

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
SUALTI HEKİMLİĞİ VE HİPERBARİK TIP ANABİLİM
DALI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**PSEUDOMONAS AERUGINOSA İÇİN POLİMİKSİN B'NİN
MİK DEĞERLERİ ÜZERİNDE FARKLI BASINÇ VE
SÜRELERDE UYGULANAN HİPERBARİK OKSİJENİN
ETKİSİ**

DR. EREN OLCAY

**DANIŞMAN
PROF.DR.AKIN SAVAŞ TOKLU**

İSTANBUL-2017

BEYAN

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

Dr. Eren Olcay

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Kendisi ile kısa süreli de olsa çalışma fırsatı bulduğum, Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı'nın kurucusu ve bilim dalının ülkemizdeki gelişimindeki emekleri için değerli hocam Prof. Dr. Maide Çimşit'e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve desteğini esirgemeyen, içinde bulunduğu zor döneme rağmen tez çalışmama olan katkıları nedeniyle, tez danışmanım Prof. Dr. Akın Savaş Toklu'ya teşekkür ederim.

Eğitim sürem boyunca verdiği bilimsel katkıların yanında, mesleğimizi nasıl icra edeceğimize dair sohbetleri, önerileri için Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Şamil Aktaş'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimimdeki katkıları, tez çalışmamın başlangıç aşamasındaki önerileri ve desteği için, Prof. Dr. Salih Aydın'a teşekkür ederim.

Arkadaşlığı ve sabrı için Uzm. Dr. Bengüsu Mirasoğlu'na teşekkür ederim.

Birlikte çalıştığım tüm hekim arkadaşlarıma, hemşire arkadaşlarıma, Sırma Abla'ya, Ali'ye, Sevgi Abla'ya, Aslı'ya, Mahir'e, Sezgin'e, Cengiz Abi'ye, kliniğimizin tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Tez çalışmamdaki emekleri ve dostlukları için Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan hekim arkadaşlarım Filiz'e, Akın'a çok teşekkür ederim.

Ve elbette aileme, sevgileri için sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Eren Olcay

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	İİ
İTHAF.....	İİİ
TEŞEKKÜR.....	İV
İÇİNDEKİLER	V
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	Vİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	İX
ÖZET	X
ABSTRACT.....	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İnfeksiyon	3
2.2. Diyabetik Ayak İnfeksiyonu (DAİ)	7
2.3. Pseudomonas aeruginosa	10
2.4. Polimiksin B.....	13
2.5. MİNİMUM İNHİBİTÖR KONSANTRASYONU (MİK)	14
2.6. Hiperbarik Oksijen Tedavisi	14
2.6.1. Tarihçe	16
2.6.2. HBO Tedavisinin Etki Mekanizmaları	17
2.6.3. Fizyolojik Etkileri	18
2.6.4. HBO Tedavisinin Endikasyonları	22
2.6.5. HBO Tedavisinin Yan Etkileri ve Komplikasyonları	26
2.6.6. HBO Tedavisinin Kontrendikasyonları	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Besiyerlerinin Hazırlanması.....	29
3.1.1. Mueller-Hinton agar (MHA) besiyeri	29
3.1.2. Mueller-Hinton buyyon (MHB) besiyeri	29
3.2. Suşların Tanımlanması.....	30
3.3. Polimiksin B MİK Değerlerinin Saptanması	30
3.4. Deneysel Prosedür	31

3.5. Hiperbarik Oksijen Uygulaması	32
3.6. Deney Grupları.....	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. Kontrol Grubu MİK Değerleri	33
4.2. Deney Grubu A MİK Değerleri	34
4.3. Deney Grubu B MİK Değerleri	34
4.4. Deney Grubu C MİK Değerleri	35
4.5. Deney Grubu D MİK Değerleri	36
5. TARTIŞMA.....	38
KAYNAKLAR	45



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. UHMS Endikasyon Listesi

Tablo 2. Sağlık Bakanlığı Endikasyon Listesi

Tablo 3. ECHM Endikasyon Listesi

Tablo 4. HBO Tedavisinin Göreceli Kontraendikasyonları

Tablo 5. Çalışmanın Sonunda Saptanan Tüm Gruplardaki MİK Değerleri



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Tek Kişilik Basınç Odası

Şekil 2. Çok Kişilik Basınç Odası

Şekil 3. Plazmada Çözünen Oksijenin Basınç Artışı İle Olan İlişkisi

Şekil 4. Deney Basınç Odası

Şekil 5. NCTC 6749 Suşu Kontrol Grubu Gradyent Test Sonucu

Şekil 6. NCTC 6749 Suşu A Grubu Gradyent Test Sonucu

Şekil 7. NCTC 6749 Suşu B Grubu Gradyent Test Sonucu

Şekil 8. NCTC 6749 Suşu C Grubu Gradyent Test Sonucu

Şekil 9. NCTC 6749 Suşu D Grubu Gradyent Test Sonucu

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ATA	Atmosphere Absolute
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
CO	Karbon Monoksit
DAİ	Diyabetik Ayak İnfeksiyonu
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DM	Diyabetes Mellitus
ECHM	European Committee of Hyperbaric Medicine
GDM	Gestasyonel Diyabetes Mellitus
HBO	Hiperbarik Oksijen
ID	İnfeksiyöz Doz
LD	Letal Doz
MHA	Mueller-Hinton Agar
MHB	Mueller-Hinton Buyyon
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
MSSA	Metisiline Duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
MRSA	Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
PNL	Polimorfonükleer Lökosit
RNA	Ribo Nükleik Asit
UHMS	Undersea and Hyperbaric Medicine

ÖZET

Diyabetik ayak ve diyabetik ayak infeksiyonu diyabetin morbidite ve mortalitesi yüksek bir komplikasyonudur. *Pseudomonas aeruginosa* diyabetik ayak infeksiyonlarından sıklıkla elde edilen etkenlerden biridir. *P. Aeruginosa* hemen her ortamda, hatta dezenfektan solüsyonlarında dahi bulunabilen, Gram negatif, aerop, fırsatçı infeksiyonlara neden olabilen bir bakteridir. *P. Aeruginosa* hem yapısal özelliklerinden hem de uygunsuz antibiyotik kullanımından dolayı çok çabuk direnç geliştirebilir. *P. Aeruginosa*'nın neden olduğu infeksiyonlarda güçlü yan etkileri olan polimiksinlerin kullanımı söz konusu olabilmektedir.

Hiperbarik oksijenin (HBO) anti mikrobiyal etkisi uzun süredir bilinmektedir, klinik uygulamalarda da bu etkiden faydalanılmaktadır. HBO'nun aerop bakterilerin yaptığı bazı infeksiyonlar üzerinde yararlı etkilerini ve bazı antibakteriyel ajanlarla sinerjistik etkisini gösteren çalışmalar mevcuttur.

Bu çalışmada altı *P. Aeruginosa* suşu üzerinde plimiksin B'nin gradyan test yöntemi ile ölçülen MIC değerleri üzerinde HBO nun etkisi araştırılmıştır. Çalışmada 300 dakika gibi uzun sürelerle uygunlanan HBO nun polimiksin B'nin MİK değerlerini düşürdüğü gösterilmiştir. Bu sinerjistik etki, HBO ile birlikte uygulandığında polimiksin B nin toksik etkilerinin önlenmesi açısından önemli olabilir.

Anahtar kelimeler: hiperbarik oksijen tedavisi, antibiyotik direnci, polimiksin B, *Pseudomonas aeruginosa*,

ABSTRACT

Diabetic foot and diabetic foot infection is a complication of diabetes mellitus with high mortality and morbidity. *Pseudomonas aeruginosa* is one of the frequent causative agents in diabetic foot infections. *P. Aeruginosa* is a gram negative, aerobe bacteria that can be found in anywhere including disinfectant agents and cause opportunist infections. *P. Aeruginosa* can develop resistance quickly due to constitutional features and misuse of antibiotics. Polymixins that have strong side effects can be used in the infections caused by *P. Aeruginosa*.

Antimicrobial effects of hyperbaric oxygen have been known and used in clinical practice for a long time. There are some studies that showed beneficial effects of HBO on aerobic bacterial infections and synergistic effects with some antimicrobial agents.

In this study we investigated the effects of HBO on MIC values of polymixin B for *P. Aeruginosa*, by gradient method. It was observed that HBO reduced the MIC values if applied as long as 300 minutes. This synergistic effect might be important for reducing toxic side effects of polymixin B, when administered together with HBO.

Key Words: hyperbaric oxygen, antibiotic resistance, polymixin B, *Pseudomonas aeruginosa*,

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnfeksiyon kavramı dokularda kolonize olan ya da doğrudan kana inoküle olan mikroorganizmaların konakta bir immun yanıt geliştirmesinde ortaya çıkar. İnfeksiyon gelişimine neden olan mikroorganizmalar konak dokularında şayet zarar oluşturacak bir takım reaksiyonlara neden oluyorsa bu durum infeksiyon hastalığı olarak tanımlanır (1).

Diyabetik ayak infeksiyonu (DAİ) diyabetik hastalarda gelişen bir tür yumuşak doku infeksiyonu olup önemli bir halk sağlığı sorunudur, yüksek düzeyde morbidite ve mortaliteye yol açabilmektedir (2-4). DAİ gibi kronik iyileşmeyen yaraların da içinde bulunduğu çeşitli hastalıkların tedavisinde hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi günümüzde yardımcı tedavi olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır. HBO tedavisinin rutin kullanıma girmesiyle bu tedavinin mikroorganizmalar üzerindeki etkisi uzun süredir merak konusu olmuştur (5). Literatürde HBO tedavisinin bakteriler üzerine direkt etkileriyle, çeşitli antibiyotiklerle olan sinerjistik etkilerini araştıran bazı çalışmalar mevcuttur. Dirençli *Pseudomonas aeruginosa* infeksiyonlarında son çare olarak polimiksin grubu antibiyotiklerin özellikle de kolistin kullanımı söz konusudur. DAİ hastalarında belirlenen mikroorganizmalar arasında *Pseudomonas aeruginosa*'ya sık rastlanılmaktadır (6, 7).

P. aeruginosa yumuşak doku ve idrar yolu infeksiyonlarına, nozokomiyal infeksiyonlara yol açabilen fırsatçı bir patojendir. *P. aeruginosa* birçok antibiyotiğe dirençli bir bakteridir. En temel direnç geliştirme mekanizması porin proteinlerindeki mutasyon ile oluşmakta, hücre içine antibiyotik girişi böylelikle kısıtlanmaktadır (1,8).

Polimiksin grubu antimikrobialler siklik katyonik polipeptid deterjanlardır. Sitoplazma membranı üzerinden etki gösterirler. Hücre membranına penetre olurlar ve membran fosfolipdleri ile etkileşir ve membranı parçalayarak, antibakteriyel etkinliğini gösterirler. Hücre membranındaki magnezyum ve kalsiyum iyon dengesini bozarlar ve bakteri içeriğinin hücre dışını çıkmasını sağlayarak bakteri ölümüne sebep olurlar (9, 10)

Bu çalışmada HBO tedavisi ile polimiksin B'nin in vitro *Pseudomonas aeruginosa* kültürleri üzerindeki Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerleri araştırılmıştır. Polimiksin B ile HBO tedavisinin *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki sinerjistik etkisi 2'si standart olmak üzere 6 suş üzerinde farklı basınç ve sürelerde çalışılmış, kombine tedavinin MİK değerleri üzerine etkisi değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda nefrotoksik, nörotoksik ve nöromusküler blokaj gibi toksik etkilerinden dolayı kullanımı sınırlı olan polimiksin B'nin HBO tedavisi ile kombine kullanıldığında doz azaltılarak hedeflenen antimikrobiyal etkinin daha düşük dozlarda elde edilemeyeceği araştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnfeksiyon

İnfeksiyon kavramını anlayabilmek için patogenezi gözden geçirmek gerekir. Mikroorganizma ile konağın etkileşimini gerektiren bu süreç her zaman infeksiyon ya da infeksiyon hastalığı ile sonuçlanmaz. İnsan hücre sayısından çok fazla sayıda mikroorganizma vücudumuzda bulunurken, insan ve mikroorganizma arasında çoğu zaman faydalı bir ilişki durumu söz konusudur; vajinal doğum ile deri florasının oluşması, anne sütü ile barsak florasının oluşması gibi. Doğumdan hemen sonra insan vücudu sayısız miktarda mikroorganizma ile kolonize olmakta ve sonucunda yararlı bir mikrobiyota oluşmaktadır (11). Konak ile mikroorganizma etkileşimi birbirinden farklı sonuçlar meydana getirebilmektedir. Bu etkileşimde eğer her iki tarafın yarar sağladığı bir durum söz konusu ise simbiyosis, bir tarafın yararına olup diğer tarafa zarar vermeyen durumda kommensallik, taraflardan biri diğerinin zararı sonucunda yarar sağlıyorsa bu durum parazitlik olarak adlandırılır. Kommensal ilişkiyi anlamak için vücut florasını değerlendirmek faydalı olacaktır. Vücudumuzda normal florayı oluşturan mikroorganizma sayısı yaklaşık olarak 10^{14} iken, insan vücudunu oluşturan hücre sayısı yaklaşık olarak 10^{13} 'tür. Hücre sayımızdan daha fazla sayıda olan mikroorganizmaların çoğu sağlığın devamlılığı açısından çok önemli bir yere sahiptir. Örneğin barsak florasındaki mikroorganizmalar pantotenik asit, riboflavin, B12 gibi çeşitli vitaminlerin sentezinden sorumludur ve yine barsak flora üyelerinin metabolik ürünleri bazı hastalık yapıcı mikroorganizmaların invazyonunu engellemektedir. (1). Bu duruma bir diğer örnek vajen florasında bulunun laktobasillerin, laktik asit üretimi ile flora pH'sini 3,5-4,5 arasında tutması ve infeksiyonlara karşı önemli bir koruyucu rol üstlenmesidir (12). Bir infeksiyon hastalığının oluşması konak ile mikroorganizmanın etkileşiminin sonucunda gerçekleşir. Bu ilişki konağa ve mikroorganizmaya ait faktörler tarafından belirlenir ve konağın sağlıklı ya da hasta olması ile sonuçlanır (1).

Konak ve parazit arasındaki infeksiyonu açıklayacak ilişki, mikroorganizmanın (kana doğrudan inoküle olanlar hariç) deri ve müköz membranlara kolonize olmasıyla başlar (13). Alınan mikroorganizma konağa hiçbir etki etmeden uzaklaştırılabilir, bu durumda geçici kolonizasyondan söz edilir ya da oluşan kolonizasyon kalıcı hale gelir ve mikroorganizmalar vücut yüzeylerinde çoğalabilir. Kolonize olan mikroorganizmalar konakta bir immun yanıt gelişimine sebep olabilir; infeksiyon kavramı bu durumda

kullanılır. İnfeksiyon gelişimine neden olan mikroorganizmalar konak dokularında şayet zarar oluşturacak bir takım reaksiyonlara neden oluyorsa bu durum infeksiyon hastalığı olarak tanımlanır (1). Bir başka deyişle kolonizasyon-infeksiyon-hastalık sürecinde mikroorganizma-konak arasındaki etkileşimde mikrop, konakta fizyolojiyi değiştirip hasara yol açıp klinik bulgu ve semptomlara yol açıyorsa bu durum infeksiyon hastalığı kavramı ile açıklanır (11). İnfeksiyon bir çeşit kolonizasyon olarak tanımlanmakla birlikte kolonizasyonla arasındaki en temel fark, kolonizasyonda mikroorganizma ile konak arasında kommensal bir ilişkinin var olmasıdır ve konak savunmasında yetersizlikler olmadıkça kolonizasyonda hastalık oluşmaz. İnfeksiyonda ise konağa ait savunma mekanizmalarına rağmen mikroorganizmanın çoğalması ve hedef dokulara yerleşmeye çalışması söz konusudur. Kolonizasyona daha sık rastlanırken, infeksiyon hastalığı daha az gelişir; her kolonizasyon infeksiyonla ya da hastalıkla sonuçlanmaz. İnfeksiyon gelişim süreci konağa ve mikroorganizmaya ait faktörler tarafından belirlenir. Hastalık oluşturabilmesi için mikroorganizmanın patojen olması gerekir. Patojenite mikroorganizmanın hastalık oluşturma potansiyelinin niteliksel ifadesidir (1). Virülans ise nicel patojenite ölçüsünü ya da hastalığa neden olma olasılığını tanımlar, örneğin kapsüllü pnömokok kapsüllü olmayandan, shiga-like toksin üreten *Escherichia coli* türü üretmeyenden daha virülandır (11). Virülans aynı zamanda mikroorganizmanın iki önemli özelliğini ifade eder; mikrobun konak savunmasını yenerek infeksiyon oluşturmaya yani infektivitesi, bir diğeri de infekte ettiği konaktaki zararın derecesidir. Bir mikroorganizmanın infektivitesi onun infeksiyöz dozu belirlenerek ortaya koyulur. Bir mikroorganizmanın infektivitesi ne kadar yüksekse, infeksiyon hastalığı oluşturmak için gereken mikroorganizma sayısı da o kadar düşük olur ya da tam tersi durum geçerlidir. Mikroorganizmanın bu özelliği ID₅₀ ile ifade edilir, deneysel olarak infekte edilen deney hayvanlarının %50'sini hastalandıran mikroorganizma sayısıdır. ID₅₀ sayısı ne kadar düşüğe mikrop o kadar virülandır. Virülansı ifade ederken kullanılan bir diğerkavram ise letal dozdur ve LD₅₀ ile ifade edilir. LD₅₀ deney hayvanlarının %50'sini öldüren mikroorganizma veya toksin dozunu ifade eder (1). Mikroorganizmaları değerlendirirken esas patojen mikroorganizma ile fırsatçı patojen olanı ayırmak gerekir. Sağlam savunma mekanizmalarına sahipken de çoğunlukla hastalık oluşturabilen patojen mikroorganizmaların yanında, genellikle immun sistemi sağlam bireylerde hastalık oluşturmayıp immünkompromize bireylerde hastalık oluşturabilen fırsatçı patojen mikroorganizmaların varlığı bilinmektedir (11). Çevre

kontaminantları veya flora elamanları olarak bulunun bu fırsatçı patojenlerin ouşturdukları hastalıklara örnek olarak antibiyotik kullanımı sonrası *Clostridium difficile*'nin aşırı üremesi sonucu gelişen psödomembranöz kolit örnek verilebilir.

Patojen veya fırsatçı bir mikroorganizmanın konakta infeksiyon oluşturabilmesi çeşitli yöntemlere dayanmaktadır. Mikroorganizmanın hedef dokuya yaklaşabilmesi için kemotaksisi söz konusu olabilir. Yine mikroorganizmanın intra veya ekstraselüler adezinlerle konak dokularına tutunması mikroorganizma için bir avantaj sağlamaktadır. Salgıladığı çeşitli enzimlerle mikroorganizmalar doğrudan invazyon yapabilir, örneğin *Clostridium perfringens*'in salgıladığı kollajenaz bağ doku kollajenini yıkararak derin dokulara yayılmasına veya streptokokların salgıladığı hyaluronidaz, bağ dokusundaki hyaluronik asidi parçalayarak mikroorganizmanın ilk infeksiyon bölgesinden yayılmasını sağlamaktadır. Üretilen endotoksin ve ekzotoksinler patojeniteden sorumlu diğer faktörlerdir. Konaktan demir kullanımında siderofor üretebilme yeteneği virülansı belirleyen bir diğer önemli durumdur. Fagositozdan korunmada mikroorganizmanın kapsüllü olması en önemli yapıdır. Yine mikroorganizmalar yüzey yapılarında oluşturacağı değişikliklerle konak savunma sistemlerinden kaçabilir; bu durumun en tipik örneklerinden biri *Borrelia* türlerinin yüzey proteinlerini değiştirerek konak immun yanıtından kaçmaları ve sonuç olarak ateşli dönemlerin tekrarlanması olarak izlenir (1). Şistozomaların yüzey yapılarını değiştirip mesane ve barsak venlerine yerleşmesi ve eritrosit ve diğer konak hücre yüzey proteinleri ile kendi yüzeyini kaplaması immun yanıtından kaçışa bir başka örnektir (14). Bazı mikroorganizmalar ise lökosit ve makroraj içinde yaşayabilir. Fagolizozom içinde replikasyonunu devam ettirebilen *Histoplasma capsulatum* fagolizozomun pH'sını yükselterek lizozomal enzim inaktivasyonu yaparken, *Coxiella burnetti* aynı durumda fagolizozom içindeki pH'yı asidik hale getirerek replikasyon yapabilmektedir (15). İnfeksiyon gelişimi konağa ait faktörlerce de belirlenir. İnfeksiyon gelişiminden vücudu koruyan faktörler yapısal doğal bağışık yanıt sisteminin bir parçası olabilir. Kana inoküle olan mikroorganizmalar hariç infeksiyon oluşturabilmesi için mikroorganizmanın deri ve müköz membranlardan vücuda girebilmesi gerekmektedir. Bu anlamda deri ve müköz membranların bütünlüğü doğal savunma sisteminin temel basamağını oluşturur. Derinin en dış tabakasındaki ölü hücreler ve keratin mikroorganizmalar için fiziksel bir bariyer görevi görür. Yağ asitlerine bağlı olarak asidik pH mikroorganizma üremesine engel teşkil eder. Mukozalardaki lizozim, mukus, fibronektin, salgısal IgA varlığı savunma sistemine

katkıda bulunur. Aynı zamanda deri ve mukozalardaki flora elemanları patojen mikroorganizmaların çoğalması ve invazyonunu engelleyen bir diğer koruyucu görevi sağlarlar. Konağın beslenme durumu infeksiyöz süreçlerde dikkati çeken bir başka noktadır. Mineral eksikliği, çinko gibi savunma sistemlerinde yetersizliğe sebep olabilmektedir. Yine protein-kalori malnutrisyonları da immun cevapta zayıflığa yol açabilmektedir (1). Konağın yaşı onu belirli infeksiyonlara daha duyarlı hale getirebilmektedir. Örneğin 2 yaş altı çocuklarda polisakkarit antijenlere karşı gerekli antikor yapımındaki yetersizlik, bu yaş grubunda kapsüllü bakteri infeksiyonlarına karşı bir duyarlılık oluşturur (16). Yapısal savunma sistemine ek olarak antijene spesifik olmayan bağışık yanıt infeksiyon ile mücadele sürecinin bir diğer parçasıdır. Bu sürecin hücresel komponentini polimorf nüveli lökositler, makrofajlar, doğal öldürücü hücreler (NK hücreleri), eozinofiller oluşturmaktadır. Doğal bağışık yanıt humoral elemanlardan da oluşur ve bunlar; Kompleman proteinleri, LPS bağlayıcı protein, C-reaktif protein ve diğer akut faz reaktanları, antimikrobiyal peptidler, mannoz bağlayıcı lektin olarak sıralanabilir (17). Uyarılan doğal bağışık yanıt olarak da adlandırılan bu süreç, mikroorganizma ile karşılaşılmasından sonra gösterilen etkinlik ile mikroorganizmanın yok edilmesine yönelik fonksiyonları içerir ve bu cevap saatler içerisinde oluşur. Uyarılan özgül yanıt veya diğer adıyla kazanılmış özgül yanıtta infeksiyöz etkene ait ürünler antijen sunan hücrelerce T lenfositlere sunulması söz konusudur. Bu sürecin hücreleri ise, yardımcı T lenfositler, antikor üreten B lenfositler ve sitotoksik T lenfositlerdir. Kazanılmış özgül yanıtta, antijene özgül bir yanıt vardır ve ilk karşılaşmada bellek oluşması nedeniyle sonraki karşılaşmalarda çok daha hızlı ve fazla miktarda yanıt oluşur (1).

Sonuç olarak infeksiyon, konak ile parazit arasındaki etkileşimin bir sonucu olarak ortaya çıkar ve seyri farklı şekillerde olabilir. Konak ile parazit etkileşimi sonucunda mikroorganizmanın çoğalması ve virülans faktörleri ile konakçı savunmasını alt etmesi ile hastalık tablosu ve sonunda ölüm; mikroorganizma ile konakçı arasında bir tür denge sağlanırsa kronik infeksiyon; konakçı savunma mekanizmaları veya dışarıdan aldıkları yardım ile (antibiyoterapi v.b.) mikroorganizmayı öldürmeyi başarırlar ise tam iyileşme görülür (18).

2.2. Diyabetik Ayak İnfeksiyonu (DAİ)

Diyabet, insülin eksikliği veya insülinin etkisindeki defektlerin sebep olduğu, vücudun karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, kronik bir metabolizma hastalığıdır. Tanısal yaklaşımda; 8 saat açlık sonrası ölçülen plazma glukoz seviyesi ≥ 126 mg/dl ise; 75 g glukoz ile yapılan Oral Glukoz Tolerans Testinin 2. Saatinde ölçülen plazma glukoz düzeyi ≥ 200 mg/dl ise; rastgele ölçülen plazma glukoz düzeyi ≥ 200 mg/dl ise ve diyabet semptomları varsa; ve son olarak glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c) ≥ 6.5 (≥ 48 mmol/mol) ise aşikar diabetes mellitus tanısı konur (19). Diyabetes mellitus Tip1, Tip 2 ve gestasyonel diyabetes mellitus gibi primer olarak ortaya çıkabileceği gibi, sekonder başka hastalıklar (endokrinopatiler, infeksiyonlar v.b.) sonucu da oluşabilir. Tip 1 DM, hastaların %10'u oluşturur ve mutlak insülin eksikliği vardır. Tip 1 DM hastalarının %90'ında otoimmün, %10'unda non-immun beta-hücre yıkımı söz konusudur. Genelde 30 yaş öncesinde başlar ve okul öncesi, puberte ve geç adolesan dönemler olmak üzere üç yaş grubunda pik yapar. Genetik geçiş pek yoktur, semptomlar ve bulgular aniden ortaya çıkar, hastalar ketoasidoza eğilimlidir ve genellikle zayıf veya normal kilodadırlar (20). Tip 2 DM, insülin direnci, yani periferik dokularda hücre-reseptör defektine bağlı olarak insülinin yetersiz kalmasıyla ya da insülin sekresyonunda azalmayla ortaya çıkar. Genellikle 30 yaş sonrası görülse de son yıllarda obezitenin artmasıyla çocuk ve adolesan çağlarında da Tip 2 DM vakalarında artış söz konusudur. Hastalar genellikle obez veya kiloludur (19). Hastalarda uzun bir prediyabet dönem vardır ve bu dönem asemptomatiktir, ancak bu dönemde makroanjyopati gibi komplikasyonlar gelişebilir (21). Gebeliğe bağlı insülin direnci ve genetik yatkınlığın sebep olduğu Gestasyonel Diyabetes Mellitus sınıflandırmada ayrı yer tutar. GDM genellikle asemptomatik seyrederek, doğumla birlikte sıklıkla düzelen, ancak sonraki doğumlarda ve sonradan tip 2 DM gelişme riski normale göre artmış olarak izlenir (19). Son olarak da sınıflamada sekonder nedenlerin sebep olduğu diyabetes mellitus gelir. Akromegali, cushing sendromu gibi endokrinopatiler; pankreatit, kistik fibrozis gibi pankreasın ekzokrin doku hastalıkları; tiyazid grubu diüretikler, fenitoin gibi ilaçların kullanımı; çeşitli infeksiyonlar sekonder nedenler olarak sıralanabilir.

Diyabetes Mellitusun komplikasyonları akut ve kronik olmak üzere başlıca 2 ana grup altında ele alınabilir.

Akut komplikasyonlar; diyabetik ketoasidoz, hiperozmolar hiperglisemik durum, laktik asidoz, hipoglisemi olarak ele alınabilir ve acil tedavi yaklaşımı gerektiren durumlar olarak bilinir.

Kronik komplikasyonlar ise artmış mortalitenin sebebi olan, miyokard infarktüsü ve inmeye yol açabilen makrovasküler hastalık ve retinopati, nefropati, nöropati gibi disfonksiyonlara yol açabilen mikrovasküler hastalık olarak iki ana başlıkta ele alınır (22).

Diyabetik Ayak

Diyabetli bir hastanın ayağında oluşan her türlü lezyon “Diyabetik Ayak” kavramının ilgi alanındadır. Ayak bileği altında tam kat yara varlığı süresinden bağımsız olarak diyabetik ayak ülseri olarak tanımlanır (2). Diyabetik ayak infeksiyonu ise diğer nedenler dışlandıktan sonra ayak lezyonunda kızarıklık, sıcaklık artışı, şişlik, duyarlılık veya ağrı gibi inflamasyonun klasik bulgularından en az ikisinin varlığında ya da pürülan akıntı varlığında düşünülmelidir (23).

Diyabetik ayak yaraları, önemli bir halk sağlığı sorunudur. Diyabetik hastaların sık karşılaştığı komplikasyonlardan olup, yaşam boyu bir diyabet hastasında ayak ülseri gelişme riski yaklaşık %15 olarak tahmin edilmektedir (2). Önemli ölçüde uzuv kaybına yol açabilen bu durum ülkeden ülkeye değişmekle birlikte, non-travmatik ayak amputasyonlarının yaklaşık olarak yarısını oluşturur. Sonrasında gelişecek sürece bağlı olarak da önemli mortalite nedenidir, diyabetik ayak infeksiyonu olan hastalardaki mortalite oranı bazı kanser türlerinden daha yüksek düzeydedir. Travma nedenli olmayan alt ekstremitte amputasyonlarının yaklaşık yarısından DAİ'leri sorumludur (3,4).

Diyabetik hastalarda gelişen anjiyopati ve nöropatinin yol açtığı sorunlar diyabetik ayak gelişiminde esas hazırlayıcı faktörler olarak görülmektedir. Duyusal nöropati sonucu gelişen his kusuru, batma, çarpma, yanma gibi travmatik hadiselerle ayağı duyarlı hale getirir. Duyusal kaybı olan hastalarda hissedilemeyen travmalar yara oluşumunda rol oynayabilir. Motor nöropati yine bu hastalarda görülebilen bir başka sorundur. Motor nöropati sonucu gelişebilecek çekiç plipskyak, halluks rijidus, pençe ayak gibi deformiteler, ayağın normal yük dağılımını bozarak belli kısımlarda basıya bağlı yara oluşumunu tetikleyebilir. Otonom nöropati ise deride terlemenin azalması ile ayakta kuruluğa ve deride çatlaklara yol açar (24). Vasküler etiyojoloji, makroanjiyopati ve mikroanjiyopati olarak diyabetik ayak gelişiminde rol oynar. Makroanjiyopatideki

temel sorun ateroskerozdur ve büyük orta boy damar tutulumu ile seyreder. Bu durum periferik arter hastalığı gelişimine yol açabilir ve yetersiz kan akımı nedeniyle hızla gangren ile sonuçlanan yara gelişimine sebep olabilir. Mikroanjyopatide ise kapiller düzeyde mikrosirkülasyonu bozar. Patogeneizde çoğunlukla vasküler hasar ile nöropatinin kombine etkisi söz konusudur (23). Charcot artropatisi diyabetik hastalarda sık görülen bir durumdur. Ayağın tabanındaki anatomik arkın çöktüğü ve plantar yüzeydeki yük dağılımının da bozulmasıyla yara gelişimine sebep olduğu bir artropatidir. Patogenezinde otonom nöropatinin sebep olduğu periferik artmış kan akımı, arteriyovenöz şant oluşumu, kemikte artmış kan akımı söz konusudur. Osteoklastik aktivite ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımı artmıştır. Ayak kızarıklık, şiş bir hal alır (2). Hipergliseminin infeksiyonlara eğilimi arttırdığı bilinen bir başka gerçektir. Diyabetik hastaların lökositlerinde migrasyon, adhezyon, fagositoz ve otonizasyonun bozulduğu bilinmektedir. Açık bir yara kolaylıkla infekte olabilmektedir, bu nedenle bu hastalarda glisemik kontrol önemlidir (19).

Diyabetik ayak lezyonlarında tedavi ve prognozu öngörmesi açısından çeşitli sınıflamalar yapılmıştır. Bunlardan başlıcaları: Wagner Sınıflaması, Texas Üniversitesi Diyabetik Yara Sınıflaması, PEDIS Sınıflaması olarak bilinir. Wagner sınıflamasında göre evre 0'da sağlam deri varlığı ile birlikte ülserasyon için riskli kemik çıkıntı ve/veya kallus (nasır) oluşumu söz konusudur. Evre 1, derin dokulara yayılımı olmayan yüzeysel ülseri ifade eder. Evre 2'de tendon, kemik, ekleme ulaşılmış derin ülser varlığı mevcuttur. Evre 3 ise abse formasyonu ve/veya osteomyeliti içeren derin ülser varlığını ifade eder. Evre 4'ten parmakları ve/veya metatarsları tutan gangren varlığından söz edilir. Son evre olan Evre 5 ise kurtarılamayacak düzeyde ve amputasyon gerektiren topuk veya ayağın bütününün gangrenini ifade eder. Bu sınıflama çok yaygın kullanılmakla birlikte iskemi ve infeksiyon düzeyini ifade edememektedir, bu nedenle başka sınıflama arayışları geliştirilmiştir. PEDIS sınıflaması adını, lezyonu oluşturan öğelerin ingilizce baş harflerinden alır. P: perfusion (doku beslenmesi), E: extent (yaygınlık, büyüklük), D: depth (derinlik), I: infection (infeksiyon), S: sensation (duyu) olarak 5 ayrı bileşen bu sınıflamada ayrıca değerlendirilir (24).

Diyabetik ayak infeksiyonlarında tedavi yaklaşımı multidisipliner işbirliğini gerektirir. Yara iyileşmesini sağlayabilmek ve üst seviye amputasyonların önüne geçebilmek için genel tedavi yaklaşımı acil ve agresif debridmanlarla ölü ve infekte dokuların uzaklaştırılması, uygun antibiyotik tedavisi, metabolik kontrol, ayağın

yükten ve basıdan kurtarılması, periferik arteriyel hastalığın tanısı ve uygun şekilde tedavisi ve ayağın işlevinin kazandırılması yani rekonstrüksiyondur (23). Bu çalışmanın konusu olan hiperbarik oksijen tedavisi ve antibiyoterapiden ilerleyen bölümlerde ayrıntılı olarak bahsedilecektir.

Diyabetik ayak infeksiyonlarında üretilen mikroorganizmalar yaranın akut veya kronik olmasına, hastalığın şiddetine göre değişkenlik göstermekle birlikte, bu çalışmanın konusuna giren *Pseudomonas aeruginosa* ile sıklıkla karşılaşmaktadır. Ertuğrul ve arkadaşlarının (6) yaptığı 2012 yılındaki çalışmada 86 diyabetik ayak olgusundan 115 suş izole edilmiş ve %18,4 oranında *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi en sık karşılaşılan etken olarak belirlenmiştir. Saltoğlu ve arkadaşlarının (7) yaptığı 2015 yılındaki çalışmada 215 suş izole edilmiş ve %17,8 ile MSSA (Metisiline Duyarlı *Staphylococcus aureus*)'nın ardından %17,3 oranında yine *Pseudomonas aeruginosa* ile karşılaşmıştır. Ülkemizde yapılmış olan bir çok çalışma incelendiğinde *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Streptokoklar, Enterekoklar ile birlikte en sık karşılaşılan patojen olarak karşımıza çıkmaktadır (23).

2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteriler makroskopik veya mikroskopik görünümüne, üremelerine, biyokimyasal özelliklerine ve genotiplerine göre sınıflandırılabilir. Bakterinin oluşturduğu kolonilerin şekli rengi ve kokusu makroskopik tanımlamada kullanılır. Mikroskopik olarak en sık kullanılan özellik ise bakterinin gram boyamasına göre yapılıdır. Duvar yapılarının farklılığından kaynaklanan bu duruma göre, Gram-pozitif bakteriler mor, Gram-negatif ise pembe-kırmızı boyanır. Bu boyama tekniği ile bakteriler ayrıca yuvarlak (kok), çomak (basil), kıvrık (spiral) şekilli olarak da sınıflandırılabilir. Bakteriler oksijen varlığındaki üreme özelliklerine göre de sınıflandırılır. Oksijen varlığında üreyebilen, enerji üretiminde son elektron alıcısı olarak oksijeni kullanan bakterilere aerob; hem oksijenli hem oksijensiz ortamda üreyebilen bakterilere fakültatif anaerob; oksijensiz ortamda üreyebilen ve enerji ihtiyacını fermentasyon ile üretebilen bakterilere ise anaerob bakteriler denir (11).

P. aeruginosa mikroorganizmalar içinde bir bakteri cinsi iken, farklı genetik tiplerdeki *P. aeruginosa*'lar ise suş olarak tanımlanır. *Pseudomonas* cinsi bakteriler ve daha önceden *Pseudomonas* grubu içerisinde yer alan ancak yapılan gen çalışmaları sonucu şu an için ayrı bir grup olarak kabul edilen *Burkholderia* ya da

Stenotrophomonas gibi bakteriler, aerob, Gram negatif, nonfermentatif çomaklardır. Tüm *P. aeruginosa* suşları polar flagella varlığı ile hareketlidir (1). *Pseudomonas* çok az besine ihtiyaç duyar ve 4°C-42°C gibi geniş bir ısı aralığında canlılığını koruyabilir, 37°C’de iyi ürer. İkiye katlanma hızı türe ve besiyerinin zenginliğine göre değişebilir, örneğin *P. aeruginosa* O1 suşu için ikiye katlanma zamanı MOPS glukoz (3-(N-Morpholino) Propan-Sulfonik Asid) gibi minimal ortamlarda 1-1,5 saat iken LB-Broth (Miller) gibi zengin besi yerlerinde 25-35 dakikadır (25). Birçok antibiyotiğe ve dezenfektanlara dirençlidir. Boyutları 0,5-5,0 µm arasında değişebilmektedir (26). Bu cinsin üyeleri toprakta, çürümekte olan organik materyallerde bitki ve sularda yani hemen her ortamda bulunabilir. Hastanelerde özellikle nemli ortamlarda, diyaliz ekipmanlarında, solunum cihazlarında hatta dezenfektan solüsyonlarında dahi bulunmaları söz konusudur. Bağışık sistemi baskılanmış hastalar dışındaki bireylerde, sağlıklı kişilerde normal flora elemanı olarak nadiren bulunurlar. Birçok *pseudomonas* türü canlılar için fırsatçı patojendirler (8). Şu ana kadar tanımlanmış 200’den fazla *pseudomonas* türü olmasına rağmen bunların en önemlisi ve bu çalışmada da ele alınacak olanı *P. aeruginosa*’dır.

Pseudes, “taklit”; monas ise Türkçe karşılık olarak “tek” anlamına gelmektedir. Böyle adlandırılmasının sebebi, Gram boyamada çiftler halinde olan mikroorganizmanın, tek bir hücre gibi görünmesinden kaynaklanmaktadır. *Aeruginosa* ismi ise, türün pigmentasyonu nedeniyle koyulmuştur “paslı bakır” anlamındadır. *P. aeruginosa* oksidaz pozitif ve glikozu fermente etmemesi (nonfermentatif) ile bilinen bir bakteridir. Son elektron alıcısı oksijendir ve zorunlu aerob olarak tanımlanırlar, ancak alternatif olarak elektron alıcısının nitrat veya arjinin olduğu durumlarda anaerob olarak da üreyebilirler (8). Bazı kaynaklara göre aerob ya da nitratı son elektron alıcısı olarak kullanabilmesi nedeniyle fakültatif olarak tanımlanmaktadır (27).

P. aeruginosa rutinde kullanılan birçok kültürde rahatlıkla üreyebilir ve 3-5 mm büyüklüğünde kenarları düzensiz, üzeri düz, beta hemolitik koloniler oluşturur. Birçok suşu pyosiyenin isimli bir pigmente sahiptir ve Mueller-Hinton gibi renksiz besi yerlerinde belirgin olarak görülmesini sağlar. Bu pigment başka hiçbir bakteride yoktur ve bakterinin mavi görünmesine neden olur. Ayrıca pyoverdin (sarı-yeşil), pyorubin (kırmızı-kahverengi) gibi pigmentler de oluşturabilir. Rutin besiyerlerinde hızlıca üreyebilen *P. aeruginosa* kolonileri karakteristik morfolojiye sahiptir. Beta hemoliz,

yeşil pigment, üzüm benzeri koku ve biyomyasal teslerle (pozitif oksidaz reaksiyonu gibi) kolaylıkla tanımlanabilir.

P. aeruginosa 'nın oluşturduğu infeksiyonlarda çeşitli virülans faktörleri rol oynar. Bakterinin sahip olduğu flajella hareketten ve pili bakterinin konak hücreye yapışmasından sorumludur. Sıklıkla kistik fibrozisli hastalarda elde edilen *P. aeruginosa* 'larda polisakkarit yapıda ve aljinat içeriği olan kapsül bulunmaktadır. Glikokaliks ya da mukoid ekzopolisakkarit denilen bu kapsül *P. aeruginosa* 'yı fagositoz, kompleman, antikor etkisinden koruyabilmektedir. Mukoid suşlar oluşturdukları biyofilm tabaka nedeniyle antibiyotiklere daha dirençli hale gelebilmektedir. *P. aeruginosa* birçok antibiyotiğe dirençli bir bakteridir. En temel direnç geliştirme mekanizması porin proteinlerindeki mutasyon ile oluşmakta, hücre içine antibiyotik girişi böylelikle kısıtlanmaktadır. *P. aeruginosa* aynı zamanda beta laktamaz üreterek, beta laktam antibiyotiklere karşı direnç oluşturmaktadır (1,8).

P. aeruginosa 'nın lipopolisakkaridi endotoksin A, sistemik infeksiyonlardaki, ateş, hipotansiyon, oligüri, lökopeni/lökositoz, dissemine intravasküler koagülasyon gibi durumlardan sorumludur. Ekzotoksin A ise, *P. aeruginosa* için spesifiktir ve *P. aeruginosa* suşlarının birçoğu tarafından üretilir. Ekzotoksin A, ökaryotik hücrelerdeki, bir başka deyişle konak hücrelerindeki peptid zincirlerinin uzamasını engeller ve protein sentezini bozar. Ayrıca ekzotoksin A, yanık yaralarındaki dermanekroz ve oküler infeksiyonlardaki korneal hasar gibi durumların gelişiminde rol oynamaktadır.

P. aeruginosa 'nın sahip olduğu diğer önemli virülans faktörleri ürettiği enzimlerdir. Las A ve Las B elastin içeren dokulardaki hemorajik lezyonların gelişiminde rol oynar. Fosfolipaz C, ısıya duyarlı bir hemolizindir ve doku invazyonuna katkıda bulunur. Alkalın proteaz yine doku hasarına yol açan bir diğer enzimdir. *P. aeruginosa* 'nın ürettiği hücre dışı enzimler olan ekzoenzim S ve ekzoenzim T, adenozin difosfat ribozil transferaz etkinliğine sahiptir (11).

Diyabetik ayak infeksiyonlarında, *P. aeruginosa*'nın etken olarak izole edilmesi ülkemizde ve dünyada sıktır. Yanık sonrası, travma sonrası, uzun süreli bası sonrası oluşan dekübit ülserlerinde veya deri bütünlüğünün bozulduğu dermatitlerde üremesi için nem gibi uygun koşullar da varsa *P. aeruginosa*, infeksiyonlara sebep olabilmektedir.

2.4. Polimiksin B

Polimiksinler 1947'de keşfedilmiş, eski antibiyotiklerdir. Kullanımda Polimiksin B ve Polimiksin E (kolistin) olmak üzere iki formu bulunmaktadır. 1980'lerde nefrotoksik yan etkileri nedeniyle kullanımdan kalksa da sonrasında başlıca topikal ve oral formlarıyla yeniden kullanıma girmiştir. *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* gibi Gram-negatif mikroorganizmaların sebep olduğu dirençli infeksiyonların varlığı ile enjektabl polimiksin kullanımı tekrar klinik uygulamada kendine yer bulmuştur. Parenteral kullanılan iki polimiksin grubu antibiyotik bulunmaktadır, bunlar polimiksin B ve polimiksin E'dir (1).

Bacillus polymyxa suşunun ürünlerinden elde edilen polimiksin B ve *Bacillus coistinus* suşunun ürünlerinden elde edilen kolistin, siklik katyonik polipeptid deterjanlardır. Sitoplazma membranı üzerinden etki gösterirler. Polimiksinler lipofilik ve lipofobik yapılar içeren amfipatik ilaçlardır. Hücre membranına penetre olurlar ve membran fosfolipdleri ile etkileşir ve membranı parçalarlar, antibakteriyel etkinliğini bu yolla sağlarlar. Hücre membranındaki magnezyum ve kalsiyum iyon dengesini bozarlar ve bakteri içeriğinin hücre dışını çıkmasını sağlayarak bakteri ölümüne sebep olurlar (9,10). Bakterilerdeki polimiksin grubu ilaçlara olan duyarlılık, hücre membranındaki fosfolipid miktarına göre değişir. Lipopolisakkarid veya endotoksinin Lipid A komponentine bağlanır. Gram-negatif bakterilerin kendi yapılarının oluşturduğu toksik etki endotoksin olarak adlandırılır ve bu etkiden sorumlu yapı da lipopolisakkarit özellikle de lipid A kısımlardır (1,28). Polimiksinler bakterinin lipopolisakkarit lipid A kısımlarını bağlayarak endotoksin etkisinin de nötralize edilmesini sağlarlar. Polimiksinler ökaryotik hücreler için de membranlardaki lizis etkisinden dolayı toksik etki gösterirler, klinik uygulamadaki kısıtlı etkileri bundan dolayıdır (29). Polimiksinler birçok Gram-negatif bakteriye karşı etkilidir. Gram-pozitif ve anaerobların çoğu dirençlidir. İn vitro koşullarda *Serratia spp.*'ye karşı polimiksin B ve trimetoprim arasında sinerjistik etki tespit edilmiştir. Aynı zamanda polimiksin B in vitro ortamda hücre membranına etki ederek tetrasiklin permeabilitesini arttırmaktadır (1).

Polimiksin B'nin oral, topikal, intramusküler ve intravenöz formları bulunmaktadır. Gram negatiflerin neden olduğu menenjitte intratekal uygulama söz konusu olabilmektedir. Son yıllarda çoklu ilaç direnci gösteren gram-negatif suşların ortaya çıkması ve bu suşların polimiksinlere çok düşük düzeylerde direnç göstermesi nedeniyle bu grup antibiyotikler yeniden kullanıma girmiştir (30). Ancak yine de

nefrotoksik, nörotoksik ve nöromusküler blokaj gibi toksik etkilerinden dolayı kullanımını sınırlı düzeydedir. Diyabetik ayak infeksiyonlarının tedavisinde rutinde polimiksin B'nin kullanımına rastlanmasa da polimiksin E (kolistin) dirençli infeksiyonlarda kullanılabilir.

2.5. MİNİMUM İNHİBİTÖR KONSANTRASYONU (MİK)

MİK, mikroorganizmanın üremesini engelleyen en düşük antibiyotik konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. MİK saptanması klinik uygulamada özellikle etkenin kullanımda olan antibiyotiklere direnç gösterme olasılığı söz konusu olduğunda önemlidir. Direnç surveyansı ve yeni ilaçların kıyaslanması için çeşitli yöntemlerle MİK saptamak mümkün olabilmektedir.

Makrodilüsyon (tüp) ve mikrodilüsyon gibi yöntemlerden oluşan sıvı dilüsyon yöntemleri ile MİK değeri saptanabilmektedir. Diğer yöntemlere göre daha güncel olan gradiyent testi, kullanımını daha pratik olan, aynı anda birden çok antibiyotiğin MİK değerini saptamaya olanak tanıyan bir metottur (1,8).

2.6. Hiperbarik Oksijen Tedavisi

Hiperbarik oksijenizasyon organizmanın adapte olduğundan daha yüksek parsiyel oksijen basıncına maruz kalmasında geçerli olsa da HBO tedavisi için genel prensip bir basınç odası içerisinde, 1 mutlak atmosfer basıncından (1 atmosfer absolute, 1 ATA, 760 mmHg) daha yüksek bir basınçlarda, belirli aralıklarla %100 oksijen solunması esasına dayanır. Sistemik bir tedavidir ve topikal uygulanan oksijen tedavileri HBO tedavisi olarak nitelendirilmez. Tedavi sırasındaki basınç değeri ve tedavinin süresi hastalığa ve hastalığın şiddetine göre değişkenlik gösterebilir (5).

HBO tedavisi tek bir hastanın tedavi edildiği tek kişilik basınç odalarında yapılabildiği gibi, aynı anda birden çok hastanın tedavisine olanak tanıyan çok kişilik basınç odalarında yapılabilmektedir. Tek kişilik basınç odalarında ortam oksijen ile basınçlanır ve hasta doğrudan ortamdan solur ya da ortam hava ile basınçlanır ve hasta maske yardımı ile oksijen solur (**Şekil 1**). Çok kişilik basınç odalarında ise basınç artışı yalnızca hava kompresyonu ile gerçekleşmekte ve hasta oksijeni maske, başlık veya endotrakeal tüp yardımı ile soluyabilmektedir (**Şekil 2**).



Şekil 1. Tek Kişilik Basınç Odası



Şekil 2. Çok Kişilik Basınç Odası

2.6.1. Tarihçe

Yüksek basınçla tedavinin kullanımına kayıtlarda 1662 yılında rastlanmaktadır. Henshaw kendi icadı olan ve adına “Domicilium” dediği cihazı kimi hastalıkların tedavisinde kullanmıştır. Oksijenin kullanılmadığı, hava ile yapılan bu basınçlı tedavinin ardından oksijenin 1775 yılında Priestley tarafından tanımlanması ve oksijen ile ilgili araştırmaların devam etmesiyle oksijen bu tedaviyi ana unsurlarından biri haline gelmiştir (31). 1840’lı yıllarda Triger tarafından, köprü ve sualtı tünellerinin yapımında kullanılan basınçlı tünel (kezon) çalışmaları yapılmıştır. Triger basınçlı tünel işçilerinde eklem ağrıları ve merkezi sinir sistemi (MSS) bulguları tariflemiştir. Sonradan bu bulguların dekompresyon hastalığı olduğu anlaşılmıştır (32). Bu tarihteki en önemli isimlerinden biri de Paul Bert’tir. Bert’in 1878 yılında yayınladığı “La Pression Barométrique” isimli kitabında, hiperbarik fizyolojinin ve hiperbarik oksijenin etkilerini ele almıştır. Paul Bert oksijenin MSS üzerindeki toksik etkilerini tanımlamış, dekompresyon hastalığı ile nitrojen ilişkisini saptamıştır. Basınç düşürülürken sürenin uzatılmasını önererek nitrojenin vücuttan atılımının artacağını ve böylelikle dekompresyon hastalığı bulgularının azalacağını saptamıştır. Ayrıca gelişmiş dekompresyon hastalığında oksijen solumanın ve rekompresyonun hastalığın bulgularını azalttığını belirtmiştir (24).

Dekompresyon hastalığında hiperbarik oksijen kullanımını ilk öneren 1917 yılında Drager olmuştur ve ilk uygulama 1937 yılında Benhke ve Shaw tarafından gerçekleştirilmiştir (31). 1900’lerin başında askeri dalışlar nedeniyle yapılan araştırmalar yine önemli gelişmeler sağlamış, Haldane kademeleri dekompresyonu önermiştir. Böylece bugünkü dekompresyon tablolarının temeli atılmıştır (33). Dalış hastalıkları dışındaki hastalıklarda HBO tedavisinin uygulanması 20.yüzyılın ikinci yarısına rastlamaktadır. Boerema HBO tedavisini 1959’da ilk kez kardiyak cerrahi operasyonları esnasında kullanılmıştır. Ayrıca Boerema’nın düşük hemoglobin seviyesine sahip domuzları basınç odasında yaşatarak yayınlaması büyük ilgi görmüştür (34). HBO tedavisi 1960 yılında ilk kez karbonmonoksit zehirlenmesinde Sharp ve Smith tarafından uygulanmıştır (35). Uluslararası hiperbarik tıp ile ilgili ilk toplantı 1963’te Amsterdam’da gerçekleştirilmiş, 1994 yılında içinde endikasyonların da yer aldığı ilk konsensüs bildirisi yayınlanmıştır.

Hiperbarik tıbbın ülkemizdeki başlangıcı İstanbul Tıp Fakültesi ile Deniz Kuvvetleri Komutanlığı arasında ilki 1976'da ikincisi 1979 yılında imzalanan protokollere dayanmaktadır. İstanbul Tıp Fakültesi'nde Deniz ve Sualtı Hekimliği bölümü 1976'da kurulmuştur. Uzmanlık alanının ismi 2002 yılında Tıpta Uzmanlık Tüzüğü'nde yer alan değişiklik ile Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı olarak belirlenmiştir. Bugün için önemli sayıda büyük şehirlerde Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp hizmeti sunulmakta ve gün geçtikçe de merkezlerin varlığı yaygınlaşmaktadır (24).

2.6.2. HBO Tedavisinin Etki Mekanizmaları

HBO tedavisinin etki mekanizmalarını daha iyi anlayabilmek için basınç, hacim ve sıcaklık değişkenlerinin gazların davranışını nasıl belirlediğini belli gaz kanunlarını gözden geçirerek değerlendirmek gerekir.

Boyle Gaz Kanunu

Sıcaklık sabit kalmak kaydıyla bir gazın hacmi basıncı ile ters orantılıdır, aşağıdaki şekilde formüle edilir:

$$P.V = k \text{ (T sabit) } P: \text{ Basınç } V: \text{ Hacim } k: \text{ Sabit}$$

Arteriyel gaz embolisi ve dekompresyon hastalığının tedavisi bu esasa, basınç artışı ile gaz kabarcığının hacminin küçülmesine dayanır. Ayrıca HBO tedavisin bir yan etkisi olabilen barotravmalar yine bu kanun ile açıklanabilmektedir (36).

Charles ve Gay-Lussac Gaz Kanunu

Basıncı sabit tutulan gazların, hacimleri ile sıcaklıkları doğru orantılıdır (J. Charles). Sabit hacimli bir gazın, basıncı ile sıcaklığı doğru orantılıdır (L. Gay-Lussac). Her iki ifadenin formülü şu şekildedir:

$$P1 / T1 = P2 / T2 \text{ (V:sabit) } P: \text{ Basınç } V: \text{ Hacim } T: \text{ Sıcaklık}$$

Basınç odalarında hızlı bir kompresyon yani basıncın hızlı bir şekilde artırılması sıcaklığın da hızlı bir şekilde artmasına neden olur (31). Bu yüzden basınç odalarında sıcaklığı kontrol altına alacak klima sistemleri geliştirilmiştir.

Henry Gaz Kanunu

Bu yasaya göre bir sıvı içerisinde sabit bir sıcaklıkta çözünen gaz miktarı, gazın kısmi basıncı ile doğru orantılıdır. Ayrıca her bir gazın, farklı sıvılar içindeki çözünürlük kat sayısı farklıdır ve bu sıcaklıkla değişir. HBO tedavisin dayandığı temel yasalardan biridir. Normal sağlıklı bir insanda oksijen %97 oranında hemoglobin

proteinine bağılı, %3 plazmada çözünerek dokulara taşınır. Deniz seviyesinde arteriyel oksijen saturasyonu %97,5'dur ve 1 gram hemoglobin, 1,34 ml oksijeni bağlayabilir. Sağlıklı bir insan için hemoglobin değeri 15 gr/dl kabul edilirse, 100 ml kanda 19,5 ml oksijen taşınabilir. Kapiller seviyede oksijen saturasyonu %75'e, düşer. Dolayısıyla taşınan oksijen miktarı 14,5 ml'ye düşer; 100 ml kan ile yaklaşık olarak 5 ml oksijen dokulara transfer edilir. HBO tedavisi ile hemoglobin ile taşınandan bağımsız olarak plazmada çözünen oksijen miktarı artırılır. Örneğin 2,8 ATA'da %100 oksijen solunmasıyla yapılan tedavide, 100 ml kanda çözünen oksijen miktarı 6 ml bulmaktadır. Ulaşılan bu değer, dokuların oksijen ihtiyacını hemoglobinden bağımsız olarak karşılayacak düzeydedir. Sonuç olarak HBO tedavisi sırasında çözünmüş oksijenin artmasıyla hemoglobin hiç oksijen taşımasa bile dokuların oksijen ihtiyacını karşılayacak seviyelere erişilmiş olunur (31).

Dalton Gaz Kanunu

Bir gaz karışımının toplam basıncı, karışımındaki her bir gazın kısmi basınçlarının toplamı kadardır ve aşağıdaki formülle ifade edilir.

$$P_T = P_1 + P_2 + P_3 + \dots + P_n$$

P_T : Gaz karışımının toplam basıncı

$P_1 + P_2 + P_3 + \dots + P_n$: Karışımındaki gazların kısmi basınçları toplamı

Atmosferdeki havanın yaklaşık %21'i oksijenden, %78'i nitrojenden, kalan %1'lik kısım ise diğer gazlar tarafından oluşmaktadır. Deniz seviyesinde, atmosfer tarafından uygulanan basınç değeri, 1 kg/cm^2 , 760 mmHg ya da 1 ATA'ya eşittir. Bu yasaya göre, havadaki oksijenin kısmi basıncı $21/100 \times 760 \text{ mmHg} = 159,6 \text{ mmHg}$ (yaklaşık 160 mmHg) veya 0,2 ATA olmaktadır. Çevre basıncı 2 katına çıkarılacak olursa, oksijenin kısmi basıncı da doğru orantılı olarak artarak, 320 mmHg veya 0,4 ATA olur (31).

2.6.3. Fizyolojik Etkileri

HBO tedavisinin organizmada oluşturduğu temel etkiler esas olarak iki basamağa dayanmaktadır. İlki basıncın artışına bağılı olarak oluşan mekanik etki, diğeri de parsiyel oksijen basıncının artışına bağılı olarak ortaya çıkan etkilerdir.

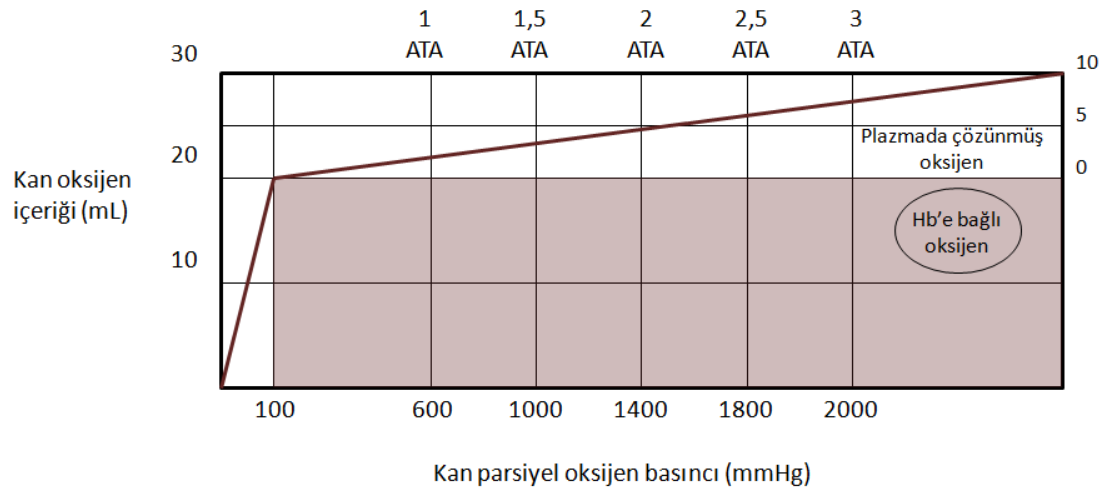
Basınç Etkisi

Gaz kanunları ele alınırken bahsedilmiş olan Boyle Yasasına göre, bir gaz üzerine basıncın artışı o gazın hacminde küçülmeye neden olacaktır, tam tersi de geçerlidir. Dekompresyon hastalığı, arteriyel gaz embolisi gibi gaz kabarcıklarının küçültülmesi doğrudan basınç etkisiyle gerçekleşmektedir. Bu mekanik bir etkidir, gaz kabarcığının hacmi küçülerek tıkanıklığa, basıya, iskemiye neden olduğu alanda semptomların ortadan kalkması hedeflenmektedir. Aynı şekilde HBO tedavisinin yan etkilerinden olan barotravmalarda yine bu etki ile gerçekleşmektedir (24).

Parsiyel Oksijen Basıncı Artışı Sonucu Ortaya Çıkan Etkiler

Sağlıklı bir insanda hemoglobin %97 oranında oksijen ile satüre durumdadır. Hemoglobine bağlı oksijeni %100'e çıkarmak organizmanın oksijenizasyonunu anlamlı ölçüde arttırmaz.

Normal sağlıklı 1 ATA'da hava soluyan bir insan için 100ml kan 0,3ml çözülmüş oksijen taşınmaktadır. Bu değer 2 ATA'da hava solunduğunda 0,8 ml'ye, 1 ATA'da %100 oksijen solunmasıyla 2 ml'ye, 2 ATA'da %100 oksijen solunmasıyla 4 ml'ye çıkmaktadır. Oksijenlenme açısından değerlendirildiğinde HBO tedavisinin gözünü diktiği nokta tam da burasıdır (37).



Şekil 3. Plazmada Çözünen Oksijenin Basınç Artışı İle Olan İlişkisi (31).

CO zehirlenmesi gibi hemoglobinin oksijenle bağlanmasında ciddi güçlük söz konusu olduğunda, bu etki oldukça önemli yarar sağlar. Benzer şekilde derin anemilerde, kan transfüzyonunun gecikmesi ya da dini inanışlar gibi transfüzyonun mümkün olmadığı durumlarda çözülmüş oksijenin artışı ile doku hipoksisi azaltılabilmektedir (37).

Kardiyovasküler Etkiler

Bu sistemdeki en dikkat çekici etki bradikardi ve buna bağlı olarak gelişen kardiyak outputun azalmasıdır (38). Dokulara ulaştırılan oksijen arttırıldığından oluşan bu durum herhangi bir olumsuzluk yaratmamaktadır. Aynı sebeple, dokular gerekli olan oksijeni daha az miktarda kandan alabildiğinden periferik vazokonstriksiyon görülür ve periferik direnç artar. Kan basıncında da minimal bir artış olur. Oluşan vazokonstriksiyon HBO tedavisinin antiödem etkisini ortaya çıkarır. Ayrıca, kapiller geçirgenliği bozan hipoksik ortam, oksijenlenme ile düzelir ve damar dışına kaçak azalır. Bu da ödemin azalmasında etkilidir (39).

Antitoksik Etki

Clostridium perfringes bakterisinin neden olduğu gazlı gangren, myonekrotik bir enfeksiyondur. Bu bakterinin ürettiği alfa toksin hücre membranlarına zarar vererek kapiller geçirgenliği arttırmaktadır. HBO tedavisi bu toksinin üretimini inhibe etmekte ve antitoksik etki göstermektedir (40).

Antibakteriyel Etki

Diğer tüm organizmalarda olduğu gibi mikroorganizmaların da oksijene olan duyarlılığı farklıdır. Oksijen varlığındaki üreme davranışlarına göre bakterilerin ayrıca bir sınıflaması yapılabilmektedir.

Anaerob bakteriler antioksidan savunma mekanizmalarından yoksun oldukları için hiperoksik koşullar altında yaşayıp üreyemezler. *Clostridium perfringes*'in neden olduğu gazlı gangren cerrahi tedaviye destek olarak HBO ile başarılı şekilde tedavi edilmektedir ve hali hazırda gazlı gangren HBO tedavisinin endikasyon listesinde bulunmaktadır (5, 41)

Anaerob bakteriler için HBO tedavisi bakterisidal etki gösterir. Tedavi ile artan serbest oksijen radikalleri süperoksit dismutaz gibi antioksidan savunma sisteminden yoksun anaerob bakterilerin DNA (Deoksiribo Nükleik Asit), RNA (Ribo Nükleik Asit) dizilerine hasar verir, metabolik aktivitesi bozulan bakteriler canlılığını sürdürülemez. Polimorfonükleer lökositlerin (PNL) ve makrofajların antibakteriyel rolleri hipoksiden etkilenir. Lökositlerin oksidatif öldürme mekanizmaları, oksijenin parsiyel basıncı 30 mmHg'nın altına indiğinde çalışmaz (40). HBO tedavileriyle bu değer 30-1200 mmHg aralığında değişen şekilde seyreder. Böylelikle konağın savunma sistemi için yeterli oksijen sağlanmış olur.

HBO tedavisin bazı antibiyotiklerle sinerjistik veya aditif etki gösterdiği bilinmektedir. Örneğin aminoglikozidlerin hücre duvarından geçişi oksijene bağlı gerçekleşmektedir. Hipoksik ortamda antibiyotiğin hücre duvarından geçişi azalacağından benzer mekanizmalarla teikoplanin, florokinolon, vankomisin gibi antibiyotiklerin de etkinliği arttırılır (40,42).

Yara İyileşmesine Olan Etki

Doku bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanan yaranın, iyileşmesi 3 evrede gerçekleşir. Bu evreler inflamasyon, proliferasyon ve yeniden yapılanma / maturasyondan oluşur.

Yaranın oluşmasıyla başlayan inflamasyonda, damar bütünlüğünün bozulduğu yerde önce fibrin tıkaç oluşur. Takip eden süreçte kemotaktik faktörlerin etkisiyle bölgeye nötrofil göçü olur. HBO nötrofillerin hem oksidatif hem de non-oksidatif aşamalardaki fonksiyonlarını arttırır (43).

Proliferasyon evresinin öne çıkan hücreleri fibroblastlar ve endotel hücreleridir ve bu evredeki ana görevler matriks üretimi ve neovaskülarizasyondur. Bu iki süreç bir arada yürümek zorundadır. Vaskülarizasyon olmadan matriksin esas bileşeni kollajen üretilemez. Kollajen olmadan da damar duvarını oluşturan endotel hücreleri için destek doku oluşamaz. Kollajendeki üçlü heliks yapının oluşması ve hücreden salınması için pirolin hidroksilasyonu; stabilizasyonu için lizin hidroksilasyonu gerekir. Bu reaksiyonlar oksijene bağımlı olarak gerçekleşmektedir ve bu reaksiyonların gerçekleşmesi için en az 30-40 mmHg parsiyel oksijen basıncına gerek vardır. Ancak yara dokusu oksijenizasyonun bozulmasına bağlı olarak hipoksiktir ve parsiyel oksijen basıncı da 20 mmHg'nin altındadır (44). HBO etkisi ile yara dokusunda hiperoksi oluşur ve kollajen üretimi hızlanır. Aynı zamanda yaradaki hipoksik durum neovaskülarizasyonu tetikler.

Yara iyileşmesinin son aşaması olan yeniden yapılanma, üretilen kollajenin yara yerinde düzenlenmesidir. Oluşan kollajen lifler arasında çapraz bağlar kurulur ve bağ dokusu güçlü hale gelir. Bu çapraz bağların oluşabilmesi için gerekli olan parsiyel oksijen basıncının 20-60 mmHg olduğu gösterilmiştir (45). HBO tedavisi bu evreyi de olumlu etkilemektedir.

Bu aşamalardan sonra yaranın üzerinin epitelyum ile kapatılması yani reepitelizasyon evresi gelir. Yine bu süreçte de epitel hücrelerinin granülasyon dokusu üzerine ilerlemesi oksijen gerektirmektedir (46). Tüm bunlara ek olarak HBO

tedavisinin anti ödem etkisi ve infeksiyonla mücadeledeki olumlu etkileri yara iyileşmesi sürecine katkıda bulunur.

2.6.4. HBO Tedavisinin Endikasyonları

HBO tedavisinin endikasyonları ülkeden ülkeye değişebilmektedir. Bazı ülkelerde etkinliği bilimsel olarak kanıtlanmış hastalıkların bile ancak bir kısmında kullanılırken, bazı ülkelerde kontraendikasyonlar dışında kalan neredeyse tüm hastalıklarda denenmektedir. Çeşitli kurumlarca hazırlanmış endikasyonlar listeleri belirlenmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde kurulmuş olan Sualtı ve Hiperbarik Tıp Birliği (Undersea and Hyperbaric Medical Society - UHMS) en son 2014 yılında kesinleşmiş HBO tedavisi endikasyonlar listesini yayınlamıştır (47). Bu liste **Tablo 1**'de verilmiştir. Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı'nın özel hiperbarik oksijen merkezleri için kabul ettiği endikasyon listesi mevcut olup, bu liste **Tablo 2**'de verilmiştir (41). Bu listelerin dışında Avrupa Hiperbarik Tıp Komitesi (European Committee of Hyperbaric Medicine-ECHM) 2016 yılında düzenlenen 10. Avrupa Hiperbarik Tıp Konsensus Konferansı'nda HBO tedavi endikasyonlarını “Kuvvetle önerilen”, “Önerilen”, “Opsiyonel” olmak üzere 3 grupta toplamıştır (**Tablo 3**). Bu üç gruptaki endikasyonlar “kanıta dayalı tıp” kuralları esas alınarak derecelendirilmiş, 1.derece kanıtla sahip olanlar A, 2.derece kanıt bulunanlar B, 3.derece kanıtlara dayananlar C olarak kabul edilmiştir. Ayrıca HBO endikasyonu olarak kabul edilmeyen durumlar da incelenmiş; sadece kontrolsüz çalışmalarla desteklenmiş ve üzerinde fikir birliğine varılmamış durumlar D, fayda sağlanacağına dair kanıt bulunmayan ya da yanlış yorum veya metodolojinin sonuca varmayı engellediği durumlar E, HBO kullanılmaması yönünde kanıtların bulunduğu durumlar da F olarak verilmiştir (48).

Tablo 1. UHMS Tarafından Belirlenen Endikasyon Listesi (47).

1. Hava veya gaz embolisi
2. Karbonmonoksit intoksikasyonu / siyanür intoksikasyonu
3. Klostridyal miyozit ve miyonekroz (Gazlı gangren)
4. Crush yaralanması, kompartman sendromu ve diğer akut travmatik iskemiler
5. Dekompresyon hastalığı
6. Arteriyel yetmezlikler
 - a. Santral retinal arter oklüzyonu
 - b. Seçilmiş problemlili yaralarda yara iyileşmesine destek
7. Ciddi anemi
8. İntrakranial apse
9. Nekrotizan yumuşak doku infeksiyonları
10. Osteomyelit (refrakter)
11. Gecikmiş radyasyon hasarı (yumuşak doku ve kemik nekrozu)
12. Tutması şüpheli greftler ve flepler
13. Akut termal yanıklar
14. Ani idiyopatik sensörinöral işitme kaybı

Tablo 2. Sağlık Bakanlığı Endikasyon Listesi (41)

1. Dekompresyon hastalığı
2. Karbonmonoksit, siyanid zehirlenmesi, akut duman inhalasyonu
3. Gazlı gangren
4. Yumuşak dokunun nekrotizan infeksiyonları (deri-kas-fasya)
5. Yara iyileşmesinin geciktiği durumlar (Diyabetik ve non-diyabetik)
6. Hava veya gaz embolisi
7. Kronik refrakter osteomyelit
8. Kafa kemikleri, sternum ve vertebranın akut osteomyelitleri
9. Ani görme kaybı (Retinal arter oklüzyonu)
10. Ani işitme kaybı
11. Crush yaralanması, kompartman sendromu ve diğer akut travmatik iskemiler
12. Tutması şüpheli deri greft ve flepleri
13. Radyasyon nekrozları
14. Beyin absesi
15. Anoksik ensefalopati
16. Termal yanıklar
17. Aşırı kan kayıpları

Tablo 3. ECHM Endikasyon Listesi (49).

	Kant Düzeyi		
	A	B	C
Tip 1 Endikasyonlar			
Anaerobik veya karışık bakteriyal enfeksiyonlar			x
CO zehirlenmesi		x	
Dekompresyon hastalığı			x
Gaz embolisi			x
Crush yaralanmasıyla birlikte açık kırıklar		x	
Osteoradyonekroz (Mandibula)		x	
Diş çekimi sonrası osteoradyonekrozun önlenmesi		x	
Yumuşak doku radyonekrozu (sistit, proktit)		x	
Ani işitme kaybı		x	
Tip 2 Endikasyonlar			
Yanıklar (>2. derece veya %20 den geniş)			x
Santral retinal arter oklüzyonu (CRAO)			x
Riskli cilt greftleri ve muskulokutanöz flepler			x
Kırık olmayan crush yaralanmaları			x
Diyabetik ayak lezyonları		x	
Femur başı nekrozu		x	
İskemik ülserler			x
Evre IV nöroblastoma			x
Osteoradyonekroz (Mandibula haricindeki diğer kemikler)			x
Pnömotosis sistoides intestinalis			x
Yumuşak doku radyonekrozu (diğerleri)			x
Refrakter kronik osteomyelit			x
Radyasyon almış dokularda cerrahi veya implant öncesi prevansiyon			x
Tip 3 Endikasyonlar			
Seçilmiş hastalarda beyin hasarı			x
(akut veya kronik travmatik beyin hasarı, kronik inme, post anoksik ensefalopati)			
İnterstisyel sistit			x
Ekstremitte replantasyonu			x
Damar girişimi sonrası reperfüzyon sendromu			x
Larinks radyonekrozu			x
Radyasyona bağlı santral sinir sistemi lezyonları			x
Sistemik süreçlere sekonder iyileşmeyen yaralar			x
Orak hücre anemisi			x
HBOT kullanılmaması gereken Tip 1 Endikasyonlar			
Otizm spektrum bozukluğu		x	
Serebral palsi		x	
Multipl skleroz		x	
Plesental yetmezlik			x
İnme akut fazı			x
Tinnitus		x	

2.6.5. HBO Tedavisinin Yan Etkileri ve Komplikasyonları

Barotravmalar bu tedavinin en sık karşılaşılan yan etkisidir. Barotravmaların oluşmasındaki temel patolojik süreç vücut içindeki hava dolu boşlukların, basınç değişikliğine bağlı olarak hasarlanmasına dayanmaktadır. Hastalarda ve tedaviye refakat eden sağlık personeline en sık karşılaşılan orta kulak barotravmasıdır. Boyle Gaz Kanununa dayanarak tedaviye başlandığında, dış ortam basıncının artmasıyla iç ortam basıncının yani orta kulağın içindeki basıncın eşitlenememesi sonucu oluşur. Yutkunma, valsalva manevrası gibi yöntemlerle östaki tüpünden orta kulağa hava girişi sağlanarak barotravma oluşumu engellenebilmektedir. Hastaya bu manevraların uygun şekilde anlatılmasıyla bu komplikasyonun gelişmesinin önüne geçilebilmektedir ve birçok hasta bu duruma uyum sağlayabilmektedir. Ancak östaki disfonksiyonu ve üst solunum yolu enfeksiyonları varlığında basınç eşitlemesi yapılamayabilir. Buna rağmen orta kulak barotravması HBO tedavisi için kesin kontraendikasyon oluşturmaz ve tedavinin uygulanmasına acil durumlarda karar verilebilir. HBO tedavisinin ertelenemeyeceği durumlarda miringotomi veya kulak zarına ventilasyon tüpleri takılarak yine tedavi gerçekleştirilebilmektedir.

Benzer şekilde barotravmalar içi hava ile kaplı diğer organlarda da gerçekleşebilmektedir. Sık görülmemesine rağmen en tehlikeli barotravma akciğerde gerçekleşebilmektedir. Akciğerde kist, kavern, bül, blep gibi içi hava dolu lezyon varlığı barotravma gelişmesi için risk oluşturur. Akciğer barotravması tedavinin sonunda çevre basıncının azalması sırasında meydana gelebilmekte ve pnömotoraks, pnömomediastinum, cilt altı amfizem veya gaz embolisine neden olabilmektedir. Bu komplikasyonun önlenmesi için risk oluşturabilecek hastalıklar (geçirilmiş akciğer tüberkülozu gibi) göz önünde bulundurulmalı, hasta seçimi dikkatli yapılmalıdır (50). Paranasal sinüslerde mukoza ödemi veya mukosel gibi kitle varlığında benzer mekanizma ile barotravma oluşabilmektedir. Yine dolgu altında hava kalması dental barotravmalara neden olabilmektedir. Gastrointestinal sistemde barotravma nadir de olsa gerçekleşebilmektedir.

HBO tedavisinin bir diğer önemli yan etkisi oksijen toksisitesidir. 3 ATA ve üzerinde uygulandığında MSS oksijen toksisitesi görülebilmektedir. Mevcut HBO tedavi protokolleri bu basınç değerinin altında ve aralıklı oksijen kullanılmasıyla gerçekleşmektedir. Ancak oksijen toksisitesine yatkınlığı olan hastalarda nadiren de olsa MSS oksijen toksisitesi görülebilmektedir.

Uzun süreli oksijen kullanımında karşılaşılan ve trakeal irritasyon bulguları ile başlayıp akut solunum yetmezliğine kadar ilerleyebilen pulmoner toksisite bir başka yan etkidir. Başlangıç semptomları geliştiğinde oksijen verilmeye devam edilirse durum daha da ağırlaşabilir (51). Tedavinin aralıklı uygulanmasıyla bu komplikasyonun da önüne geçilebilmektedir (31).

Ayrıca uzun dönem uygulanan HBO tedavileri sonucunda geri dönüşlü miyopi olabilmektedir. Tedavi kesildikten sonra kendiliğinden düzelmektedir (50, 52).

2.6.6. HBO Tedavisinin Kontrendikasyonları

Kontrendikasyonlar kesin ve göreceli olarak iki grupta ele alınır. Tek mutlak kontrendikasyon tedavi edilmemiş pnömotorakstır. Tedavi sırasındaki basınç değişiklikleri nedeniyle tansiyon pnömotoraks oluşma ihtimali bu durumun mutlak kontrendikasyon olarak kabul edilmesine neden olur. Eğer pnömotoraksı olan bir hastanın kesin olarak HBO tedavisi görmesi gerekiyorsa, hastaya basınç odasına alınmadan önce göğüs tüpü takılmalıdır.

Göreceli kontrendikasyonların bulunduğu liste **Tablo 4**'te verilmiştir (31,50). Bu durumların varlığında hastanın klinik durumuna ve tedaviden alacağı fayda değerlendirilerek karar verilir.

Bu listede yer almayan konjestif kalp yetmezliği, spontan pnömotoraks, herediter sferositoz gibi bazı hastalıkların da rölatif kontrendikasyon oluşturduğu düşünülmektedir. Bu hastalıkların varlığı söz konusu olduğunda, hastanın HBO tedavisine alınması gerekiyorsa, gelişebilecek komplikasyonlara yönelik önlemler alınarak, çok kişilik basınç odasında ve müdahale yapabilecek bir sağlık personelinin gözetiminde tedavi uygulanmalıdır (31).

Tablo 4. HBO Tedavisinin Göreceli Kontrendikasyonları (31,50).

1. Üst solunum yolu infeksiyonu
2. Obstrüktif akciğer hastalıkları
3. Grafide asemptomatik akciğer lezyonu, hava hapsine yol açabilecek bül-blep gibi lezyonlar
4. Göğüs ya da kulak cerrahisi öyküsü
5. Kontrolsüz yüksek ateş
6. Hamilelik
7. Klostrofobi
8. Nöbet geçirme



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 6 farklı *P. Aeruginosa* suşu için polimiksin B'nin MİK değerlerine HBO'nun etkisi araştırılmıştır. 2016 yılı Ekim-Kasım aylarında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı'na DAİ nedeniyle başvuran 4 hastanın doku kültürlerinden izole edilen *P. aeruginosa* suşları ile birlikte ve 2 adet standart *P. aeruginosa* suşları ATCC 27853 ve NCTC 6749 kullanılmıştır.

3.1. Besiyerlerinin Hazırlanması

P. aeruginosa gibi bakterilerde gradient test yapmak için CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) tarafından önerilen Mueller-Hinton agar ve Mueller-Hinton buyyon besiyerleri kullanılmıştır. Bu besiyerlerinin tavsiye edilmesinin nedenleri; tekrar edilebilir deney sonuçları elde edilmesi, kolay üreyebilen bakteriler için yeterli üremeyi sağlayabilmeleri ve bu besiyerleri için yapılmış duyarlılık deneyleri için yeterli bilgi birikimi bulunmasıdır (53).

3.1.1. Mueller-Hinton agar (MHA) besiyeri

Mueller-Hinton agar (MHA) besiyeri (Oxoid, England) ticari olarak dehidrate toz olarak bulunmaktadır. Besiyerinin hazırlanmasında üretici firmanın önerileri doğrultusunda önerilen miktarda dehidrate besiyeri tartılarak manyetik karıştırıcı yardımıyla ısı bloğunda distile su içinde eriyinceye kadar ısıtılmıştır. Besiyerinin, pH'sı pH metrede 7.2-7.4 olacak şekilde ayarlandıktan sonra, 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Aseptik koşullarda steril Petri kutularına besiyeri kalınlığı 4 mm ± 0.5 mm olacak şekilde dağıtılmış ve üretici firmanın önerisi doğrultusunda 4-8°C'de saklanıp kullanılmıştır (53).

3.1.2. Mueller-Hinton buyyon (MHB) besiyeri

Mueller-Hinton buyyon (MHB) besiyeri (Oxoid, England) ve katyon ayarlı Mueller-Hinton buyyon (CAMHB) besiyeri (Oxoid, England) ticari olarak dehidrate toz olarak bulunmaktadır. Besiyerinin hazırlanmasında üretici firmanın önerileri doğrultusunda önerilen miktarda dehidrate besiyeri tartılarak manyetik karıştırıcı yardımıyla ısı bloğunda distile su içinde eriyinceye kadar ısıtılmıştır. Besiyerinin, pH'sı

pH metrede 7.2-7.4 olacak şekilde ayarlandıktan sonra, tüplere ve balonlara uygun hacimlerde bölünmüş ve 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Besiyerleri soğuduktan sonra 4-8°C'de saklanmıştır (53).

3.2. Suşların Tanımlanması

Çalışma kapsamına alınan suşlar; konvansiyonel yöntemlerle hareket, oksidaz aktivitesi, karbonhidratlara (glikoz, laktoz) oksidatif ve fermentatif etki, pigment, gaz ve hemoliz oluşturma gibi özelliklerine göre değerlendirilmiştir. Kültürde üreme olan örneklerin Gram boyaması, koloni morfolojisi, karakteristik koku varlığı, beta hemoliz yapma ve pigment oluşturma özelliği, oksidaz pozitifliği olan suşlar tür düzeyinde *P. aeruginosa* olarak tanımlanmıştır. Testlerde iki adet de *P. aeruginosa* standart suşu ATCC 27853 ve NCTC 6749 kullanılmıştır (8).

3.3. Polimiksin B MİK Değerlerinin Saptanması

Gradyent testi, disk difüzyon ve dilüsyon testlerinin bazı özelliklerini taşıyan pratik bir duyarlılık testidir. Gittikçe artan konsantrasyonlarda antibiyotik içeren plastik şeritlerdir. Elips şeklindeki inhibisyon alanının stripi kestiği nokta MİK değerini verir (54). Çalışmada incelenen tüm suşların saf kültüründen MHA besiyerine ekim yapılarak elde edilen taze kültürden alınan koloniler, Mueller-Hinton buyyonda süspanse edilmiştir. Bakteri süspanasyonu dansitometre (DEN-1B Biosan McFarland densitometer, Latvia) kullanılarak 0.5 McFarland bulanıklık standardına göre ayarlandıktan sonra 8 adet MHA besiyeri yüzeyine yayılmıştır. Yayılan kültürün üzerine polimiksin B gradyent test (bioMérieux, France) şeritleri yerleştirilmiştir. Suşların polimiksin B MİK değerlerini araştırmak için polimiksin B gradyent test yöntemi ile 6 adet *P. aeruginosa* suşu şerit üzerinde polimisin B'nin 0.064 µg/ml – 1024 µg/ml arasındaki konsantrasyonları ile karşılaştırılmıştır. Normobarik %100 oksijen ve farklı süre ve basınçta uygulanan üç HBO grubu için bir kontrol petrisi ve bir deney petrisi hazırlanmıştır. Kontrol petrisi ve HBO uygulanan petri, tedavi modeline göre 90 dakika ya da 300 dakika sonrasında 35°C'de 24 saat etüvde inkübe edilmiştir. CLSI kriterlerine göre MİK değeri ≤ 2 µg/ml arasında olan suşlar polimiksin B'ye duyarlı, 4 µg/ml düzeyinde olan suşlar ise orta duyarlı, ≥ 8 µg/ml olan suşlar dirençli olarak değerlendirilmiştir (55).

3.4. Deneysel Prosedür

Hiperbarik oksijen uygulamaları 0.022 m³ hacmindeki bir deney basınç odası (Şekil 3) kullanılarak İstanbul Tıp Fakültesi, Sualtı Hekimliği Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4. Deney Basınç Odası

Çalışılan 6 suşun her biri için kontrol ve deney grupları oluşturulmuştur. Tüm gruplar için ortam sıcaklığı 25°C olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu atmosferik basınçta oda havasında tutulurken, A grubuna atmosferik basınçta %100 oksijen, diğer 3 gruba (Grup B,C,D) da farklı süre ve basınçlarda %100 oksijen uygulanarak deney gerçekleştirilmiştir. Tüm çalışma grupları ve kontrol grupları oksijen uygulamalarının hemen ardından İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda bulunan etüvde 35°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından gradiyent test yöntemi ile MİK değerleri ölçülmüştür.

3.5. Hiperbarik Oksijen Uygulaması

HBO uygulamalarının tümünde deney basınç odası iç ortamında %100 oksijen konsantrasyonu elde edilene kadar basınç odasının %100 oksijen ile ventilasyonu sağlanmıştır. Ardından hedeflenen basınç değerine 10 metre/dakika hızla %100 oksijen ile kompresyon uygulanmıştır. HBO uygulamasının bitiminde 10 metre/dakika hızla dekompresyon sağlanmıştır.

3.6. Deney Grupları

Çalışmada 1 er suşun ekili olduğu MHA besiyerlerine antibiyotik gradient test şeritleri yerleştirilerek altışar adet petri aşağıda belirtilen şekilde gruplanmıştır.

3.6.1 Kontrol grupları:

Besiyerleri atmosferik basınçta (1 ATA), sabit oda sıcaklığında (25°C), oda havası şartlarında (%20.9 oksijen), 90 ve 300 dakika olacak şekilde 2 ayrı sürede bekletilip etüve alınmıştır.

3.6.2 Çalışma grubu A

Besiyerleri atmosferik basınçta (1 ATA), sabit oda sıcaklığında (25°C) %100 oksijen içeren ortamda, 90 dakika bekletilip etüve alınmıştır.

3.6.3 Çalışma grubu B

Besiyerleri sabit oda sıcaklığında (25°C), %100 oksijenle 2 ATA'ya basınçlanmış deney basınç odası içinde 90 dakika bekletildikten sonra etüve alınmıştır.

3.6.4 Çalışma grubu C

Besiyerleri sabit oda sıcaklığında (25°C), %100 oksijenle 2 ATA'ya basınçlanmış deney basınç odası içinde 300 dakika bekletildikten sonra etüve alınmıştır.

3.6.5 Çalışma grubu D

Besiyerleri sabit oda sıcaklığında (25°C), %100 oksijenle 2,8 ATA'ya basınçlanmış deney basınç odası içinde 300 dakika bekletildikten sonra etüve alınmıştır.

4. BULGULAR

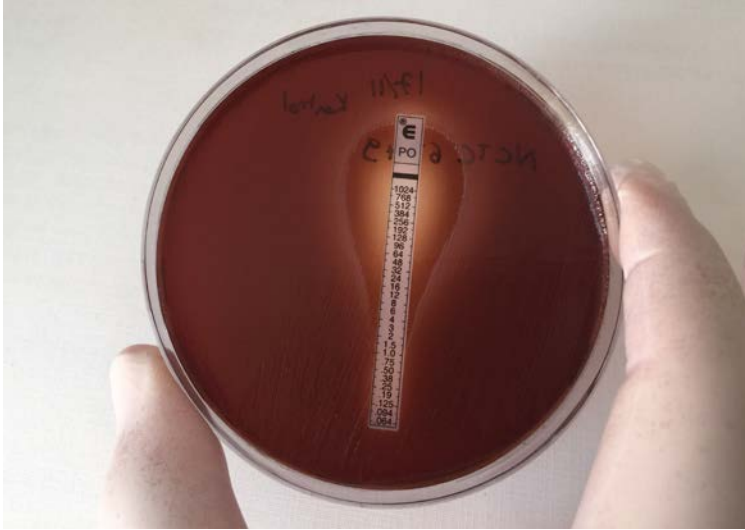
Çalışma sonunda tüm gruplarda saptanan MİK değerleri **Tablo 5**'de gösterilmiştir.

Her bir suş için ayrı ayrı değerlendirildiğinde;

4.1. Kontrol Grubu MİK Değerleri

Altı suşun 90 ve 300 dakika süreli deney grupları için belirlenen control gruplarında MİK değerleri eşit bulunmuştur.

ATCC 27853 suşunun hem 90 dakika hem de 300 dakikadaki kontrol MİK değeri 1 µg/ml olarak saptanmıştır. Yine bir diğer standart suş olan NCTC 6749'un kontrol grubunda MİK değeri 1,5 µg/ml olarak saptanmıştır. Diyabetik ayak infeksiyonu bulunun hastalardan alınan diğer *Pseudomonas* suşlarının kontrol gruplarında isimlendirilmeleri rastgele yapılan P1 suşu için MİK değeri 1 µg/ml, P2 suşu için MİK değeri 1 µg/ml, P3 suşu için MİK değeri 1 µg/ml, P4 suşu için MİK değeri 1 µg/ml olarak saptanmıştır.



Şekil 5. NCTC 6749 Suşu Kontrol Grubu Gradyent Test Sonucu

4.2. Deney Grubu A MİK Değerleri

ATCC 27853 suşu için MİK değeri 1 µg/ml, NCTC 6749 için 1 µg/ml, P1 suşu için 1 µg/ml, P2 suşu için 1 µg/ml, P3 suşu için 1 µg/ml, P4 suşu için 1 µg/ml olarak saptanmıştır.



Şekil 6. NCTC 6749 Suşu Grup A Gradyent Test Sonucu

4.3. Deney Grubu B MİK Değerleri

ATCC 27853 suşu için MİK değeri 1 µg/ml, NCTC 6749 için 1 µg/ml, P1 suşu için 1 µg/ml, P2 suşu için 1 µg/ml, P3 suşu için 1 µg/ml, P4 suşu için 0.75 µg/ml olarak saptanmıştır.



Şekil 7. NCTC 6749 Suşu Grup B Gradyent Test Sonucu

4.4. Deney Grubu C MİK Değerleri

ATCC 27853 suşu için MİK değeri 0.5 µg/ml, NCTC 6749 için 0.5 µg/ml, P1 suşu için 0.75 µg/ml, P2 suşu için 0.75 µg/ml, P3 suşu için 0,75 µg/ml, P4 suşu için 0.5 µg/ml olarak saptanmıştır.



Şekil 8. NCTC 6749 Suşu Grup C Gradiyent Test Sonucu

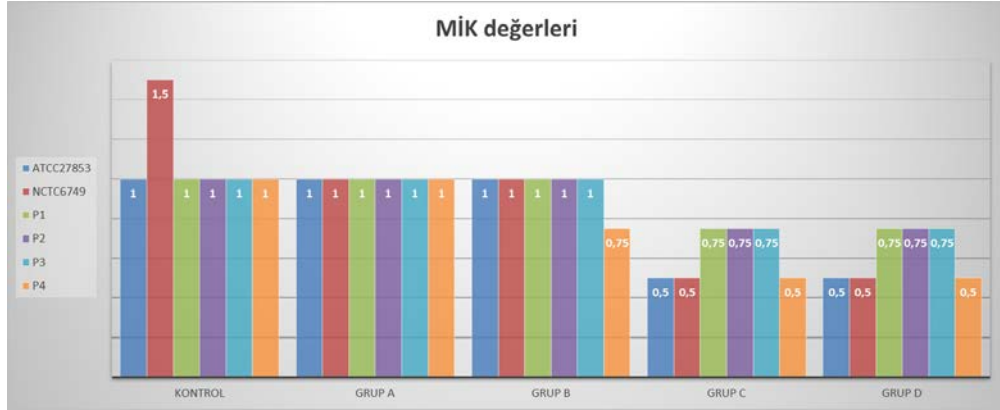
4.5. Deney Grubu D MİK Değerleri

ATCC 27853 suşu için MİK değeri 0.5 µg/ml, NCTC 6749 için 0.5 µg/ml, P1 suşu için 0.75 µg/ml, P2 suşu için 0.75 µg/ml, P3 suşu için 0.75 µg/ml, P4 suşu için 0.5 µg/ml olarak saptanmıştır.



Şekil 9. NCTC 6749 Suşu Grup D Gradiyent Test Sonucu

Tablo 5. Çalışma Sonunda Saptanan Tüm Gruplardaki MİK Değerleri



5. TARTIŞMA

P. aeruginosa yumuşak doku, idrar yolu, yanık sonrası deri infeksiyonlarına neden olabilen, nozokomiyal infeksiyonların önemli etkenlerinden olan aerob fırsatçı bir patojendir. Bir çok antibiyotiğe ve dezenfektana dirençlidir (8,26). *P. aeruginosa* çok hızlı direnç geliştirebilen bir bakteridir. Direnç gelişiminden yapısal özelliklerinin yanında uygunsuz antibiyotik kullanımının da payı bulunmakta ve çoklu antibiyotik dirençli suşların neden olduğu tedavisi güç infeksiyonlara neden olabilmektedir (56).

DAİ etkenleri arasında sıklıkla bulunmakta olan dirençli *P. aeruginosa* varlığı durumunda polimiksin grubu antibiyotiklerden kolistin tek başına veya kombine olarak diğer antibiyotiklerle kullanılabilir (57). Bakteriyel infeksiyonlardaki antibiyotik direnci günümüzde önemli bir halk sağlığı sorunudur. Etkili antibiyotikler olmazsa, majör cerrahi uygulamaların ve kemoterapi uygulamalarının başarısı bakteriyel infeksiyonlar yüzünden tehlikeye girebilir. Antibiyotiklere dirençli bakterilerle infekte hastaları, aynı bakterilerin duyarlı suşları ile infekte olan hastalara kıyasla daha kötü klinik sonuçlar ve daha yüksek ölüm riski beklemektedir. Ayrıca bu hastaların sağlık bakım giderleri daha yüksek düzeydedir (58,59)

Gram negatif bakteri infeksiyonlarında toksik yan etkilere sebep olabilecek polimiksinler son çare olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte polimiksinlere karşı dirençli bakteriyel infeksiyonların gelişmesi yeni tedavi arayışlarını da beraberinde getirmekte, deneysel araştırmalarla çeşitli antibiyotik kombinasyonları denenmektedir (60,61)

HBO'nun antimikrobiyal etkisi üzerine araştırmalar uzun süredir yapılmaktadır. HBO'daki antimikrobiyal etkinin en tesirli olduğu durum anaerobik infeksiyonlarda görülmektedir. *Clostridium perfringens*'in alfa toksin üretimi HBO ile baskılanmaktadır. Lökositlerin oksidatif öldürme mekanizmalarının düzgün çalışabilmesi için gerekli parsiyel oksijen basıncına HBO tedavisi ile erişmek mümkün olmaktadır. Anaerob bakterilere HBO bakterisidal etki gösterir. Tedavi ile artan serbest oksijen radikalleri süperoksit dismutaz gibi antioksidan savunma sisteminden yoksun anaerob bakterilerin DNA (Deoksiribo Nükleik Asit), RNA (Ribo Nükleik Asit) dizilerine hasar verir, metabolik aktivitesi bozulan bakteriler canlılığını sürdüremez (5,40,62,63). Anaerob

infeksiyonlar üzerindeki klinik uygulamalar değerlendirilecek olursa *Clostridium perfringens*'in neden olduğu gazlı gangrende cerrahi tedaviye destek olarak HBO tedavisinin antimikrobiyal etkisinden faydalanılmakta ve uzun süredir HBO gazlı gangrende bir destek tedavisi olarak uygulanmaktadır. Ülkemizde de gazlı gangren HBO tedavisinin sağlık bakanlığınca yayınlanan endikasyon listesinde bulunmaktadır (41).

HBO'nun antimikrobiyal etkinliği ile ilgili araştırmalar yalnızca anaerob bakterilerle sınırlı değildir. MSSA, MRSA, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* gibi aerob bakteriler üzerinde de HBO'nun etkileri çeşitli çalışmalarda incelenmiştir.(64-67).

P. aeruginosa ile ilgili bugüne kadar yapılmış olan çalışmalar ele alındığında HBO'nun bu bakteri üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini görmek mümkündür. 1971 yılında yayımlanan bir derlemede *P. aeruginosa*'nın 1 ATA'da saf oksijene maruz bırakılmasıyla bakterinin çoğalmasının inhibe edilmediği ancak daha yüksek oksijen basınçlarında bakteristatik etkinin olduğu belirtilmiştir (5). Ancak aynı yayında Grogan tarafından (68,69) in vivo tek başına oksijenin terapötik etkinliği değerlendirilmiş ve akut *P. aeruginosa* ile infekte sıçanlarda 2 yada 3 ATA'da uygulanan oksijenin mortaliteyi değiştirmede ifade edilmiştir. Yine Zaroff ve ark. (70) sıçanlarda *P. aeruginosa* ile infekte yanık ve flep kesileri üzerine hiperbarik oksijen uygulamasının sağ kalım üzerine anlamlı etkisinin olmadığı bu derlemede ifade edilmiştir. Bununla beraber derlemede in vivo olumlu sonuçlara da yer verilmiştir. Argamaso ve Wiseman'ın (71) intraperitoneal infeksiyonu olan sıçanlarda uyguladığı 2 ATA'da oksijen ve polimiksin B kombinasyonunun sağ kalımı önemli ölçüde arttırdığı aynı yayında vurgulanmıştır. Bu yayında bahsi geçen bir başka çalışma Irvin ve ark. (72) tarafından yapılmış ve *P. aeruginosa* ile infekte deri infeksiyonu olan gine domuzlarına 72 saat 2 ATA'da oksijen ve kontrol grubuna ise 72 saat hava uygulanmış, sonuçta oksijen uygulanan gruptaki hayvanların yaralarında daha az sayıda bakteri tespit edilmiştir. Bu derlemede kimi çalışmalar 1912 yılına aittir ve çalışmaların yöntemleri ile ilgili kısıtlı bilgi sahibi olunabilmektedir.

Literatüre bakıldığında tek başına HBO'nun *P. aeruginosa* üzerinde ne gibi etkiler oluşturduğu ile ilgili bir kaç çalışmada daha net bilgilere ulaşmak mümkündür. Lima ve ark. (73) 2015 yılında yayımladıkları çalışmada HBO'nun *P. aeruginosa*

suşları üzerine olan etkinliğini araştırılmışlardır. Bu çalışmanın önemli noktalardan biri de çalışmada elektron mikroskopisi ile bakterideki yapısal değişiklikler ve bakteri koloni sayıları incelenmiştir. 3 ATA'da 5 saat HBO uygulaması ile altı *P. aeruginosa* suşunda koloni sayısının azaldığı tespit edilmiştir. Elektron mikroskopisi ile bakteride yapısal değişiklikler incelendiğinde HBO uygulaması ile bakterilerde normal hücre duvarı olmakla birlikte sitoplazma daha ince granüler yapıda ve belirli nükleoid bölgelerin olmaması ile karakterize bir görünüm izlenmiştir. Araştırmacılar Colony Forming Unit (CFU) azalması ve yapısal değişikliklerle HBO'nun *P. aeruginosa* üzerinde bakteristatik etkisinin olduğunu vurgulamışlardır.

Park ve ark. (74) yayımladıkları çalışmada aminoglikozid grubu bir antibiyotik olan tobramisin ile artmış oksijenizasyon ilişkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada 2,8 ATA'da 1 saat %100 oksijen uygulamasının *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunun protein sentezini %50 azalttığı ancak 1 ATA'da 1 saat %100 oksijenin aynı suşun protein sentezini %24 arttırdığı saptanmıştır. 1992 yılında yayımlanan bir başka çalışmada (75) HBO'nun aminoglikozidlerin bakteri hücresi içine taşınmasını kolaylaştırarak antibiyotik etkinliğini arttırdığı vurgulanmaktadır. Tobramisin protein sentez inhibisyonu yaparak anti-pseudomonal etkinlik gösteren bir antibiyotiktir. Polimiksin B gibi hücre membranının bütünlüğünü bozarak etki gösteren bir antibiyotiğe aynı etki mekanizmasını uyarlamak doğru olmayabilir. Ancak burada önemli olan nokta oksijenin kısmi basıncı arttıkça *Pseudomonas* üzerine olan bakterisidal ve bakteristatik etkinin artıyor olmasıdır.

P. aeruginosa ile yapılan in vitro çalışmalarda (76,77) streptomisin, kanamisin, polimiksin B gibi antibiyotiklerin etkilerinin parsiyel oksijen basıncı ile arttırıldığı gösterilmiştir.

HBO'nun tek başına antimikrobiyal etkisi incelendiği bir başka çalışma Parkman'n 1971 yılında yayımladığı makalede değerlendirilmiştir. Buna göre sırasıyla 0,87 ATM, 1,87 ATM ve 2,87 ATM parsiyel oksijen basıncına 24 saat *P. aeruginosa* maruz bırakılmış ve koloni sayıları karşılaştırılmıştır. En yüksek bakterisidal etki 2,87 ATM basınçta izlenmiş ancak bunun kadar önemi bir başka sonuç 0,87 ATM basınç grubunda elde edilmiştir. Düşük basınçlı grupta bakteri çoğalması kontrol grubuna kıyasla daha da fazla uyarılmış olarak izlenmiştir. Yine aynı çalışmada HBO ile

sülfonamid etkileşimi de aratılmış ve sonuç olarak HBO'nun antibiyotiğin bakteriyostatik etkisini arttırdığı gözlemlenmiştir (78).

HBO'nun in vitro *P. aeruginosa* üzerindeki antibiyotik etkileşimi ile ilgili olarak sülfonamidlerdeki durumda, tıpkı antibiyotiğin kendisinin yaptığı gibi HBO'nun da aynı yollarla zerinden paraaminobenzoik asit metabolizmasına müdahale edebileceği düşünülmüştür (79).

Çalışmamızda HBO'nun Gram negatif bakterilerde son çare kullanılan polimiksin B antibiyotiği ile sinerjistik bir etki gösterip göstermediği MİK değerleri üzerinden araştırıldı. A grubundaki 90 dakika 1 ATA'da %100 oksijen uygulanan suşların MİK sonuçlarında dezenfektan dirençli NCTC6749 suşunun MİK değeri, kontrol grubuna kıyasla 1,5 µg/ml'dan 1 µg/ml'e düşmüş olarak izlendi, diğer suşların MİK değerleri kontrol grubu ile aynı, 1 µg/ml olarak izlendi. A grubu için sonuçlar değerlendirildiğinde normobarik %100 oksijenin *P. aeruginosa* üzerinde polimiksin B ile anlamlı sinerjistik etki göstermediği rahatlıkla söylenebilir. Bu sonuçlar literatürdeki diğer çalışmalarla da uyumludur. HBO'nun *P. aeruginosa* üzerindeki bakterisidal etkisinin parsiyel oksijen basıncı arttıkça ortaya çıkması, hatta 0,87 ATM %100 oksijenin aerob bir bakteri olan *P. aeruginosa* üzerinde çoğalmayı arttırıcı etkisinin olabileceği daha önce gösterilmiştir (78). Tek kişilik basınç odalarında hastalar için yaygın kullanılan tedavi protokolüne benzer biçimde uygulanan HBO'nun söz konusu olduğu B grubu için MİK değerleri sonuçları incelendiğinde kontrol gruplarına kıyasla NCTC6749 ve P4 suşları sırasıyla 1,5 µg/ml dan 1 µg/ml'e ve 1 µg/ml'den 0,75 µg/ml'e düşmüştür. Diğer suşların MİK değerleri kontrol grubu ile aynı, 1 µg/ml olarak saptanmıştır. Yine bu deney grubu için kontrolleri ile kıyaslandığında anlamlı bir değişiklikten söz etmek mümkün değildir (p=1.0).

2 ATA'da 300 dakikalık %100 oksijen uygulanan C grubu için MİK değerleri, hem kontrol hem de aynı basınçta 90 dakikalık B grubuna kıyasla tüm suşlarda düşmüştür. Kontrol grubu ile kıyaslandığında p=0,026; B grubu ile kıyaslandığında p=0,137 olarak bulunmuştur ve istatistiksel anlamlılık saptanmıştır. Bu grupta elde edilen sonuçlar, HBO maruziyeti uzadıkça beklenen etkinin ortaya çıkması bakımından anlamlıdır. Literatürde farklı sürelerde HBO uygulamalarının *P. aeruginosa* üzerindeki etkinlikleri ile ilgili birkaç yayın dışında net bilgiler bulunamamıştır. Brown ve ark. (76) 1967 yılında yayınladıkları makalede saf oksijene maruziyet sonrası hava ortamında

yeniden reinkübasyona bırakılan *P. aeruginosa* için 18 saat ve 10 saatlik uygulamaların anlamlı farklılıkları olmadığını saptamıştır. Ancak bu çalışmada uygulanan parsiyel oksijen basıncı 1 ATA olarak seçilmiştir. Bornside'ın (77) aynı yıl yayımladığı çalışmada 3 ATA'da uygulanan HBO uygulamasında polimiksin B'nin *P. aeruginosa* üzerindeki MİK değerleri maruziyet süresi arttıkça azalmıştır. Ancak bu çalışmada MİK değerini tespit etmek için sıvı dilüsyon yöntemi kullanılmış olup, literatürde son 50 yıl içinde bizim çalışmamızda kullandığımız MİK tayin yöntemi ve HBO ile ilgili kayda değer bir çalışmaya rastlanmamıştır. Oksijenin sıvı besiyerinde derine difüzyonu belirli bir süre sonra gerçekleşeceği için ve katı besi yerinde yüzeyel oksijen maruziyetinin mümkün olması sebebiyle tercihimiz MİK değerlerinin hesaplanmasında sıvı dilüsyon yöntemleri yerine gradiyent test yönteminden yana olmuştur.

Çalışmamızda en yüksek basınç değerinin ve en uzun tedavi süresinin seçildiği D grubu için MİK değerleri kontrollerine kıyasla tüm suşlar için azalmış ($p=0,026$) ve C grubu MİK değerleri sonuçlarıyla aynı çıkmıştır. Bu grup için sonuçlar değerlendirildiğinde parsiyel oksijen basıncının 2 ATA'dan 2,8 ATA'ya yükseltilmesi MİK değerleri açısından herhangi bir farklılık yaratmamıştır.

Tüm gruplardaki sonuçlar değerlendirildiğinde basınç artışının ve uzun süreli uygulamanın ayrı ayrı polimiksin B'nin MİK değerlerini azalttığı söylenebilir. Ancak her ikisi de 300'er dakikalık olan C ve D grupları kendi aralarında incelendiğinde parsiyel oksijen basıncının 2 ATA'dan 2,8 ATA'ya çıkması MİK değerleri sonuçlarını değiştirmemiştir.

Sonuçlarını tartıştığımız bu deney aynı zamanda birlikte kullanıldığında HBO uygulamasının başka ilaçların etkinliklerini de değiştirebileceğini gösteren bir çalışmadır. HBO oluşturduğu biyokimyasal ve fizyolojik etkiler nedeniyle farmakolojik bir ajan olarak da değerlendirilebilir (80). HBO çeşitli anti psikotiklerle, anksiyolitiklerle, anti hipertansif ilaçlarla, antibiyotiklerle etkileşime girebilir, bu ilaçların etkinliklerini değiştirebilir ya da başka etkilerin ortaya çıkmasını kolaylaştırabilir (81).

Bu çalışmada hedeflenen HBO uygulamasıyla polimiksin B'nin sinerjistik bir etkinliğinin olup olmadığını araştırmak olmuştur. HBO uygulamasının *P. aeruginosa*'da

polimiksin B'nin MİK değerleri üzerindeki etkisi farklı basınç ve sürelerde araştırılmıştır.

Polimiksin B hücre membranındaki fosfolipidlerle etkileşerek membranı parçalar, membrandaki magnezyum ve kalsiyum iyon dengesini bozarak hücre içeriğinin dışarı çıkmasını sağlar. (9,10). Polimiksinler ile HBO etkileşiminin hangi mekanizmaya dayandığına dair her hangi bir bilgi bulunamamıştır. Sinerjistik etkinin aynı yollar üzerinden olduğunu varsayarsak, HBO'nun aerob bakterilerin membranlarındaki ATP sentezini inhibe etmesi ve substrat transportundaki görevli proteinlerin sülfidril gruplarını okside ederek bu proteinlerin fonksiyonlarını bozabileceğine dair görüşler bulunmaktadır (40). Bu görüşlere dayanarak *P. aeruginosa*'nın membran fonksiyonlarının ve yapısal bütünlüğünün bozulmasında HBO ve polimiksin B'nin birlikte hareket etmeleri mümkün olabilir.

Çalışmamızdaki eksik noktalara değinmek gerekirse, tüm deney gruplarındaki suşlar polimiksin B'ye duyarlı olarak çıkmış, orta duyarlı ya da dirençli suşlar bu çalışmaya katılamamıştır. Dirençli suşlar üzerinde de benzer etkileri gözlemlemenin bu çalışmayı daha da anlamlı hale getirebilebileceğini düşünmekteyiz. İstatistiksel analiz hesaplamasında örneklem sayısının kısıtlı olması nedeniyle nonparametrik "Friedman testi" kullanılmıştır. Daha fazla sayıda suş ile bu çalışmanın daha da anlamlı hale gelebileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, antibiyotik direnci önemli bir sorun olarak karşımızda durmakta ve bu konudaki alternatif metod arayışları güncelliğini korumaktadır. HBO uygulamasının anaerob infeksiyonlarda rutin klinik kullanımındaki katkıları, daha önce yapılmış ve olumlu etkileri gözlemlenmiş in vitro aerob bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi, bu tedaviyi antibiyotik direnci ile mücadelede değerli bir yöntem olarak değerlendirmemize sebep olmaktadır.

DM yarattığı komplikasyonlar nedeniyle DAI'larına neden olabilmektedir. Bu hastalığın başka organ hasarlarına da yol açabilmesi, toksik yan etkileri bulunun polimiksin B gibi ajanların kullanımını daha da kısıtlı hale getirmektedir. Her ne kadar MİK değerlerinin düştüğü gruplarda uygulanan HBO protokolü, pratikte uygulanan HBO tedavi protokollerinden daha uzun uygulama sürelerine sahipse de, in vivo olarak da bu çalışmanın sonuçlarının desteklenmesi mümkün olursa, polimiksin B gibi toksik

yan etkileri bulunan ajanların hedeflenen anti bakteriyel etkinliklerini HBO uygulamaları ile daha düşük dozlarda elde etmek gelecekte mümkün olabilir.

Son olarak HBO'nun tek başına bir farmakolojik ajan olduğu ve bu ajanın uzun süredir bilinen anti mikrobiyal etkisi olduğu gerçeğiyle, infeksiyonla mücadelede HBO'dan daha fazla yararlanılması gerektiğini düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

1. Willke A. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul. 2008.
2. Bowker JH, Pfeifer MA, Levin and O'Neal's The Diabetic Foot. 2008
3. Torreguitart MV. Rev Fern. Diabetic Foot Care. Importance of education. 2011; 34(5): 25-30.
4. Armstrong DG, Wrobel J, Robbins JM. Guest editorial: are diabetes-related wounds and amputations worse than cancer? Int Wound J. 2007; 4(4): 286-7.
5. Gottlieb SF. Effect Of Hyperbaric Oxygen On Microorganisms. Annu Rev Microbiol. 1971; 25:111-52.
6. Ertugrul BM, Oncul O, Tulek N, Willke A, Sacar S, Tunccan OG. et al. A prospective, multi-center study: factors related to the management of diabetic foot infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012; 31(9):2345-52
7. Saltoglu N, Yemisen M, Ergonul O, Kadanali A, Karagoz G, Batirel A. et al. Predictors for limb loss among patient with diabetic foot infections: an observational retrospective multicentric study in Turkey. Clin Microbiol Infect. 2015; 21(7):659-64.
8. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Tıbbi Mikrobiyoloji, 7. Baskı. Pelikan yayınları. 2016.
9. Falagas ME, Kasiakou SK. Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. Crit Care 2006; 10(1):27.
10. Peterson AA, Hancock RE, McGroarty EJ. Binding of polycationic antibiotics and polyamines to lipopolysaccharides of Pseudomonas aeruginosa. J Bacteriol 1985;164(3):1256-61.
11. Mandell GL, Bennet JE. Principles and Practice of infectious Diseases. 7th Edition. Churchill Livingstone. 2009.
12. Balcı O, Çapar M. Vajinal Enfeksiyonlar. Turkish Journal of Obstetrics and Gynecology. Cilt: 2 Sayı: 5. 2005; 14-20.
13. McKane L, Kandel J. Microbiology: Essentials and Applications. New York. 1986; 347.
14. Mims CA, Playfair JHL, Roitt IM, Wakelin D, Williams R, Anderson RM. Medical Microbiology. Mosby, St. Louis, 1993; 15.

15. Wilson JW, Schurr MJ, Le Blanc CL, Ramamurthy R, Buchanan KL, Nickerson CA. Mechanisms of bacterial pathogenicity. *Postgrad Med J* 2002; 78-216.
16. Sanfilippo F, Balber AE, Granger DL, Mc Kinney RE. Immune responses to infection. In: Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM, eds. *Zinsser Microbiology*. 20th ed. Norwalk. Appleton and Lange. 1992; 345.
17. Aksoy B. Derinin doğal Türkdernm Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi, Cilt:47, Derinin doğal bağışıklık sistemi. 2013. s:3.
18. İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S. İç hastalıkları. Güneş Kitabevi. Ankara. 2005.
19. TEMD Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu-2016. Ankara. s.16,25,149.
20. Dinççağ N. Türk İç Hastalıkları Uzmanlık Derneği; İç Hastalıkları Dergisi. 2011. s.18.
21. Ulusal Diyabet Kongresi Konsensus Grubu; Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi. Türkiye Diyabet Vakfı. 2013. s.37.
22. Holt T. Kumar S. ABC of Diabetes; Sixth Edition. BMJ Books. 2010. s.19.
23. Diyabetik Ayak Yarası ve İnfeksiyonunun Tanısı, Tedavisi ve Önlenmesi: Ulusal Uzlaşı Raporu. 2015.
24. Çimşit M. Hiperbarik Tıp. Eflatun Yayınevi. Ankara. 2009. s.318.
25. LaBauve, Annette E, Wargo JW. "Growth and Laboratory Maintenance of *Pseudomonas aeruginosa*." *Current protocols in microbiology* 0 6 (2012): Unit-6E.1. PMC. Web. 2017.
26. Deborah A. Speert DP. *Manuel Of Clinical Microbiology*; 10th edition. 40 *Pseudomonas*. 2011.
27. Harvey RA. Cornelissen CN. Fisher BD. *Lippincott's Microbiology*, 3th Edition. 2013. s137.
28. Todar K. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. 2004
<http://www.textbookofbacteriology.net/> (10.12.2016).
29. Fox A. *Microbiology and Immunology Online*, Chapter 5, Bacteriology.
<http://www.microbiologybook.org/fox/antibiotics1.htm> . (10.12.2016).
30. Sesli Çetin E, Tetik T, Kaya S, Cicioğlu Arıdoğan B. Polimiksin B'nin İmipeneme Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarına Karşı İn-Vitro Aktivitesi. *ANKEM Derg* 2011;25(2):94-8.

31. Jain KK. History Of Hyperbaric Medicine. In: Textbook Of Hyperbaric Medicine 3rd ed. Seattle, Toronto, Bern, Göttingen, Hogrefe&Huber Publishers, Jain KK (ed.) 1999; 2-20.
32. Faesecke KP. Arbeit in Überdruck. In: Die Forschungsarbeiten von Arthur und Adele Bornstein beim Bau des ersten Hamburger-Elbtunnels. 1909-1910. Dissertation Universität Hamburg (Med. Diss. Hamburg), 1997.
33. Haldane JS. Admiralty report on deep water diving. London HMSO. 1907. CN. 1459.
34. Boerema I, Meyne NG, Brummelkamp WH, Bouma S, Mensch MH, Kamermans F. et al. Life without blood. Ned Tijdschr Geneesk 1960; 104: 949-54.
35. Smith G. Carbon monoxide poisoning. Annals of the New York Academy of Sciences 117 (2) 1964; 684-87.
36. Kindwall EP. The Physics of Diving and Hyperbaric Pressures. In: Hyperbaric Medicine Practice 2nd Revised Edition, USA, Best Publishing Company, Kindwall EP ve HT Whelan (eds). 2002; 21-36.
37. Hammarlund C. The Physiologic Effects of Hyperbaric Oxygenation. In: Hyperbaric Medicine Practice 2nd Revised Edition, USA, Best Publishing Company, HT Kindwall EP and Whelan (eds). 2002; 37-68.
38. Bergo GW, Tyssebotn I. Cardiovascular effects of hyperbaric oxygen with and without addition of carbon dioxide. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 1999; 80(4): 264-75.
39. Çimşit M. Diyabetik Ayak İnfeksiyonu Olan Hastada Hiperbarik Oksijen Tedavisi. In: 9. Ulusal İç Hastalıkları Sempozyumu, Antalya. Program ve Özet Kitabı. 2007; 76.
40. Park M. Effects of Hyperbaric Oxygen in Infectious Diseases: Basic Mechanisms. In: Hyperbaric Medicine Practice 2nd Revised Edition, USA, Best Publishing Company, Kindwall EP ve Whelan HT (eds). 2002; 205-44.
41. Gazete Resmi. Hiperbarik oksijen tedavisi uygulanan özel sağlık merkezleri hakkında yönetmelik: Resmi Gazete.
42. Çimşit M. Kronik yaralarda hiperbarik oksijen tedavisi ve diğer yardımcı tedaviler. In: 2. Ulusal Yara Bakım Kongresi. İstanbul Özet Kitabı. 2007; 12.

43. Conway PK , Harding GK . Wound Healing in the Diabetic Foot. In: The Diabetic Foot 7th Edition. Philadelphia. Mosby Elsevier, Bowker HJ. ve Am. Pfeifer (eds). 2008; 319-28.
44. Sheffield PJ. Tissue oxygen measurements with respect to soft tissue wound healing with normobaric and hyperbaric oxygen. HBO Review 1985. 1: 18-43.
45. Silver IA. Physiology of wound healing. In: Wound healing and wound infection: theory and surgical practice, Hunt TK(ed). Appleton-century-crofts, New York 1980; 11-31.
46. Tunalı G. Deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda yara iyileşmesinde hiperbarik oksijen ve PRP (platelet rich plasma) etkilerinin histolojik ve ince yapı araştırması.
47. Weaver LK. UHMS Hyperbaric Oxygen Therapy Indications 13th Edition. Best Publishing Company. 2014; iii.
48. Orioni G. Acute Indications of HBO Therapy, Final Report. In: The First European Consensus Conferance on Hyperbaric Medicine, The ECHM Collection, Volume 1. Best Publishing Company, Flagstaff, AZ USA. 2005; 49-58.
49. ECHM. Consensus Development Conference. In: The tenth European Consensus Conference on Hyperbaric Medicine, Lille. 2016.
50. Kindwall EP. Contradictions and Side Effects to Hyperbaric Oxygen Treatment. In: Hyperbaric Medicine Practice 2nd revised ed. USA, Best Publishing Company, Kindwall EP, Whelan HT (eds), 2002; 84-96.
51. Çimşit M. Hiperbarik Oksijenin Kullanım Alanları, Tıbbi Ekoloji ve Hidroklimatoloji Dergisi, Hiperbarik Oksijenizasyon Özel Sayısı. 1984; 2 (1):8-15
52. Palmquist BM, Philipson B, Barr PO. Nuclear cataract and myopia during hyperbaric oxygen therapy. Br J Ophthalmol 1984; 68(2): 113-7.
53. Wayne PA. Clinical Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 24th informational supplement. 2013; 33(1): M100-S23.
54. T.C. Sağlık Bakanlığı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS). MİK Saptama yöntemleri: <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/uamdds/08-AMD-TP-04-MIK-saptama-yontemleri.pdf>. (17.12.2016).

55. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 19th informational supplement. Vol. 29 (3). Wayne, PA. CLSI. 2009.
56. Öztürk CE, Türkmen Albayrak H, Altınöz A, Ankaralı H. *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Antibiyotiklere Direnç Ve Beta-Laktamaz Oranları. ANKEM Derg 2010; 24(3):117-23.
57. Lipsky BA: New developments in diagnosing and treating diabetic foot infections. Diabetes Metab Res Rev 2008; 24(Suppl):66-71.
58. World Health Organization, Media Centre, Antimicrobial Resistance, 2016.
59. Holloway KA, Rosella L, Henry D. The Impact of WHO Essential Medicines Policies on Inappropriate Use of Antibiotics. 2016.
60. Chung J, Bhat A, Kim C, Yong D, Ryu C. Combination therapy with polymyxin B and netropsin against clinical isolates of multidrugresistant *Acinetobacter baumannii*. Scientific Reports. 2016; | 6:28168 | DOI: 10.1038/srep28168.
61. Ly NS, Bulman ZP, Bulitta JB, Baron C, Rao GG, Holden PN, Li J, Sutton MD, Tsujia BT. Optimization of Polymyxin B in Combination with Doripenem To Combat Mutator *Pseudomonas aeruginosa*. 2016.
62. Knighton DR, Halliday B, Hunt TK. Oxygen as an antibiotic: a comparison of the effects of inspired oxygen concentration and antibiotic administration on in vivo bacterial clearance. Arch Surg. 1986;121(2):191-5.
63. Kaide CD, Khandelwal S. Hyperbaric Oxygen: Applications in Infectious Disease, 2008.
64. Bumah et al. The bactericidal effect of 470 nm light and hyperbaric oxygen on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). 2015.
65. Zanon V, Rossi L, Castellani E, Camporesi EM, Palù G, Bosco G. Oxybiotest project: microorganisms under pressure. Hyperbaric oxygen (HBO) and simple pressure interaction on selected bacteria. 2012.
66. Tsuneyoshi I, Boyle WA, Kanmura Y, Fujimoto T, Hyperbaric hyperoxia suppresses growth of *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant strains. 2001.
67. Kurt T, Vural A, Temiz A, Ozbudak E, Yener AU, Sacar S, Sacar M, Adjunctive Hyperbaric Oxygen Therapy or Alone Antibiotherapy? Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Mediastinitis in a Rat Model. 2015.

68. Grogan JB. Arch Surg. 1966; 92:740-2.
69. Grogan JB. Bacterial Prac. 1966; 65.
70. Zaroff L, Walker HL, Lowenstein E, Evans BW, Kroos S. 1965; Arch Surg 91 : 586-8.
71. Argamaso RV, Wiseman GM. Plastics, Reconstr Surg. 1967; 40:8:1-85.
72. Irvin TT, Norman JN, Suwanagul A, Smith G. 1966; Lancet 1:392-94.
73. Lima FL, Joazeiro PP, Lancellotti M, Hollanda LM, Lima BA, Linares E, Augusto O, Brocchi M, Giorgio S. Effects of hyperbaric oxygen on *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility to imipenem and macrophages. 2015.
74. Park MK, Muhvich KH, Myers RAM, Marzella L. Hyperoxia Prolongs the Aminoglycoside-Induced Postantibiotic Effect in *Pseudomonas aeruginosa*. 1991.
75. Raval G, Park MK, Myers RAM, Marzella L. Hyperoxia Modulates Aminoglycoside Activity In Gram Negative Bacteria. 1992;19-26.
76. Brown OR, Silverberg RG, Huggett DO. Synergism between hyperoxia and antibiotics for *Pseudomonas aeruginosa*. Appl. Microbiol. 1967;16:260-2.
77. Bornside GH. Exposure of *Pseudomonas aeruginosa* to hyperbaric oxygen: inhibited growth and enhanced activity of polymyxin B. Proc Soc Exp Biol. 1967. Med. 125:1152-1156.
78. Pakman LM. Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by Hyperbaric Oxygen: Sulfonamide Activity Enhancement and Reversal. 1971.
79. Gottlieb SF, Pakman LM. Effect of high oxygen tensions on the growth of selected, aerobic, gram-negative, pathogenic bacteria. J. Bacteriol. 1968; 95:1003-10.
80. Bitterman H. Bench-to-bedside review: oxygen as a drug. Crit Care. 2009; 13(1):205.
81. Smith RG. An Appraisal of Potential Drug Interactions Regarding Hyperbaric Oxygen Therapy and Frequently Prescribed Medications. 2011.