

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK Mikrobiyoloji  
ANABİLİM DALI

YOĞUN BAKIM ÜNİVERSİTESİ'NDEN ZOLEDEMİN ÇOKLACA  
DRENÇLİ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* VE  
*ACINETOBACTER BAUMANNII* SUŞLARINA KARŞI  
ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERİN *IN VITRO*  
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ  
Dr. Arzu ENOL AKTA

TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. İhrami ÇELİK

ELAZI  
2009

## **DEKANLIK ONAYI**

Prof. Dr. İrfan ORHAN

## **DEKAN**

Bu tez Uzmanlık Tezi Standartları'na uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. S. Sırrı KILIÇ

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

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

Doç Dr. İlhami ÇELİK

**Tez Danışmanı**

## **Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri**

.....

.....

.....

.....

.....

## TE EKKÜR

E itimimde büyük emekleri olan saygıde er hocalarım Prof. Dr. S. Sırrı Kılıç'a, Prof. Dr. Ayhan Akbulut'a, Prof. Dr. Ahmet Kalkan'a, Doç. Dr. Kutbettin Demirda 'a, Doç. Dr. Mehmet Özden'e, tez danı manım ve tez çalı mamda yardımlarını gördü üm de erli hocam Doç. Dr. İhami Çelik'e te ekkürlerimi sunarım.

htisasım boyunca çalı ma arkada larım Uzm. Dr. Affan Denk, Uzm. Dr. Pınar Fırat (Yüce), Uzm. Dr. Erol Sevim, Uzm. Dr. Nuran Akmirza nci, Uzm. Dr. Mehmet Çabalak, Dr. Gülden Eser Karlıda , Dr. Özlem Ça a ar, Dr. afak Özer, Dr. Kür at Karadaban, Dr. Necmettin Yıldırım, Dr. Müge Özgüler, Dr. Meral im ek, Dr. Ay e Tartar, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Klini inin de erli hem ireleri ve personeline ve özellikle tez çalı mamda yardımlarını gördü üm personel arkada larım Mustafa eker ve Ahmet Altunbulat'a te ekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca e itimimde desteklerini esirgemeyen sevgili aileme, yardım ve özverilerini esirgemeyen de erli e im Dr. Sefa enol'a te ekkürü bir borç bilirim.

## ÖZET

*Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* özellikle yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) hastane kaynaklı enfeksiyonların sık nedenidir. *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* suşlarının çok ilaca dirençli (Ç D) kökenlerinin ortaya çıkışı alternatif ajanları araştırmayı gerektirmiştir. Bu çalışmada, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi YBÜ'nden izole edilen Ç D 118 *P. aeruginosa* ve 36 *A. baumannii* suşlarına karşı meropenem, imipenem, sefoperazon-sulbaktam ve bu mikroorganizmalara karşı rutinde kullanılmayan antibiyotikler olan kolistin, doksisisiklin ve rifampisin tek başlarına ve bu ajanların kolistin ile tekli kombinasyonlarının *in vitro* aktivitelerinin broth mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirilmesi amaçlandı. *P. aeruginosa*'nın 10, *A. baumannii*'nin 7 suşu ise sinerji çalışması için kullanıldı.

Bu çalışmada kolistin, gerek *P. aeruginosa* gerekse *A. baumannii*'ye karşı sırasıyla %83.8 ve %86.1 duyarlılık oranlarıyla en yüksek duyarlılığa sahip antibiyotik olarak bulundu. *P. aeruginosa*'ya karşı meropenem daha etkili iken (%46.6'ya karşı %59.3) *A. baumannii*'ye karşı imipenem meropenemden daha etkili bulundu (sırasıyla %69.5, %55.5). Rifampisin ve doksisisiklin grubu antibiyotiklerden ise her iki mikroorganizmaya karşı doksisisiklin daha etkili bulundu (*P. aeruginosa* için %11'e karşı %51.7 ve *A. baumannii* için %66.7'ye karşı %75). *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* için en etkili kombinasyon kolistin (KOL)+rifampisin (R F) olarak saptandı. KOL+R F kombinasyonu test edilen 10 *P. aeruginosa* suşunun 4'üne sinerjistik (%40), *A. baumannii*'de ise 7 suşunun 6'sına karşı sinerjistik (%85.8) etki gösterdi.

Bulgularımıza göre kolistin, rifampisin, doksisisiklin gibi rutinde kullanılmayan antibiyotikler; *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'nin Ç D suşlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde günümüzde alternatif tedavi seçeneği olabilir. Ayrıca, kolistin ile kombinasyonların (özellikle rifampisin ile kombinasyonların) YBÜ'lerinde tedavisi büyük sorun yaratan Ç D *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisi için önemli seçenekler olabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, Ç D, kolistin, sinerji

## ABSTRACT

### ***In vitro* activities various antimicrobials against multidrug -resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units**

*Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* are becoming the main reasons of infections in the hospitals especially in the intensive care units (ICU). The occurrence of the roots of *P. aeruginosa* and *A. baumannii* strains which are highly resistant against numerous antibiotics has required us to make re search about the alternative agents.

In this study, it was aim 118 *P. aeruginosa* and 36 *A. baumannii* multi-drug resistant (MDR) bacteria isolated ICU at Firat University Hospital and their *in vitro* activites by using broth microdilution metho ds; meropenem, cefoperazon/sulbactam, imipenem, and non-traditional antimicrobials such as colistin, rifampicin and doxycycline were used alone or in combination with colistin against these bacteria. Ten out of 118 *P. aeruginosa* and seven out of 36 *A. baumanii* were used for synergy study.

In this study; colistin has been found to be the highest sensitive antibiotic against both *P. aeruginosa* and *A. baumannii* with the sensitivity rates of 83.8% and 86.1%, respectively. Meropenem has been found to more effective against *P. aeruginosa* (46.6% vs. 59.3%) while imipenem has been found to be more effective against *A. baumannii* compared to meroperem (69.5% and 55.5%, respectively). Doxycycline has been found to be more effective th an rifampicin (For *P. aeruginosa* 11% vs. 51.7%, and for *A. baumannii* 66.7% vs. 75%).

The most efficient combination for *P. aeruginosa* and *A. baumannii* has been determined as colistin (COL)+rifampicin (R F). The COL+R F combination has been found to have a synergistic effect on 4 (40%) of 10 *P. aeruginosa* and on six (85.8%) of the seven *A. baumannii* strains were tested.

Based on our findings, at this era colistin, rifampicin, doxycycline and so non-traditional antimicrobials might be an alternative treatment option caused infections for MDR *P. aeruginosa* and *A. baumannii*. It was thought that colistin and combinations with colistin (especially its combinations with rifampicin), might also

be an optimistic source as an alternative treatment option for those bacteria that make a big problem in the ICU.

**Key words:** *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, MDR, colistin, synergy

## Ç İNDEK İLER

	SAYFA NO
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	2
<b>1.1.1. Patogenezi</b>	3
<b>1.1.2. Yapıt ı Hastalıklar</b>	4
<b>1.2. <i>Acinetobacter baumannii</i></b>	6
<b>1.2.1. Klinik</b>	8
<b>1.3. Antibiyotiklere Direnç Geli imi ve Çok laca Dirençlilik</b>	9
<b>1.3.1. Do al ( ntrinsik) Direnç</b>	9
<b>1.3.2. Kazanılmı (Kalıtsal) Direnç</b>	9
<b>1.3.2.1. Kromozomal Direnç</b>	10
<b>1.3.2.2. Plazmidlere Ba lı Direnç</b>	10
<b>1.3.2.3. Transpozonlara Ba lı Direnç</b>	10
<b>1.4. Beta-laktam Antibiyotikler</b>	11
<b>1.5. Beta-laktamazlar</b>	12
<b>1.5.1. Grup A Beta-laktamazlar</b>	12
<b>1.5.2. Grup B Beta-laktamazlar</b>	12
<b>1.5.3. Grup C Beta-laktamazlar</b>	12
<b>1.5.4. Grup D Beta-laktamazlar</b>	13
<b>1.6. Geni lemi Spektrumlu Beta-laktamazlar</b>	14
<b>1.6.1. TEM ve SHV Kökenli Olanlar</b>	14
<b>1.6.2. TEM ve SHV Kökenli Olmayanlar</b>	14
<b>1.6.3. nhibitör Dirençli ve Geni Spektrumlu Beta-laktamazlar</b>	15
<b>1.6.4. OXA-tipi Beta-laktamazlar (Oksalisinazlar)</b>	15
<b>1.6.5. Karbapenemazlar</b>	15
<b>1.6.6. Plazmid Aracılı Sefalosporinazlar (Sefamisinazlar)</b>	16
<b>1.6.7. <i>P. aeruginosa</i>'da Bulunan Beta-laktamazlar</b>	16
<b>1.6.8. Metallobeta-laktamazlar</b>	17
<b>1.6.9. <i>A. baumannii</i>'de Bulunan Beta-laktamazlar</b>	17
<b>1.7. Antibiyotik Duyarlılık Testleri</b>	18

1.7.1. Disk Diffüzyon Yöntemi	18
1.7.2. E-Test	19
1.7.3. Dilüsyon Yöntemleri	19
1.7.4. Sinerji Testleri	19
1.7.4.1. Dama Tahtası Dilüsyon Yöntemleri	20
1.7.4.1.1. Mikrodilüsyon Dama Tahtası Yöntemi	20
1.7.4.1.2. Makrodilüsyon Dama Tahtası Yöntemi	21
1.7.4.2. Zamana Ba lı Ölüm Yöntemi	21
1.7.4.3. Diffüzyon Yöntemleri	21
1.7.4.3.1. Tek Disk Diffüzyon Yöntemi	21
1.7.4.3.2. Çift Disk Diffüzyon Yöntemi	22
1.7.4.4. E-Test Yöntemi	22
1.8. Antibiyotikler ve Özellikleri	22
1.8.1. mipenem	23
1.8.2. Meropenem	23
1.8.3. Sefoperazon-sulbaktam	24
1.8.4. Kolistin	24
1.8.5. Rifampisin	25
1.8.6. Doksisisiklin	26
<b>2. GEREÇ-YÖNTEM</b>	28
2.1. Klinik Örneklerin dentifikasyonu	28
2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri	29
2.2.1. Disk Diffüzyon Testi	29
2.2.2. Çok laca Dirençli <i>P .aeruginosa</i> ve <i>A. baumannii</i> Bakterilerinin	30
Antibiyotik Duyarlılıklarının Ara tırılması	
2.2.3. Broth Mikrodilüsyon Testi	30
2.2.4. Sinerji Testi	32
<b>3. BULGULAR</b>	34
3.1. Örnekler	34
3.2. Kolistinin M K Düzeyleri	36
3.3. Meropenemin M K Düzeyleri	37
3.4. mipenemin M K Düzeyleri	38



<b>3.5.</b>	<b>Rifampisinin M K Düzeyleri</b>	<b>39</b>
<b>3.6.</b>	<b>Doksisiklin M K Düzeyleri</b>	<b>40</b>
<b>3.7.</b>	<b>Sefoperazon-sulbaktam M K Düzeyleri</b>	<b>41</b>
<b>3.8.1.</b>	<b>Kolistin+Rifampisin Kombinasyonunda F K Düzeyleri</b>	<b>42</b>
<b>3.8.2.</b>	<b>Kolistin+Meropenem Kombinasyonunda F K Düzeyleri</b>	<b>43</b>
<b>3.8.3.</b>	<b>Kolistin+ mipenem Kombinasyonunda F K Düzeyleri</b>	<b>44</b>
<b>4.</b>	<b>TARTI MA</b>	<b>46</b>
<b>5.</b>	<b>KAYNAKLAR</b>	<b>59</b>
<b>6.</b>	<b>ÖZGEÇM</b>	<b>72</b>

## TABLO L STES

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1.</b> <i>Pseudomonas</i> 'ların önemli biyokimyasal özellikleri	6
<b>Tablo 2.</b> <i>Acinetobacter</i> türlerinin genel mikrobiyolojik özellikleri	7
<b>Tablo 3.</b> Kazanımlı direnç mekanizmaları	11
<b>Tablo 4.</b> Beta-laktamazların karılaştırılması olarak sınıflandırılması.	13
<b>Tablo 5.</b> <i>In vitro</i> sinerji testleri.	20
<b>Tablo 6.</b> Kullanılan antibiyotikler için duyarlılık kriterleri.	32
<b>Tablo 7.</b> Çok ilaca dirençli suşların izole edildikleri klinik örnekler.	34
<b>Tablo 8.</b> Çalınan antibiyotiklere karşı duyarlı suş sayısı ve antibiyotiklerin duyarlılık oranları.	34
<b>Tablo 9.</b> Sinerji testinde <i>P. aeruginosa</i> ve <i>A. baumannii</i> bakterilerinde kolistin ile rifampisin, imipenem ve meropenem arasındaki ilişki.	35
<b>Tablo 10.</b> Çalınan antibiyotiklerin MİK ortanca, MİK <sub>50</sub> , MİK <sub>90</sub> değerleri ve MİK sınırları.	45

## EK L L STES

### Sayfa

<b>ekil 1.</b> Bir <i>P. aeruginosa</i> su unda çok ilaca direncin çift disk sinerji yöntemi ile belirlenmesi	30
<b>ekil 2.</b> Mikrodilüsyon testi: Bulanıklığın izlenmesi ve M K de erlerinin saptanması	32
<b>ekil 3.</b> <i>P. aeruginosa</i> su larında kolistinin M K düzeyleri	36
<b>ekil 4.</b> <i>A. baumannii</i> su larında kolistinin M K düzeyleri	36
<b>ekil 5.</b> <i>P. aeruginosa</i> su larında meropenemin M K düzeyleri	37
<b>ekil 6.</b> <i>A. baumannii</i> su larında meropenemin M K düzeyleri	37
<b>ekil 7.</b> <i>P. aeruginosa</i> su larında imipenemin M K düzeyleri	38
<b>ekil 8.</b> <i>A. baumannii</i> su larında imipenemin M K düzeyleri	38
<b>ekil 9.</b> <i>P. aeruginosa</i> su larında rifampisin M K düzeyleri	39
<b>ekil 10.</b> <i>A. baumannii</i> su larında rifampisin M K düzeyleri	39
<b>ekil 11.</b> <i>P. aeruginosa</i> su larında doksisisiklinin M K düzeyleri	40
<b>ekil 12.</b> <i>A. baumannii</i> su larında doksisisiklinin M K düzeyleri	40
<b>ekil 13.</b> <i>P. aeruginosa</i> su larında sefoperazon-sulbaktamın M K düzeyleri	41
<b>ekil 14.</b> <i>A. baumannii</i> su larında sefoperazon-sulbaktamın M K düzeyleri.	41
<b>ekil 15.</b> <i>P. aeruginosa</i> su larında KOL+R F kombinasyonunun F K düzeyleri.	42
<b>ekil 16.</b> <i>A. baumannii</i> su larında KOL+R F kombinasyonunun F K düzeyleri	42
<b>ekil 17.</b> <i>P. aeruginosa</i> su larında KOL+MEM kombinasyonunun F K düzeyleri	43
<b>ekil 18.</b> <i>A. baumannii</i> su larında KOL+MEM kombinasyonunun F K düzeyleri	43
<b>ekil 19.</b> <i>P. aeruginosa</i> su larında KOL+ PM kombinasyonunun F K düzeyleri	44
<b>ekil 20.</b> <i>A. baumannii</i> su larında KOL+ PM kombinasyonunun F K düzeyleri	44

## KISALTMALAR L STES

<b>AB</b>	: <i>Acinetobacter baumannii</i>
<b>CDC</b>	: Centers for Diseases Control and Prevention
<b>SES</b>	: Sefoperazon-sulbaktam
<b>CLSI</b>	: Committee for Clinical Laboratory Standards
<b>Ç D</b>	: Çok ilaca dirençli
<b>DHP-1</b>	: Dehidropeptidaz -1
<b>DOK</b>	: Doksisiklin
<b>EMB</b>	: Eosin methylene blue agar
<b>ETA</b>	: Endotrakeal aspirat
<b>F K</b>	: Fraksiyonel inhibitör konsantrasyon
<b>GSBL</b>	: Geni lemi spektrumlu beta -laktamaz
<b>HE</b>	: Hastane enfeksiyonu
<b>PM</b>	: mipenem
<b>KP</b>	: Karbapenem
<b>KOL</b>	: Kolistin
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>MBL</b>	: Metallobeta-laktamaz
<b>MB</b>	: Monobaktam
<b>MEM</b>	: Meropenem
<b>M K</b>	: Minimum inhibitör konsantrasyon
<b>MYST C</b>	: Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection
<b>NNIS</b>	: Ulusal Hastane Enfeksiyonları İzleme Servisi
<b>ONPG</b>	: Orto-nitrofenil-beta-D-galaktopiranozid
<b>PBP</b>	: Penisilin bağlayan protein
<b>Pen</b>	: Penisilin
<b>PA</b>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>R F</b>	: Rifampisin
<b>SS</b>	: Sefalosporin
<b>TS</b>	: Triple Sugar Iron (üç şekerli demirli besiyeri)
<b>V P</b>	: Ventilatörle ilişkili pnömoni
<b>YBÜ</b>	: Yoğun bakım ünitesi

## 1. G R

Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç gelişimi ve yayılımı son on yıl içerisinde bütün dünyada önemli bir problem haline gelmiştir (1). Her geçen gün artan bu direnç ve dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar mortalite ve morbiditeyi ciddi derecede arttırmakta ve oldukça fazla ek maliyet olmasına neden olmaktadır. Bakterilerin antibiyotiklere karşı oluşturdıkları dirençte en sık kullandıkları mekanizmalardan biri sentezlenen enzimler ile antibiyotik inaktif edilmesidir. Beta-laktam grubu antibiyotikleri hidrolize eden kromozom veya plazmid kontrolünde sentezlenen beta-laktamaz enzimleri bu tip dirence en iyi örnektir (2, 3).

Mikroorganizmaların etkisi farklı birçok antimikrobik maddeye karşı dirençli hale gelmesi durumuna çok ilaca dirençlilik denir. Çoklu direnç konusunda literatürde birçok tanımlama mevcuttur. Çoklu direnç, antibiyotiklerden en azından ikisi, üçü, dördü veya sekizine dirençlilik durumu olarak tanımlanmıştır. Yakın zamanda yapılan bir tanımda; *pseudomonas*'lara etkili sefalosporinler, karbapenemler, beta-laktam+beta-laktamaz inhibitörleri, fluorokinolonlar ve aminoglikozidlerden en az ikisine duyarlılık azalması olarak kabul edilmiştir. Tüm antibiyotiklere dirençlilik durumu (pan-rezistans) ise seftazidim, sefepim, imipenem, meropenem, piperasilin-tazobaktam, siprofloksasin ve levofloksasine azalmı duyarlılık olarak tanımlanmıştır (4, 5).

*P. aeruginosa* ve *A. baumannii* özellikle YBÜ'lerinde gelişen hastane enfeksiyonlarında (HE) en sık etyolojik ajanlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Pek çok yayında geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın bir şekilde kullanılması bu iki tür için yüksek direnç oranları bildirilmiştir (6, 7). Kolistin, doksisisiklin, rifampisin gibi rutinde kullanılmayan bazı antibiyotikler, bu bakterilerin ÇD suşlarına karşı test edilmiştir ve bu antimikrobiyal ajanların kombinasyonlarının bu suşlara karşı sinerjistik olduğu saptanmıştır. Test edilen bu antibiyotikler arasında özellikle kolistin ile kombinasyonlar ÇD suşlarına karşı etkili bir alternatif olarak görülmektedir (8-11).

Direnç nedeniyle tedavi başarısızlıklarının en aza indirgenmesi, ancak duyarlılık testlerinin standart bir yöntemle uygulanması ve sonuçlarının doğru yorumlanması ile mümkündür. Geniş lemi spektrumlu beta-laktamaz (GSBL)

üretimi normal duyarlılık testleriyle saptanamayabilir. Disk diffüzyon yöntemi daha kolay uygulanabileceğinden daha çok tercih edilebilir. Ancak kalitatif bir yöntemdir. Bu nedenle kantitatif sonuç verdi için dilüsyon temeline dayanan testler tercih edilmektedir (12).

Antimikrobiyal direnç, bölgeden bölgeye hastaneden hastaneye de iklilik göstermektedir. Tüm dünyada olduğu gibi hastanemiz YBÜ’ünde de antimikrobiyal direnç önemli bir sorundur. Özellikle yoğun bakım birimlerinde sık enfeksiyon etkeni olarak göze çarpan ve genellikle çoklu ilaç direnci gösteren *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* enfeksiyonlarına neden olmakta ve bu enfeksiyonlar tedavi zorlu u nedeniyle yüksek mortalite ve morbidite ile seyretmektedir. Ayrıca oldukça fazla ek maliyet olmasına neden olmaktadır. Bu nedenle YBÜ’lerinde bu enfeksiyonların tedavisi önem arz etmektedir. Rutinde kullanılmayan bu antibiyotikler etkin buldukları taktirde bu su ların tedavisinde alternatif tedavi seçene i olarak kullanılabilir.

Bu çalı mada, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı’nda, YBÜ’de yatarak tedavi gören ve Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) kriterlerine göre HE’u tanısı almı hastalardan, enfeksiyon etkeni olarak izole edilen Ç D *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* su larında meropenem, imipenem, sefoperazon–sulbaktamın ve bu mikroorganizmalara karşı rutinde kullanılmayan antibiyotikler olan kolistin, doksisisiklin ve rifampisin tek ba larına ve bu ajanların kolistin ile tekli kombinasyonlarının *in vitro* aktiviteleri buyyon mikrodilüsyon yöntemi ile de erlendirilmesi ve minimum inhibitör konsantrasyonlarının (MİK) saptanması amaçlandı.

### **1.1. PSEUDOMONAS AERUGINOSA**

*P. aeruginosa* ilk kez 1960’lı yıllarda immün sistemi baskılanmı hastalarda, yanıklı hastalarda ve kistik fibrozisli hastalarda enfeksiyona yol açması nedeniyle önemli bir insan patojeni olarak kabul edilmiştir (13). Bazı sa lıklı ki ilerin cildinde, hastaneye yatmamı ki ilerin %5’inin bo az florasında, %3 oranında dı kısında saptanabilmektedir. Hastanede yatan ki ilerde ilk 72 saatte ta ıyıcılık oranı %20’dir . *P. aeruginosa*, nemli ortamlarda rahatça ya ayabilmesi ve serbest ya ayan bakteri

olması nedeniyle önem taşımaktadır Gram-negatif, 1.5- 3 µm boyunda, 0.5-0.8 µm eninde olan bu bakteri, Pseudomonadaceae ailesi içindeki en patojen türdür. *P. mallei* dışındaki tüm su lar hareketlidir. Bu hareket tek polar flagella aracılığıyla sağlanır. Flagella ısıya hassas antijenler (H antijeni) içerir. Bu antijenlere karşı olan antikorlarla serolojik sınıflama yapılmaktadır. Klinik izolatlarda pililer vardır ve bunların antifagositik etkili, büyük olasılıkla yapı madan ve kolonizasyondan sorumlu oldukları düşünülmektedir. *P. aeruginosa*, nonfermentatif aerob bir bakteridir. Enerjisini karbohidratların fermentasyonundan çok oksidasyonu ile sağlar. Yetmi beşten fazla organik bileşiği kullanabilmesine rağmen ürerken karbon kaynağı olarak sadece asetat, nitrojen kaynağı olarak da amonyum sülfat kullanır. Aerob olmakla birlikte, nitrat içeren ortamlarda nitratı son elektron alıcısı olarak kullanabildiği için anaerob koşullarda da üreyebilmektedir. Çoğu *pseudomonaslar* gibi indofenol oksidaz üretir. Bu da oksidaz testinin pozitif olmasını sağlar. En iyi 25-37°C'de iyi üremesine rağmen ancak 42°C'de üreyebilmesi ile diğer *pseudomonas* türlerinden ayrılır.

*P. aeruginosa*'nın gram-negatif bakterilerinkine benzeyen hücre duvarı üç tabakadan oluşan bir yapı içermektedir. Bunlar; stoplazmik membran, peptidoglikan tabaka ve dışı membrandır. Dışı membran fosfolipid, protein ve lipopolisakkaritten (LPS) oluşur. *P. aeruginosa*'nın LPS'i diğer gram-negatif basillerden daha az toksik etkiye sahiptir. O spesifik antijenlerine göre değerlendirildiğinde ise çeşitli serolojik tipleri vardır (14).

### 1.1.1. Patogenezi

*P. aeruginosa* virulansına yardım eden birçok faktör içerir.

#### Adezinler

*P.aeruginosa*'da yüzeylere tutunmada rol alan pek çok adezin mevcuttur. Bakteride bulunabilen tek polar flajel hareket, adezyondan sorumlu olup çevreden ve HE'larından izole edilen izolatlarda çoğunlukla bulunmaktadır(15).

#### Hemolizin

*P. aeruginosa* su larının hemen hemen tümü kanlı agar da hemoliz yapar. Bu su larda farklı hemolizinler tanımlanmıştır. Isıya dayanıklı hemolitik glikopeptid

L-ramnoz ve 1-beta-hidroksidesenoik asitten oluşur. *P. aeruginosa* su larının ısıya duyarlı olan hemolizini de tanımlanmıştır (14).

### **Lökosidin**

*P. aeruginosa*'nın bazı su ları bir termolabil protein olan lökosidin yapar. Bu protein insan lökositlerini de lize edebilir fakat hemolitik değildir (14).

### **Pigmentler**

*P. aeruginosa* su larının çoğu bir ya da birkaç çeşit pigment oluşturur. En sık olarak piyosiyanın ve florescein pigmenti oluşturur. Piyosiyanın bazı bakterilerin üremesini engelleyip *P. aeruginosa*'nın kolonizasyonunu kolaylaştırır (14).

### **Proteazlar**

*P. aeruginosa* su larının yaklaşık %90'ı ekstrasellüler proteaz yapar. Proteazların bakterinin doku invazyonunu kolaylaştırır (14).

### **Toksin A**

*P. aeruginosa*'nın toksisitesi en iyi bilinen ekstrasellüler proteindir ve tüm su ların %90'ı tarafından üretilmektedir. Duyarlı hücrelerde protein sentezini inhibe ederek toksik etkisini gösterir (14).

### **Ekzoenzim S**

Tanımlanmış olan ikinci ADP-ribozil transferaz enzimidir. Ekzoenzim S, ADP-ribozun GTP bağlayan bir protein üzerine transferini katalizler. Patogeneizde rolü olduğu düşünülmektedir (14).

## **1.1.2. Yapılan Hastalıklar**

### **1. Pnömoni**

*P. aeruginosa*, nötrojenik hastalarda, mekanik ventilasyon desteğindeki hastalarda, kistik fibrozisin alevlenmelerinde sıklıkla pnömoniye neden olmaktadır (14).



## 2. Endokardit

intravenöz ilaç kullanıcılarının do al ve protez kapaklarında infektif endokardite neden olur. Triküspit kapak tutulumu daha sıktır (16, 17).

## 3. Bakteremi

Primer bakteremi öncelikle immün sistemi baskılanmı konakta ortaya çıkar. Ektima gangrenozum, patognomonik deri lezyonlarıdır. Ektima gangrenozum, veziküler deri lezyonları ekinde ba lar. Hemoraji, nekroz ve ülserasyon ile küçük yuvarlak nodüller halini alır (16, 17).

## 4. Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonları

*P. aeruginosa* menenjit veya beyin absesine neden olabilir, ancak altta yatan sebep varlı ı mutlaka ara tırılmalıdır. Kanserli hastalarda görülen menenjitin *Listeria monocytogenes*'den sonra ve beyin absesinin *Escherichia coli*'den sonra en sık ikinci nedeni olarak bildirilmektedir (16, 17).

## 5. Üriner Sistem Enfeksiyonları

*P. aeruginosa* ile üriner sistem enfeksiyonları ço unlukla kateterizasyon, sonda veya cerrahi gri ime ba lı olarak hastane kökenlidir. *Pseudomonas* bakteremilerinde %40 gibi yüksek oranda üriner sistem primer oda ı olu turur (17).

## 6. Kulak ve Göz Enfeksiyonları

*P. aeruginosa*, normal kulakta nadiren bulunur. Dı kulak yolunu zedeleyici herhangi bir faktör varlı ında enfeksiyona sebep olabilir. Eksternal otit; kendini sınırlayıcı, selim seyirli olup, yüzmekle ili kilidir (yüzücü kula ı). Malign eksternal otit ise a ırlıklı olarak ya lı diabetik ki ilerde, kısmen de uzun süreli küçük damar hastalı ı olanlarda görülür (17).

7. Bunlardan ba ka daha nadir olmak üzere gastrointe stinal sistem enfeksiyonlarına, kemik, eklem enfeksiyonlarına, deri ve yumu ak doku enfeksiyonlarına neden olur (16, 17).

**Tablo 1.** *Pseudomonas*'ların önemli biyokimyasal özellikleri

	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens/putida</i>	<i>P. mendocina</i>	<i>P. stutzeri</i>	<i>B. pickettii</i>	<i>P. pseudocaligenes</i>	<i>P. alcaligenes</i>
Oksidaz	+	+	+	+	+	+	+
Glukoz	+	+	+	+	+	-/+	-
Piyosiyenin	+/-	-	-	-	-	-	-
Mannitol	+/-	+/-	-	-/+	-	-	-
Laktoz	-	-	-	+/-	-	-	-
42°C	+	-	+	+	+/-	+/-	-/+
Eskülin	-	-	-	-	-	-	-
Üre	+	-/+	+/-	-/+	+	-	-
DNA'az	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	-	-	-	-	-	-	-
ndol	-	-	-	-	-	-	-
Hareket	+	+	+	+	+	+	+
Kirpik	1	>1	1	1	1	1	1
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-	-
Pigment	K,F,Y	F	-	K,S	-	-	-
McConkey'de üreme	+	+	+	+	+	+	+

+/-: Su ların %50-85'i (+); -/+ : Su ların %50-85'i (-); 1: Tek kutupta tek kirpik;

>1: tek kutupta birden fazla kirpik; **K**: Kahverengi; **Y**: Ye il; **S**: Sarı; **F**: Flouresan; **B**: Burkholderia; ONPG: Orto-nitrofenil-beta-D-galaktopiranozid

## 1.2. ACINETOBACTER BAUMANNII

*Acinetobacter* cinsi bakteriler gram-negatif, nonfermentatif, zorunlu aerop, oksidaz-negatif ve hareketsiz bakterilerdir. Üreme fazında çomak morfolojisinde iken, stabil dönemde diplokok morfolojisinde görülürler. Bu yapısal özellikleri ve biyokimyasal özellikleri ile tanımlanmaları ve sınıflanmaları oldukça karma ık süreçlerden geçmiştir ve 1954 yılında *Acinetobacter* cinsi tanımlanmıştır. Bu bakteriler pek çok besiyerinde kolayca üretilebilirler ve klinik örneklerden

üretilebilmeleri için seçici-ayırıcı besiyerleri de geliştirilmiştir. Bu amaçla en çok Herellea agar (Difco) ve Leeds *Acinetobacter* Medium kullanılmaktadır. Tür düzeyinde ayırmada glikoza oksidatif etki, hemoliz ve 44°C’de üreyebilme genelde yeterli olmaktadır (18).

Tablo 2’de *Acinetobacter* türlerinin genel mikrobiyolojik özellikleri gösterilmiştir (19).

**Tablo 2.** *Acinetobacter* türlerinin genel mikrobiyolojik özellikleri.

Hareket	-
Pigmentasyon	Değişken
MacConkey agarda üreme	Değişken
42 °C’de üreme	Değişken
Nitratın nitrite indirgenmesi	-
Eskülin hidrolizi	-
Jelatin hidrolizi	Değişken
Üreaz üretimi	Değişken
Arginin dihidrolaz	-
DNA’az	-
ONPG	-
Asitolu turma	
Glikoz	Değişken
Maltoz	Değişken
Sukroz	-
Mannitol	-
Ksiloz	Değişken

Virulans potansiyeli düşük bir bakteridir. Bilinen en önemli virulans faktörleri arasında kapsül sayılabilir. Glikokaliks salgılarıyla yabancı cisimlere yapışabilme virulansda önemli olabilir. Lipidleri eritici enzimleri, endotoksinleri de virulansda rol oynamaktadır. Antibiyotik direnci sağlayan PER -1 geninin virulansı arttırdığı, klinik olarak daha ölümcül enfeksiyonlar oluşturduğu da gösterilmiştir.

*Acinetobacter* cinsi bakterilerin klinik önemleri son 30 yıl içinde belirgin olarak artmıştır. Bütün dünyada izolasyon sıklığı giderek artmakta olan HE’u etkeni *A. baumannii*’nin tedavi ve kontrolünde ciddi zorluklar yaşanmaktadır. Bu artışın başlıca, daha kolay tanımlanabilmeleri, yoğun bakım ve invaziv girişim oranlarının

belirgin olarak artması ile bu bakterilerin çevre ortamlarına uyumu ile antibiyotiklere geliştirdikleri direnç rol oynamaktadır. Bu bakteriler toprakta, sularda, atık sularda bulunur. Sağlıklı insanlarda normal deri florasında genelde düşük yoğunlukta, kısa süreli olarak bulunabildikleri belirlenmiştir. Hastanelerde çevrede yaygın olarak buldukları gösterilmiştir. Cansız yüzeylerde çok uzun süreler canlı kalabilirler (18).

### **1.2.1. Klinik**

Tüm *Acinetobacter* türleri arasında en sık ve en ciddi klinik tablolara yol açan etken *A. baumannii*'dir.

### **1. Pnömoni**

Klinikte *Acinetobacter* cinsi bakterilerin en sık olduğu tür oldukları klinik tablodur. Klinik özellikleri ile diğer etkenlerden ayırımı mümkün değildir. Mekanik ventilasyon, gastrik tüp, ileri ya da geri kronik akciğer hastalığı, immün supresyon, cerrahi girişim ve antibiyotik kullanımı olması en önemli risk faktörleridir. Tıpkı *P. aeruginosa* ile gelişen ventilatörle ilişkili pnömoni (VAP) olgularındaki gibi mortalite belirgin olarak daha yüksektir. Bir çalışmada YBÜ'de mekanik ventilasyondaki hastaların %45'i *Acinetobacter* ile kolonize olarak belirlenmiştir. Bronkoskopik teknikler sonrası olguların %24'ünde *Acinetobacter*'lerin etken olduğu saptanmıştır (18).

### **2. Bakteriemi/Sepsis**

Çok kez pnömoni ya da kateter kaynaklı olarak ortaya çıkar. Yanık, travma hastaları ve kanser hastalarında daha sık etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Tek başına ya da polimikrobiyal bakteremilere neden olabilir. Mortalite %17-46 arasında bildirilmekte, polimikrobiyal olgularda mortalitenin arttığı vurgulanmaktadır (18).

### **3. Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonları**

*Acinetobacter* cinsi bakteriler travma, beyin cerrahisi girişimi sonrası menenjitlere yol açmaktadırlar. Beyin omurilik sıvısı bulguları pürülan menenjit

özelliindedir. Hastaların yaklaşık yarısında polimikrobiyal enfeksiyon bulunur ve mortalite %20-25 dolayında belirlenmektedir (18).

#### **4. Üriner Sistem Enfeksiyonları**

Genellikle ya lı, YBÜ'sinde kalan, uzun süreli sonda takılı olan erkek hastalarda görülmektedir (20).

*Acinetobacter* cinsi bakteriler yanık dı ı yaralardan izole edildiklerinde öncelikle kolonizasyon yönünden de erlendirilmelidir. Özellikle immün sistemi bozuk hastalarda ve cerrahi sonrası enfeksiyonlarda etken olarak belirlenmesi olasıdır (18).

### **1.3. ANT B YOT KLERE D RENÇ GEL M VE ÇOK LACA D RENÇ L K**

Direnç sorununun daha yo un olarak ya andı ı yerler antibiyotik kullanımının daha yo un olması nedeni ile hastanelerdir. Artık günümüzde sadece hastane kökenleri de il toplumdan kazanılmı kökenlerde de direnç önemli oranlarda artmakta, bu olay sorunu daha da büyütüp ciddi boyutlara ta ımaktadır. Mikroorganizmaların antimikrobiklere kar ı gösterdi i direnç do al (intrinsik) ve kazanılmı (genotipik, kalıtsal) direnç diye iki ana bölümde ele alınabilir .

#### **1.3.1. Do al ( ntrinsik) Direnç**

Kalıtsal özellikte olmayan direnç tipidir. Bir mikroorganizmanın yapısı nedeniyle dirençli olu u anlamına gelir. Burada genellikle antimikrobik maddenin ba lanarak etkili oldu u hedef molekülün olmaması do al dirençten sorumludur. Bir antimikrobik maddeye do al dirençli olan türün hiç bir kökeni o antibiyotikten etkilenmez (21) .

#### **1.3.2. Kazanılmı (Kalıtsal) Direnç**

Sonradan kazanılan bir direnç tipidir. Burada bakteri popülasyonu antimikrobik madde ile ilk temasa geldi inde ilaç mikroorganizma üzerine etkilidir, ancak temas süresinde veya tekrarlanan tedaviler sırasında mikroorganizma popülasyonunda antimikrobik maddeye kar ı direnç geli ir. Antimikrobiklere kar ı

geli en direnç esas olarak bu yolla olmakta ve genetik de i im sonunda seleksiyonla dirençli kökenler ortaya çıkıp yayılmaktadır. Genetik direnç kromozom, plazmid veya transpozon kontrolü altındadır (21).

### **1.3.3. Kromozomal direnç**

Bu tip direnç, kromozomda kendili inden (spontan) bir mutasyon sonucu olu maktadır. Her hücre bölünmesinde mutasyon sıklı ı  $10^{-5}$  ile  $10^{-10}$  civarındadır; bazı antibiyotikler için bu oran daha yüksektir. Kro mozomal mutasyonla kazanılan direnç bir a amada veya çok a amada gerçekleşir. Bir a amalı mutasyonda; Antimikrobikle bir veya bir kaç temas sonrası birden ileri derecede direnç geli ir. Çok a amalı mutasyon ise direnç derecesi giderek artan yava bir ekilde geli ir. Kromozomal mutasyonla geli en direnç ba ka türden bakterilere yayılmadı ndan ve mutasyona u rayan bakterinin metabolizması da de i ebilip üremesi kısıtlanabilece inden olayı plazmidle olu an dirence göre daha seyrek görülür ( 21).

### **1.3.4. Plazmidlere ba lı direnç**

Plazmidler kromozomdan ba ımsız olarak ço alan, kromozom dı ı genetik elementlerdir. Klinikte görülen direncin ana sorumlusu plazmide ba lı dirençtir. R-plazmidi denen direnç plazmidleri bir veya daha çok sayıda antibiyoti e kar ı direnç genlerini ta ımaktadır. Direnç plazmidleri di er duyarlı bakterilere transdüksiyon, transformasyon ve konjugasyon yolu ile direnç gen paketini aktarır ve böylece direncin yayılmasına neden olur . Plazmidlere ba lı direnç bula ıcıdır ve genellikle antibiyoti i inaktive eden veya bakterinin geçirgenli ini de i tiren enzimlerle olu maktadır (21) .

### **1.3.5. Transpozonlara Ba lı Direnç :**

Transpozonlar; bir DNA molekülünden di erine (kromozomdan plazmide, plazmidden kromozoma) geçebilen DNA dizil eridir (sıçrayıcı gen). Plazmidden farklı olarak ba ımsız olarak replike olamazlar.

ntegron; bazı transpozon veya plazmidlerde bulunan genetik yapılar olup yeni genlerin kazanılmasından sorumludurlar. Özellikle çok kısa süre içerisinde Ç D kökenlerin ortaya çıkıp yayılı nda integronların rolü vardır (21).

**Tablo 3.** Kazanımlı direnç mekanizmaları

---

1.	İlacın hedefinde de i iklik olması
a.	Penisilin ba layan proteinlerin de i imi (beta -laktamlara kar ı direnç)
b.	Ribozomal hedefin de i imi (aminoglikozid, makrolid lere kar ı direnç)
c.	De i mi enzimatik hedef (sulfonamid, trimetoprim, rifampin, kinolon)
2.	Sentezlenen enzimle ilacın inaktive veya modifiye edilmesi:
a.	Beta-laktamaz
b.	Aminoglikozid modifiye eden enzimler (asetilaz, adenilaz, fosforilaz)
c.	Kloramfenikol asetil transferaz
3.	Hücreye giren veya biriken ilaç miktarının azalması
a.	Geçirgenli in (permeabilite) azalması.
b.	Antibiyoti in alım ve transport sisteminin zayıflı ı veya yoklu u
c.	Aktif pompalama ile ilacın dı arı atılması
4.	Antimikrobik maddenin etkisinin sonuçlarını önlemek
	İlaç hedefi veya yarı ıcı substratların a ırı olu umu (sulfonamid, trimetoprim)
5.	Tolerans (Bakterisid etki gösterebilen dozun inhibe edici dozdan normale göre çok yüksek olması)

---

#### **1.4. BETA-LAKTAM ANT B YOT KLER**

Beta-laktam antibiyotikler günümüzde; gerek hastane içinde, gerekse hastane dı nda en sık kullanılan antibiyotik türevlerinin ba nda gelmektedir. Beta -laktam halkası biri azot, üçü karbon olan dört üyeli doymu heterosiklik bir halkadır. Beta -laktam antibiyotikler ba lıca 5 grupta toplanırlar:

1. Penisilinler
2. Sefalosporinler
3. Monobaktamlar,
4. Karbapenemler
5. Beta-laktamaz inhibitörleri (klavulanat, sulbaktam, tazobaktam).

Beta-laktam antibiyotikler, peptidoglikan sentezinde görevli olan transpeptidaz ve karboksipeptidazları inhibe edip, hücre duvar sentezini durdurarak etkilerini gösterirler. Tüm beta-laktam antibiyotikler bakterilerin sitoplazmik membranları üzerinde bulunan ve bakteri hücre duvarında peptidoglikan sentezinden sorumlu olan penisilin ba layan protein (PBP) adı verilen hedef p roteinelere ba lanarak etkilerini göstermektedirler. Beta -laktam antibiyotik tarafından PBP'leri

inhibe edilen bakteride peptidoglikan sentezlenemeyece inden hücre duvar yapısı bozulmaktadır. Bu durum bakterinin ozmotik direnç kaybına ve ölümüne neden olmaktadır (22).

### **1.5. BETA-LAKTAMAZLAR**

Beta-laktamazlar plazmid veya kromozomal kökenli bakteriyel enzimler olup, beta-laktam antibiyotikte bulunan beta-laktam halkası üzerine etki göstererek kovalan açil ester olu turan ve esterin hidrolizi sonuc u antibiyoti i inaktif hale getiren enzimlerdir. Bakteride beta-laktamaz sentezi yapısal (konstitif) veya indüklenebilir düzeyde olabilir. Gram-negatif bakterilerde periplazmik alanda bulunan enzim, gram-pozitif bakterilerde hücre dı ına salgılanmaktadır. Ambler tarafından 1980 yılında beta-laktamazların moleküler sınıflandırması yapılmı tır. Beta-laktamazların en yeni sınıflandırma eması 1995 yılında yapılan Bush -Medeiros Jacoby sınıflandırmasıdır (23). Bu sınıflandırma 1989 yılında Karen Bush'un yaptı ı sınıflandırmanın bir uyarlamasıdır ve aynı ekilde enzimler dört ana grupta toplanmı tır.

**1.5.1. Sınıf A beta-laktamazlar:** 29.000 molekül a ırlı ındadır. Aktif bölgelerinde serin aminoasiti ta ırlar. Esas olarak penisilinleri hidroliz ederler. Gram -negatif bakterilerde çok sık rastlanan TEM-1 tipi enzimler bu grubun en iyi örnekleridir (24, 25).

**1.5.2. Sınıf B beta-laktamazlar (Grup 3):** Aktivasyon için çinko veya bakır gibi divalant katyonlara gereksinim duyan metallo -enzimlerdir. Klasik inhibitörlere dirençli olan bu enzimler, EDTA ve merkaptobile ikleri gibi metal elatörleri ile inhibe olurlar. zole edilen su ların hemen hemen tüm beta -laktam antibiyotiklere kar ı dirençli oldu u bildirilmi tir (25).

**1.5.3. Sınıf C beta-laktamazlar:** 39.000 kDa molekül a ırlı ında olup esas olarak sefalosporinleri parçalar (sefalosporinazlar). Aktif bölgelerinde serin bulunur (24, 25).



**1.5.4. Sınıf D beta-laktamazlar:** Oksasilinleri parçalayan enzimlerdir (okzasilinaz). Jacoby sınıflandırması ile 1995 yılında Bush'un yaptığı listeye eklenmiştir (24, 25).

Beta-laktamaz enzimlerinin sınıflandırması Tablo 4'de verilmektedir.

**Tablo 4.** Beta-laktamazların karışık olarak sınıflandırılması

Bush Jacoby, Medeiros	Ambler'in moleküler sınıflaması	Substrat	Amplifikasyon	Inhibisyon	Sykes ve Richmond	Örnek enzimler
1	C	SS	-	-	Ia, Ib, Id	Gr (-) bakterilerin Amp C enzimleri
2a	A	Pen	+	-		Gr (+) bakterilerin penisilinazları
2b	A	Pen, SS	+	-	III	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Pen, SS, MB	+	-	IV	TEM-3 ile TEM-26 SHV-2 ile SHV-6
2br	A	Pen	+	-	II, V	TEM-30 ile TEM-36
2c	A	Pen, Karb	+	-		PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	D	Pen, Klok	+	-	V	OXA-1 ile OXA-11, PSE-2
2e	A	SS	+	-	Ic	<i>P. vulgaris</i> 'in indüklenebilir sefalosporinazları
2f	A	Pen, SS, KP	+	-		NMC-A, Sme-1
3	B	KP ve Tüm -lak	-	+		Kromozomal MBL, IMP, VIM, SPM-1, GIM-1
4	?	Pen	-	?		<i>P. cepacia</i> 'nın penisilinazı

**Kısaltmalar:** SS: Sefalosporin, Pen: Penisilin, MB: Monobaktam, KP: Karbapenem, Klok: Kloksasilin, Karb: Karbenisilin, MBL: Metallobeta-laktamaz

## 1.6. GEN LEM SPEKTRUMLU BETA -LAKTAMAZLAR

İlk olarak 1983 yılında Almanya'da bir *Klebsiella pneumoniae* suşunda seftazidim ve sefotaksiimi belirgin dereelerde hidrolize eden ilk GSBL enzimi tanımlandı. İndirgen bu enzimin klasik SHV-1 beta-laktamazın bir mutant formu olduğu anlaşıldı. Bundan dolayı, yeni bulunan bu enzime SHV-2 beta-laktamaz adı verildi. Bunu Fransa'dan diğer bir mutant enzim bildirisini takip etti. Bu yeni bulunan enzim ise TEM-2 beta-laktamazdan genetik olarak sadece iki aminoasit farklıydı (4, 26).

TEM ve SHV tip beta-laktamazların mutant formu olan GSBL'ler, orijinal enzimlerin aksine geniş spektrumlu sefalosporinleri, aztreonamı ve diğer tüm penisilinleri hidrolize ederler. Ancak sefamisinler bu kuralın dışında kalır. Bulunuşundan günümüze kadar GSBL'lerin sayısında ve çeşidinde hızlı bir artış dikkati çekmiştir. Bu enzimler enterik çomaklarla sınırlı kalmayarak *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* gibi nonfermentatif etkenlere de yayılmışlardır. Tek bir bakteride birden çok GSBL bulunabilmektedir. Farklı GSBL'lerin yol açtıkları *in vitro* direnç farklıdır. Bazı yazarlar tarafından GSBL enzimleri 6 başlık altında incelenmiştir (27).

1. TEM ve SHV kökenli olanlar
2. TEM ve SHV kökenli olmayanlar
3. İnhibitör dirençli beta-laktamazlar
4. İnhibitör dirençli ve geniş spektrumlu beta-laktamazlar
5. Karbapenemazlar
6. Plazmid aracılı sefalosporinazlar (sefamisinazlar)

**1.6.1. TEM ve SHV Kökenli Olanlar:** GSBL enzimleri esas olarak TEM ve SHV türü enzimlerden 1 ila 4 aminoasit değişikliği ile oluşurlar. Bugün için aminoasit dizilimi tanımlanmış TEM kökenli 66, SHV kökenli 12 çeşit GSBL enzimi mevcuttur. TEM ve SHV tip GSBL enzimleri, klavulanat, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olabilmektedir (24).

**1.6.2. TEM ve SHV Kökenli Olmayanlar:** Bu enzimler plazmid kaynaklı olmalarının yanında klavulanata da dirençlidirler. Moleküler sınıflamada A grubuna dâhil edilen bu enzimler MEN-1, MEN-2, CTX-M1, CTX-M2, PER-1, PER-2,

VEB-1 ve toho-1'dir. PER-1 dı ındakiler için yeteri kadar çalı ma olmadı ından hakkındaki bilgi sınırlıdır (27).

**1.6.3. nhibitör Dirençli ve Geni Spektrumlu Beta-laktamazlar:** Beta-laktamaz sentezleyen bakterilere kar ı geli tirilen stratejilerden en yaygın olanı, son on yıldır beta-laktamaz inhibitörlerinin kullanımı olmu tur . Buna kar ın, 1987 yılından itibaren klavulanik asit/beta-laktam kombinasyonlarına dirençli *E. coli*'ler bildirilmeye ba lanmı ve sıklıkları özellikle üriner sistem enfeksiyonlarına yol açan izolatlarda artı göstermi tir. Beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara direnç, TEM enzimlerinin a ırı sentezi, permeabilitede azalma veya OXA tipi enzim sentezleme gibi mekanizmalar ile olu abilmekte dir (2, 28).

#### **1.6.4. OXA Tipi Beta-laktamazlar (Oksalisinazlar )**

D grubu enzimlerden olan ve plazmidlerle aktarılan OXA tipi beta-laktamazlar, gram-negatif bakterilerde pek sık olmasa da görülmektedir. OXA-1'den OXA-21'e kadar tiplere ayrılmı tur. Bu enzimi üreten bakteriler genellikle geni spektrumlu sefalosporinlere, monobaktamlara ve karbapenemlere kar ı duyarlıdırlar. Seftazidim ve sefamisinlere ise duyarlı kabul edilirler . Bu enzimlerin önemi, klavulanik asit ve sulbaktama dirençli olmaları ve HE'larından izole edilen su larda saptanmalarıdır (4, 29).

#### **1.6.5. Karbapenemazlar**

mipenem ve meropenem, gram-negatif bakterilerdeki GSBL'lere dayanıklı olmaları nedeniyle tedavide önemli bir yer tutmaktadır. Bu g rup antibiyotiklere kar ı beta-laktamazlara ba lı direnç *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas* spp., *Flavobacterium* spp., *Bacterioides fragilis* gibi bazı bakterilerde saptanmı olmasına kar ın kromozom kontrolünde olmaları nedeni ile son yıllara de in ol u turdukları direnç sınırlı kalmı tur. Ancak son yıllarda plazmid kontrolünde olan karbapenemazların ortaya çıkması artık bu durumu de i tirmeye ba lamı tur. Özellikle *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp., daha nadir olarak *Klebsiella* spp. ve *Serratia marcescens*'de bildirilmı olan bu enzimler son yıllarda çe itli ülkelerden artan sıklıkta bildirilmektedir. Bunlardan aktif bölgelerinde çinko içerdikleri için

metallo-beta-laktamaz (MBL) olarak da isimlendirilen IMP ve VIM enzimlerinin sayısı her geçen gün artmaktadır (30, 31).

#### **1.6.6. Plazmid Aracılı Sefalosporinazlar ( Sefamisinazlar)**

Tüm sefalosporinler, monobaktamlar ve sefamisinler bu enzimler tarafından etkin bir şekilde hidrolize edilmektedir. Enterobacteriaceae ailesinin de i ik üyeleri ve *P. aeruginosa* gibi nonfermentatif etkenler tarafından üretilen bu enzimlerin imdiye kadar tanımlanmış olanları şunlardır: Amp<sup>-C</sup>, MIR-1, MOX-1 (beta-laktamaz duyarlı), FEC-1, FOX-1, CMY-1,2, LAT-1, BIL-1. Bu enzimler, rutin uygulamalar esnasında GSBL'lerden sefamisin direnci ve inhibitör duyarlılığı veya inhibitör sinerjizminin görülmemesi ile ayırt edilebilir (29, 32).

#### **1.6.7. *P.aeruginosa*'da Bulunan Beta-laktamazlar**

*P. aeruginosa* birçok antibiyotiğe dirençlidir. Bu ço ğ ul dirençten sorumlu en önemli mekanizma antibiyotiğe karşı bakteriyel dış membranda geçirgenlik azalması ve aktif pompa sistemi ile antibiyotiğin dışarı atılmasıdır (25). MexAB-OprM aktif pompa sisteminin aktivasyonu; fluorokinolonlar, penisilinler, sefalosporinler ve meropenem direnç gelişimine neden olabilir. MexCD-OprJ ve MexEF-OprN pompa sisteminin aktivasyonu fluorokinolonlara ve bazı beta laktamlara, MexXY -OprM aktivasyonu ise aminoglikozidlere karşı direnç gelişimine neden olabilir. Fluorokinolon 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 kaybı imipenem direncine ve meropenem duyarlılık azalmasına yol açar. *P. aeruginosa*'da karbapenem direnci primer olarak OprD2 porin kaybı sonucu olur.

*P. aeruginosa*'da birçok kazanılmış beta-laktamaz ve aminoglikozid modifiye edici enzim tanımlanmıştır. En sık saptanan beta -laktamazlar PSE-1 ve PSE-4'tür. *P. aeruginosa*'da indüklenebilir kromozomal AmpC tipi beta -laktamaz mevcuttur. Bu beta-laktamazlar penisilin ve sefalosporinlere dirençte önemli rol oynarlar. *P. aeruginosa*'da saptanmış olan IMP ve VIM gibi MBL'lar; penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemleri hidrolize ederler, fakat aztreonama etkisizdirler .

*P. aeruginosa*'da bulunabilen di er GSBL'ler; TEM, SHV, OXA, PER, VEB, GES ve IBC enzimleridir. Bu enzimler substrat profilleri açısından benzerlik ta ısa da aminoasit dizilimleri açısından oldukça farklıdır (33, 34). A sınıfı beta-laktamaz olan PER-1 enzimi ba lıca Türkiye, talya, Fransa ve Belçika'daki su larda saptanmış olup plazmid ya da kromozoma ba lı geçi göstermektedir. Bu su lar, seftazidime yüksek düzeyde direnç gösterir. Klavulanik asit ile güçlü ekilde direncin inhibisyonu sa lanır. mipenem ve meropeneme duyarlıdır. OXA enzimleri, Türkiye'de (OXA-11, OXA-14, OXA-16) ve Fransa'da (OXA-19, OXA-28) saptanmış olup plazmiddeki integrinlerle ya da kromozoma ba lı geçi gösterir. Bu su larda karbenisilin, tikarsilin, piperasilin, azlosilin, seftazidim, sefepim, aztreonam direnci olup, imipenem ve meropenem duyarlılı ı vardır (14).

#### **1.6.8. Metallobeta-laktamazlar**

Karbapenemlere kar ı geli en dirençte en önemli mekanizma MBL'ların varlı ıdır. MBL'lar, 1980 yılında Ambler tarafından yapılan sınıflandırmada serin beta-laktamazlar içinde yer almakta iken, 1989 yılında Bush tarafından yapılan sınıflandırmada fonksiyonel özellikleri göz önüne alınarak grup 3'e yerleştirilmiştir. Bu sınıflandırmadaki kriterler; MBL enzimlerinin substrat profilleri (özellikle imipenem hidrolizi), EDTA' ya duyarlı olmaları ve serin beta-laktamaz inhibitörleri tarafından inhibe olmamalarıdır. MBL'ların aktif bölgelerinde çinko iyonları bulunmaktadır. Çinko iyonları iki su molekülü ile reaksiyona girerek hidrolizin gerçekleşmesini sa lar (35).

Transfer edilebilen MBL'lar IMP benzeri, VIM benzeri, SPM -1 ve GIM-1 olmak üzere dört grupta toplanmaktadır. Penisilinleri, sefalosporinleri ve karbapenemleri hızla hidroliz ederler. Aztreonama etkileri yoktur. Plazmiddeki integrinlerle ya da kromozoma ba lı geçi gösterir (14).

#### **1.6.9. *Acinetobacter Baumannii* 'de Bulunan Beta-laktamazlar**

*A. baumannii* izolatlarında beta-laktam antibiyotiklere kar ı olunan direnç; beta-laktamaz enzimleriyle antibiyoti in parçalanması, beta -laktam antibiyoti in hücre içine giri inin engellenmesi ve PBP'lerde olunan di iklikler sonucunda üç farklı mekanizma ile gelişebilmektedir. Genellikle bu mekanizmaların bir arada

İnflamasyonun sonucu direnç gelişimi gözlenmektedir. *Acinetobacter* türlerinde bulunan kromozomal enzimlerin büyük çoğunluğu Ambler sınıf C içerisinde yer almakta ve sefalosporinaz aktivitesi göstermektedir. Bu beta-laktamazlar penisilin ve sefalosporinlere direnç gelişiminden sorumludur. Yapılan çalışmalarda *A. baumannii* izolatlarının %98'inde sefalosporinaz aktivitesi saptanmıştır (2, 36). Beta-laktamaz genlerine *Acinetobacter* cinsi bakterilerde sıklıkla rastlanır (OXA-23-27, OXA-40, AMP-C, CARB-5, PER-1 beta-laktamazlar ve karbapenemazlar; IMP-1, IMP-2, IMP-4, IMP-5; VIM-1, VIM-2 enzimleri). Diğer bilinen *Acinetobacter* beta-laktamaz enzimleri ACE, TEM-1, 2, CARB-5, ARI-1, 2 olarak belirlenmiştir. Karbapenemlere direnç gelişiminde ARI-1, 2 karbapenemazlar rol oynayabilse de genelde karbapenem direnci birçok mekanizmanın bir arada etkisiyle gerçekleşir (18).

## **1.7. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ**

Antimikrobik ilaçlara karşı duyarlılık birçok yöntemle saptanabilmektedir. Ülkemizde bakterilerin antibiyotik duyarlılık testlerinde en sık kullanılan standart CLSI'dir (37). Bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıklarını belirlemede standardize edilmiş testler üç grupta toplanmaktadır:

1. Diffüzyon yöntemleri
  - a. Disk diffüzyon testi
  - b. Agarda diffüzyon testi
2. Dilüsyon yöntemleri
3. E-Test

### **1.7.1. Disk diffüzyon yöntemi**

Mueller-Hinton agar besiyeri, petrilere derinliği 4 mm olacak şekilde ekilde dökülür. Antibiyotik diskleri laboratuarda hazırlanabilir ya da ticari olarak hazır diskler alınabilmektedir. Diskler, birbirlerine ve merkeze olan uzaklıkları en az 24 mm olacak şekilde agar yüzeyine yerleştirilir. Bakteri yoğunluğunun ayarlanması için 0,5 Mc farland bulanıklık standardı kullanılmaktadır. Bakterinin besiyerindeki 24 saatlik kültüründen alınacak buyyon veya serum fizyolojik içerisinde hazırlanır. Kontrol suşları çalışılacak bakteriye göre disk diffüzyon testleri için önerilen kontrol suşlarıdır. CLSI'nın kontrol suşları için verdiği zon çaplarına uygun zon çapları elde

edilirse antibiyotik duyarlılık testlerinin standartlara uygun oldu u kesinle mi olmaktadır. Zon çaplarının de erlendirilmesinde inhibisyon çapları ölçülmekte (disk çevresinde bakterilerin üremedi i dairesel bir inhibisyon alanı), CLSI'nın önerdi i sınırlara göre duyarlı, orta ve dirençli olac ak ekilde duyarlılık kategorileri belirlenmi tir (37).

### **1.7.2. E-Test**

Diffüzyon temeline dayanan ancak diskler yerine belirli ve sürekli bir konsantrasyon de i imi olac ak ekilde antibiyotik içeren plastik striplerin kullanıldı ı bir yöntemdir. inkübasyon süresi sonunda, elips ekindeki inhibisyon alanının stripi kesti i konsantrasyon M K olarak belirlenir. Bu yöntem özellikle *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria Gonorrhoea* gibi güç üreyen bakteri türlerinin M K de erlerinin saptanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (38).

### **1.7.3. Dilüsyon yöntemleri:**

- a. Mikrodilüsyon
- b. Makrodilüsyon
- c. Agar dilüsyon

Dilüsyon yöntemlerinde standart sayıda bakteri toplulu u (inokulum), iki katlı dilüsyonlar ekinde de i en yo unluklarda antimik robik ajan ile kar ıla tırılır. inkübasyon süresi sonunda gözle görünür üremeyi engelleyen en dü ük antimikrobik ilaç yo unlu u saptanır. Buna M K denir ve mg/L ekinde ifade edilir. M K de erinin duyarlılı ı mı yoksa direnci mi temsil etti ini belirlemek için, bulunan konsantrasyon duyarlılık sınırı adı verilen bir de er ile kar ıla tırılır. M K , bu sınırdan dü ük ise mikroorganizma söz konusu ajana "duyarlı" olarak de erlendirilir. Bunun dı ında " az hassas " ve " dirençli " kategorileri de saptanır ( 39).

### **1.7.4. Sinerji Testleri**

Günümüzde daha yaygın kullanılmaya ba lanan antibiyotik kombinasyonlarında *in vitro* etkinli in de erlendirilmesi giderek önem kazanmaktadır. Antibiyotik kombinasyonlarının birbiri ile olan etkile imlerini

gösteren *in vitro* testlerin tümüne sinerji testleri denir. Antibiyotiklerin birlikte kullanımında aynı ilaçların tek başlarına kullanımından anlamlı oranda yüksek etkinlik saptanması sinerjistik etkileim olarak adlandırılır. Additivite, kombinasyonun etkinliğinin iki ilaç tek başına kullanıldığında elde edilen etkinliklerinin toplamı olarak tanımlanmıştır. İndiferans (İgisiz) da ise, kullanılan antibiyotikler arasında etkileim yoktur ve kombinasyonun etkinliği aslında en aktif olan ilacın etkinliği kadardır. Kombinasyonun etkisi antibiyotiklerin tek başlarına görülen etkilerinden anlamlı oranda az ise antagonizmden bahsedilir (40, 41).

Tablo 5’de *in vitro* sinerji araştırmada kullanılan testler gösterilmiştir.

**Tablo 5.** *In vitro* sinerji testleri

- 
1. Dama tahtası ( Checkerboard ) dilüsyon yöntemleri
    - a. Mikrodilüsyon
    - b. Makrodilüsyon
    - c. Agar dilüsyon
  2. Zamana bağlı ölüm yöntemi
  3. Disk diffüzyon yöntemi
    - a. Tek disk diffüzyon yöntemi
    - b. Çift disk diffüzyon yöntemi
  4. E-test yöntemi
- 

#### **1.7.4.1. Dama tahtası (Checkerboard) Dilüsyon Yöntemleri**

Rutin laboratuvarlarda antibiyotik kombinasyonlarının *in vitro* etkileimlerini ölçmek için en sık kullanılan yöntemlerdir. Diğer sinerji testleri ile karşılaştırıldığında hem daha kolay uygulanabilir hem de matematiksel hesapları daha kolaydır. Test sıvı ve katı besiyerlerinde makro ve mikro dilüsyonlarda uygulanabilir (40).

##### **1.7.4.1.1. Mikrodilüsyon Dama Tahtası Yöntemi**

En yaygın uygulanan tekniktir. Doksan altı çukurlu U tabanlı steril mikrodilüsyon plakları kullanılarak test edilen antibiyotiklerin farklı konsantrasyonlardaki etkileimlerinin araştırılmasını temel alan bir testtir. Test edilecek konsantrasyonlar için MK dezerinin 1/8 -1/16 katı ile 4-8 katını içerecek şekilde iki katlı seri dilüsyonlar hazırlanır. Bakteri dilüsyonları yapıp inoküle



edildikten sonra 35 °C’de 16-20 saat inkübe edilir. Antibiyotik kombinasyonlarının etkileimleri “Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon” (FK) de erleri hesaplanarak saptanır. Her antibiyoti in FK de eri antibiyotiklerin kombinasyon halindeki MK de erinin antibiyotiklerin tek ba ına MİK de erlerine bölünerek ayrı ayrı hesaplanır. Kombinasyon etkinli ini belirleyen toplam FK de eri ( FK) iki antibiyoti in FK de erlerinin matematiksel toplamıdır (40-42).

#### **1.7.4.1.2. Makrodilüsyon Dama Tahtası Yöntemi**

Sıvı besiyeri yerine Mueller-Hinton agar kullanılır. Antibiyotik kombinasyonlarını içeren agar besiyeri hazırlanır. Agar yüzeyine  $10^4$  koloni (cfu = colony forming unit )/mL bakteri, nokta eklinde ekilir. Antibiyotik etkileimleri FK hesaplanarak yorumlanır (40-42).

#### **1.7.4.2. Zamana Ba lı Ölüm Yöntemi:**

Antibiyotik kombinasyonlarının zamana ve konsantrasyona ba lı bakterisidal aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılır. Test prensibi olarak her iki antibiyoti i yalnız ba ına ve kombinasyon halinde içeren tüpler içine son konsantrasyonu  $10^5$ - $10^6$  cfu/mL olan bakteri süspansiyonunun  $10^{-1}$ - $10^{-8}$  seri dilüsyonları hazırlanarak inoküle edilir ve 24 saat içinde belirlenen zaman aralıklarında (0, 4, 8, 24. saatler) kantitatif kültürler alınarak koloni sayımı yapılır. Sinerji, kombinasyonun 24 saatlik koloni sayısında en etkin ilaca kıyasla 100 kattan daha fazla ( $> 2 \log_{10}$ ) azalma görülmesi olarak tanımlanmıştır. 24 saatlik koloni sayılarında 100 kat ( $> 2 \log_{10}$ ) artı saptanıyorsa antagonizm,  $< 10$  kat de i iklik (artma yada azalma ) varsa additif ya da indifferan etki olarak tanımlanmıştır. Zamana ba lı ölüm yönteminde kombinasyonun etkinli i, yalnız en etkin antibiyotik ile karşılaştırılarak de erlendirilir ve di er antibiyoti in etkisi yok sayılır. (40-42).

#### **1.7.4.3. Diffüzyon Yöntemleri**

Kombinasyonun etkinli ini kalitatif olarak de erlendirmede kullanılır.

**a. Tek Disk Diffüzyon:** Kombinasyondaki antibiyotiklerden birini bakterinin  $\frac{1}{4}$  MK de erine e it konsantrasyonda içeren ve antibiyotik içermeyen Mueller-Hinton agar

besiyelerine  $10^7$ /ml bakteri süspansiyonu ekimi yapılır. Her iki besiyerine de kombinasyonda yer alan diğer antibiyotiklerin diskleri yerleştirilir.  $37^\circ\text{C}$  de bir gece inkübe edilir. Plaklarda oluşan inhibisyon zonları ölçülerek arasındaki fark kıyaslanır (43).

**b. Çift Disk Difüzyon:** Kirby Bauer yöntemine göre 0,5 McFarland bulanıklığındaki bakteri süspansiyonu agar üzerine ekilir. Antibiyotik diskleri arasındaki mesafe her diskin tek başına oluşturduğu inhibisyon zonunun yarıçapının toplamına eşit ya da büyük olmalıdır. Disklerin birbirine bakan yüzlerinde inhibisyon zonunun düzleşmesi antagonizm, genişlemesi sinerji olarak değerlendirilir. Etkileme saptanmazsa zon çapları etkilenmez ve indifferan (ilgisiz) olarak değerlendirilir (43).

#### **1.7.4.5. E-Test Yöntemi**

0,5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton agarına ekilir. Test edilecek antibiyotik striplerinden biri plakaya yerleştirilir ve  $35^\circ\text{C}$ 'de 30 dakika bekletilir. Bu strip steril bir pens yardımıyla yerinden kaldırılır ve atılır. Diğer antibiyotik stripi de atılan stripin izi üzerine gelecek şekilde plakaya yerleştirilir (42, 43).

Sinerji testleri, uygulamadaki zorluklar, yöntemin ve değerlendirmenin standardize edilememesi olması nedeniyle rutinde sık kullanılmazlar. Genellikle yeni bir antibiyotik etkisini incelemeye ara tırma amaçlı kullanılırlar.

## **1.8. ANTİBİYOTİKLER VE ÖZELLİKLERİ**

**1.8.1. Ampisilin**

**1.8.2. Meropenem**

**1.8.3. Sefoperazon-sulbaktam**

**1.8.4. Kolistin**

**1.8.5. Rifampisin**

**1.8.6. Doksisiklin**

### 1.8.1. M PENEM

Karbapenem grubu antibiyotiktir. Bilinen en geni spektrumlu antibiyotik olan imipenemin gram-pozitif, gram-negatif, aerob ve anaerob mikroorganizmaları içine alan çok geni bir etki spektrumu vardır. Çe itli ciddi enfeksiyonların tedavisinde son derece etkin bir monoterapötik ajandır ve *in vitro* olarak imipenem, klinik olarak önem taşıyan bakterilerin ço una etkilidir. İnsan hücresi içine penetrasyonu iyi olmadığı için intrasellüler patojenlere ba lı enfeksiyonların tedavisinde uygun bir ilaç değildir. Bir beta-laktam halkası içermekle birlikte diğer beta-laktam antibiyotiklerden farklı olarak sis konfigürasyonundaki açıl amino yan zincirinin yerine trans konfigürasyonunda hidroksietil yan zinciri içerir. Trans konformasyonu imipenemin beta-laktamaz dayanıklı nı sağlar. Penisilin ve sefalosporinlerden farklı olarak a-halkasında sülfür atomunda metilen (-CH<sub>2</sub>-) yapısı içerir. Bu yapı karbapenemlerin bakteri hücreindeki hedef proteinlere ba lanmasını arttırır. Bu da antibiyoti in etki spektrumunu geni letir ve antibakteriyel gücünü arttırır. Molekül a ırlı nın dü ük olması bakterinin hücre membranından giri ini kolaylaştırır. Penem halkasında bulunan alkil tiyo yan zinciri ise *P. aeriginosa*'ya etkinli i sağlar.

imipenem bu ola an üstü geni etki spektrumuna ve beta-laktamaz direncine karşı, böbrekte ileri derecede enzimatik yıkıma uğ rar. Metaboliti nefrotoksik bir ajan oldu undan tek ba na kullanılamaz. Bir dehidropeptidaz-1 (DHP-1) inhibitörü olan silastatin ile kombine edilerek kullanımı gerekmektedir. Silastatin sodyum, DHP-1'in kompetitif, reversibl ve özgül inhibitörüdür. Diğer beta-laktam antibiyotikler gibi bakteri hücre duvar sentezini inhibe ederek etki eder, bakterisidal etkilidir. imipenem gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerin yüksek molekül a ırlıklı PBP'lerine yüksek bir afinite ile ba lanır. Ba lanma ilk önce PBP2'ye ve arkasından da PBP1a'ya olur. PBP1'e ba lanması gram -pozitif ve gram-negatif bakterilerde hücrelerin daha hızlı lizisine yol açar (44-46). Tüm vücut sıvılarında hızla dağılır.

### 1.8.2. MEROPENEM

imipenemden sonra kullanıma girmi karbapenem grubu antibiyotiktir. imipenemin aksine insan böbrek DHP-1 enzimine karşı çok yüksek stabilite gösterir.

Klinik olarak önemli olan hemen tüm aerobik ve anaerobik bakterilere karşı son derece etkilidir. PBP2, hem imipenemin hem de meropenemin başlıca hedefidir. Ancak meropenem, *P. aeruginosa* ve *E. coli*'nin PBP2 ve 3'üne daha büyük bir afinite gösterir. Meropenem, stafilokoklara ait enzimler ve gram -negatif bakterilerdeki karbapenemazlar hariç diğer tüm beta-laktamazların hidrolizine karşı dayanıklıdır. Karbapenemlerden imipenem, gram -pozitif organizmalara karşı daha etkili gözükürken meropenem, gram -negatiflere özellikle de *P. aeruginosa*'ya daha etkilidir. Meropenem için asıl hedef *P. aeruginosa*'daki PBP3'dür (47,48).

### **1.8.3. SEFOPERAZON-SULBAKTAM**

Sefoperazon sodyum, kristal, yalnız parenteral kullanılan, yarı-sentetik geniş spektrumlu bir sefalosporin grubu antibiyotiktir. Diğer sefalosporinlerden farklı olarak piperazin yan zinciri içerir, bu nedenle antipsödomonal aktiviteye sahiptir. Vücut sıvılarında da ılımlı oldukça iyidir ancak salınım meninklerden geçişi oldukça kötüdür. Yüksek oranda plazma proteinlerine bağlanır; %70 oranında safra, %30 oranında idrar yolu ile atılır. (Sefoperazon sodyum/sulbaktam sodyum, kristal kombinasyonu olup, serbest sulbaktam ve sefoperazon olarak 1:1 oranında hazırlanmıştır. Sefoperazon-sulbaktam ile verilen sulbaktam dozunun yaklaşık %84'ü ve sefoperazon dozunun %25'i böbreklerden itraha olur. Sefoperazon 3. kuşak bir sefalosporindir ve aktif çoğalma döneminde hücre duvarı mukopeptid biyosentezini inhibe ederek duyarlı organizmalara karşı etkin olur. Daha çok gram-negatif mikroorganizmalar başta olmak üzere hemen hemen tüm gram-pozitif ve negatif, aerob ve anaerob bakterilere karşı etkinliği mevcuttur. *P. aeruginosa*'ya karşı yüksek aktivite gösterir. *Acinetobacter* türlerine karşı etkinliği azdır ancak sulbaktamla 1:1 oranında kombine formu *Acinetobacter* türlerine oldukça etkilidir (49, 50).

### **1.8.4. KOLİSTİN**

Polimiksinler kimyasal olarak 5 farklı birleştirmeye içeren (polimiksin A -E) polipeptid antibiyotiklerdir ve bu grup 1947 yılında bulunmuştur. Klinik pratikte sadece polimiksin B ve polimiksin E (kolistin) kullanılmaktadır. 1950 -1980 arası kullanılmaktadır ve 1980'lerde nefrotoksitesi nedeniyle kullanımını oldukça azalmıştır

ve 2000'li yıllara gelinceye kadar kullanımı sadece kistik fibroz hastalarında 4 D gram negatif basillerle oluşan akciğer enfeksiyonları ile sınırlanmıştır. Ticari olarak kolistin 2 formu mevcuttur. Bu formlar kolistin sülfat ve kolistimetat sodyumdur ve kolistimetat sodyum kolistin sülfata göre daha az etkili ve daha az toksiktir. Kolistin sülfat barsak dekontaminasyonu için oral ve bakteriyel cilt enfeksiyonları için topikal olarak kullanılır. Kolistimetat sodyumun parenteral kullanım için ticari formu mevcuttur ve intravenöz, intramüsküler ve nebulizasyon ekinde uygulanabilir.

Kolistinin hedefi bakteri hücre membranıdır. Katyonik bir peptid olan kolistin ile gram-negatif bakterilerin dışı membranlarındaki anyonik LPS molekülleri elektrostatik ilişkiye girerler ve hücre membranında düzensizliye yol açarlar. Kolistin, LPS moleküllerini stabil halde tutan magnezyum ve kalsiyumun yerini değiştirerek dışı membranda bozulmaya ve oluşan permeabilite bozukluğu bakterinin ölümüne neden olur. Kolistinin antibakteriyel etkisine ek olarak anti-endotoksin aktivitesi de vardır ve LPS'yi nötralize eder. Kolistin sülfat ve kolistimetat sodyum konsantrasyona bağımlı olarak etki göstermektedirler. Verilen sonraki ilk 24 saat içinde %60 oranında idrar ile dışı meden atıldığı saptanmıştır. Kolistin klirensi böbrek dışı yollar ile olmakla birlikte tam olarak aydınlatılamamıştır.

Kolistin; *Acinetobacter* türleri, *P. aeruginosa*, *Klebsiella* türleri, *Enterobacter* türleri, *E. coli*, *Salmonella* türleri, *Shigella* türleri, *Citrobacter* türleri, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Morganella morganii* ve *Haemophilus influenzae*'ye karşı bakterisidal etki gösterir. *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarına da etkili olduğu gösterilmiştir. Gram negatif bakterilerde mutasyon ya da adaptasyon yolu ile bu antibiyotiğe karşı direnç geliştirebilmektedir (51, 52).

#### 1.8.5. RIFAMPİSİN

Rifampisin, *Streptomyces mediterranei*'den elde edilen rifamisin semisentetik bir türevidir. Bakterisid etkili bir antibiyotiktir. Etkisini DNA'ya bağımlı RNA polimerazı inhibe ederek gösterir. Klinik uygulamalarda kullanılan dozlarda memelilerdeki RNA sentezini bozamaz. Rifampisin, çok sayıda bakteriye karşı bakterisidal aktivite gösterir. *Mycobacterium tuberculosis* ve *Mycobacterium leprae*, koagülaz-negatif ve koagülaz-pozitif stafilokoklar, *S. pneumoniae* ve diğer

streptokoklara etkilidir. Ayrıca, *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae* ve *Haemophilus influenzae* rifampisin en etkili olduğu gram-negatif bakterilerdir. Rifampisin *Brucella* cinsi bakterilere de etkilidir. *Legionella pneumophila*'ya karşı bilinen en aktif ajandır. *Clostridium difficile*'ye *in vitro* vankomisin kadar etkilidir. *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci* ve *Rhodococcus equi*'ye karşı en aktif ajanlardan biridir. Bununla birlikte *Ureaplasma urealyticum* ve *Treponema pallidum* bu ilaca karşı genellikle dirençlidir. Rifampisin birçok Enterobacteriaceae üyesi, bazı *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşlarını inhibe ettiği halde bu bakteriler, özellikle tek başına kullanıldığında ilaca çabuk direnç kazanır (53).

#### 1.8.6. DOKSİSİKLIN

Tetrasiklinler, geniş etki spektrumlu bakteriyostatik antibiyotiklerdir ve bakteri ribozomunun 30S alt ünitesine bağlanarak protein sentezini inhibe ederler. Gram-pozitif, gram-negatif, aerobik ve anaerobik bakterilere, spiroketlere, mikoplazma, riketsiya, klamidy ve bazı protozoonlara etkili geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Doksisisiklin yarı sentetik ikinci jenerasyon uzun etkili tetrasiklinlerdendir ve günümüzde güvenilir birer antibiyotik olarak sıkça kullanılır. Kimyasal yapıları yönüyle orijinal tetrasiklinlerden bazı farklılıkları vardır. Bu durum antibakteriyel açıdan fazla bir özellik kazandırmazken, farmakokinetik açıdan bazı avantajlar sağlar. Özellikle lipofilitesi önemli oranda değildir. Lipofilitesinin yüksek olması biyolojik membranlardan kolayca geçmelerini, dolayısıyla dokulara daha iyi penetre olmalarını sağlar. Biyoyararlanımı ortalama %80-90'dır. Doksisisiklin renal klirensi en düşük ve biyolojik yarı ömrü en uzun tetrasiklin türevidir olup, mikrobiyolojik olarak inaktif formdadır ve oral ile atılır.

Tetrasiklinlerin antimikrobik etki spektrumu birbiriyle çok benzerdir. Minosiklin ve doksisisiklin lipofilik olduklarından en aktif olan tetrasiklinlerdir. Ek olarak *stafilokoklar*, bazı *streptokoklar*, *gonokok*, *meningokok*, *Brucella*, *Camphylobacter* türleri, *aktinomiçes*, *Bacillus anthracis*, *Listeria monocytogenes*, *Francisella* ve *Burgholderia pseudomallei*, *P. pseudomallei* tetrasiklinlere duyarlıdır. *B. fragilis* ve klostridyumlara etkilidir. *Entamoeba histolytica* ve *Plasmodium* gibi protozoerlere de sınırlı etkinlik gösterir. Tetrasiklinlerin çoğu anaerob mikroorganizmalara da etki gösterir. *Borrelia burgdorferi* gibi patojen spiroketler

tetrasiklinlere duyarlıdır. *Vibrio cholerae* ve di er *Vibrio*'ların tedavisinde önemli yere sahiptir. Ancak, *Salmonella*, *Shigella* ve *Vibrio* türlerinde giderek artan oranda direnç söz konusudur. Tetrasiklinlere karşı olan direnç hem gram -negatifler hem de gram-pozitifler arasında yaygındır. Tetrasiklin türlerinden birine direnç geli irse di erleri de bu dirençten etkilenir, ancak bu çapraz dirençten en az etkilenenler doksisiklin ve minosiklidir (54, 55).

## 2. GEREÇ-YÖNTEM

Bu çalışma, Ocak 2006 ile Mart 2008 tarihleri arasında, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi YBÜ'nde CDC tanı kriterlerine göre HE'ü tanısı almı hastalardan Enfeksiyon Hastalıkları Laboratuvarı'nda etken olarak izole edilen ve Ç D oldu u saptanan 118'i *P. aeruginosa* ve 36'sı *A. baumannii* olmak üzere 154 adet bakteri üzerinde yapıldı. Mikroorganizmaların 115'i endotrakeal aspirat (ETA), 21'i idrar, 12'si kan, 6'sı yara kültür örneklerinden den izole edildi. Üçüncü ku ak sefalosporinlere (seftriakson, sefaperazon, seftazidim, sefotaksim, sefepim), kinolonlara (siprofloksasin, levofloksasin), üreidopenisilinlere (piperasilin), aminoglikozidlere (amikasin, gentamisin), karbapenemler (meropenem, imipenem)'den en az ikisine dirençli olanlar Ç D; seftazidim, sefepim, imipenem, meropenem, piperasilin-tazobaktam, siprofloksasin ve levofloksasine azalmı duyarlılık ise tüm antibiyotiklere dirençli (pan-rezistans) olarak kabul edildi. Ç D olarak belirlenen 154 bakterinin kolistin, meropenem, imipenem, doksisisiklin , rifampisine duyarlılıkları CLSI önerilerine göre broth mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı. Yine kolistin için farklı M K de erlerine sahip olan *P. aeruginosa'nın* 10, *A. baumannii'nin* 7 su u sinerji çalışması için seçildi. Kolistin+rifampisin, kolistin+meropenem ve kolistin+imipenem kombinasyonlarının kullanıldı ı sinerjistik aktivite düzeyleri dama tahtası mikrodilüsyon metodu kullanılarak de erlendirildi.

### 2.1. Klinik Örneklerin dentifikasyonu:

Hastalardan usulüne uygun olarak alınan kan, ETA, idrar kültür örneklerinin %5 koyun kanlı agar ve Eosin Metilen Blue (EMB) agara ekimi yapıldı. Klinik örnekler aerobik ko ullarda 37°C'de 24 saat inkübe edildi. nkübasyon süresi sonunda EMB besiyerinde üreyen bakterilerin koloni morfolojileri, üreme özellikleri, oksidaz ve katalaz aktiviteleri, gram boyama ve biyokimyasal özellikleri incelendi. Laktoz negatif olan kolonilerin gram boyama ile gram -negatif oldukları gösterildi. Üreyen mikroorganizmalar için oksidaz deneyi yapıldı. Glukozdan asit ve gaz olu turma, sukroz ve laktoza, hareket besiyerine etki ve H<sub>2</sub>S olu turma özelliklerini incelemek için üç ekerli demirli besiyerine (TS ), indol, metil kırmızısı ve Voges Proskauer, sitrat tüketimi ve üreye etkilerini ara tırmak için de ilgili besiyerlerine



ekimler yapıldı. 24 saatlik inkübasyon sonrası su lar de erlendirmeye alındı ( 56). Oksidaz testi pozitif olan, TS besiyerinde dipte ve yatıkta alkali reaksiyon veren, Simmon's sitrat pozitif, hareket besiyerinde aerob ortamda kirpik olu umu daha iyi oldu undan yüzeyde hareketli görünen, indol ve metil red reaksiyonu negatif bakteriler *P. aeruginosa* olarak isimlendirildi. Oksidaz deneyi negatif, TS besiyerinde dipte ve yatıkta alkali reaksiyon veren, Simmon 's sitrat pozitif, hareket besiyerinde hareketsiz olarak tesbit edilen, indol ve metil kırmızısı testi negatif bakteriler *A. baumannii* olarak isimlendirildi. Oksidaz testi pozitif olanlar ve oksidaz testi negatif olanlardan TS ile identifiye edilemeyenler ise API 20E (Biomerieux SA Marcy-l'Etoile Fransa) otomatize ticari kitleri ile identifiye edildi. Bu yöntemlerle *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* olarak identifiye edilen 154 su mikrobanklara (saklama besiyeri) alınarak çalı ma gününe kadar -20 °C'de bekletildi. Çalı maya ba lamadan önce tüm su lar saflık açısından kontrol edildi.

## **2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri**

### **2.2.1. Disk Diffüzyon Testi**

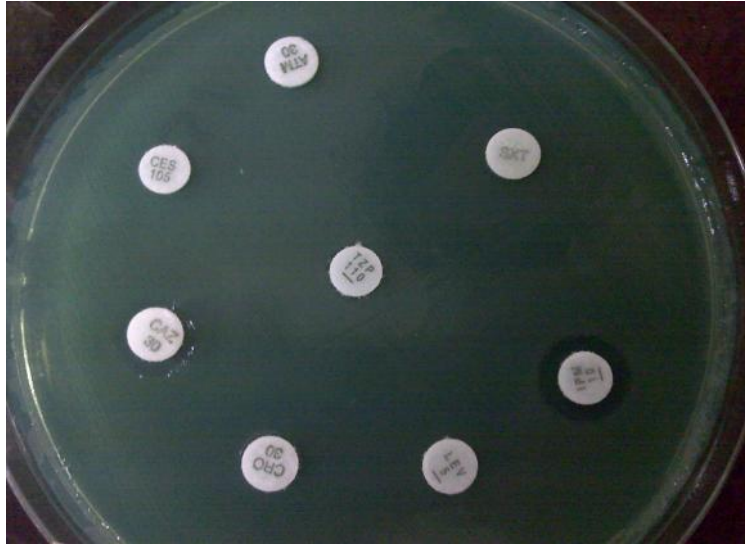
*P. aeruginosa* ve *A. baumannii* olarak identifiye edilen su ların antibiyotiklere kar ı duyarlılı ı CLSI önerileri do rultusunda Kirby -Bauer disk diffüzyon yöntemi ile Mueller-Hinton agarda ticari antibiyotik diskleri kullanılarak yapıldı. Steril, tek kullanımlık, 9 cm çaplı petri plaklarına 4 mm yükseklikte besiyeri olacak ekilde Mueller-Hinton agar döküldü. Kullanıma kadar buzdolabında bekletildi. Bakterilerin taze plak kültüründen 5–10 koloni alınıp 1 mililitrelik triptik soy buyyon besiyerine ekim yapıldı. Bakteriler sıvı besiyerinde 4 -5 saat enkübe edildikten sonra McFarland 0.5 standardı yo unlu unda olacak ekilde hazırlanan bakteri süspansiyonu besiyerinin yüzeyine yayıldı. Standart antibiyotik diskleri bir petri kutusuna kenardan 15 mm, birbirinden 25–30 mm uzaklıkta olacak ekilde yerle tirildi. 35–37°C'de 18–24 saatlik inkübasyondan sonra inhibisyon zon çapları ölçülerek duyarlılık ve dirençlili k durumları de erlendirildi (37).

Su ların antibiyotik duyarlılı ını belirlemede; amoksisilin -klavulanat (AMC 20/10 mcg), seftriakson (CRO 30 mcg), seftazidim (CAZ 30 mcg), sefotaksim (CTX 30 mcg), aztreonam (ATM 30 mcg), sefoksitin (FOX 30 mcg ), imipenem (IPM 10 mcg), meropenem (MEM 10 mcg), sefoperazon -sulbaktam

(CES 75/30 mcg), piperasilin-tazobaktam (TZP 100/10 mcg), amikasin (AN 30 mcg), siprofloksasin (CIP 5 mcg), ko-trimaksazol (SXT 23, 75/1, 25 mcg) diskleri kullanıldı.

### 2.2.2. Çok İlaça Dirençli *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* Bakterilerinin Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması:

Çok ilaca dirençli olarak belirlenen 154 bakterinin kolistin, meropenem, imipenem, doksisisiklin, rifampisin ve sefoperazon-sulbaktama karşı duyarlılıkları CLSI önerilerine göre broth mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı. Bu yöntemde kullanılmak üzere doksisisiklin (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, MO), rifampisin (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, ABD), meropenem (Astra-Zeneca, Zuben, Switzerland), kolistin (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, ABD), imipenem (Merck Sharp & Dohme, ABD) antibiyotiklerinin toz hammaddeleri üretici firmalardan temin edildi. Zolatlar 96 kuyucuklu steril polistren mikrotiplerde çalışıldı. Besiyeri olarak Mueller-Hinton buyyon besiyeri ve kontrol su ları olarak *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanıldı.



**ekil 1:** Bir *P. aeruginosa* su unda Ç D'in çift disk sinerji yöntemi ile belirlenmesi

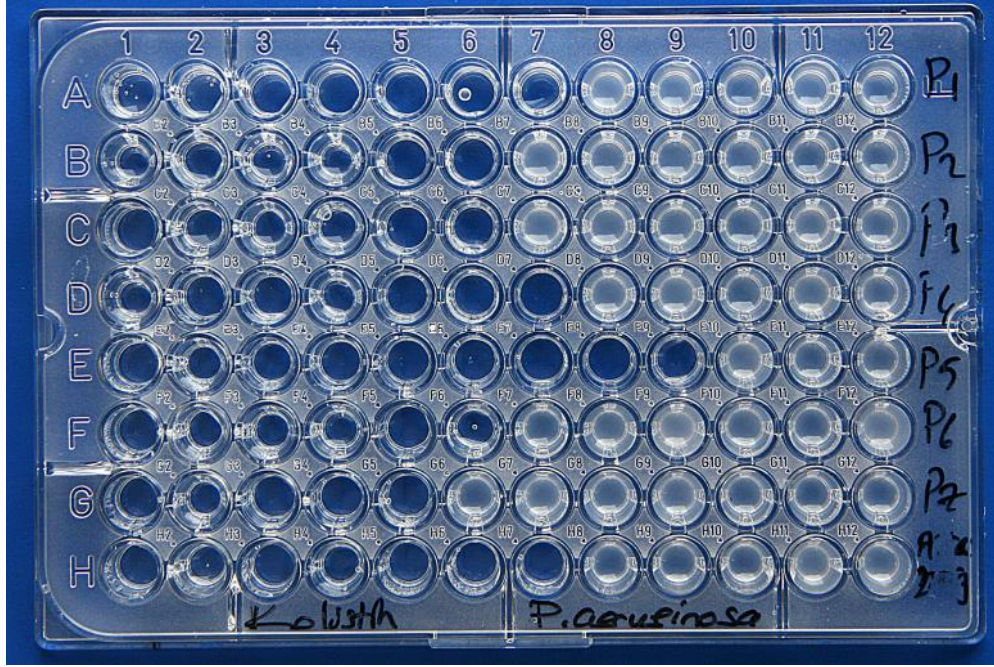
### 2.2.3. Broth Mikrodilüsyon Testi

Taze kültürlerden alınan kolonilerden son konsantrasyon  $5 \times 10^5$  cfu/ml olacak ekilde serum fizyolojik içerisinde McFarland 0.5 standardına uygun olarak bakteri süspansiyonları hazırlandı. mipenem ve meropenem için çözücü ve dilüent olarak

distile su kullanıldı ve ba langıç konsantrasyonları 128 µg/ml olacak ekilde dilüe edildi. Sefoperazon-sulbaktam çalı ılırken her iki preparat için çözücü ve dilüent olarak distile su kullanıldı, ba langıç konsantrasyonları 256 ve 256 µg/ml olacak ekilde dilüe edildi ve 1:1 oranı sa lanacak ekilde karı tırıldı. Doksisisiklin için çözücü olarak su kullanıldı ve ba langıç konsantrasyonu 64 µg/ml olacak ekilde dilüe edildi. Kolistin için çözücü ve dilüent olarak distile su kullanıldı ve ba langıç konsantrasyonu 32 µg/ml olacak ekilde dilüe edildi. Rifampisin için ise çözücü olarak metanol ve dilüent olarak su kullanılarak karı tırıldı ve ba langıç konsantrasyonu 64 µg/ml olacak ekilde ayarlandı. Çalı ilan antibiyotiklerin stok solüsyonlarının hazırlanması için gereken miktarları a a ıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{A ırlık} = \text{Hacim (ml)} \times \text{Konsantrasyon (µg/ml)} / \text{Potens (µg/ml)}$$

Çalı mada 96 kuyucuklu mikroplaktaki her kuyucu a steril otomatik mikropipetler kullanılarak ba langıçta 50 µl Mueller-Hinton Broth konuldu. Daha sonra ilk kuyucuklara antibiyotiklerin ba langıç solüsyonlarından 50 µl konuldu ve 12. kuyucu a kadar seri dilüsyonlar yapıldı. Son olarak tüm kuyucuklara 50 µl bakteri süspansiyonu eklendi ve kuyucuklardaki bakteri inokulumunun son konsantrasyonunun  $5 \times 10^5$  cfu/ml olması sa landı. Sonuçta antibiyotik dilüsyonları imipenem ve meropenem için 128-0.0625 µg/ml, doksisisiklin ve rifampisin için 64-0.03125 µg/ml, kolistin ve azitromisin için 32-0.01562 µg/ml olarak olu turuldu. Her su için antibiyotik içermeyen bakteri kontrolü ve besiyeri kontrolü yapıldı. Mikroplakların üzeri kapatılarak 35°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda plaklardaki kuyucuklarda üreme veya ürememe durumları gözle görülebilir bulanıklı ın tespiti ile yapıldı. M K, gözle görülür üremenin olmadığı en dü ük antibiyotik konsantrasyonu olarak tanımlandı. zolatların %50'sini inhibe eden en dü ük antibiyotik konsantrasyonu M K<sub>50</sub>, %90'nını inhibe eden en dü ük konsantrasyon ise M K<sub>90</sub> olarak tanımlandı. Antibiyotik duyarlılık sınırları NC CLS M100-S18'egöre okundu (Clinical Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S18. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2008 (37).



**ekil 2.** Mikrodilüsyon testi. Bulanıklık ın izlenmesi ve M K de erlerinin saptanması

Kullanılan antibiyotikler için duyarlılık kriterleri Tablo 6'da verilmiştir.

**Tablo 6.** Kullanılan antibiyotikler için duyarlılık kriterleri

Antibiyotikler	Duyarlılık (µg/ml)		
	Hassas	Az Hassas	Dirençli
Meropenem	4	8	16
mipenem	4	8	16
Kolistin	<i>P. aeruginosa</i>	2	4
	<i>A. baumannii</i>	2	-
Doksisiklin	4	8	16
Rifampisin	4	-	4
Sefoperazon-sulbaktam	16/16	32/32	64/64

#### 2.2.4. Sinerji Testi

Kolistin için farklı M K de erlerine sahip olan *P. aeruginosa*'nın 10, *A. baumannii*'nin 7 su u sinerji çalı ması için seçildi. Sinerjistik aktivite düzeyleri dama tahtası mikrodilüsyon metodu kullanılarak de erlendirildi. Kombinasyon

olarak kolistin+rifampisin, kolistin+meropenem ve kolistin+imipenem kombinasyonları kullanıldı.

Bakteri süspansiyonları serum fizyolojik içerisinde 0.5 McFarland standardına uygun olarak hazırlandı. Her bir mikroorganizma için yine 96 çukurlu 2 mikroplak kullanıldı ve bunlar alt alta yerleştirildi. Mikroplaklara yukarıdan aşağı doğru A'dan K'ya, soldan sağa doğru ise 1'den 12'ye kadar numara verildi. Her antibiyotik kombinasyonu için başlangıç konsantrasyonu 256 µg/ml olacak şekilde düzenlendi. Mikroplaklara A1 (birinci kuyucuk) hariç diğer kuyucuklara 50' er µl Mueller-Hinton Broth konuldu. Antibiyotikler 1 ve 2 olarak değerlendirildi. Antibiyotik 1'den (A1) birinci kuyucu başta 100 µl, 1. kolondaki diğer kuyucuklara 50' er µl konuldu. 1'den 11'e kadar 50' er µl aktarılarak seri sulandırım yapıldı (12'nci kuyucuk hariç tutuldu) ve son kuyucukdan 50 µl dı arı atıldı. 2. antibiyotik (A2)'den A sütunundaki tüm çukurlara (12 dahil) 50' er µl konuldu. A'dan K'ya kadar (L hariç) 50' er µl aktarılarak seri sulandırım yapıldı ve son kuyucukdan 50 µl dı arı atıldı. Son olarak her kuyucu başta bakteri süspansiyonundan 50 µl konuldu. Mikroplakların üzeri kapatılarak 35°C'de 18-24 saat inkübasyon sonrası A1'in M K'i L sütunundan A2 'nin M K'i ise 12. kolondan okundu. Antibiyotikler arasındaki etkileşimi belirlemede F K de eri hesaplandı. F K indeksi hesaplamada aşağıdaki formül kullanıldı.

$F_{KA}$  (A antibiyoti i için) = Kombinasyonda M KA /tek başına M KA

$F_{KB}$  (B antibiyoti i için) = kombinasyonda M KB /tek başına M KB

$F_{K}$  indeksi =  $F_{KA} + F_{KB}$

$F_{K}$  indeksi aşağıdaki gibi antibiyotik etkileşimlerini karakterize etmede kullanıldı.

$F_{K} = 0.5$  sinerjistik;  $0.5 < F_{K} < 1$  kısmen sinerjistik;  $F_{K} = 1$  additif;

$1 < F_{K} < 4$  indifferan;  $F_{K} > 4$  ise antogonizm olarak değerlendirildi.

### 3. BULGULAR

Örneklerin izole edildiği olguların 86'sı erkek (%55.8), 68'i (%44.1) kadınlardan oluşmaktaydı. Olguların yaşları 8-86 (ortalama yaş) arasında değişmekteydi.

#### 3.1. Örnekler

Ç D toplam 154 su YBÜ'de yatarak tedavi gören hastaların idrar, kan, ETA ve yara materyali örneklerinden izole edildi. Bir hastadan birden çok kez elde edilen ve aynı fenotipik özellikler gösteren su lardan sadece bir tanesi çalışmaya dâhil edildi. Bu Ç D su ların izole edildikleri klinik örnekler tablo 7'de gösterilmiştir.

**Tablo 7.**

Klinik Örnek	Sayı (n)	%
ETA	115	74.7
İdrar	21	13.6
Kan	12	7.8
<b>Yara materyali</b>		
Cerrahi yara materyali	5	3.2
Subclavian kateter ucu	1	0.7
<b>Toplam</b>	154	

Çok ilaca dirençli su ların kolistin, meropenem, imipenem, doksisisiklin, rifampisin ve sefoperazon-sulbaktam antibiyotiklerine karşı duyarlılıkları Tablo 8'de sunulmuştur.

**Tablo 8.** Çalışılan antibiyotiklere karşı duyarlı su sayısı ve antibiyotiklerin duyarlılık oranları.

	KOL	MEM	PM	R F	DOK	SES
<b>Bakteriler</b>	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
<i>P. aeruginosa</i>	99 (83.8)	70 (59.3)	55 (46.6)	13 (11)	61 (51.7)	49 (41.5)
<i>A. baumannii</i>	31 (86.1)	20 (55.5)	25 (69.5)	24 (66.7)	27 (75)	17 (47.2)
<b>Toplam</b>	130 (84.4)	90 (58.3)	80 (51.9)	37 (24)	88 (57.1)	66 (42.7)

**Kısaltmalar:** KOL: Kolistin, MEM: Meropenem, PM: Imipenem, R F: Rifampisin, DOK: Doksisisiklin, SES: Sefoperazon-sulbaktam

Bu çalı mada kolistin, gerek *P. aeruginosa* gerekse *A. baumannii*'ye kar ı sırasıyla %83.8 ve %86.1 duyarlılık oranlarıyla en yüksek duyarlılı a sahip antibiyotik olarak bulundu. *P. aeruginosa*'ya kar ı meropenem daha etkili iken (%46.6'ya kar ı %59.3.) *A. baumannii*'ye kar ı imipenem meropenemden daha etkili olarak tespit edildi (sırasıyla %69.5, %55.5). Rifampisin ve doksisisiklin grubu antibiyotiklerden ise her iki mikroorganizmaya kar ı doksisisiklin daha etkili saptandı (*P. aeruginosa* için %11'e.kar ı %51.7 ve *A. baumannii* için %66.7'ye kar ı %75). Meropeneme dirençli 16 su un 12'si imipenem e, 31'i sefoperazon-sulbaktama dirençli olarak saptandı.

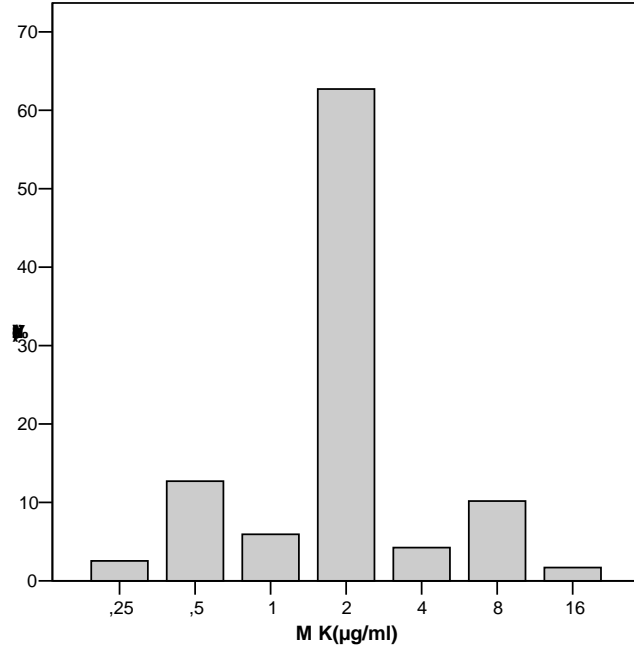
**Tablo 9.** Sinerji testinde *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* bakterilerinde kolistin ile rifampisin, imipenem ve meropenem arasındaki ili ki

		Sinerjistik	Kısmen sinerjistik	Additif	indifferan	Antagonizm
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n(%)
<i>P.aeruginosa</i>	KOL-R F	4 (40)	4 (40)	2 (20)	-	-
	KOL- MP	1 (10)	3 (30)	3 (30)	3 (30)	-
	KOL-MEM	2 (20)	1 (10)	3 (30)	4 (40)	-
<i>A.baumannii</i>	KOL-R F	6 (85.8)	1 (14.3)	-	-	-
	KOL- MP	4 (57.2)	1 (14.3)	2 (28.6)	-	-
	KOL-MEM	4 (57.2)	1 (14.3)	2 (28.6)	-	-

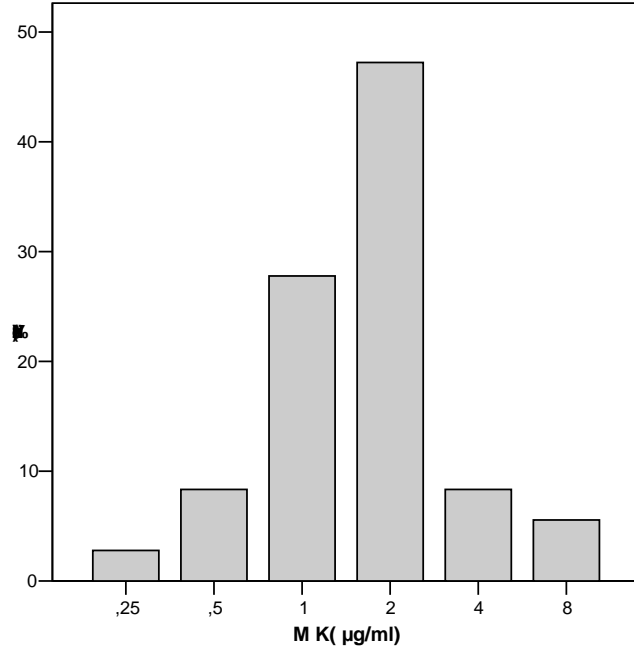
**Kısatmalar:** KOL+R F= Kolistin+rifampisin, KOL+ MP= Kolistin+imipenem, KOL+MEM= Kolistin+meropenem

*P. aeruginosa* ve *A. baumannii* için en etkili kombinasyon kolistin+rifampisin kombinasyonu olarak saptandı. KOL-R F kombinasyonu test edilen 10 *P. aeruginosa* su unun 4'üne sinerjistik, 4'üne kar ı kısmen sinerjistik, 2'sine kar ı additif etkiye sahip iken indifferan (ilgisiz) ve antagonistik etki gözlenmedi. Bu kombinasyon *A. baumannii*'de ise 7 su un 6'sına kar ı sinerjistik, 1'ine kar ı kısmen sinerjistik etkili iken, additif, indifferan ve antagonistik etki gözlenmedi. KOL - MP ve KOL-MEM kombinasyonu *A. baumannii*'ye kar ı *P. aeruginosa*'dan daha etkili olarak saptandı.

**3.2. Kolistinin M K Düzeyleri:** Kolistinin M K düzeyleri ekil 3 ve 4’de sunulmu tur.



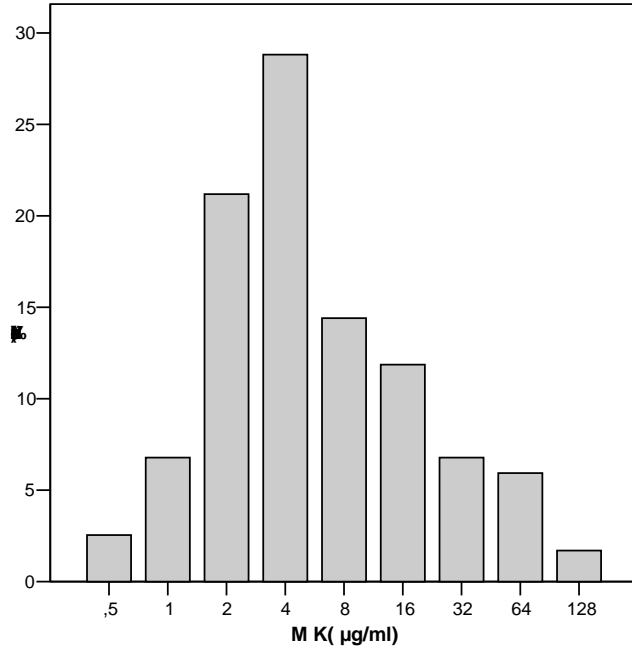
**ekil 3.** *P. aeruginosa* su larında kolistinin M K düzeyleri



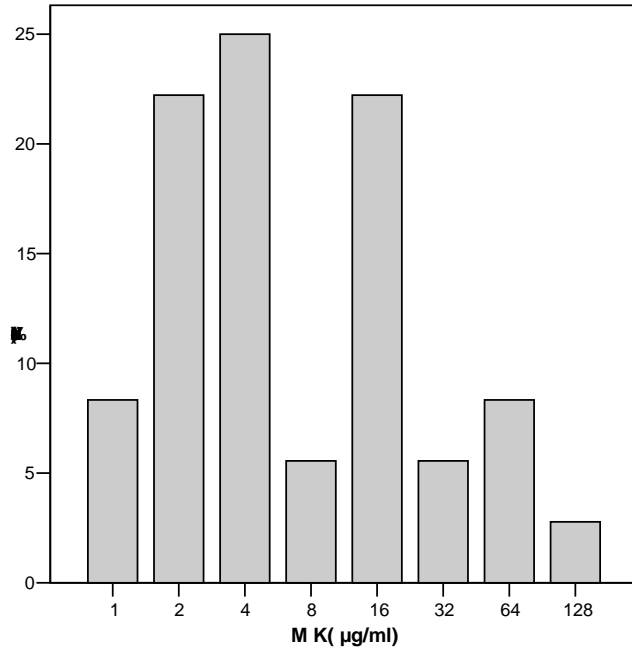
**ekil 4.** *A. baumannii* su larında kolistinin M K düzeyleri



**3.3. Meropenemin M K Düzeyleri:** Meropenemin M K düzeyleri ekil 5 ve 6'da sunulmu tur.

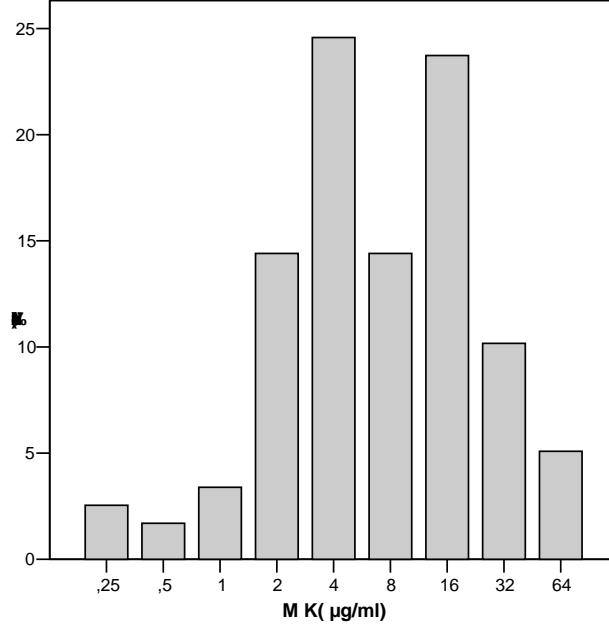


**ekil 5.** *P. aeruginosa* su larında meropenemin M K düzeyleri

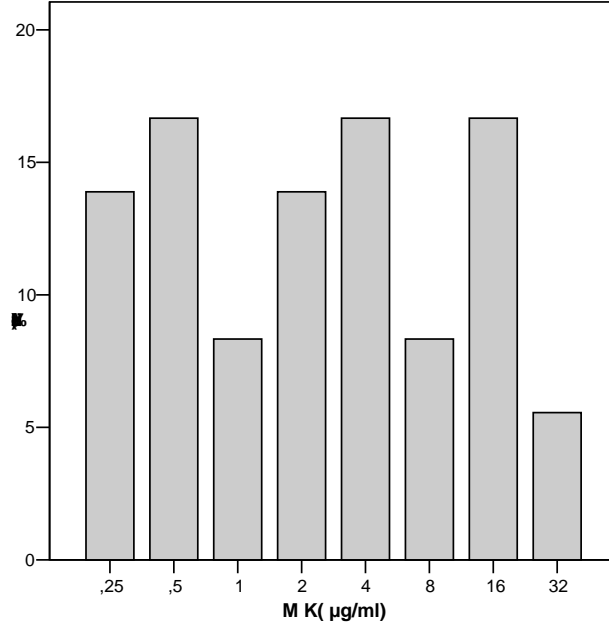


**ekil 6.** *A.baumannii* su larında meropenemin M K düzeyleri

**3.4. mipenemin M K Düzeyleri:** mipenemin M K düzeyleri ekil 7 ve 8’de sunulmu tur.

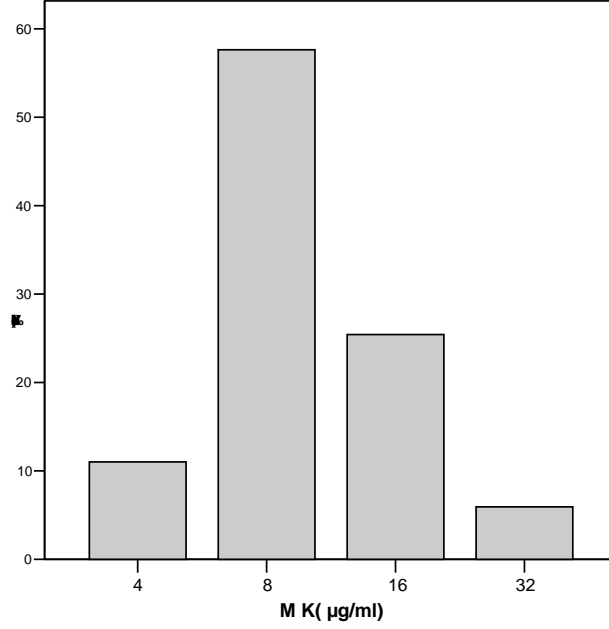


**ekil 7.** *P. aeruginosa* su larında imipenemin M K düzeyleri

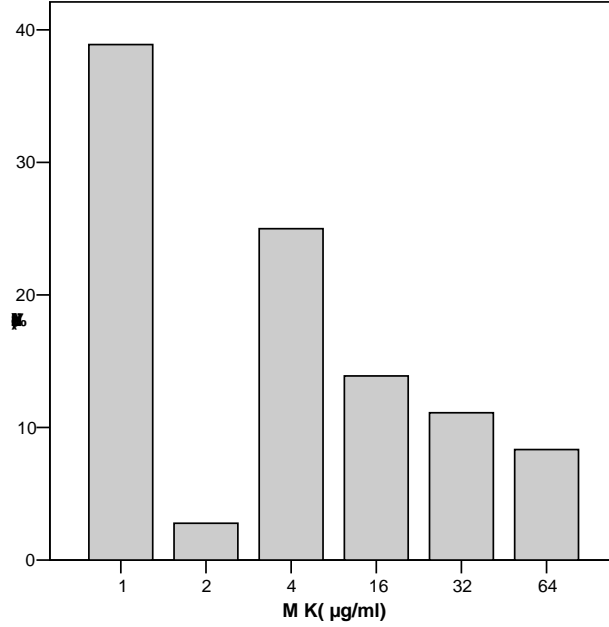


**ekil 8.** *A. baumannii* su larında imipenemin M K düzeyleri

**3.5. Rifampisinin M K Düzeyleri:** Rifampisinin M K düzeyleri ekil 9 ve 10'da sunulmu tur.

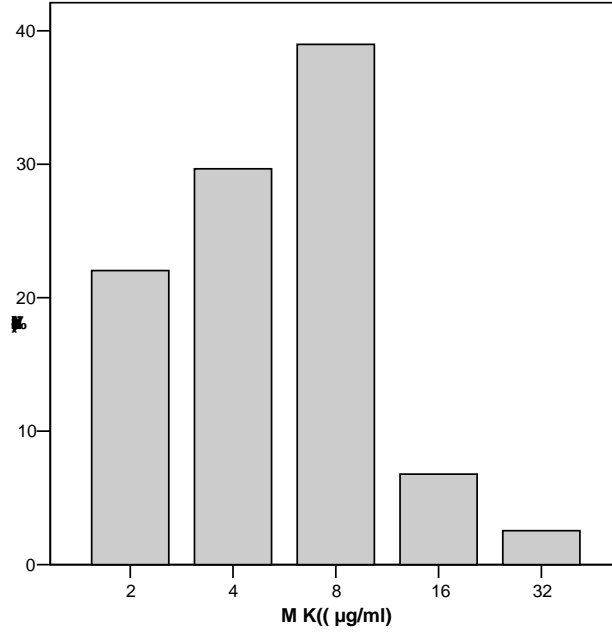


**ekil 9.** *P. aeruginosa* su larında rifampisinin M K düzeyleri

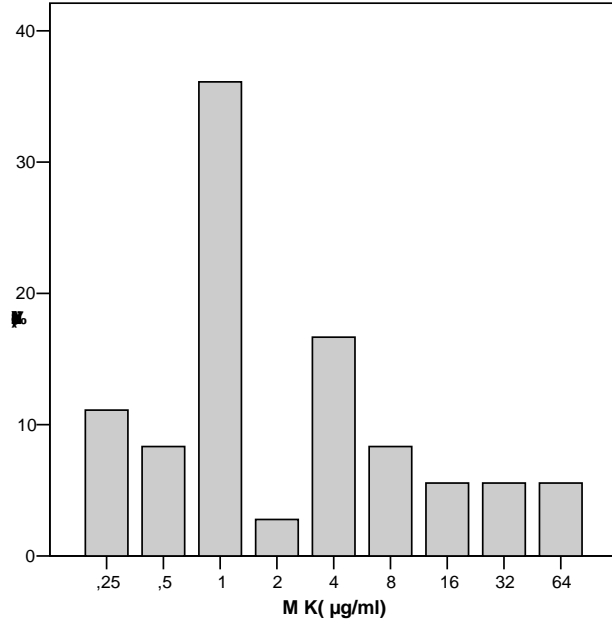


**ekil 10.** *A. baumannii* su larında rifampisinin M K düzeyleri

**3.6. Doksisisiklinin M K Düzeyleri:** Doksisisiklinin M K düzeyleri ekil 11 ve 12’de sunulmu tur.

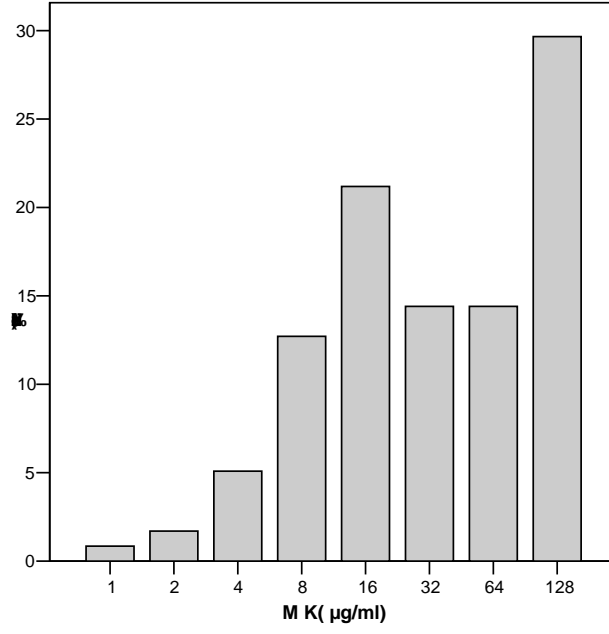


**ekil 11.** *P. aeruginosa* su larında doksisisiklinin M K düzeyleri

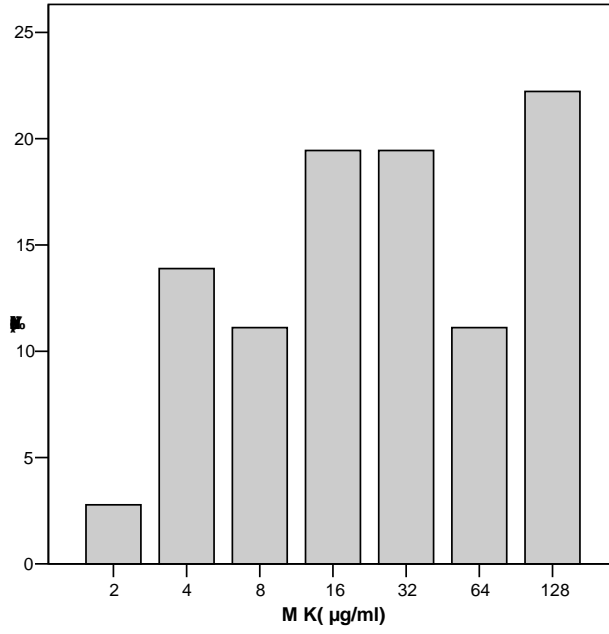


**ekil 12.** *A. baumannii* su larında doksisisiklinin M K düzeyleri

**3.7. Sefoperazon-sulbaktamın M K Düzeyleri:** Sefoperazon-sulbaktamın M K düzeyleri ekil 13 ve 14’de sunulmu tur.

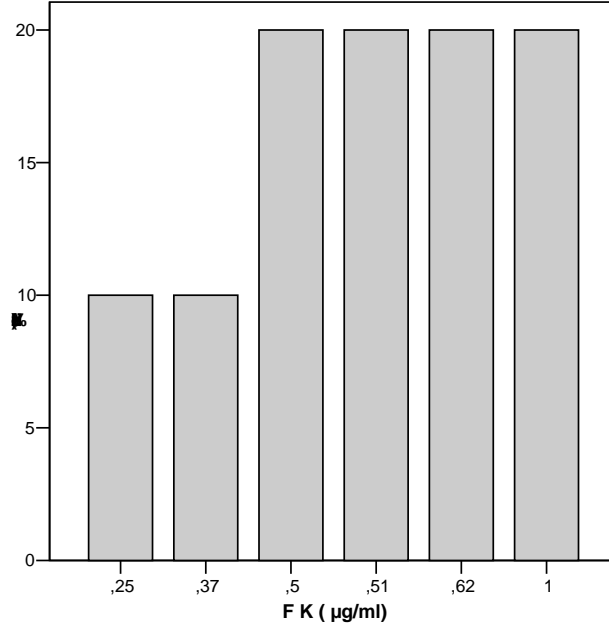


**ekil 13.** *P. aeruginosa* su larında sefoperazon-sulbaktamın M K düzeyleri

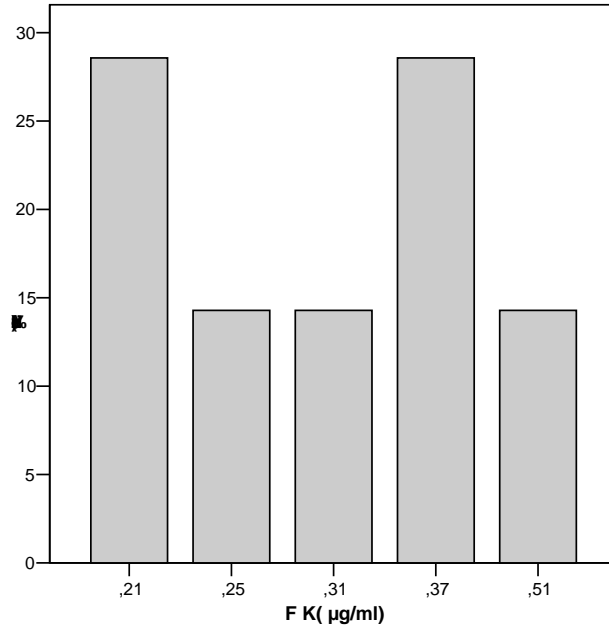


**ekil 14.** *A. baumannii* su larında sefoperazon-sulbaktamın M K düzeyleri

### 3.8. 1.Kolistin+Rifampisin kombinasyonunda F K Düzeyleri

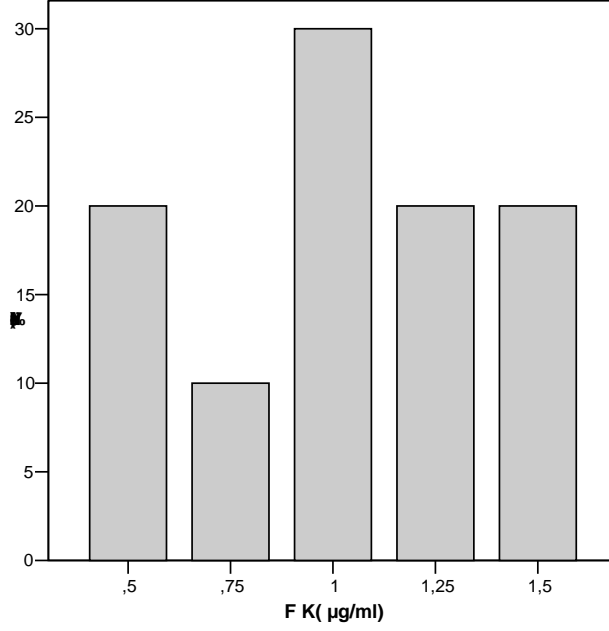


ekil 15. *P. aeruginosa* su larında KOL+R F kombinasyonunun F K düzeyleri

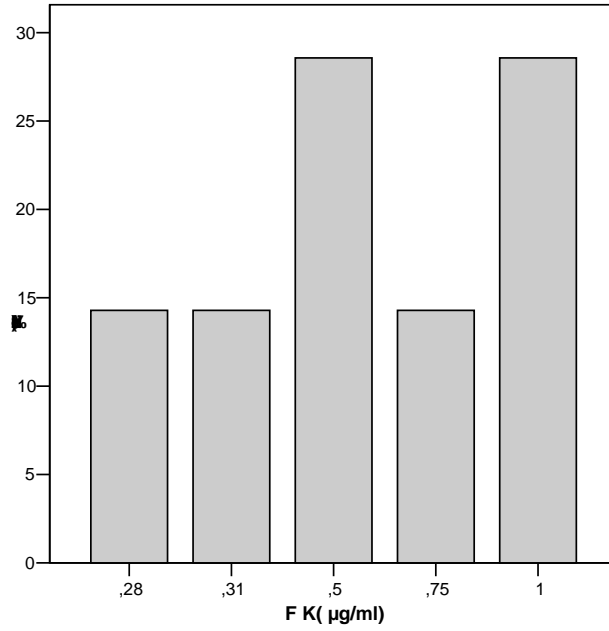


ekil 16. *A. baumannii* su larında KOL+R F kombinasyonunun F K düzeyleri

### 3.8. 2. Kolistin+Meropenem kombinasyonunda F K Düzeyleri

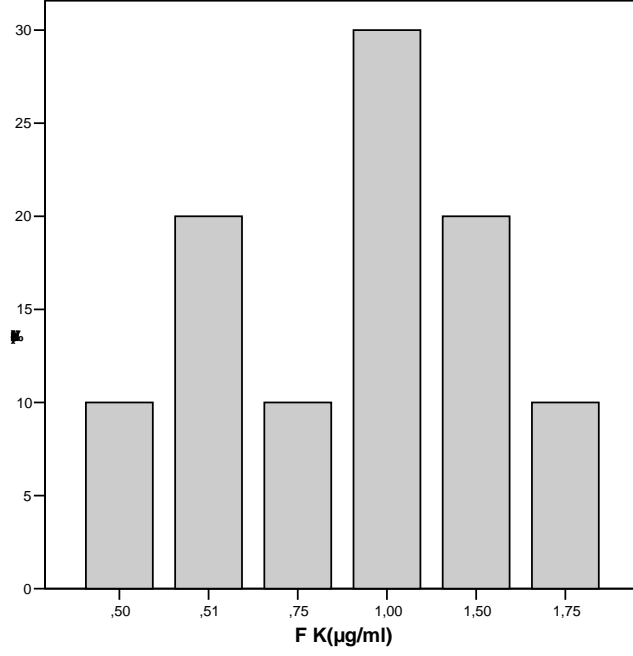


ekil 17. *P. aeruginosa* su larında KOL+MEM kombinasyonunun F K düzeyleri

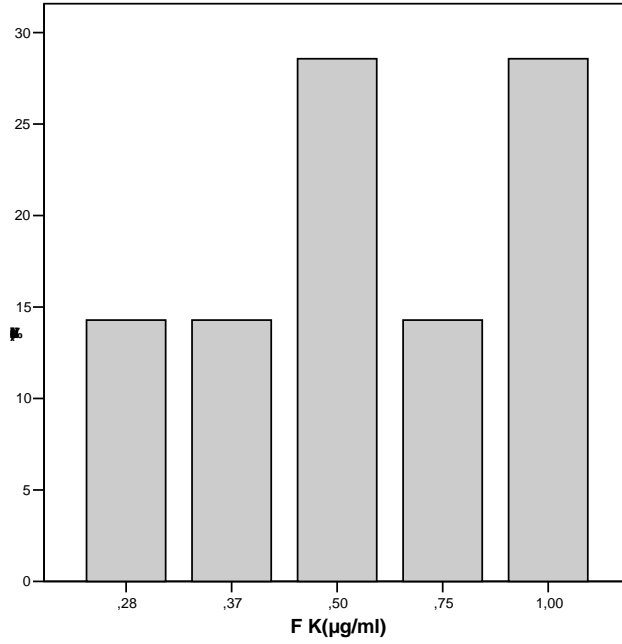


ekil 18. *A. baumannii* su larında KOL+MEM kombinasyonunun F K düzeyleri

### 3.8.3. Kolistin+ mipenem kombinasyonunda F K Düzeyleri



ekil 19. *P. aeruginosa* su larında KOL+ PM kombinasyonunun F K düzeyleri



ekil 20. *A. baumannii* su larında KOL+ PM kombinasyonunun F K düzeyleri



**Tablo 10.** Çalışılan antibiyotiklerin M K ortanca, M K<sub>50</sub>, M K<sub>90</sub> de erleri ve M K sınırları

		M K ortanca de er (µg/ml)	M K <sub>50</sub> (µg/ml)	M K <sub>90</sub> (µg/ml)	M K sınırları
Kolistin	PA	1	2	4	0.5/8
	AB	2	2	4	0.5/8
Meropenem	PA	4	4	32	0.5/128
	AB	4	4	64	1/128
mipenem	PA	8	8	32	0.25/128
	AB	2	2	8	0.25/64
Sefoperazon- sulbaktam	PA	32	32	128	1/128
	AB	32	32	128	2/128
Doksisiklin	PA	4	4	8	2/32
	AB	1	1	16	0.25/64
Rifampisin	PA	8	8	16	4/32
	AB	4	4	32	1/64

**Kısaltmalar:** PA: *P. aeruginosa*, AB: *A. baumannii*

M K<sub>50</sub>, M K<sub>90</sub> de erlerine bakıldı ında; kolistin için M K<sub>50</sub>/M K<sub>90</sub> de erleri hem *P. aeruginosa* hem de *A. baumannii* için 2/4 µg/ml olup M K<sub>50</sub> de eri duyarlılık sınırları içerisinde iken, M K<sub>90</sub> de eri az hassas sınırında tespit edildi. Meropenemin her iki mikroorganizma için M K<sub>50</sub> ve M K ortanca de eri duyarlılık sınırları içerisinde iken M K<sub>90</sub> de eri dirençlilik sınırı içerisinde ölçüldü. mipenemin *P. aeruginosa* için M K<sub>50</sub> ve M K ortanca de eri az hassas sınırında, M K<sub>90</sub> de eri dirençlilik sınırı içerisinde iken; *A. baumannii* için M K<sub>50</sub> ve M K ortanca de eri duyarlılık sınırları içerisinde, M K<sub>90</sub> de eri az hassas sınırı içerisinde idi. Sefoperazon-sulbaktamın her iki mikroorganizma için de M K<sub>50</sub>/ M K<sub>90</sub> ve M K ortanca de erleri dirençlilik sınırında saptandı. Doksisiklin için M K<sub>50</sub> ve M K ortanca de eri duyarlılık sınırında, M K<sub>90</sub> ise dirençlilik sınırında tespit edildi. Rifampisinin M K<sub>50</sub> ve M K ortanca de erleri *P. aeruginosa* için az hassas sınırında, *A. baumannii* için ise duyarlılık sınırında iken; M K<sub>90</sub> de eri dirençlilik sınırı içerisinde saptandı.

#### 4. TARTI MA

Hastane enfeksiyonları yüksek morbidite, mortalite oranları ve ek tedavi maliyeti nedeni ile günümüzün en önemli halk sağlığı sorunlarından biridir. Gelişmiş ülkelerde HE sıklığı %5-10 arasında görülürken, gelişmekte olan ülkelerde bu oran %25'e kadar yükselmektedir (57). GSBL üreten suşların çoğu hastane kökenli olup toplum kökenli suşlarda bu enzimin üretimi daha az görülmektedir. Özellikle hastane ortamında GSBL üreten bakteri kolonizasyonları görülmekte ve hastane kaynaklı salgınlara neden olmaktadır (29).

Nonfermentatif gram-negatif basiller özellikle YBÜ'lerinde önemli oportunistik nozokomiyal patojenlerdir. Hastanedeki yatakların %10'unu oluşturan YBÜ'leri, tüm HE'lerinin %20-25'inin geliştirdiği birimlerdir (58). *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* suşları HE etkenleri arasında giderek daha sık görülen ve direnç nedeni ile tedavisi sorun oluşturan mikroorganizmalardır (59)

Latin Amerika ülkelerini kapsayan çok merkezli bir çalışmada, 5 yıllık süreçte karbapenemlerin de içinde bulunduğu antipseudomonal ajanlara karşı direncin yıllara göre artışı gösterildiği ve direnç oranının %40'a ulaştığı belirlenmiştir (60).

Ülkemizde 16 farklı merkezi kapsayan bir çalışmada, YBÜ'lerinde *P. aeruginosa* suşlarında %52, *Acinetobacter* suşlarında %46 oranlarında imipenem direnci görülmesi, YBÜ'lerindeki direnç problemini ortaya koyması bakımından önemlidir (61).

*P. aeruginosa* suşlarının klinik örneklerle göre dağılımına bakıldığında Akçay ve ark.'nın (62) çalışmalarında ilk sırayı trakeal aspiratlar almaktadır. Tunçbilek ve ark. (63) 94 *P. aeruginosa* suşunun 64'ünün yara yeri, 26'sının idrar, ikisinin kan, ikisinin trakeal aspirat kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir. *Acinetobacter* suşlarının izole edildikleri klinik örneklerin dağılım oranları ile ilgili yapılan çalışmalarda Dizbay ve ark. (64) sıklık sırasını trakeal aspirat (%65), idrar (%11), yara (%11), balgam (%11); Erol ve ark. (65) yara (%46.7), solunum yolu (%28.3), idrar (%10), kan (%10) olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise dağılıma bakıldığında sonuçlar yukarıdaki çalışmalarıyla uyumlu olup sıklık sırasına göre ilk sırayı ETA alırken bunu idrar, kan ve yara materyali takip etmiştir (Sırasıyla %74.7, %13.6, %7.8 ve %3.9 oranlarıyla).

Antibiyotik direnç paternleri hastaneden hastaneye, hatta aynı hastanenin farklı servislerinde bile de i iklik gösterebilmektedir. Özellikle ampirik tedavide klinisyene yol gösterici olması amacıyla direnç paternlerinin ortaya konması oldukça önem arzeder. Bu nedenle belirli aralıklarla duyarlılık testleri yapılarak bölgesel antibiyotik direnç paternleri belirlenmelidir. Antibiyotik kullanımı ile antibiyotik direnci arasında oldukça yakın ili ki oldu u bilinmektedir. Özellikle hastanelerde antibiyotiklerin kontrolsüz kullanımı sonucu sıklıkla dirençli su ların seleksiyonuna ba lı olarak hızla direnç geli ebilmektedir. Buna kar ın kullanımı kısıtlanan antibiyotikler ise belirli bir zaman dilimi içerisinde yeniden etkin hale gelebilmektedir (65-67).

Bir çok antibiyoti e do al olarak dirençli olmasının yanı sıra mutasyonlar sonucunda hemen hemen tüm antibiyotiklere dirençli izolatların ortaya çıkması *P. aeruginosa* su larının HE' larında en önemli bakterilerden biri olmasına yol açmı tır (14). *P. aeruginosa*'da bulunabilen çoklu ilaç direnci, tedavide ba arısızlı a yol açabilmektedir.

*P. aeruginosa*'da bulunan ilaç direnciyle ilgili literatürde pek çok yayına rastlamak mümkündür. Yunanistan'da 2003 yılında yapılan bir çalı mada *P. aeruginosa* izolatlarında anti-pseudomonal ajanlara direnç oranları verilirken karbapenem direncine dikkat çekilmi tir. Yunanistan'da 1996 -1998 yılları arasında karbapenem direnci %19 iken, 2003 yılında yayınlanan raporda karbapenem direncinin %35'e yükseldi i belirtilmektedir ( 68, 69).

*P. aeruginosa*'da ilaç direnci ile ilgili ülkemizde de yapılan pek çok çalı maya rastlamak mümkündür. Cevahir ve ark.'larının (70) 1998-2000 yılları arasında çe itli klinik örneklerden ayrı tırılan *P. aeruginosa* izolatlarında amikasin direncini %54.2, seftazidim direncini %64.7, siprofloksasin direncini %37.1, imipenem direncini %37.3 ve meropenem direncini %43.8 olar ak saptamı lardır. Akçay ve ark.'larının (62) 2003 yılında Haydarpa a Numune Hastanesi'nde HE'larından tanımlanan *P. aeruginosa* izolatlarının %19'unun imipeneme ve %32'sinin meropeneme dirençli oldu unu saptamı lardır . mipenemin *P. aeruginosa* için M K de erleri göz önüne alındı ında; çalı maya alınan 100 su un %67'si duyarlı, %14'ü orta duyarlı, %19'u dirençli bulunmu tur. Meropenemin *P. aeruginosa* için M K de erleri göz önüne alındı ında; çalı maya alınan 100 su un

%60'ı duyarlı, %8'i orta duyarlı, %32'si dirençli olarak saptanmıştır. Erdemolu ve ark. (71) GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi'nde YBÜ'nde yatan hastaların kan kültürlerinden ayrı tırılan *P. aeruginosa* izolatlarının %40'ının karbapenem, %50'sinin seftazidim ve %66'sının aztreonam direncine sahip olduğunu rapor etmişlerdir. MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) sonuçlarında ise *P. aeruginosa* suşlarında direnç oranları aminoglikozidlere %56, seftazidime %48, siprofloksasine %54 ve meropeneme %45 olarak bulunmuştur (72).

Leblebicio lu ve ark. (59) tarafından 1999 yılında gerçekleştirilen ve Türkiye'deki 16 YBÜ'sini kapsayan çalışmada 1100 hastadan izole edilen 1479 gram-negatif bakterinin % 28.2'sini oluşturan *P. aeruginosa* en sık izolat olup, en etkin görünen imipeneme dahi ancak %68 duyarlılık saptanmıştır. Aynı yayında, önceki 5 yılda aynı yöntemle yapılan çalışmalarda elde edilen direnç oranları ile karşılaştırıldığında, genelde kullanımı artan antibiyotiklere direnç oranlarının artışı gösterilirken, direnç artışı hızının öngörülemez olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle ampirik tedavinin doğru olarak yönlendirilmesi için devamlı surveyans gereklidir.

Yukarıda sözü edilen çalışmalarda, araştırmacıların da belirttiği gibi *P. aeruginosa* izolatlarında geçmiş yıllara göre hızla artan karbapenem direnci dikkat çekicidir. Karbapenem grubu antibiyotiklere karşı gelişen dirençten birçok mekanizma sorumlu olabilmektedir. Bakterinin ilaç atım pompası ile meropeneme, dışı membran geçirgenliğinin azalması ile imipeneme, bazı OXA tipi geniş spektrumlu beta-laktamazlar ve yüksek düzeyde kromozomal AmpC enzimi sentezleyen dereprese mutantların varlığı nedeniyle de hem imipeneme hem de meropeneme direnç kazanabildiği bilinmektedir. Ancak son yıllarda üzerinde en çok durulan karbapenem direnç mekanizması, bu antibiyotikleri ve monobaktamları da tanıyan tüm diğer beta-laktamları hidroliz etme yeteneğine sahip MBL'ların varlığıdır. MBL gen varlığının önemi, hem karbapenemler dahil olmak üzere pek çok antibiyotiklere direnç gelişimine neden olması, hem de direnç genlerinin horizontal yayılımı ile diğer bakterilere kolaylıkla geçebilmesidir. MBL genlerini taşıyan integronlarda, sıklıkla aminoglikozit direncine neden olan enzimleri kodlayan gen kasetleri de bulunmaktadır. Bu durumda bakteri beta-laktam antibiyotiklerin yanında aminoglikozitlere de direnç geliştirebilmektedir (73).

Ülkemizde yapılan çalı malarda sefoperazon-sulbaktam duyarlılı ının *P. aeruginosa* su larında %57-75, *Acinetobacter* su larında ise %74-91 oranlarında oldu u belirtilmektedir (64). Çalı mamızda *P. aeruginosa*'da sefoperazon-sulbaktam duyarlılı ı %41.5, meropenem duyarlılı ı %59.3 ve imipenem duyarlılı ı %46.6 olarak bulundu. Sonuçlar, gerek ülkemizden gerekse yurt dı ndan yapılan yayınlardaki sonuçlarla kar ıla tırıldı nda; *P. aeruginosa* için sefoperazon-sulbaktam (%41.5) ve imipenem (%46.6) duyarlılı ının çalı mamızda daha dü ük oldu u, meropeneme (%59.3) olan duyarlılı m ise yukarıda belirtilen çalı ma sonuçları ile uyumlu oldu u nu gördük.

*Acinetobacter* 1980'li yıllardan bu yana HE'lerinde ço ul dirençli etken olarak izole edilmeye ba lanmı tır. Ülkemizde de bu bakterilerde görülen antibiyotik direnci tedavide sıkıntılar yaratmaktadır. Hem intrinsik hem de kazanılmı mekanizmaların sonucu olarak yüksek düzey direnç nedeniyle *A. baumannii* enfeksiyonlarının eradikasyonu da sıklıkla zordur. Az sayıda ilaç *A. baumannii* türlerine etkili olabilmektedir, sonuç olarak etkili antimikrobiyallere gereksinim oldu u a ikârdır (74, 75).

Bodur ve ark. (76) Ankara Numune E itim ve Ara tırma Hastanesi'nde Mart 2003-A ustos 2003 tarihleri arasında YBÜ'lerinde mekanik ventilatöre ba lı 81 hastayı izlemi ler ve 26'sında V P saptamı lardır. Pnömonili hastalardan en sık izole edilen (%34,5) etkenin *Acinetobacter* türleri oldu u saptanmı tır. Ülkemizde yapılan çok merkezli YBÜ kökenli bakterilerin direnç sürveyansı çalı malarında *A. baumannii* kökenlerinde antibiyotik direnç oranlarının çok yüksek oldu u görülmektedir. Karbapenemler *Acinetobacter* türlerine kar ı en etkili antibiyotikler olmakla birlikte günümüzde imipenem direnci %20'den fazladır ( 77).

MYSTIC sonuçlarına göre *Acinetobacter* su larında meropeneme %42, imipeneme %48, seftazidime %84, siprofl oksasine %79 ve aminoglikozidlere %57 oranında direnç bulunmu tur (72). Gazi ve ark. (78) yaptıkları çalı mada YBÜ'sinden izole edilen *A. baumannii* izolatlarının %20-30'unun amikasine, yakla ık %40'ının karbapenemlere, %57'sinin siprofloksasine, üçte ikisi nden fazlasının beta-laktamlara dirençli oldu u saptanmı tır. Bu direnç yüksekli i YBÜ'de antibiyotiklerin proflaktik ve ampirik olarak daha yaygın kullanılmasının önemli bir etken oldu unu dü ündürmektedir. Ülkemizde yapılan bir çalı mada,

YBÜ’de geli en HE etkeni olarak izole edilen *Acinetobacter* türlerinde dört yıllık bir süreçte imipenem direncinin 1995 yılında %6 iken, 1999’da ise %63’e ula tı ı gösterilmi tir (79). Çalı mamızda, *A. baumannii*’de meropenem duyarlılı ı %55.5 bulunmu ken, imipenem duyarlılı ı daha yüksek oranda saptandı. (%69.5). Sonuçlarımız yukarıda bahsedilen çalı ma sonuçlarıyla uyumlu olup imipenem duyarlılı ı meropenemden daha yüksek idi.

Gram-negatif bakteride çoklu ilaç direnci ve tedavide ya anan güçlükler dünya çapında ciddi bir ekilde artan bir problemdir. Acilen yeni tedavi seçenekleri gerekmi tir, fakat günümüzdeki ara tırmalar yakın gelecekte bu ba lamda özellikle umut verici antimikrobiyal bulunmasının mümkün olmadı ını göstermektedir. Bundan dolayı yeni antibiyotikler geli tirilene kadar geçici önlem olarak son zamanlarda geçmi te Ç D bakterilerin tedavisinde kullanılan eski ilaçlar gündeme gelmi tir (75, 80).

Karbapenem dirençli *A. baumannii* su larının neden oldu u ya amı tehdit eden enfeksiyonların tedavisinde sıklıkla yalnız kolistin duyarlıdır ki bu durum klinisyenlerin çözmesi gereken ciddi bir sorundur . Bazı otörler, bu antibiyoti in kullanımı ile ilgili ba arılı sonuçlar bildirmi olmalarına kar ın, klinik deneyim sınırlıdır (81, 82). Saballs ve ark. (83) karbapenem-dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisi için rifampisin/imipenem kombinasyonunun etkisini ara tırdıkları çalı malarında 14 hastadan 7’sinde *A. baumannii*’ye *in vitro* duyarlılık testinde yüksek düzeyde rifampisin direnci geli imini göstermi lerdir (%70). Montero ve ark. (84) karbapenemlere duyarlılı ı azalan su lara imipenemle birlikte aminoglikozid kombinasyonu, yüksek seviyede imipenem direncinde ise imipenem, kolistin, rifampisin veya tobramisın kombinasyonunu önermektedir. Polimiksin, imipenem ve rifampisin veya azitromisin üçlü kombinasyonunun Ç D *A. baumannii* su larına kar ı *in vitro* sinerjik etkili oldukları bildirilmekle birlikte bu su larla ve özellikle karbapeneme dirençli su larla olu an enfeksiyonlarda *in vivo* sinerji gösterilememi tir. Bu nedenle söz konusu kombinasyonun ampirik olarak kullanımı önerilmemektedir.

Ba ka bir çalı mada ise imipenem ile imipeneme dirençli su enfeksiyonlarında uygulanan kolistinin etkinli i kar ıla tırılmı ve kolistin, klinik ba arı (%57), V P ile ili kili mortalite ve yan etki olarak renal yetmezlik sıklı ı

açısından imipenem kadar etkin ve güvenli bulunmuştur. Sulbaktam, *Acinetobacter* türleri üzerine bakterisidal etkilidir. Beta laktam antibiyotikle kombine edilmiş sulbaktam (sefoperazon+sulbaktam, ampicilin+sulbaktam) tedavide iyi bir alternatiftir. Farklı çalışmalarda kolistin ile santral sinir sistemi, ampicilin-sulbaktam ile de pnömoni olgularında daha başarılı bulunmuştur. Kolistin ile pnömoni tedavisindeki başarı yaklaşık %25 bulunmuştur (59).

Kolistin, polimiksin ailesine mensup eski bir antimikrobiyaldir. Yetersiz farmakokinetikleri ve nefrotoksitesi konusundaki kaygılardan dolayı parenteral tedavi olarak kolistin kullanımı sınırlandırılmıştır. Bu antimikrobiyalın *in vitro* aktivitesini de engelleyen araştırmalar, *S. maltophilia*'ya karşı olduğu kadar hem *P. aeruginosa* hem de *A. baumannii*'nin ÇD suşlarına karşı yüksek derecede aktif bir ilaç olduğunu bildirmiştir (75, 80, 85, 86). Kolistin, toksik etkisi nedeniyle çok sık kullanılmayan, genelde etkili fakat özellikle pnömoni varlığında etkinliği düşük bulunan, *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında kullanılabilecek bir seçenek konumundadır. Polimiksin B ile trimetoprim-sülfametoksazol, azitromisin ve rifampin kombinasyonları da denenmektedir (59).

Son yıllarda ÇD *A. baumannii*, *P. aeruginosa* veya *K. pneumoniae* bakterilerinin neden olduğu enfeksiyonlarda ve özellikle de kolistin dışındaki tüm antibiyotiklere dirençli olan bakteri enfeksiyonlarında kolistin tedavisi yeniden gündeme gelmiş ve tedavide kullanılmaktadır. ÇD *P. aeruginosa* veya *A. baumannii*'nin neden olduğu nosokomial pnömonilerde kolistine klinik yanıt oranları %25-73.3 arasında değişmektedir. Yine aynı bakterilerin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonlarında klinik yanıt oranları %66-88 arasında değişmektedir. Kan dolaşımı enfeksiyonlarında daha etkili görünmektedir. Genellikle yapılan çalışmalarda kolistin tek başına kullanılmadığı ve mutlaka başka bir antibiyotik ile kombine olarak kullanıldığı da göz önünde bulundurulmalıdır. Kolistin, gram-negatif bakterilere karşı hızlı bakterisidal etkilidir (80, 84, 87, 88).

Hachem ve ark. (89) çalışmalarında kanserli diğer antipseudomonal ajanlarla tedavi edilmiş 64 hastanın 20'sinde (%31) klinik yanıt görülmüşken, kolistinle tedavi edilmiş 31 hastanın 16'sında (%52) klinik yanıt görülmüştür. Pnömoni ve bakteremili hastalarda tipik olarak üriner sistem enfeksiyonu ve yara enfeksiyonlarından daha az yanıt görülmüştür. Ayrıca tam yanıt oranı kolistin grubu

için daha yüksek olmu tur ve kolistin kapsayan rejimler bakteremi ve pnömoniye karşı daha etkili bulunmu tur. Yine bu çalı mada kolistin yanıtı olmayan hasta grupları arasında mortalite oranı, diğer antipseudomonal ilaçlara yanıt alın amayan kontrol grubundan daha yüksek saptanmı tır (Sırasıyla %53 ve %25).

Koomanachai ve ark.'larının (90) yaptıkları bir çalı mada *Ç D A. baumannii* ve *P. aeruginosa*'nın tedavisinde kolistin alan hastalarda daha az mortalite ve olumlu klinik sonuçlar gözlenmi , %94.9 oranında mikrobiyolojik yanıt saptanmı tır. Yine bu çalı mada nefrotoksisite kolistin alan hastaların %30.8'inde bulunmu ; bu hastalarda nefrotoksisite renal replasman tedavisi gerektirmeksizin reversibl ve hafif olarak gözlenmi . Bu hastalarda nörotoksisite ve ilaç reaksiyonu saptanmamı . Azap ve ark.'larının (91) 2005 yılında yaptıkları bir çalı mada duyarlılık sınırı 4mg/ml olarak kabul edildi inde *P. aeruginosa* su larında (55 su un 52'si) %94.1, *A. baumannii* su larında (48 su un 46'sı) %95.8 kolistine duyarlılık bulunmu . Ek olarak, Garnacho-Montero ve ark. (82) *A. baumannii*'nin duyarlılı na uygun olarak kolistin ile veya imipenem ile tedavi edilmi V P'li hastalarda benzer klinik yanıt bildirmi lerdir. Kasiakou ve ark. (92) yaptıkları bir çalı mada intravenöz kolistin tedavisi almı 28 *A. baumannii* su undan yalnız 1'inin kolistine dirençli oldu u bulunmu ken 23 *P. aeruginosa* su unun hiç biri kolistine dirençli bulunmamı . Yine bu çalı mada *A. baumannii*'de imipenem direnci %60.7, meropenem direnci %3.6, kolistin direnci ise %3.6 olarak saptanmı . *P. aeruginosa*'da ise imipenem direnci %42.9, meropenem direnci %50, kolistin direnci ise %0 olarak saptanmı .

Rifampisin, azitromisin, doksisisiklin ve meropenem ile karşı tırıldı nda kolistin test edilen izolatlarla karşı en iyi *in vitro* aktivitesinin oldu u bulunmu tur (*P. aeruginosa* ve *A. baumannii* için sırasıyla %89 ve %100 duyarlılık oranlarıyla). Ne yazık ki son zamanlarda *Ç D A. baumannii*'de kolistin direncinin ortaya çıkı ı bildirilmi tir Direncin mekanizması en çok *P. aeruginosa*'da çalı ılmı tır ve primer olarak dışı membran proteini OprH'da ortaya çıkan dışı iklilerden kaynaklandı ı görülmü tür (93). Çalı mamızda da kolistin; rifampisin, doksisisiklin, sefoperazon-sulbaktam, meropenem, imipenem ile karşı tırıldı nda her iki bakteriye karşı en iyi *in vitro* aktivite gösteren antimikrobiyal ajan olarak saptandı (*P. aeruginosa* ve *A. baumannii* için sırasıyla %83.8 ve %86.1 duyarlılık oranları ile).



Kallel ve ark. (94) alı malarında 75 hastanın 7'sinde renal yetmezlik saptamı lardır (%9). Ancak son zamanlardaki veriler kolistinini  D *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'nin neden oldu u sepsisin tedavisinde di er antimikrobiyaller kadar güvenli olarak bildirmektedir (95, 96).

Doksisiklin, toksik olmayan ve ucuz bir antimikrobiyal ajandır. Hem *in vivo* hem *in vitro* alı malar bu ajanın *A. baumannii*'nin  D su larına kar ı iyi antimikrobiyal aktiviteye sahip oldu unu ve doksisiklin ve amikasin kombinasyonunun bu su lara kar ı sinerjistik oldu unu göstermi tir (75, 97). Timurkaynak ve ark. (93) alı malarında doksisiklin duyarlılı nı *P. aeruginosa* su larında %48, *A. baumannii*' su larında ise %92 olarak saptamı lardır. Yukarıdaki alı ma sonuçlarıyla uyumlu olarak çalı mamızda *A. baumannii* için doksisiklin duyarlılı ı %75, *P. aeruginosa* için ise %51.7 olarak saptandı.

Bir ara tırma *A. baumannii*'ye kar ı rifampisinini *in vitro* bakterisidal aktivitesi oldu unu belirtmi tir (98). Timurkaynak ve ark. (93) alı malarında rifampisine duyarlılı ı *P. aeruginosa* su larında %3, *A. baumannii*' su larında ise %64 olarak saptamı lardır. Çalı mamızda 106 *P. aeruginosa* su unun 13'ü (%11) ve 34 *A. baumannii* su unun 24'ü (%66.7) rifampisine duyarlı idi.

*Acinetobacter* spp ve *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde geli en direnci minimize etti inden ve sinerjik aktiviteyi potansiyalize etti inden kombinasyon tedavisi önerilmi tir (Duyarlılık sonuçlarından önce).  D kökenlerde bile sinerjistik etkinin görülebilece i bildirilmi tir (99). Nitekim bizim çalı mamızda da  D kökenler arasında sinerjistik etkile im saptandı.  D su lara kar ı kolistinini iyi *in vitro* aktivitesi klinik çalı malarda kullanımında umut verici sonuçlar do urmu tur. Ciddi *A. baumannii* enfeksiyonlarında monoterapiyi destekleyen randomize çalı malar yoktur ve ciddi morbidite ve mortalite nedeniyle kombinasyon tedavisi ön plana çıkmaktadır (100, 101).

Kolistinini klinik etkisinin de erlendirildi i çalı malarda bu ajan bakteriyel eradikasyon kadar tüm ilaçlara dirençli veya  D gram -negatif bakterilerin neden oldu u enfeksiyonlara ker ı hem tek ba nına hem de beta -laktam antibiyotiklerle kombinasyonda etki gösterebilmi tir (96, 102). Tascini ve ark. (98) ; kolistin ve rifampisin kombinasyonunun bakterisidal aktivitesinin oldu unu ve  D *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına kar ı klinik olarak etkili oldu unu göstermi tir.

Uzmanlar bu kombinasyonun aynı zamanda direnç gelişimini önlemede etkili olabileceğine sonucuna varmıştır. Giamerellos-Bourboulis ve ark.'larının (11) yaptıkları bir çalışmada kolistin *in vitro* aktivitesinin rifampisin varlığında büyük ölçüde arttığı ve kolistin ve rifampisin arasındaki sinerjinin uygulanmış kolistin konsantrasyonuna bağlı olduğunu saptanmıştır. Bu çalışmada kolistin Ç D izolatlarla oluşan enfeksiyonlar için yalnız kullanımını sınırlandırır, bu çalışmada sonuçları bu gibi enfeksiyonlar için rifampisinle uygulanmasını önermektedir.

Sinerji çalışmaları, *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'nin Ç D suşlarına karşı sulbaktam/ampisilin veya kolistin ile bu ilacın kombinasyonlarının sinerjistik olarak etkili olduğunu göstermiştir (9-11, 98). Yoon ve ark. (10) yaptıkları bir çalışmada, polimiksin B+imipenem ve polimiksin B + rifampisin test edilen sekiz izolata karşı yedisine karşı bakterisidaldir. Polimiksin B-rifampisin-imipenemin üçlü kombinasyonu dama tahtası ve zaman öldürme çalışmaları ile tüm izolatlara karşı sinerjistik bulunmuştur. Ayrıca Ç D *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisi için *in vitro* olarak seftazidim+kolistin, polimiksin B+rifampin, polimiksin B+imipenem, tikarsilin+tobramisin+rifampin, seftazidim veya sefepim+kinolon, azitromisin+tobramisin+doksisiklin+trimetoprim veya rifampin, klinik olarak ise sefepim+amikasin, polimiksin+karbapenem, aminoglikozid, kinolon veya beta-laktam antibiyotikler etkili kombinasyonlar olarak saptanmıştır. Çoklu solid organ transplant alıcısının olduğu 23 hastada gelişen Ç D *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde kolistin etkinliği, monoterapi veya farklı antipseudomonal ajanlarla kombine olarak araştırılmış ve sırasıyla %60 ve %62 etkili bulunmuştur. Düşük süperenfeksiyon sıklığı ve beklenenden düşük yan etki sıklığı en önemli bulgular olan bu çalışmada baktereminin mortalite için risk faktörü olduğu ve monoterapi sırasında direnç gelişiminin söz konusu olabileceği saptanmıştır (59). Sinerji çalışmamızda ise her iki bakteriye karşı en etkili kombinasyon kolistin+rifampisin kombinasyonu idi. Kolistin+imipenem ve kolistin+meropenem kombinasyonu ise her iki bakteriye karşı etkili olmasına rağmen *A. baumannii*'ye karşı *P. aeruginosa*'dan daha etkiliydi.

Direnç nedeniyle tedavi başarısızlıklarının en aza indirilmesi, ancak duyarlılık testlerinin standart bir yöntem ile uygulanması ve sonuçlarının doğru yorumlanması ile mümkündür (39). Antimikrobik ilaçlara karşı duyarlılık bir çok

yöntemle saptanabilmektedir. Günlük uygulamalarda en çok tercih edilen yöntem, disk diffüzyon testidir. Kalitatif olan bu testte sonuç bir inhibisyon zonu bulunup bulunmamasına göre de il, bu inhibisyon zonu çapının standart tabloların verdi i inhibisyon zonu çapları ile kıyaslanarak dirençli ya da duyarlı olmasına göre verilmektedir. Güvenilir sonuç alabilmek için test standartlara uygun uygulanmalıdır . Disk diffüzyon yöntemi daha kolay uygulanabilece inden daha çok tercih edilebilir. Ancak sınır zonu çap de erleri elde edildi inde mikrodilüsyon yöntemlerine ihtiyaç duyulabilir. Ayrıca *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'nin pek çok su u klavulanata dirençli oldu unda (PER-1 ve PER-2 plazmid kaynaklı olup klavulanata dirençlidirler) çift disk sinerji testi ile de saptanamamaktadır. Bununla birlikte dilüsyon temeline dayanan testler kantitatif sonuç verdi i için tercih edilmektedir . Bu yöntem dilüsyon duyarlılık testi etkili mikrodilüsyon metodu olarak daha sıklıkla kullanılmaktadır (12).

Antibiyotik kombinasyonlarının *in vitro* etkile imlerini do ru olarak gösteren bir yöntemin geli tirilmesi yıllardır ara tırmacıların hedefi olmu tur. Yaygın olarak kullanılan dama tahtası ve zamana ba lı ölüm yöntemlerinin uygulanmasında ve yorumlanmasında bazı kısıtlamalar bulunmaktadır. Dama tahtası yöntemi katı ya da sıvı ortamda mikro ya da makrodilüsyonlarla uygulanabilir. Makrodilüsyon paneli olu turmak oldukça karma ık ve zahmetli oldu undan rutin laboratuvarlarda en sık mikrodilüsyon dama tahtası yöntemi kullanılır. Çalı mamızda da mikrodilüsyon dama tahtası yöntemi seçildi. Dama tahtası yöntemi ile bakterinin üremesinin inhibisyonuna ait veriler elde edilir. Bu yöntem kulla nılarak bakterisidal etkinlikte belirlenebilir. Dama tahtası yönteminde rutin laboratuvarlarda uygulama prati i açısından iki katlı dilüsyonlar kullanılır. Bu durum yüksek düzeyde dirençli kökenlerde konsantrasyonlar arasındaki fark büyüdükçe teknik sorunla ra neden olabilir ve sinerjistik etkile imin de erlendirilmesinde hatalara yol açabilir ( 99).

Zamana ba lı ölüm yöntemi de standardize edilememi tir. Teknik uygulamadaki zorluklar, kısıtlı sayıda antibiyotik kombinasyonunun kullanılabilmesi ve testin sekiz saat ile yirmidört saatlik de erlendirmesi arasında saptanan uyumsuzluklar bu testin dezavantajlarıdır. Kombinasyonun bakterisidal etkinli ini ölçmesi ve etkile imin zamana ba lı daha dinamik de erlendirmesine olanak sa laması özellikleri ile dama tahtası yönteminden daha üstündür. Bu yöntem ile

saptanan bakterisidal etkileşimin doğrudan olarak değerlendirilebilmesi için kullanılan antibiyotik kombinasyonlarının enfeksiyon bölgesinde *in vivo* koşullarda ulaşılabilecek konsantrasyonlar olması gerektiği unutulmamalıdır (42, 43). Zamana bağlı ölüm testi yöntem açısından tanısal mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanıma çok uygun değildir. Nitekim, polimiksinler için uygun duyarlılık testi metodu net tanımlanmamıştır.

Bağımlılık sistemi baskılanmış hastaların yaşam sürelerinin artması ve ÇD bakterilerin tedavisi için antibiyotik kombinasyonlarının sıklıkla kullanılması günümüzde, sinerji testlerinin rutin uygulamada kullanılabilmesi düzeyinde standardize edilebilmesi önemlidir.

Görüldüğü gibi günümüzde *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* enfeksiyonlarının tedavisi giderek azalan alternatifler ile sağlanmaya çalışılmakta; klasik bilgilerin dışında çıkarılabilen kombinasyonların etkinliği araştırılmaktadır. Bu nedenle direncin önlenmesine yönelik çalışmalar önem kazanmıştır (84).

Sonuç olarak *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*, aerobik gram-negatif bakteriler arasında HE etkeni olarak en sık izole edilen ve kullanılan antibiyotiklere hızlı direnç geliştiren ve bu direnci aktarabilen bakterilerden ikisidir. Karbapenemler bakteriyel dirence karşı geliştirilmiş en geniş spektrumlu etkin beta-laktam antibiyotikler olarak bilinmekle birlikte, özellikle son dönemlerde *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* izolatlarında karbapenemaz üretimindeki artış bu antibiyotiklere direnci de beraberinde taşımaktadır. Bu enzimin tedaviyi henüz ciddi boyutlarda olumsuz etkilemese de, gelecek için sorun yaratabileceği endişesi göz ardı edilmemelidir (103). Karbapenemler pek çok merkezde *Acinetobacter* spp. için etkili bulunan antibiyotik seçeneği konumundadır. Kolistin direnç saptanmayan fakat çok toksik olması nedeniyle ancak çok özel durumlarda kullanılabilen bir seçenektir (59).

Tüm antibiyotiklere dirençli *Acinetobacter* spp. ve *Pseudomonas* spp. suşlarıyla çok sık olmasa da karşılaşmaktadır. Bu durumda tedavide kullanılabilen tüm antibiyotikler *in vitro* olarak değerlendirilmeli ve etkinliği saptanan ilaçlar kullanılmalıdır. Karbapeneme dirençli suşların artması, yeni tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması ve bu suşlarla oluşan enfeksiyonların yüksek mortaliteye

sahip olmaları nedeniyle enfeksiyon kontrol önlemleri daha ön planda dü ünülmelidir.

Kolistin ile klinik deneyim henüz sınırlıdır ve özellikle di er antibiyotiklerle kar ıla tırıldı nda ciddi enfeksiyonların tedavisindeki etkisi konusunda bilgilerimiz azdır. Kolistinin bu orta derecedeki etkisi, toksisite (reversibl nefrotoksisite ve nörotoksisite) kaygısına ra men son merci tedavi olarak potansiyel de erini arttırmaktadır (104, 105).

Sistemik kolistin tedavisi Ç D *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'nin neden oldu u hastane kaynaklı enfeksiyonların tedavisi için güvenilir ve etkili bir terapötik tercih olabilir ve imipenem dirençli su ların neden oldu u ciddi enfeksiyonlu vakalarda pek çok çalı mada kurtarma tedavisi olarak önerilmi tir. Ancak intravenöz uygulanan kolistin sonrası farmakokinetik ve farmakodinamik parametreleri de erlendirmede daha ileri çalı malara gerek vardır.

Çalı mamızda *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'ye kar ı meropenem, imipenem, sefoperazon-sulbaktam, doksisisiklin, rifampisin ile kar ıla tırıldı nda en yüksek duyarlılı a sahip ajan kolistindi. Ayrıca kolistin hem tek ba ma hem de meropenem, imipenem ile olan kombinasyonlarında sinerjistik olarak etki gösterdi. Sefoperazon - sulbaktam duyarlılık oranları dü üktü (*P. aeruginosa* için %41.5, *A. baumannii*' için %47.2 duyarlılık oranı ile). mipenemin *A. baumannii*'ye kar ı duyarlılı ı *P. aeruginosa*'dan daha yüksekti (%69.5). Rifampisin ve doksisisiklin *A. baumannii*'ye kar ı *P. aeruginosa*'dan daha etkindi. Rifampisinin *A. baumannii*'ye kar ı duyarlılı ı meropenemden yüksek iken imipenem ile benzerdi . Doksisisiklinin ise imipenemden daha etkindi (% 75 duyarlılık oranı ile ).

Bu çalı ma ile birlikte bu konuda yapılmı di er ara tırmaların sonuçlarını birarada de erlendirdi imizde, karbapenem grubu antibiyotiklerin *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* izolatları üzerine direnç artı ma ra men hala etkili oldu u, ancak bu antibiyotiklere kar ı her geçen gün direnç artı ı gözlendi i ve diren ç boyutunun karbapenem alternatifsizli ine yol açmadan önce tedbirlerin alınması gerekti i dü ünülmelidir. Özellikle ampirik antibiyotik kullanımında çok dikkatli olunmalı ve belirlenen antibiyotik direnç oranları göz önünde bulundurularak tedaviye ba lanmalıdır. Bu nedenle her hastanede periyodik olarak antibiyotik direnç oranlarının gösterilmesi tedavide yol gösterici olacaktır.

Direnç oranlarının endişe verici boyutlara ula tığı günümüzde kolistin ve kolistin ile kombinasyonlar (özellikle rifampisin ile kombinasyonları), Ç D su larının neden oldu u HE'larının tedavisi için umut verici alternatif tedavi seçene i olabilir. Yine doksisiklin ve rifampisin özellikle *A. baumannii*' ye olan etkinlikleri tedavi için alternatif olabilir. Bu şekilde alternatif ajanların geliştirilmesi gelecekte YBÜ'lerinde tedavisi büyük sorun yaratacak olan Ç D *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisi için önemlidir. Yine standardize duyarlılık belirleme bu sinerji çalış malarını yorumlama da önemlidir. Ancak, görüldü ü gibi kolistin Ç D *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde hem monoterapi hem de rifampisin veya karbapenemler gibi diğer antimikrobiyal ajanlarla kombinasyonda etkin ve güvenilir görünmesine karş ın bu konuda yapılacak daha fazla klinik çalış mayaya gereksinim vardır.

## 5. KAYNAKLAR

1. Bax RP, Anderson R, Crew J, et al. Antibiotic resistance what can we do? *Nat Med* 1998; 4:545-546.
2. Livermore DM.  $\beta$ -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microb Rev* 1995; 8:557-584.
3. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and impact of plasmid mediated extended-spectrum  $\beta$ -Lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13: 7-29.
4. Falagas ME, Kasiakou SK. Correct use of the term pan-drug resistant (PDR) gram-negative bacteria. *Clin Infect Dis* 2005; 11:1049 -1050.
5. Paterson DL. The epidemiological profile of infections with multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin Infect Dis* 2006; 43 (Suppl. 2):43-48.
6. Karlowsky JA, Draghi DC, Jones ME, Thornsberry C, Friedland IR, Sahm DF. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from hospitalized patients in the United States, 1998 to 2001. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:1681-1688.
7. Gales AC, Jones RN, Forward KR, Linares J, Sader HS, Verhoef J. Emerging importance of multidrug-resistant *Acinetobacter* species and *Stenotrophomonas maltophilia* as pathogens in seriously ill patients: geographic patterns, epidemiological features, and trends in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-1999). *Clin Infect Dis* 2001; 15:104-113.
8. Appleman MD, Belzberg H, Citron DM, et al. *In vitro* activities of nontraditional antimicrobials against multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated in an intensive care unit outbreak. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:1035-1040.

9. Giamarellos-Bourboulis EJ, Sambatokou H, Galani I. In vitro interaction of colistin and rifampicin on multidrug-resistant of *Pseudomonas aeruginosa*. J Chemother 2003; 15:235-238.
10. Yoon J, Urban C, Terzian C, Mariano N, Rahal JJ. In vitro double and triple synergistic activities of polymyxin B, imipenem, and rifampin against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48:753-757.
11. Giamarellos-Bourboulis EJ, Xirouchaki E, Giamarellou H. Interactions of colistin and rifampin on multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Diagn Microbiol Infect Dis 2001; 40:117-120.
12. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54731 clinical isolates of gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (2001-2004). Clin Microbiol Infect 2006; 12:315-321.
13. Wilmoth D, Walters PE, Tomlin R. Caring for adults with cystic fibrosis. Crit Care Nurse 2001; 21:34-44.
14. Karadenizli A, Akalın H. *Pseudomonaslar*'ın mikrobiyolojisi ve direnç mekanizmaları, Çoklu dirençli *Pseudomonas* enfeksiyonları. Öztürk R, Arman D, Ünal S, Vahabolu H, Leblebicioğlu H, Öztürk R, Ulusoy S, Ardan Y (editörler). Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen Enfeksiyonlar. Çoklu dirençli *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* enfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004: 5-17.
15. Plotkowski MC, Costa AO, Morandi V. Role of heparan sulphate proteoglycans as potential receptors for non-piliated *Pseudomonas aeruginosa* adherence to non-polarised airway epithelial cells. J Med Microbiol 2001; 50:183-190.



16. Vahabo lu H, Akhan SC. *Pseudomonas* ve di er *Pseudomonas* türleri. Topçu AW, Söyletir G, Do anay M (editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 1608 -1616.
17. Erdem B. *Pseudomonaslar*. Ustaçelebi (editör). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. baskı, Güne Kitabevi, 1999: 551 -558.
18. Aygün G, Öztürk R. *Acinetobacter* cinsi bakteriler ve enfeksiyonları. Öztürk R, Arman D. Ünal S, Vahabo lu H, Leblebicio lu H, Öztürk R, Ulusoy S, ardan Y (editörler). Yeni ve Yeniden günde me Gelen Enfeksiyonlar. Çoklu dirençli *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* enfeksiyonları. ANKARA: Bilimsel Tıp Yayınları, 2004: 20-26.
19. Screckenberger CP, Von Graevenitz A. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Methylobacterium*, and other nonfermentative gram-negative rods. Murray RP, Baran EJ, Pfaller AM, Tanuver CF, Yolken HR (editors). Manual of Clinical microbiology. 7<sup>th</sup> ed., Washington, 1999: 539.
20. Bouza E, San Juan R, Munoz P, Voss A and European Study Group on Nosocomial Infections. A European perspective on nosocomial urinary tract infections I. Report on the microbiology workload, aetiology and antimicrobial susceptibility (ESGNI-003 study). Clin Microbiol Infect 2001; 7:523 -531.
21. Öztürk R. Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekan izmaları ve günümüzde direnç durumu. Akılcı Antiibiyotik Kullanımı ve Eri kinde Toplumdan Edinilmi Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi, 2002: 83 -100.
22. Essack SY. The development of beta-lactam antibiotics in response to the evolution of beta-lactamases. Pharmaceutical Research 2001; 18:1391 -1399.
23. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39:1211 -1233.

24. Özsoy MF, Öncül O, Yıldırım A, Pahsa A. Geni lemi spektrumlu beta-laktamazlar: klinik önemi ve getirdi i sorunlar. Flora Dergisi 2001; 6:3-23.
25. Poirel L, Nordman P. Acquired carbapenem hydrolysing beta -lactamases and their genetic support. Curr Pharm Biotechnol 2002; 3:117-127.
26. Opal SM, Mayer KH, Medeiros AA. Mechanisms of antibiotic resistance. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5<sup>th</sup> ed., New York: Churchill Livingstone, 2000: 236 -252.
27. Nordmann P, Guibert M. Extended spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother 1998; 42:128 -131.
28. Nicolas-Chanoine MH. Inhibitor-resistant -lactamases. J Antimicrob Chemother 1997; 40:1-3.
29. Livermore DM, Williams JD. -lactams. Mode of action and mechanisms of bacterial resistance. Lorian V (editor). Antibiotics in Laboratory Medicine. 4<sup>th</sup> ed., Baltimore: Williams & Wilkins, 1996: 502 -578.
30. Livermore DM. Acquired carbapenemases. J Antimicrob Chemother 1997; 39:673-676.
31. Poirel L, Naas T, Nicolas D, Collet L, Bellais S, Cavallo JD, Nordman P. Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo- -lactamase and its plasmid-and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. Antimicrob Agents Chemother 2000 ; 44:891-897.
32. Livermore DM. Of pseudomonas, porins, pumps and carbapenems. J Antimicrob Chemother 2001; 47:247 -250.
33. Vahabolu H, Öztürk R, Aygün G, et al. Widespread detection of PER -1-type extended spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: A nationwide multicenter study. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41:2265 -2269.

34. Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler Class A extended -spectrum -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2385 -2392.
35. Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem -hydrolyzing -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:223-232.
36. Thomson MJ, Bonomo AR. The threat of antibiotic resistance in gram -negative pathogenic bacteria: beta-lactams in peril. *Current Opinion in Microbiology* 2005; 8:518–524.
37. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S18. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2008
38. Baker CN, Stocker SA, Culver DM, et al. Comparison of E -test to agar dilution, broth microdilution and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria . *J Clin Microbiol* 1991; 29:33-538.
39. Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rational for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1.
40. Krogstad DJ, Moellering RC. Antimicrobial combinations. Lorian V (editor). *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1986; 537-595.
41. Julia AM. Synergism testing: broth microdilution checkerboard and broth macrodilution methods. Isenberg HD (editor). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1992: 1-28.
42. Bal Ç. Antibiyotik kombinasyonlarının *in vitro* etkinli inin saptanması. *Flora* 1999; 4:219-229.

43. Gülay Z. Antibiyotik duyarlılık testlerinin hasta izleminde kullanımı: Antibiyotik kombinasyonlarının *in vitro* etkinli ini ölçen testler. Gür D, Söyletir G, Bal Ç, Dünder V, Sümerkn B, Köksal , Çiftçi U (editörler). Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu. stanbul: Turgut Yayınları, 1997: 85-100.
44. Basoli A, Az M, Mazzocchi P, Speranza V, et al. Iimipenem/silastatin (1,5 g daily) versus Meropenem (3,0 g daily) in patients with intraabdominal infections: results of prospective, randomized, multicentre trial. Scand J Infect Dis 1997; 29:503-508.
45. Endtz HP, Dijk WC, Verbrugh HA and Mustin Study Group. Comparative *in vitro* activity of meropenem against selected pathogens from hospitalized patients in the Netherlands. J Antimicrob Chemother 1997; 39:149 -156.
46. Yang Y, Bhached N, Bush K. Biochemical comparison of imipenem, meropenem and biapenem: permeability, binding to penicillin-binding proteins, and stability to hydrolysis by beta-lactamases. J Antimicrob Chemother 1995; 35:75-84.
47. Edwards JR. Meropenem: a microbiological overview. J Antimicrob Chemother 1995; 36(Suppl A):1-17.
48. White Friedrich L, Burgess D, Warkentin D, Bosso J. Comparative *in vitro* pharmacodynamics of imipenem and meropenem against *P. aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40:904 -908.
49. Çakır N. Karbapenemler. Leblebicio lu H, Usluer G, Ulusoy S (editörler). Güncel bilgiler ı ında antibiotikler. 1. Baskı, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2003: 275-286.
50. Williams JD. Beta-lactamase inhibition and *in vitro* activity of sulbactam and sulbactam/cefaperazone. Clin Infect Dis 1997; 24:494 -497.

51. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clin Infect Dis 2005; 40:1333-1341.
52. Li J, Nation RL, Turnidge JD, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Lancet Infect Dis 2006; 6:589-601.
53. Erol S. Rifampisin. Güncel bilgiler 11'inde antibiotikler. Leblebicio lu H, Usluer G, Ulusoy S (editörler). Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2008: 417 -421.
54. Saivin S, Houin G. Clinical pharmacokinetics of doxycycline and minocycline. Clinical Pharmacokinetics 1988; 15:355 -366.
55. Parlak M. Tetrasiklinler. Güncel bilgiler 11'inde antibiotikler. Leblebicio lu H, Usluer G, Ulusoy S (editörler). Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2008:375 -380.
56. Bilgehan H. Enterobacteriaceae familyası. Klinik Mikrobiyoloji, Özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları. zmir, 2000: 1 -103.
57. Yüce A. Hastane enfeksiyonlarının önemi. Yüce A, Çakır N (editörler). Hastane enfeksiyonları. 1. baskı, zmir: Gülen Kitabevi, 2003: 3 -6.
58. Tekeli E, Palabıyıkolu . Yo un bakım ünitesi enfeksiyonlarının dünü, bugünü, gelece i. Flora 2003; 8(3): 171.
59. Arman D. Çoklu Dirençli *Acinetobacter* ve *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonlarında tedavi. Öztürk R, Arman D. Ünal S, Vahabolu H, Leblebicio lu H, Öztürk R (editörler). Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen Enfeksiyonlar. Çoklu Dirençli *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* Enfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004: 27 -32.
60. Andrade SS, Jones RN, Gales AC, Sader HS. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among *P. aeruginosa* isolates in Latin America medical centers: 5 year report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). J Antimicrob Chemother 2003; 52:140 -147.

61. Yucesoy M, Yulug N, Kocagöz S, Unal S, Cetin S, Calangu S. Antimicrobial resistance of gram-negative isolates from intensive care units in Turkey: Comparison to previous three years. *J Chemother* 2000; 12(4):294 -298.
62. enbayrak Akçay S, Topkaya A, Ouzulu N, Küçükercan M, Akın Ertem S, Gökta P. Hastane enfeksiyonu etkeni *P. aeruginosa* su larında imipenem ve meropenem duyarlılığı. *Enfeksiyon Dergisi* 2003; 17(4):465 -469.
63. Tunçbilek S, Tezeren D, Balaban N, ve ark. Hastane enfeksiyonu etkeni *P. aeruginosa*'ların *in vitro* antibiyotik duyarlılıkları. *Enfeksiyon Dergisi* 1998: 361-364.
64. Dizbay M, Cabadak H, Arman D. Hastane enfeksiyonu etkeni *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* izolatları üzerine sefoperazon-sulbaktamın etkinliğinin E-test yöntemiyle araştırılması. *Ankem Derg* 2002; 16(1):4 -6.
65. Gündüz T, Sürücüoğlu S, Kurutepe S, Algün Ü, Özbakkaloğlu B. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* su larının isepamisine ve amikasine duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2003; 33:232 -235.
66. Paul RR, Ronald NJ, Helio SS and The MYSTIC Programme (US) Study Group: Results from the meropenem yearly susceptibility test information collection (MYSTIC) programme: report of the 2001 data FROM 15 United States medical centers. *Int J Antimicrob Agent* 2004; 23:52.
67. Yaylı G, Aksoy S. Hastane enfeksiyonlarından izole edilen *Acinetobacter* su larının antibiyotik duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2003; 33:61.
68. Tsakris A, Pournaras S, Woodford N, Palepou M, Babini G, Douboyas J, Livermore D. Outbreak of infections caused by *P. aeruginosa* producing VIM-1 carbapenemase in Greece. *J Clin Microbiol* 2000; 38:1290 -1292.
69. Pournaras S, Maniati M, Petinaki E, Tzouvelekis LS, Tsakris A, Legakis N, Maniatis A. Hospital outbreak of multiple clones of *Pseudomonas aeruginosa* carrying the unrelated metallo-beta-lactamase gene variants bla<sub>VIM-2</sub>, bla<sub>VIM-4</sub>. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51:1409 -1414.

70. Cevahir N, Kaleli , Demir M, Öztürk S, Mete E. Çe itli klinik örneklerden soyutlanan *Pseudomonas aeruginosa* su larında antibiyotik direncinin de erlendirilmesi. *Ankem Derg* 2003; 17:1 6-19.
71. Erdemo lu A, Ardıç N, Özyurt M. Kan kültürlerinden üretilen *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında antibiyotik direnci. *Ankem Derg* 2003; 17:397 -399.
72. Korten V. Gram negatif etkenler ve sürveyans: MYSTIC Türkiye 2000 -2003 sonuçları. 6. Febril nötropeni sempozyumu, 2003: 67-70.
73. Luzzaro F, Endimiani A, Docquier J, Mugnaioli C, Bonsignori M, Amicosante G, Rossolini G, Toniolo A. Prevalence and characterization of metallo-beta-lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004; 48:131 -135
74. Demirtürk N, Demirdal T. Antibiyotiklerde direnç sorunu. *Kocatepe Tıp Derg* 2004; 5(1):17-21.
75. Wood GC, Hanes SD, Boucher BA, Croce MA, Fabian TC. Tetracyclines for treating multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2003; 29:2072 -2076.
76. Bodur H, Erbay A, Akıncı E, Balaban N, Çolpan A. Ventilatörle ili kili pnömoni olgularının de erlendirilmesi. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi* 2005; 9:212-217.
77. Yıldız O. *Acinetobacter* Türleri. skit AT, Yorgancı K (editörler). 3. Ulusal Yo un Bakım Enfeksiyonları Sempozyumu, Yo un Bakım Dergisi 2007:144-150.
78. Gazi H, Sürücüo lu S, Kurutepe S, nmez E, ve ark. Yo un bakım ünitesi ve di er ünitelerde yatan hastalardan izole edilen *Acinetobacter baumannii* su larında *in vitro* antibiyotik direnci. *Ankem Derg* 2005; 19(3):115 -118.
79. Arda B, Yamazhan T, Ulusoy S, Özinel MA. Yo un bakım ünitelerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* türlerinin antibiyotik

duyarlılı ındaki dört yıllık de i im (1995-1999). Hastane Enfeksiyonları Dergisi 2001; 5:49-53.

80. Markou N, Apostolakos H, Koumoudiou C, et al. Intravenous colistin in the treatment of sepsis from multiresistant Gram -negative bacilli in critically ill patients. Crit Care 2003; 7:78-83.
81. Urban C, Segal-Maurer S, Rahal JJ. Considerations in control and treatment of nosocomial infections due to multidrug -resistant *Acinetobacter baumannii*. Clin Infect Dis 2003; 36:1268-1274.
82. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leiba C, Jimenez-Jimenez FJ, et al. Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem -susceptible VAP. Clin Infect Dis 2003; 36:1111 -1118.
83. Saballs M, Pujol M, Tubau F, Pena C, et al. Rifampicin/imipenem combination in the treatment of carbapenem -resistant *Acinetobacter baumannii* infections. J Antimicrob Chemother 2006; 58:697 -700.
84. Montero A, Ariza J, Corbella X, et al. Efficacy of colistin versus beta -lactams, aminoglycosides, and rifampin as monotherapy in a Mouse model of pneumonia caused by multiresistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents Chemother 2002; 46:1946-1952.
85. Antoniadou A, Kontopidou FV, Poulakou G , et al. Emerging Climycin resistant strains of *Klebsiella pneumoniae* from intensive care unit patients. Abstracts of the Forty-fifth Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington, DC, 2005. Abstracts of the Forty -fifth Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Washington DC, USA. American Society for Microbiology 2005;1507:342.
86. Duenas Diez Al, Bratos Perez MA, Eiros Bouza JM, et al. Susceptibility of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*A.baumannii* complex to imipenem, meropenem, sulbactam and colistin. Int J Antimicrob Agents 2004; 23:487 -93.



87. Linden PK, Kusne S, Coley K, Fontes P, Kramer DJ, Paterson D. Use of parenteral colistin for the treatment of serious infection due to antimicrobial resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Clin Infect Dis 2003; 37(11):154-160.
88. Levin AS, Barone AA, Penco J, et al. Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. Clin Infect Dis 1999; 28:1008-1011.
89. Hachem RY, Chemaly RY, Ahmar CA, Jiang Y, Boktour MR, Rjaili GA, et al. Colistin is effective in treatment of infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in cancer patients. Antimicrob Agents and Chemother 2007; 51:1905-1911.
90. Koomanachai P, Tiengrim S, Kiratisin P, Visanu T. Efficacy and safety of colistin for therapy of infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand. International Journal of Infectious Diseases 2007; 11:402-406.
91. Azap ÖK, Arslan H, Ergin F, nci EK, Yapar G. *In vitro* activity of colistin against nonfermentative gram-negative bacilli. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2005; 58:65-67.
92. Kasiakou SK, Michalopoulos A, Soteriades ES, Samonis G, Sermai des GJ, Falagas ME. Combination therapy with intravenous colistin for management of infections due to multidrug-resistant gram-negative bacteria in patients without cystic fibrosis. Antimicrob Agents and Chemother 2005; 49:3136-3146.
93. Timurkaynak F, Can F, Azap Kurt Ö, Demirbilek M, Arslan H, Karaman Özbalıkcı S. *In vitro* activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multidrug-resistant strains *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units. International J of Antimicrob Agents 2006; 27:224-228.

94. Kallel H, Bahloul M, Hergrafi L, Akrouf M, Ketata W, Chelly H, et al. Colistin as a salvage therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant bacteria in the ICU. *International J of Antimicrob Agents* 2006; 28:366-369.
95. Falagas ME, Kasiakou SK. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Crit Care* 2006; 10:27.
96. Falagas ME, Bliziotis IA, Kasiakou SK, Samonis G, Athanassopoulou P, Michalopoulos A. Outcome of infections due to pandrug-resistant gram-negative bacteria. *BMC Infect Dis* 2005; 5:24.
97. Rodriguez-Hernandez MJ, Pachon J, Pichardo C, et al. Imipenem, doxycycline and amikacin in monotherapy and in combination in *Acinetobacter baumannii* experimental pneumonia. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45:493-501.
98. Tascini C, Gemignani G, Ferranti S, et al. Microbiological activity and clinical efficacy of a colistin and rifampin in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Chemother* 2004;16:282-287.
99. Cappelletty DM, Rybak MJ, Comparison of methodologies for synergism testing of drug combinations against resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40:677-683.
100. American Thoracic Society: Infectious Diseases Society of America: Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator associated, and health-care associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171(4) :388-416.
101. Towner KJ. Clinical importance and antibiotic resistance of *Acinetobacter spp.* *J Med Microbiology* 1997; 46:721-746.
102. Michalopoulos AS, Tsiodras S, Rellos K, Mentzelopoulos S, Falagas ME. Colistin treatment in patient with ICU-acquired infections caused by multiresistant Gram-negative bacteria: The renaissance of an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11:115-121.

103. Livermore DM: The impact of carbapenemases on antimicrobial development and therapy, *Curr Opin Invest Drugs* 2002; 3:218 -224.
104. Catchpole CR, Andrews JM, Brenwald N, Wise R. Reassessment of the *in vitro* activity of colistin sulphomethate sodium. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39:255-260
105. Evans ME, Feola DJ, Rapp RP. Polymyxin B sulfate and colistin. Old antibiotics for emerging multiresistant gram-negative bacteria. *ANN Pharmacother* 1999; 33:960-967

## 6. ÖZGEÇM

1974 yılında Tokat'ın Zile ilçesinde doğdum. İlkokul öğrenimimi Zile'de, ortaokul ve lise öğrenimimi Ankara'da tamamladım. 1993 yılında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde tıp öğrenimime başladım. 2000 yılında mezun oldum. 2000-2002 yılları arasında Tunceli Hozat Sağlık Merkezi'nde ve Tunceli Devlet Hastanesi'nde, 2002-2004 yılları arasında Elazığ Ana-Çocuk Sağlık Merkezi'nde pratisyen hekim olarak çalıştım. 2004 yılı ocak ayında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda ihtisas öğrenimime başladım. Evli ve bir çocuk annesiyim.