüm direnç sorunlarından dolayı Gram negatif basillere etkili yeni antibiyotiklerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Tigesiklin de son geliştirilen antibiyotiklerdendir. Bu çalışmada; klinik kullanıma en son giren antibiyotik olan, ülkemizde de yeni kullanıma sunulan tigesiklinin Gram negatif basillere karşı in-vitro etkinliğinin araştırılması amaçlanmaktadır.

2.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Fırat Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden soyutlanan 100 Gram negatif basil suşu dahil edilmiştir.

2.1.Gereç

2.1.1. Besiyerleri

- a. Kanlı Agar Besiyeri (Oxoid/İngiltere).
- b. Eosin Metilen Blue (EMB) Agar Besiyeri (Oxoid/İngilte).
- c. Çikolatamsı Agar Besiyeri (Oxoid/İngiltere).
- d. Tree Sugar Iron (TSİ) (Üç şekerli demirli agar) Besiyeri.
- e. Simmons Citrate Besiyeri(Oxoid/İngiltere).
- f. Crytensen Üre Besiyeri(Oxoid/İngiltere).
- g. İndol Besiyeri.
- h. Cation Adjusted Mueller Hinton Broth Agar (CAMHB, Oxoid, İngiltere).
- i. Mueller-Hinton agar (Oxoid/İngiltere).

2.1.2. 96 Kuyucuklu plastik plaklar

2.1.3. Antibiyotik Diskleri

Escherichia coli ve *Klebsiella* suşlarının antibiyotik duyarlılığı için ampisilin (10µg), sefalotin (30µg), gentamisin (10µg), amikasin (30µg), amoksisilin/klavulanik asit (20/10µg), sefuroksim (30µg), sefoksitin (30µg), sefotaksim (30µg), siprofloksasin (5µg), sefepim (30µg), imipenem (10µg), meropenem (10µg), piperasilin (100µg), trimetoprim/sulfametaksazol (SXT) (30µg), aztreonam (30µg), seftazidim (30µg), karbenisilin (100µg) diskleri kullanıldı. *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılığı için seftazidim (30µg), gentamisin (10µg), piperasilin (100µg), amikasin (30µg), aztreonam (30µg), sefepim (30µg), siprofloksasin (5µg), imipenem (10µg), meropenem (10µg), karbenisilin (100µg) diskleri kullanıldı. Bu antibiyotik diskleri Oxoid firmasından temin edilmiştir (88).

2.1.4. Tigesiklin (Wyeth Research, Pearl River, NY, ABD) aktif maddesi

Wyeth İlaçları tarafından çalışmada kullanılmak amacıyla ABD' den temin edilmiştir.

2.1.5. Diğer malzemeler

1. Distile su

2. Petri kutuları

Kanlı, EMB, çikolatamsı agar besiyerinin dökülmesi ve antibiyogram duyarlılık testlerinin yapımında için 150mm çapındaki plaklar kullanılmıştır.

3. Tüpler

İlaç dilüsyonu ve bakteri dilüsyonu hazırlamak amacıyla 160×16 mm boyutlarında cam tüpler kullanılmıştır.

4. Otomatik pipet

100 µl ve 1000 µl' lik pipetler ve pipet uçları kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan, periton sıvısı vb. steril vücut sıvıları örnekleri aerob, anaerob veya pediatrik BacT/Alert kan kültür şişelerine alınarak otomatize kan kültür cihazında inkübe edilmiştir. Cihazda üreme gözlenen şişelerden kanlı agar, EMB agar ve çikolatamsı agar besiyerlerine pasajları yapılmıştır. Balgam, idrar, yara ve diğer örnekler direkt kanlı agar, EMB agar ve çikolatamsı agar besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Ekim yapılan besiyerleri 35°C' de 18-24 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresi sonunda besiyerlerinde üreme gözlenen kolonilerden Gram boyama yapılarak Gram negatif basil olduğu belirlenen bakteriler için daha ileri identifikasyon aşamalarına geçilmiştir. İncelenmeye alınacak koloniler TSİ besiyeri, Simmons Citrate besiyeri, Crytensen Üre besiyeri ve indol besiyerlerine pasajları yapılmıştır.

Tree Sugar Iron besiyerinde yalnız dipte asit (sarı) yatıkta kırmızı (alkali) görünümü olanlar yalnız glukoz fermantasyonu, dipte ve yatıkta asit (sarı) görünümü olanlar glukoz + laktoz veya glukoz + sükroz ya da glukoz +laktoz + sükroz fermantasyonu yapmış kabul edilmiştir.

Simmons Citrate besiyerinde incelenecek bakteri kolonisinden besiyerinin yüzeyine az miktarda ekim yapılmıştır. 35°C’ de 24-48 saat bekletilmiştir. Sitrati kullanarak üreyen bakteriler Prusya mavisi renk oluştururlar.

Crystensen üre besiyerinde incelenecek bakteri kolonisinden besiyerine ekim yapılmıştır. 35°C’ de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Üreyi hidroliz eden bakteriler besiyerinin rengini kırmızıya dönüştürmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir.

İncelenecek bakteri kolonisinden indol besiyerine ekim yapılmış ve 18-24 saat, 35°C’de inkübe edilmiştir. Kovacs ayırıcı tüp kenarından akıtılarak besiyerinin üzerinde tabakalandırılmıştır. Birkaç saniye içerisinde besiyeri ile ayraç arasında parlak kırmızı bir halkanın oluşması olumlu sonuç olarak kabul edilmiştir.

Konvansiyonel yöntemlerle tanımlanamayan suşlar API ID 32 GN/ Mini API, Biomerieux (Fransa) identifikasyon kitleri ile tanımlanmıştır.

2.2.1. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Uygun besiyerine ekim yapıp yeterli inkübasyon süreleri sonunda izole edilen ve tür düzeyinde tanımlanan bakterilerin rutin antibiyotik duyarlılıklarına bakılmıştır. Duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testlerinde Müler-Hinton agar kullanılmıştır.

2.2.1.1. Disk Difüzyon Testinin Yapılışı

Kültür plaklarında üremiş olan bakteri kolonilerinden steril eküvyon yardımı ile bir miktar alınarak steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 Mc Farland bulanıklık sağlanacak şekilde süspansiyon edilmiştir. Bu süspansiyon steril eküvyon ile Mueller-Hinton agar besiyeri yüzeyine yaygın ekim yapılmıştır. Plakların kurumasından sonra üzerlerine antibiyotik emdirilmiş diskler yerleştirilmiş ve 35°C’ de 18-24 saat inkübasyonu takiben antibiyotik disklerinin etrafında oluşan inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. . CLSI kriterlerine göre elde edilen sonuçlar duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak yorumlanmıştır (88).

Escherichia coli ve *Klebsiella*’lar için antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılan antibiyotikler ve zon çapları Tablo 1’ de gösterilmiştir.

Tablo 1. *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* için antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılan antibiyotikler ve zon çapları (88).

Antibiyotik Adı	Dirençli (mm)	Duyarlı (mm)
Ampisilin	≤13	≥17
Sefalotin	≤14	≥18
Gentamisin	≤12	≥15
Amikasin	≤14	≥17
Amoksisilin/Klavulanat	≤13	≥18
Sefuroksim	≤14	≥23
Sefoksitin	≤14	≥18
Sefotaksim	≤14	≥23-27
Siprofloksasin	≤15	≥21
Sefepim	≤14	≥18
İmipenem	≤13	≥16
Meropenem	≤13	≥16
Piperasilin	≤17	≥21
SXT	≤10	≥16
Aztreonam	≤15	≥22-27
Seftazidim	≤14	≥18-22
Karbenisilin	≤19	≥23

Pseudomonas aeruginosa ve *A.baumannii* suşları için antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılan antibiyotikler ve zon çapları Tablo 2' te gösterilmiştir.

Tablo 2. *Pseudomonas aeruginosa* ve *A.baumannii* suşları için antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılan antibiyotikler ve zon çapları (88).

Antibiyotik Adı	Dirençli (mm)	Duyarlı (mm)
Seftazidim	≤14	≥18
Gentamisin	≤12	≥15
Piperasilin	≤17	≥18-21
Amikasin	≤14	≥17
Aztreonam	≤15	≥22
Sefepim	≤14	≥18
Siprofloksasin	≤15	≥21
İmipenem	≤13	≥16
Meropenem	≤13	≥16
Karbenisilin	≤13-19	≥17-23

2.2.2.Plak mikrodilüsyon yöntemi

Tigesiklin duyarlılığı plak mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. Tigesiklin (Wyeth Research, Pearl River, NY, ABD) aktif maddesi üreticinin önerileri doğrultusunda serum fizyolojik içerisinde süspansiyon edilerek hazırlanmıştır.. İlk olarak tigesiklinin 256µg/ml olacak şekilde, Cation Adjusted Mueller Hinton Broth (CAMHB, Oxoid, İngiltere) ile ilk konsantrasyonu hazırlanmıştır. İki katlı dilüsyonlar halinde sulandırılmış ve bakteri süspansiyonu; direkt koloni süspansiyonu metodu ile serum fizyolojik içerisinde McFarland 0.5 bulanıklıkta olacak şekilde hazırlanıp 96 kuyucuklu plastik plaklara 100 µg ilaç solüsyonu konulmuştur. Üzerine 100µg bakteri süspansiyonu ilave edilerek ilk kuyucuktan başlayarak seri dilüsyonu hazırlanmıştır. (128-0,062µg/ml) (88).

Escherichia coli, *Klebsiella spp.* ve *A.baumannii* için FDA (Food and Drug Administration) tarafından açıklanan MİK değerleri referans alındı. *P.aeruginosa* için CLSI yada FDA’ da açıklanan bir MİK değeri bulunmamaktadır. *E.coli*, *Klebsiella spp.* ve *A.baumannii* ve için FDA (Food and Drug Administration) tarafından açıklanan MİK değerleri Tablo 3’ de gösterilmiştir (89).

Tablo 3. *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* için FDA (Food and Drug Administration) tarafından açıklanan MİK değerleri (µg/ml) (89).

Mikroorganizma Adı	S	R
<i>E.coli</i>	≤2	≥8
<i>Klebsiella spp</i>	≤2	≥8
<i>A.baumannii</i>	≤2	≥8

Sonuç değerlendirmesi; 35°C’de 18 saatlik inkübasyondan sonra gözle görülebilen üremeyi engelleyen en düşük ilaç konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edilmiştir (88).

3. BULGULAR

Bu çalışma Ocak 2009- Ocak 2010 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 Gram negatif bakteri suşunda tigesiklin ve diğer antibiyotiklere karşı antibiyotik duyarlık testleri yapılmıştır.

Çalışmaya alınan mikroorganizmalar idrar, yara, balgam, kan, periton sıvısı gibi klinik örneklerden izole edilmiştir. Bakterilerin soyutlandığı klinik örneklerin dağılımı Tablo 4’ de gösterilmiştir.

Tablo 4. Çalışmaya alınan bakterilerin soyutlandığı klinik örneklerin dağılımı.

Klinik örnek	Sayı (n)
İdrar	49
Kan	23
Yara	18
Balgam	7
Periton sıvısı	3
Toplam	100

Çalışmamızda, Gram negatif basillerin soyutlandığı örneklerin gönderildiği kliniklere göre dağılımı Tablo 5’ te verilmiştir.

Tablo 5. Gram negatif basillerin soyutlandığı örneklerin gönderildiği kliniklere göre dağılımı.

Klinik Adı	Mikroorganizma Adı				Toplam
	<i>E. coli</i>	<i>Kleb. spp</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>A.baumannii</i>	
Nefro.	10	-	-	-	10
Üro	8	6	1	-	15
Gen.cer	3	-	2	8	13
Gastro	1	-	-	-	1
Romato.	1	-	-	-	1
Endo.	2	9	-	-	11
Göğüs	-	3	-	-	3
Bey Crh	-	-	13	11	24
Toplam	25	25	25	25	100

Çalışmaya dahil edilen mikroorganizmaların türleri, sayıları ve %’leri Tablo6’de gösterilmiştir.

Tablo 6. Çalışmaya dahil edilen mikroorganizmaların türleri, sayıları ve %'leri.

Mikroorganizma Adı	Sayı (n)	%
<i>E.coli</i> (GSBL (+))	15	15
<i>E.coli</i> (GSBL (-))	10	10
<i>K.pneumoniae</i> (GSBL (+))	21	21
<i>K.oxytoca</i> (GSBL (-))	4	4
<i>P.aeruginosa</i>	25	25
<i>A.baumannii</i>	25	25
Toplam	100	100

Çalışmada incelenen *E.coli* suşlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal duyarlılık sonuçları Tablo 7' de gösterilmiştir.

Tablo 7. *Escherichia coli* suşlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal duyarlılık sonuçları.

Antibiyotikler	Dirençli (R)		Duyarlı (S)	
	N	%	N	%
Ampisilin	19	76	6	24
Sefalotin	18	72	7	28
Gentamisin	6	24	19	76
Amikasin	3	12	22	88
Amoksisilin/klavulanat	14	56	11	44
Sefuroksim	8	32	17	68
Sefoksitin	-	-	25	100
Sefotaksim	13	52	12	48
Siprofloksasin	12	48	13	52
Sefepim	18	72	7	28
İmipenem	-	-	25	100
Meropenem	-	-	25	100
Piperasilin	19	76	6	24
SXT	20	80	5	20
Aztreonam	14	56	11	44
Seftazidim	13	52	12	48
Karbenisilin	21	84	4	16

Çalışmada incelenen *Klebsiella spp.* suşlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal duyarlılık sonuçları Tablo 8' de gösterilmiştir.

Tablo 8. *Klebsiella* suşlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal duyarlılık sonuçları.

Antibiyotik Adı	Dirençli (R)		Duyarlı (S)	
	N	%	N	%
Ampisilin	24	96	1	4
Sefalotin	23	92	2	8
Gentamisin	19	76	6	24
Amikasin	6	24	19	76
Amoksisilin/klavulanat	18	72	7	28
Sefuroksim	22	88	3	12
Sefoksitin	-	-	25	100
Sefotaksim	21	84	4	16
Siprofloksasin	20	80	5	20
Sefepim	21	84	4	16
İmipenem	-	-	25	100
Meropenem	-	-	25	100
Piperasilin	22	88	3	12
SXT	23	92	2	8
Aztreonam	21	84	4	16
Seftazidim	21	84	4	16
Karbenisilin	23	92	2	8

Çalışmada kullanılan *P.aeruginosa* suşlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal duyarlılık sonuçları Tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 9. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal duyarlılık sonuçları.

Antibiyotikler	Dirençli (R)		Duyarlı (S)	
	N	%	N	%
Seftazidim	15	60	10	40
Gentamisin	13	52	12	48
Piperasilin	18	72	7	28
Amikasin	10	40	15	60
Aztreonam	12	48	13	52
Sefepim	16	64	9	36
Siprofloksasin	21	84	4	16
İmipenem	9	36	16	64
Meropenem	6	24	19	76
Karbenisilin	22	88	3	12

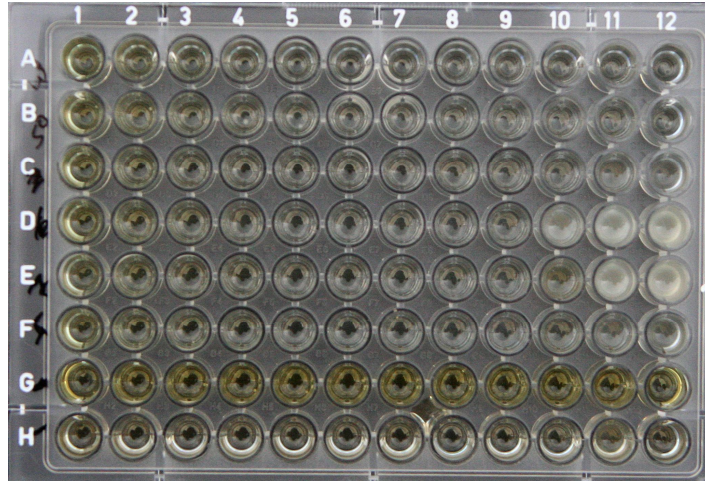
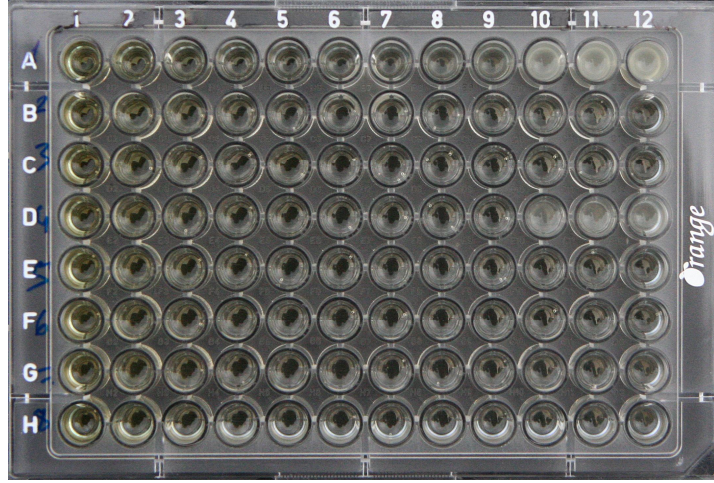
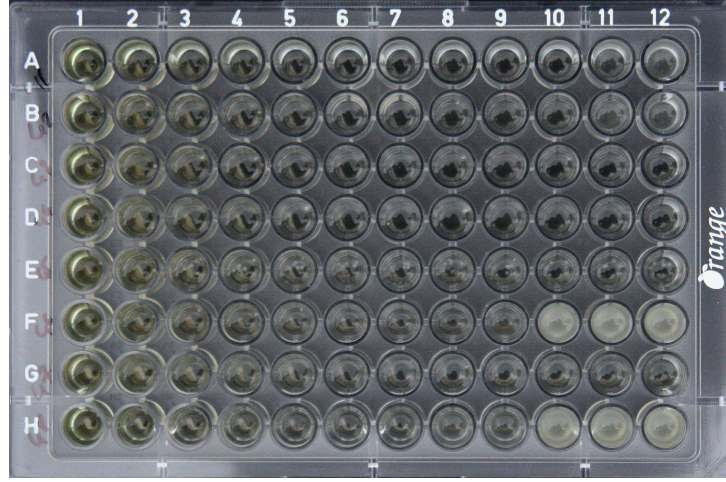
Çalışmada kullanılan *A.baumannii* suşlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal duyarlılık sonuçları Tablo 10’da gösterilmiştir.

Tablo 10. Çalışmada kullanılan *A.baumannii* suşlarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal duyarlılık sonuçları.

Antibiyotik Adı	Dirençli (R)		Duyarlı (S)	
	N	%	N	%
Seftazidim	13	52	12	48
Gentamisin	15	60	10	40
Piperasilin	21	84	4	16
Amikasin	11	44	14	56
Aztreonam	12	48	13	52
Sefepim	18	72	7	28
Siprofloksasin	20	80	5	20
İmipenem	12	48	13	52
Meropenem	14	56	11	44
Karbenisilin	23	92	2	8

Çalışmada kullanılan *E.coli*, *Klebsiella spp*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa* suşlarının mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenen tigesiklin MİK değerleri Tablo 11’ de gösterilmektedir.

Gram negatif izolatların tigesiklin duyarlılığının broth mikrodilüsyonla belirlenen sonuçları Şekil 2’ de gösterilmiştir.



Şekil 2. Gram negatif izolatların tigesiklin duyarlılığının broth mikrodilüsyonla gösterilmesi.

Tablo 11. Çalışmada kullanılan *E.coli*, *Klebsiella spp*, *A.baumannii*, *P. aeruginosa* suşlarının mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenen tigesiklin MİK değerleri (µg/ml).

Mikroorganizma Adı	MİK aralığı	MİK ₅₀	MİK ₉₀
<i>E.coli</i> (GSBL (+)) (n: 15)	0.125-2	0.5	1
<i>E.coli</i> (GSBL (-)) (n: 10)	0.062-1	0.125	0.5
<i>K.pneumoniae</i> (GSBL (+)) (n: 21)	0.125-2	0.5	2
<i>K.oxytoca</i> (GSBL (-)) (n: 4)	0.125	0.25	0.5
<i>P.aeruginosa</i> (n: 25)	8-32	16	32
<i>A.baumannii</i> (n: 25)	0.5-8	1	4

4. TARTIŞMA

Gram negatif bakteri türleri gerek hastane gerekse toplum kökenli enfeksiyonların önde gelen etkenlerindedir. Hücre duvarlarındaki dış membran yapısı nedeniyle antibiyotiklere, Gram pozitif bakterilere kıyasla dirençli olan bu mikroorganizmalar, ayrıca genetik madde aktarımı ve antibiyotiklerin seçici baskısı ile çoklu direnç özelliği kazanmıştır (10).

Hastane enfeksiyonları içerisinde Gram negatif bakterilerin görülme sıklığı ve dağılımları hastaneler arasında farklılık göstermektedir. Amerikan Ulusal Nozokomiyal Enfeksiyon Sürveyans Sistemi (National Nosocomial Infections Surveillance System, NNIS) verileri Gram negatif bakteriler ile gelişen hastane enfeksiyonu insidansında artış olduğunu vurgulamaktadır. Buna göre, 1975 yılında görülen Gram negatif kaynaklı hastane enfeksiyonlarının oranı %67.8 iken 2003'te bu oran %73.6'ya çıkmıştır (90).

Gram negatif bakterilerin izole edildiği örneklerin dağılımı çeşitli çalışmalarda farklılık göstermektedir. Baştürk ve ark.'nın (91) çalışmasında örneklerin %50'si idrar, %46'sı kan, %0.52'i yara; Gülhan ve ark. (92) çalışmasında örneklerin %3'ü trakeal aspirat, %20' si kan, %40'ı idrar ve %24'ü kan; Kayman ve ark.'nın (93) çalışmasında %94'ü idrar, %4.2'si yara, %1.2'si kulak salgısı, %0.6'sı balgam olarak bildirilmiştir.

Çalışmamızda 100 Gram negatif basilin izole edildiği örneğin 49'u (%49) idrar, 23'ü (%23) kan, 18'i (%18) yara, 7' si (%7) balgam, 3'ü (%3) periton sıvısı idi. Bu konudaki kaynakları incelediğimizde ülkemizde yapılan çalışmalarda, bu çalışmada olduğu gibi etkenlerin büyük çoğunluğu idrar örneklerinden izole edilmiştir. Gram negatif basiller insanlarda sıklıkla üriner sistem enfeksiyonlarına yol açmaktadır. Bu çalışmada da Gram negatif basillerin idrar örneklerinden daha fazla oranda izole edilme nedeninin bu olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda, hastanemizde izole edilen Gram negatif basillerin 10'u (%10) nefroloji, 15'i (%15) üroloji, 13'ü (%13) genel cerrahi, 5'i (%5) gastroenteroloji, 1'i (%1) romatoloji, 11'i (%11) endokrinoloji, 3'ü (%3) plastik cerrahi, 7'si (%7) göğüs hastalıkları, 5'i (%5) nöroloji, 24'ü (%24) beyin cerrahi, 6'sı (%6) kalp damar cerrahisinde yatmakta olan hastalardan soyutlanmıştır.

Gram negatif bakterilerin özellikle cerrahi kliniklerinde daha sık izole edilmesinin nedeni bu kliniklerde ki hastaların daha uzun süre hastanede kalmaları ve invaziv girişimlere maruz kalmalarıdır. Böylelikle bu hastalarda daha fazla hastane enfeksiyonu gözlemlenmektedir(94).

Çoklu ilaç direnci gösteren patojenlerle meydana gelen nozokomiyal enfeksiyonlar tedavi maliyetini arttırması, hastanede kalış süresini uzatması, hastanın mortalite ile morbiditesine yol açması yönünden oldukça önemlidir. Bu enfeksiyonlara yol açan patojenler arasında Gram negatif bakterilerden *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* ilk sırada gelmektedirler. Son yıllarda bu bakterilerde tetrasiklinlere, beta-laktamlara, florokinolonlara, kloramfenikole, aminoglikozitlere ve trimetoprim-sulfametoksazole karşı gelişen dirençte dramatik bir artış söz konusudur. Günümüzde hem toplum hem hastane kökenli *E.coli* ve *K.pneumoniae*'lerde GSBL üretimindeki artış oldukça belirgindir. GSBL üretimi *E.coli* ve *Klebsiella suşlarında* diğer antibiyotiklere karşı görülen çoklu ilaç direncinden sorumludur. Bu nedenle bu tip suşlarla gelişen ağır enfeksiyonların tedavisinde antibiyotik seçenekleri gittikçe azalmakta ve genelde karbapenemlerle sınırlı kalmaktadır (94-97).

Yaşamı tehdit eden ciddi nozokomiyal enfeksiyonlara yol açan *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* suşlarının da çoklu ilaç direnci nedeniyle tedavisi zordur. Bu durum penisilinlerin, sefalosporinlerin, kinolonların, tetrasiklinlerin ve kloramfenikolün MİK değerlerinde yükselmeye sonuçlanır. Karbapenemlere direnç ise metallo-beta-laktamazlar ile ilgilidir ve karbapenem direncinde de bir artış söz konusudur (94, 98).

Ülkemizde Gram negatif basillerle ilgili olarak 2003-2004 yıllarında yapılmış iki çok merkezli çalışma mevcuttur. Bunlardan Mystic 2003 (Meropenem Yearly Suspectibility Test Information Collection), 11 ülkede yapılmış ve beta-laktam antibiyotikler, siprofloksasin ve tobramisinle ilgili duyarlılık verilerini kapsamaktadır (Tablo 12).

Ülkemizde ve altı farklı merkezde yürütülen Hitit (Türkiye' de çok merkezli in-vitro direnç surveyansı çalışması) çalışmasında ise kan, steril vücut sıvıları, idrar, solunum yollarından izole edilen *P.aeruginosa*, *A.baumannii*, *E.coli* ve *K.pneumoniae* izolatlarının geniş spektrumlu beta-laktamlara duyarlılık oranları incelenmiştir. (Tablo 13) (99)

Tablo 12. Mystic 2003 sonuçları (% direnç) (99).

Tür adı	Sayı	MEM	CAZ	CTX	FEP	PİP/TAZ	CİP	NN
<i>P.aeruginosa</i>	236	39.4	40.5	90.3	54.8	40.5	48.7	51.9
<i>E.coli</i>	220	0.5	35	40.6	34.8	22.5	52.3	59.6
<i>K.pneumoniae</i>	167	1.2	39.5	50.7	35.5	29.1	25.7	42.5
<i>A.baumannii</i>	149	30.2	89.3	93.9	74.8	84	82.4	57.8

MEM: Meropenem, CAZ: Seftazidim, CTX: Sefotaksim, FEP: Sefepim, PİP/TAZ: Piperasilin/Tazobaktam, CİP: Siprofloksasin, NN: Tobramisin

Tablo 13. Hitit çalışması (2004) sonuçları (% direnç) (100).

Tür adı	Sayı	CRO	CAZ	FEP	IPM	PIP/TAZ
<i>P.aeruginosa</i>	194	95	25	31	27	23
<i>A.baumannii</i>	155	94	83	77	52	69
<i>E.coli</i>	457	25	25	25	0.2	10
<i>K.pneumoniae</i>	390	36.4	36.4	36.4	0.5	21

CRO: Seftriakson, CAZ: Seftazidim, FEP: Sefepim, IPM: İmipenem, PIP/TAZ: Piperasilin/Tazobaktam

Bu çalışmaların sonuçlarına göre karbapenemler *Enterobacteriaceae* üyelerinde etkinliklerini korurken, suşların izole edildiği hastane birimine göre değişmekle birlikte *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* izolatlarında direnç oranlarının %40'a ulaştığı görülmektedir (99, 100).

Toplum ve hastane kökenli enfeksiyonlarda klinik örneklerden sık izole edilen ve her ikisi de *Enterobactericea* ailesinin birer üyesi olan *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarında kinolon direnci; ilk kullanıma girdiği 1980' li yılları takiben 1990-1997 yıllarında İngiltere ve İrlanda' da sırasıyla *E.coli*' de %2.1'den %10.9'a, *Klebsiella* suşlarında ise %3.5'den %9.2'ye çıkmıştır (101). NNIS verilerine göre de 1992-2004 tarihleri arasında yoğun bakımlarda *E.coli* kinolon direnci %7.3'den %19'a kadar çıkmıştır (102). *E.coli* suşlarıyla, Taşbakan ve ark. (8) yaptığı çalışmada CİP direnç %39, Bayraktar ve ark. (5) %33, Gülhan ve ark. (103) %44, Kayman ve ark. (93) %33, Lockhart ve ark. (104) %17.3 oranında tespit etmişlerdir. *Klebsiella* suşları ile yapılan çalışmalarda ise Mir ve ark. (105) %36, Yurtsever ve ark. (106) %45, Aminzadeh ve ark. (107) %30 oranında direnç

tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise *E.coli* için direnç oranı %48 iken *Klebsiella* suşları için %56 olarak bulunmuştur.

Beta-laktam antibiyotiklere direnç her geçen gün artmakla beraber dünyada ve ülkemizde yapılan çalışmalarda da oldukça yüksek olduğu gözlemlenmiştir. *E.coli* suşlarıyla yapılan çalışmalarda ampisilin (AMP) direnci; Bayraktar ve ark. (5) çalışmasında %82, Çetin ve ark. (108) %63, Ertuğrul Çolak ve ark. (6) %49 olarak bulunmuştur. *Klebsiellalar* la yapılan çalışmalarda ise Vurgun ve ark. (109) %45, Gökçe ve ark. (110) %91, Çatal ve ark. (111) %90 oranında AMP direnci tespit etmişlerdir. Ampisilin direnci *Klebsiella* suşlarında da oldukça yüksek oranda görülmektedir. Bu çalışmada ampisilin direnci sırasıyla *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarında %76 ve %96 olarak bulunmuştur.

Sefalosporinler klinikte sıklıkla kullanılan antibiyotikler arasındadır. Bakteri hücre duvarı sentezini inhibe eden bu grup antibiyotiklere karşı değişik Gram negatif mikroorganizmaların kromozomlar ve plazmidler yoluyla dirençli enzimlerin sentezlenmesi sonucunda ortaya çıkan direnç önem taşımaktadır. Sefalosporinlerin yoğun kullanımı sonucunda GSBL üreten *Enterobacteriaceae* grubunda yer alan bakterilerin sıklığında artış görülmektedir (112). *Enterobacteriaceae* ailesindeki mikroorganizmaların, özellikle üçüncü kuşak sefalosporinlerden olan sefotaksim (CTX), seftazidim (CAZ) ve seftriaksona (CRO) karşı gösterdikleri yüksek direnç oranı dikkate değerdir. Gülhan ve ark. (103)' nın *E.coli* suşlarıyla yaptıkları çalışmada CRO direnci %49, Taneja ve ark. (113) %52.5 Aminzadeh ve ark. (107) %47.2 olarak tespit etmişlerdir. *Klebsiella*'larla yapılan çalışmalarda ise Kayman ve ark. (93) %41, Landman ve ark. (114) %56, Aminzadeh ve ark. (107) %57.6 olarak bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarında sırasıyla CRO direnci sırasıyla %52 ve %84 olarak bulunmuştur. Beta-laktam antibiyotiklere direnç oranının bu kadar yüksek bulunmasında, çalışmada kullandığımız suşların büyük kısmının GSBL üreten suşlar olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

2003-2004 yıllarında diğer antibiyotiklerin yanı sıra aminoglikozid direncinin incelendiği çalışmaların sonuçları genel olarak incelendiğinde *E.coli*' nin gentamisin (GN)ve amikasin (AK) direnç oranları ortalama olarak sırasıyla %30ve %8, *Klebsiella* suşları için ise %56 ve %12 olduğu gözlemlenmiştir (10).

Taşbakan ve ark. (8) *E.coli* suşlarıyla yaptıkları çalışmada GN ve AK direnç oranlarını sırasıyla %10 ve %7, Koçoğlu ve ark. (115) %16.8 ve %10.1, Taneja ve ark. (113) %42 ve %3.5 olarak bildirmişlerdir. Vurgun ve ark. (109) *Klebsiella* suşlarıyla yaptıkları çalışmalarda GN ve AK için sırasıyla %60 ve %13, Çatal ve ark. (111) %3 ve %0, Aminzadeh ve ark. (107) %35 ve %20 oranında direnç bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise direnç oranları *E.coli* için %12 ve %24, *Klebsiella* suşları için ise %12 ve %52 olarak tespit edilmiştir.

European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) 2007 verilerine göre Avrupa’ da *Enterobacteriaceae* ailesinde karbapenem direnci enyüksek olan *Klebsiella* türlerinden *K.pneumoniae*’ dir. Yunanistan, 33 ülke verileri arasında bu tipde en yüksek dirence sahiptir (116). Pek çok çalışmada, *Enterobacteriaceae* ailesinde karbapenem direnci incelendiği zaman karbapenemlerin etkinliklerini hala korudukları görülmüştür. Aminzadeh ve ark. (107) yaptığı çalışmada *E.coli* için karbapenem direncini %0.2 olarak bildirirken *Klebsiella* suşları için %0.6 olarak bildirmişlerdir. Gazi ve ark. (117)’nin yaptığı çalışmada ise direnç oranı *E.coli* ve *Klebsiella* suşları için direnç oranı %0 olarak bulunmuştur. Bu çalışma da gerek *E.coli* gerekse *Klebsiella* suşlarında imipenem ve meropenem direnci %0 olarak saptandığından bu kanıyı desteklemektedir.

1970’li yıllarda nozokomiyal *Acinetobacter* enfeksiyonları gentamisin, minosiklin, nalidiksik asit, ampisilin ve karbenisilin ile tek başına veya kombine kullanılarak kolayca tedavi edilmekte iken 1971-1974 yıllarında gittikçe artan direnç görülmeye başlamıştır. Bugün *Acinetobacter* izolatları sıklıkla kullanılan aminopenisilinler, üreidopenisilinler, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler, sefamisinler, aminoglikozidler gibi antibiyotiklerin büyük kısmına yüksek oranda direnç göstermektedir (32). Bir çok çalışmada karbapenemler de dahil bir çok antibiyotiğe direnç gösteren *Acinetobacter* kökenleri ile oluşan salgınlar bildirilmiştir (118).

Dünyada ve Türkiye’ de *Acinetobacter* suşları ile yapılmış çalışmalara baktığımızda; Zer ve ark. (119)’nin çalışmasında sırasıyla seftazidim (CAZ) ve sefepim (FEP) direnci %90.32 ve %53.22, Yavuz ve ark. (120).’nin çalışmasında %82 ve %66, Lockhart ve ark. (104)’nin çalışmasında ise %65.6 ve %49.0 olarak bildirilmiştir. Bu çalışmalarda sefalosporinlere direncin giderek artmakta olduğunu

ve *A.baumannii*' nin en duyarlı olduğu sefalosporinin sefepim olduğunu gormekteyiz. Bizim alışmamızda da seftazidime %72, sefepime %52 oranında direnç saptanmıştır. Diğer ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de yüksek oranda görülen sefalosporin direnci, muhtemelen GSBL varlığı ve bu grup antibiyotiklerin dünyanın her yerinde olduğu gibi ülkemizde de çok yaygın kullanımı ile açıklanabilir.

Kinolonlar bu bakterilerle gelişen enfeksiyonların tedavisinde iyi invitro aktiviteleri nedeniyle tercih edilmektedir. Ancak CIP başta olmak üzere bu antibiyotik grubuna dünyada ve ülkemizde giderek artan direnç oranları bildirilmektedir. Mansur ve ark. (121)' nin çalışmasında CIP direnci %89, Gülhan ve ark. (92) %75, olpan ve ark. (122) %81, Landman ve ark. (114) %91 bildirmişlerdir. Son yıllarda farklı bakteri türlerine karşı güçlü etkiye sahip olan geniş spektrumlu kinolonlar geliştirilmiştir. Bu yeni jenerasyon ilaçlardan olan levofloksasin ülkemizde son yıllarda klinik kullanımda yerini almıştır. Etkinliğin karşılaştırıldığı çalışmalarda, CIP' ın *A.baumannii*' ye karşı in-vitro etkinliği en iyi olan kinolon olduğunun belirtildiği çalışmaların yanı sıra, levofloksasinin CIP'a yakın etkinliğe sahip olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (123). Çalışmamızda CIP'a direnç oranı %80 olarak bulunmuştur.

Aminoglikozidler de *A.baumannii* tedavisinde sıklıkla kullanılan seçenektir. Ancak *A.baumannii* aminoglikozidlere de direnç göstermeye başlamıştır. Mansur ve ark. (121) yaptıkları çalışmada AK ve GN'ye direnç oranlarını sırasıyla %79 ve %86, zdemir ve ark. (124) %76 ve %82, Ayyıldız ve ark. (125) %53 ve %72, Sesli etin ve ark. (126) %47.6 ve %66.6 olarak tespit etmişlerdir. Bizim alışmamızda da amikasine %44, gentamisini ise %60 gibi yüksek oranda direnç gözlenmiştir.

Karbapenemler tüm beta-laktam antibiyotikler içinde antibakteriyel etkisi en geniş spektrumlu olan antibiyotiklerdir (127). Karbapenemler bugün için *A.baumannii*' nin sebep olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde altın standart gibi gözükmekle birlikte, *Acinetobacter* türlerinde dünyada giderek artan karbapenem direnci bildirilmektedir. Özer ve ark. (128) yaptıkları çalışmada IPM ve MEM'e direnç oranlarını sırasıyla %56 ve %56, Mansur ve ark. (121) %62 ve %64, Landman ve ark. (114) ise %63 ve %74 olarak tespit etmişlerdir. Biz de

çalışmamızda imipeneme %48, meropeneme ise %56 oranında direnç tesbit ettik. Bizim çalışmamızdaki direnç oranlarının da yüksek olmasının nedeninin çalışmada kullandığımız *A.baumannii* suşlarının büyük kısmının çoklu ilaca dirençli suşlar olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Pseudomonas aeruginosa invazif alet, mekanik ventilasyon, yanık yarası ve cerrahi girişim sonucu gelişen nosokomiyal enfeksiyonlarda önemli bir patojendir (129). Pek çok antibiyotiğe dirençli olması nedeni ile bu bakteriler ile gelişen enfeksiyonlar oldukça problemlidir. SENTRY çalışmasına göre kan akımı enfeksiyonlarında görülme oranı 1997-2002 yılında Avrupa'dan 15 ülkeden 37 merkezden gelen verilere göre %5.5 ve %6.8'dir (130).

Pseudomonas aeruginosa suşları son dönemde beta-laktam antibiyotiklere oldukça yüksek oranda direnç sergilemektedir. Üçüncü kuşak sefalosporinler olan CAZ, FEP ile yapılan çalışmalara bakacak olursak Gayyurhan ve ark. (131) çalışmalarında sırasıyla %42.6, %52.8 oranında direnç saptarken, Aktaş ve ark (makale) (132). %23.2, %55.3, Eser ve ark. (makale) (133) %53.8, 71.8, oranında direnç tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise CAZ ve FEP'e direnç oranı sırasıyla %60 ve %64 olarak bulunmuştur. Bu çalışmalardan da anlaşılacağı üzere seftazidim *P.aeruginosa*'ya hala en etkili üçüncü kuşak sefalosporin gibi gözükmektedir.

Kinolonlar ise iyi invitro etkinlikleri nedeniyle hala *P.aeruginosa* enfeksiyonlarında kombine ilaç tedavisi içerisinde yerini almaktadır. MYSTIC 2006' da 40 Avrupa merkezinden 1012 *P.aeruginosa* suşunun verilere göre kinolon direnci %33 olarak bildirilmiştir (134). Avcı ve ark. (135)'nin yapmış olduğu çalışmada %41, Yurtsever ve ark. (106)'nin çalışmasında %31, Eldere ve ark. (136)'nin çalışmasında ise %28 oranında CIP direnci tespit edilirken bizim yapmış olduğumuz çalışmada bu oran %84 olarak bulunmuştur. Çalışmamızdaki oranın yüksek çıkmasında, kullandığımız suşların büyük kısmının çoklu ilaca dirençli olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Aminoglikozid grubu antibiyotiklere son yıllarda artan oranlarda direnç sergileyen *P.aeruginosa* bunu MexCD-OprJ ve MexEF-OprM aktivasyonu ile sağlamaktadır. Çok merkezli bir çalışma olan EARSS 2007 verilerine göre *P.aeruginosa* suşlarının aminoglikozid direnci %28.2 oranındadır. Durmaz ve ark.

(137)'ı yapmış oldukları çalışmada GN ve AK direncini sırasıyla %44 ve %35, Gültekin ve ark. (138) %14 ve %2, Gündüz ve ark. (139) %40 ve %4, Yücel ve ark. (140) %42 ve %26, Özkalay ve ark. (141) %24 ve %12 olarak saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise direnç oranı %52 ve %40 olarak tespit edilmiştir ve literatürlerde geçen son dönemlerde artan aminoglikozid direncini desteklemektedir.

Pseudomonas aeruginosa enfeksiyonlarında, karbapenemler önemli yerini hala korumaktadır. Fakat son dönemlerde dünyadan ve ülkemizden bildirilen artan karbapenem direnci korkutucudur. Artan dirençten özellikle düzensiz effluks, dış membran proteinlerinin kaybı ve özellikle *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* suşlarında bulunan karbapenemazlar sorumlu tutulmaktadır (102). Özgenç ve ark. (142) yaptıkları çalışmada IPM ve MEM' direnç oranlarını sırasıyla %11 ve %9, Özer ve ark. (128) %48 ve %44, Dündar ve ark. (143) %22 ve %21, Guembe M ve ark. (144) %41 ve %32, Japoni A ve ark. (145) ise %36 ve %28 olarak bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise bu oran %36 ve %28 oranında bulunduğundan literatüre uygun gözükmektedir.

Çoğul dirençli bakteri tedavisinde alternatif ilaç seçeneklerinden biri de minosiklin derivesi ve glisilsiklin grubundan bir antibiyotik olan tigesiklin'dir. Tigesiklin bakteriyostatik etkili geniş spektrumlu bir minosiklin derivesidir (146). Tigesiklinin etkinliği 1997 yılından beri yapılan çok sayıda çalışmada araştırılmıştır. Yeni bir glisilsiklin olan tigesiklin Gram pozitif, Gram negatif bakteriler, atipikler ve anaeroplolar olmak üzere birçok önemli patojene karşı in vitro etkilidir. Tetrasiklin direncinden sorumlu efluks pompası (tet (A-E)) ve ribozomal korunma (tet (M)) gibi iki farklı genetik mekanizmadan etkilenmemektedir ve bu nedenle tetrasiklin ve minosiklin dirençli mikroorganizmalara da oldukça aktiftir. Aminoglikozitler, beta-laktamlar ve kinolonlarla arasında çapraz direnç söz konusu değildir (29, 147).

Tigesiklin için CLSI standart değerleri henüz bildirilmemiştir. FDA ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Komitesi (EUCAST), tigesiklin duyarlılık sınır değerlerini yayınlamışlardır; FDA'ya göre *Enterobacteriaceae* ailesi, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşları için MİK $\leq 2\mu\text{g/ml}$ olduğunda duyarlı, MİK $\geq 8\mu\text{g/ml}$ olduğunda dirençli, EUCAST'e göre MİK $\leq 1\mu\text{g/ml}$ olduğunda duyarlı, MİK $> 2\mu\text{g/ml}$

olduğunda dirençli kabul edilmektedir. Bizim çalışmamızda FDA'nın belirlediği kriterler referans alınarak MİK değerleri belirlenmiştir (89).

Tigesiklinin invitro aktivitesini belirlemek amacıyla *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarıyla yapılan pek çok çalışma mevcuttur. Vardar ve ark. (148)'nin yapmış olduğu çalışmada *E.coli* için tigesiklinin MİK aralığı $\leq 0.03-2.0$ $\mu\text{g/ml}$, MİK₅₀: $0.25\mu\text{g/ml}$ ve MİK₉₀: $0.5\mu\text{g/ml}$ olarak bulunurken *K.pneumoniae* için MİK aralığını $\leq 0.03-4.0\mu\text{g/ml}$, MİK₅₀: $0.25\mu\text{g/ml}$ ve MİK₉₀: $1.0\mu\text{g/ml}$ bulmuşlardır. Kaya ve ark. (147)'nin çalışmasında *E.coli* için MİK aralığı $\leq 0.064-0.094\mu\text{g/ml}$, MİK₅₀: $0.25\mu\text{g/ml}$ ve MİK₉₀: $0.94\mu\text{g/ml}$ olarak tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada *Klebsiella spp* için MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri aynı bulunurken MİK aralığı $\leq 0.125-1.0\mu\text{g/ml}$ olarak bildirilmiştir. Altındış ve ark. (150)'nin yaptığı çalışmada tigesiklinin *E.coli* için MİK aralığı $\leq 0.125-1.0\mu\text{g/ml}$, MİK₅₀: $0.25\mu\text{g/ml}$ ve MİK₉₀: $0.94\mu\text{g/ml}$, *Klebsiella spp* için ise MİK aralığı $\leq 0.25-2.0\mu\text{g/ml}$, MİK₅₀ ve MİK₉₀: $1\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmiştir.

Çok merkezli bir çalışma olan Sader ve ark. (151)'nin çalışmasında kan dolaşımı örneklerinden izole edilen 26474 Gram pozitif ve negatif etkende tigesiklin duyarlılığı araştırılmış, MİK₉₀ değerleri *E.coli* için $0.25\mu\text{g/ml}$, *Klebsiella spp.* için ise $1.0\mu\text{g/ml}$ olarak bildirilmiştir. Waites ve ark. (152) tüm bu suşlar için MİK₉₀ değerlerini $\leq 2.0\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edip duyarlılık yüzdelerini *E.coli* için %92.1, *Klebsiellalar* için ise %93 olarak bildirmişlerdir. Soulin M ve ark. (153)'nin çalışmasında ise 33 GSBL (+) *E.coli* suşunda MİK₅₀: $0.125\mu\text{g/ml}$, MİK₉₀: $0.94\mu\text{g/ml}$ ve duyarlılığı %100 olarak bildirilirken, 98 GSBL (+) *K.pneumoniae* suşunda ise MİK₅₀: $0.5\mu\text{g/ml}$, MİK₉₀: $1\mu\text{g/ml}$ ve duyarlılığı ise %96.9 olarak tespit edilmiştir.

Bizim yaptığımız çalışmada 15 GSBL (+) *E.coli* suşunun tigesiklin için MİK aralığı $\leq 0.125-2.0\mu\text{g/ml}$, MİK₅₀: $0.5\mu\text{g/ml}$ ve MİK₉₀: $1\mu\text{g/ml}$, 10 GSBL (-) *E.coli* suşunun ise MİK aralığı $\leq 0.062-1.0\mu\text{g/ml}$, MİK₅₀: $0.125\mu\text{g/ml}$ ve MİK₉₀: $0.94\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmiştir. Yine bizim çalışmamızda 21 adet GSBL (+) *K.pneumoniae* suşunda tigesiklinin MİK aralığı $\leq 0.125-2.0\mu\text{g/ml}$, MİK₅₀: $0.5\mu\text{g/ml}$ ve MİK₉₀: $2\mu\text{g/ml}$ bulunmuş, 4 adet GSBL (-) *K.oxytoca* suşunda ise MİK aralığı $\leq 0.125-0.5\mu\text{g/ml}$, MİK₅₀: $0.25\mu\text{g/ml}$ ve MİK₉₀: $0.5\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında elde ettiğimiz verilerin literatüre uygun

olduğunu ve tigesiklinin *Enterobacteriaceae* ailesinin iki önemli üyesi olan *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarına karşı oldukça etkili olduğunu görmekteyiz.

Ülkemizde tigesiklinin *A.baumannii* üzerine etkinliği ile ilgili invitro deneyimler oldukça sınırlı olmasına karşın, tigesiklin oldukça hızlı bir şekilde kullanıma girmiştir. Geniş etki spektrumu nedeniyle Gram pozitif ve Gram negatif mikroorganizmalara karşı yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Zer ve ark. (119)'nın yapmış olduğu çalışmada tigesiklinle test edilen 62 suştan 50'si (%80.64) duyarlı, sekizi (%12.90) orta duyarlı ve dördü (%6.45) dirençli olarak bulunmuştur. MİK₅₀: 1.0µg/ml, MİK₉₀: 4µg/ml olarak saptanmıştır. Ersöz ve ark. (154) hastane enfeksiyonu etkenleri ile yaptıkları bir çalışmada izole ettikleri 21 *A.baumannii* suşunun tümünde 2.31-2.80µg/ml arasında MİK değeri bulmuşlardır. Aynı çalışmadaki suşların %80.64'ü tigesikline duyarlı olarak bulunmuştur. *Acinetobacter baumannii* ile yapılan yurt dışı çalışmalarda; Ibanez ve ark. (155) İmipeneme dirençli *A.baumannii* suşlarından %92'sini tigesikline duyarlı olarak bildirirken Landman ve ark. (114) 396 *A.baumannii* suşu ile yaptıkları çalışmada MİK₉₀: 2µg/ml ve tigesiklin duyarlılığını yine %92 olarak bildirmişlerdir. Mezzatesta ve ark. (156), yaptıkları çalışmada broth mikrodilüsyon yöntemiyle *A.baumannii*'nin tigesikline %93 oranında duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Lolans ve ark. (157), 90 adet *A.baumannii* suşu ile yaptığı çalışmada, MİK₉₀: 4µg/ml ve %96 oranında duyarlılık bildirmişlerdir.

Bizim yaptığımız çalışmada ise 25 adet *A.baumannii* suşunun tigesiklin için MİK aralığı $\leq 0.5-16\mu\text{g/ml}$, MİK₅₀: 1.0µg/ml ve MİK₉₀: 4µg/ml olarak bulunmuş ve duyarlılığının %96 oranında olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmaya göre tigesiklinin çeşitli klinik örneklerden izole ettiğimiz çoklu dirençli *A.baumannii* suşları üzerinde oldukça etkili olduğu açıkça görülmektedir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda da, *P.aeruginosa* kökenleri hariç diğer Gram negatif patojenlere karşı (*E.coli*, *K.pneumoniae* ve *A.baumannii*) tigesiklin oldukça etkili bulunmuştur. Bouchillon ve ark. (146), Sader ve ark. (151) ve Waites ve ark. (152)'nin Gram negatif bakterilerle yapmış oldukları çalışmalarda tigesiklinin *P.aeruginosa* için MİK₉₀ $\geq 8\mu\text{g/ml}$ bulmuşlardır. Fritsche ve ark. (158), 2005 yılında yaptıkları çalışmada hastane enfeksiyonu etkeni *E. coli* ve *Klebsiella* spp. ve çoklu direnç gösteren *P. aeruginosa* kökenlerinde tigesiklin duyarlılığını sırasıyla % 100,

% 96 ve % 5.6 olarak bulmuşlardır. Yine Dean ve ark. (159), Goldstein ve ark. (160), Milatovic ve ark. (161) yapmış oldukları çalışmalarda tigesiklinin *P.aeruginosa* için MİK₉₀ değeri 16µg/ml' nin üzerinde tespit edilmiştir.

Bizim çalışmamızda ise tigesiklinin *P.aeruginosa* için MİK aralığı ≤8-32µg/ml, MİK₅₀: 16.0µg/ml ve MİK₉₀: 32 µg/ml olarak bulunmuştur. MİK₉₀ değerinin bizim çalışmamızda daha yüksek bulunmasının nedeninin çalışmamızda kullandığımız *P.aeruginosa* suşlarının önemli bir kısmının çoklu ilaca dirençli suşlardan oluşmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olarak bu çalışmada da tigesiklinin *P.aeruginosa* suşları üzerine etkisinin çok sınırlı olduğu görülmektedir. Bu direncin *P.aeruginosa* türlerindeki efluks pompa sistemlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak; Gram negatif bakterilerin son dönemlerde klinik izolatlardan fazlaca izole edildiği ve bu izolatların pek çok ilaca direnç gösterdiklerini görmekteyiz. Karbapenemler ise Gram negatif bakteriler üzerindeki etkilerini artan direnç oranına rağmen hala korumaktadırlar. Yaşanan bu direnç sorunundan dolayı yeni kullanıma giren antibiyotiklerden olan tigesiklinin karbapenemlere alternatif oluşturarak antimikrobiyal tedavide önemli yer edineceğini düşünmekteyiz.

5. KAYNAKLAR

1. Candevir A. Hastanemiz Yoğun Bakımlarında Gelişen Bakteriyemilerde Etkenler ve Antibiyotik Duyarlılıkları. Uzmanlık Tezi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi. Adana 2005; 2.
2. Gülay Z. Gram olumsuz bakterilerdeki direncin moleküler temelleri, “Yüce A, Çakır N (editörler): Hastane enfeksiyonları” Güven Kitabevi 2003; 87.
3. Gür D: Gram negatif bakterilerde antibakteriyel direnç mekanizmaları, Ulusoy S, Leblebicio_lu H, Arman D (editörler): Önemli ve Sorunlu Gram Negatif Bakteri İnfeksiyonları” kitabında Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2004; 69.
4. Willke Topçu A: Toplum kökenli Gram negatif çomaklarda direnç ve tedavi sorunu, XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre kitabında, Kuşadası 2004; 92.
5. Bayraktar B, Özcan N, Borahan I, Başarı F, Bulut E: Yatan ve ayaktan hastalardan izole edilen üriner sistem infeksiyonu etkeni Gram negatif çomaklarda antibiyotiklere direnç, Ankem Derg 2004; 18: 137-139.
6. ErtuğrulMB, Çolak N: idrardan izole edilen toplum kökenli *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, Ankem Derg 2004; 18: 161.
7. Şahin İ, Öksüz Ş, Kaya D, Şencan İ, Gülcan A: Çocuk yaş grubunda servis ve poliklinik kökenli üropatojen Gram negatif çomakların antibiyotik duyarlılıkları, Ankem Derg 2004; 18: 101-102.
8. Taşbakan MI, Pullukçu H, Yamazhan T, Arda B, Ulusoy S: Toplum kökenli üriner sistem infeksiyonlarından soyutlanan *Escherichia coli* suşlarına fosfomisin in vitro etkinliğinin diğer antibiyotiklerle karşılaş tırılması, Ankem Derg 2004; 18: 216-218.
9. Özgenç O: Hastane kökenli çoklu dirençli Gram negatif çomaklarda tedavi seçenekleri, XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre kitabında, Kuşadası 2004; 98.

10. Zeynep GÜLAY: Gram negatif çomaklarda antibiyotik direnci: 2003-2004 Türkiye haritası, ANKEM Derg 2005; 19: 66-77.
11. Donnenberg M S. Enterobacteriaceae. In Mandell G L, Bennet J E, Dolin R (eds). Principles and Infectious Diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005: 2567-2586.
12. Ural O. Escherichia coli O157: H7 enfeksiyonlarının epidemiyolojik, mikrobiyolojik ve klinik özellikleri. Enfeksiyon Dergisi 1996; 10: 97-100.
13. Töreci K. Escherichia Türleri . Topçu A W, Söyletir G. Doğanay M (yazarlar). Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002; 407-435.
14. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1998; 11: 142-201.
15. Brooks GF, Butel SJ, Morse SA. Enteric Gram-Negative Rods (*Enterobacteriaceae*); *Pseudomonads*, *Acinetobacter*, and Uncommon Gram-Negative Bacteria, Medical Microbiology, Boston, McGraw-Hill, 2004; 248-261; 262-268
16. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr WC. The *Enterobacteriaceae*; The Nonfermentative Gram-Negative Bacilli, Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Philadelphia-New York, Lippincott, 1992; 105-184; 185 -242.
17. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Yolken RH. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*; *Pseudomonas*; Antibacterial Agents, Manual of Clinical Microbiology, Washington D.C., American Society for Microbiology Press, 1999; 459-482; 517-525; 1474-1525.
18. Topçu Willke A, Söyletir G, Doğanay M. Bakterilerde Antibiyotiklere Karşı Direnç; Kinolonlar; *Enterobacteriaceae*; *Pseudomonas aeruginosa* ve Diğer *Pseudomonas* Türleri, Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Adana,

Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Őti. 2002: 182-191; 234-244; 1555-1585; 1608-1617.

19. DuPont HL, Formal B, Hornich RB. Pathogenesis of *E.coli* diarrhea. N Eng J Med. 1971; 285: 1-9.
20. Doğanay M, Ünal S, Hastane İnfeksiyonları, Çoğul Dirençli Gram Negatif Bakteriler; Antibiyotiklerin Uygun Kullanımı ve Antibiyotik Kullanım Politikaları, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2003, 269-287; 455-472.
21. Mutlu G, Ėmir T, Cengiz, AT, Ustaçelebi Ő, Tümbay E, Mete, Ö. Antimikrobiyal Ėlaçlara Direnç; *Enterobacteriaceae*; *Pseudomonaslar*, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ed. Ė. Ustaçelebi, Ankara, Güneğ Kitabevi Ltd. Őti. 1999: 91-108; 471-516; 551-558.
22. Hyma KE, Lacher DW, Nelson AM, Bumbaugh AC, Janda J M, Strockbine NA, Young VB, Whittam TS. Evolutionary Genetics of a New Pathogenic *Escherichia* Species: *Escherichia albertii* and Related *Shigella boydii* Strains. J Bacteriol 2005; 187; 619-628.
23. Reynolds HY, Pneumoniae due to *Klebsiella* (Friedlander pneumonia). In: Wyngaarden JB Smith LH. Eds. Cecil Textbook of Medicine. 16th ed. Philedelphia: Saunder. 1982: 1430-1432.
24. Jarvis WR, Martone WJ. Predominant pathogens in hospital infections. J Antimicrob Chemother 1992; 29: 19-24.
25. Jacoby GA, Han P. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. J Clin Microbiol 1996; 34: 908-911.
26. Silver DR, Cohen IL, Weinberg PF. Recurrent *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in an intensive care unit. Chest 1992; 101: 194-198.
27. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M, Mikrobiyoloji Dördüncü Baskı, Asya Tıp Kitabevi, 2006: 173-178.

28. Noskin GA. Tigecycline: A New Glycylcycline For Treatment of Serious Infections, Clin Infect Dis 2005; 41: 303-314.
29. Reinert, RR, Low, DE, Rossi, F. Antimicrobial Susceptibility Among Organisms from the Asia/Pacific Rim, Europe and Latin and North America Collected as Part of TEST and the In Vitro Activity of Tigecycline, J. Antimicrob Chemother 2007; 60: 1018-1029.
30. Munoz-Price L, Weinstein R. Acinetobacter Infection. N Engl J Med 2008; 358: 1271-81.
31. Bilgin Y. *Escherichiae coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Staphylococcus aureus* Suşlarında Çeşitli Aminoglikozidlerin Duyarlılıklarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi İstanbul: Haseki Araştırma Hastanesi. 2006: 22.
32. Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as Nosocomial Pathogens: Microbiological, Clinical, and Epidemiological Features. Clin Microbiol Rev 1996; 9: 148–165.
33. Towner K. The Genus *Acinetobacter*. Prokaryotes 2006; 6: 746–758.
34. Richet H. Fournier PE. Nosocomial Infections Caused by *Acinetobacter baumannii*: A Major Threat Worldwide. Infect Control Hosp Epidemiol 2006; 27: 759–761.
35. Can F, Kurt-Azap Ö, Demirbilek M, Karabay G, Ergin F, Arslan H. Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Biyofilm Oluşumu. İnfeksiyon Dergisi 2006; 20: 159-163.
36. Yıldırım İH. Sefaperazon-Sulbaktam, İmipenem ve Sefepimin Antibiyoterapi Etkinliklerinin Çoğul Dirençli ve Duyarlı *Acinetobacter baumannii* ile Oluşturulan Deneysel İkili Apse Modelinde Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi. Edirne 2006: 5.

37. Demirtürk N, Demirdal T. Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. Kocatepe Tıp Dergisi 2004; 5: 17-21.
38. Chaiwarith R, Mahatthanaphak S, Boonchoo M, Supparatpinyo K, Sirisanthana T. Pandrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* at Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital. J Infect Dis Antimicrob Agents 2005; 22: 2-8.
39. Yavuz MT, Şahin İ, Behçet M, Öztürk E, Kaya D. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. Ankem Dergisi 2006; 20: 107-110.
40. Ardıç N, Özyurt M, İlga U, Erdemoğlu A, Haznedaroğlu T. Yatan Hastalardan İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* Suşlarının Karbapenemlere ve Bazı Antibiyotiklere Duyarlılıkları. Ankem Dergisi 2004; 18: 145-148.
41. Falagas ME, Koletsi PK, Bliziotis IA. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Microbiol 2006; 55: 1619–1629.
42. Kwon KT, Oh WS, Song JH, Chang HH, Jung SI, Kim SW, et al. Impact of imipenem resistance on mortality in patients with *Acinetobacter* bacteraemia. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 525-530.
43. Hsueh PR, Teng LJ, Chen CY, Chen WH, Yu CJ, Ho SW, et al. Pandrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Causing Nosocomial Infections in a University Hospital, Taiwan. Emer Infec Dis 2002; 8: 827-832.
44. Curcio D, Fernández F. *Acinetobacter spp.* Susceptibility to Tigecycline: A worldwide Perspective, J Antimicrob Chemother, 2007; 60: 449-450.
45. Hoban, DJ, Bouchillon, SK, Dowzicky, MJ. Antimicrobial Susceptibility of Extended-Spectrum β -Lactamase Producers and Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Throughout the United States and Comparative In

Vitro Activity of Tigecycline, a New Glycylcycline Antimicrobial, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 57: 423-428.

46. Pankey GA. Tigecycline, *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 470-480.
47. Hoban DJ, Bouchillon SK, Jhonson BM, Jhonson JL, Dowzicky MJ. In vitro activity of tigecycline against 6792 Gram-negative and Gram-positive clinical isolates from the global Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST Program, 2004). *Diagn. Microbiol. Infect Dis* 2005; 52: 215-227.
48. Hoban DJ, Jones RN, Yamane N, Frei R, Trilla A, Pignatari AC. In vitro activity of three carbapenem antibiotics: comparative studies with biapenem (L-627), imipenem and meropenem against aerobic pathogens isolated worldwide. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis* 1993; 17: 299-305.
49. Fraise AP: Tigecycline: The answer to beta-lactam and fluoroquinolone resistance? *J Infect* 2006; 53: 293-300.
50. Hoellman DB, Pankuch GA, Jacobs MR, Appelbaum PC: Antipneumococcal activities of GAR-936 (a new glycylcycline) compared to those of nine other agents against penicillin-susceptible and -resistant pneumococci, *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1085-8.
51. Stein GE, Craig WA: Tigecycline: a critical analysis, *Clin Infect Dis* 2006; 43: 518-24.
52. Pachon-Ibanez ME, Jimenez-Mejiaz ME, Pichardo C, Llanos AC, Pachon J: Activity of tigecycline (GAR-936) against *Acinetobacter baumannii* strains, including those resistant to imipenem, *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 4479-81.
53. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry M, Pfaller MA. *Manual of Clinical Microbiology* 2009: 1135.

54. Betriu C, Culebras E, Gomez M, Rodriguez-Avial I, Picazo JJ: In vitro activity of tigecycline against *Bacteroides* species, *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 349-52.
55. Betriu C, Rodriguez-Avial I, Sanchez BA, Gomez M, Alvarez J, Picazo JJ, Spanish Group of Tigecycline: In vitro activities of tigecycline (GAR-939) against recently isolated clinical bacteria in Spain, *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 892-895.
56. Milatovic D, Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC: Activities of the glycylycline tigecycline (GAR-936) against 1924 recent European clinical bacterial isolates, *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 400-404.
57. Visalli MA, Murphy E, Projan SJ, Bradford PA: AcrB multidrug efflux pump is associated with reduced levels of susceptibility to tigecycline (GAR-936) in *Proteus mirabilis*, *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 665-669.
58. Muralidharan G, Micalizzi M, Speth J, Raible D, Troy S: Pharmacokinetics of tigecycline after single and multiple doses in healthy subjects, *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 220-229.
59. Data on file: Wyeth Pharmaceuticals, Philadelphia 2005.
60. Troy S, Murlidharan G, Micalizzi M et al: The effects of renal disease on the pharmacokinetics of tigecycline (GAR-936), 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago, IL 2003.
61. Ruzin A, Visalli MA, Keeney D, Bradford PA. Influence of transcriptional activator Ram A on expression of multidrug efflux pump AcrAB and tigecycline susceptibility in *K.pneumoniae*, . *Antimicrob. Agents Chemother* 2005; 49: 1017-1022.
62. Harbottle H, Thakur S, Zhao S, White DG. Genetics of antimicrobial resistance. *Animal Biotechnology* 2006; 17: 111-124.

63. Tenover FC. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Infect Control* 2006; 34: 3-10.
64. Murray BE. New aspects of antimicrobial resistance and the resulting therapeutic dilemmas. *J Infect Dis* 1991; 163: 1185-1194.
65. Vakulenko SB, Mobashery S. Versatility of aminoglycosides and prospects for the future. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 430-450
66. Depardeu F, Podglajen E, Leclercq R, Collatz E, Courvalin P, Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 79-114.
67. Livermore DM, Bacterial resistance: Origins, epidemiology and impact. *CID* 2003; 36: 11-23.
68. Alanis AJ. Resistance to antibiotics: Are we in the post antibiotic era? *Archives of Medical Research* 2005; 36: 697-705.
69. Gold HS, Moellering RC. Antimicrobial –drug resistance. *New Engl J Med* 1996; 335: 1445-1453.
70. Akman M. Bakteri genetiği. 2. Baskı. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayını, 1983.
71. Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. Javetz, Melnick Adelberg's Medical Microbiology. 19th edition. Connecticut: Appleton Lange 1991: 152-153.
72. Rice LB, Sahm D, Bonomo RA. Mechanisms of resistance to antibacterial agents. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of Clinical Microbiology* eighth edition, ASM press 2003: 1074-1101.
73. Bergogne-Berezin E: Who and what is the source of antibiotic resistance. *Journal of Medical Microbiology* 1997; 34: 507-14.

74. Jones RN, Baquero F, Privitera G, Inoue M, Wiedemann B: Inducible beta-lactamase-mediated resistance to third generation cephalosporins. *Clinical Microbiology and Infection* 1997; 3: 57-520.
75. Moellering RC, Gold HS. Antimicrobial –drug resistance. *New Engl J Med* 1996; 335: 1445-1453.
76. Kingman S: Resistance a European Problem, too. *Science* 1994; 264: 363-65.
77. Knox JR. Extended spectrum and inhibitor resistant TEM type beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1995; 39: 2593.
78. Hessen M, Kaye D: Principles of selection and use of antibacterial agent. *Infectious Disease Clinics of North America*. 1995; 9: 531-545.
79. Martinez JL, Blasquez J, Baquero F. Noncanonical mechanisms of antibiotic resistance. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 1994; 13: 1015-1018.
80. Nicolau DP, Quintiliani R, Nightingale CH. Antibiotic kinetics and dynamics for the clinician. *Medical Clinics of North America* 1995; 79: 477-495.
81. Shanahan P.M.A, Thomson CJ, Amyes SGB. The global impact of antibiotic resistant bacteriae; their sources and reservoirs. *Reviews in medical microbiology* 1994; 5: 174-182.
82. Mayer KH, Opal JM, Medeiros AA. Mechanisms of antibiotic resistance. Mandell, Bennett, Dolin (eds) *Principles and Practice of Infectious Diseases*, Chuchill Livingstone 1995: 212-222.
83. Stone R. Search for sepsis drugs goes on despite past failures. *Science* 1994; 264; 365-367.
84. Quintillani R, Courvalin P. Mechanisms of resistance to antimicrobial agents. Murray, Baron, Pfaller, Tenover, Tenover, Tenover, Yolken (eds), *Manual of Clinical Microbiology* 1994; 5: 174-182.

85. Nikaido H. Prevention of drug Access to bacterial targets; permeability barriers and active efflux. *Science* 1994; 264: 382-388.
86. Hackbarth CJ, Chambers HF. Methicillin-resistant staphylococci genetics and mechanism of resistance. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*. 1989; 33: 991-994.
87. Ustaçelebi Ş. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1999; 82-107.
88. Clinical and Laboratory Standards Institute: *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*. Approved Standard, ed 7. Wayne, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010.
89. Wyeth Pharmaceuticals Inc. Tygacil Product Insert, June 2005, Philadelphia (PA), [http:// www. Tygacil.com](http://www.Tygacil.com).
90. Aksaray S, Dokuzoğuz B, Güvener E. Surveillance study of antimicrobial resistance among Gram-negative isolates from intensive care units in eight hospitals in Turkey. *J Antimicrob Chemother*. 2000; 45: 695-699.
91. Baştürk S: *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa ve Acinetobacter baumannii* Suşlarında Çeşitli Kinolon Grubu Antibiyotiklerin Duyarlılıklarının Araştırılması. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi. İstanbul 2005; 29.
92. Gülhan B, Özekinci T, Atmaca S, Bilek H. 2004-2006 Yıllarında İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Antibiyotik Direnci. *Ankem Dergisi*. 2007; 21: 32-36.
93. Kayman T, Ayangil D. Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesinde İzole Edilen *Enterobacteriaceae* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. *Ankem Derg* 2007; 21: 203-207.
94. Bratu S, Tolaney, P, Karamudi, U. Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: Molecular Epidemiology and In Vitro Activity

- of Polymyxin B and Other Agents, *J Antimicrob Chemother*, 2005; 56: 128-132.
95. DiPersio JR, Dowzicky MJ, Regional Variations In Multidrug Resistance Among *Enterobacteriaceae* in the USA and Comparative Activity of Tigecycline, a New Glycylcycline Antimicrobial, *Int J Antimicrob Agent*, 2007. 29: 518-527.
96. Ensor VM, Livermore, DM, Hawkey PM. Anovel Reverse-line Hybridization Assay for Identifying Genotypes of CTX-M-type Extended-Spectrum β -Lactamases, *J Antimicrob Chemother*, 2007; 59: 387-395.
97. Livermore DM. The Need for New Antibiotics, 2004; 10: 1-9.
98. Balke B, Hogartdt M, Schmoldt S. Evaluation of the E test for the Assessment of Synergy of Antibiotic Combinations Against Multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates From Cystic Fibrosis Patients, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2006; 25: 25-30.
99. Souli M, Galani I, Giamarellou H. Emergence of extensively drug - resistant and pan drug - resistant Gram - negative bacilli in Europe. *Eurosurveillance* 2008; 13: 47.
100. Karşılıgil T, Balcı I, Zer Y. Antibacterial Sensitivity of *Acinetobacter* Strains Isolated from Nosocomial Infections. *J Intern Med Research*. 2004; 32: 436-441.
101. Livermore DM, James D, Reacher M. Trends in the floroquinolone (ciprofloxacin) resistance in *Enterobacteriaceae* from bacteremias, England and Wales, 1990-1999, *Emerg Infect Dis* 2002; 8: 473-478.
102. Taşova Y. Etkenler nasıl değişti? Elimizde ne kaldı? *Aknem Derg* 2009; 23: 25-36.
103. Gülhan B, Özekinci T, Atmaca S: *Escherichia coli* suşlarında on yıl (1996-2006) ara ile antibiyotiklere direnç, *Ankem Derg* 2006; 20: 226-228.

104. Lochart SR, Abramson MA, Beekman SE, Gallagher G, Riedel S, Diekema DJ, Quinn SP, Doern GV. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli causing infections in intensive care unit patient in the United States between 1993-2004. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007; 3352-3359.
105. Mir S, Dönmez O, Kabasakal C, Sönmez F, Cura A: Çocukluk çağı idrar yolu enfeksiyonlarında ilk tedavi seçeneği ne olmalıdır? *Türk Nefrol Diyal Transplant Derg* 1997; 2: 149-53.
106. Yurtsever S, Kurultay N, Çeken N, Yurtsever Ş, Afşar İ, Şener A, Yılmaz N: Yara yeri örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *Aknem Derg* 2009; 23: 34-38.
107. Aminzadeh Z, Kashi MS, Sha'bani M: Bacteriuria by extended-spectrum beta-lactamase-producing *E.coli* and *K.pneumoniae*. *IJKD* 2008; 2: 197-200.
108. Çetin M, Ocak S, Görür S, Avunduk G: Semptomatik üriner sistem enfeksiyonlarında üropatojenler ve izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılığı, *ANKEM Derg* 2006; 20: 169-72.
109. Vurgun N, Ece A, Çetinkaya Z, Şengül AZ, Balkan C: Çocuk idrar yolu enfeksiyonlarında etken mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları, *Süleyman Demirel Üniv Tıp Fak Derg* 1996; 3: 77-81.
110. Gökçe I, Alpay H, Bıyıklı N, Özdemir N. Urinary tract pathogens and their antimicrobial resistance patterns in Turkish children, *Pediatr Nephrol* 2006; 21: 1327-8.
111. Çatal F, Bavbek N, Bayrak O. Antimicrobial resistance patterns of urinary tract pathogens and rationale for empirical therapy in Turkish children for the years 2000-2006, *Int Urol Nephrol* 2008.
112. Yalçın AN: Yoğun bakım ünitesinde antibiyotik kullanımı ve direnç sorununa genel bakış. *Ankem Derg* 2009; 23: 136-142.

113. Taneja N, Chatterjee SS, Singh M, Singh S: Pediatric urinary tract infections in a tertiary care center from North India. *Indian J Med Res* 2010; 101-105.
114. Landman D, Bratu S, Kochar S, Panwar M, Trehan M, Doymaz M, Quale J: Evolution of antimicrobial resistance among *P.aeruginosa*, *A.baumannii* and *K.pneumoniae* in Brooklyn, NY. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2007; 60: 78-82.
115. Koçoğlu E, Karabay O, İnce NK, Özkardeş F, Yıldırım R: Toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve bazı antibiyotiklere direnç sıklığının araştırılması, *Ankem Derg* 2007; 21: 5-9.
116. Ardıç N, Özyurt M, İlgaU, ErdemoğluA, Haznedaroğlu T: Yatan hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşlarının karbapenemlere ve bazı antibiyotiklere duyarlılıkları, *Ankem Derg* 2004; 18: 145.
117. Gazi H, Sürücüoğlu S, Kurutepe S: İdrar kültürlerinden izole edilen Gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç, *Ankem Derg* 2007; 21: 19-22.
118. Manikal VM, Landman D, Saurina G, Oydna E, Lal H, Quale J. Endemic carbapenem resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: Citywide prevalence, interinstitutional spread and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 101-6.
119. Zer Y, Akın FE, Manıduru M: *Acinetobacter baumannii* suşlarında tigesiklin etkinliğinin araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 2007; 21: 193-196.
120. Yavuz MT, Şahin İ, Behçet M, Öztürk E, Kaya D: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, *Ankem Derg* 2006; 20: 107-110.

121. Mansur A, Kuzucu Ç, Ersoy Y, Yetkin F. İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezinde 2008 yılında yatan hastalardan izole edilen *Acinetobacter* suşlarının antibiyotik duyarlılığı. *Ankem Derg* 2009; 23: 177-181.
122. Çolpan A, Güngör Ş, Baykam N, Dokuzoğuz B: Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Acinetobacter* suşlarının antibiyotik direnç durumlarının karşılaştırılması, *İnfeksiyon Derg* 2002; 16: 55-58.
123. Azap ÖK, Arslan H, Ergin F, İnci EK, Yapar G. In vitro activity of colistin against nonfermentative gram-negative bacilli. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*. 2005; 58: 65-67.
124. Özdemir M, Erayman İ, Gündem NS, Baykan M, Baysal B: Hastane infeksiyonu etkeni *Acinetobacter* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. *Ankem derg* 2009; 23: 127-132.
125. Ayyıldız A, Kocazeybek B, Arıtürk S: Değişik klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, *Ankem Derg* 2002; 16: 1-3.
126. Şesli Çetin E, Kaya S, Cicioğlu Arıdoğan B, Demirci M, Arıkan S, Pakbaşı İ: Ocak 2004-Ocak 2005 tarihleri arasında kan kültürlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotik direnç durumları, *Ankem Derg* 2005; 19: 52.
127. Yu Y, Yang Q, Xu XW, Kong HS, Xu GY, Zhong BY. Typing and characterization of carbapenem resistant *Acinetobacter calcoaceticus–baumannii* complex in a Chinese hospital. *J Med Microbiol* 2004; 53: 653–656.
128. Özer B, Oktun M, Memiş D, Oktun M: Yoğun bakım ünitesinde hastane infeksiyonu etkenleri, antibiyotik duyarlılıkları ve antibiyotik kullanımı. *İnfeksiyon Derg* 2006; 20: 165-170.
129. Giamarellou H, Kanellakopoulou K: Current therapies for *P.aeruginosa*, *Crit Care Clin* 2008; 24: 261-278.

130. Falagas ME, Rafailidis PI, Matthaïou DK, Vartzili S, Nikita D, Michalopoulos A: Pandrug-resistant *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* and *A.baumannii* infections: Characteristics and outcome in a series of 28 patients, Int J Antimicrob Agents 2008; 32: 450-454.
131. Gayyurhan E, Zer Y, Mehli M, Akgün S. Yoğun bakım ünitesi hastalarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve metallo-beta-laktamaz oranlarının belirlenmesi. İnfek Derg 2008; 22: 49-52.
132. Aktaş E, Yiğit N, Kayserili F, Ayyıldız A: *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve metallo-beta laktamaz üretiminin araştırılması. İnfeksiyon Dergisi 2009; 23: 57-62.
133. Eser Ö, Kocagöz S, Ergin A, Altun B, Haşçelik G: Yoğun bakım ünitelerinde infeksiyon etkeni olan Gram-negatif basillerin değerlendirilmesi. İnfeksiyon Derg 2005; 19: 75-80.
134. Turner PJ: Meropenem activity against European isolates: report on the MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) 2006 results, Diagn Microbiol Infect Dis 2008; 60: 185-192.
135. Avcı M, Özgenç O, Coşkuner A, Mermut G, Arı A: Yoğun bakım ünitesinde hastane infeksiyonu etkenleri ve en sık soyutlanan mikroorganizmalarda yıllara göre değişen antibiyotik direnç profili. Ankem derg 2007; 21 (3): 179-183.
136. Eldere JV: Multicentre surveillance of *P.aeruginosa* susceptibility patterns in nosocomial infections, J Antimicrob Chemother 2003; 51: 347-352.
137. Durmaz ÇB, Özcan N, Oktar M, Hamsan H, Gül M. Yara ve abse örneklerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere duyarlılığındaki üç yıllık değişim. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2004; 34: 244-7.
138. Gültekin B, Eyigör M, Aydın N. Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas* kökenlerinin antibiyotik direnci. Ankem Derg 2004; 18: 1-4.

139. Gündüz T, Arısoy AS, Ülgün A, Borand H, Özbakkaloğlu B. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiklere direnci. *İnfek Derg* 2005; 19: 353-6.
140. Yücel M, Yavuz T, Kaya D, Behçet M, Öztürk CE, Şahin İ. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotiklere direnç oranlarının yıllar içinde değişimlerinin izlenmesi. *Ankem Derg* 2006; 20: 152-5.
141. Özkalay N, Ağuş N, Cengiz A, Taneri N. *Pseudomonas* suşlarının antibiyotik duyarlılığındaki değişim. *Ankem Derg* 2006; 20: 159-63.
142. Özgenç O, Urbarlı A, Erdenizmenli M, Fidan N, Arı A. *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin çeşitli antimikrobiklere direnç oranlarının araştırılması. *İnfek Derg* 2002; 16: 179-82.
143. Dündar D, Tamer GS: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnci: Üç yıllık değerlendirme. *Ankem Derg* 2009; 23: 17-21.
144. Guembe M, Cercenado E, Alcal L, Marin M, Insa R: Evolution of antimicrobial susceptibility patterns of aerobic and facultative gram negative bacilli causing intra-abdominal infections: Results from the smart studies 2003-2007, *Rev Esp Quimioter* 2008; 21: 166-173.
145. Japoni A, Alborzi A, Kalani M, Nasiri J, Hayati M, Farshad S: Susceptibility patterns and cross resistance of antibiotics against *P.aeruginosa* isolated from burn patients in the South of Iran, *Burns* 2006; 32: 343-347.
146. Bouchillon SK, Hoban DJ, Johnson BM. In Vitro Evaluation of Tigecycline and Comparative Agents in 3049 Clinical Isolates: 2001 to 2002, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 51: 291-295.
147. Rose WE, Rybak MJ. Tigecycline: First of a New Class of Antimicrobial Agents, *Pharmacotherapy*, 2006: 26: 1099-1110.

148. Vardar G, Ünlü M, Yağmuroğlu A, Yıldırım D: Klinik örneklerden izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarına tigesiklin etkinliği. *Ankem Derg* 2009; 23: 22-25.
149. Kaya I, Göker G, Kayacan Ç, Gürler N: Yoğun bakım izolatu gram negatif bakterilerde tigesiklin duyarlılığı. *Ankem Derg* 2007; 21: 142-145.
150. Altındış M, Şafak B, Demirda T, Çetinkaya Z, Aktepe OC: Kan kültürlerinden izole edilen etkenlerde tigesiklin duyarlılığı. *Ankem Derg* 2007; 21: 171-174.
151. Sader HS, Jones RN, Stilwell MG, Dowzicky MJ, Fritsche TR: Tigecycline activity tested against 26, 474 bloodstream infection isolates: a collection from 6 continents, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 52: 181-6.
152. Waites KB, Duffy LB, Dowzicky MJ: Antimicrobial susceptibility among pathogens collected from hospitalized patients in the United States and in vitro activity of tigecycline, a new glycycline antimicrobial, *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 3479-84.
153. Soulin M, Kontopidou VF, Koratzanis E, Antoniadou A, Giannitsioti E, Evangelopoulou P, Kannavaki S. In vitro activity of tigecycline against Multiple-drug-resistant, including pan-resistant, gram negative and gram positive clinical isolates from Grek Hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 3166-3169.
154. Ersöz G, Akdağ A, Otağ F, Kaya A. Hastane infeksiyonu etkenlerinin tigesiklin duyarlılıkları. KLİMİK 2007 XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları 14-18 Mart 2007, *Antalya* kitabında. İstanbul: Klimik Derneği, 2007: 274.
155. Pachon Ibanez ME, Jimenez Mejias ME, Pichardo C, Llanos AC, Pachon J. Activity of tigecycline (GAR-936) against *Acinetobacter baumannii* strains, including those resistant to imipenem. *Antimicrob Agent Chemother* 2004; 48: 4479-4481.

156. Mezzatesta ML, Trovato G, Gona F. *In vitro* activity of tigecycline and comparators against carbapenem-susceptible and resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Italy. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2008; 7: 4-7.
157. Lolans K, Rice TW, Munoz-Price SL, Quinn JP. Multicity outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing the carbapenemase OXA-40. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 2941-2945.
158. Fritsche TR, Sader HS, Stilwell, MG. Antimicrobial Activity of Tigecycline Tested Against Organisms Causing Community-acquired Respiratory Tract Infection and Nosocomial Pneumonia, *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2005; 52: 187-193.
159. Dean CR, Visalli MA, Projan SJ, Sum PE, Bradford PA: Efflux-mediated resistance to tigecycline (GAR-936) in *P.aeruginosa* PA01, *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 972-978.
160. Goldstein EJ, Citron DM, Merriam CV, Warren Y, Tyrell K: Comparative *in vitro* activities of GAR-936 against aerobic and anaerobic animal and human bite wound pathogens, *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2747-2751.
161. Milatovic D, Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC: Activities of the glycylycline tigecycline (GAR-936) against 1924 recent European clinical bacterial isolates, *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 400-404.

6. ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Elazığ' da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladıktan sonra 1999 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. 2005 yılında tıp fakültesinden mezun oldum. 2006 yılı nisan tus sınavında Tıbbi Mikrobiyoloji' yi kazandım. Evli ve bir çocuk annesiyim.