

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***ACINETOBACTER SPP.*'E KARŞI
KULLANILAN KOLİSTİN AKTİVİTESİNE ÇOK DÜŞÜK FREKANSLI
ELEKTROMANYETİK ALANIN ETKİSİ**

PINAR BİLECEN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
DOÇ. DR. AYŞE İNHAN GARİP
2. DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ M. BURAK AKSU

2021-İSTANBUL



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ACINETOBACTER SPP.*'E KARŞI
KULLANILAN KOLİSTİN AKTİVİTESİNE ÇOK DÜŞÜK FREKANSLI
ELEKTROMANYETİK ALANIN ETKİSİ**

PINAR BİLECEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

DOÇ. DR. AYŞE İNHAN GARİP

2. DANIŞMAN

DR. ÖĞR. ÜYESİ M. BURAK AKSU

2021-İSTANBUL

TEŐEKKÖRLER

Tezimin hazırlanmasındaki her aŐamada bilgi ve deneyimleri ile desteğini ve yardımını esirgemeyen değerli danıŐmanım Doç. Dr. Ayşe İNHAN GARİP'e teŐekkÖr ederim.

Desteklerini hiğbir zaman esirgemeyen ve her ihtiyaçım olduğunda yardımına koŐan sevgili bÖlÖm arkadaŐlarım, sayın hocalarıma teŐekkÖr ederim.

TÖm bilgi ve birikimleriyle bana yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi M. Burak AKSU'ya teŐekkÖr ederim.

Bilgi birikimini ve deneyimlerini benimle paylaŐan Dr. Öğr. Üyesi Esra CÜCE'ye teŐekkÖr ederim

Bana laboratuvarlarını ačan, her tÖrlÖ sorunuma yardımcı olan Mehmet GÖNCÖ, Naziye Gül ve Marmara Öniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana BilimDalı çalıŐanlarına teŐekkÖr ederim.

Eğitim hayatım boyunca maddi manevi tÖm desteklerini veren beni bu sÖreçe yalnız bırakmayan aileme ve arkadaŐlarım teŐekkÖr ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜRLER	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR ve SİMGELER	v
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	4
4.1. <i>Acinetobacter baumannii</i>	4
4.1.1. <i>Acinetobacter</i> taksonomisi	5
4.1.2. Doğal habitatları.....	5
4.1.3. Üreme ve biyokimyasal testler.....	5
4.1.4. Direnç durumu	5
4.1.5. Hastane ortamında <i>Acinetobacter</i>	6
4.1.6. Çoklu ilaç direnci	6
4.2. Antibiyotikler	7
4.2.1. Tarihçe.....	7
4.2.2. Antibiyotiklerin sınıflandırılma ilkeleri	7
4.2.3. Direnç mekanizmaları	8
4.2.3.1. İlaç hedefinde olan değişiklikler	8

4.2.3.2. Alternatif metabolik yolun kullanılması	9
4.2.3.3. İlacın enzimatik aktivasyonu.....	10
4.2.3.4. Hücre zarı geçirgenliğinin azaltılması	10
4.2.3.5. Aktif pompalama sistemi	10
4.2.4. Günümüzde ilaç direnci	11
4.2.5. Antibiyotik direncine karşı ne yapılabilir?.....	12
4.3. Antimikrobiyal Peptitler.....	13
4.3.1. Keşifleri.....	13
4.3.2. Antimikrobiyal peptitlerin (AMP) yapısı.....	14
4.3.3. Çeşitleri	14
4.3.4. İşlevsellikleri	15
4.3.5. Katyonik peptitlerin yapısal özellikleri.....	16
4.3.5.1. Sekonder yapı.....	16
4.3.6. Etki mekanizmaları	17
4.3.7. Kolistin.....	20
4.3.7.1. Kolistin etki mekanizması.....	20
4.3.7.2. Kolistin yan etkileri.....	20
4.3.7.3. Kolistine direnç	21
4.4. Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alan	21
4.4.1. Elektromanyetik dalgaların sınıflandırılması.....	22
4.4.2. Elektromanyetik alanın etkileri.....	23
4.4.2.1. Biyolojik sistemler ve insan sağlığı üzerindeki etkileri	24

4.4.2.2. Bakteriler üzerindeki etkileri.....	25
4.4.3. Korunma yöntemleri	26
5. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
5.1. Bakteri.....	27
5.2. Kimyasal Maddeler	27
5.3. Kullanılan Cihazlar	27
5.4. Besiyeri	27
5.5. Bakteri Suşu	28
5.6. Kolistin Solüsyonunun Hazırlanması.....	28
5.7. Uygulanacak ÇDF-EMA Parametresinin Belirlenmesi	28
5.8. Kolistin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun Belirlenmesi	29
5.9. İstatiksel Analiz.....	29
6. BULGULAR.....	30
6.1. Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alan	30
6.2. Belirlenen Parametrede Kolistin Uygulanması.....	33
7.TARTIŞMA	35
8. KAYNAKÇA	38
9. ÖZGEÇMİŞ.....	55

KISALTMA ve SİMGELER LİSTESİ

AMP : Antimikrobiyal Peptit

ÇDF-EMA : Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alan

ÇİD : Çoklu İlaç Direnci

Hz : Hertz

LPS : Lipopolisakkarit

MİK : Minimum İnhibitör Konsantrasyonu

ROT : Reaktif oksijen türevleri

mT : Mili Tesla

yy : yüzyıl

μ T: Mikro Tesla

μ g: mikrogram

ml: mililitre

TABLO LİSTESİ

Tablo 1 : Mikroorganizmalarda antibiyotik direnç mekanizmaları

Tablo 2 : Hastanelerde direnç sorunu yaşanan mikroorganizmalar

Tablo 3 : ÇDF-EMA uygulama süreleri



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1 : *Acinetobacter baumannii*

Şekil 2 : Antibakteriyel etki mekanizmaları

Şekil 3 : Antibiyotik direnci ve antibiyotiklerin gelişimi

Şekil 4 : Katyonik (A) ve anyonik (B) savunma peptidlerinin bakteri hücre zarı ile etkileşimleri

Şekil 5: Antimikrobiyal peptidin yapısal farklılıklarını temsil eden protein grupları

Şekil 6: Antimikrobiyal peptitlerin memeli ve bakteri hücre zarındaki etkileşimi

Şekil 7: Antimikrobiyal peptidlerin genel etki mekanizması

Şekil 8: Elektromanyetik alan

Şekil 9: Elektromanyetik spektrum

Şekil 10. Kolistin dirençli suş için A- 30 Hz 1 ve 2 mT, B- 50 Hz 1 ve 2 mT uygulama sonuçları

Şekil 11: Kolistin duyarlı suş için A- 1 ve 2 mT, B- 50 Hz 1 ve 2 mT uygulama sonuçları

Şekil 12: Dirençli suş kolistin duyarlılığı

Şekil 13: Duyarlı suş kolistin duyarlılığı

1. ÖZET

***Acinetobacter spp.*'e karşı kullanılan kolistin aktivitesine çok düşük frekanslı elektromanyetik alanın etkisi**

Öğrenci Adı: Pınar BİLECEN

Danışman Adı: Doç. Dr. Ayşe İNHAN GARİP

Amaç: *Acinetobacter baumannii* suşları çoklu ilaç direnci gösteren (ÇİD) nozokomiyal kökenli enfeksiyonlardan sorumlu patojenlerdir. Kolistin ÇİD gösteren *A. baumannii* enfeksiyonlarına son çare olarak kabul edilmektedir. Ancak kolistin direncinin gelişmesi ciddi sağlık tehdidine neden olmaktadır. Çok düşük frekanslı elektromanyetik alanların (ÇDF-EMA) prokaryotik canlılarda çoğalmayı ketlediği gözlemlenmiştir. Bu çalışma ÇDF-EMA'nın kolistin dirençli ve duyarlı *A. baumannii*'nin kolistin direncine etkisini saptamayı amaçlamaktadır.

Gereç ve yöntem: *A. baumannii* suşları 1×10^6 CFU/mL elde etmek için Mueller Hinton Broth ile süspense edilmiştir. Solenoid içerisinde oluşturulan ÇDF-EMA altında 37°C'de inkübe edilmiştir. Dört farklı ÇDF-EMA parametresinde sonuçlara bakılmıştır. Her alan parametresi için farklı saatlere bakılmıştır. Üremede en fazla azalmayı sağlayan süre ve alan parametresi kolistin minimum inhibasyon konsantrasyonundaki değişimi belirlenmesi için kullanılmıştır. Bakteriyel üreme OD ölçümleriyle belirlenmiştir.

Bulgular: ÇDF-EMA'da maruziyette her iki suş için üreme oranındaki en yüksek düşüş, 24 saat boyunca 30 Hz 1 mT ÇDF-EMA uygulamasıyla elde edilmiştir. Bu parametredeki MİK sonucunda duyarlı suş için kolistin duyarlılığını 2 kat, dirençli suş içinse 4 kat arttırmıştır.

Sonuç: ÇDF-EMA, kolistin etkinliğini arttırmaktadır. İn-vivo deneylere ihtiyaç duyulmasına rağmen ÇİD için tedavide dikkate alınmalıdır.

Anahtar kelimeler: Kolistin, *A. baumannii*, Çok düşük frekanslı elektromanyetik alan.

2. SUMMARY

Effect of Extremely Low Frequency Electromagnetic Field on Colistin Activity Used Against *Acinetobacter spp.*

Student Name: Pınar BİLECEN

Name of Supervisor: Doç. Dr. Ayşe İNHAN GARİP

Objective: *Acinetobacter baumannii* strains are pathogens responsible for severe nosocomial infections that have acquired multidrug resistance (MDR). Colistin is considered to be the last resort to MDR *A. baumannii* infections however besides its side effects acquisition of colistin resistance cause serious health threat. Extremely low frequency electromagnetic fields (ELF-EMF) are non-ionizing fields with a frequency of less than 300 Hz. It has been observed that it inhibits reproduction in prokaryotic organisms. This study aimed to overcome this problem by exposing colistin resistant and susceptible *A. baumannii* strains to extremely low electromagnetic fields which have been shown to decrease bacterial growth.

Material and methods: *A.baumannii* strains were suspended in Mueller Hinton broth to get 1×10^6 CFU/mL. ELF-EMF was generated in a solenoid and placed in an incubator. Control was in another incubator. ELF-EMF exposure was done at four field parameters. The duration and field parameter that produced the highest decrease in growth was chosen for colistin treatment. Bacterial growth was determined by OD measurements. Colistin efficacy was made by MIC test.

Results: ELF-EMF exposure caused a statistically significant decrease in growth rate for both strains. The highest difference in growth rate for both strains was obtained with 30Hz 1mT ELF-EMF exposure for 24 hours. This parameter was used for colistin susceptibility testing. ELF-EMF increased colistin susceptibility 2 fold for susceptible strain and 4 fold for resistant strain.

Conclusion: ELF-EMF creates a significant increase in colistin efficacy. Although in vivo experiments are needed these results must be considered for therapy of MDR.

Keywords: Colistin. *A. baumannii*. Extremely low frequency electromagnetic fields (ELF-EMF).

3- GİRİŞ ve AMAÇ

A. baumannii, hastane ortamında yaygın olarak bulunan ve çoklu ilaç direnci nedeniyle tedavide ciddi sorunlar yaratan enfeksiyonlara yol açan bir bakteridir. Bu patojene karşı kolistin ile tedavi önemli bir alternatif olmaktadır.

Katyonik bir peptid olan ve hücre zarında gözenekler açarak hücre ölümüne neden olan kolistin, mevcut antibiyotiklere karşı gelişen direnç nedeniyle önemli bir alternatif ilaç haline gelmiştir. (Li ve ark., 2006). Kolistine karşı da gelişebilen direnci yenmek amacıyla ilacın yüksek dozlarda kullanımı gerekebilmektedir (Li ve ark., 2005). Ancak bu yüksek doz yan etkilerinden ötürü konakçıda hasara neden olur (Falagas ve Kasiakou, 2005). Bu yan etkiler ilacın gerekli yüksek dozlarda kullanımını sınırlandırmaktadır.

ÇDF-EMA'nın bakteri çoğalması üzerine etkilerinin belirlenmesi için birçok çalışma yürütülmüştür (Moore, 1979). ÇDF-EMA bakteride serbest radikal seviyelerini arttırdığı ve hücre zarında katyonik peptid benzeri harabiyete yol açtığı da belirlenmiştir (Simko, 2004; Garip ve ark., 2011). ÇDF-EMA ile antibiyotiklerin beraber kullanımı, bakterilerin antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direncin kırılması için uygulanması olası bir yöntemdir (Frahm ve ark. 2010). Kolistin katyonik bir peptid olması her iki faktörün beraber uygulanmasının sinerjik etki meydana getirebileceği olasılığını arttırmaktadır. ÇDF-EMA'nın antibiyotiklerin aktivitesi üzerine etkisini belirlemek için yapılmış az sayıda çalışma vardır (Segatore ve ark., 2012).

Ancak kolistin ile herhangi bir ÇDF-EMA çalışması yapılmamış olması nedeniyle bu çalışma kolistin ve ÇDF-EMA'nın birbirleri üzerine oluşacak etkilerinin anlaşılmasına bunun yanı sıra da *Acinetobacter baumannii* tedavisine yönelik bir alternatif oluşturmaya yardımcı olacaktır.

Acinetobacter spp. gibi hastanelerde ciddi bir sorun haline gelen enfeksiyonlarda kullanılan kolistin etkinliğinin artırılması, hem verilen dozun azaltılarak yan etkilerin giderilmesi, hem de antibiyotik maliyetinin düşürülmesi açısından önemli olacağı düşünüldüğü için bu çalışma yapılmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter türleri doğada, suda ve toprakta yaygın olarak bulunan, fırsatçı patojenlerdir. Hastanelerde yatan hastalarda ve bağışık sistemi zayıf düşen kişilerde ciddi nozokomiyal kökenli enfeksiyonlara sebebiyet vermektedirler (Özdemir ve ark., 2009). Antibiyotiklere karşı yüksek oranda direnç kazanabilme ve uzun süre canlı kalabilmeleri sayesinde üremeleri ve yayılmaları da yüksektir (Balcı ve ark., 2010). Nonfermentatif bakterilerin neden olduğu hastalıklarda ikinci sıradadır. En çok rastlanılan suşu *Acinetobacter baumannii*'dir (Chagas ve ark., 2014; Telli ve ark., 2017). Neden olduğu enfeksiyonlar içerisinde; yara ve yanık enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, pnömoni gibi salgınlar mevcuttur. Ölüm oranı %30-50 civarındadır. Alkol bağımlılarında toplum kökenli pnömoni, kronik periton, diyalizi hastalarında peritonit gibi enfeksiyonlarla da alakalıdır (Choi ve ark., 2005).

Antibiyotikle tedavide ilk sırada hala karbapenemler kullanılmasına rağmen bu antibiyotiklere direnç giderek artmaktadır (Schreckenberger ve ark., 2007). Beklenmedik fenotipik ve fizyolojik değişikliklere neden olan farklı mekanizmalar çoklu ilaç direncine (ÇİD) yol açmaktadır (Towner, 2009). Bu adaptasyonlara "biyolojik uyum bedeli" denmektedir (Nilsson ve ark., 2006). Bu durum ortaya çıkmadan da antibiyotik direnci ortaya çıkabilmektedir. *Acinetobacter* türleri için bu direnç mekanizmaları araştırılmalıdır (Tomaras ve ar., 2008).



Şekil 1: *Acinetobacter baumannii* (<https://www.hygiene-in-practice.com/wp-content/uploads/Acinetobacter-baumannii.jpg> 25.04.2021)

4.1.1. *Acinetobacter* taksonomisi

Acinetobacter, *Pseudomonadales* ve *Moraxellaceae* ailesinden gama *Protoeobacteria*'ya aittir (Almasaudii, 2016). *Psychrobacter* ve *Moraxella* ile birlikte *Moraxellaceae* familyasındadır. Tombul, genelde kokoid formda, kısa gram negatif çomakçıklardır (Gravenitz, 1995). DNA- DNA hibridizasyonunda heterojen özellik gösterir. 19 genomik grup saptanmıştır. Laboratuvar araştırmalarında kendi içlerinde minör farklar saptanmaktadır (Berezin ve Towner, 1996; Weaver, 1994).

4.1.2. Doğal habitatları

Acinetobacter çevrede yaşayan heterojen saprofit gruptur. Hayvanlarda ve yiyeceklerde, suda, toprakta, kanalizasyonlarda yaşamlarını sürdürebilirler (Kurcık-Trajkovsla, 2009; Doughari ve ark., 2011). İnsanlarda boğaz, burun, kulak, vajina, koltuk altı, kasıklar, trakea gibi çeşitli nemli bölgelerde yaşayabilirler (Seifert, 1997). Süt ürünleri, çiğ meyve-sebze gibi gıda ürünlerinde bulunabilir (Kanafani ve Kanj, 2014).

4.1.3. Üreme ve biyokimyasal testler

Acinetobacter'in hücre ebatları ve şekillerinde farklılıklara rastlanmaktadır. Küme halinde ya da ikişerli gruplar olarak görülebilirler. Sarı veya yeşilimsi beyaz mukoid olarak gözlenseler de normalde formları düzgündür. Değişime uğrayan bazı suşlar kahverengi pigment oluşturabilir. Kesin olarak katalaz ve sitrat pozitif, indol ve oksidaz negatif, aerop ve hareketsiz nonfermentatif türlerdir (Almasaudi., 2016). Üremenin ilk aşamalarında glikoz fermantasyonu yapamayan kapsüllenmiş kokobasil çubuk formundadır (Kurcık- Trajkovska., 2009). Diğer nonfermentatilerden daha hızlı ve net ayrımı için oksidaz testi yapılabilir. İnkübasyon sıcaklıkları 33-35 °C'dir (Doughari ve ark., 2011).

4.1.4. Direnç durumu

Nemsiz kuru ortamlarda ve az besin miktarında yaşayabilirler. Çoğu gram negatiften daha dirençlidir. Bu yayılmalarındaki başlıca nedendir (Lee ve ark., 2011; Kanafani ve Kanj., 2014).

4.1.5. Hastane ortamında *Acinetobacter*

Yatan hastaların solunum yollarından izole edilir ve üst solunum yolunda gerçek pnömoniden ayırt etmek zordur. Görülme sıklığı bölgeden bölgeye değişir. (Luna ve Aruj, 2007). Bronşitle sonuçlanan trakeostomide koloni oluşumu rahattır (Whitman ve ark., 2008). Solunum yolunda ve intravasküler yayılması en sık olanlardır. Yanık, idrar yolu kökenli ve cerrahi yaralardan kaynaklı yayılım azdır (Cisneros ve Rodriguez-Bano, 2002). Travma kaynaklı olarak Irak ve Afganistan'daki savaş sırasında yumuşak doku enfeksiyonlarından Avrupa'ya ve Amerika'ya yayıldığı düşünülmektedir (Falagas ve ark., 2015). Enfeksiyon sonrasındaki menenjit oluşumu sorun teşkil etmektedir (Doughari ve ark., 2011; Basri ve ark., 2015).

4.1.6. Çoklu ilaç direnci

Günümüzde meydana gelen ilaç direncinden dolayı *Acinetobacter* tedavisinde katyonik peptitler gibi farklı tedavilerin arayışına başlanmıştır (Abbo ve ark., 2005; Kanafani ve Kanj, 2014). Genetik değişime kolayca uğrayan *Acinetobacter* türlerinde direnç yaygındır. Özellikle gen aktarımı yoluyla gelişen direnç tedaviyi zorlaştırmaktadır (Gallagher ve ark., 2015). Başlıca gen transferleri şunlardır:

a-Transformasyon: Parçalanmış hücrelerden DNA alarak genomunda birleştirebilir (Juni ve Janik., 1969).

b-Konjugasyon: Bakteri kromozomu ve verici hücre DNA'sı sek pilusları aracılığıyla aktarılır.

c-Transdüksiyon: Bazı *Acinetobacter* suşlarına karşı aktif bakteriyofajlar mevcuttur. Çoğu litik fajdır (Utnes ve ark., 2015)

d-Mobil genetik elementler: İntegronlar, plazmitler ve transpozonlar *Acinetobacter* türlerinin direnç kazanmasında önemli elemanlardır. Klinik suşlarda genelde kromozoma entegre integronlar vardır. Çoğunun antibiyotik direnci ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Fournier ve ark., 2006; Perez ve ark., 2007).

4.2- Antibiyotikler

Mantar veya benzeri mikroorganizmalar tarafından oluşturulan, mikroorganizmaların ve bakterilerin üremesini baskılayan ya da öldüren doğal veya kimyasal maddelere "antibiyotik" denir. Yunanca bir terimdir. Anti; karşı, bios; yaşam kelimelerinden üretilmiştir (Öner, 1992; Aktuğlu, 1997; Tunçtan ve Buhralıoğlu, 2005). Çoğu mikroorganizma kendi ürettikleri antibiyotiklerine dirençlidir, diğer antibiyotiklerden etkilenir ve kendileriyle yakın ilişkili türlerde ürettikleri antibiyotiklerin etkili olma ihtimalleri yüksektir (Tanır ve Göl, 1999).

4.2.1. Tarihçe

Antibiyotikle tedavi süreci 19. yy sonlarında başlamıştır. Paul Ehrlich (1854-1915) tarafından kimyasalların salgın hastalıklarında kullanılabileceği öne sürülmüştür. Penisilin 1928'de bulunarak antibiyotik devrini başlatmıştır (Tabak, 2002).

1935 yılında modern kemoterapi için sülfonamidler kullanılmaya başlanmıştır. 1940'larda diğer antibiyotiklerin kullanıma girmesiyle artış yaşanmıştır. 1939-1943 yılları arasındaki çalışmalarda streptomisin keşfedilmiş, 2. Dünya Savaşı'nda pnömoni, sepsis gibi sistemik enfeksiyonlarda ve savaş yaralarında oluşan sekonder bakteriyel enfeksiyonlarda kullanılarak ölüm oranını azaltmıştır (Tanır ve Göl, 1999).

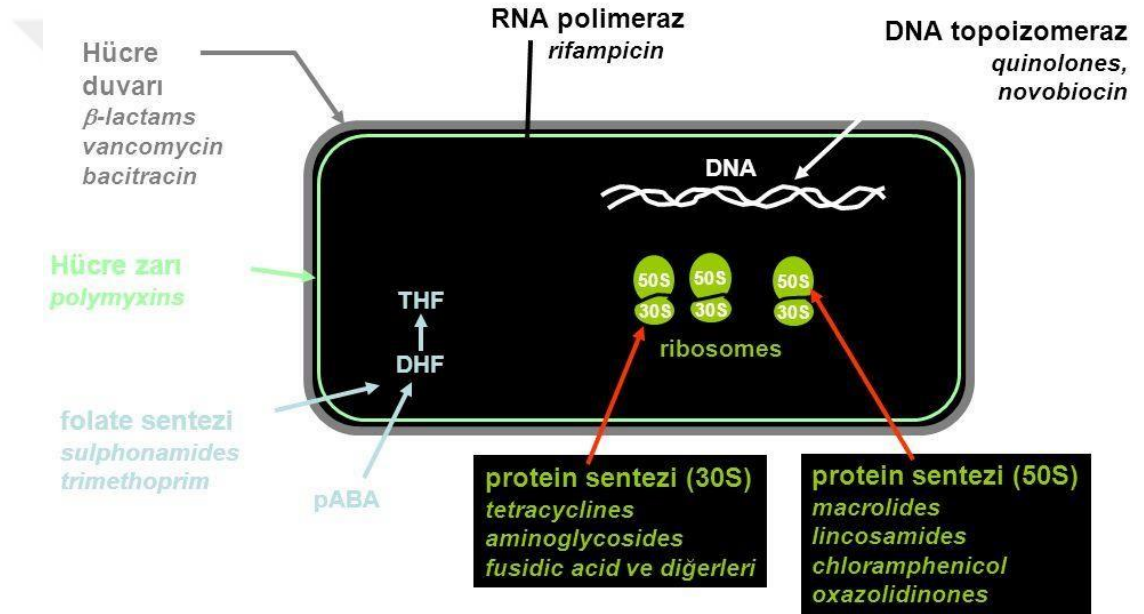
4.2.2. Antibiyotiklerin sınıflandırılma ilkeleri

Antibiyotik sınıflandırması, etki derecelerine, mekanizmalarına, kimyasal yapılarına ve farmakokinetik özelliklerine göre yapılır.

- a- Etki derecelerine göre; hücrelerin gelişmesini ve üremesini önleyen bakteriyostatikler, etki gücünün göstergesi "Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK)"dur. Bakteri hücrelerini dolaysız yok edenler bakterisidlerdir, etki gücünün göstergesi "Minimum Bakterisid Konsantrasyon (MBK)"dur (Akkan, 1997).

- b- Etki mekanizmalarına göre; hücre duvar sentezini, sitoplazma membrane permeabilitesini (zar geçirgenliğini), ribozomlarda protein sentezini bozanlar ya da bakteri genetik materyali üzerine etki edenler (Akkan, 1997).
- c- Kimyasal yapılarına göre; 21. yy'da kullanılan antibiyotiklerin çoğu kimyasal yapılara etki eder (Yamantürk ve Bütet, 2015).
- d- Farmakokinetik; biyoyararlanım, dağılım, emilim, protein bağlanma oranı, metabolizma ve eliminasyonunu belirtir (Oğuz, 2008).

Antibakteriyel etki mekanizmaları



Şekil 2: Antibakteriyel etki mekanizmaları (<https://slideplayer.biz.tr/slide/3219063/> 25.04.2021)

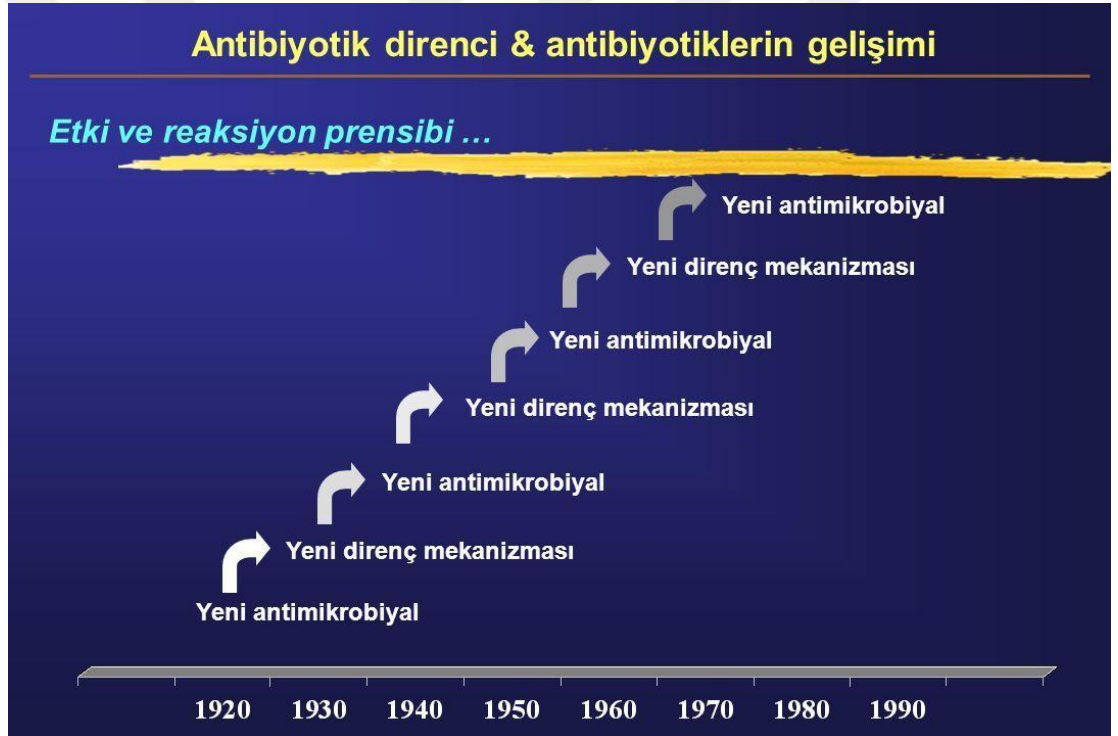
4.2.3. Direnç mekanizmaları

Bazı bakteri türlerinin önceden etki eden antibiyotiklerden zaman içerisinde etkilenmeyerek dirençli hale dönmesi durumudur (Harrison ve Lederberg, 2001). İlk kez klinik ortamda keşfedilmiştir. Çoklu ilaç direncine sahip enterikler 1950-1960'larda bulunmuştur. Gelişmekte olan ülkelerde klinik sorunlar oluşturarak tedavinin daha pahalı olmasına yol açmıştır. Sık ve yanlış kullanım direnç oranını arttırmıştır (Oğuz, 2008).

Dirençli suşlar, kemoterapötik maddeye yapıca benzer olan antimikrobiklere de direnç oluşturabilir, bu duruma çapraz direnç denmektedir. Mikroorganizmaların, etki ve yapısı değişik antimikrobik maddelere direnç kazanması durumu “çok ilaca dirençlilik (ÇİD)” olarak adlandırılır (Öztürk, 1997).

Direnç iki şekilde gerçekleşir:

- a- Doğal (intrinsik) direnç; mikroorganizmada ilacın etki mekanizmasına uygun hedef yapısının bulunmaması ya da mikroorganizmanın metabolik olarak inaktif fazda bulunmasıdır (Öztürk, 2002).
- b- Kazanılmış direnç; bakterinin genetik materyalinde meydana gelen mutasyonlar ve/veya hareketli elemanlar ile duyarlılığının dirençli hale dönmesi durumudur (Oğuz, 2008).



Şekil 3: Antibiyotik direnci ve antibiyotiklerin gelişimi (<https://slideplayer.biz.tr/slide/3107766/> 25.04.2021)

4.2.3.1. İlaç hedefinde olan değişiklikler

Mikroorganizmanın kromozomundaki mutasyon ve antimikrobiyal ilaç varlığındaki seçilimden kaynaklanır. Mutasyon sonunda porin oluşumundaki bozulmayla ilaca geçirgenlik azalabilir, ilacın bağlandığı hedef değişebilir veya antibiyotiği parçalayan bir enzim sentezlenir (Öztürk, 1997).

4.2.3.2. Alternatif metabolik yolun kullanılması

Mikroorganizmada hedef değişimlerle aynı olmayan, ilaca duyarlı hedefe ihtiyaç yok edilerek yeni bir metabolik yol oluşturulabilir. Örneğin Trimetoprim/sulfametoksazol kombinasyonu, bakterinin yaşamsal önemi olan kromozomun replikasyonunda rol oynayan enzimleri inhibe eder. Bakteriler folat sentez etme yerine ortamdaki hazır folat alarak alternatif bir metabolik yol kullanır (Kayış, 2019).

4.2.3.3. İlacın enzimatik aktivasyonu

Antibiyotiği bölen veya modifiye edici enzimlerle oluşur (Oğuz, 2013).

4.2.3.4. Hücre zarı geçirgenliğinin azaltılması

İlacın etki etmesi için mikroorganizmaya nüfuz etmesi gerekir. Gram pozitiflerde ilaç dış zarı aşmalı, negatiflerde ise zar üzerindeki membranlarda nüfuz etmelidir. Mutasyon sonrası geçirgenlik azalarak direnç oluşur (Kayış, 2019).

4.2.3.5. Aktif pompalama sistemi

İyon ve besinin hücreye alınması, son ürünün veya zararlı maddenin dışa atımı, bakterilerin birbirleriyle ya da çevresiyle ilişkisini düzenlemektedir. Bu sistemdeki proteinler olağan seviyede üretildiklerinde mikroorganizmanın yaşamına destek veren proteinlerdir. Bu proteinlerin yüksek seviyede üretimi çoğu antimikrobiyal ilaçlara, çeşitli boyalara ve dezenfektanlara karşı direnç gelişimi ile tanımlanan çoklu ilaç direncine sebep olur (Gülbudak ve ark., 2014; Coyne ve ark., 2011).

Tablo 1- Mikroorganizmalarda antibiyotik direnç mekanizmaları(Demirtürk ve Demirdal, 2004)

Direnç Mekanizması	Etkilediği Antibiyotikler
Antibiyotiğin hedef bölgeye ulaşmasının engellenmesi (içeri girişi güçleştirerek ya da dışarı atılımı hızlandırarak)	Beta-laktam antibiyotikler, kinolonlar, kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, trimetoprim.
Antibiyotiğin etkilediği hedef noktanın değiştirilmesi	Beta-laktamlar, aminoglikozid, eritromisin, klindamisin, kinolonlar, rifampin, sülfanamid, trimetoprim, vankomisin
Antibiyotiğin sentezlenen bir enzimle inaktive edilmesi	Aminoglikozidler, beta-laktamlar, kloramfenikol

4.2.4. Günümüzde direnç durumu

Klinik ve çevresel kökenli türler arasındaki fark en önemli ayrımı sağlar. Klinikteki yoğun kullanım sebebiyle seleksiyonla dirençli suşların miktarı artmıştır. Klinikteki bu problem toplum sağlığında da tehdit teşkil etmektedir (Öztürk, 1997). Yeni direnç genlerinin tanımlanması, bir veya daha çok direnç genini taşıyan mikorganizmaların dünyadaki yayılımı hızla artmaktadır (Yarsan, 2019).

Toplum kökenli enfeksiyon da *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter spp.*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Shigella spp*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli* en çok direnç sorunu yaşanan mikroorganizmalardır. Kliniklerdeki antibiyotik kullanımı nedeniyle dirence daha sık rastlanmaktadır (Archibald ve ark., 1997; Töreci, 2003).

Tablo 2- Hastanelerde direnç sorunu yaşanan mikroorganizmalar

Gram Negatif	Gram Pozitif
<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Koagulaz negatif stafilokoklar (KNS)</i>
<i>Enterobacter spp</i>	<i>Enterokoklar</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Acinetobacter spp</i>	

Tez konusunda incelenecek olan Acinetobacter 1980’li yıllardan bu yana hastane infeksiyonlarında çoğul dirençli hale gelmiştir (Usluer, 2002). Türkiye’de yapılan bir çalışmada 36 hastadan elde edilen 38 Acinetobacter suşunun tümü ampisilin-sulbaktam dışında tüm penisilinlere, sefalosporinlere ve gentamisine dirençlidir. Aynı çalışmada en etkin antibiyotikler karbapenemler ve kolistin olarak bildirilmiştir (Ayan ve ark., 2003).

4.2.5. Antibiyotik direncine karşı ne yapılabilir?

Bakterilerdeki bu direnç durumu yeni ve etkin antibiyotik keşfinin var olmaması ve var olanlara karşı oluşan direnç mekanizmaları nedeniyle tedavide sorun yaşanmaktadır (Akyar ve Rota, 1999). Yanlış antibiyotik kullanımı, spektrumun geniş spektrum olarak seçilimi, uzun süreli gereksiz kullanımlar direnç oluşumunu arttırmaktadır. Dönüşümlü kullanımın direnç oluşumunu önleyebileceği düşünülmekle beraber doğru doz ve süre en önemli noktalardır (Sümerkan, 2003).

Birlikte kullanım alternatif bir tedavi yöntemidir. Tek ilacın etkili olmadığı durumlarda birlikte kullanım başarıya ulaşabilmektedir. Toksik olmayan dozlarda birlikte kullanım bakteriyi baskılamak ya da öldürmek için kullanılan yeni bir yöntemdir (Jawetz e ark., 1950; Aktaş, 2014).

20. yy'ın sonlarında ortaya çıkan bir grup antibiyotik sınıfı da dirence yönelik alternatif bir tedavi olasılığı ortaya koymuştur. Bu sınıf antimikrobiyal peptitler olarak adlandırılır ve mikroorganizmanın zararına zarar verip bakterisid etki gösterirler (Apan, 2004).

4.3. Antimikrobiyal Peptitler

Antimikrobiyalpeptitler, immün sistemin doğal bir unsuru olarak genlerle şifrelenen doğal antibiyotiklerdir (Carnicell ve ark., 2013). Hayvan, insan ve bitkilerin farklı hücre ve doku tiplerince oluşturulan 100 aminoasitten küçük, genellikle 12-50 aminoasitlik geniş spektrumlu mikrobiyal aktiviteye sahip peptitlerdir (Brogden NK ve Brogden KA, 2011). Böceklerden insanlara kadar çeşitli canlılardan 100'den fazla antimikrobiyal peptit izole edilmiştir (Apan, 2004). Katyonik ve anyonik olmak üzere iki türü bulunmaktadır. Keşiflerinden sonra birçok canlının enfeksiyonlara karşı majör nonspesifik savunma mekanizması olarak antimikrobiyal peptitleri kullandığı gösterilmiştir. (Akyar ve Rota, 1999). Sentez edildikleri yere göre iki çeşittir.

- 1- Nonribozomal sentezlenenler: Aminoasitlerden üretilirler. Mantar, *Streptomyces* ve mantarlarda olan kompleks yapılarıdır.
- 2- Ribozomal sentezlenenler (doğal peptitler): Sentezlandıkları konağa göre sınıflandırılırlar. Amfibi peptitleri, insan peptitleri, memeli peptitleri vb.gibi. Genelde pozitif yüklüdür. (Apan, 2004).

Evrim süresince ribozomal olarak sentezlenen ve doğal bağışıklığın büyük bir bölümünü oluşturan katyonik peptitler son yıllarda tanımlanmıştır. Anyoniklere benzerdir ancak aminoasit dizilerinde artı yüklü amino asitler mevcuttur. Antimikrobiyal peptitlerin, sentezlandıkları çevrede bakterilere karşı iyi etki edebilmesi amacıyla evrimleştiği düşünülmektedir (Hancock, 1997).

4.3.1. Keşifleri

1939 yılında toprak basillerinden antimikrobiyal madde izole edilmesiyle keşfedilmiştir. Yapılan araştırmalarda farelerin pnömokok enfeksiyonundan katyonik peptidler sayesinde korunduğu gözlemlenmiştir (Dubos, 1939).

1940'da aynı maddedeki araştırmalar sonucu Gramisidin keşfedilmiştir. Yara ve ũlser tedavisinde olumlu etkileri olmakla beraber toksisiteyle de ilişkilendirilmiştir (Van EPPS, 2006).

1941'de keşfedilen Tirozin gram pozitif ve negatiflere etkilidir ama insanda toksisiteye yol açmıştır (Dubos ve ark., 1941).

1956'da ilk hayvansal kökenli antimikrobiyal peptit bulunmuştur.

1963'de insan lkositlerinin lizozomlarında keşfedilmiştir (James ve ark., 1956).

4.3.2. Antimikrobiyal peptitlerin (AMP) yapısı

Fizikokimyasal zellikleri önemlidir.

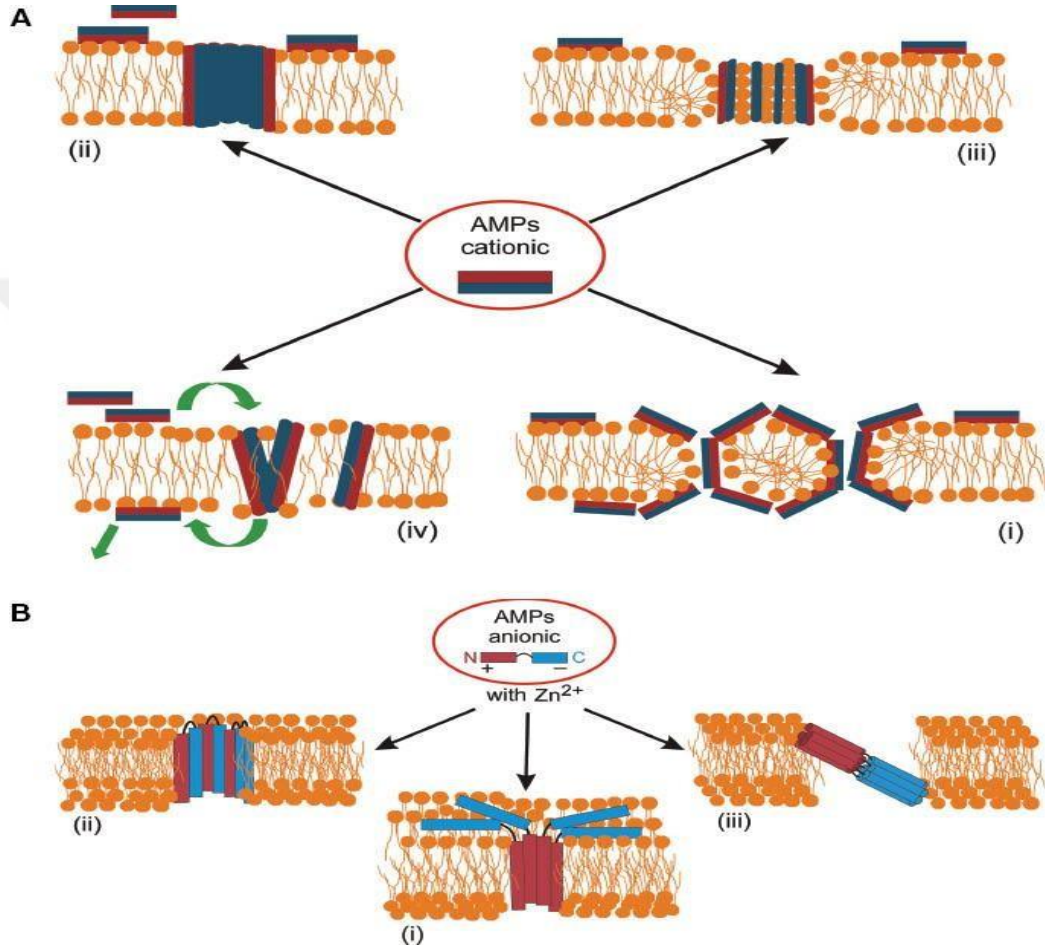
- 1- Net yük; etkileşim için ana unsurdur. Konakçıda hemolitik veya antimikrobiyal etki göstermeden mikroorganizmalar hedeflenir (Bahar ve Ren, 2013).
- 2- Katyonik peptidlerin amino asit uzunlukları etkinlik için önemlidir. Bu uzunluk katyonik peptidin hidrofobik kısmının bakteri zarını katedecek uzunlukta olmalıdır (Gagnon ve ark., 2017).
- 3- Hidrofobisite; aktivite ve seçicilik için önemlidir. Hidrofobisitenin artışı aktivite ile doğru orantılıdır (Lee ve ark., 2002).
- 4- Amfipatiklik; mikroorganizma membranı ile etkileşimi sağlar. Bağlanma açısından hidrofobisiteden daha önemlidir (Gagnon ve ark., 2017).
- 5- Çözünebilirlik; membrandan hücre içine girmesi ve lipid membranda etki etmesi için gereklidir. Sulu ortamda znlebilir olmalıdır. znmeyenler hücre membranı ile etkileşim sağlayamaz (Bahar ve Ren, 2013).
- 6- Sarmallık; karyotik hücrede oluşan toksisiteyi belirler (Bahar ve Ren, 2013).

4.3.3. Çeşitleri

a- Anyonik; İnsan, sığır, koyun akciğerlerinde, bronkoalveolar (ava) sıvılarında, solunum yolu epitel hücrelerinde bulunurlar.

b- Katyonik; Evcil hayvanlarda yaygındır. Doğal bağışıklığın temel unsurudur. Hidrofobik aminoasit oranı yaklaşık %50'dir. Lizin ve arjinin aminoasitlerin

varlığıyla pozitif yüklüdürler. Çoğunlukla +2 değerlidir (Brogden NK ve Brogden KA, 2011). Aminoasit kompozisyonları ve ikincil yapıları prolince zengin lineer proteinler, sistein içeren tabaka proteinler ve α -heliks formundaki lineer proteinler olarak 3 tiptedir (Brogden ve ark., 2003). Tez çalışmasında kullanılacak olan kolistin bu gruptadır.



Şekil 4: Katyonik (A) ve anyonik (B) savunma peptidlerinin bakteri hücre zarı ile etkileşimleri. (Cytryńska ve Barabas, 2015)

4.3.4. İşlevsellikleri

Pozitif yükleri aracılığıyla negatif yüklü bakterilerin hücre zarlarıyla etkileşimleri kolaydır. Gram pozitiflerde teikoik asite bağlanan peptitler, gram negatifte ise lipopolisakkarit yapıya bağlananlar hücre duvarını geçer ve hidrofobik etkileşimlerle membranla ilişkili yeniden katlanma özelliği sayesinde öldürücü etkinlik oluşturur. Zar ile etkileşim membran yıkımı, penetrasyon, por oluşumu gibi çeşitli yollarla oluşabilir. Oluşan porlar sayesinde sitoplazma zarına zarar vermeden hücreye girer

ve farklı hedef moleküllerle bağlanarak da bu etkiyi gösterebilir. Hücredeki protein, enzim ve diğer makromolekülleri baskılayabilir, genetik materyali yıkabilir, reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretilmesi gibi farklı yollarla mikroorganizmanın çoğalmasını baskılayabilir (Ayhancı ve Altındış, 2019).

4.3.5. Katyonik peptitlerin yapısal özellikleri

Birincil ve ikincil yapılar olarak iki bölümde incelenir.

Birincil yapıları lizin ve arjinin etkisiyle pozitif yüklüdür. Çoğunlukla +2 olan değerleri +4, +6 veya +7 de olabilir. Negatif yüklü aminoasit nadirdir.

İkincil yapıları disülfid bağı veya bakteri zarına temaslarıyla kendi üstlerine katlanarak üç boyutlu amfipatik yapı oluşturmaları ile sağlanır. Polar olmayan nötral aminoasit yan zincirleri içeren hidrofobik kısım ve polar pozitif yüklü aminoasitlerden oluşan hidrofilik kısımlardan oluşur.

Pozitif yüklü hidrofilik dış grupları ve hidrofobik iç kısma sahip bakteri zarıyla bu sayede etkileşime girerler. İkincil yapıları dört gruptur (Ganz ve Lehrer, 1999; Hancock ve Chapple, 1999; Hancock ve Falla, 1996; Hancock ve Robert, 1997; Aşkar ve Aşkar, 2017).

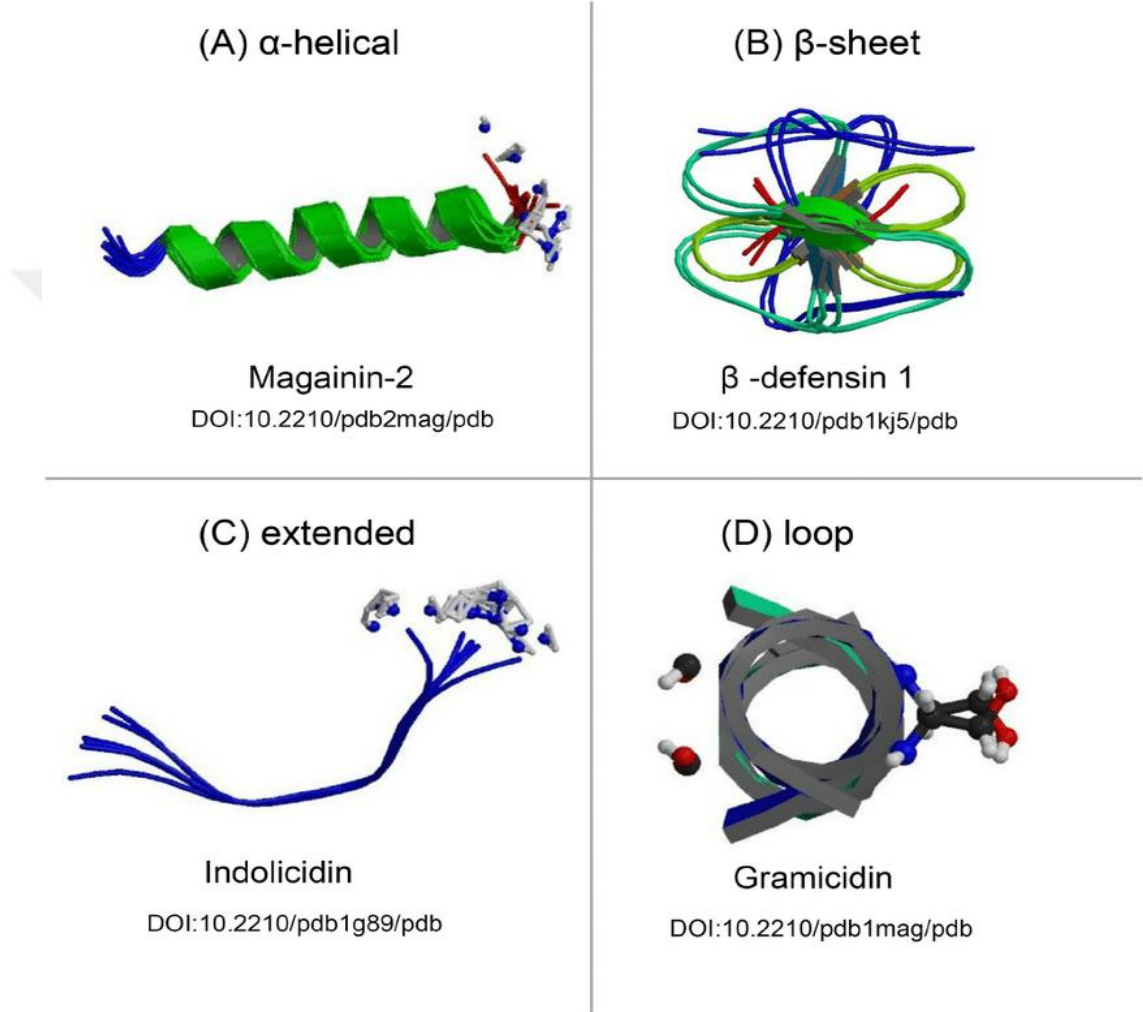
4.3.5.1. Sekonder yapı

1- β şeridi içeren peptidler; 16-40 aminoasit uzunluğunda bol sistein içerirler. İki ya da daha fazla disülfid köprüsü ile bağlanmış antiparalel yapıdadır. Küçük helezonal kısım da içerebilirler. Birçok bitki ve hayvan tarafından üretilebilir. Antibakteriyel ve antifungal etkinlikleri vardır.

2- α heliks formunda peptidler; 20-40 aminoasit uzunluğunda sistein olmayan lineer ya da α helezon yapılıdır. Çoğunlukla molekülün merkezinde zayıf kıvrım içerir. Suda çözünebilirler ve bakteriyel hücre zarından geçebilirler. Böceklerde sekproin A ve insanlarda 37 aminoasitte iki adet lösin içeren LL-37 proteinleri bu gruptadır.

3-Halka yapısındaki peptidler; yapılarında tek bir disülfid, amid ya da izopeptid bağı ile meydana gelmiş bir halka içerir.

4-Uzun zincirli peptidler; 40-80 aminoasit uzunluğunda olup yüksek oranda prolin, arjinin ya da glisin içerirler. Genel ikincil yapılarından yoksunlardır. Son aminoasitler arasındaki bağlar yerine hidrojen ya da Van der Waals bağlarıyla zar lipitleri arasında gerçekleşen etkileşim sonucu oluşurlar. (Aşkar ve K.Aşkar, 2017; Gürler, 2005).



Şekil 5: Antimikrobiyal peptidin yapısal farklılıklarını temsil eden protein grupları (Peters ve ark., 2010)

4.3.6. Etki mekanizmaları

Hücre zarında negatif yüklü fosfolipitler zarların sulu ortama temas eden yüzeylerindedir. Pozitif yüklü AMP'ler bu yüzeye tutunmaktadır. Kendi yapılarındaki hidrofobik rezidüleri zarın içine dikey uzanırlar. Bunun sonucunda

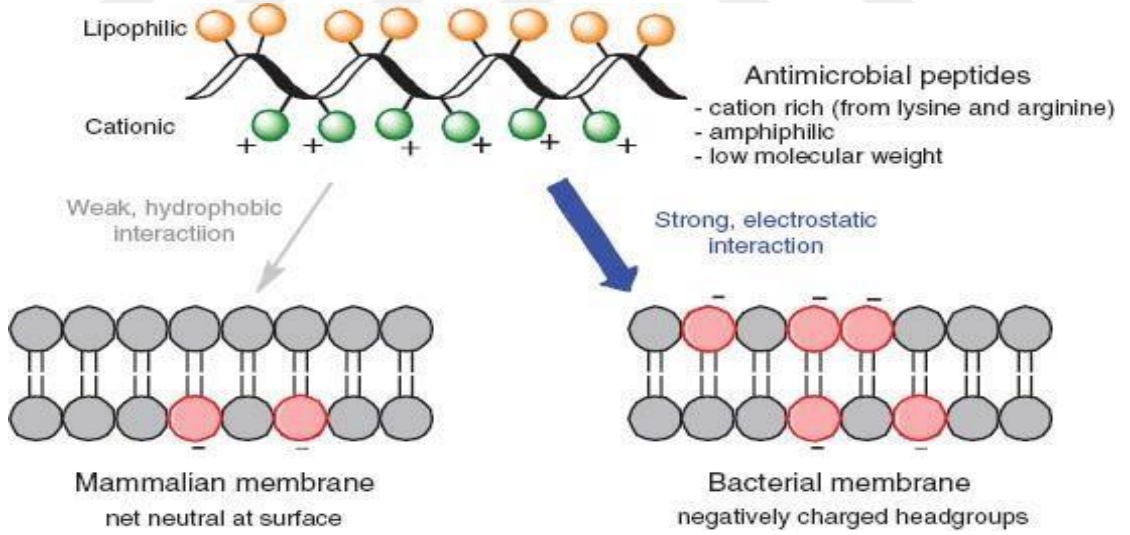
zarın yapısal bütünlüğü bozulur. Zarın seçici geçirgen özelliği yok olarak hücre içi ve dışı dengenin bozulmasına neden olur.

Gram negatiflerde dıştaki lipopolisakkarit (LPS) tabaka ve Gram pozitiflerdeki asidik lipoteikoik asit katyonik peptitlerin bağlanması için ortamı oluştururlar. Mikroorganizmaların iç zarında negatif yüklü oluşu antimikrobiyal aktiviteyi sağlar.

İki temel mekanizması mevcuttur.

- 1- Hücre zar stabilitesini bozmak. 3 farklı şekilde olabilir.
- 2- Hücre içi biyosentezleri baskılamak.

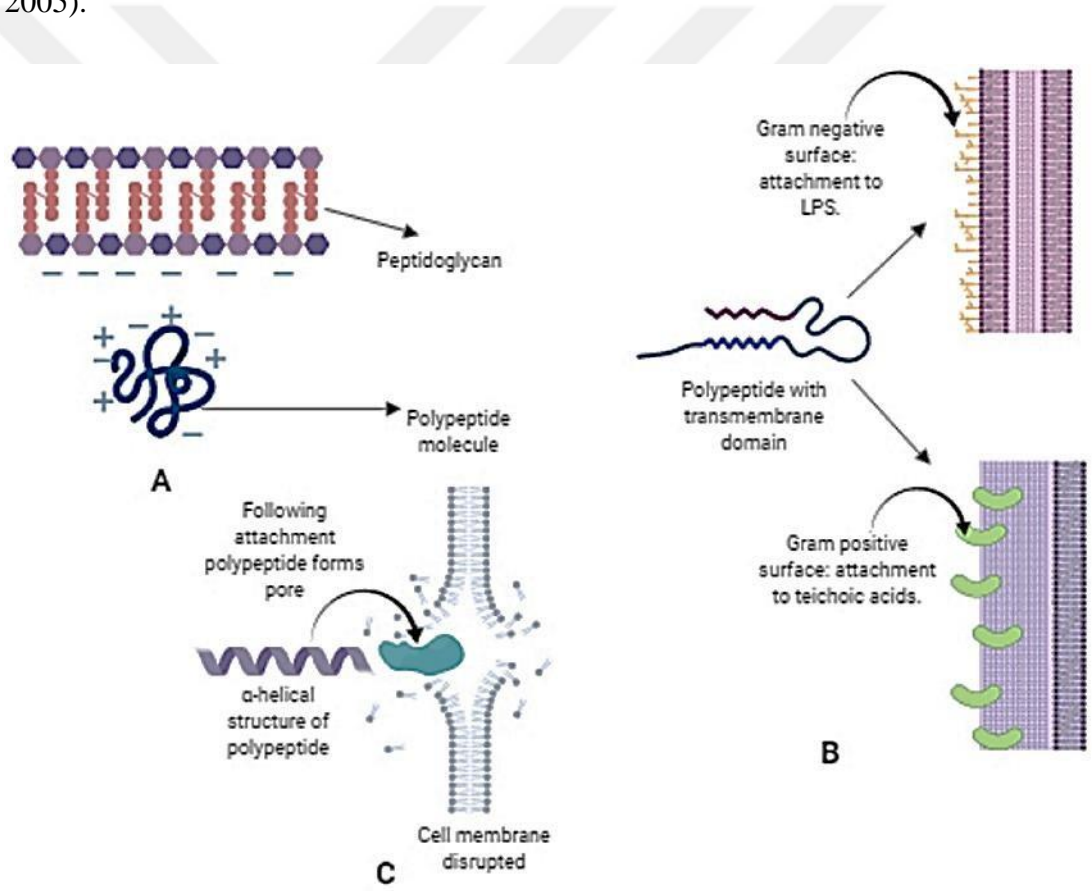
Ökaryotların dış zarları bakterilerinkinden farklıdır. Sfingomiyelin ve fosfatidilkolin gibi elektriksel olarak nötral, iki tabakalı fosfolipitlerden oluşmaktadır. Ayrıca kolesterol içerir. Bakteri dış zar negatif yüklü kardiyolipin ve fosfatidilgliserolden oluşmaktadır. Bu değişiklikler antimikrobiyal etkinliğin insan hücrelerinde toksisitesi olmadan bakterilerdeki seçici öldürücü etkinliklerini açıklamaktadır (Akar ve Uyanıkgil, 2020; Döşler, 2005).



Şekil 6: Antimikrobiyal peptitlerin memeli ve bakteri hücre zarındaki etkileşimi (<https://hymedpoly.eu/wp-content/uploads/2017/07/hymedpoly-workshop-2-antimicrobial-polymers-chiono.pdf?x95919> 28.04.2021)

Anitimikrobiyal peptitlerin LPS yapıları dış zarı geçişi aminoglikozitler ve polimiksinler gibi polikasyonik antibiyotiklerin hücreye girişine benzer yolla gerçekleşir. Pozitif yüklü katyonik peptitler öncelikle negatif yüklü ve polianyonik

yüzeyle LPS ile elektrostatik etkileşime geçer. Bu etkileşimdeki afinite iki değerlikli kation olan ve LPS'i bütün halde tutan Ca^{+2} ve Mg^{+2} dan üç kat daha fazla olduğundan peptitler iyonlarla yarışmalı olarak yer değiştirirler. Hücre yüzeyinde birikerek LPS'i kısmen nötralize ederler ve dış zarın bütünlüğünü bozarlar. Yapısı bozulmuş dış zar bu şekilde küçük proteinler, hidrofobik yapılar, antimikrobiyal maddeler ve en önemlisi de kationik peptitler için geçirgen hale gelir. Kationik peptitler kendi oluşturdukları bu yolla zardan geçip fosfolipit yapıdaki sitoplazma zarına ulaşırlar. Plazma zarını delip dengeyi bozarak ölüme sebep oldukları gibi LPS'lerin serbest şekilleri olan endotoksinlere bağlanarak baskılayıp antiendotoksin etki oluştururlar ve bu sayede antibiyotiklerle sinerjistik etki de oluştururlar (Döşler, 2005).



Şekil 7: Antimikrobiyal peptidlerin genel etki mekanizması. A, bakteri hücre zarının negatif yüklü peptidoglikan tabakası ile amfipilik polipeptit yapısı arasında elektrostatik bağlanmanın ortaya çıktığı çekim aşamasını temsil eder. B, AMP'lerin Gram-negatif hücre çeperinin Lipopolisakkarit (LPS) tabakasına ve Gram-pozitif hücre çeperinin bir teikoik asit tabakasına bağlandığı bağlanma aşamasını temsil eder. C, Bağlantıyı takiben peptidin bir gözenek oluşturduğu ve böylece bakteri hücre zarını bozduğu son peptit yerleştirme adımını temsil eder.

4.3.7. Kolistin

Polimiksin grubuna ait bir katyonik peptittir. İlk olarak 1947'de üretimi gerçekleştirilmiş, 1950-1980 yılları arası kullanılmıştır, ancak daha sonra ortaya çıkan nefrotoksik ve nörotoksik yan etkilerinden dolayı kullanımına ara verilmiş olmakla beraber günümüzde artan direnç sorunundan dolayı tekrar gündeme gelmiştir. Karbapenemaz üreten enterik bakterilerin tedavisinde kullanılır.

Polimiksin grubu A-B-C-D-E olmak üzere beş gruptadır. B ve E tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Polimiksin E, kolistin olarak bilinir. İlk olarak Bacillus colistinus'dan izole edilmiştir (Öncül, 2012).

4.3.7.1. Kolistin etki mekanizması

Hedefi mikroorganizmanın hücre zarıdır. Mikroorganizmanın dış membranındaki anyonik yapıları LPS tabakaya bağlanır. Bu tabakayı stabil halde tutan Ca^{+2} ve Mg^{+2} katyonlarının yerini değiştirerek stabilitenin bozulmasına ve permeabilite (geçirgenlik) artışına neden olarak mikroorganizmayı ölüme götürür. Bunun yanı sıra LPS'in lipid A kısmına bağlanarak endotoksinin etkisini bloke eder (Sümer ve Dikici, 2010).

4.3.7.2. Kolistin yan etkileri

Yan etkilerin doza ve uygulama süresine bağlı olarak geri dönüş gösterirler. Yüksek lipid içerikli nöronlarla etkileşimi sonucu görme bozuklukları, ataksi ve nöbetler, baş dönmesi, mental konfüzyon gibi yan etkileri mevcut olduğu saptanmıştır. Kolistinin nörotoksik yan etkileri oluşturmasındaki etmenler kullanılan ek ilaçlar, hipoksi ve bozulmuş böbrek fonksiyonlarıdır (Kader ve ark., 2016).

Nefrotoksisiteyi etkileyen durumsa kolistinin böbrekten atılırken tübüler geri emilime uğraması sonucunda gerçekleşen konsantrasyon artışıdır. Risk faktörleri incelendiğinde diyabet hastalığı, ileri yaş, kreatinin düzeyi ve kronik obstrüktif akciğer hastalığının varlığıdır (Çınar ve ark., 2019).

4.3.7.3. Kolistine direnç

-Adaptif/ mutasyonel mekanizmalar: PmrA-PmrB regülatör sistemiyle LPS'in fosfat gruplarına etanolamin eklenerek zarın negatif yükündeki azalmayla katyonik polimiksinlerin bağlanma afinitesinin azaltılması direnç durumlarından biridir. Düşük pH, düşük Mg^{+2} konsantrasyonu, yüksek demir konsantrasyonu regülatör sistemi uyaran çevresel faktörlerdir.

-Dış membran proteini OprH'ın aşırı sentezlenmesiyle Mg^{+2} 'lerin yerlerine geçişi: PhoP-PhoQ regülatör sistemi OprH ekspresyonunu sağlayarak kolistinin bağlanmasını azaltır. Eksojen poliaminler ve düşük Mg^{+2} konsantrasyonu regülatör sistemi uyarır (Aydemir, 2019).

4.4. Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alan (ÇDF-EMA)

Elektromanyetik radyasyon, boşlukta yayılabilen bir enerji şekli olup, dalga ve parçacık özelliği gösteren radyasyon olarak açıklanır. Elektromanyetik radyasyonun dalga özelliği, dalga boyu veya frekansı ile karakterize olurken; parçacık özelliğinin, hareket halindeki partiküllerden meydana geldiği düşünülmektedir (Bueche ve Wallach, 1994).

Elektromanyetik dalgalar, elektrik yüklü parçacıkların hareketiyle üretilir. Elektrik yüklü parçacıklardan yayılan dalgalara elektromanyetik radyasyon denir. Düşük frekanslardaki elektromanyetik dalgalara elektromanyetik alan, çok yüksek frekanslarda olanlara elektromanyetik radyasyon denmektedir (Cifra ve ark., 2010).

Elektrik alan; elektrik yüklü cismin, başka bir elektrik yüklü cisme uyguladığı itme ya da çekme kuvvetinin uzaklığının karesi ile ters orantılıdır ve azalarak sonsuza kadar sürer. Yükün etki gösterdiği bölge yükün elektrik alanı olarak adlandırılır ve belli bölge dışında etki görülmeyecek kadar azdır. Elektromanyetik alanlar elektrik ve manyetik alanın bir araya gelmesiyle oluşur. Frekans yükseldikçe dalga boyu kısalır, alanda yayılan enerji yükselir (Sarıkahya, 2014).

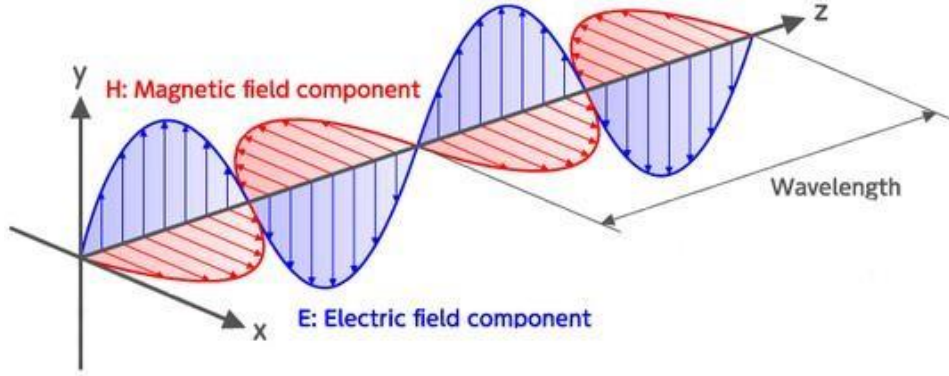
Elektromanyetik radyasyon ise boşlukta yayılabilen dalga ve parçacık özelliği gösterir. Dalga özelliği, dalga boyu ve frekansı ile belirlenirken; parçacık özelliğinin

hareket halindeki partiküllerden oluştuğu düşünülmektedir (Bueche ve Wallach, 1994).

Elektromanyetik dalgaya tekabül eden “ışınım” ile parçacık yayılımı (partikül emisyonu) anlamına gelen “radyasyon” arasındaki farkın ortaya konulmasında fayda vardır. Elektrik şebekelerinden kaynaklanan çok düşük frekanslı (50 Hz) elektrik ve manyetik alanlar iyonize olmayan ışınlardır; tanecik yayılımı söz konusu değildir.

Ancak radyasyonlar ve çok yüksek frekanslı ışınlılar iyonlaştırıcıdır. Yayıdıkları çok kuvvetli enerji, moleküllerin ve atomların içindeki bağların kopmasına neden olabilecek güçtedir ve bu da canlı hücreler üzerinde kimi etkiler yapabilir. Elektromanyetik tayf (spektrum), parçacık yayılımları kısa dalgalı mor-ötesi ışınlım (UV-B) ile başlar ve özellikle X ışınları ve gama ışınları ile ilişkilidir.

Teknolojik cihazların her biri elektromanyetik alan üretici gibidir. Elektrik yüklerinin hareketli olmasıyla etraflarında elektrik ve manyetik alan oluştururlar. Bu alanlar birbirine diktir ve uzayda ışık hızında yayılırlar. Yayılım sırasında madde ile etkileşimleriyle saçılma, kırılma, yansıma ve kırınım oluşabilir.



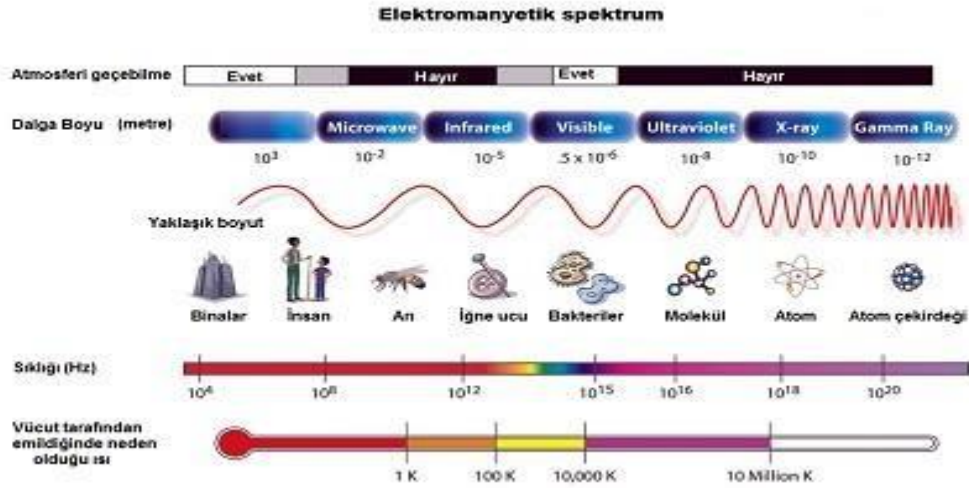
Şekil 8: Elektromanyetik alan

([http://www.emagtech.com/wiki/index.php/Basic Electromagnetic Theory](http://www.emagtech.com/wiki/index.php/Basic_Electromagnetic_Theory)
28.04.2021)

4.4.1. Elektromanyetik dalgaların sınıflandırılması

İşınım (radyasyon) enerjinin maddeye ve insana etkiyen parçacıklar ve dalgalar şeklinde aktarımı ve yayımıdır. Elektromanyetik dalgalar foton denilen küçük enerji paketlerinden oluşmaktadır. Fotonun enerjisi frekansı ile doğru orantılıdır; frekans

arttıkça fotonun enerji miktarı da artmaktadır. Madde üzerindeki etkiye göre halk sağlığı açısından gruplandırılırsa frekans spektrumundaki 300 GHz'in altında olan iyonlaştırmayan radyasyon ve 300 GHz üzeri iyonlaştırılanlar olmak üzere iki gruptadır (Sorgucu ve ark., 2011). İyonlaştıran radyasyon atom ve moleküllerden elektron koparabilir, serbest radikal oluşturabilir. İyonlaştırmayan radyasyon; atomik bağlarını kırabilecek enerjisi olmayanlardır. Buna rağmen kimyasal reaksiyonlara, ısınmaya, hücre ve dokuda elektrik akımının uyarılmasına sebebiyet verebilir. Çok düşük frekanslı elektromanyetik alan iyonlaştırmayan grubun içindedir. İyonlaştırmayan radyasyon ve elektromanyetik alanların oluşturduğu elektrik potansiyeli, canlı hücrelerdeki iyonik yükleri kendi alan çizgileri yönünde değiştirirler. ÇDF-EMA'nın doku ve hücrelerdeki etkisi şiddet, süre ve frekansına bağlıdır (Türkan ve Pala, 2009). Frekans ve yoğunluklarına bağlı olarak 4 alt grup halindedir. Çok düşük frekanslı elektromanyetik alan 0-300 Hz aralığında bu alt gruplardan birdir. 50-60 Hz aralığında şehir elektrik gücünün yaygın olmasından dolayı halk sağlığı açısından önemlidir. Teknolojik gelişmelerin artışı gün içerisinde toplumun maruz kaldığı ÇDF-EMA'yı da arttırmaktadır (Kılıçkap ve Erdiş, 2013).



Şekil 9: Elektromanyetik spektrum (<https://www.vecteezy.com/vector-art/1845125-science-electromagnetic-spectrum-diagram> 28.04.2021)

4.4.2. Elektromanyetik alanın etkileri

ÇDF-EMA'nın insan sağlığı üzerine etkisini araştıran ilk çalışmalardan olan Wertheimer ve Leeper'ın 1979'da yaptığı epidemiyolojik çalışma yüksek gerilim hatları etrafında yaşayan çocuklarda kanser görülme sıklığının arttığını göstermiştir.

Bu alanların kanserogenez veya kanser prognozunu nasıl etkilediği ve bunun mekanizması üzerine birçok çalışma yapılmış ve Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 1996 yılında başlattığı ve uluslararası işbirliği ile yürütülen Elektromanyetik Alan Projesinin sonuçlarını değerlendiren Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC), ÇDF-EMA'yı 2B sınıfında (olası kanserojen) olarak tanımlamış (IARC, 2002) ve ülkemizde de halk sağlığının korunması için gerekli tedbirler yönetmeliği (Çevre ve Orman Bakanlığı, 2010) kabul edilmiştir.

Ancak ÇDF-EMA'nın pencere etkisi nedeniyle tedavi süreçlerinde kullanımı ile ilgili çalışmalar da giderek yaygınlaşmaktadır. Bu çalışmalar, alan parametrelerinin doğru seçilmesi durumunda elektromanyetik alanların tedavi amaçlı kullanılabileceğini göstermektedir (Rosch ve Markov, 2004). ÇDF-EMA'nın hücre veya organizmaya etkisini gösteren birçok çalışmaya rağmen etki mekanizması henüz anlaşılamamıştır. Araştırmacılar yapılan deney sonuçlarından elde ettikleri verilerden bu alanların etkilerinin özellikle Ca^{+2} akısında meydana gelen değişimler, serbest radikal seviyelerinde değişimler ve plazma membranında meydana gelen değişimler ile gerçekleştiği sonucuna varmışlardır. Ancak çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilebilmektedir. Bunun başlıca nedeni ise tüm araştırmacıların hemfikir oldukları bu alanların "pencere" etkisi göstermesidir. Pencere etkisi bazı frekans ve manyetik alan şiddet değerlerinde bir etkilenimin olduğu, diğer bazı değerlerde daha az veya ters bir etkilenim görülmesi durumudur. Frekans, alan şiddeti, uygulama süresi ve aynı zamanda hücre tipine bağlı değişen bu "pencere"ler canlıların elektromanyetik alan uygulaması sonucu farklı yanıtlarını belirlerler (Adey, 1981). ÇDF-EMA üzerine yapılan çalışmalardaki değişiklikler bunlardan kaynaklanır.

Bu sonuçların tersine veriler olmasına rağmen bilimsel çevrelerde bu alanların canlı varlıkları etkilediği kesin olarak saptanmıştır (Frey, 1992; Simko ve Mattsson; 2004)

Bu alanların biyolojik sistemleri etkilediği tüm bilimsel çevrelerde kesin olarak kabul edilmektedir. (Frey, 1992; Simko ve Mattsson; 2004)

4.4.2.1. Biyolojik sistemler ve insan sağlığı üzerindeki etkileri

Statik manyetik alan yer kürede kuzeyden güneydir ve canlılar bu duruma uyumlu haldedir. Avrupa ve ABD'de koloni çöküşü bozukluğu olarak bilinen arıların ve kuş

göçlerinin elektromanyetik alanlar ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Balmori, 2009). Hayvanların yön bulmalarına yardımcıdır (Türkkan ve Pala, 2009).

Binalardaki elektrik tesisatı ve güç iletim hatlarındaki yayılan alanlar 50-60 Hz civarında maruz kaldığımız ÇDF-EMA'lardır. Esas kaynak enerji iletim hatlarıdır. Cep telefonları ve baz istasyonları, radyo ve televizyon kanalları, radar, GPS, uydular, medikal, araştırma cihazları ise düşük frekanslı olarak sınıflandırılan 300 MHz'den düşük frekanslı elektromanyetik radyasyondur (Kılıçkap ve Erdiş, 2013). Gelişen teknoloji bu alanlara maruziyeti arttırmıştır. Teknolojik ürünlerin günlük hayatta yaygınlaşmasıyla birlikte elektromanyetik dalgaların biyolojik etkileri tartışılmaya başlanmıştır.

Örneğin göz yanması, kulak çınlaması, halsizlik, baş ağrısı, uykusuzluk, yorgunluk... vb. etkiler cep telefonu gibi (1800 MHz) düşük frekanslı elektromanyetik radyasyona maruz kalındığı zaman görülebilen etkilerdir.

Etkiler alanın şiddetine, frekansına, vücudun elektriksel özelliklerine ve ölçülerine, kaynakla uzaklığına ve süresine bağlıdır. Astronotlarda görünen denge kaybı gibi etkilerin nedeni dünyanın sahip olduğu manyetik alanın eksikliğindedir (Türkkan, 2012).

Hamilelikte EMA'ya uzun süreli maruziyetin düşüklere neden olduğu kanıtlanmıştır. Doğumsal hastalıklarda ve anomalilerde ilişkiyi araştırmalar üzerinde henüz net yorum yapılmamaktadır(Türkkan ve Pala, 2009).

ÇDF- EMA kısa süreli uygulandığında makrofaj ve diğer hücreler etkilenecek bağışıklık sistemini tetikler. (Frahm ve ark., 2006). ÇDF-EMA oksidatif stresi artırır ve antioksidan enzim aktivitesinde azalmalara yol açar (Türkkan, 2012).

4.4.2.2. Bakteriler üzerindeki etkileri

Prokaryotik hücrelere etkisi üzerine çalışmalar son yıllarda artış göstermiştir. Bu çalışmalar, statik manyetik alanların, ÇDF-EMA'nın, pulslu ÇDF-EMA'nın prokaryot fizyolojisinde meydana getirdiği değişimleri içermektedir. Genel olarak bakteri çoğalmasını azalttığı gözlemlenmiştir (Moore, 1979).

Fojt ve ark. (Fojt ve ark., 2004) 50Hz, 10mT şiddetindeki alanların E.coli, Leclercia adecarboxylata ve Staphylococcus aureus kökenlerinde koloni oluşturan birimde (KOB) azalmaya yol açtığını göstermiştir. Strasak ve ark., 5mT- 21mT arası manyetik alan şiddetinin bakterilerdeki etkisini taramış ve sağkalımda azalma gözlemiştir (Strasak ve ark. 2002). 50Hz, 2mT alana 6 saat maruz kalan E.coli hücrelerinde çoğalmanın azaldığı saptanmıştır (El-Sayed ve ark., 2006). Statik manyetik alanların da bakteri çoğalmasını inhibe ettiği bildirilmiştir (Piatti ve ark., 2002; Zhang ve ark., 2003). Diğer ilginç bir bulgu da mikroorganizmalarla karşılaşan bağışıklık sistemi hücrelerinde ÇDF-EMA'nın etkisinin araştırıldığı çalışmalarda, etkiye bağlı olarak fagositoz aktivitesinin arttığı gösterilmiş olmasıdır (Hashem ve ark., 2009; Frahm ve ark., 2006). Bu bulgulara ek olarak, ÇDF-EMA'nın süperoksit seviyelerini (Simko ve ark., 2001; Rollwitz ve ark., 2004) ve çalışma grubumuz tarafından gerçekleştirilen bir çalışma ile nitrik oksit seviyelerini arttırdığı da saptanmıştır (Akan ve ark., 2010).

ÇDF-EMA'nın bakterilerde hücre zarının bozulmasına neden olduğu da gösterilmiştir (İnhan-Garip ve ark., 2011). Sitoplazmik içeriğin ekstrüzyonu, sitoplazmik zarın retraksiyonu, tomurcuklanması gibi etkilere neden olduğu da görülmüştür (Yenugu ve ark., 2004).

4.4.3. Korunma yöntemleri

Yatak odası ve duvarın bitişindeki odaya monteli TV, bilgisayar gibi elektromanyetik alan yayması söz konusu olan aletlerin olmaması gerekmektedir. Saç kurutma makinesi uzun süre kullanılmamalıdır. Tv, mikrodalga gibi eşyalar kullanılırken araya mesafe konmalıdır. Yüksek EMA yayan aletlerin çevresinde ekranlama yapılmalıdır ve bunun içinde topraklanma şarttır. Çalışma ortamında yüksek EMA maruziyeti varsa vardiyalı çalışma sağlanmalıdır. Tüm yaşam alanları ve iş yerlerinde bu alanların düzenli olarak ölçümü yapılmalıdır.

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Standart Bakteri Suşları

Acinetobacter baumannii ATCC 19606

Escherichia coli ATCC25922

5.2. Kimyasal Maddeler

Mueller Hinton II Broth

Kanlı Agar

5.3. Kullanılan Cihazlar

Siemens Buzdolabı

Heraeus B50 İnkübatör

Memmert Etüv

AA Tech AWG- 1020 Elektro Dalga Üreteci

Akım Güçlendirici Özel Yapım

400 Sarımlı Selonoid Bobin Özel Yapım

Standart 96'lık Şeffaf Plate

Sypris 5100 series

(Kabin)

Multiskan EX Spektrofotometre

5.4. Besiyeri

Kanlı Agar plate içerisinde ve Mueller Hinton II Broth erlen ile Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından temin edilmiştir.

5.5. Bakteri Suşu

Acinetobacter baumannii 19606 ve *E.coli* ATCC25922 Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından temin edilmiştir. Kanlı agarda 37°C'de etüvde 18 saat inkübe edilmiş, 4°C'de buzdolabında saklanmıştır. Deney öncesi kanlı agara tekrar ekilerek 37°C'de 18 saat inkübe edilmiştir.

5.6. Kolistin Solüsyonunun Hazırlanması

Kolistin stok solüsyonu 1280 µg/ml konsantrasyonda steril distile su içerisinde çözülerek hazırlandı. Çözülen antibiyotik, 1 ml hacimde steril mikrotüplere dağıtılarak -20°C'de saklandı.

5.7. Uygulanacak ÇDF-EMA Parametresinin Belirlenmesi

Bir gün önceden katı besiyerine ekilen *Acinetobacter* suşları 18 saat etüvde inkübe edildi. İnkübe edilen suşların McFarland 0.5 standardında (1×10^8 CFU/mL) ayarı yapıldı. 2 ml'lik ependorflara dağıtılır. ÇDF-EMA 15 cm iç çaplı, 32 cm yüksekliğinde ve 400 dönüş bakır telli solenoid ile üretildi. Jeneratör, yerel AC alan şiddetine göre 50 Hz veya 30 Hz ve 1 mT veya 2 mT verecek şekilde ayarlandı. Zemine dikey olarak konumlandırılan solenoid, solenoidin ortasında bulunan bir numune tabağı üzerinde homojen bir dikey manyetik alan oluşturuldu. Bu sistem etüve (Heraeus B50, Heraeus-Christ, Hanau, Almanya) yerleştirildi. Kontrol bakteri hücreleri başka bir etüve (Mettler BE 500, Mettler GmbH, Schwabach, Almanya) yerleştirildi. Her iki inkübatörde nem, sıcaklık ve statik manyetik alan gibi fiziksel parametreler aynıdır. Sahada uygulanan solenoid ve maruz kalmayan numunelerin iç sıcaklığı manuel olarak izlendi ve değişimin $\pm 0.2^\circ\text{C}$ olduğu görüldü. ÇDF-EMA sistemi, alan stabilitesini korumak için deneyden en az 1 saat önce açıldı. Ölçümler için bir gauss metre (Sypris 5100 serisi, F.W. Bell, Florida, ABD) kullanıldı. 600 nm'de optik yoğunluk (OD) ölçümleri, bakterilerin üremesini belirlemek için her iki tüpten 0, 3, 6, 18 ve 24. saatlerde gerçekleştirildi. Bu amaçla bir UV / vis spektrofotometre (Multiskan EX, Thermo Electron Corp., Vanta, Finlandiya) kullanıldı.

5.8. Kolistin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun (MİK) Belirlenmesi

MİK testinde besiyeri olarak katyon ayarlı Mueller-Hinton sıvı besiyeri (KAMHB) kullanıldı. Üretilen bakteri suşları McFarland 0.5 standardına eşit bulanıklık (1×10^8 KOB/ml) oluşturacak şekilde 5 ml steril KAMHB içerisinde süspanse edilerek inokulum hazırlandı. MİK belirlemek için 96 kuyucuklu U tabanlı mikropalaklar kullanıldı. Kuyucuklardaki kolistin konsantrasyonları 640 $\mu\text{g/ml}$ 'den başlayarak ve 1/2 dilüsyon yapılarak hazırlandı. Her plakta bir besiyeri sterilite kontrol kuyucuğu (sadece besiyeri) ve bir de bakteri üreme kontrol kuyucuğu (sadece bakteri) yer aldı. Kuyucuklarda antibiyotik dilüsyonları hazırlandıktan sonra, hazırlanan taze bakteri inokulumundan her kuyucuğa 100 μl dağıtıldı. Belirlenen ÇDF-EMA'da inkübe edildi.

5.9. İstatiksel Analiz

Deneysel verilerin analizi GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, La Jolla, CA, ABD) ile yapıldı. Deneysel verilerin farklılıklarının önemi, eşleşmemiş t-testi kullanılarak değerlendirildi. Tüm deneyler, üç farklı çalışmada üç kez yapıldı, $n \geq 3$. $p < 0.001$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Değerler ortalama \pm SD'dir (standart sapma).

6. BULGULAR

Kolistin duyarlı ve kolistine dirençli *A.baumannii* suşları farklı frekans ve şiddetlerde ÇDF-EMA'ya tabi tutulmuştur. Belirlenen frekans ve şiddet değerindeki ÇDF-EMA maruziyeti ile birlikte kolistin deneyleri yapılmıştır.

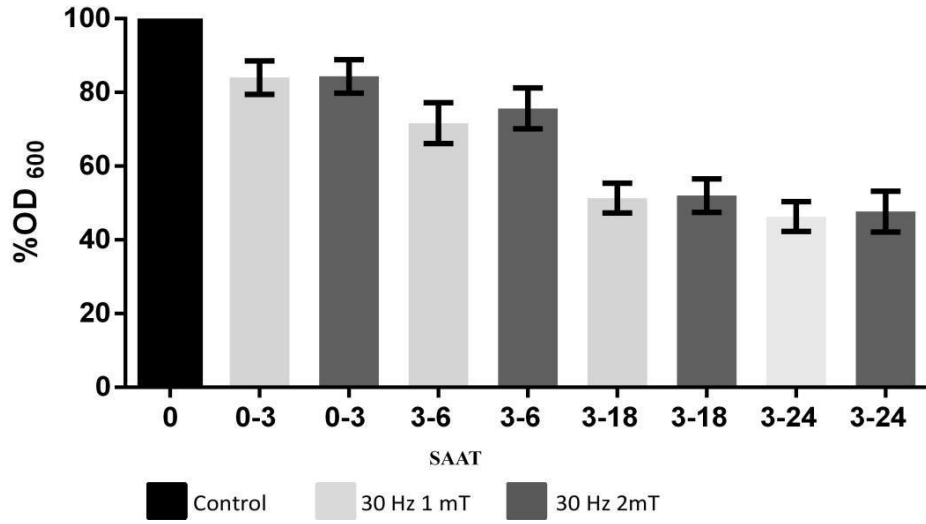
6.1. Çok Düşük Frekanslı- Elektromanyetik Alan

ÇDF-EMA'nın etkisinin elektromanyetik alan parametrelerine, frekansa ve şiddete ve ayrıca uygulama süresine bağlı olduğu bilindiğinden iki frekans ve iki farklı yoğunluk seçilmiştir. Bunlar; 30 Hz 1 mT, 30 Hz 2 mT, 50 Hz 1 mT ve 50 Hz 2 mT'dir. Bakterinin üreme eğrilerine göre 0-3, 3-6, 3-18 ve 3-24 saatlik ÇDF-EMA maruziyet sürelerini takiben 3., 6., 18. ve 24. saatlerde optik yoğunluk (OD) ölçümlerinin alınmasına karar verilmiştir (Tablo 3). 3. saat, lag fazından logaritmik faza geçiştir. Bu nedenle bu bir geçiş parametresi olarak kabul edilmiştir. ÇDF-EMA'ya bırakılan aynı suşların bir diğer örnekleri de kontrol etüvüne bırakılmıştır.

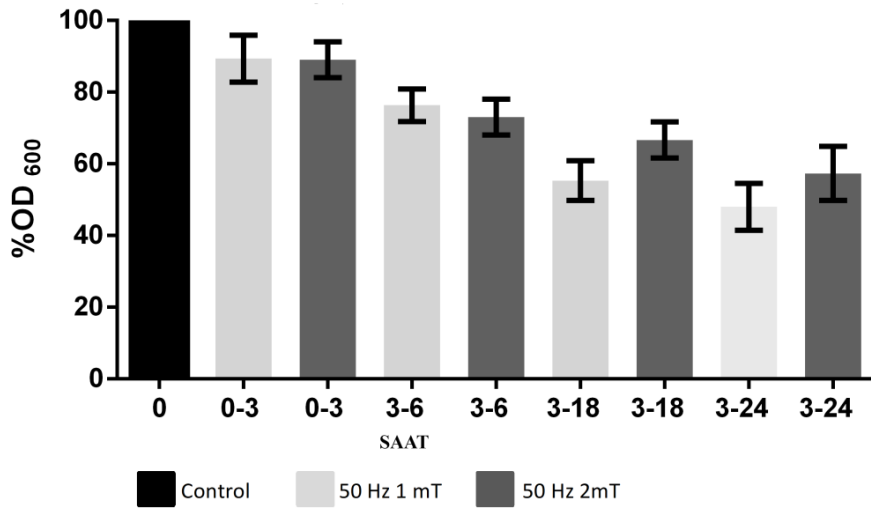
Tablo 3- ÇDF-EMA uygulama süreleri (Açık gri; kontrol etüvü, Koyu gri ; ÇDF-EMA maruziyetinde olan grup)

Deneyler	İnkübasyon Süresi (Saat)					Uygulanma Periyotları
	0	3	6	18	24	
Çalışma 1						0-3
Çalışma 2						3-6
Çalışma 3						3-18
Çalışma 4						3-24

Her iki suşun üreme eğrilerini belirlemek için 600 nm'de OD ölçümleri yapıldı. Bunun sonucunda ÇDF-EMA maruziyetinin her iki *A.baumannii* suşu için üreme oranında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüğe neden olduğu gözlemlenmiştir (bkz. Şekil 10 ve Şekil 11). Her iki suş için ÇDF-EMA'ya maruz kalan ve kontrol (t testi, $p < 0.0001$) arasında üreme oranlarındaki farkın anlamlı olduğu bulundu.

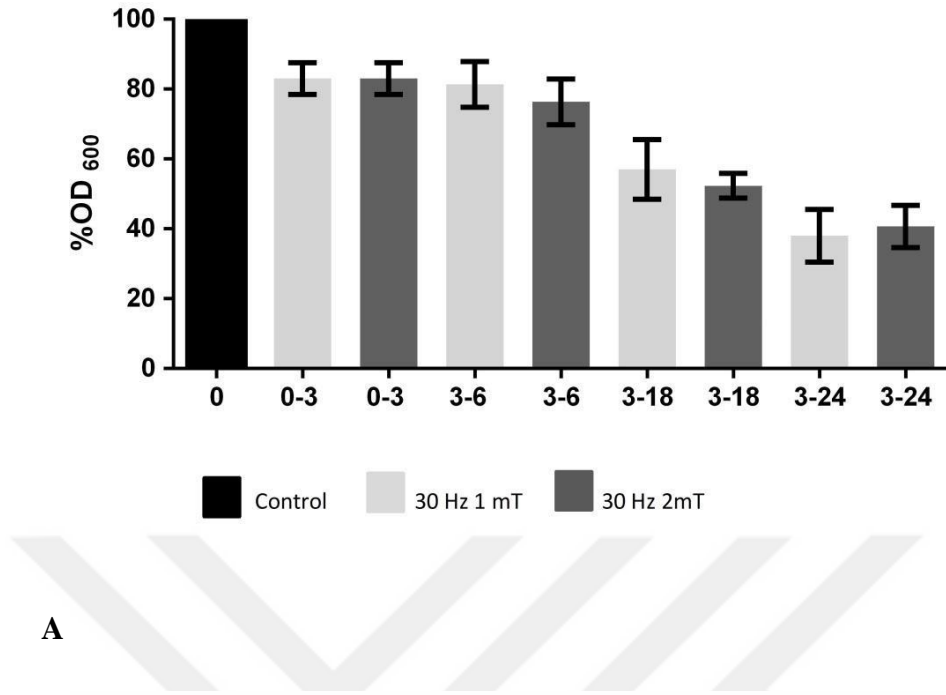


A

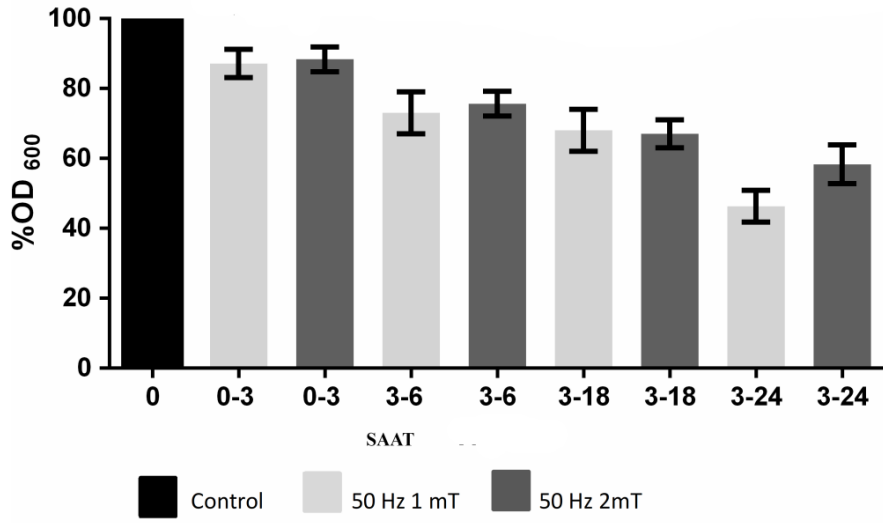


B

Şekil 10. Kolistin dirençli suş için A- 30 Hz 1 ve 2 mT, B- 50 Hz 1 ve 2 mT uygulama sonuçları



A



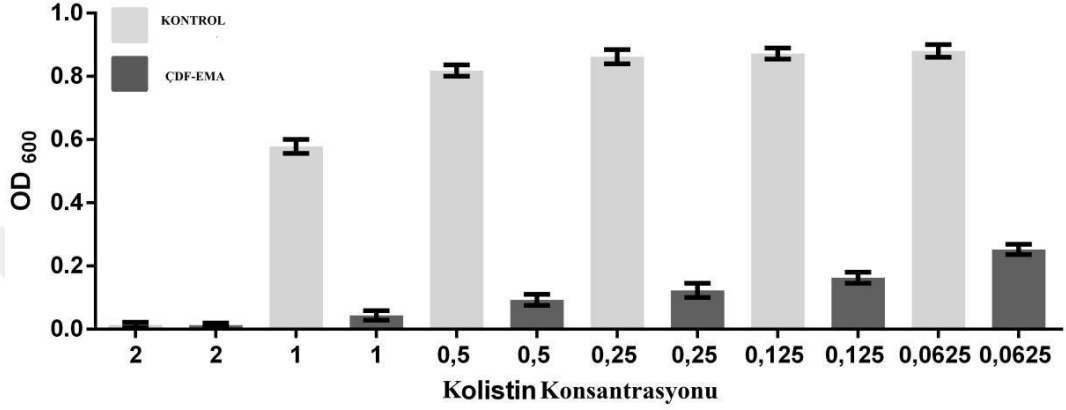
B

Şekil 11: A- Kolistin duyarlı suş için A- 1 ve 2 mT, B- 50 Hz 1 ve 2 mT uygulama sonuçları

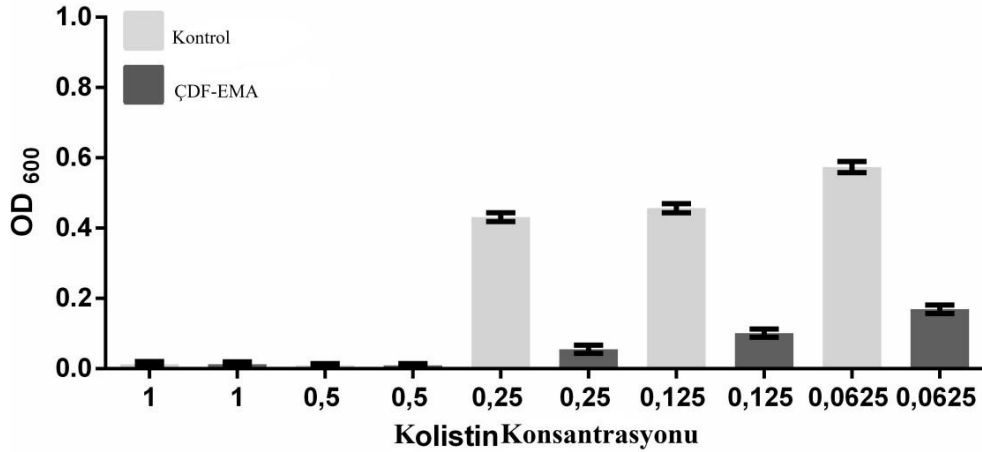
Elde edilen sonuçlar doğrultusunda her iki suş içinde en anlamlı düşüş 3-24 saat aralığında 30 Hz 1 mT parametreleri arasında görülmüştür.

6.2. Belirlenen Parametrede Kolistin Uygulanması

Üreme hızındaki en belirgin fark 30 Hz 1 mT ve 3-24 saatleri arasındaki ÇDF-EMA maruziyetiyle elde edilmiş ve bu ÇDF-EMA alan parametresi kolistin duyarlılık testi için kullanılmıştır.



Şekil 12: Dirençli suş kolistin duyarlılığı



Şekil 13: Duyarlı suş kolistin duyarlılığı

Duyarlı ve dirençli *A. baumannii* suşlarının kolistin duyarlılığı, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) tespiti ile belirlenmiştir. MİK test yöntemi, EUCAST (Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi) yönergelerine göre gerçekleştirildi ve kontrol suşu olarak *E. coli ATCC 25922* kullanıldı. Her iki suş için MİK testleri, belirlenmiş ÇDF-EMA ve maruz kalma süresi parametreleri, yani 3-24 saat süreyle 30 Hz ve 1 mT

altında gerçekleştirilmiştir. 640 µg/ mL ile 0,0625 µg / mL arasındaki kolistin konsantrasyonları kullanılmıştır. Yüksek kolistin konsantrasyonları bakterisidal etkiye neden olmuştur. *A. baumannii* ATCC19606'nın (duyarlı suş) kolistin MİK değeri 0.5 µg / mL olarak bulundu ve EUCAST tarafından bildirilen kabul edilen aralık içindeydi (Şekil 13). Dirençli *A.baumannii* için Kolistin MİK değeri 2 µg / mL olarak belirlendi (Şekil 12). 30 Hz 1 mT ÇDF-EMA maruziyetinin her iki *A.baumannii* suşu için kolistin MİK değerlerini düşürdüğü görüldü. Duyarlı suş, kolistin için 0.25 µg / mL MİK göstermiştir. Öte yandan ilginç bir şekilde ÇDF-EMA'nın dirençli suş üzerinde daha belirgin bir etki gösterdiği belirlenmiştir ve kolistin MİK değerini 0,5 µg / mL'ye düşmüştür, bu da kolistin duyarlılığında 4 kat artış anlamına gelmektedir.

7. TARTIŞMA

Günümüzde gelişen teknolojiyle ÇDF-EMA hayatımızın tümüne yayılmış bulunmaktadır. Yer küreden yayılan manyetik alana karşı prokaryotik ve ökaryotiklerin sahip olduğu uyum teknolojiyle artan ÇDF-EMA yüzünden değişmektedir. Bu değişen etki seviyeleri konusunda araştırmalar giderek yaygınlaşmıştır.

ÇDF-EMA'nın organizma ve hücreye etkisine yönelik yapılan birçok çalışmaya rağmen etki mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. Pencere etkisi olarak adlandırılan etkiyle ÇDF-EMA olumsuz etkiler kadar olumlu etkilerde gösterebilmektedir. Pencere etkisi; bazı frekans ve manyetik alan şiddet değerlerinde etkilenim olduğu, diğer bazı değerlerde az ya da ters etkilenim görülmesi durumudur. Frekans, alan şiddeti, uygulama süresi ve aynı zamanda hücre tipine bağlı değişen bu pencereler canlıların elektromanyetik alan uygulamasıyla farklı yanıtlarını belirlerler (Adey, 1981).

Bu çalışmaların çoğunluğu kanser patogenezi üzerine olmasına rağmen farklı hastalıkların tedavi süreçlerinde kullanımıyla ilgili çalışmalar artmaktadır. Alan parametrelerinin doğru seçilmesi ile tedavi amaçlı kullanılabileceğini ortaya koymaktadır (Rosch ve Markov, 2004). Örneğin darbeli (pulsu) ÇDF-EMA'ların osteoartritte (Iannitti ve ark. 2013), Parkinson hastalığında (Vadala ve ark. 2015) ve onkolojide (Vadala ve ark. 2016) kullanılmaları doğrultusunda çalışmalar yapılmaktadır.

Yapılan çoğu çalışma ökaryotlar üzerine olsa da prokaryotik hücrelerdeki etkilerini belirlemek üzerine yapılan çalışmalar da artmıştır. Bu çalışmalar, statik manyetik alanların, ÇDF-EMA'nın ve darbeli ÇDF-EMA'nın prokaryot fizyolojisinde meydana getirdiği değişimleri içermektedir. Genel olarak bakteri çoğalmasını azalttığını gösteren bu çalışmalar ümit vericidir. Bu konudaki çalışmalardan ilkinde alan şiddeti ve frekansa bağlı olarak manyetik alanların, mikroorganizmaların çoğalmasını engellediği gösterilmiştir (Moore, 1979). Bizim çalışmamızda daha önce yapılan çalışmalar ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Fojt ve ark. (Fojt ve ark., 2004) 50Hz, 10mT şiddetindeki alanların *E.coli*, *Leclercia adecarboxylata* ve *Staphylococcus aureus* kökenlerinde koloni oluşturan birim (KOB) bazında azalmaya yol açtığını göstermiştir. Strasak ve ark. 5mT-21mT arası manyetik alan şiddetinin bakterilerdeki etkisini taramış ve sağkalımda azalma gözlemiştir (Strasak ve ark. 2002). 50Hz, 2mT alana 6 saat maruz kalan *E.coli* hücrelerinde çoğalmanın azaldığı saptanmıştır (El-Sayed ve ark., 2006) .

ÇDF-EMA uygulamasının bağışıklık sistemi üzerine etkilerinin de araştırılması bu alanların bakteri çoğalması üzerine etkilerinin önemli bir unsurudur. Bu konuda Simko ve grubunun yaptığı çalışmalar öne çıkmaktadır. Simko ve ark. 50 Hz, 0.5 – 1.5 mT elektromanyetik alanın 45 dk. uygulanmasının makrofajların hem fagositik aktivitesini % 36 oranında güçlendirdiğini hem de süperoksit oranlarını arttırdığını saptamışlardır. Daha sonra Frahm ve ark., 45 dk. süreyle uygulanan 50 Hz, 1 mT alanın makrofajlarda fagositik aktiviteyi ve serbest radikal seviyesini arttırdığını ve IL-1b salınımına yol açtığını, genotoksik bir etkinin ise görülmediğini belirtmişlerdir (Frahm ve ark. 2006). Aynı grubun 2010'da yaptığı bir diğer çalışmada ise ÇDF-EMA'nın hücrenin redoks düzenlenmesinde belirleyici olan protein ekspresyonlarında değişimlere neden olduğunu gözlemlemişler ve ÇDF-EMA'nın reaktif oksijen türevlerinin (ROT) seviyelerini arttırdığını ancak bunu LPS (lipopolisakkarit) yolağından farklı biçimde, farklı proteinlerin ekspresyonu ile meydana getirdiğini ileri sürmüşlerdir. Hashem ve ark. 30 gün boyunca günde 4 saat 50 Hz 2 mT alan uygulaması sonucu farelerde fagositoz aktivitesinin anlamlı bir şekilde arttığını gözlemişlerdir.

Diğer ilginç bir bulgu da, lateks boncuklarla yapılan bir çalışmada (Frahm ve ark., 2006) ve farelerle yapılan diğer çalışmada (Hashem ve ark., 2009) ÇDF-EMA etkisiyle fagositoz aktivitesinin arttığının gösterilmiş olmasıdır. Çalışma grubumuz tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, ÇDF-EMA'ya maruz bırakılan bakterilerin elektron mikroskopi görüntülerinde ÇDF-EMA'nın bakteri zarında katyonik peptidlerin etkisine benzer bir etki meydana getirdikleri gözlenmiştir (Inhan-Garip ve ark. 2011). Katyonik peptidlerin bakteri zarı ile elektrostatik etkileşime girdikleri göz önüne alındığında (Yeaman ve Yount, 2003) ÇDF-EMA'nın benzer bir etkileşim içinde olduğu düşünülebilir. Bu öngörü ile ÇDF-EMA'nın zar elektrostatik

zelliklerinde olası değişimleri değerlendirilmiş ve yapılan n çalışmalarda hem yüzey yükünde hem de zar potansiyelinde kontrol gruplarına göre farklılıklar gözlenmiştir. Çalışmamızda kullandığımız bir katyonik peptit olan kolistininki de DF-EMA uygulamasıyla birlikte farklılık göstermiştir. Daha düşük kolistin dozaj ile daha etkili sonuçlar elde edilmiştir.



8. KAYNAKÇA

1. Abbo A., Navon-Venezia S., Hammer- Muntz, Krichali T., Siegman-Igra Y., Carmeli Y. Multidrug-Resistant Acinetobacter Baumannii. Emerging Infectious Diseases 2005 Vol. 11, No. 1
2. Adey W.R. Tissue Interactions With Non-Ionizing Electromagnetic Fields. *Physiol. Rev.* 61,435-513, 1981.
3. Akar S., Uyanıkgil E.Ö.Ç. Antimikrobiyal Peptitlerin Proinflamatuvar Yanıttaki Potansiyelleri. *Med J Sdu / Sdü Tıp Fak Derg U* 2020;27(1):145-153
4. Akkan A.G. Antibiyotiklerin Sınıflandırılmaları. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Pratikte Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu, 2 - 3 Mayıs 1997, İstanbul, S. 53-62
5. Aktaş G. Antibiyotik Kombinasyonları Ve Sinerjistik Etkileşimleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2014 44(2):47-55.
6. Aktuğlu Y., 1997, Giriş ve Genel Bilgiler, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Pratikte Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu, 2 - 3 Mayıs 1997, İstanbul, s. 11-25

7. Akyar I., Rota S. Geniş Spektrumlu Doğal Antibiyotikler: Katyonik Peptidler. 26 Flora 1999;4(1):26-33
8. Almasaudi S.B. Acinetobacter Spp. As Nosocomial Pathogens: Epidemiology And Resistance Features. Saudi Journal Of Biological Sciences 2018 25, 586-596
9. Apan T. Yeni Peptid Antibiyotik Olan Magainin Ve Peksigananın Etkileri. Türk Hij Den Biyol Derg 2004Cilt 61, No 1,2,3 S : 37 - 40
10. Archibald L., Phillips L., Monnet D., MCGowan J.E., Jr., Tenover F., Gaynes R. Antimicrobial Resistance İn Isolates From Inpatients And Outpatients İn The United States: Increasing Importance Of The Intensive Care Unit. Clinical Infectious Diseases 1997; 24:211-5
11. Aşkar Ş., Aşkar T.K. Antimikrobiyel Proteinler Ve Bağışıklıktaki Önemi. Balıkesir Sağlık Bil Derg Cilt:6 Sayı:2 Ağustos 2017
12. Ayan M, Durmaz R, Aktas E, Durmaz B. Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of hospital-acquired Acinetobacter baumannii infection in a teaching hospital. J Hosp Infect, 2003; 54: 39-45.
13. Aydemir Ş. Kolistin Duyarlılığı: Sorunlar Ve Çözüm Önerileri. Ekmud İzmir Günleri, 2019

14. Ayhancı T., Altındış M. Antimikrobiyal Peptidlerin Sepsis Tanısındaki Rolü. *Journal Of Bshr* 2019;3(1):1-7
15. Bahar A.A., Ren D. Antimicrobial Peptides, *Pharmaceuticals* 2013, 6, 1543-1575
16. Balcı M., Bitirgen M., Kandemir B., T.Arıbaş E., Erayman İ. Nozokomiyal *Acinetobacter Baumannıı* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılığı. *Ankem Derg* 2010;24(1):28-33
17. Balmori A. Electromagnetic Pollution From Phone Masts. Effects On Wildlife. *Pathophysiology* 16 (2009) 191–199
18. Basri R., Zueter A., Mohamed Z., Alam M.K. Burden Of Bacterial Meningitis: A Retrospective Review On Laboratory Parameters And Factors Associated With Death İn Meningitis. Kelantan Malaysia., *Nagoya Journal Of Medical Science* 2015
19. Berezin E.B., Towner K.J. *Acinetobacter* spp. as Nosocomial Pathogens: Microbiological, Clinical, and Epidemiological Features. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, Apr. 1996, p. 148–165
20. Brogden K.A., Ackermann M.R., Mccray P.B., Tack B.F. Antimicrobial Peptides İn Animals And Their Role İn Host Defences. *International Journal Of Antimicrobial Agents* 22 2003 465 /478

21. Brogden N.K., Brogden A.,K. Will New Generations Of Modified Antimicrobial Peptides Improve Their Potential As Pharmaceuticals. *Int J Antimicrob Agents*. 2011 September ; 38(3): 217–225

22. Bueche F., Wallach D.L. *Technical Physics*. ISBN: 978-0-471-52462-5
February 1994 704
23. Carnicell V., Lizzi A.R., Amicosante G., Bozzi A. Interaction Between Antimicrobial Peptides (Amps) And Their Primary Target. *The Biomembranes, Microbial Pathogens And Strategies For Combating Them: Science, Technology And Education (Pp.1123 -1134)*Editors: A. Méndez-Vilas, Ed, 2013

24. Chagas T.P.G., Carvalho K.R., Santos I.C.O., Carvalho-Assef A.P.D., Asensi M.D. Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Brazil (2008–2011): countrywide spread of OXA-23–producing clones (CC15 and CC79). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2014. 468-472.

25. Choi C.H., Lee E.Y., Lee Y.C., Park T.I., Kim H.J., Hyun S.H., Kim S.A., Lee S.K., Lee J.C. Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. *Cellular Microbiology* (2005) 7(8), 1127–1138

26. Cifra M., Fields J.Z., Farhadi A. Electromagnetic Cellular Interactions. *Progress In Biophysics And Molecular Biology* 105 2011 223-246

27. Cisneros J.M., Rodriguez-Bano J. Nosocomial Bacteremia Due To Acinetobacter Baumannii: Epidemiology. Clinical Features And Treatment, Clinical Microbiology And Infection, 2002 Volume 8 Number 11
28. Coyne S., Courvalin P., Perichon B. Efflux-Mediated Antibiotic Resistance In Acinetobacter Spp. Antimicrobial Agents And Chemotherapy, Mar. 2011, P. 947–953, Voll: 55, No: 3
29. Çevre Ve Orman Bakanlığı, İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyonun Olumsuz Etkilerinden Çevre Ve Halkın Sağlığının Korunmasına Yönelik Alınması Gereken Tedbirlere İlişkin Yönetmelik, Resmi Gazete, 24.07.(2010).
30. Çınar G., Kalkan İ. A., Memikoğlu K.O. Geri Dönüşümlü Kolistin Nefrotoksitesisi: Olgu Sunumu. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2019 72(1):111-113
31. Demirtürk N., Demirdal T. Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. Kocatepe Tıp Dergisi The Medical Journal Of Kocatepe 5: 17- 21 Mayıs 2004
32. Doughari H.J., Ndakidemi P.A., Human I.S., Benade S. The Ecology, Biology And Pathogenesis Of Acinetobacter Spp.: An Overview. Microbes Environ. 2011 Vol. 26, No. 2, 101–112
33. Döşler S. Antimikrobik Etkili Katyonik Peptitlerin Mikroorganizmalar Üzerine Tek Başlarına Ve Kombinasyon Halindeki Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, 2005 Danışan: Prof. Dr. Bülent Gürler

34. Dubos R.J. Studies On A Bactericidal Agent Extracted From A Soil Bacillus. From The Hospital Of The Rockefeller Institute For Medical Research, 1939
35. Dubos R.J., Hotchkiss R.D. The Production Of Bactericidal Substances By Aerobic Sporulating Bacilli. From The Hospital Of The Rockefeller Institute For Medical Research, 1941
36. El-Sayed AG, Magda HS, Eman YT, Mona HI. Stimulation and control of E.coli by using an extremely low frequency magnetic field. Romanian Journal of Biophysics, 2006, 16(4):283– 296
37. Falagas M., Vardakas K.Z., Kapaskelis A., Triarides N. A., Roussos N.S. Tetracyclines For Multidrug-Resistant Acinetobacter Baumannii Infections. Int J Antimicrob Agents. 2015 May;45(5):455-60.
38. Fojt L, Strasak L, Vetterl V, Smarda J. Comparison of the low-frequency magnetic field effects on bacteria Escherichia coli, Leclercia adecarboxylata and Staphylococcus aureus. Bioelectrochemistry, 2004 63:337–341.
39. Fournier P.E, Richet H. The Epidemiology And Control Of Acinetobacter Baumannii In Health Care Facilities. Cid 2006:42-Healthcare Epidemiology
40. Frahm J, Lantow M, Lupke M, Mattsson Mo, Kuster N, Simko M. Ros Release And Hsp70 Expression After Exposure To 1,800 Mhz

Radiofrequency Electromagnetic Fields In Primary Human Monocytes And Lymphocytes. *Radiat Environ Biophys.* 2006;45:55–62.

41. Frey A. Electromagnetic Field Interactions With Biological Systems. *Faseb J.* 1992;7:272-81
42. Gagnon M.C., Strandberg E., Grau-Campistany A., Wadhvani P., Reichert J., Bürck J., Rabanal F., Auger M., Paquin J.F., Ulrich A. Influence of the Length and Charge on the Activity of α -Helical Amphipathic Antimicrobial Peptides. *Biochemistry*, 2017 56. 10.1021/acs.biochem.6b01071.
43. Gallagher L.A., Ramage E., Weiss E.J., Radey M., Hayden H.S., Held K.G., Huse H.K., Zurawski D.V., Brittnacher M.J., Colin MAnoil. Resources For Genetic And Genomic Analysis Of Emerging Pathogen *Acinetobacter Baumannii*. *Journal of Bacteriology* 2015 Volume 197 Number 12
44. Ganz T., Lehrer R.I. Antibiotic Peptides From Higher Eukaryotes: Biology And Applications. *Molecular Medicine Today*, July 1999 (Vol. 5)
45. Gülbudak H., Aslan G., Tezcan S., Ersöz G., Ülger M., Otağ F., Kuyucu N., Emekdaş G. Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olan *Acinetobacter Baumannii* İzolatları Arasındaki Klonal İlişkinin Rep-Pcr İle Araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2014; 48(2): 316-324
46. Hancock R.E.W. Rew. Peptide Antibiotics. *Lancet* 1997; 349: 418-22

47. Hancock R.E.W., Chapple D.S. Peptide Antibiotics. Antimicrobial Agents And Chemotherapy, 1999 P. 1317–1323, Vol: 43, No: 6
48. Hancock R.E.W., Falla T.J. Antimicrobial Peptides: Broad-Spectrum Antibiotics From Nature. 228 Clinical Microbiology And Infection, 1996 Volume 1 Number 4
49. Harrison Pf, Lederberg J. Antimicrobial Resistance: Issues And Options: Workshop Report. Washington, D.C. National Academies Press 1998
50. Iannitti, T., G. Fistetto, A. Esposito, V. Rottigni, And B. Palmieri. Pulsed Electromagnetic Field Therapy For Management Of Osteoarthritis-Related Pain, Stiffness And Physical Function: Clinical Experience In The Elderly. Clin. Interv. Aging 2013 8:1289–1293.
51. Iarcinternational Agency For Research On Cancer, Non Ionizing Radiotion ,Part:1: Static And Extremely Low Frequency (Elf) Electric And Magnetic Fields. Monographs On The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans, Vol. 80., (2002).
52. Inhan-Garip A, Aksu B, Akan Z, Akakin D, Ozaydin A, San T. Effect Of Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields On Growth Rate And Morphology Of Bacteria. International Journal Of Radiation Biology 2011; 87. 1155-61.

53. James G.H. Phagocytin: A Bactericidal Substance From Polymorphonuclear Leucocytes . From The Hospital Of The Rockefeller Institute For Medical Research J Exp Med. 1956 May 1; 103(5): 589–611.
54. Jawetz E, Gunnison Jb, Colman Vr. The Combined Action Of Penicillin With Streptomycin Or Chloromycetin On Enterococci In Vitro. Science 1950 ; 111:254-6.
55. Juni E., Janik A. Transformation Of Acinetobacter Calco-Aceticus (Bacterium Anitratum). Journal Of Bacteriology, 1969 P. 281-288
56. Kader Ç., Tanık N., İntepe Y.S., Erbay A., İnan L.E. Kolistin Tedavisi Esnasında Gelişen Ataksi, Ankara Üniversitesi T P Fakültesi Mecmuası 2016 69 (1)
57. Kanafani, A.Z., Kanj, S.S., 2014. Ministry Of Health, Kingdome Of Saudi Arabia.
58. Kayış U. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları. Ydın Sağlık Dergisi 2019 - Yıl 5 Sayı 1
59. Kılıçkap S., Erdiş E. Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alan, Cep Telefonları, Baz İstasyonları Ve Kanser Riski. Cumhuriyet Tıp Derg 2013; 35: 311-317

60. Kurcic- Trajkovska B. *Acinetobacter* Spp. – A Serious Enemy Threatening Hospitals Worldwide. *Macedonian Journal Of Medical Sciences* 2019 2(2).
61. Lee D.G., Kim H.N., Park Y., Kim H.K., Choi B.H., Choi C.H., Hahm K.S. Design Of Novel Analogue Peptides With Potent Antibiotic Activity Based On The Antimicrobial Peptide, Hp (2–20), Derived From N-Terminus Of *Helicobacter Pylori* Ribosomal Protein L1, *Biochimica Et Biophysica Acta* 1598 (2002) 185 – 194
62. Lee K., Yong D., Jeong S.H., Chong Y. Multidrug-Resistant *Acinetobacter* Spp.: Increasingly Problematic Nosocomial Pathogens. *Yonsei Med J*, 2011 Volume 52 Number 6
63. Li J, Rayner CR, Nation RL, Owen R.J, Spelman D, Tan K.E, Liolios L. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50:2946–2950.
64. Luna C.M., Aruj P.K. Nosocomial *Acinetobacter* Pneumonia. *Respirology.* 2007 Nov;12(6):787-91.
65. Moore RL. Biological effects of magnetic fields: Studies with microorganisms. *Canadian Journal of Microbiology*, 1979 25:1145–1151.
66. Nilsson A.I, Zorzet A., Kanth A., Dahlström S., Berg O.G., Andersson D.I. Reducing the fitness cost of antibiotic resistance by amplification of initiator

tRNA genes. PNAS May 2, 2006 vol. 103 no. 18

67. Oğuz H.K. Endodontide Sistemik İlaç Kullanımı, İzmir, Bitirme Tezi, 2013
Danışan: Yrd. Doç. Dr. Ilgın Akçay

68. Öncül O. Kolistin: Endikasyon Ve Klinik Kullanımı. Ankem Derg 2012
26(Ek2):12-18

69. Öner M. Genel Mikrobiyoloji. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi
No: 4, İzmir, 231-245, 1992

70. Özdemir M., Erayman İ., Gündem N.S., Baykan M., Baysal B. Hastane
İnfeksiyonu Etkeni Acinetobacter Suşlarının Çeşitli Antibiyotiklere
Duyarlılıklarının Araştırılması. Ankem Derg; 2009 23(3):127-132

71. Öztürk R. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları, Antimikrobik İlaçlara Karşı
Direnç Gelişmesi Ve Günümüzde Direnç Durumu. İ.Ü. Cerrahpafla Tıp
Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Pratikte Antibiyotik Kullanımı
Sempozyumu, 1997 İstanbul, S. 27-51

72. Öztürk R. Antimikrobik İlaçlara Karşı Direnç Geliştirme Mekanizmaları Ve
Günümüzde Direnç Durumu. Akılcı Antibiyotik Kullanımı Ve Erişkinde
Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi No: 31; S. 83-100,
2002

73. Perez F., M. Hujer A., M.Hujer K., K.Decker B., N.Rather P., Bonomo A. Global Challenge Of Multidrug-Resistant Acinetobacter Baumannii. Antimicrobial Agents And Chemotherapy, 2007 P. 3471–3484
74. Piatti E, Albertini MC, Baffone W, Fraternali D, Citterio B, Piacentini MP, Dacha M, Vetrano F, Accorsi A. Antibacterial effect of a magnetic field on *Serratia marcescens* and related virulence to *Hordeum vulgare* and *Rubus fruticosus* callus cells. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2002 132(2):359–365.
75. Sarıkahya N.M. Bir İşyerinde Elektromanyetik Alan Ölçümü Yapılması Ve Sonuçlarının İş Sağlığı Ve Güvenliği Yönünden Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, 2014 T.C. Çalışma Ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı İş Sağlığı Ve Güvenliği Genel Müdürlüğü
76. Schreckenberger Pc, Daneshvar M1, Weyant Rs, Hollis Dg. Acinetobacter, Achromobacter, Chryseobacterium, Moraxella, And Other Non-Fermentative Gram-Negative Rods. “ Murray Pr, Baron Ej, Pfaller Ma, Landry Ml, Jorgensen Jh (Eds). Manuel Of Clinical Microbiology 9. Baskı” Kitabında S.770-802, Asm Press, Washington (2007).
77. Seifert H., Dijkshoorn L., Gerner-Smidt P., Pelzer N., Tjernberg I., Vaneechoutte M. Distribution Of Acinetobacter Species On Human Skin: Comparison Of Phenotypic And Genotypic Identification Methods, Journal Of Clinical Microbiology, P. 2819–2825 Smidt G.P., Tjernberg I., Ursing J., 1991, Reliability Of Phenotypic Tests For Identification Of Acinetobacter Species, Journal Of Clinical Microbiology, P. 277-282 (1997)

78. Strasak L, Vetter V, Smarda J. Effects of low-frequency magnetic fields on bacteria *Escherichia coli*. *Bioelectrochemistry*, 2002 55:161–164
79. Rollwitz J., Lupke M., Simko M. Cell Activating Capacity Of 50 Hz Magnetic Fields To Release Reactive Oxygen Intermediates In Human Umbilical Cord Blood-Derived Monocytes And In Mono Mac 6 Cells. *Free Radical Research* 2004 38(9):985-93
80. Rosch P.J., Markov M.S. *Bioelectromagnetic Medicine*. ISBN-13: 978-0824747008
81. Segatore B, Setacci D, Bennato F, Cardigno R, Amicosante G, Iorio R. Evaluations of the effects of extremely low frequency electromagnetic fields on growth and antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Microbiol* 2012:1–7
82. Simkó M, Droste S, Kriehuber R, Weiss Dg. Stimulation Of Phagocytosis And Free Radical Production In Murine Macrophages By 50 Hz Electromagnetic Fields. *Eur J Cell Biol*. 80(8):562-566, 2001.
83. Simko M., Mattsson M.O. Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields As Effectors Of Cellular Responses In Vitro: Possible Immune Cell Activation. *J.Cell.Biochem.*, 93, 83-92, 2004
84. Sorgucu U., Kabalcı Y., Develi İ., Bilim M. Aşırı Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alanın Derideki Hidroksiprolin Seviyesi Üzerine Olan

Etkisinin Anfis Kullanılarak Modellenmesi. 6th International Advanced Technologies Symposium (Iats'11), 16-18 May 2011, Elazığ, Turkey

85. Sümerkan B. Yoğun Bakım Ünitesinde Gram-Negatif Mikroorganizmalar Ve Direnç Sorunu. Yoğun Bakım Dergisi; 2003 3(2):129-134

86. Sümer Ş., Dikici N. Kolistin. Yoğun Bakım Dergisi 2010 9(4):182-187

87. Tabak F. Klinikte Antibiyotik Kullanımı. Akılcı Antibiyotik Kullanımı Ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi No: 31; S. 101-109 (2012).

88. Tanır G., Göl N. Antibiyotik Direnci. Klimik Dergisi, 1999 Cilt 12, Sayı:2, S:47-54

89. Telli M., Eyigör M., Korkmazgil B., Aydın N., Atalay M.A. Acinetobacter Spp. Klinik İzolatlarında Karbapenem Direncinin Moleküler Epidemiyolojisi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2017 47(4):190-196.

90. TMMOB Elektrik Mühendisleri Odası İzmir Şubesi, Elektromanyetik Alanların Etkileri

91. Tomaras, Dorsey Cw, Mcqueary Cn, Actis La. Molecular Basis Of Acinetobacter Virulence And Pathogenecity, Pp: 265-97. In: Gerischer U

(Ed), Acinetobacter Molecular Biology. 2008, Caistr Academic Press,
Norfolk, Uk

92. Towner K.J. Acinetobacter: An Old Friend, But A New Enemy. Journal Of
Hospital Infection 2009 73, 355e363

93. Töreci K. Antibiyotik Kullanımı Ve Direnç İlişkisi. Flora 2003;8(2):89-110
89

94. Tunçtan, B., Buharalıoğlu, K. Farmakoloji Terimleri Sözlüğü. Sendrom İıı
Tıp Terimleri Sözlüğü, 3, 3-44, 2005

95. Türkkan A. Elektromanyetik Alan Ve Sağlık Etkileri. Nilüfer, Bursa, 2012,
Isbn: 978-605-62172-6-5

96. Türkkan A., Pala K. Çok Düşük Frekanslı Elektromanyetik Radyasyon Ve
Sağlık Etkileri. Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi,
2009 Cilt 14, Sayı 2

97. Usluer G. Çoklu Dirençli Patojenler: Epidemiyoloji Ve Kontrol. Flora
2002;7(3):135-141

98. Utnes A. Lg, Sorum V., Hülter N., Primicerio R., Hegstad J., Kloos J.,
Nielsen K.M., Johnsen P. Growth Phase-Specific Evolutionary Benefits Of

Natural Transformation In Acinetobacter Baylyi. The Isme Journal 2015 9,
2221–2231

99. Vadalà M, Morales-Medina Jc, Vallelunga A, Palmieri B, Laurino C, Iannitti T. Mechanisms And Therapeutic Effectiveness Of Pulsed Electromagnetic Field Therapy In Oncology. *Cancer Med.* 2016;5(11):3128–3139.
100. Vadala, M., A. Vallelunga, L. Palmieri, B. Palmieri, J.C. Morales-Medina, And T. Iannitti. Mechanisms And Therapeutic Applications Of Electromagnetic Therapy In Parkinson's Disease. *Behav. Brain Funct.* 2015 11:26.
101. Van Epps H.L. René Dubos: Unearthing Antibiotics. *The Journal Of Experimental Medicine*, 2006 Vol. 203, No. 2
102. Weaver R. Identification Of Acinetobacter Species. *Journal Of Clinical Microbiology*, July 1994, P. 1833, Vol. 32, No. 7
103. Wertheimer,N.,Leeper,E. Electrical Wiring Configurations And Childhood Cancer. *Am.J.Epidemiol.* Vol.109, 273-284,1979
104. Whitman T.J., Quasba S.S., Timpone J.G., Babel B.S., Kasper M.R., English J.F., Sanders J.W., Hujer K.M., Hujer M.A., Endimiani A., Eshoo M.W., Bonomo R.A. Occupational Transmission Of Acinetobacter Baumannii From A United States Serviceman Wounded In Iraq To A Health Care Worker. *Occupational Transmission Of A. Baumannii, Cid* 2008:47

105. Yamantürk-Çelik P., Būget B. Geçmişten Günümüze Antibiotikler: Genel Bir Bakış. <http://www.ankemdernegi.org.tr/?dp=sizdengelenler&yaziID=66>, 2015.
106. Yarsan E., Bodur H. Antibiyotik Tüketimi, Direnç Verileri Ve Önlem Stratejileri. *Mediterr J Infect Microb Antimicrob* 2019;7:35
107. Yeaman M.R., Yount N. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacol Rev.* 2003 Mar;55(1):27-55.
108. Yenugu S, Hamil Kg, French Fs, Hall S. Antimicrobial Actions Of The Human Epididymis 2 (He2) Protein Isoforms, He2 Alpha, He2 Beta I And He2 Beta Ii. *Reproductive Biology And Endocrinology* 2004 2:6176.
109. Zhang Qm, Tokiwa M, Doi T, Nakahara T, Chang Pw, Nakamura N, Hori M, Miyakoshi I, Yonei S. Strong Static Magnetic Field And The Induction Of Mutations Through Elevated Production Of Reactive Oxygen Species In Escherichia Coli Soxr. *International Journal Of Radiation Biology.* 2003 79(4):281–286.