

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ (VETERİNER)  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**NORMAL AKCİĞER BRONŞİAL EPİTELYUM HÜCRESİ İLE  
KİSTİK FİBROZİS (KF) AKCİĞER BRONŞİAL EPİTELYUM  
HÜCRESİNE FARKLI GRUP ANTİBİYOTİKLERİN HÜCRE  
İÇİNE GİRİŞLERİ ARASINDAKİ FARKIN BELİRLENMESİ**

**Necati GÜNAY  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Ferda AKAR**

**II. DANIŞMAN  
Prof. Dr. Serhan SAKARYA**

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
VTF-11031 proje numarası ile desteklenmiştir

**AYDIN-2017**

## KABUL ONAY

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Necati GÜNAY tarafından hazırlanan “Normal Akciğer Bronşial Epitelyum Hücresi İle Kistik Fibrosis (KF) Akciğer Bronşial Epitelyum Hücrelerine Farklı Grup Antibiyotiklerin Hücre İçine Girişleri Arasındaki Farkın Belirlenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26/01/2017

Üye (T.D.) : Prof. Dr. Ferda AKAR

Adnan Menderes Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Serhan SAKARYA

Adnan Menderes Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Kamil ÜNEY

Selçuk Üniversitesi



ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün ..... tarih ve ..... sayılı oturumunda alınan ..... nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarımı yönlendiren ve tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım danışman hocam Sn. Prof. Dr. Ferda AKAR'a,

Tez çalışmamda ve hayatımın her aşamasında büyük destek ve yardımlarını gördüğüm, tüm sorunlarımı paylaştığım hocam Sn. Prof. Dr. Serhan SAKARYA'ya,

Çalışmalarımdaki HPLC analiz deneylerindeki yardımları için Sn. Prof.Dr. Cengiz GÖKBULUT'a,

Çalışmalarımdaki ilgi ve destekleri için Sn. Prof. Dr. Cavit KUM'a, Sn. Doç. Dr. Selim SEKKİN'e ve Sn. Doç. Dr. Murat BOYACIOĞLU'na ve tüm Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve yardımcılara,

Adnan Menderes Üniversitesi Bilim Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirdiğim deneyler sırasındaki anlayışları için tüm arkadaşlarıma,

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi tez çalışmalarım sırasında da sevgi ve desteğini esirgemeyen, bana inanan ve güvenen EŞİM Mine SİLİNDİR GÜNAY'a ve tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY .....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
ÖZET .....	viii
ABSTRACT .....	x
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Epidemiyoloji ve Genetik .....	4
2.2.1. Kistik Fibrozis'in Patogenezi .....	7
2.2.1.1. Kistik Fibrozis Transmembran Regülatör Proteini .....	7
2.2.1.2. Ter Bezinin Fonksiyonunun Bozulması .....	9
2.2.1.3. Akciğer Hastalığının Patogenezi .....	9
2.2.1.3.1. Düşük Volüm Hipotezi .....	9
2.2.1.3.2. Tuz Fazlalığı Hipotezi .....	10
2.2.1.4. Kistik Fibrozis Hastalarının Solunum Yollarında En Sık Kolonizasyon/Enfeksiyon Nedeni Olan Bakterile .....	12
2.3. Tigesiklin .....	17
2.4. Vankomisin .....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	27
3.1. Antibiyotiklerin Hücreye Uygulama Yöntemi .....	29
3.1.1. Tigesiklin ve Vankomisin Doz – Yanıt Çalışması .....	29
3.1.2. Tigesiklin ve Vankomisin Zaman – Yanıt Çalışması .....	29
3.1.3. Protein Tayini .....	30
3.2. Analitik Yöntem .....	30
3.2.1. İlaç Analizleri .....	30
3.2.1.1. Standart Hazırlama .....	30
3.2.1.2. Hücre Süspansiyonu Ekstraksiyonu .....	30
3.3. HPLC Şartları .....	30
3.3.1. Tigesiklin .....	30

3.3.2. Vankomisin.....	31
3.3.3. Özgünlük (Specificity).....	31
3.3.4. Doğrusallık (Linearity).....	31
3.3.5. Duyarlılık (Sensitivity).....	31
3.4. İstatiksel Yöntemler.....	32
4. BULGULAR .....	33
4.1. Tigesiklin ve Vankomisin Doz ve Zaman Yanıt Bulguları.....	33
5. TARTIŞMA.....	40
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	43
KAYNAKLAR.....	44
ÖZGEÇMİŞ.....	58



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ABC</b>	: ATP bağlayan proteinler
<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>ABPA</b>	: Alerjik Bronkopulmoner Aspergilloz
<b>agr</b>	: accessory gene regülatör
<b>ALT</b>	: Alanin Aminotransferaz
<b>ASL</b>	: Havayolu yüzey sıvısı
<b>AST</b>	: Aspartat Aminotransferaz
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>BAL</b>	: Bronkoalveolar Lavaj
<b>BEAS</b>	: Normal İnsan Bronşiyal Epitelyum Hücresi
<b>Ca</b>	: Kalsiyum
<b>cAMP</b>	: Siklik Adenozinmonofosfat
<b>CBAVD</b>	: Konjenital Bilateral Vas Deferens Agenezi
<b>CDC</b>	: ABD Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezleri
<b>cDNA</b>	: Komplementer DNA
<b>Cl</b>	: Klor
<b>CLSI</b>	: Literatür
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Karbondioksit
<b>ENaC</b>	: Epitelyal Sodyum kanalı
<b>ERAD</b>	: Endoplazmik Retikulum Bağlantılı Protein Yıkımı
<b>EUCAST</b>	: Literatür
<b>FDA</b>	: Amerikan Gıda İlaç Dairesi
<b>GAR-936</b>	: Glisilsiklinler
<b>GSBL</b>	: Geniş Spektrumlu Betalaktamaz
<b>GISA</b>	: Glikopeptid aracılı <i>S. aureus</i>
<b>HPLC</b>	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
<b>hVISA</b>	: Heterozistan Vankomisin Aracılı <i>S.aureus</i>

<b>IB3-1</b>	: Kistik Fibrozis Bronşiyal Epitelyum Hücresi
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>İ.V</b>	: İntravenöz
<b>KF</b>	: Kistik Fibrozis
<b>KFTR</b>	: Kistik Fibrozis Transmembran İletken Düzenleyici
<b>LTB4</b>	: Lökotrien B4
<b>mg</b>	: Mikrogram
<b>MİK90</b>	: Mikroorganizmaların %90'ının Üremesini Engellemek İçin Gereken Minimum Konsantrasyon
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mRNA</b>	: Haberci RNA
<b>MRSA</b>	: Metisilin Dirençli S. aureus
<b>MSSA</b>	: Metisiline Hassas S. aureus
<b>MSD</b>	: Membran Çevresinde Dolanan Bölge
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>NBD</b>	: Nükleotid Bağlayan Bölge
<b>O<sub>2</sub></b>	: Oksijen
<b>ORCC</b>	: Dışarı Açılabilen Klor Kanalı
<b>PAE</b>	: Post Antibiyotik Etki
<b>PKA</b>	: Protein Kinaz A
<b>RD</b>	: Düzenleyici Bölge
<b>RNA</b>	: Ribonukleik asit
<b>ROMK</b>	: Renal epitelyum hücrelerinde apikal potasyum kanalları
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>TEST</b>	: The Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktör alfa
<b>VISA</b>	: Vankomisin Aracılı S.aureus
<b>VraR</b>	: Response Regulator Protein
<b>VRE</b>	: Vankomisine Dirençli Enterokoklar
<b><math>\Delta</math></b>	: Delta

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. KFTR'nin yapısı.....	8
Şekil 2. Akciğer patojenizine yol açan mekanizmalar.....	11
Şekil 3. Kontrole (Hücre üzerine sadece besiyeri konulmuş sıfır doz) ait HPLC kromatogramı.....	33
Şekil 4. Tigesiklin kalibrasyon eğrisive hesaplanan korelasyon katsayısı.....	34
Şekil 5. Vankomisin kalibrasyon eğrisi ve hesaplanan korelasyon katsayısı.....	34
Şekil 6. 10 µg/ml Vankomisin standardına ait HPLC kromatogramı.....	35
Şekil 7. 100 µg/ml Vankomisin standardına ait HPLC kromatogramı.....	35
Şekil 8. 300 µg/ml Vankomisin dozu uygulanmış 16 saat inkübe edilmiş IB3-1 hücrelerine ait HPLC kromatogramı.....	36
Şekil 9. Tigesiklin 1 µg/ml standardına ait HPLC kromatogramı.....	36
Şekil 10. 10 µg/ml Tigesiklin standardına ait HPLC kromatogramı.....	37
Şekil 11. 30 µg/ml Tigesiklin dozu uygulanmış 16 saat inkübe edilmiş IB3-1 hücrelerine ait HPLC kromatogramı.....	37
Şekil 12. IB3-1 ile BEAS hücrelerinin tigesiklin farklı dozları için giriş oranları.....	38
Şekil 13. IB3-1ve BEAS hücresi için 30 µg/ml tigesiklinin farklı zamanlarda giriş oranı.....	39
Şekil 14. IB3-1 ile BEAS hücrelerinin vankomisinin farklı dozları için giriş oranları.....	39

## ÖZET

# **NORMAL AKCİĞER BRONŞİAL EPİTELYUM HÜCRESİ İLE KİSTİK FİBROZİS (KF) AKCİĞER BRONŞİAL EPİTELYUM HÜCRESİNE FARKLI GRUP ANTİBİYOTİKLERİN HÜCRE İÇİNE GİRİŞLERİ ARASINDAKİ FARKIN BELİRLENMESİ**

**Günay N. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2017.**

Solunum sistemi diğer sistemlerle karşılaştırıldığında çevreye açık bir giriş kapısı gibi görünmesine karşın normal bir insan her zaman solunum sistemi enfeksiyonu geçirmemektedir. Solunum sisteminin en öncelikli koruyucu elemanı mukosilyer yapıdır. Bu yapı mikroorganizmaların sisteme ulaşmasını engellediği gibi diğer partikülleride uzaklaştırarak sistemi korur.

Kistik fibrozisli (KF) hastalarda Kistik Fibrozis Transmembran İletken Düzenleyici kodlayan gende oluşan mutasyon nedeniyle perisilyer sıvının hacminde azalma olmaktadır. Bu bozulma sonucunda akciğerin mukusu temizlenememektedir. Mukusta oluşan bu dehidratasyon aynı zamanda glikokaliks yapıya sıkı yapışmaya neden olmaktadır. Tüm bu değişiklikler solunum sisteminde çeşitli bakterilerin kolonizasyonu için elverişli bir ortamın oluşmasına neden olmaktadır.

Hücre içi madde transferinde sorun olduğu bilinen KF hastası akciğer bronşial epitelyum hücresi ile normal akciğer bronşial epitelyum hücresi farklı etki mekanizmalarına sahip antibiyotiklerin hücre içinde etkin konsantrasyona hangi dozlar ve zamanlarda ulaşabileceğinin kıyaslamalı olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Biz çalışmamızda hücre çeperi sentezini bozanlardan vankomisin, protein sentezini bozanlardan tetrasiklinlerin semi sentetik analogları olan Glisilsiklinlerin ilk üyesi olan tigesiklinin belirli dozlarının KF hastası akciğer bronşial epitelyum hücresi ve normal akciğer bronşial epitelyum hücresine giriş doz cevap ve zaman cevap çalışması hücre kültürü ortamında yapılarak, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile hücre içerisindeki oranının doz ve zamana bağlı farklılıkları belirlenmiştir.

Çalışmamızda, tigesiklin tüm dozlar ile yapılan çalışma sonucunda 10, 30, 100 ve 300 µg/ml dozlarında IB3-1 hücrelerine giriş normal hücre ile karşılaştırıldığında anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Antibiyotiklerin hücre içine giriş oranları KF hücreleri için 3 µg/ml için %22.43, 10 µg/ml için %25.79, 30 µg/ml için %36.20, 100 µg/ml için %33.09 ve 300 µg/ml için %18.30 iken, normal bronş epitelyum hücreleri için 3 µg/ml için % 24.62, 10 µg/ml için %8.28, 30 µg/ml için %4.57, 100 µg/ml için %2.65 ve 300 µg/ml için %2.71 bulunmuştur. Hücre içine giren miktar verilen miktarlar ile karşılaştırıldığında 30 µl/ml MİK değerlerine yakın ve hücre içine optimal girişin olduğu doz belirlenmiştir.

IB3-1 ve BEAS hücresi için 30 µg/ml tigesiklin doz zaman çalışması sonucunda 1 saat, 2 saat, 4 saat, 8 saat, 16 saat, 24 saat IB3-1 hücrelerine giriş anlamlı bulunmuştur. tigesiklin 30 µg/ml dozunun zamana göre hücre içine giriş oranları KF hücreleri için 1.saat için %12.57, 2.saat için %23.20, 4.saat için %33.23, 8.saat için %45.85, 16.saat için %45.29 ve 24.saat için %39.60 iken, normal bronş epitelyum hücreleri için 1.saat için %3.64, 2.saat için %4.33, 4.saat için %7.51, 8.saat için %9.43, 16.saat için %6.55 ve 24.saat için %4.30 bulunmuştur. IB3-1 hücrelerine en iyi giriş oranı 8 saat olarak tespit edilmiştir.

Vankomisin ile yapılan doz çalışmalarında, hücre içine girebilen miktar standartlarda (CLSI ve EUCAST) belirtilen MİK değerlerinin çok üstünde ve hücre içine giren miktarın çok düşük oranda (IB3-1 ve BEAS hücreleri içerisinde girişin sadece 300 µg/ml için IB3-1 için %0,88, BEAS için %1,26) olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, tigesiklinin KF akciğer hücrelerine girişi normal akciğer hücrelerine oranla daha yüksek bulunmuştur. 30 µg/ml MİK optimal giriş dozu için KF akciğer hücresi ve normal akciğer hücrelerinde tigesiklin doz zaman çalışmasında 1, 2, 4, 8, 16 ve 24 saatlerde KF akciğer hücrelerine tigesiklinin girişi anlamlı bulunmuştur. KF akciğer hücrelerine en iyi giriş yüzdesi 8. saatte bulunmuştur. Vankomisinin KF ve normal bronş hücrelerine girişinin yok denecek kadar az olduğu tespit edilmiştir. Bunun için vankomisin doz yanıt çalışması yapılmamıştır.

Bu nedenle, tigesiklinin KF ve normal akciğer epitel hücrelerine penetrasyonu vankomisine oranla daha yüksek bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Kistik Fibrozis, Vankomisin, Tigesiklin

## ABSTRACT

### THE DETERMINATION OF THE DIFFERENCE WITHIN PENETRATION OF DIFFERENT GROUP ANTIBIOTICS INTO NORMAL LUNG BRONCHIAL EPITHELIUM CELLS AND CYSTIC FIBROSIS CELLS

**Günay N. Adnan Menderes University Health Sciences Institute, Pharmacology and Toxicology Master of Science Thesis, Aydın, 2016.**

Although the respiratory system has an open gate to the environment, when compared with other systems, healthy human does not have a respiratory infection frequently. The most important protective component of the respiratory system is the mucociliary construction. This structure protects the system by preventing the approach of microorganisms as well as other particles.

The volume of periciliary liquid decreases at patients suffering from cystic fibrosis due to the mutation at Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator gene. The mucus of lung can not be cleared due to this disruption. This dehydration in mucus leads a tight adhesion to the glycocalyx construction. All these alterations lead to form a proper environment in respiratory system for colonization of bacteria such as *P. aeruginosa*.

We aimed to investigate in the cells which doses can be achieved at what time points in order to obtain the effective concentrations of antibiotics having different mechanism of effect at normal lung bronchial epithelium cells and lung epithelium cell in cystic fibrosis patient known to have a problem at intracellular cell material transfer.

We used definite doses of vancomycin which disrupts cell synthesis and tigecyclin which is the first member of semisynthetic analogs glycilcyclin that disrupts protein synthesis for determining bronchial epithelium cell of cystic fibrosis patients and bronchial epithelium cell of normal lung penetration dose response and time response at cell culture studies and the differences in cell culture due to dose and time was determined by high performance liquid chromatography (HPLC).

When the cell penetration ratio was compared for IB3-1 cells and normal cells with 10, 30, 100 ve 300 µg/ml doses of Tigecyclin, it was found significantly higher for IB3-1 cells.

While the cell penetration ratio of antibiotics for cystic fibrosis cells was found as 22.43% for 3 µg/ml dose, 25.79% for 10 µg/ml dose, 36.20% for 30 µg/ml dose, 33.09% for 100 µg/ml dose and 18.30% for 300 µg/ml dose, it was found as 24.62% for 3 µg/ml dose, 8.28% for 10 µg/ml, 4.57% for 30 µg/ml dose, 2.65% for 100 µg/ml dose and 2.71% for 300 µg/ml dose for normal bronchial epithelium cells. When the cell penetration amounts were compared with the given amounts, it was found very near to 30 µg/ml MIC value and this dose was found as the optimal dose for cell penetration.

For dose-time studies for Tigecyclin 30 µg/ml dose performed with IB3-1 and BEAS cells, the cell penetration amount was found significant at 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 16 h, 24 h for IB3-1 cells. While the cell penetration ratio was observed as 12.57% for 1 h, 23.20% for 2 h, 33.23% for 4 h, 45.85% for 8 h, 45.29% for 16 h and 39.60% for 24 h for cystic fibrosis cells, it was observed as 3.64% for 1 h, 4.33% for 2 h, 7.51% for 4 h, 9.43% for 8 h, 6.55% for 16 h and 4.30% for 24 h for normal bronchial epithelium cells. The best cell penetration ratio was observed at 8 h for IB3-1 cells.

For the dose studies of Vancomycin, the cell penetration amount in the cell was given to be highly above MIC value determined in the standards (CLSI vs EUCAST) and the cell penetration amount was determined to be highly below MIC value (the permeable amount was determined for IB3-1 cells as 0.88% and for BEAS cells as 1.26% for only 300 µg/ml doses each).

Consequently, the cell penetration of tigecyclin into cystic fibrosis lung cell was found higher than normal lung cell. For 30 µg/ml MIC optimal cell penetration dose, the cell penetration of tigecyclin was found significant into cystic fibrosis lung cell and normal lung cell for dose time study at 1, 2, 4, 8, 16 ve 24 hours. The best and higher penetration into cystic fibrosis lung cell was obtained at 8<sup>th</sup> hour. The cell penetration of vancomycin into cystic fibrosis and normal bronchial cell was observed too little and insignificant. Due to that the dose response study was not performed for vancomycin.

Therefore, the cell penetration of tigecyclin was found higher than vancomycin at cystic fibrosis epithelium cell and normal lung epithelium cell.

**Key words:** Cystic Fibrosis, Vancomycin, Tigecyclin.

# 1. GİRİŞ

Solunum sistemi diğer sistemlerle karşılaştırıldığında çevreye açık bir giriş kapısı gibi görünmesine karşın normal bir insan her zaman solunum sistemi enfeksiyonu geçirmemektedir. Bunun altında yatan neden solunum sisteminin mükemmel koruyucu sistemidir. Solunum sisteminin en öncelikli koruyucu elemanı mukosilier yapıdır. Bu yapı mikroorganizmaların sisteme ulaşmasını engellediği gibi diğer partikülleride uzaklaştırarak sistemi korur (Guggino, 2001; Verkman, 2001). Mukosilier yapıdaki esas oluşum tüm solunum sistemini örten havayolu yüzey sıvısının hacmi ve kompozisyonudur. Bu sıvı, inhale edilen partikülleri tutan visköz mukus yapı ve epitelyum ile mukusu birbirinden ayıran perisilier sıvı yapıdan oluşur. Perisilier yapı düşük viskozitesi ile biryandan silier darbeleri kolaylaştırırken diğer yandan mukusun temizleme işlemini arttırmaktadır (Puchelle ve ark, 1995; Matsui ve ark, 1998).

Kistik fibrozisli (KF) hastalarda “Kistik Fibrozis Transmembran İletken Düzenleyici (KFTR)” kodlayan gende oluşan mutasyon nedeniyle epitelyumda siklik adenozin monofosfat (cAMP) bağımlı iyon geçişinin bozulması sonucu perisilier sıvısının hacminde azalma olmaktadır. Bu bozulma sonucunda silialar yeteri kadar uzayamamakta ve akciğerden mukusu temizleyememektedir (Matsui ve ark, 1998a; Tarran ve ark, 2001). Mukus da oluşan bu dehidratasyon aynı zamanda glikokaliks yapıya sıkı yapışmaya neden olmaktadır (Matsui ve ark, 1998b). Tüm bu değişiklikler solunum sisteminde *P. aeruginosa* gibi bakterilerin kolonizasyonu için elverişli bir ortamın oluşmasına neden olmaktadır.

Biz çalışmada hücre duvarına etkili vankomisin, protein sentezini etkili tetrasiklinlerin semi sentetik analogları olan Glisilsiklinlerin ilk üyesi olan tigesiklinin belirli dozlarının KF hastası akciğer bronşial epitelyum hücresi ve normal akciğer bronşial epitelyum hücresine giriş doz cevap ve zaman cevap çalışması hücre kültürü ortamında yapıp, yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) ile hücre içerisindeki oranının doz ve zamana bağlı farklılıkları belirlenecektir.

Tüm bu bilgilerin ışığı altında hücre içi madde transferinde sorun olduğu bilinen KF hastası akciğer bronşial epitelyum hücresi ile normal akciğer bronşial epitelyum hücresi farklı etki mekanizmalarına sahip antibiyotiklerin hücre içinde etkin konsantrasyona hangi dozlar ve zamanlarda ulaşabileceğinin kıyaslamalı olarak araştırılması amaçlanmaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

KF, mortalite oranı yüksek çoğunlukla beyaz ırkta görülen genetik bir hastalıktır. Yedinci kromozomun uzun kolunda yer alan ve epitel hücrelerinin apikal membranında klor kanalı olarak görev yapan KFTR proteinini kodlayan gendeki mutasyonlar sonucu oluşan bir tek gen hastalığıdır. Otozomal resesif olarak kalıtılan rahatsızlıkta, üst solunum yolları, akciğer, pankreas, karaciğer, safra kanalları, ter bezleri ve ürogenital organları etkileyebilen çoklu sistem hastalığıdır (Kristidis, 1992 ; Hodson ve ark, 2007; Accurso ve ark, 2008).

Ter ve tükürük bezleri, havayolları, kalın bağırsak ve pankreasa ait ekzokrin glandlardan anormal sekresyonların oluşumu bazı ana bozukluklardır. Kronik obstrüktif ve süperatif akciğer hastalığı, ekzokrin ve endokrin pankreas yetmezliği, terde yüksek sodyum ve klor kaybına bağlı gelişen psödo-Bartter sendromu ile erkeklerde görülen infertilite hastalığına ait semptomlardır (Colten, 1987; Bralow, 1990).

KF hastalığına dair ilk bilgi Kuzey Avrupa folkloründe ve müziğinde öpüldüğünde tuz tadı alınan çocuklar ne acıdır ki büyülenip yakında öleceklerdir anlamına gelen “Woe to that child which when kissed on the forehead tastes salty. They are bewitched and soon will die” şeklinde ifade edilmiştir. Hastalıkla ilgili tanısında kullanılan terdeki tuz oranının yüksekliği ve erken mortaliteden bahsedilmiştir (Web\_1, 2014)

Hastalığa ait ilk kayıtlara XVI. yüzyılda rastlanmaktadır. 1595’de büyülediği için öldüğü iddia edilen 11 yaşındaki bir kız çocuğuna Leiden’da Anatomi ve Botanik profesörü olan Pieter Pauw tarafından yapılan otopside şiş, sert ve beyaz pankreas bulgularına rastlandığı ilk kayıtlarda bahsedilmektedir. 1905 yılında Landsteiner tarafından mekonyum ileus ve pankreas fonksiyon bozukluğu birlikteliğini bir hastalık olarak tanımlamıştır (Quinton, 1999; Hodson ve ark, 2007; Web\_1, 2014)

Fanconi 1928 yılında erken dönemde bronşit olan bir çölyak vakası yayınlamış ve 1936 yılında arkadaşları ile birlikte hastalığa “Konjenital kistik pankreatik fibrozisi ve bronşektazi” ismini vermiştir (Quinton, 1999).

Dr. Dorothy Anderson 1938 yılında ayrıntılı olarak histopatolojik tanımlamayı yapmış ve hastalığı pankreastaki fibrozis ve genişlemiş kanallar nedeniyle “Pankreasın fibrokistik hastalığı” olarak adlandırmıştır. 1945 yılında Farber sindirim ve solunum sistemlerinin müköz

salgısının viskoz olduğunu bulmuş ve hastalığı “Mukovisidozis” olarak adlandırmıştır. 1953 yılında hastaların terinde tuz miktarının artmış olduğunu ve temel patolojinin ekzokrin salgı bezlerinde olduğunu Darling, DiSant’Agnese, Perera ve ark. bildirmişlerdir. 1959 yılında Gibson ve Cooke, 1967 yılında Schwachman ve Mahmoodian pilokarpin iyontoforez yöntemi ile terde elektrolit ölçümü ve KF’li hastalardaki değerlerini yayınlamışlardır (Göçmen, 2002). 1980’li yıllarda Knowles ve arkadaşları solunum yolu epitellerindeki iyon transport anormalliklerini bildirmişlerdir.( Knowles ve ark, 1983; Quinton, 1983) 1985 yılında Tsui ve arkadaşları hastalıktan sorumlu olan genin 7. kromozomun uzun kolunda yer aldığını bildirmiştir. 1989 yılında da Tsui, Riordan, Collins ve arkadaşları KF’de mutasyona uğrayan geni bularak gen ürününü “Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator” (KFTR) olarak isimlendirmiştir (Riordan, 1987). 1990 ve sonrasında KFTR geninin özellikleri, farklı mutasyonlar ve hastalığın patogenezi ile ilgili bilgiler hızla artmıştır.

Hastalıkta yüksek ölüm oranları ve yaşam kalitesi kötülüğü söz konusu iken günümüzde daha etkili tedavilerinin geliştirilmesiyle KF’li hastaların yaşam süresinde ve kalitesinde artış görülmüştür. KF hastaları 1960’lı yıllarda yaşamlarının ilk yılında kaybedilirken 2009 yılında ortalama yaşam süresi 35,9 yaş olarak belirtilmiştir. Gelişen erken tanı ve tedavi yöntemleri sayesinde çocukluk yaşlarında ölümcül olarak nitelendirilen hastalık erişkinleri de etkileyen bir hastalık haline gelmiştir. Hasta bireylerin %80’ine 5 yaşına gelmeden önce hastalığı belirlenmekte; ancak %10’luk bir oranda ergenlik çağına kadar teşhis edilememektedir. Az miktardaki hafif semptomlu olgular 40-50 yaşına kadar tanı alamayabilir (Colthen ve ark, 1987; Bralow, 1990).

KF’li hastalarda gerçekleşen ölüm vakalarının en büyük nedeni tekrarlayan pulmoner enfeksiyonlardır. KF hastalarının akciğer dokuları üzerinde bakteriyolojik çalışmalar 1905’de Landsteiner’in 15 KF hastasının akciğer örneğinde 9 pozitif kültür sonucu yayınlamasıyla başlamıştır. İzole edilen baskın mikroorganizma *S. aureus* olup, ayrıca *S. albus* (muhtemel *S. epidermidis*) ve *S. haemolyticus* izole edilmiştir. KF hastalarının yaşam sürelerinin uzaması ile *S. aureus* dışındaki bakteriler de enfeksiyon etkeni olarak saptanmaya başlanmıştır. Bugün *P. aeruginosa* KF hastaları için en yaygın pulmoner patojendir (Lyczak ve ark, 2002).

## 2.1. Epidemiyoloji ve Genetik

Otozomal resesif olarak kalıtılan hastalığın, beyaz ırkta 2500'de bir insidansda görülür (Nussbaum ve ark, 2005; Schwarz ve ark, 2009). Hastalık büyük oranda beyaz ırkta görülmekle birlikte ırklar arasındaki evlilikler nedeniyle diğer ırklarda da düşük insidansda görülür. Hastalık daha çok Avrupa kökenli kişilerde görülürken Amerika'lı beyaz ırkta insidans 1:1900-3700'dir. Ülkemizde KF sıklığı, 1973 yılında Gürson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 1/3000 olarak bildirilmiştir (Gürson ve ark, 1973).

KF'te komplementer DNA (cDNA) sentezi ve çapraz tür hibridizasyon tekniği ile KF geni (Kistik Fibrozis Transmembran İleti Regülasyonu Geni-KFTR) elde edilmiştir. KF geni 7.kromozomun uzun kolunda yer alır (7q31.2) (Bobadilla ve ark, 2002). Gen 250000 baz çiftinden oluşur ve 27 ekzon içerir. Yaklaşık 6,5 kb'lık bir mRNA (mesajcı Ribonükleik Asit) transkriptini şifreler. Sentezlenen KFTR proteini ise 1480 aminoasitten oluşur (Moskowitz ve ark, 2005). KFTR proteini hücre zarını boydan boya kat eden oniki hidrofobik parçadan oluşur. Protein, normal bir hücrede endoplazmik retikulum organelinde salgılanmakta, golgi cisimciğinde glikolize olarak ve epitelyum hücresinin apikal membranına yerleşerek cAMP ile aktive olmuş klor kanalı görevini görmektedir. Mutasyon tipine göre bu evrelerin herhangi bir sırasında KFTR'nin yapımı etkilenmektedir. Bazen KFTR sentezlenemediği gibi, bazen de kısmen fonksiyon gören bir protein yapılabilmektedir. Solunum yolu, pankreas kanalı, safra kanalı, vas deferens ve bağırsak epitellerindeki KFTR geninin mutasyona uğramış olması hastalığın semptomlarının şiddetini belirler (Moskowitz ve ark, 2005; Lommatzsch ve Aris, 2009).

KF mutasyon veri tabanında, KF genine ait 1900'den fazla mutasyon tanımlanmıştır. Bunlardan 236'sı klinik olarak anlamı olmayan dizi mutasyonlarıdır. Amerikan Tıbbi Genetik Okulu tanımlanmış mutasyonlardan sadece 23 tanesinin belirgin KFTR fonksiyon kaybına yol açtığını bildirmiştir (Watson ve ark, 2004; Web\_3, 2011). Hastaların yaklaşık %66'sında bulunan D (delta) F508 mutasyonu hastalığa sebep olan ve en çok rastlanan mutasyondur (Moskowitz ve ark, 2008).

KF genindeki mutasyonların %40,26'sını yanlış anlamlı, %15,88'ini çerçeve kayması, %11,65'ini kırılma ve %8,30 anlamsız mutasyonlar oluştururken geriye kalanlar; delesyonlar, promoterdeki değişiklikler ve dizi varyasyonları şeklindedir (Welsh ve ark, 2001; Web\_3, 2011).

KFTR gen mutasyonları neticesinde meydana gelen eksikliğin sentezlenen protein üzerindeki yapısal ve fonksiyonel etkilerine göre 6 grupta incelenir.

### **Sınıf I Mutasyonlar:**

KFTR proteininin biyosentezini etkileyerek kusurlu bir protein üretimine neden olurlar (Lommatzsch ve Aris, 2009). Anlamsız mutasyon, çerçeve kayması ve kırılma mutasyonları sonucu kodon kayıplarına yol açar bu da eksik proteinin oluşumuna neden olur (Schwarz ve ark, 2009). Anlamsız mutasyon nedeniyle aminoasidi kodlayan kodonun durdurucu kodonuna dönüşümü gerçekleşerek zincirin erken sonlanmasına ve prematür bir mRNA'nın oluşmasına neden olur. Oluşan eksik protein apikal membrana ulaşmadan yıkılır. Bu grup içerisinde Birleşik Krallık'da G542X mutasyonu yaygın olarak görülürken, Eskenazi Yahudilerinde en sık görülen mutasyon W1282X'dir (Abeliovich ve ark, 1992). Türkiye'de ise G542X, 1677delTA, 2183AA\_G, 621+1G\_T bu sınıf içinde en sık saptanılan mutasyonlardır (Güzel ve Gerçek, 2006).

### **Sınıf II Mutasyonlar:**

Endoplazmik retikulum ve golgi organelinin proteinini etkileyen mutasyonlardır. Normal gerçekleşmeyen glikolizasyon ve katlanma nedeniyle oluşan proteinler uygun üçüncül yapılarını oluşturamaz ve bu sebeple apikal membrana taşınmak yerine yıkıma gitmek üzere hedeflenirler. Oluşan bu proteinler hızlı şekilde parçalandığından apikal membranda ya hiç ya da çok az protein tanımlanabilmektedir (Lommatzsch ve Aris, 2009). Sınıf II mutasyonları KFTR allellerinin en yaygın olan grubunu oluşturmaktadır. Bu mutasyon, özellikle KFTR kanal kapısını düzenleyen Membran Çevresinde Dolanan Bölgeden (Membran-Spanning Domain, MSD) segment 4'ün C terminali ve nükleotid-bağlanma bölgesi (Nükleotide-Binding Domain, NBD) 1'in N terminali arasındaki integral üçüncül bağlantıyı etkiler (Zielenski,2000; Serohijos ve ark, 2008; Web\_2, 2015). Normal bireylerde KFTR proteininin %75'i yıkılırken, deltaF508 mutasyonu olan bireylerde %99'u yıkıma uğrar (Hodson ve ark, 2007). Endoplazmik retikulum bağlantılı protein yıkımı (Endoplasmic-reticulumassociated protein degradation, ERAD) yoluyla, kusurlu proteinler yıkılır ve böylece hücre yüzeyindeki KFTR'nin miktarı azalır (Farinha ve Amaral, 2005).

### **Sınıf III Mutasyonlar:**

KFTR proteininin fonksiyonunun düzenlenmesinde hataya yol açan mutasyonlardır. KFTR'nin Adenozin trifosfat (ATP) ve/veya fosforilasyonu yoluyla düzenlenmesinde yanlışların ortaya çıkmasına neden olur. Translasyon gerçekleşir, protein işlenir, taşınır ve normal miktarda apikal membrana eklenir fakat iyon kanal aktivitesi yoktur (Lommatzsch ve Aris, 2009). Klor (Cl) iyon kanal kapısını etkileyen kusurlu KFTR üretimine neden olan, düzenleyici bölgenin (regulator domain, RD) fosforilasyonu veya ATP'nin hidrolizi ve bağlanmasını etkileyen mutasyonlardır (Web\_2, 2015). cAMP ve ATP ile kanal aktivasyonunu önleyen NBD1 ve NBD2'nin değişimlerinden dolayı protein düzenlenmesinde hasara neden olur. Bu grup içinde G551D, dünya çapında en yaygın yanlış anlamalı mutasyondur (Zielenski,2000; Schwarz ve ark, 2009).

### **Sınıf IV Mutasyonlar:**

KFTR proteini kanal iletiminde değişime yol açan mutasyonlardır. Sınıf III mutasyonlarda olduğu gibi protein sentezlenir, işlenir, taşınır ve normal miktarda apikal membrana eklenir fakat iyon kanal aktivitesi yoktur (Lommatzsch ve Aris, 2009). Sınıf III basamaklarından farklı olarak fosforilasyon ve defosforilasyon basamakları gerçekleşir fakat fosforilasyon klor geçirgenliğinin azalmasına neden olur (Welsh ve ark, 2001). Bu sınıftaki mutasyonlardan R347P, R117H ve R334W, KFTR'nin por oluşum kısmına dâhil edilen MSD1'i etkileyebilir (Akabas ve ark, 1994). R117H gibi bazı mutasyonlar daha az klor kanal aktivitesi gösterirken, bazı mutasyonlar daha iyi bir kanal iletimi gösterebilir ve bu mutasyonlar sıklıkla daha ılıman fenotiplerle ilişkilidir (McNicholas ve ark, 1996).

### **Sınıf V Mutasyonlar:**

Aktif KFTR proteini sayısında ve membran taşınmasında azalmaya sebep olan mutasyonlardır (Lommatzsch ve Aris, 2009). Bu aktif KFTR proteininde azalmaya sebep olan mutasyon kırılma mutasyonlarıdır ve KFTR promoterindeki değişikliklerden de bahsedilmektedir (Welsh ve ark, 2001). Anormal kırılma hem intronik hem de ektronik kırılma motiflerinde olabilir. İtronik kırılmaya örnek olarak genel popülasyonda en yaygın olan: 3849+ 10 kb C-T meydana gelir (Lommatzsch ve Aris, 2009). Bunun sonucunda fonksiyonel protein miktarı farklı hastalar arasında ya da bir hastanın farklı organları arasında değişiklik gösterebilir (Nissim-Rafinia ve Kerem, 2002; Nissim-Rafinia ve ark, 2004).

Kırılma mutasyonları ile ilgili bu fenotipik ilişkiler şiddetli ya da hafif olabilir. Sınıf V mutasyonlar epitelyal sodyum kanalı (ENaC) ve dışarı açılabilen klor kanalı (ORCC) gibi diğer iyon kanallarının fonksiyonlarını da etkiler (Schwarz ve ark, 2009).

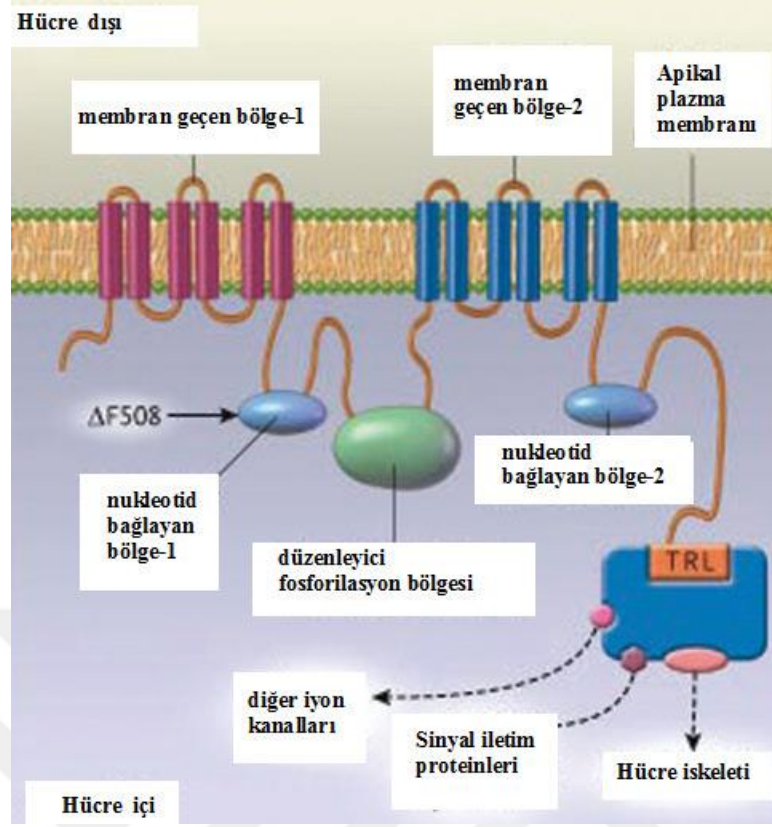
### **Sınıf VI Mutasyonlar:**

Fonksiyonel ama kararsız KFTR proteini üretimine neden olan mutasyonlardır. KFTR'nin üretimini engellemeyen fakat çoğunlukla C terminalde 100 baz çift bir kesilme ile sonuçlanan anlamsız veya çerçeve kayması mutasyonlarından meydana gelmektedir (Zielenski, 2000). KFTR sentezlenir hücre yüzeyine ulaşır fakat yabani tip proteinden beş ile altı kat daha hızlı olgun proteinin yıkılmasına neden olur. Bu sebeple bu mutasyonlar daha şiddetli hastalıkla ilişkilidir (Haardt ve ark, 1999; Lommatzsch ve Aris, 2009).

## **2.2.1. Kistik Fibrozis'in Patogenezi**

### **2.2.1.1. Kistik Fibrozis Transmembran Regülatör Proteini**

KF Transmembran Regülatör proteini, epitel dokuda sıvı ve elektrolit transferi yapan ATP-bağlayan proteinlerindedir (ATP-Binding Cassette, ABC). Bu protein cAMP bağımlı protein kinaz-A (PKA) tarafından kontrol edilir. KFTR proteini, sitozolde yer alan 2 adet Nükleotid Bağlanma Bölgesi (Nucleotide-Binding Domain, NBD) ve 2 adet Membran Çevresinde Dolanan Bölgeden (Membran-Spanning Domain, MSD) oluşur. İki NBD arasında kanalın aktivasyonu sırasında fosforilasyona uğrayan düzenleyici bölge (regulatory domain, RD) bulunur. Proteinin karboksi-C terminali treonin, arjinin ve lizinden oluşur (Randak ve Welsh, 2003) (Şekil 1). MSD, klorür iyonlarına özgü porların oluşmasında, NBD, transport için gerekli olan enerji kaynağını oluşturmak üzere ATP'nin kendisine bağlanarak hidrolize olmasına, RD'nin fosforillenmesi ise kanalların aktif hale gelerek açılıp kapanmasına neden olur. KFTR proteininin işlev görebilmesi için öncelikle cAMP'nin RD'deki serin artıklarının fosforillenmek üzere protein kinaz A'yı aktif hale getirmesi gerekmektedir (Rowe ve ark, 2005; Fanen ve Hasnain, 2002; Ersöz, 2011).



Şekil 1. KFTR'nin yapısı (Rowe ve ark, 2005)

Kanal KFTR proteininin membranı geçen bölgesinde oluşan mutasyonlar, kanalın anyon seçiciliğini değiştirir. KF oluşturan mutasyonların büyük bir kısmı MSD1 ve NBD1'de çok az bir kısmı ise RD'de saptanmıştır. RD'de fosforilasyon bölgesinin fazla olması buradaki mutasyonların hastalık oluşturma ihtimalini azaltmaktadır (Welsh ve Smith, 1993). KFTR proteininin fonksiyonu ile ilgili iki hipotez ileri sürülmüştür. İlk hipotezde KFTR proteini bir klor kanalı olup mutasyona uğraması durumunda epitel hücrelerin apikal membranlarındaki klor iyonlarının geçirgenliğinde kusura neden olduğu varsayılır. İkinci hipotezde ise KFTR proteininin bir iyonik kanal olmadığı fakat iyon kanalları ile etkileşerek hücrenin içinde veya dışında klor geçişini sağlayan klor kanallarının düzenlenmesinde rol oynadığı varsayılır (Fanen ve Hasnain, 2002).

KFTR proteini, klor kanalı fonksiyonu dışında epitel sodyum kanalı (ENaC), dışarı açılabilen klor kanalı (ORCC), böbrek şekilli ilikli dışa açılabilen potasyum kanalı (ROMK), Aquaporin su kanalları, Cl/HCO<sub>3</sub> (Klor/Bikarbonat) değiştiricileri gibi iyon kanalları, transport proteinleri ve süreçleri üzerinde düzenleyici etkileri vardır (Schwiebert ve ark, 1999). Bir kanal düzenleyici olmanın yanında ayrıca ATP'nin transportunda,

endositoz/ekzositoz olayının modifikasyonu, hücre içi organellerin pH'sının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Fanen ve Hasnain, 2002). KFTR aktivitesinin miktarı, KF hastalığının kliniğini belirler. Fonksiyonel KFTR düzeyi %5'in altına düşerse hastalık bulguları ortaya çıkar ve düzey azaldıkça daha fazla organ sistemi tutulur. Normal KFTR aktivitesinin %10'unu sağlayabilen mutasyonlarda ter klor konsantrasyonu, akciğer ve pankreas fonksiyonları normal olur, ancak erkeklerde Konjenital Bilateral Vas Deferens Agenezisi (CBAVD)'ye bağlı infertilite görülür (Davis, 2006). Sadece bir tane mutant KF aleline sahip bireylerde (heterozigotlar) ise pankreatit, sinuzit ve alerjik bronkopulmoner aspergillozis riski artar (Cohn ve ark, 1998; Eaton ve ark, 2002).

#### **2.2.1.2. Ter Bezinin Fonksiyonunun Bozulması**

Normalde, sekretuar asinüslerde üretilen izotonik ter, emilim kanalında hem KFTR'ye bağımlı hem de KFTR'den bağımsız mekanizmalarla klor geri emilimini arttırarak intraluminal klor konsantrasyonunu azaltır. Bunun beraberinde oluşan sodyum (Na) geri emilimiyle de hipotonik ter (10-50 mmol/L) kanallardan salgılanır. KF'de ise emilim kanalı hücrelerinin apikal membranında KFTR'nin olmaması intraluminal membrandan geri emilen klor miktarında azalmaya neden olur ve yüksek klor konsantrasyonlu (60-120 mmol/l) ter kanallardan salgılanır (Quinton, 1999, Özçelik, 2004). Hastalarda azalan klor geri emilimi ile birlikte sodyum geri emilimide azalır ve böylece ter normalden daha tuzlu olur. Fakat başka mekanizmalarla sodyum geri emilimi devam eder. Klor ise emilmeyerek lümende kaldığından dolayı normal kişilerle karşılaştırıldığında KF'li kişilerde daha fazla (yaklaşık 75 milivolt) bir transepitelyal potansiyel fark oluştuğu görülür (Özçelik, 2004; Hodson ve ark, 2007).

#### **2.2.1.3. Akciğer hastalığının patogenezi**

KF'te en çok etkilenen organ olan akciğerlerde hastalıkların patogenezi henüz tam aydınlatılamamıştır. Patogenez ile ilgili iki hipotez öne sürülmüştür.

##### **2.2.1.3.1. Düşük Volüm Hipotezi**

Temel mekanizmalar; ENaC'den sodyum emilimi, KFTR ve kalsiyum (Ca<sup>+</sup>) ile aktif hale gelen klor kanallarından klor salgılaması ve solunum yolu yüzey sıvısının hidratasyon

dengecinin sağlanmasıdır. Klor geçirgenliği toplamda sodyumdan az olduğu için mukozal yüzey daha negatif yüke sahiptir. KFTR normalde ENaC'in çalışmasını engeller, ancak KF'de bu engel ortadan kalktığında sodyum transportunda artış olarak fazla su emilimine neden olur (Southern, 2007). Solunum yolunu örten sıvı sisteminin st tabakasını oluşturan mukus, moleküler ağırlığı fazla olan musinler tarafından oluşturulur (Ersöz, 2011). Bu tabakanın viskoelastik özellikleri musinlere, musinlerin yapıştırıcı proteinler ile ilişkisine ve bu tabakanın hidrasyonuna bağlıdır. Tabakanın en altında bulunan perisiliyer sıvı katmanı, polianyonik jel tabaka özellikleri gösterir. Hidrasyon durumu, iki katman arasındaki ilişki ve etkin siliyer aktivite açısından önemlidir. KF'deki dehidrate mukus nedeniyle mukus tabakasının viskozitesi artar, perisiliyer tabaka ker ve mukus tabakası epitel hücre yüzeyi ile doğrudan temas eder. Mukus plaklarındaki aşırı musin salgılanması plağın daha da kalınlaşmasına neden olarak hava yolu obstrüksiyonunu arttırır. Koyu ve yapışkan mukus kalıcı biofilm nedeniyle oluşur ve konsantre musin ikincil savunma mekanizmasının çalışmasını engeller. KF'de bikarbonat salgılanma bozukluğu ile mukus koyuluğu artar (Ersöz, 2011). Bu durumu kronik enfeksiyon, yoğun inflamasyon ve solunum yetmezliği takip eder (Jayaraman ve ark, 2001).

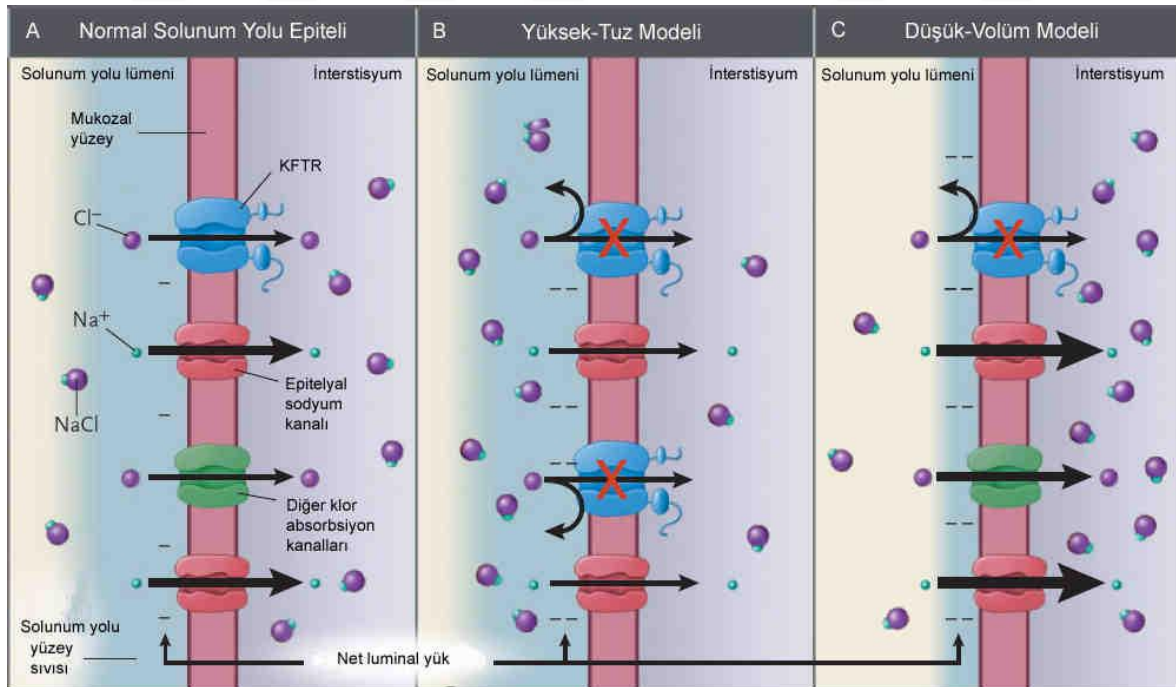
Mast hücreleri ve makrofajlar açısından KF ve KF olmayan solunum yolları arasında önemli bir fark olduğu görülmüştür (Hubeau ve ark, 2001). KF'li yeni doğanların bronkoalveolar lavaj (BAL)'larında nötrofil ve İnterlökin (IL)-8 seviyesinin arttığı görülmüştür. Nötrofil aktivasyonu ve lizozomal enzim salınımı ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı bakteriyel enfeksiyon savunması için kolaylık sağlamaktadır (Hodson ve ark, 2007; Carmichael ve ark, 2009).

#### **2.2.1.3.2. Tuz Fazlalığı Hipotez**

KFTR'deki bozulmadan dolayı solunum yolu sıvısında sodyum ve klor değeri artar. Hava yollarını döşeyen sıvı normalde olması gerekenden fazla tuz içerir. Klor emilimi sodyum emiliminden az miktarda olduğundan mukozal yüzey hiperpolarize olur. Solunum yolu sıvısındaki beta defensin, lizozim, laktoferrin gibi antibakteriyel koruyucu proteinlerin özellikleri, bu sıvıdaki tuz miktarına bağlıdır. KF'de solunum yolu sıvısında tuz miktarı artmış olduğu için, antimikrobiyal peptidlerin özelliklerinde kayıplar oluşur; bu da kronik bakteriyel enfeksiyonlara yol açar (şekil 2) (Heijerman, 2005; Rowe ve ark, 2005). Ayrıca, KF hastalarında solunum epiteli, bakterilerin yapıştığı musinleri içeren hava yolu yüzey sıvısı

(airway surface liquid, ASL) ile kaplı olup patojen bakterilerin doğrudan membranla etkileşmesi mümkün değildir (Leir SH, ve ark, 2005).

Hastalığın erken döneminde sık karşılaşılan KF patojenleri, *S. aureus* ve *H. influenzae* olup ileri dönemde en sık *P. aeruginosa* enfeksiyonları görülür. Daha nadir görülen patojenler arasında *S. maltophilia*, *A. xylosoxidans* ve *B. cepacia* yer alır. KF hastalarında fungal enfeksiyonlara ve kolonizasyona da sık rastlanır (Schwarz ve ark, 2009). *P. aeruginosa*'yı diğer bakterilerden farklı kılan en önemli özelliği, dış membranında yer alan lipopolisakkarite ait oligosakkarit yapının, akciğerlerdeki epitel hücrelerin membranında bulunan KFTR proteinine bağlanabilmesidir (Özçelik, 2004). Bu şekilde epitel hücreleri, *P. aeruginosa* için reseptör olarak işlev gören KFTR proteininin aracılığıyla bakteriyi kendisine bağlar. *P. aeruginosa* biofilm olarak adlandırılan akciğer mikroçevresine uyum sağlayarak makrokoloniler ve alijinat denilen antimikrobial ajanların penetrasyonunu engelleyen kapsüler polisakkarit oluşturur (Rowe ve ark, 2005). *P. aeruginosa*'nın hastalığa neden olma yeteneğinden birisi olan piyosiyanın silyer hareketleri ve mukosilyer transportu etkinliğini azaltır. Ayrıca, oksidatif stresi arttırıp KFTR aracılı klor transferini engelleyerek KF'li kişilerde akciğer hastalığı bulgularında artışına sebep olabilir (Schwarzer ve ark, 2008).



Şekil 2. Akciğer patojenizine yol açan mekanizmalar (Rowe ve ark, 2005)

Akciğerlerdeki kalın ve yapışkan salgılar distal solunum yollarının ve submukozal bezlerin tıkanmasına neden olur. Submukozal bez kanallarının mukusla tıkanması ve solunum yollarının kalın, viskoz, nötrofillerden zengin mukopürülan salgılarla kaplanması KF'nin tipik patolojik bulgusudur. Postnatal dönemde, solunum yollarında görülen en erken bulgu trakea ve büyük bronşlarda, submukozal bez obstrüksiyonu ve hiperplazisidir. Bu bulgular enfeksiyon geçirmemiş hastaların akciğerlerinde de izlenmektedir. Enfeksiyon ve persistan inflamasyon küçük hava yollarına zarar vererek bronşiektazi oluşumuna yol açar. Özellikle iki taraflı üst loblarda görülen bronşiektaziler KF'e özgü bir bulgudur (Cohen ve Prince, 2012). Altı aydan uzun yaşayan hastaların hepsinde farklı derecelerde bronşiektazi mevcuttur. Parankimal değişiklikler ise interstisyel fibrozis odakları ve alveolar septalarda zayıflama ve kısalmadır. Alveollerde meydana gelen bu değişiklikler "alveoler simplifikasyon" olarak adlandırılır. Bronşların mukus ile tıkanması ve komşu akciğer dokusunda havalanma artışı atelektazi oluşumuna neden olur. Sağ orta lob en fazla tutulan bölgedir. KF'li büyük çocuklarda hafif hemoptizi ve balgamda çizgi şeklinde kan sık rastlanan belirtileridir. Masif hemoptizi KF hastalarının %5-7'sinde görülür ve hayatı tehdit edici bir komplikasyondur (Hurt ve Simmonds, 2012). Enflamasyon akciğer fonksiyonlarının azalmasına yol açan bir diğer önemli etkidir ve kronik enfeksiyonlardan önce başlayabilir. Yapılan çalışmalarda KF hastalarının hava yollarında enflamasyon belirteçlerinden IL-8, IL-6, tümör nekrozis faktör  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) ve lökotrien B4 (LTB4) miktarları yüksek bulunurken, anti-inflamatuvar sitokinler ve proteazların miktarlarında düşüş gözlenmiştir (Fanen ve Hasnain, 2002; Accurso ve Sontag, 2008; Collaco ve Cutting, 2008).

KF'te morbidite ve mortalitenin en önemli nedeni akciğer hastalıklarıdır. Artan dispne, hipoksemi ve artmış arteriyel kısmi karbondioksit basıncı ile karakterizedir. Son dönem solunum yetmezliğinin tedavisi akciğer transplantasyonudur (Madden ve ark, 2002).

#### **2.2.1.4. Kistik Fibrozis Hastalarının Solunum Yollarında En Sık Kolonizasyon/Enfeksiyon Nedeni Olan Bakteriler**

KF'de gelişen solunum yolu enfeksiyonlarından çoğunlukla *S. aureus* ve *H. influenzae* gibi başlıca insan patojenleri sorumlu olabildiği gibi, başta *Pseudomonas aeruginosa* olmak üzere *S. maltophilia* ve *A. xylosoxidans* gibi fırsatçı patojenler de sorumlu olabilmektedir (LiPuma, 2010). KF dışındaki enfeksiyonlarla ilişkilendirilen *B. cepacia complex*, *B. gladioli* ve *Ralstonia*, *Cupriavidus* ve *Pandora* türleride KF akciğer enfeksiyonlarından izole

edilebilmektedir (Atkinson ve ark, 2006; Govan ve Deretic, 1996). Çeşitli fungal ajanların neden olduğu akciğer enfeksiyonlarına da sıklıkla rastlanmaktadır. *A. fumigatus* en sık rastlanan fungal ajandır ve alerjik bronkopulmoner aspergillozise (ABPA) neden olmaktadır. *E. dermatitidis* ve *Scedosporium* türleri ise kronik kolonizasyon ve enfeksiyona neden olan filamentöz fungal ajanlardan olup rastlanma sıklıkları artış göstermektedir. *Candida* türleri, özellikle *C. albicans* KF balgam örneklerinden en sık izole edilen mayalardır (Haase ve ark, 1991; Bakare ve ark, 2003).

### ***Pseudomonas aeruginosa***

KF'de akciğer fonksiyonlarının bozulmasından primer olarak *P. aeruginosa* sorumlu tutulmaktadır (Şener, 2002). Bu bakteri tüm KF popülasyonunun yaklaşık % 60'ında, ergen ve yetişkinlerin ise yaklaşık % 80'inde bulunmaktadır (Miller ve Gilligan, 2003). Çeşitli çalışmalar KF'li olgulardan izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının % 90'a varan oranlarda mukoid fenotipte olduğunu göstermektedir (Şener, 2002). KF dışındaki hasta materyallerinden mukoid *P. aeruginosa* suşlarının izolasyonu enderdir (Saiman ve Hiatt, 2004). Mukoid suşun saptanması enfeksiyonun kronikleştiğinin en önemli göstergesidir (Erturan, 2004). *P. aeruginosa*, ekzotoksin A, ekzoenzim S, lökositidin, fosfolipaz C, elastaz ve alkalın proteaz gibi birçok virülans faktörü salgılamakta ve bu faktörler nötrofil kemotaksisini stimule etmektedir. Ekzotoksinler, sekresyonların viskozitesini arttırabilir ve siliyer aktiviteyi bozarak, ufak havayollarında obstrüksiyona ve sonunda akciğerde tahribata neden olabilmektedir (Miller ve Gilligan, 2003).

### ***Staphylococcus aureus***

*S. aureus* günümüz KF'li bebekler ve küçük çocukların solunum yollarından ilk izole edilen bakteriyel patojendir. Antistafilokoksik penisilinlerin kullanıma girmesiyle birlikte KF'de *S.aureus*'a bağlı morbidite ve mortalitede azalma görülmekle birlikte, hastaların yaklaşık % 52' sinin solunum yollarında bulunmaktadır (Miller ve Gilligan, 2003; Erturan, 2004; Gilligan ve ark, 2006). *S.aureus* ile kronik olarak infekte olan KF hastalarının yüzdesi çocukluktan ergenliğe doğru artarak yaklaşık % 60' lara ulaşır ve geç ergenlikte azalarak yetişkinlikte % 30' a iner (Miller ve Gilligan, 2003). *S. aureus* enfeksiyonlarının viral enfeksiyonlarla birlikte akciğerleri özellikle pseudomonal kolonizasyona hazırladığı öne sürülmektedir. *S.aureus*'a ait teikoik asit ve slime maddesinin, bakterinin solunum yolu epiteline tutunmasını sağladığı ve kapsül, protein A, hiyalüronidaz, katalaz, koagülaz,

lökosidinler, hemolizinler ve ekzotoksinler aracılığıyla virülans gösterdiği bilinmektedir (Şener, 2002; Erturan, 2004).

### ***Haemophilus influenzae***

KF'li hastaların solunum yollarından en sık izole edilen üçüncü sıradaki bakteridir. Bu mikroorganizma KF'li çocuklardan tipik olarak izole edilirken yetişkin KF'li hastalarda sık görülmez. Yetişkinlerde sık görülmemesinin nedenlerinden birinin bu bakterinin üremesinin mukoid *P. aeruginosa* tarafından engellenmesi olabileceği bildirilmektedir. Bu nedenle, KF'li hastaların solunum yollarından *H. influenzae* izole etmek için basitrasın içeren çikolatamsı agar kullanılması ve burada *P. aeruginosa*'nın üremesini engellemek için anaerop şartlarda inkübe edilmesi gerektiği belirlenmiştir (Erturan, 2005).

### ***Stenotrophomonas maltophilia***

KF'li hastalarda ilk kez 1979 yılında bildirilmiştir. KF'li hastaların bronşiyal sekresyonlarında prevalansı *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *H. influenzae*'dan sonra dördüncü sırada yer almaktadır. *S. maltophilia* ile özellikle 16-20 yaş grubu başta olmak üzere, kronik kolonizasyon saptandığı bildirilmektedir (Valdezate ve ark, 2001).

### ***Burkholderia cepacia* kompleksi bakterileri**

Çoklu antibiyotik dirençli nozokomiyal bir patojen olan *B. cepacia*'nın KF'li hastalarda pulmoner kolonizasyona neden olduğu ilk kez 1970'lerde anlaşılmıştır. Bundan on yıl sonra *B. cepacia*'ya bağlı septisemi ve pnömoni tanımlanmıştır. *B. cepacia* kompleksi içinde yer alan suşlarının virülansı büyük farklılıklar gösterdiğinden, asemptomatik taşıyıcılıktan fulminan pnömoniye kadar değişen klinik tablolar gözlenebilmektedir. Olguların % 20' sinde ilerleyici, invazif ve ölümcül bakteriyel bir hastalık olan '*B. cepacia* sendromu' gelişmektedir. Bu sendrom yüksek ateş, hızlı pulmoner fonksiyon gerilemesi ve bakteriyemi ile karakterizedir. (Erturan, 2004; Gilligan ve ark, 2006).

Mevcut patoloji bir yandan epitel hücre fonksiyon ve transportunu bozarken diğer yandan kullanılacak antibiyotiklerin dokudaki konsantrasyonları üzerine etkili olması nedeniyle kullanılan antibiyotiğe duyarlı bakterilerin tedavide başarısızlıkları klinikte sık görülmektedir.

*P. aeruginosa* üremesinde biyofilm oluşturan moduna karşı gelişen belirgin tolerans KF hastalarında antibiyotik tedavisinde tedavinin ana engeli olarak kabul edilmektedir (Hoiby ve ark, 2010). Yüksek tolerans azalmış antibiyotik geçişi, spesifik rezistans mekanizmalarının

yavaş büyüme ve ekspresyonuna bağlı olarak gelişir. Bu durum 2010 yılında yapılan çalışmada da gösterilmiştir (Hoiby ve ark, 2010). Aynı durum Mayer-Hamblett ve ark.'nın 2014 yılında yaptıkları çalışmada çocuklar için de gözlenmektedir (Mayer-Hamblett ve ark, 2014). Pulmoner alevlenmenin tedavisinde genellikle agresif hava yolu temizlenmesi, dinlenme, besinsel destek ve kronik olarak enfekte edilen patojenlere karşı antimikrobiyal tedavi kullanılır. Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA), *B. cepacia* kompleksi, multidrug rezistan *P. aeruginosa* ile enfekte olan hastalar ve KF ile ilişkili diyabeti olan ve KF ile ilişkili karaciğer hastalığı olan hastalar genellikle pulmoner alevlenmeye karşı başarısız sonuçlar alırlar (Parkins ve ark, 2012; Sanders ve ark, 2010).

KF'li hatalardaki hücre yapısındaki farklılığın yanı sıra, oluşan enfeksiyon etkeninin virülans faktörlerinden biofilm antibiyotiğin farmakokinetiğinde önemli rol oynamaktadır. KF epitelindeki patolojik değişim sonucunda oluşan ortam birçok mikroorganizmanın biyofilm oluşumunu farklı mekanizmalar ile uyarmaktadır.

Biyofilm mikroorganizmalar tarafından üretilen herhangi bir yüzeye, ara yüzeye veya birbirlerine yapışmalarını sağlayan, büyüme oranları ve gen transkripsiyonuna bağlı olarak farklı fenotip gösterebilen ve oluşturan mikroorganizmanın içinde gömülü olarak bulunduğu ekstrasellüler polimerik maddeden oluşmuş matriks olarak tanımlanır (Costerton ve ark, 1995). Bir biyofilmin oluşması için gerekli olan ortak bileşenler mikroorganizma, glikokaliks ve yüzeydir. Bu bileşenlerden biri olmadığı takdirde biyofilm oluşmaz (Donlan 2002). Bir biyofilmin yapısı %97 su olmak üzere %2-5 mikroorganizma, %1-2 polisakkarid, %1-2 protein, %1-2 DNA ve iyonlardan oluşmaktadır. Biofilmin en önemli bileşenlerinden bir tanesi ekstrasellüler matriks içersinde yer alan glikokaliks ve polisakkaritlerdir (Flemming ve Wingender 2010). *P. aeruginosa*'da glikokaliksin en büyük bileşeni ekstrasellüler DNA (ekstrasellüler nükleaz olmadığı için), diğer 2 komponenti Pel ve Psl olarak adlandırılan polisakkaritlerdir (Whitchurch ve ark, 2002; Friedman ve Kolter, 2004). Pel glukozdan zengindir; Psl ise galaktozdan oluşur.

Biyofilm oluşumu basamaklar halinde gelişen bir olaydır :

1. Mikroorganizmanın yüzeye tutunması: Yüzeye organik ve/veya inorganik maddelerin yapışmasını takiben mikroorganizmalar bu yüzeye geri dönüşür özellikle tutunur. Bakterinin hareketi veya bakteri yüzeyi ile tutunulan yüzey arasındaki elektrostatik veya fiziksel etkileşimler bu evrede rol oynamaktadır. KF epitelindeki yüzey değişiklikleri bu evrede önemli bir rol oynamaktadır.

2. Geri dönüşümsüz tutunma: Yüze tutunan hücreler bakteri hücre zarındaki proteinlerin uyarımı sonucunda ekzopolisakkarid yapıda materyal sentezlemeye başlar ve bu da hücrelerin birbirine ve yüze tutunmasını sağlar.

3. Kolonizasyon: Yüze tutunan bakteriler bölünüp çoğalarak biyofilmin en küçük organizasyon birimi olan mikrokolonileri oluşturur. Bu mikrokolonilerin üzerine ortamdaki planktonik bakteriler de yapışarak kolonizasyon sağlanır.

4. Kopma: Biyofilmin üst kısımlarından kopan hücreler yeni odaklarda biyofilm oluştururlar ve kopan planktonik hücreler bağlandıkları bölgede yeni biyofilm odaklarını oluştururlar.

Mikroorganizmaların biyofilm oluşturma nedenleri;

1-Savunma: Strese cevap olarak gelişir. Biyofilmin kan akımı ve tükürüğün yıkama gücü gibi bir takım fiziksel güçlere karşı dayanıklılığı vardır. Biyofilme sahip organizmalar, besin yoksunluğu, pH değişiklikleri, oksijen radikalleri, dezenfektanlar, fagositoza ve antibiyotiklere karşı planktonik hücrelerden daha dirençlidir.

Biyofilmin büyük bir bölümünü oluşturan ekzopolisakkaritler savunmada önemli rol oynayan moleküldür. Ekzopolisakkaritler bulunduğu bakteriyi güç alanlarından (elektrik çekimi) uzaklaştırarak inflamatuvar hücrelerin fagositozundan ve antibiyotik etkisinden korurlar (Lewis 2001; Donlan 2002).

2-Adhezyon ve Kolonizasyon: Yaşam için gerekli ortamda kalabilmenin en bilinen yolu = biyofilm oluşturmaktır

Bakterinin vücudun herhangi bir bölgesinde sabit kalabilmesini sağlamak için bir takım stratejileri vardır. Bakteri yüzey proteinleri, konakçının fibrinojen, fibronektin, vitronektin, elastin gibi ekstraselüler matriks proteinlerine yapışırlar. Bu adhesin ve matriks proteinleri konakçı ile bakterinin adheransında anahtar rol oynarlar. Adherans sonrası bu bölgeye yerleşen bakteriler bir yandan belli bir popülasyona ulaşmak için çoğalırken diğer yandan da biyofilm oluşturma özelliğine göre biyofilm yapımına başlarlar.

Yaşanabilir çevre geliştirme: Özellikle ortamdaki glukozun bakteri tarafından kullanılabilir olmasının *Pseudomonaslar*, *V. cholerae*, *E. coli* ve Stafilokokların EPS ekspresyonu ve biyofilm oluşturmalarını belirgin bir şekilde arttırdığı gösterilmiştir.

Kominite oluşturmak: Kazançların ortak paylaşımıdır. Bakterilerin ortama adaptasyonundaki beraberlik oluşturmada sıklıkla görülmektedir. Bakteriler biyofilm

oluşturdukları gibi ortamdan aldıkları uyarılar (besin, pH, ısı vs.) sonucu hızla da planktonik hale geçebilmektedirler.

Esasta, biyofilm 3 boyutlu çekim gücü oluşturup, bulunduğu bakteriyi çevreleyerek bakterinin adheransını ve korunmasını sağlar. Biyofilmin maturasyonu bakterinin yüzeye irreversibl olarak yapışmasından sonra başlar. Biyofilm geliştikçe bakterinin adherans ve motilite faktörlerinin ekspresyonunda da baskılanma olmaktadır.

Biyofilm direnci gerçekte multifaktöriyel bir olaydır. Direnç nedenleriyle ilgili tezler aşağıda belirtilmiştir:

- Antimikrobiyal ajanların biyofilm içine düşük penetrasyonları,
- Mikroçevre değişikliği
- Biyofilme özgü dirençli bir fenotip

KF'li hastalarda hücre yapısındaki patolojik değişimler ve bakterinin artmış biyofilm oluşturma özelliği antibiyotik etkinliği üzerinde önemli olumsuz etkileri olmaktadır. Bu nedenle antibiyotiğin doku konsantrasyonu enfeksiyonun tedavisi ve tekrar oluşumunu engellemede önemlidir (Patti ve ark, 1994).

### 2.3. Tigesiklin

Tetrasiklinler tarımda zararlılardan korunmak, hayvancılıkta büyümeyi artırmak amacıyla kullanılmış ancak direnç gelişimi nedeniyle etkinliğinde azalma görülmüştür. 1988 yılında glisilsiklinler (GAR-936) denilen minosiklinin hidrofobik bölgesinde, tetrasikline dirençli mikroorganizmalara karşı etkili yeni bir tetrasiklin geliştirildi. Bu ilacın, Tet(M)-koruyuculu ribozomların varlığında dahi protein sentezi inhibisyon etkisi olduğu gözlenmiştir (Nannini ve ark, 2003). Glisilsiklinlerin ilk üyesi tigesiklidir. Tigesiklin, minosiklinin semisentetik türevidir. Moleküler ağırlığı 585.65 DA, kimyasal formülü  $C_{29}H_{39}N_5O_8$  olarak bulunmuştur (Noskin, 2005; Pankey, 2005). Tigesiklin, minosiklin ve tetrasikline oranla ribozomlara beş kat daha güçlü bağlanır (Garrison ve ark, 2005; Noskin, 2005). Tigesiklinin en önemli özelliği bakterilerdeki tetrasiklin direncinden sorumlu ribozomal korunma ve efluks mekanizmalarına karşı dirençli olmasıdır. 9 pozisyonundaki modifikasyon nedeniyle üç boyutlu inhibisyona bu özellikten sorumludur (Garrison ve ark, 2005; Nathwani, 2005). Bakterilerdeki protein sentezini ribozom düzeyinde inhibe eden tek antibiyotik tigesiklidir. Tigesiklinin etki mekanizması, 30S ribozomal alt ünitesine bağlanması ve amino-acyl transfer

RNA'nın hedefine girişini engellemesidir. Bu protein sentezini engeller ve bakteriyel üremeyi durdurur (Noskin, 2005; Pankey, 2005).

### **Etki Spektrumu**

Gram pozitif ve gram negatif bakteriler, atipik bakteriler ve anaeroplara etki edebilen geniş bir etki spektrumu vardır. Penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae* (*S.pneumoniae*), vankomisine dirençli enterokoklar (VRE), geniş spektrumlu betalaktamaz (GSBL) üreten *E. coli*, *K. pneumoniae* ve MRSA gibi çoğul dirençli bakteriler de etki alanına girmektedir (Bradford, 2004; Noskin, 2005). *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* ve indol-pozitif *Proteus* türlerinde de yeterli etkinlik sağlamamaktadır (Souli ve ark, 2006). Tigesiklinin anaerob etkinliği de oldukça yüksektir. Goldstein ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada 396 anaerob bakteri test edilmiş olup, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides fragilis* (*B. fragilis*) grubu, *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) ve *Clostridium difficile* (*C. difficile*) grubu başta olmak üzere birçok gram negatif ve gram pozitif anaerob bakteriye karşı tigesiklinin etkili bulunmuş ve %99.7 oranında MİK<sub>90</sub> (bir organizmanın izolatlarının %90'ının üremesini engellemek için gereken minimum konsantrasyon) ≤ 4 µg/ml saptanmıştır (Goldstein ve ark, 2005). Tigesiklinin in-vitro etkinliğini inceleyen çalışmada, test edilen tüm stafilokok kökenlerinin 2 mg/L ve altındaki tigesiklin konsantrasyonlarında inhibe olduğu gözlenmiştir. Metisiline hassas *S. aureus* (MSSA) ve MRSA kökenlerinde tigesiklinin MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0.12 ve 0.25 mg/L bulunmuştur. Metisiline duyarlı ve dirençli *S. epidermidis* kökenleri için MİK<sub>90</sub> değerleri 0.5 mg/L olarak bulunmuştur (Bouchillon ve ark, 2005). Penisiline duyarlı, orta düzey dirençli ve yüksek düzey dirençli tüm *S.pneumoniae* kökenleri için tigesiklinin MİK<sub>90</sub> değerleri 0.06 mg/L olarak saptanmıştır. *S.pyogenes* ve *S. agalactiae* dâhil tüm streptokoklar için tigesiklin MİK<sub>90</sub> değerleri 0.06 mg/L olarak bulunmuştur. Tigesiklin tüm enterokok türlerine karşı aktif olup, vankomisine duyarlı ve dirençli *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ve *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) türleri için MİK<sub>90</sub> değerleri 0.12 mg/L'dir (Bradford, 2004).

Tigesiklin enterik gram negatif bakteriler ve nonfermentatif bakteriler dâhil birçok gram negatif bakteriye karşı çok iyi in vitro etkinliğe sahiptir. GSBL sentezleyen ve sentezlemeyen *E.coli* kökenleri için MİK<sub>90</sub> 0.5 mg/L tespit edilmiştir. AmpC ve GSBL üreten kökenleri içeren *K.pneumoniae* türlerine karşı MİK<sub>90</sub> 2 mg/L belirlenmiştir. *E. aerogenes* ve *E. cloacae* için MİK<sub>90</sub> değerleri sırası ile 1 ve 0.5 mg/L'dir. *A.baumannii* ve *S. maltophilia* için MİK<sub>90</sub> 2 mg/L belirlenmiştir.

Tigesiklinin *P. aeruginosa*'ya etkinliği ise daha dūşüktür. Bu bakteri için MİK<sub>90</sub> değeri 16 mg/L olarak saptanmıştır. Solunum yolu patojenlerinden *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) ve *Moraxella catarrhalis* (*M. catarrhalis*) için MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0.5 ve 0.12 mg/L olarak belirlenmiştir (Bradford, 2004, Bouchillon ve ark, 2005).

Tigesiklin ayrıca, peptostreptokoklar, Clostridium türleri, Prevotella türleri ve birçok Bacteroides türü dâhil olmak üzere gram pozitif ve negatif anaerob bakterilere karşı da in vitro etkinliğe sahiptir. Bunların dışında *Mycoplasma pneumoniae* (*M. pneumoniae*), *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*)'ye karşı in vitro etkinliği gösterilmiştir. Hızlı üreyen mikobakterilere karşı etkili olduğu bildirilen çalışmalar da bulunmaktadır (Bradford, 2004; Noskin, 2005; Pankey, 2005).

The Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST) çalışması 2004 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) çeşitli yerlerden izole edilmiş 3989 gram negatif ve gram pozitif klinik kökenin incelendiği ve tigesiklinin 13 farklı antibiyotikle in vitro etkinliğinin kıyaslandığı çalışmadır. Çalışmaya göre tigesiklin, Enterobacteriaceae üyelerine karşı imipenem gibi etkili bulunmuştur. Çalışmaya göre tigesiklinin metisilin ve vankomisin duyarlılığına bakılmaksızın *S. aureus* kökenlerine ve enterokoklara, penisilin duyarlılığına bakılmaksızın pnömokoklara etkinliğinin çok iyi olduğu sonucuna varılmıştır (Bouchillon ve ark, 2005).

Tigesiklinin aktivitesi oksijenden etkilendiğinden aerob bakteriler için duyarlılık testlerinin taze (12 saati geçmeyecek şekilde) Mueller-Hinton sıvı besiyerinde, anaerob bakteriler içinse Brucella agarda standart dilüsyon testleri kullanılarak yapılması gerekmektedir. Disk difüzyon testi için 15 mikrogramlık diskleri kullanılmaktadır. Bu testte 19 mm ve üzerindeki zon çapına sahip olan kökenler duyarlı, 14 mm ve altı ise dirençli olarak kabul edilir. Dilüsyon testlerinde ise MİK değeri 2 mg/L ve daha düşük olan kökenler duyarlı, 8 mg/L ve üstündeki değerler dirençli olarak kabul edilir (Bradford, 2004). *A. baumannii* izolatına yönelik olarak yapılan başka bir çalışmada da broth mikrodilüsyon yöntemine göre tigesiklinde MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri 0.5 ve 1 mg/L olarak saptanmış ve broth mikrodilüsyonda tigesiklin inhibisyon çapı  $\geq 13$  mm saptandığında MİK;  $\leq 2$  mg/L ile uyumlu olduğu bildirilmiştir (Tiengrim ve ark, 2006).

## **Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikler**

Tigesiklin; enterokoklar, stafilokoklar, *E. coli* ve *K. pneumoniae*'ye karşı bakteriyostatik etki gösterir. *S. pneumoniae*'ye karşı hem bakteriyostatik hem de bakterisidal etki gösterdiği bildirilmiştir (Nathwani, 2005; Noskin, 2005).

*Invitro* çalışmalarda 3 mg/kg tigesiklin dozundan sonra *S. pneumoniae* için 8.8 saat, *E. coli* için 4.9 saat süren post-antibiyotik etkiye (PAE) sahip olduğu gösterilmiştir. Tigesiklinin yarılanma ömrü 36 saat olup, proteinlere % 68 oranında bağlanır. Hemen tüm vücut sıvılarına iyi dağılım gösterir ve belirgin biçimde vücutta metabolize olmaz. Çok yavaş olarak dışkı ile atılır. Böbrek yetmezliğinde ve ileri dönem hariç, karaciğer yetmezliğinde de doz ayarlaması gerekmez. Yaş ve cinsiyet tigesiklinin farmakokinetik özelliklerini etkilememektedir (Bradford, 2004; Garrison ve ark, 2005; Nathwani, 2005).

Tigesiklin, klasik tetrasiklinlerden farklı olarak sadece intravenöz yoldan uygulanmaktadır. İnfüzyon süresi bir saattir. Günde iki kez uygulanmakla birlikte, uzun yarı ömrü nedeniyle günde tek doz kullanıldığı durumlar da vardır (Garrison ve ark, 2005; Nathwani, 2005).

## **Klinik Kullanımı**

Tigesiklinin iki tane faz II, bir tane faz III çalışması gerçekleştirilmiştir. Biri komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, diğeri ise komplike intraabdominal enfeksiyonları olmak üzere iki faz II çalışması bulunmaktadır. Komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları çalışmasında 25 ve 50 mg'lık iki farklı tigesiklin dozunun klinik ve mikrobiyolojik etkinlikleri, farmakokinetik özellikleri ve tolerabilitesi araştırılmıştır. Bu çalışmada 160 hastanede yatan hastada tigesiklinin her 12 saatte bir 25 mg ve 50 mg (başlangıçta sırasıyla 50 ve 100 mg yükleme dozunu takiben) dozları için randomize edilmiştir. 50 mg doz uygulanan hastalarda tedavi sonu klinik kür ve mikrobiyolojik eradikasyon oranları, 25 mg doz uygulanan hastalara göre daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla klinik kür %85 - %78, mikrobiyolojik eradikasyon %74 - %62). En sık gözlenen yan etkiler ise bulantı ve kusma olarak bulunmuştur (Postier ve ark, 2004; Pankey, 2005).

111 hastaya uygulanan komplike intra abdominal enfeksiyonları çalışmasında 100 mg i.v. yükleme dozunu takiben 50 mg/gün dozda tigesiklin 14 gün boyunca uygulanmıştır. Tedavi sonrası klinik kür ve mikrobiyolojik eradikasyon oranları %75.8 olarak bulunmuştur. En çok görülen yan etkiler bulantı ve kusma olmuştur (Murray ve ark, 2003). Vankomisin ve aztroenam ile karşılaştırıldığı tigesiklinin komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında

faz III çalışmasında klinik etkinlik yönünden vankomisin ve aztroenama eşdeğer olduğu gözlenmiştir (Sacchidanand ve ark, 2005). Komplike intra abdominal enfeksiyonlar ve komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisi için Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi onayını almıştır (Goldstein ve ark, 2005).

### **Yan Etkileri**

Tigesiklin tedavisinde gastrik mukoza irritasyonlarına bağlı olarak en sık karşılaşılan yan etkiler, bulantı, kusma ve ishal olarak görülmektedir. Ayrıca yüksek dozda karaciğer toksisitesi, alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) yükselmesi, lokalize infüzyon reaksiyonu, ateş yükselmesi, karın ağrısı, trombositemi, hipertansiyon, bilirubinemi ve uykusuzluk görülebilen diğer yan etkilerdir (Geer, 2006). Gebelerde kullanımı kontrendikedir. Laktasyonda ve 18 yaş altında kullanımı hakkındaki bilgiler yetersizdir. Amfoterisin-B, klorpromazin metilprednizolon ve vorikonazol ile birlikte kullanılmamalıdır (Ulusoy, 2006).

Tigesiklin'e yönelik Kuzey Amerika, Latin Amerika, Hindistan, Asya, Avrupa, Avustralya bölgelerinde yapılan çok merkezli çalışmalarda, duyarlı zonlarda MİK<sub>90</sub> ≤ 2 µg/ml olarak bulunmuştur (Bradford ve ark, 2005). Gecekteki çalışmalar ile tigesiklin kullanımı konusunda daha detaylı bilgi elde edilebilecektir.

### **2.4. Vankomisin**

Vankomisin ilk olarak *A. orientalis* (ilk olarak *Streptomyces orientalis*, daha sonra da *N. orientalis*) ismiyle anılan bir mikroorganizmanın fermentasyonu ile elde edilmiştir. Vankomisin 1956 yılında izole edilmiş ve klinik kullanıma girmiş olan ilk glikopeptid türü antibiyotiktir. Ancak o dönemlerde elde edilen ve "Misissipi çamuru" olarak adlandırılan vankomisinin saf olarak elde edilememesi fazla yan etki gözlenmesine sebep oluşturmuştur (Levine, 2006). Vankomisinin, Gram pozitif bakterilerde elde edilen başarılı klinik yanıt sonrası Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) 1958 yılında bu ilacın kullanımına onay vermiştir. Ardından vankomisin daha saf olarak elde edilmiş ve güvenilir şekilde kullanıma sunulmuştur. Metisilin'e karşı *S. aureus* suşlarında karşılaşılan direnç sorunu vankomisinin önemini arttırmıştır. 1980'li yılların başından itibaren vankomisin kullanımı giderek artmaya başlamıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1984 yılında 2000 kg/yıl olan tüketim, 1996 yılında 11200 kg/yıl düzeyine erişmiştir (Kirst ve ark, 1998). Uzun yıllar glikopeptid alanında tek başına kullanımda olan vankomisine 1978 yılında teikoplanin eklenmiş, daha az

yan etki, intramüsküler kullanım kolaylığı ve günde tek doz kullanım avantajı gibi nedenlerle tedavi seçenekleri artmıştır. Teikoplanin 1984 yılından itibaren klinik çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır (Bannerman ve ark, 1991). *A. teichomyceticus*'tan elde edilen bu ajan hem yapı hem de antimikrobiyal aktivite açısından vankomisine benzerlik göstermektedir. Olumlu farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri yanısıra, vankomisinle karşılaştırıldığında daha az yan etki nedeniyle kısa sürede vankomisine alternatif bir ajan olarak tıptaki yerini almıştır (Wood, 1996).

Vankomisin etki mekanizması; Gram pozitif bakterilerde hücre duvar yapısını oluşturan peptidlerin terminal D-ala-D-ala dizisine bağlanmak suretiyle transglikolizasyon reaksiyonunu ve peptidoglikan oluşumunu inhibe etmektir (Van Bambeke, 2004). Bakterisidal olmaları, metisiline dirençli stafilokokların neden olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde başarıyla kullanımlarına neden olmuştur. Gram negatif bakterilerin hedef yapılarına lipid tabakalarından geçememeleri nedeniyle etkili olamazlar. Vankomisinin en fazla tercih edilen tedavi nedeni metisiline dirençli *S. aureus* ve *S. epidermidis* infeksiyonları olmuştur. Bu suşlara 1-5 µg/mL MİK düzeylerinde bakterisidal olarak etkisini göstermiş, ciddi enfeksiyonlarda uzun zaman başarılı olmuşlardır (Smith ve ark, 1999). Uzun yıllar kullanımının sonunda bazı stafilokok suşlarının 10-20 µg/mL konsantrasyonlarda inhibe olabildiği gözlenmiştir. Sonraki yıllarda başta *S. epidermidis* olmak üzere diğer stafilokok suşlarında da üretildiği gözlenen ve protez gibi yabancı cisimlere yapışan slime tabakasının ilaç etkinliğini azalttığı, geçişi engelleyerek bakterinin ilaçtan korunmasına ve tedavinin başarılı olamadığı gösterilmiştir. Günümüzde suşların % 15-20'sinde otolizinlerdeki defekte bağlı olarak vankomisinin bakterisidal etkisinde rölatif tolerans gelişimi gösterilmiştir (Sloos ve ark, 1996). Stafilokok suşları içinde MİK değerleri en yüksek olan türler *S. haemolyticus* olup, MİK düzeyleri 8 µg/mL seviyesindedir. İlacın kullanıma girmesinden bu güne kadar *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, B grubu streptokoklar, *C. difficile* ve *C. jeikeium* suşları vankomisine çok düşük MİK düzeyleri ile duyarlılığını devam ettirmektedir. Yıllar içinde vankomisinle ilgili tedavide sorun yaşanan asıl bakteriler enterokok türleridir. *E. faecalis* suşları vankomisinin serumda ulaşılabilen konsantrasyonlarıyla çoğu kez inhibe olur. Ancak bakterisid etkiden söz edebilmek için vankomisin konsantrasyonu serumda 100 µg/mL düzeyin üzerine çıkmalıdır (Perichon ve ark, 1997). Vankomisin streptomisin ya da gentamisin gibi aminoglikozid türü antibiyotiklerle kombine edildiğinde, enterokok suşlarına karşı yaklaşık % 75'lere varan oranda sinerjistik bakterisidal etkinlik elde edilmiştir (Watanakunakorn ve Bakie, 1973). Uygulamanın başarılı sonuç vermesi başlangıçta

enterokok suşlarının neden olduğu infeksiyon tedavilerinde başarı sağlanacağı kanısını uyandırmıştır. Ancak, gentamisin için MİK düzeyleri 500 µg/mL'i aşan enterokok suşlarının saptanması bu kombinasyonların enterokokların bazı suşlarında yeterli olamayacağını göstermiştir (Williamson ve ark, 1989). Enterokokların bu suşları yüksek düzey aminoglikozid dirençleri nedeniyle vankomisin ile tedavi edilmeleri durumunda etkin bir klinik yanıtın elde edilme şansını da azaltmıştır. Sonraki yıllarda *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* suşlarında vankomisin direnci olduğu gözlenmiştir (Word, 1996; KIRST ve ark, 1998).

### **Antibiyotik direnci**

Vankomisin uzun yıllar tedavi alanında kullanılmasına karşın ciddi bir tedavi sorunu yaşanmayan ve direnç problemi ile karşılaşılmayan bir antibiyotiktir. 1980'li yıllarda, vankomisin Gram pozitif duyarlı ve dirençli bakterilerle gelişen infeksiyonlarda başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Ancak başta Fransa ve İngiltere olmak üzere çeşitli Avrupa ülkeleri ve ABD'den bildirilen tedavi başarısızlıkları vankomisin kullanımına şüphe ile bakılmasına neden olmuştur (Sloos ve ark, 1996). Çünkü glikopeptidler gram pozitif bakterilerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanımda olan en güçlü antibiyotiklerdir. Üstelik bu antibiyotiklere direnç özelliği gösteren gram pozitif bakterilerin kullanımda olan diğer tüm antibiyotiklere karşı da dirençli oldukları düşünülmüştür. *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Erysipelothrix* türleri kalıtsal olarak vankomisine direnç potansiyeli taşıyan gram pozitif bakterilerdir. Asıl sorun gram pozitif bakterilerden stafilokok ve enterokok suşlarında yaşanmıştır. Çünkü her iki cinsin neden olduğu infeksiyonların oranı daha fazladır. Enterokok ve stafilokok suşlarının bir kısmında ortaya çıkan kazanılmış direnç bu antibiyotiklerin kullanımında çeşitli sorunlara neden olmuştur (Riedel ve ark, 2008). Vankomisine dirençli gram pozitif bakteri sorunu önce enterokok suşlarında olmuştur. 1988 yılında *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarında direnç gözlendiğini belirtmişlerdir (Uttley ve ark, 1988). Bunu çeşitli Avrupa ülkeleri ve ABD izlemiştir. Vankomisine dirençli enterokok suşlarında yeni bir D-ala-D-ala ligaz enzimi gösterilmiştir. Ligaz enziminin özelliği peptidoglikan yapısının öncül molekülü olan D-ala-D-ala distal ucunun yapısını değiştirmektir. Ligaz enziminin varlığında vankomisinin bu uca bağlanmasını engelleyen konfügurasyon bozukluğu meydana gelir. Enterokok suşlarında vankomisin direnci VanA, VanB, VanC ve VanD olmak üzere dört fenotipte gelişir (Mederski-Samoraj ve Murray 1983; Uttley ve ark, 1988). VanA fenotipi direnç hem vankomisine hem de teikoplanine yüksek düzeyde direnç geliştiren fenotiptir. Vankomisin için MİK düzeyleri 64 µg/mL; teikoplanin

için de 16 µg/mL ve üzerinde bulunmaktadır. Glikopeptid grubu antibiyotiklerin yaygın kullanımını bu bakterilerde VanA fenotipinde direnç indüksiyonu açısından potansiyel bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır (Mederski-Samoraj ve Murray 1983; Vincent ve ark, 1992). Vankomisin oldukça başarılı olmasına karşılık, glikopeptid dışı çeşitli antibiyotiklerin yaygın kullanımını sonucunda VanA tipi direnç gelişimi ortaya çıkmıştır. Özellikle polimiksin B, basitrasin gibi antibiyotikler ve hayvanların yemlerine konulan avoparsin hayvanların çeşitli infeksiyonlarında tedavi alanında kullanımının artması da direnç gelişimini hızlandırmıştır. Tn1546 transpozonu üzerinde yer alan VanA gen grubunun plazmidler aracılığı ile bakteri türleri arasında kolayca yayılabilme potansiyeli enterokok suşlarında glikopeptid direncinin artışında önemli katkısı olmuştur (Smith ve ark, 1999). VanB fenotipi direnç potansiyeli taşıyan suşlar vankomisine duyarlı, buna karşın teikoplanine dirençlidir. Bunlarda vankomisin MİK düzeyleri 4-1024 µg/mL arasında değişmektedir. VanC fenotipi direnç içsel bir vankomisin direncidir. MİK aralığı 4-32 µg/mL arasında değişir. Teikoplanin VanC fenotipi direnç geliştiren suşlara etkilidir. *Enterococcus casseliflavus* ve *E.gallinorum* suşlarında tanımlanmıştır. VanD fenotipi direnç hem vankomisin, hem de teikoplanin direnç potansiyeli taşır. *E.faecium* suşlarında tanımlanmış olup vankomisin için MİK değerleri 64 µg/mL, teikoplanin için de 4 µg/mL düzeyindedir (Mederski-Samoraj ve Murray 1983; Uttley ve ark, 1988). 1990'lı yılların ortalarına doğru VanA fenotipi direncin laboratuvar koşullarında *S. aureus* suşları da dahil çeşitli gram pozitif koklara aktarılabildiği gösterilmiştir. Vankomisin Aracılı *S. aureus* (VISA) kaynaklı infeksiyon ilk olarak 1995 yılında Fransa'da santral kateter kaynaklı bakteremisi bulunan iki yaşında bir lösemi hastasında görülmüş, tedavi antibakteriyel bir ajandan ziyade başarılı bir cerrahi drenaj ile gerçekleştirilmiştir (DiazGranados ve ark, 2005). 1996'da Japonya'da benzer suşların tanımlanması ve 1997'de ABD'den ve diğer ülkelerden bildirilen olguların izlemesi ile direncin giderek yayılma potansiyeli olduğu gözlenmiştir. Bu durum vankomisine duyulan güvenin yerini endişeye bırakmaya başlamıştır (Deresinski, 2007). ABD'de bulunan hastaların ortak özellikleri diyaliz, santral venöz kateter kaynaklı MRSA bakteremileri, protez kullanımında uzun süreli vankomisin kullanımı (6-18 hafta) olmuştur. Dirençli suşların temas ile kazanılma yolunu araştıran çalışmada VISA kaynağı olabilecek herhangi bir odak saptanamamıştır. Bu dönemde VISA infeksiyonu saptanan olguların % 100'ü altı ay içinde kaybedilmiştir. Bununla birlikte ölümlerin hiçbiri direkt *S. aureus* infeksiyonu ile ilişkili bulunmamıştır.

Glikopeptid aracılı *S. aureus* (GISA) suşlarında saptanan direncin, duyarlılık azalmasına neden olan aktarılabılır direnç genlerden kaynaklanmadığı saptanmıştır. VISA gelişim

mekanizması vankomisin bağlanan dipeptid yapılı (D-ala-D-ala) hücre duvar kalınlığının artışı ve hücrelerarası hedef molekülüne ilaç geçişinin engellenmesi olarak belirlenmiş ve o zamanlar hücre duvar yapısındaki değişime neden olan genetik faktörler tam olarak anlaşılammıştır (DiazGranados ve ark, 2005).

Vankomisine duyarlılığı azalmış olan endokarditli bir hastada MRSA izolatının tamamına ait genom yapısı sekanslanmış ve VraR (response regülatör protein) operonunda çeşitli lokalizasyonlarda mutasyonun geliştiği belirlenmiştir. Grup II polimorfizmi gösteren bazı VISA suşlarında “accessory gene regulator” (agr) isimli bir bölge bulunmuştur. Üstelik bu genlerin bazı MRSA suşlarında da yer aldığı saptanmıştır. VISA suşlarının bu potansiyele sahip olan MRSA suşlarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüş, pulse-field gel elektroforez analizlerinde MRSA ve sonrasında gelişen VISA suşlarının genetik benzerliği bu teoriyi desteklemiştir. Bu gelişim, potansiyeli VISA dönüşümü sergileyebilecek MRSA suşlarının erken dönemde belirlenmesi ile sonradan ortaya çıkabilecek bir tedavi başarısızlığını ve epidemiyolojik yayılım sorununu engelleyebileceği düşünülmüştür (Van Bambeke ve ark, 2004). O günlerde vankomisin ile ilgili ortaya çıkan bir başka kavram da heterorezistan suşlardır. Vankomisin için MİK değeri 4 µg/mL olan suşlar nadir görülmektedir. Tüm suşlar içinde bu suşları saptama oranı tam olarak bilinmemekle birlikte ABD ve Avrupa’da yapılan çeşitli çalışmalarda MİK değeri 4 µg/mL olan suşların %0.3’den daha az oranda rastlandığı belirtilmiştir. ABD Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezleri (CDC) tarafından gerçekleştirilen 630 klinik izolatın hiçbirinde VISA saptanmamış ancak iki suş heterorezistan olarak tanımlanmıştır (Baran ve ark, 2002). Heterorezistan VISA (hVISA) suşları *S.aureus* suşları içinde vankomisine farklı duyarlılık paterni sergileyen suşları tanımlamaktaydı. Vankomisin duyarlılığı farklılık gösteren bu tür *S. aureus* subpopulasyonları normal infeksiyon tedavilerinde potansiyel bir tehlike oluşturmaktaydı. Fenotipik ve genotipik benzerliğe karşın subpopulasyondaki bu suşlar diğerlerinden farklı olarak vankomisine yüksek MİK değerlerine sahiptir (Bonten ve ark, 1998).

Populasyondaki diğer suşlar vankomisine duyarlı olmasına karşın, subpopulasyondaki bu suşlar intermediate direnç göstermiştir. VISA suşlarına benzer şekilde, hVISA suşları da alışılmışın dışında kalınlaşmış hücre duvar yapıları ile vankomisine direnç geliştirmekte, bu özellikleri ile VISA suşlarına benzerlik göstermekteydi. Heteroresistan suşun prototipi olan *S. aureus* Mu3 suşu stafilokok kaynaklı pnömonisi olan bir Japon hastadan izole edilmiştir (Bonten ve ark, 1998).

Günümüzde heterorezistan suşların izolasyon oranı toplumlara göre değişkenlik göstermektedir. Bu oranlar genellikle % 0.5-1.5 arasında olup, Japon hastalarda % 20'lere kadar yükselmektedir (Uttley ve ark, 1989). Heterorezistan suşların vankomisin açısından sonraki karşılaşmalarda nasıl bir direnç paterni geliştirebileceği ve diğer bakteri popülasyonunu nasıl etkileyebileceği tam olarak anlaşılamamıştır. Glikopeptid kullanımı açısından bu durumlar yetersiz klinik yanıtı gösterir. Vankomisin heterorezistan suşların neden olduğu infeksiyonlarda yetersiz kaldığını gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Heterorezistan *S. aureus* suşları belki de vankomisin tedavi sonucunu etkileyebilecek potansiyel bir rol üstlenmiştir. Bu nedenle heterorezistan suşların erken dönemde tanınması ve buna yönelik önlemler alınması epidemiyolojik anlamda önemli bir yaklaşım sayılmaktadır. Ancak heterorezistan *S. aureus* suşlarını belirleyen pratik ve kabul edilebilir laboratuvar tanı yöntemlerinin bugün halen bulunmamış olması, bu suşların potansiyel risklerini halen yok edememiştir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### Kullanılan Cihazlar

ADÜ Bilimsel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunan aşağıdaki cihazlar kullanılmıştır;

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	Agilent 1100 serisi, Germany
Agilent 1100 Serisi pompa	Waldron, Germany
C18 kolon	Luna, 150 mm x 4.6 mm, 3µm, Phenomenex, Cheshire, UK
Çeker Ocak	
Vorteks	Yellow Line TTS2, İka, USA
Hassas terazi	SBC31, Scaltec, USA
pHmetre	pH330i, WTW, Germany
Mikrosantrifüj	Mikro 20, Hettich, Germany
Soğutmalı Santrifuj	Rotina 38R, Hettich, Germany
Spektrofotometre	Multiskan 1500, Thermo Labsystems, USA
Transsonic	T310, Elma, Germany
Ultrasaf Su Cihazı	Simplicity, Millipore, USA
Karbondioksitli (CO <sub>2</sub> ) İnkübatör	371, Thermo Elektron Corporation, USA
Karbondioksit Tüpü 25lt	
Biyolojik Güvenlik Kabini	HS12, HERAUS, Germany

Mikroskop (Binoküler)	CX31RBSF, Olympus, Japan
Mikroskop (invert)	CK40-F200, Olympus, Japan
Sıvı Azot Jeneratörü	M280X2, Kelvin, USA
Sıvı Azot Tankı	NU-7105, Nuair, USA

### **Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Vankomisin standardı	AppliChem, Germany
Tigesiklin standardı	AppliChem, Germany
LCH-8 besiyeri	Lonza-USA
DMEM besiyeri	Biological Industries Israel
Potasyum di-hidrojen fosfat (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	Merck Germany
Sodyum di-hidrojen fosfat (Na <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	Merck Germany
1-Oktansülfonik asit	Sigma-Aldrich, USA
Asetonitril	Sigma-Aldrich, USA
Trifluoroasetik asit (TFA)	Sigma-Aldrich, USA
Ultra saf su	
PBS (Phosphate buffer salin)	Biological Industries, Israel
Sıvı Azot	

### **Çalışmada Kullanılan Hücreler**

Araştırmamızda normal insan bronşiyal epitelyum hücresi (BEAS) ve KF bronşiyal epitelyum hücresi (IB3-1) kullanıldı. BEAS hücresi ve IB3-1 hücresi ATCC'den (USA) temin edilmiştir. IB3-1 hücresi ticari LCH-8 (Lonza-USA) besiyerinde kültür edilirken, BEAS hücresi %90 DMEM (Biological Industries Israel) besiyerinin %10 Fetal Bovine serum (FBS) ile zenginleştirilmiş formunda 75 cm<sup>2</sup> flasklar içinde 37 °C de %5 CO<sub>2</sub> içeren ortamda büyütüldü.

### **3.1. Antibiyotiklerin Hücreye Uygulama Yöntemi**

Çalışmada Metisiline dirençli stafilokoklarda etkin olduğu bilinen vankomisin ve tigesiklin CLSI (Wayne PA, 2008) ve EUCAST (Web\_4, 2016) tarafından bildirilen MİK değerleri olan sırasıyla 4 µg/ml ve 15 µg/ml dozları referans olarak alınarak doz ve zaman çalışmaları belirlendi.

#### **3.1.1. Tigesiklin ve Vankomisin Doz – Yanıt Çalışması**

Tigesiklin – Vankomisin, 0-3-10-30-100-300 µg/ml dozlarında çalışılmıştır. Her dozun 10 katı miktarında 1ml stok antibiyotik solüsyonu hazırlandı. Flasktaki yüzeyin %70-80 oranında yüzeyi kaplamış hücreler 3 kez PBS ile yıkanmıştır. Flasklara 4,5'er ml besiyeri eklenmiştir. Besiyeri içeren flasklara 0,5'er ml (doza karşılık gelen dilüsyonun 10 katı) antibiyotik eklendi. 16 saat 37 °C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde inkübasyon edildi. İnkübasyon sonunda, hücre patlatma işlemi için her hücre 3 kez PBS ile yıkandı. Üzerine 2 ml PBS eklendi. Scarpe ile hücreler yüzeyden kazındı. Yüzeyden kalkmış hücreler otomatik pipet ile 15ml'lik falkona aktarıldı. 1900 rpm'de 10 dk 4 °C'de santrifuj edildi. Santrifuj sonrası süpernatant atıldı ve pellet 200 µl PBS eklenerek süspansedildi. Süspansedilmiş hücre 1,5 ml'lik poliüretan tüplerde -196 °C'de tutularak donana kadar bekletildi. Donmuş hücre hızla çözündürülüp 10 dk ultrasonik banyoda sonike edildi. Bu işlem hücreler patlayana kadar tekrarlandı (Mikroskop altında incelenerek tamamen parçalandığından emin olundu). 10000 rpm'de 4°C'de 5 dk santrifüjlendi ve süpernatant yeni 1,5 ml'lik poliüretan tüpe aktarılarak HPLC çalışması için -20 °C kaldırıldı.

#### **3.1.2. Tigesiklin ve Vankomisin Zaman – Yanıt Çalışması**

Tigesiklin ve vankomisin, doz–yanıt çalışmasında elde edilen optimal doz kullanılarak 0–1–2–4–8–16–24. saatlerde flasktaki yüzeyin %70-80 oranında kaplamış hücreler 3 kez PBS ile yıkanarak flasklara 5'er ml antibiyotik eklendi. Belirlenen zamanlardaki inkübasyonların (37 °C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde) sonunda hücre patlatma işlemi için her hücre 3 kez PBS ile yıkandı. Üzerine 2 ml PBS eklendi. Scarpe ile hücreler yüzeyden kazındı. Yüzeyden kalkmış hücreler otomatik pipet ile 15 ml'lik falkona aktarıldı. 1900 rpm'de 10 dk 4 °C'de santrifuj edildi. Santrifuj sonrası süpernatant atıldı ve pellet 200 µl PBS eklenerek süspansedildi. Süspansedilmiş hücre 1,5 ml'lik poliüretan tüplerde -196 °C'de tutularak donana kadar bekletildi. Donmuş hücre hızla çözündürülüp 10 dk ultrasonik banyoda sonike edildi. Bu işlem hücreler patlayana kadar tekrarlandı (Mikroskop altında incelenerek

tamamen parçalandığından emin olundu). 10000 rpm'de 4°C' de 5 dk santrifüjlendi ve süpernatant yeni 1,5 ml'lik poliüretan tüpe aktarılarak HPLC çalışması için -20 °C kaldırıldı.

### **3.1.3. Protein Tayini**

BSA standardı (2 mg/ml) PBS (Phosphate Buffer Salin) ile dilüe ederek 2000-1500-1000-750-500-250-125-62,5 lik standartlar hazırlandı. Hazırlanan standartlardan 25 µl kuyucuklara koyuldu. Diğer kuyucuklara 25 µl numunelerden eklendi. Üzerlerine 200 µl kitde (Thermo Fisher Scientific, Pierce™ BCA Protein Assay Kit) bulunan A ve B solüsyonundan eklendi (A/B oranı 50/1). Hazırladığımız plak 37 °C lik inkübatöre koyup yarım saat bekletildi. Spektrometrede 562 nm dalga boyunda okutuldu (Smith ve ark, 1985; Stabile ve ark, 2002).

## **3.2. Analitik Yöntem**

### **3.2.1. İlaç Analizleri**

#### **3.2.1.1. Standart Hazırlama**

Vankomisin (AppliChem, Germany) ve tigesiklin (AppliChem, Germany) standardı kullanılarak stok standart solüsyonları (100 µg/ml) hazırlandı. Bunlar son yoğunlukları 1, 5, 10, 25, 50, 100 µg/ml olacak şekilde PBS:ACN (1:1) karşımı ile sulandırılarak ve standart eğri oluşturularak doğrulukları teyid edildi.

#### **3.2.1.2. Hücre Süspansiyonu Ekstraksiyonu**

Hücre süspansiyondaki proteinleri çöktürmek için; 150 µl hücre süspansiyonundan 1,5 ml poliüretan tüpe kondu ve üzerine 150 µl asetonitril eklendi. Vorteks yapılarak iyice karışması sağlandı. 13000 rpm hızda 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant viale aktarıldı (Kitzman ve ark, 2002).

## **3.3. HPLC Şartları**

### **3.3.1. Tigesiklin**

Tigesiklin hareketli faz olarak asetonitril (CH<sub>3</sub>CN):fosfat solüsyonu (3 gr potasyum di-hidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) + 3 gr, sodyum di-hidrojen fosfat (Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) tartılıp 1 litre ultrasaf suda çözüldü 0,6gr ), 1-oktansülfonik asit eklenir PH 3'e trifluoroasetik asit (TFA) ile ayarlandı) 20:80 oranında Agilent 1100 Serisi pompa aracılığı ile mobil faz akış hızı dakikada 1,3 ml olacak şekilde pompalandı ve her bir analiz 7 dakikada tamamlandı. Moleküllerin analizi için kolon olarak C18 kolon (Luna, 150 mm x 4.6 mm, 3µm, Phenomenex, Cheshire,

UK) kullanıldı. Analiz sırasında kolon ısı 40°C'ye ayarlandı. Analizler dalga boyu 244 nm'ye ayarlanmış fotodiyarray (DAD) detektör (Agilent 1100 Seri, FLD Waldron, Almanya) ile yapıldı. Analiz için hem standart hem de örneklerden cihaza 50 µl enjekte edildi (Li ve ark, 2004).

### **3.3.2. Vankomisin**

Vankomisin hareketli faz olarak asetonitril (CH<sub>3</sub>CN):tampon solüsyonu (%15 trifluoroasetik asit (TFA) içeren ultra saf su) 5:95 oranında Agilent 1100 Serisi pompa aracılığı ile mobil faz akış hızı dakikada 1 ml olacak şekilde pompalandı ve her bir analiz 12 dakikada tamamlandı. Moleküllerin analizi için kolon olarak C18 kolon (Luna, 150 mm x 4.6 mm, 3µm, Phenomenex, Cheshire, UK) kullanıldı. Analiz sırasında kolon ısı 40°C'ye ayarlandı. Analizler dalga boyu 240 nm'ye ayarlanmış fotodiyarray (DAD) detektör (Agilent 1100 Seri, FLD Waldron, Almanya) ile yapıldı. Analiz için hem standart hem de örneklerden cihaza 25 µl enjekte edildi (Baranowska ve ark, 2004).

### **3.3.3. Özgünlük (Specificity)**

Tayin edilecek maddelerin analiz sonuçları ortamda bulunan başka maddelerden etkilenmemelidir. Özgünlük, kullanılan metodun örneklerde bulunan bileşiklerden herhangi biri ile etkileşim olmadan aranan maddelerin tayin edilebilmesidir. Vankomisin ve tigesiklin eklenmeyen sadece hücre üzerine sadece besiyeri konulmuş sıfır doz kullanılarak kromatogramda vankomisin ve tigesiklin alıkonma zamanlarında piklerin girişim yapıp yapmadığı incelendi.

### **3.3.4. Doğrusallık (Linearity)**

Bir analitik prosedürün doğrusallığı (belirli sınırlar içerisinde) ölçülen sinyalin konsantrasyonu ile ne derece doğru orantılı olduğu ile belirlenir. Vankomisin için standartlar, stok solüsyonların 2, 5, 25, 50 µg/mL'lik dilüsyonları şeklinde günlük olarak hazırlandı. Tigesiklin için standartlar, stok solüsyonların 1, 5, 10, 25, 50, 100 µg/mL'lik dilüsyonları şeklinde günlük olarak hazırlandı. Standartların pik alanları tayin edildi. Konsantrasyonlar ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen pik alan değerleri kullanılarak kalibrasyon eğrileri çizildi ve korelasyon katsayıları hesaplandı.

### **3.3.5. Duyarlılık (Sensitivity)**

Bir analitik yöntemin saptayabildiği en küçük konsantrasyon değeri olup tespit limiti [limit of detection (LOD)] ve hesaplanabilir limit [limit of quantification (LOQ)] olarak ifade

edilir. LOD, analit sinyalinin geri plan gürültüden ayrılabilmesi için gereken en az analit miktarıdır. LOQ, analitin güvenilir bir şekilde doğru ölçümünün yapılabilmesi için gerekli en düşük miktardır. Tespit limiti olarak kromatogramın temel çizgisi üzerinde maddelerin oluşturdukları sinyallerin geri plan gürültüye oranının (S/G) 3 olduğu konsantrasyon, hesaplanabilir limit olarak ise sinyal/gürültü oranının 6 olduğu konsantrasyon düzeyi baz alındı. Vankomisin ve tigesiklin için hazırlanan standartlar, boş hücre örnekleri ile yüklendi. Kromatogram üzerinde S/G oranı 3 olan konsantrasyon LOD, S/G oranı 6 olan konsantrasyon LOQ olarak tespit edildi.

### **3.4. İstatiksel Yöntemler**

Farklı hücrelerdeki doz ve zaman farkları graphpad Prizm programı 5.03 ver da t-test yöntemi ile değerlendirildi.

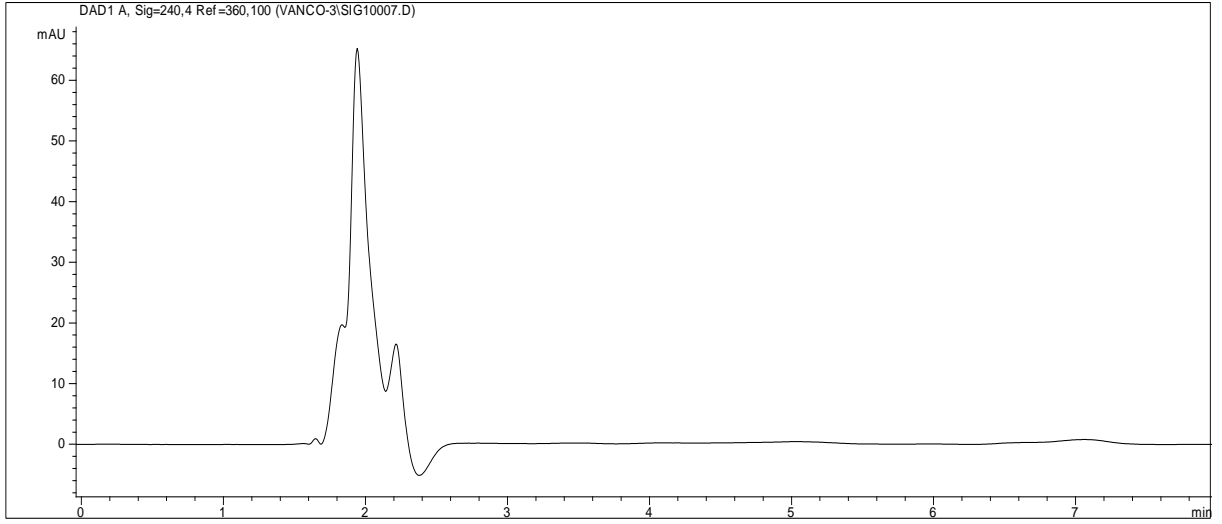


## 4. BULGULAR

### 4.1. Tigesiklin ve Vankomisin'in Doz ve Zaman Yanıt Bulguları

#### Özgünlük

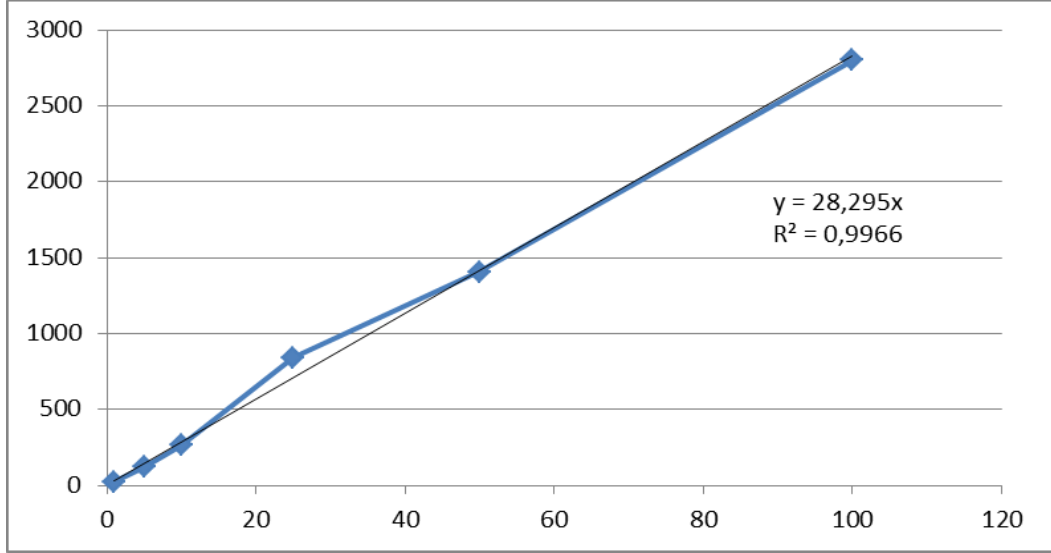
Vankomisin ve tigesiklin eklenmeyen sadece hücre üzerine sadece besiyeri konulmuş sıfır doz kullanılarak kromatogramda pikler gözlenmedi (Şekil 3).



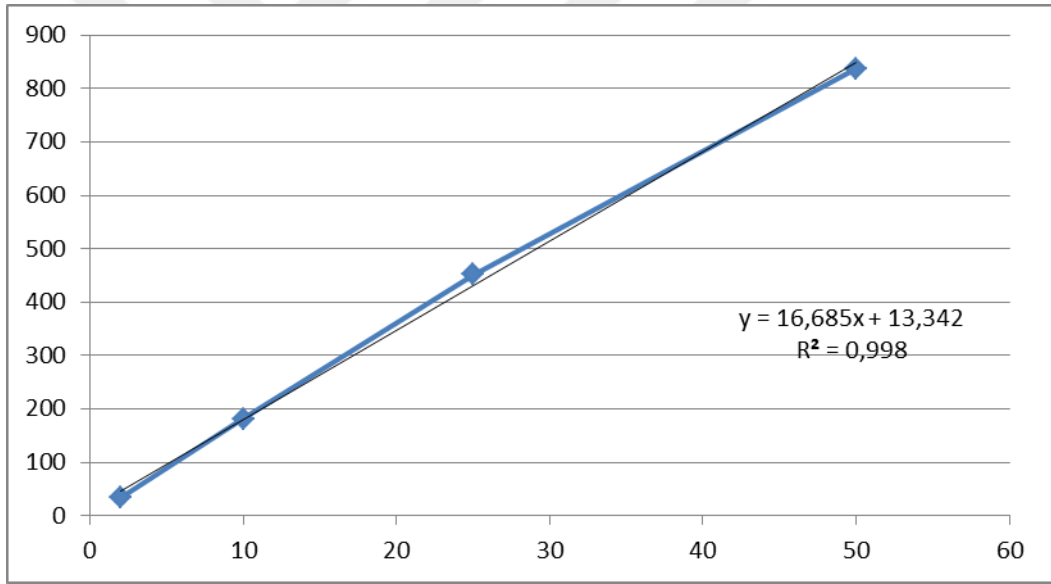
Şekil 3. Kontrole (hücre üzerine sadece besiyeri konulmuş sıfır doz) ait HPLC kromatogramı.

#### Doğrusallık

Tigesiklin 1, 5, 10, 25, 50, 100 µg/ml konsantrasyonlarına karşılık gelen pik alan değerleri kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisi ve hesaplanan korelasyon katsayısı Şekil 4 'te, vankomisin 2, 10, 25, 50 µg/ml konsantrasyonlarına karşılık gelen pik alan değerleri kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisi ve hesaplanan korelasyon katsayısı Şekil 5 'de gösterildi.



Şekil 4. Tigesiklin kalibrasyon eğrisi ve hesaplanan korelasyon katsayısı.



Şekil 5. Vankomisin kalibrasyon eğrisi ve hesaplanan korelasyon katsayısı.

### Duyarlılık

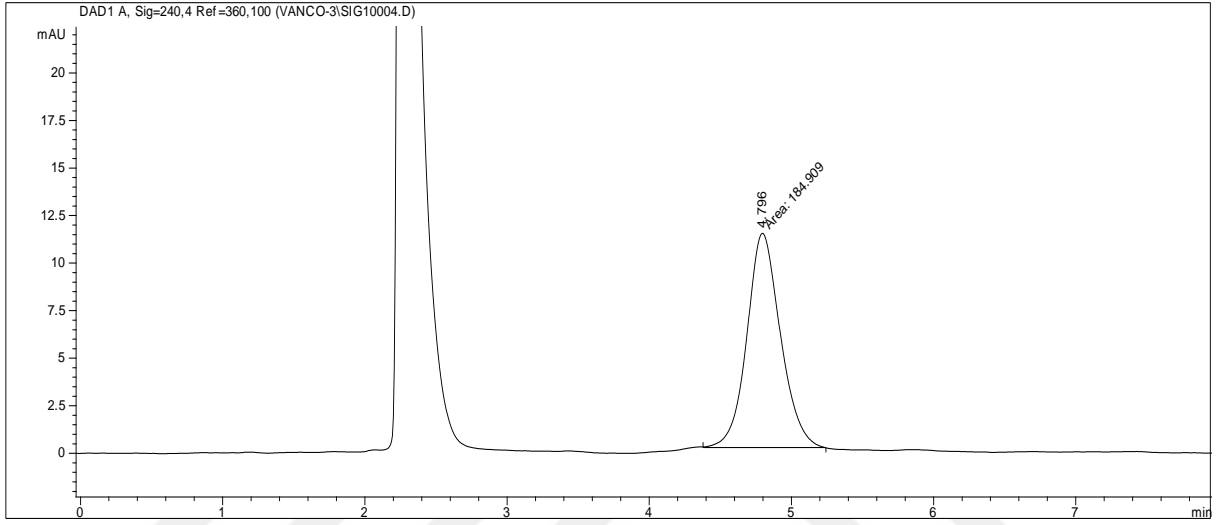
**LOD:** S/G oranı 3'den büyük olan en düşük konsantrasyon tigesiklin 5 µg/ml için 0,55 µg/ml olarak tespit edildi.

**LOD:** S/G oranı 3'den büyük olan en düşük konsantrasyon vankomisin 10 µg/ml için 2,22 µg/ml olarak tespit edildi.

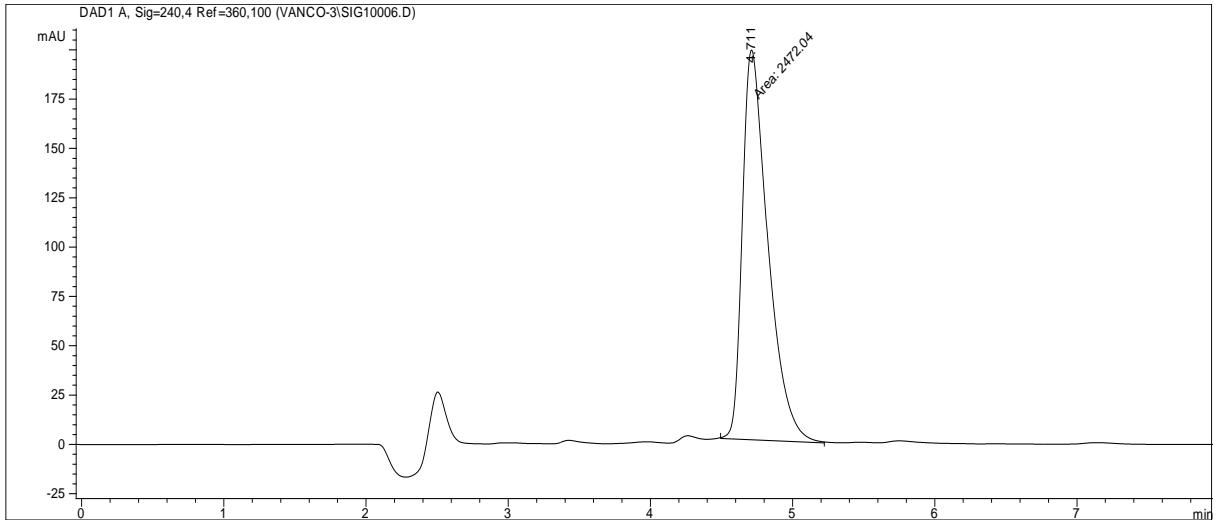
**LOQ:** S/G oranı 6'dan büyük olan en düşük konsantrasyon tigesiklin 5 µg/ml için 1,10 µg/ml olarak tespit edildi.

**LOQ:** S/G oranı 6'dan büyük olan en düşük konsantrasyon tigesiklin 10 µg/ml için 4,44 µg/ml olarak tespit edildi.

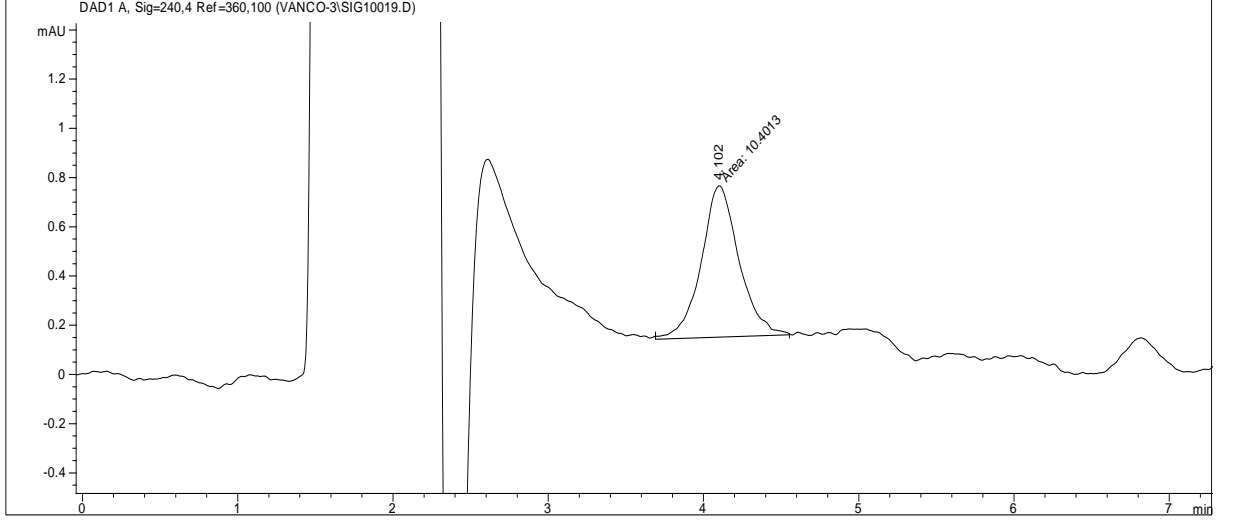
Bölüm 3,3'de anlatıldığı şekilde yapılan çalışma sonucunda elde edilen kontrole (hücre üzerine sadece besiyeri konulmuş sıfır doz) , tigesiklin ve vankomisin standart dozlarına ve IB3-1 hücrelerine uygulanmış tigesiklin ve vankomisin dozlarına ait kromatogramlarda elde edilen değerler şekil 6 - 11' da belirtildi.



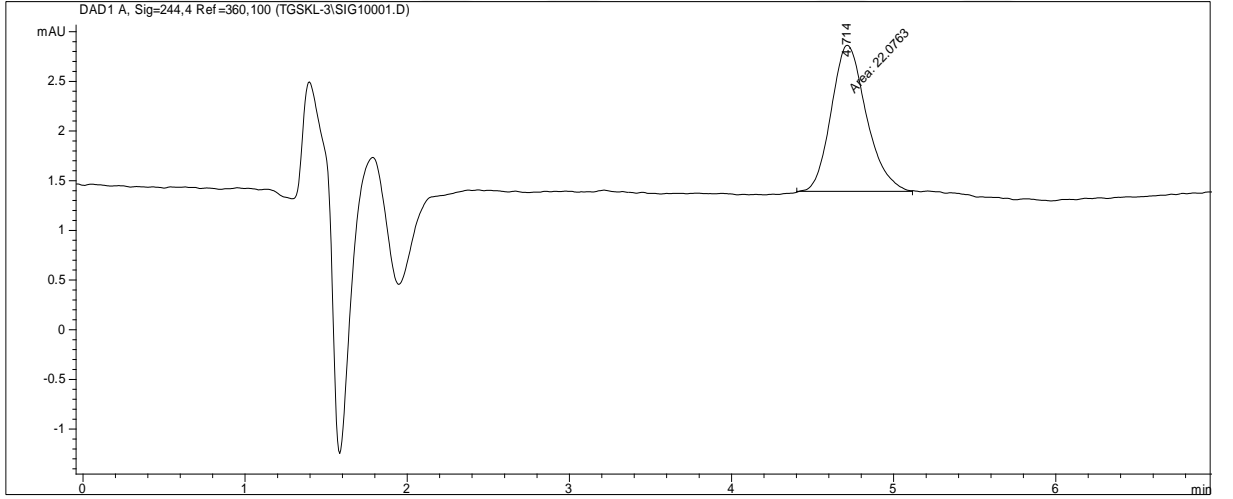
**Şekil 6.** 10 µg/ml vankomisin standardına ait HPLC kromatogramı.



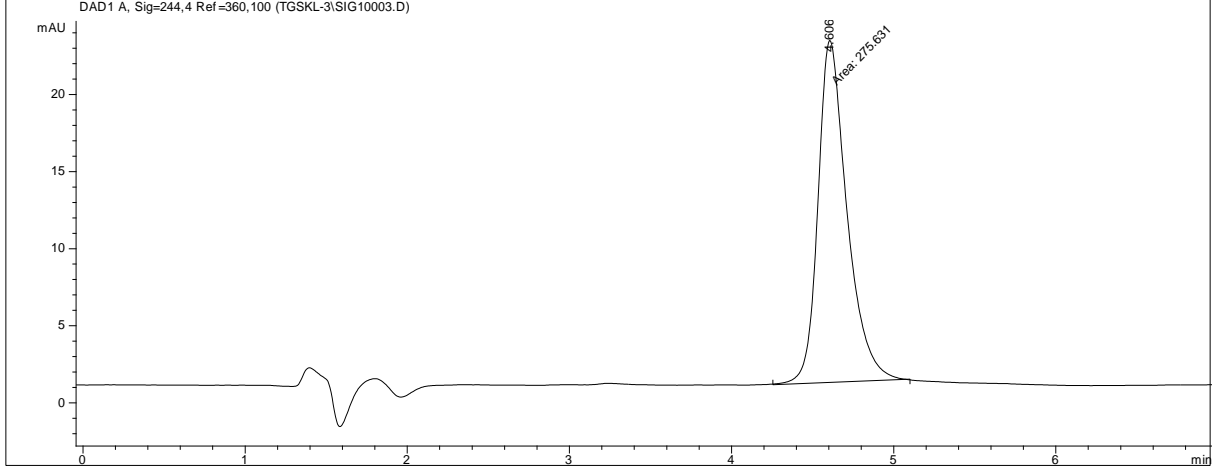
**Şekil 7.** 100 µg/ml vankomisin standardına ait HPLC kromatogramı.



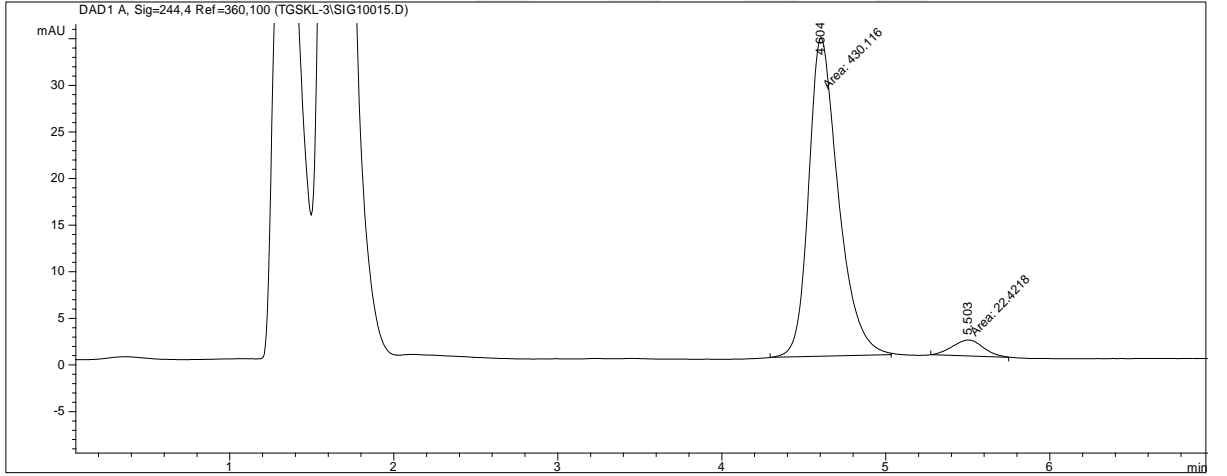
**Şekil 8.** 300 µg/ml vankomisin dozu uygulanmış 16 saat inkübe edilmiş IB3-1 hücresine ait HPLC kromatogramı.



**Şekil 9.** Tigesiklin 1 µg/ml standardına ait HPLC kromatogramı.



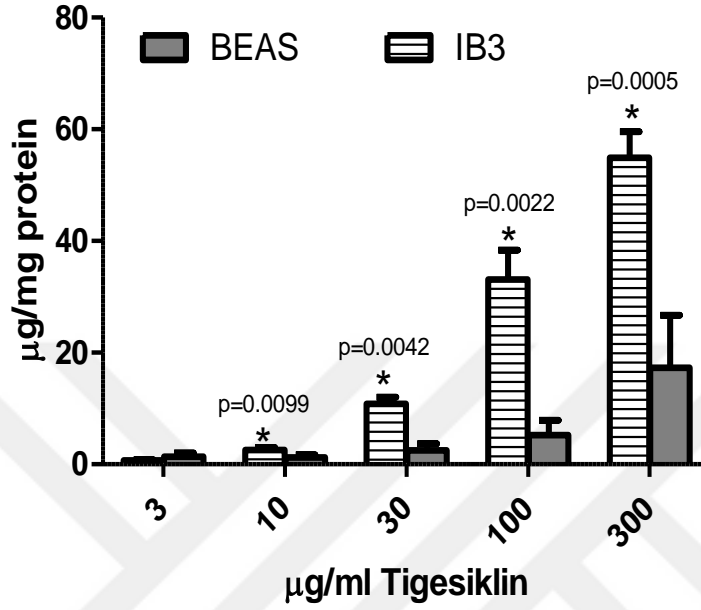
**Şekil 10.** 10 µg/ml tigesiklin standardına ait HPLC kromatogramı.



**Şekil 11.** 30 µg/ml tigesiklin dozu uygulanmış 16 saat inkübe edilmiş IB3-1 hücresine ait HPLC kromatogram.

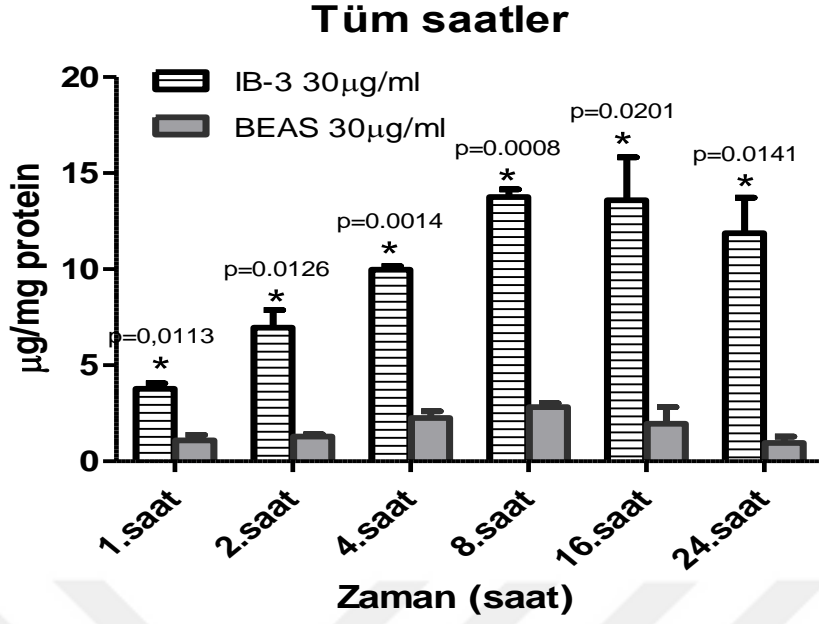
Tigesiklin tüm dozlar için yapılan istatistik (t-test, Graphpad programı ile) sonucunda 10, 30, 100 ve 300 µg/ml dozlarında IB3-1 hücresine giriş normal hücre ile karşılaştırıldığında anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Antibiyotiklerin hücre içine giriş oranları çalışmada kullanılan hücrelerin protein miktarları ile HPLC’de elde edilen konsantrasyon değerleri ile 1 mg protein başına düşen miktar şeklinde orantılanarak hesaplandı. KF hücreleri için 3 µg/ml için %22.43, 10 µg/ml için %25.79, 30 µg/ml için %36.20, 100 µg/ml için %33.09 ve 300 µg/ml için %18.30 iken, normal bronş epitelyum hücreleri için 3 µg/ml için % 24.62, 10 µg/ml için %8.28, 30 µg/ml için %4.57, 100 µg/ml için %2.65 ve 300 µg/ml için %2.71 bulunmuştur. Hücre içine giren miktar verilen miktarlar ile

karşılaştırıldığında 30 µg/ml MİK değerlerine yakın ve hüce içine optimal girişin olduğu doz belirlenmiştir (Şekil 12).



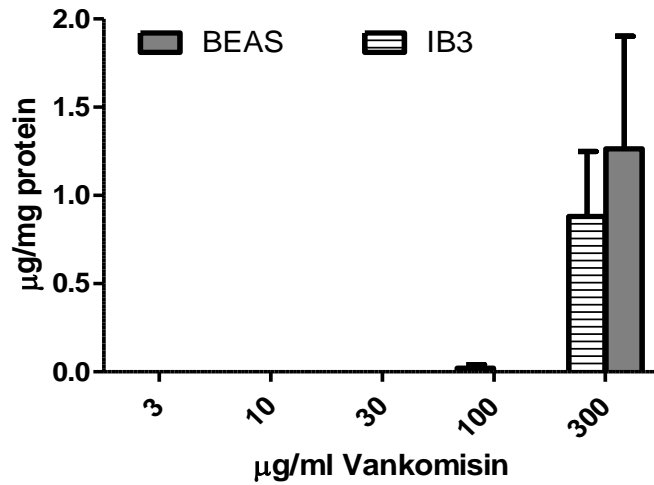
Şekil 12. IB3-1 ile BEAS hücrelerinin tigesiklin farklı dozları için giriş oranları.

IB3-1 ve BEAS hücresi için 30 µg/ml Tigesiklin doz zaman çalışması sonucu yapılan istatistik (t-test, Graphpad programı ile) sonucunda 1, 2, 4, 8, 16, 24 saat IB3-1 hücresine giriş anlamlı yüksek bulunmuştur. Tigesiklin 30 µg/ml dozunun zamana göre hücre içine giriş oranları KF hücreleri için 1. saat için %12.57, 2. saat için %23.20, 4. saat için %33.23, 8. saat için %45.85, 16. saat için %45.29 ve 24. saat için %39.60 iken, normal bronş epitelyum hücreleri için 1. saat için %3.64, 2. saat için %4.33, 4. saat için %7.51, 8. saat için %9.43, 16. saat için %6.55 ve 24. saat için %4.30 bulunmuştur. IB3-1 hücresine en iyi giriş oranı 8. saat olarak tespit edilmiştir (Şekil 13).



**Şekil 13.** IB3-1 ve BEAS hücresi için 30 µg/ml tigesiklinin farklı zamanlarda giriş oranı.

Vankomisin ile yapılan doz çalışmalarında, hücre içine girebilen miktar standartlarda (CLSI ve EUCAST) belirtilen miktarların çok üstünde ve hücre içine giren miktarın çok düşük oranda (IB3-1 ve BEAS hücreleri içerisine girişin sadece 300 µg/ml olduğu ve IB3-1 için %0,88, BEAS için %1,26) olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgularla vankomisin KF ve normal bronş hücresine girişinin yok denecek kadar az olduğu tespit edilmiş olup zaman yanıt çalışması yapılmamıştır (Şekil 14).



**Şekil 14.** IB3-1 ile BEAS hücrelerinin vankomisin için farklı dozları için giriş oranları.

## 5. TARTIŞMA

Sonuç olarak çalışmamızda tigesiklinin tüm dozlar ile yapılan deneyler sonucunda 10, 30, 100 ve 300 µg/ml dozlarında KF hücrelerine giriş normal hücre ile karşılaştırıldığında anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Antibiyotiklerin hücre içine giriş oranları KF hücreleri için 3 µg/ml için %22.43, 10 µg/ml için %25.79, 30 µg/ml için %36.20, 100 µg/ml için %33.09 ve 300 µg/ml için %18.30 iken, normal bronş epitelyum hücreleri için 3 µg/ml için %24.62, 10 µg/ml için %8.28, 30 µg/ml için %4.57, 100 µg/ml için %2.65 ve 300 µg/ml için %2.71 bulunmuştur. Hücre içine giren miktar verilen miktarlar ile karşılaştırıldığında 30 µg/ml MİK değerlerine yakın ve hücre içine optimal girişin olduğu doz belirlenmiştir.

IB3-1 ve BEAS hücresi için 30 µg/ml Tigesiklin doz zaman çalışması sonucunda 1 saat, 2 saat, 4 saat, 8 saat, 16 saat, 24 saat IB3-1 hücrelerine giriş anlamlı bulunmuştur. Tigesiklin 30 µg/ml dozunun zamana göre hücre içine giriş oranları KF hücreleri için 1.saat için %12.57, 2.saat için %23.20, 4.saat için %33.23, 8.saat için %45.85, 16.saat için %45.29 ve 24.saat için %39.60 iken, normal bronş epitelyum hücreleri için 1.saat için %3.64, 2.saat için %4.33, 4.saat için %7.51, 8.saat için %9.43, 16.saat için %6.55 ve 24.saat için %4.30 bulunmuştur. IB3-1 hücrelerine en iyi giriş oranı 8 saat olarak tespit edilmiştir.

Vankomisin ile yapılan doz çalışmalarında, hücre içine girebilen miktar standartlarda (CLSI ve EUCAST) belirtilen MİK değerlerinin çok üstünde ve hücre içine giren miktarın çok düşük oranda (IB3-1 ve BEAS hücreleri içerisinde girişin sadece 300 µg/ml için IB3-1 için %0,88, BEAS için %1,26) olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgularla vankomisin KF ve normal bronş hücrelerine girişinin yok denecek kadar az olduğu tespit edilmiş olup zaman yanıt çalışması yapılmamıştır.

Tedavide antibiyotik kullanımında mikroorganizmalar üzerine etkinliği dışındaki önemli bir konu da antibiyotiğin doku içindeki konsantrasyonudur. Doku konsantrasyonunun yüksek olması o dokuda gelişen enfeksiyonlar sırasında mikroorganizmanın antibiyotik MİK değerlerinde uzun süreli maruz kalması sonucu tedavinin başarısında önemli bir faktördür. Tigesiklinin ve vankomisinin akciğer dokusundaki birikme miktarlarına bakıldığında tigesiklin'in (36 saat) vankomisinden (4-6 saat) daha yüksek ve yarılanma ömrünün de daha uzun olduğunu göstermektedir (Rodvold ve ark 2006; Estes ve Derendorf 2010). KF'li hastalarda tedavilerin yetersiz olması ve tekrar alevlenmelerin sık olması nedeniyle sıklıkla

kullanılan antibiyotiklerin farmakokinetikleri yoğun olarak çalışılmıştır (de Groot R ve Smith 1987). Yapılan çalışmalar sonucunda birçok antibiyotiğin KF'li hastalarda dokuda etkin MİK değerlerine ulaşması için sağlıklı insanlara kullanılan dozlardan daha yüksek kullanılması gerektiği düşüncesi ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. KF'li hastalarda siprofloksasin, trimetoprim-sulfometaksazol, seftazidim ve aminoglikozitlerin farmakokinetikleri değişkenlik gösterirken imipenemin ve vankomisininin farmakokinetiğinde herhangi bir değişikliğin olmadığı bildirilmiştir (de Groot R ve Smith, 1987; Pleasants ve ark, 1996). Bu çelişkili gibi gözüksede KF epitelinde değişen yüzey yapı ile antibiyotiğin kimyasal yapısı arasındaki ilişkinin önemli rol oynayabileceğini de düşünmek gerekmektedir.

Tetrasiklinlerin çoğunun aksine tigesiklin zayıf şekilde absorblanır ve parenteral olarak verilmelidir. Tigesiklinin KF olmayan popülasyondaki dozlama ve farmakokinetik özellikleri aşağıdakişekilde özetlenebilir. 100 mg yükleme dozunu takiben her 12 saat boyunca 50 mg olarak verilmektedir. Serum pik konsantrasyonu 0,87 mg/L, yarılanma ömrü 42,7 saattir. AUC'si 4,7 µg.h/L'dir ve dağılım hacmi 500-700 L/kg'dır. İlaç minimal bir bozunma ile ana olarak hepatobiliar yolla elimine edilir (Conte ve ark, 2005; Meagher ve ark, 2005; Parkins ve Elborn 2010).

Tigesiklin henüz KF'li popülasyonda çalışılmamıştır. Göreceli olarak düşük serum konsantrasyonunun aksine tigesiklinin yüksek dağılım hacmi bu ajanın dokulara yüksek penetrasyonunu yansıtmaktadır. Onun organlara yönelik yapısı, plazmaya oranla akciğerde %300-400 daha yüksek konsantrasyon altı alanı değerlerine neden olur (Meagher ve ark, 2005). Bronkoskopik aracılı olarak yapılan farmakokinetik çalışmaları, tigesiklinin 6. saat epitelyal kaplama sıvısı konsantrasyonunun 0.37+0.36 mg/L ve alveolar hücre konsantrasyonunun 10.7+7.1 mg/L olduğunu göstermiştir (Conte ve ark, 2005; Parkins ve Elborn 2010).

KF hastalarında oluşan akciğer enfeksiyonlarında etkenin biyofilm üretme özelliğinin yüksek olduğu ve bu nedenle antibiyotik direncinin katlanarak artmasının tedavide en önemli başarısızlık nedeni olarak değerlendirilmektedir (Costerton ve ark, 1999; Kirov ve ark, 2007). Son yıllarda yapılan çalışmalarda biyofilm enfeksiyonlarında biyofilm eradikasyonu ve biyofilm altındaki mikroorganizmaların öldürülmesinde tigesiklinin vankomisine oranla önemli bir başarısının olduğunu gösterilmiştir (Öztürk ve ark, 2016). Tigesiklinin, KF'li hastalarda tanımladığımız bu etkinlikle birlikte biyofilm eradike edici etkinlik, tigesiklini dual etkinliğe sahip ve KF'li hastalarda seçilmesi gereken bir antibiyotik konumuna taşımaktadır.

Çalışmamız sonucunda, tigesiklinin KF ve normal akciğer epitel hücrelerine penetrasyonu vankomisine oranla daha yüksek bulunmuştur. KF hastalarında *S. aureus* ve benzeri gram pozitif bakterilerin akciğer epitel hücrelerine adezyonu ve kolonizasyonunu önlemek için tigesiklinin kullanımı vankomisine oranla daha başarılı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca vankomisine karşı birçok direnç mekanizmasının bakteriler tarafından geliştirilmesi de tigesiklinin tercih edilme nedenleri arasındadır. Çalışmamız, KF hastalarının hayat kalitesini düşüren ve ölüme sebep olabilen enfeksiyonların tedavisinde tigesiklinin etkin ve başarılı olabileceğini düşündürmektedir. Böylece ileride bu konuda, ilaç endüstrisine katkıda bulunabilecek yeni çalışmaların hayvan deneyleri ile desteklenmesine ve böylece daha etkili ve hastanın yaşam kalitesini arttıracak yeni ilaç kombinasyonlarının geliştirilmesini sağlayabileceği düşünülmektedir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmaların bulguları ışığında;

Tigesiklinin KF akciğer hücresine girişi normal akciğer hücresine oranla daha yüksek bulunmuştur.

Yapılan çalışmada 30 µg/ml MİK değerlerine yakın ve hücre içine optimal girişin olduğu doz belirlenmiştir.

Bu optimal giriş dozu için KF akciğer hücresi ve normal akciğer hücresinde tigesiklin doz zaman çalışmasında 1, 2, 4, 8, 16 ve 24 saatlerde KF akciğer hücresine tigesiklinin girişi anlamlı bulunmuştur.

KF akciğer hücresine en iyi giriş yüzdesi 8.saatte bulunmuştur.

Vankomisinin KF ve normal bronş hücresine girişinin yok denecek kadar az olduğu tesbit edilmiştir. Bunun için vankomisin doz yanıt çalışması yapılmamıştır.

Bu nedenle, tigesiklinin KF ve normal akciğer epitel hücrelerine penetrasyonu vankomisine oranla daha yüksek bulunmuştur. KF hastalarında *S. aureus* ve benzeri bakterilerin akciğer epitel hücrelerine adezyonu ve kolonizasyonunu önlemek için tigesiklinin kullanımı vankomisine oranla daha başarılı olduğu düşünülmektedir. Çalışmamız, KF hastalarının hayat kalitesini düşüren ve ölüme sebep olabilen enfeksiyonların tedavisinde tigesiklinin etkin ve başarılı olabileceğini düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

**Abeliovich D, Lavon IP, Lerer I, Cohen T, Springer C, Avital A, and Cutting G R.** Screening for five mutations detects 97% of cystic fibrosis (CF) chromosomes and predicts a carrier frequency of 1:29 in the Jewish Ashkenazi population. *American Journal of Human Genetics* 1992, 51, 951-956.

**Accurso J, Sontag M.** Gene modifiers in cystic fibrosis. *Journal of Clinical Investigation* 2008, 118, 839-841.

**Akabas MH, Kaufmann C, Cook TA, Archdeacon P.** Amino Acid Residues Lining the Chloride Channel of the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator. *Journal of Biological Chemistry* 1994, 269, 14865-14868.

**Atkinson RM, LiPuma JJ, Rosenbluth DB, Dunne WM.** Chronic Colonization with *Pandora* apista in CysticFibrosis Patients Determined by Repetitive Element-Sequence PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 2006, 44 (3), 833-836.

**Bakare N, Rickerts V, Bargon J.** Prevalence of *Aspergillus fumigatus* and other fungal species in the sputum of adult patients with cystic fibrosis. *Mycoses* 2003, 13(1-2), 19-23.

**Bannerman T, Wadiak DL, Kloos WE.** Susceptibility of *Staphylococcus* species and subspecies to teicoplanin. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 1991; 35(9):1919-22.

**Baran J Jr, Ramanathan J, Riederer KM, Khatib R.** Stool colonization with vancomycin resistant enterococci in healthcare workers and their households. *Infection Control Hospital Epidemiology* 2002, 23(1), 23-26.

**Baranowska I, Markowski P, Baranowski J.** Simultaneous determination of 11 drugs belonging to four different groups in human urine samples by reversed-phase high-performance liquid chromatography method, *Analytica Chimica Acta* 2006, Volume 570, Issue 1, Pages 46–58.

**Bobadilla JL, Macek M, Fine JP, Farrell PM.** Cystic Fibrosis: A Worldwide Analysis of CFTR Mutations. Correlation With Incidence Data and Application to Screening. *Human Mutation* 2002, 19, 575-606.

**Bonten MJ, Slaughter S, Ambergen AW, Hayden MK, van Voorhis J, Nathan C, Weinstein RA.** The role of “colonization pressure” in the spread of vancomycin-resistant

enterococci: an important infection control variable. *Archives of Internal Medicine* 1998, 158(10), 1127-1132.

**Bouchillon SK, Hoban DJ, Johnson BM, Johnson JL, Hsiung A, Dowzicky MJ, Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST) Group.** In vitro activity of tigecycline against 3989 Gram-negative and Surveillance Trial (TEST Program;2004), *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2005, 52(3), 173-179.

**Boyce JM, Pittet D:** Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *Infection Control Hospital Epidemiology* 2002, (12 Supl), 3-40.

**Bradford PA, Weaver-Sands T, Petersen PJ.** In vitro activity of tigecycline against isolates from patients enrolled in phase 3 clinical trials of treatment for complicated skin and skin-structure infections and complicated intra-abdominal infections. *Clinical Infectious Diseases* 2005, 41, 315-332.

**Bradford PA.** Tigecycline: A first in class tygecycline (abstract). *Clinical Microbiology Newsletter* 2004, 26(21),163-168.

**Bralow L.** Diseases of the airways. In: Fraser RG, Peter Pare JA, Pare PD, Fraser RS, Genereux GP. (eds) *Diagnosis of Diseases of the Chest*. 3rd edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1990, 1208-1219.

**Carmichael SL, Harris WT, Goel R, Noah TL, Johnson R, Leigh MW, Davis SD.** Association of Lower Airway Inflammation With Physiologic Findings in Young Children with Cystic Fibrosis. *Pediatric Pulmonology* 2009, 44, 503-511.

**Clinical and Laboratory Standards Institute:** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Sixteenth Informational Supplement, M100-S16, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically: Approved Standard. Vol 26. No 3, CLSI, Wayne, Pennsylvania, 2006.

**Cohen TS, Prince A.** Cystic fibrosis: a mucosal immunodeficiency syndrome. *Nature Medicine* 2012, 18, 509–519.

**Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman LM, Jowell PS.** Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *New England Journal of Medicine* 1998, 339, 653-658.

- Collacoa JM, Cutting GR.** Update on gene modifiers in cystic fibrosis. *Current Opinion Pulmonary Medicine* 2008, 14, 559-566.
- Colten RH.** Cystic Fibrosis. In: Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG (eds) *Harrison's Principles of Internal Medicine 2*. McGraw-Hill Book Company, Hamburg, 1987, 1085-87.
- Conte JE Jr, Golden JA, Kelly MG, Zurlinden E.** Steady-state serum and intrapulmonary pharmacokinetics and pharmacodynamics of tigecycline, *International Journal of Antimicrobial Agents* 2005, 25, 523-529.
- Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM.** Microbial biofilms. *Annual Review of Microbiology* 1995, 49, 711-745.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP.** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999 284(5418), 1318-1322.
- Davis PB.** Cystic Fibrosis Since 1938. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine* 2006, 173, 475-482.
- de Groot R, Smith AL.** Antibiotic pharmacokinetics in cystic fibrosis. Differences and clinical significance. *Clinical Pharmacokinetics* 1987, 13, 228-253.
- Deresinski S.** Counterpoint: Vancomycin and Staphylococcus aureus an antibiotic enters obsolescence, *Clinical Infectious Diseases* 2007, 44(12), 1543-1548.
- Deresinski S.** Vancomycin in combination with other antibiotics for the treatment of serious methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections, *Clinical Infectious Diseases* 2009, 49(7), 1072-1079.
- DiazGranados CA, Zimmer SM, Klein M, Jernigan JA.** Comparison of mortality associated with vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococcal bloodstream infections: a meta-analysis *Clinical Infectious Diseases* 2005, 41(3), 327-333.
- Donlan RM.** Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases Journal* 2002, 8, 881-890.
- Duckro AN, Blom DW, Lyle EA, Weinstein RA, Hayden MK.** Transfer of vancomycin resistant enterococci via health care worker hands, *Archives Internal Medicine* 2005, 165(3), 302-307.

**Eaton TE, Weiner Millar P, Garrett JE, Cutting GR.** Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations: Do they play a role in the etiology of allergic bronchopulmonary aspergillosis? *Clinical Experimental Allergy* 2002, 32, 756-761.

**Edmond MB, Ober JF, Weinbaum DL, Pfaller MA, Hwang T, Sanford MD, Wenzel RP.** Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia: risk factors for infection. *Clinical Infectious Diseases* 1995, 20(5),1126-1133.

**Ersöz DD.** Türk Toraks Derneği Kistik Fibrozis tanı ve tedavi rehberi. *Türk Toraks dergisi* 2011, 12, 1-140.

**Erturan Z.** Kistik fibrozlu hastaların solunum yolu örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İstanbul 2005.

**Erturan Z.** Kistik fibroziste infeksiyona yol açan etkenler ve patogenez, 31. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (19-23 Eylül 2004 Kuşadası) Kongre Kitabında, S.152-153.

**Estes KS, Derendorf H.** Comparison of the pharmacokinetic properties of vancomycin, linezolid, tigecyclin, and daptomycin. *European Journal Medical Research* 2010, 15, 533-43.

**Fanen P, Hasnain A.** Cystic Fibrosis and CFTR gene. In: Jean-Loup Huret (ed) The Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology ATLAS - ISSN 1768-3262, 2002, 67-75.

**Farinha CM, Amaral MD.** Most F508del-CFTR is targeted to degradation at an early folding checkpoint and independently of calnexin. *Molecular and Cellular Biology* 2005,25, 5242-5252.

**Flemming HC, Wingender J.** The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology* 2010, 8, 623-633.

**Friedman L, Kolter R.** Genes involved in matrix formation in *Pseudomonas aeruginosa* PA14 biofilms. *Molecular Microbiology* 2004, 51, 675-690.

**Garrison MW, Neumiller JJ, Seter SM.** Tigecycline: An investigational glycycline antimicrobial with activity against resistant gram-positive organisms. *Clinical Therapeutics* 2005, 27(1), 12-22.

**Geer ND.** Tigecycline (Tygacil): the first in the glycycline class of antibiotics. Proceedings (Baylor University. Medical Center) 2006, 19, 155-61.

- Gilligan PH.** Cumitech 43, Cystic fibrosis Microbiology. ASM Press. Washington, DC 2006.
- Goldstein EJC, Citron DM, Merriam CV, Warren YA, Tyrrell KL, Fernandez HT.** Comparative in vitro susceptibilities of 396 unusual anaerobic strains to tigecycline and eight other antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2006, 50, 3507-3513.
- Govan JR, Deretic V.** Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. *Microbiology Reviews* 1996, 60 (3), 539-574.
- Göçmen A.** Kistik Fibrozisin Dünyadaki ve Türkiye'deki durumu. *Katkı Pediatri Dergisi* 2002, 23, 117-121.
- Guggino WB.** Cystic fibrosis salt/fluid controversy: in the thick of it. *Nature Medicine* 2001, 7, 888-889.
- Gürson CT, Sertel H, Gürkan M, Pala S.** Newborn Screening for Cystic Fibrosis with the Chloride Electrode and Neutron Activation Analysis. *Helvetica Paediatrica Acta* 1973, 28, 165-174.
- Güzel ÇB, Gerçeker A.** Kistik fibrozun moleküler biyolojisi ve patogenezi. *Turkish Journal of Infection* 2006, 20, 73-78.
- Haardt M, Benharouga M, Lechardeur D, Kartner N, Lukacs G.** C-terminal truncations destabilize the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator without impairing its biogenesis: a novel class of mutation. *Journal of Biological Chemistry* 1999, 274, 21873-21877.
- Haase G, Skopnik, H, Groten, T, Kusenbach G.** Long-term fungal cultures from sputum of patients with cystic fibrosis. *Mycoses* 1991, 34 (9-10), 373-376.
- Heijerman H.** Infection and inflammation in cystic fibrosis: A short review. *Journal of Cystic Fibrosis* 2005, 4, 3-5.
- Hillon M, Teresacasals BS, Mercier B.** Mutations in Cystic Fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *New England Journal of Medicine* 1995, 332, 1475-1480.
- Høiby N, Ciofu O, Bjarnsholt T.** *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in cystic fibrosis. *Future microbiology* 2010, 5, 1663-1674.
- Hodson M, Geddes D, Bush A.** Cystic fibrosis. 3rd edition. CRC press, London, 2007, 3-21.

- Hota B, Blom DW, Lyle EA, Weinstein RA, Hayden MK.** Interventional evaluation of environmental contamination by vancomycin-resistant enterococci: failure of personnel, product, or procedure? *Journal of Hospital Infection* 2009, 71(2), 123-131.
- Hubeau C, Puchelle E, Gaillard D.** Distinct pattern of immune cell population in the lung of human fetuses with cystic fibrosis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2001, 108, 524-529.
- Hurt K, Simmonds NJ.** Cystic Fibrosis: Management of Haemoptysis. *Paediatric Respiratory* 2012, 13, 200-205.
- Jang HC, Kim SH, Kim KH, Kim CJ, Lee S, Song KH, Jeon JH, Park WB, Kim HB, Park SW, Kim NJ, Kim EC, Oh MD, Choe KW.** Salvage treatment for persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: efficacy of linezolid with or without carbapenem, *Clinical Infectious Diseases* 2009, 49(3), 395-401.
- Jayaraman S, Joo NS, Reitz B, Wine JJ, Werkman AS.** Submucosal gland secretions in airways from cystic fibrosis patients have normal  $[Na^+]$  and pH but elevated viscosity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001, 98, 8119-8123.
- Kirov SM, Webb JS, O'May CY, Reid DW, Woo JKK, Rice SA, Kjelleberg S.** Biofilm differentiation and dispersal in mucoid *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Microbiology* 2007, 153(Pt 10), 3264-3274.
- Kirst HA, Thompson DG, Nicas TI.** Historical yearly usage of vancomycin. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 1998, 42(5), 1303-1304.
- Kitzman D, Cheng KJ, Fleckenstein L.** HPLC assay for albendazole and metabolites in human plasma for clinical pharmacokinetic studies, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2002 Oct, 15;30(3):801-13.
- Knowles MR, Status MJ, Spock A, Fischer N, Gatzky JT, Boucher RC.** Abnormal ion permeation through cystic fibrosis respiratory epithelium. *Science* 1983, 221, 1067-70.
- Kosova B, Eroğlu Z, Yılmaz B, Gündüz C, Özel R, Sayın E, Çoğulu Ö, Özkınay F, Özkınay C, Topçuoğlu N.** F508, I507 ve F508C kistik fibroz mutasyonlarının gerçek-zamanlı multiplex PCR ile hızlı analizleri. *Ege Journal of Medicine* 2008, 47, 103-109.

- Kristidis P, Bozon D, Corey M, Markiewicz D, Rommens J, Tsui LC, Durie P.** Genetic determination of exocrine pancreatic function in cystic fibrosis. *American Journal of Human Genetics* 1992, 50, 1178-1184.
- Leir SH, Parry S, Palmai-Pallag T, Evans J, Morris HR, Dell A, Harris A.** Mucin Glycosylation and Sulphation in Airway Epithelial Cells Is Not Influenced by Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Expression. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 2005 32 (5), 453-461.
- Levine DP.** Vancomycin: a history. *Clinical Infectious Diseases* 2006, 42(Suppl 1), 5-12.
- Lewis K.** Riddle of biofilm resistance. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2001, 4, 999-1007.
- Li C, Sutherland CA, Nightingale CH, Nicolau DP.** Quantitation of tigecycline, a novel glycycline, by liquid chromatography, *Journal of Chromatography B* 25 November 2004, Volume 811, Issue 2, Pages 225–229.
- LiPuma J.J.** The changing Microbial Epidemiology in Cystic Fibrosis. *Clinical Microbiology Reviews* 2010, 23 (2), 299-323.
- Lommatzsch ST, Aris R.** Genetics of Cystic Fibrosis. *Seminars in Respiratory and critical care medicine* 2009, 30, 531-538.
- Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB.** Lung Infections Associated with Cystic Fibrosis. *Clinical Microbiology Reviews* 2002, 2, 194-222.
- Madden BP, Kariyawasam H, Siddiqi AJ, Machin A, Pryor JA, Hodson ME.** Noninvasive ventilation in cystic fibrosis patients with acute or chronic respiratory failure. *European Respiratory Journal* 2002, 19, 310-313.
- Matsui H, Grubb BR, Tarran R, Randell SH, Gatzky JT, Davis CW, Boucher RC.** Evidence for periciliary liquid layer depletion, not abnormal ion composition, in the pathogenesis of cystic fibrosis airways disease. *Cell* 1998, 95, 1005-1015.
- Matsui H, Randell SH, Peretti SW, Davis CW, Boucher RC.** Coordinated clearance of periciliary liquid and mucus from airway surfaces. *Journal of Clinical Investigation* 1998, 102, 1125-1131.
- Mayer-Hamblett N, Ramsey BW, Kulasekara HD, Wolter DJ, Houston LS, Pope CE, Kulasekara BR, Armbruster CR, Burns JL, Retsch-Bogart G, Rosenfeld M, Gibson RL,**

- Miller SI, Khan U, Hoffman LR.** Pseudomonas aeruginosa Phenotypes Associated With Eradication Failure in Children With Cystic Fibrosis. *Clinical Infectious Diseases* 2014, 59, 624-31.
- McNicholas CM, Guggino WB, Schwiebert EM, Hebert SC, Giebisch G, Egan ME.** Sensitivity of a renal K<sup>+</sup> channel (ROMK2) to the inhibitory sulfonylurea compound glibenclamide is enhanced by coexpression with the ATP-binding cassette transporter cystic fibrosis transmembrane regulator. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1996, 93, 8083-8088.
- Mederski-Samoraj BD, Murray BE.** High level resistance to enterococci in clinical isolates of enterococci, *Journal Infectious Diseases* 1983, 147(4), 751-757.
- Meagher AK, Ambrose PG, Grasela TH, Ellis-Grosse EJ.** Pharmacokinetic/pharmacodynamic profile for tigecycline a new glycycline antimicrobial agent, *Diagnostic Microbiology & Infectious Disease* 2005, 52, 165–71
- Miller MB, Gilligan PH. J** Laboratory aspects of management of chronic pulmonary infections in patients with cystic fibrosis. *Clinical Microbiology Reviews* 2003, 41, 4009-4015.
- Moskowitz SM, Chmiel JF, Sternen DL, Cheng E, Gibson RL, Marshall SG, Cutting GR.** Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and CFTR-related disorders. *Genetic Medicine* 2008, 10, 851-868.
- Moskowitz SM, Gibson RL, Effmann EL.** Cystic fibrosis lung disease: genetic influences, microbial interactions and radiological assessment. *Pediatric Radiology* 2005, 35, 739-757.
- Murray J, Wilson S, Klein S.** The clinical response to tigecycline in the treatment of complicated intra-abdominal infections in hospitalized patients, a phase 2 clinical trial. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2003, 1, 416-425.
- Nannini EC, Pai SR, Singh KV, Murray BE.** Activity of Tigecycline (GAR-936), a Novel Glycycline against Enterococci in the Mouse peritonitis Model. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2003, 47(2), 529-532.
- Nathwani D.** Tigecycline: clinical evidence and formulary positioning. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2005, 25(3), 185-192.
- Nissim-Rafinia M, Aviram M, Randell SH, Shushi L, Ozeri E, Chiba-Falek O, Eidelman O, Pollard HB, Yankaskas JR, Kerem B.** Restoration of the cystic fibrosis transmembrane

conductance regulator function by splicing modulation. *European Molecular Biology Organization Reports* 2004, 5, 1071-1077.

**Nissim-Rafinia MKB, Kerem B.** Splicing regulation as a potential genetic modifier. *Trends in Genetics* 2002, 18, 123-127.

**Noskin GA.** Tigecycline: A new glycycline for treatment of serous infections. *Clinical Infectious Disease* 2005, 41(3), 303-314.

**Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Boerkoel CF.** Thompson & Thompson Tıbbi Genetik, 6th Edition. Güneş press, 2005.

**Ozturk B, Gunay N, Ertugrul BM, Sakarya S.** Effects of vancomycin, daptomycin, and tigecycline on coagulase-negative staphylococcus biofilm and bacterial viability within biofilm: an in vitro biofilm model. *Canadian Journal of Microbiology* 2016 Sep, 62(9), 735-743.

**Özçelik U.** Kistik fibrozis akciğer hastalığında patogenezi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2004, 47, 299-302.

**Pankey GA.** Tigecycline. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005, 56(3), 470-480.

**Parkins MD, Elborn JS.** Newer antibacterial agents and their potential role in cystic fibrosis pulmonary exacerbation management. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2010, 65, 1853-186.

**Parkins MD, Rendall JC, Elborn JS.** Incidence and risk factors for pulmonary exacerbation treatment failures in patients with cystic fibrosis chronically infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Chest* 2012, 141(2), 485-493.

**Patti JM, Allen BL, McGavin MJ, Höök M.** MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annual Review of Microbiology* 1994, 48, 585-617.

**Perichon B, Reynolds P, Courvalin P.** VanD-type glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* BMJ4339. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 1997, 41(9), 2016-2018.

**Pleasant RA, Michalets EL, Williams DM, Samuelson WM, Rehm JR, Knowles MR.** Pharmacokinetics of vancomycin in adult cystic fibrosis patients. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 1996, 40, 186-190.

**Porwancher R, Sheth A, Remphrey S, Taylo E, Hinkle C, Zervos M.** Epidemiological study of hospital-acquired infection with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*:

possible transmission by an electronic ear-probe thermometer. *Infection Control Hospital Epidemiology* 1997, 18(11), 771-773.

**Postier RG, Green SL, Klein SR, Ellis-Grosse EJ, Loh E.** Tigecycline 200 study Group: Results of a multicenter, randomized, open-label efficacy and safety study of two doses of tigecycline for complicated skin and skin-structure infections in hospitalized patients. *Clinical Therapeutics* 2004, 26(5), 704-714.

**Puchelle E, de Bentzmann S, Zahm JM.** Physical and functional properties of airway secretions in cystic fibrosis--therapeutic approaches. *Respiration* 1995, 62 Suppl 1,2-12.

**Quinton PM.** Physiological Basis of Cystic Fibrosis: A Historical Perspective. *Physiological Reviews* 1999, 79, 3-22.

**Quinton PM.** Chloride impermeability in cystic fibrosis. *Nature* 1983, 301,421-422.

**Randak C, Welsh MJ.** An intrinsic adenylate kinase activity regulates gating of the ABC transporter CFTR. *Cell* 2003, 115, 837-850.

**Ray AJ, Hoyen CK, Taub TF, Eckstein EC, Donskey CJ.** Nosocomial transmission of vancomycin-resistant enterococci from surfaces, *Journal of American Medical Association* 2002, 287(11), 1400-1401.

**Riedel DJ, Weekes E, Forrest GN.** Addition of rifampin to standard therapy for treatment of native valve infective endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2008, 52(7), 2463-2467.

**Riordan Jr. Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, Zielenski J, Lok S, Plavsic N, Chou JL et al.** Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989, 245, 1066.

**Rodvold KA, Gotfried MH, Cwik M, Korth-Bradley JM, Dukart G, Ellis-Grosse EJ.** Serum, tissue and body fluid concentrations of tigecycline after a single 100 mg dose. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2006, 58, 1221-1229.

**Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ.** Mechanisms of disease: Cystic Fibrosis. *New England Journal of Medicine* 2005, 352, 1992-2001.

**Sachidanand S, Penn LR, Embil MJ, Campos EM, Curcio D, Grosse-Ellis E.** Efficacy and safety of tigecycline monotherapy compared with vancomycin plus aztreonam in patients

with complicated skin and skin structure infections: Results from a phase 3, randomized, double blind trial. *International Journal of Infectious Diseases* 2005, 9(5), 251-61.

**Saiman L, Hiatt PW.** Pediatric Infectious Diseases. Fifth edition. Saunders. 2004.

**Sakoulas G, Moise-Broder PA, Schentag J, Forrest A, Moellering RC, Eliopoulos GM.** Relationship of MIC and bactericidal activity to efficacy of vancomycin for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Journal of Clinical Microbiology* 2004, 42(6), 2398-402.

**Sanders DB, Bittner RC, Rosenfeld M, Hoffman LR, Redding GJ, Goss CH.** Failure to recover to baseline pulmonary function after cystic fibrosis pulmonary exacerbation. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2010, 182(5), 627-632.

**Schwarz M, Gardner A, Jenkins L, Norbury G, Renwick P, Robinson D.** Testing Guidelines for molecular diagnosis of Cystic Fibrosis. Guidelines ratified by the UK Clinical Molecular Genetics Society. 13 th July 2009, 1-17.

**Schwarzer C, Fischer H, Kim EJ, Barber KJ, Mills AD, Kurth MJ, Gruenert DC, Suh JH, Machen TE, Illek B.** Oxidative stress caused by pyocyanin impairs CFTR Cl<sup>-</sup> transport in human bronchial epithelial cells. *Free Radical Biology Medicine* 2008, 45, 1653-1662.

**Schwiebert EM, Benos DJ, Egan ME, Stutts MJ, Guggino WB.** CFTR is a conductance regulator as well as a chloride channel. *Physiological Reviews* 1999, 79, 145-166.

**Serohijos AW, Hegedus T, Aleksandrov AA, He L, Cui L, Dokholyan NV, Riordan JR.** Phenylalanine-508 mediates a cytoplasmic-membrane domain contact in the CFTR 3D structure crucial to assembly and channel function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2008, 105, 3256-3261.

**Shea KW, Cunha BA.** Teicoplanin, *Medical Clinics of North America* 1995, 79(4), 833-44.

**Sloos JH, van de Klundert JAM, van Boven CPA.** Changing susceptibilities for glycopeptides in coagulase negative staphylococci, European Congress of Chemotherapy, Abstract Book, Scotland, 1996, 163.

**Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC.** Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry* 1985 Oct, 150(1), 76-85.

**Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR Cruz C, Lancaster MV, Robinson-Dunn B, Tenover FC, Zervos MJ, Band JD, White E, Jarvis WR.** Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. Glycopeptide-Intermediate *Staphylococcus aureus* Working Group. *New England Journal of Medicine* 1999, 340(7), 493-501.

**Souli M, Kontopidou FV, Koratzanis E, Antoniadou A, Giannitsioti E, Evangelopoulou P, Kannavaki S, Giamarellou H.** In vitro activity of tigecycline against multiple-drug resistant, including pan-resistant, Gram-negative and Gram-positive clinical isolates from Greek Hospitals. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 2006, 3166-3169.

**Southern KW.** Cystic fibrosis and formes frustes of CFTR related disease. *Respiration* 2007, 74, 241-251.

**Stabile LP, Davis AL, Gubish CT, Hopkins TM, Luketich JD, Christie N, Finkelstein S, Siegfried JM.** Human non-small cell lung tumors and cells derived from normal lung express both estrogen receptor alpha and beta and show biological responses to estrogen, *Cancer Research* 2002, (62):7, 2141-2150.

**Şener B.** Kistik fibroziste mikrobiyal patogenezi. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2002, 33, 49-57.

**Tanner BD.** Reduction in infection risk through treatment of microbially contaminated surfaces with a novel, portable, saturated steam vapor disinfection system, *American Journal of Infection Control* 2009, 37(1), 20-27.

**Tarran R, Grubb BR, Parsons D, Picher M, Hirsh AJ, Davis CW, Boucher RC.** The CF salt controversy: in vivo observations and therapeutic approaches. *Molecular Cell* 2001, 8, 149-158.

**Tiengrim S, Tribuddharat C, Thamlikitkul V.** In vitro activity of tigecycline against clinical isolates multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in Siriraj Hospital, Thailand. *Journal of the Medical Association Thailand* 2006, 89, 102-105.

**Trautmann M, Wiedeck H, Ruhnke M, Oertinger M, Marre R.** Teicoplanin: 10 years of clinical experience. *Infection* 1994, 22(6), 430-436.

**Trillis F, Eckstein EC, Budavich R, Pultz MJ, Donskey CJ.** Contamination of hospital curtains with healthcare-associated pathogens. *Infection Control Hospital Epidemiology* 2008, 29(11), 1074-1076.

**Ulusoy S.** Tigesiklin. *Ankem Dergisi* 2006, 20(2), 117-119.

- Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC.** Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1988, 1(8575-6), 57-58.
- Uttley AH, George RC, Naidoo J Woodford N, Johnson AP, Collins CH, Morrison D, Gilfillan AJ, Fitch LE, Heptonstall J.** High-level vancomycin-resistant enterococci causing hospital infections. *Epidemiology Infection* 1989, 103(1), 173-181.
- Valdezate S, Vindel A, Maiz L, Baquero F, Escobar H, Cantón R.** Persistence and variability of *Stenotrophomonas maltophilia* in cystic fibrosis patients, Madrid, 1991-1998. *Emerging Infectious Diseases* 2001, 7, 113-122.
- Van Bambeke F, Van Laethem Y, Courvalin P, Tulkens PM.** Glycopeptide antibiotics from conventional molecules to new derivatives. *Drugs* 2004, 64(9), 913-936.
- Van Bambeke F.** Glycopeptides in clinical development: pharmacological profile and clinical perspectives. *Current Opinion Pulmonary Medicine* 2004,4(5), 471-478.
- Verkman AS.** Lung disease in cystic fibrosis: is airway surface liquid composition abnormal? *American Journal Physiology Lung Cell Molecular Physiology* 2001, 281, L306-308.
- Vincent S, Minkler P, Binczewski B, Etter L, Shlaes DM.** Vancomycin resistance in *Enterococcus gallinarum*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 1992, 36(7), 1392-1399.
- Watanakunakorn C, Bakie C.** Synergism of vancomycin-gentamicin and vancomycin-streptomycin against enterococci. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 1973, 4(2), 120-124.
- Watson MS, Cutting GR, Desnick RJ, Driscoll DA, Klinger K, Mennuti M, Palomaki GE, Popovich BW, Pratt VM, Rohlfs EM, Strom CM, Richards CS, Witt DR, Grody WW.** Cystic fibrosis population carrier screening: 2004 revision of American College of Medical Genetics mutation panel. *Genetics in Medicine* 2004, 6, 387-391.
- Wayne PA.** CLSI In: Institute CaLS, ed. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteenth informational supplement, CLSI document M100-S18, 7th ed 2008.
- Web\_1** (2014). The early years "cystic fibrosis" by any other name. 06.11.2015. <http://www.cfmedicine.com/history/earlyyears.htm>
- Web\_2** (2015). Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator. 06.11.2015. <http://omim.org/entry/602421>

**Web\_3** (2011). Cystic Fibrosis Mutation Database; 06.11.2015.  
<http://www.genet.sickkids.on.ca/app>

**Web\_4** (2016). EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, 2016.  
<http://www.eucast.org>

**Welsh MJ, Ramsey BW, Accurso F, Cutting RC.** Cystic Fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Vale D (eds). *Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease* (8th ed). McGraw-Hill, New York, 2001, 5121-5184.

**Welsh MJ, Smith AE.** Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell* 1993, 73, 1251-1254.

**Whitchurch CB, Tolker-Nielsen T, Ragas PC, Mattick JS.** Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science* 2002, 295, 1487.

**Williamson R, Al-Obeid S, Shales JH, Goldstein FW, Shlaes DM.** Inducible resistance to vancomycin in *Enterococcus faecium* D366. *Journal of Infectious Disease* 1989, 159(6), 1095-1104.

**Wood MJ.** The comparative efficacy and safety of teicoplanin and vancomycin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1996;37(2):209-22.

**Zielenski J.** Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration* 2000, 67, 117-133.

## ÖZGEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : GÜNAY Necati  
**Uyruk** : T.C.  
**Doğum yeri ve tarihi** : 01.08.1982  
**Telefon** : 05554625972  
**E-mail** : gunayn@gmail.com  
**Yabancı Dil** : İngilizce

### EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2005

### İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2014-	Ankara/Türkiye İlaç Ve Tıbbi Cihaz Kurumu İlaç Analiz ve Kontrol Laboratuvarları İlaç Kozmetik Birimi	Biyolog
2008-2014	Aydın/Adnan Menderes Üniversitesi Bilim Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi	Uzman
2005-2006	İzmir/EGE Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkezi Sterilizasyon Ünitesinde	Sterilizasyon Teknikerliği

## AKADEMİK YAYINLAR

### 1. MAKALELER

1. Ozturk B, Gunay N, Ertugrul BM, Sakarya S. Effects of vancomycin, daptomycin, and tigecycline on coagulase-negative staphylococcus biofilm and bacterial viability within biofilm: an in vitro biofilm model. *Can J Microbiol.* 2016 Apr 19:1-9. [Epub ahead of print]
2. Tuylu T, Sari I, Solmaz D, Kozaci DL, Akar S, Gunay N, Onen F, Akkoc N. Fetuin-A is related to syndesmophytes in patients with ankylosing spondylitis: a case control study. *Clinics (Sao Paulo).* 2014 Dec;69(10):688-93. doi: 10.6061/clinics/2014(10)07.
3. Sakarya S, Gunay N, Karakulak M, Ozturk B, Ertugrul B. Hypochlorous Acid: an ideal wound care agent with powerful microbicidal, antibiofilm, and wound healing potency. *Wounds.* 2014 Dec;26(12):342-50.
4. Sakarya S, Gunay N. *Saccharomyces boulardii* expresses neuraminidase activity selective for  $\alpha$ 2,3-linked sialic acid that decreases *Helicobacter pylori* adhesion to host cells. *APMIS.* 2014 Mar 15. doi: 10.1111/apm.12237. Epub 2014 Mar 15.
5. Savran Y, Sari I, Kozaci DL, Gunay N, Onen F, Akar S. Increased levels of macrophage migration inhibitory factor in patients with familial mediterranean Fever. *Int J Med Sci.* 2013 Apr 30;10(7):836-9. doi: 10.7150/ijms.6116. Print 2013.
6. Taylan A, Sari I, Akinci B, Bilge S, Kozaci D, Akar S, Colak A, Yalcin H, Gunay N, Akkoc N. Biomarkers and cytokines of bone turnover: extensive evaluation in a cohort of patients with ankylosing spondylitis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2012 Oct 2;13:191. doi: 10.1186/1471-2474-13-191.
7. Cekic B, Biber Muftuler FZ, Yurt Kilcar A, Gunay N, Sakarya S, Unak P. Anti toxic effect of broccoli extract on stannous dichloride toxicity. *Acta Cir Bras.* 2012 Sep;27(9):606-10.
8. Sari I, Yuksel A, Kozaci D, Selcuk S, Gokce G, Yildiz Y, Demirel H, Sop G, Alacacioglu A, Gunay N, Akkoc N. The effect of regular colchicine treatment on biomarkers related with vascular injury in newly diagnosed patients with familial Mediterranean fever. *Inflammation.* 2012 Jun;35(3):1191-7.

9. Gokbulut C, Di Loria A, Gunay N, Masucci R, Veneziano V. Plasma disposition, concentration in the hair, and anthelmintic efficacy of eprinomectin after topical administration in donkeys. Am J Vet Res. 2011 Dec;72(12):1639-45.
10. Gerdan V, Sari I, Kozacı D, Önen F, Yüksel F, Soysal O, Solmaz D, Günay N, Akkoc N, Akar S. Down-regulation of adiponectin in patients with familial Mediterranean fever during attack-free period. Rheumatol Int. 2012 Sep;32(9):2819-22. doi: 10.1007/s00296-011-2094-5. Epub 2011 Aug 30.
11. Taylan A, Sari I, Kozaci DL, Yuksel A, Bilge S, Yildiz Y, Sop G, Coker I, Gunay N, Akkoc N. Evaluation of the T helper 17 axis in ankylosing spondylitis. Rheumatol Int. 2012 Aug;32(8):2511-5. Epub 2011 Jul 16.
12. Taylan A, Sari I, Kozaci DL, Yildiz Y, Bilge S, Coker I, Maltas S, Gunay N, Akkoc N. Evaluation of various endothelial biomarkers in ankylosing spondylitis. Clin Rheumatol. 2012 Jan;31(1):23-8. Epub 2011 May 10.
13. Sari I, Kebapçılar L, Taylan A, Bilgir O, Kozaci DL, Yildiz Y, Yuksel A, Gunay N, Akkoc N. Fetuin-A and interleukin-18 levels in ankylosing spondylitis. Int J Rheum Dis. 2010 Feb 1;13(1):75-81.
14. Kebapçılar L, Sari I, Renkal AH, Alacacioglu A, Yuksel A, Ilhan E, Alkan B, Yuksel D, Kozaci DL, Gunay N. The influence of Helicobacter pylori eradication on leptin, soluble CD40 ligand, oxidative stress and body composition in patients with peptic ulcer disease. Intern Med. 2009;48(24):2055-9. Epub .

### **3. BİLDİRİLER**

#### **Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler**

1. Tülay Aşkın Çelik, Özlem Sultan Aslantürk, Necati Günay, Burçak Yavuz Tester Olarak Kullanılan ve Kullanılmamış Rujlarda Bakteriyel Kontaminasyonun Araştırılması (4.Kozmetik Kimyası, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi 14-16 Şubat 2014)
2. Özlem Sultan Aslantürk, Tülay Aşkın Çelik, Burçak Yavuz, Serap Yüce, Necati Günay Kuaför salonlarında Çalışan Bireylerdeki Genotoksik Riskin Değerlendirilmesi (4.Kozmetik Kimyası, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi 14-16 Şubat 2014)

3. Serhan Sakarya, Necati Günay, Meltem Karakulak, Barçın Öztürk, Bülent Ertuğrul (Türk Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Derneği 35.Ulusal Kurultayı 28-31 Ekim 2013)
4. Serhan Sakarya, Necati Günay *S. boulardii* uygulamalarının *H. pylori*'nin mide ve duodonal epitelyumda oluşturduğu enfeksiyonların eradikasyonundaki rolünün in vitro hücre kültürü yöntemleri ile belirlenmesi (Uluslararası Katılımlı 1. Ulusal Probiyotik Prebiyotik ve Fonksiyonel Gıdalar Kongresi 11-13 Nisan 2013)
5. Meryem Özlem Ersoy, Serhan Sakarya, Necati Güney, Güliz Uyar Güleç, Şerife Barçın Öztürk, Mustafa Bülent Ertuğrul, Serkan Öncü Kistik fibrozisde oluşan solunum yolu enfeksiyonlarında bakteri fenotipik özelliklerinin etkilerinin araştırılması (XVI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 13-17 Mart 2013)
6. Şerife Barçın Öztürk, Serhan Sakarya, Necati Günay, Mustafa Bülent Ertuğrul Çeşitli antibiyotiklerin biyofilm etkinliği (XVI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 13-17 Mart 2013)
7. Serhan Sakarya, Necati Günay *S. boulardii* uygulamalarının *H. pylori*'nin mide ve duodonal epitelyumda oluşturduğu enfeksiyonların eradikasyonundaki rolünün in vitro hücre kültürü yöntemleri ile belirlenmesi (XVI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 13-17 Mart 2013)
8. Serhan Sakarya, Necati Günay, Şerife Barçın Öztürk, Bülent Ertuğrul Hipokloröz asit (Crystalin®)'in biyofilm üreten *Staphylococcus aureus* *Candida albicans* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın standard ve klinik suşlarında biyofilm eradikasyonu ve biyofilm altında canlı kalma üzerine etkisi (XVI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 13-17 Mart 2013)
9. Serhan Sakarya, Necati Günay, Şerife Barçın Öztürk, Mustafa Bülent Ertuğrul Dermatofitozların tedavisinde yeni bir güçlü ajan: hipokloröz asit (Crystalin®) (XVI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 13-17 Mart 2013)
10. Serhan Sakarya, M. Bülent Ertuğrul, Ş. Barçın Öztürk, Necati Günay Hipokloröz asit (Crystalin®)'in biyofilm üreten *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında biyofilm üzerine etkisi 2. Ulusal Diyabetik Ayak İnfeksiyonları Simpozyumu (Udais 24-26 Mayıs 2012)

11. Gençer Oruç, Necati Günay, Serhan Sakarya Diyabetik hastalardan izole edilen *Escherichia coli* izolatlarının biyofilm oluşumu, fimbria yapımı ve antibiyotik duyarlılıkları yönünden incelenmesi (15. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 23-27 Mayıs 2011)
12. Ali Taylan, İsmail Sarı, Didem Kozacı, Necati Günay, Arif Yüksel, Işıl Çoker, Şafak Bilge, Nurullah Koç Ankilozan Spondilite İnterlökin 17 ve İnterlökin 23 Seviyeleri ve Tümör Nekrozis Faktör Alfa İnhibitörlerinin Bu Sitokinlere Etkisi (X. Ulusal Romatoloji Kongresi 30 Ekim- 03 Kasım 2009)
13. İsmail Sarı, Didem Kozacı, Oktay Bilgir, Yaşar Yıldız, Rezzan Günaydın, Arif Yüksel Necati Günay, Levent Kebapçılar, Ali Taylan Ankilozan Spondilite Oksidatif Hasar ve Tümör Nekrozis Faktör Alfa İnhibitörlerinin Etkisi (X. Ulusal Romatoloji Kongresi 30 Ekim- 03 Kasım 2009)
14. Ali Taylan, İsmail Sarı, Şafak Bilge, Didem Kozacı, Arif Yüksel, Işıl Çoker, Necati Günay, Nurullah Akkoç Ankilozan Spondilite Fibrinolitik Aktivite ve Tümör Nekrozis Faktör Alfa İnhibitörlerinin Fibrinolitik Parametrelere Etkisi (X. Ulusal Romatoloji Kongresi 30 Ekim- 03 Kasım 2009)
15. İsmail Sarı, Levent Kebapçılar, Ali Taylan, Didem Kozacı, Oktay Bilgir, Yaşar Yıldız, Arif Yüksel, Necati Günay, Nurullah Akkoç Ankilozan Spondilite Fentiun-A ve İnterlökin-18 Düzeylerinin Değerlendirilmesi (X. Ulusal Romatoloji Kongresi 30 Ekim- 03 Kasım 2009)