

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

**ANTİMİKROBİYAL KOMBİNASYONLARIN
AKTİVİTE DEĞERLENDİRİLMESİNDE FİK İNDEKSİ
YÖNTEMİ İLE BREAKPOINT TEMELLİ YÖNTEMİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
Dr. ZEYNEP CİNGÖR BAYRAM

SAMSUN 2012

T.C.

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

**ANTİMİKROBİYAL KOMBİNASYONLARIN
AKTİVİTE DEĞERLENDİRİLMESİNDE FİK İNDEKSİ
YÖNTEMİ İLE BREAKPOINT TEMELLİ YÖNTEMİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. ZEYNEP CİNGÖR BAYRAM

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. CAFER EROĞLU

Bu tez, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Yönetim Birimi tarafından
PYO.TIP.1904.10.019 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN 2012

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında, bilgisini ve deneyimlerini benden esirgemeyen ve her türlü katkıda bulunan değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Cafer Eroğlu'na teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin fikir aşamasından sonuçlanmasına kadar olan süreçte değerli vaktini ve bilimsel desteğini sunan hocam Yrd. Dr. İbrahim Çağatay Acuner'e teşekkürü bir borç bilirim.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, yetişmemde büyük emekleri olan, başta anabilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Murat Günaydın'a, değerli hocalarım Prof. Dr. Belma Durupınar, Prof. Dr. Murat Hökelek, Prof. Dr. Asuman Birinci, Doç. Dr. Ahmet Yılmaz Çoban, Yrd. Doç. Dr. Adil Karadağ, Yrd. Doç. Dr. Keramettin Yanık'a çok teşekkür ederim.

Çalışma sürem boyunca ve tezimin tüm aşamalarında yardımlarından ve desteğinden dolayı Dr. Akif Koray Güney'e, çalışma ortamındaki uyum, özveri ve saygıları yanı sıra en kötü günlerimde yardımlarını ve sevgilerini hiç esirgemeyen arkadaşlarım Dr. Fikriye Milletli Sezgin ve Dr. Hacer Özlem Kalaycı'ya, çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen tüm Mikrobiyoloji çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamıza sağladığı suşlar nedeniyle Prof. Dr. Ahmet Başustaoğlu'na teşekkürlerimi sunarım.

Yetişmemde büyük emekleri olan, hayatım boyunca iyi ve kötü günümde hep yanımda olan, değerli annem, babam ve kardeşime çok teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan sevgili eşim Hasan Evren Bayram'a, hayatımıza anlam katan, en değerli varlığım biricik kızım Ada Çisemnaz'a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
KISALTMALAR	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Antibiyotik duyarlılık testleri	3
2.1.1 Difüzyon testleri	4
2.1.1.1. Disk difüzyon	4
2.1.1.2. E-test	4
2.1.2 Dilüsyon testleri	5
2.1.2.1. Broth dilüsyon testleri	5
2.1.2.2. Agar dilüsyon testleri	5
2.2. Kombinasyon testleri	6
2.2.1. Kombine antibiyotik kullanımının gerekçeleri	6
2.2.2. Kombine antibiyotik tedavisinin dezavantajları	7
2.3. Antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkinliğini ölçen testler	9
2.3.1. Checkerboard (dama tahtası) yöntemi	9
2.3.2. Time-kill curve (Zaman-ölüm eğrisi)	11
2.3.3. Disk difüzyon yöntemi	12
2.3.4. E-test yöntemi	12
2.4. Antimikrobiyal İlaçların Sınıflandırılması	13
2.4.1. Beta-Laktam Antibiyotikler	14
2.4.1.1. Penisilinler	14
2.4.1.2. Sefalosporinler	16
2.4.1.3. Monobaktamlar	17
2.4.1.4. Karbapenemler	17

2.4.2. Aminoglikozidler	22
2.4.3. Kloramfenikol	27
2.4.4. Makrolidler ve Streptograminler	27
2.4.5. Kinolonlar	28
2.4.6. Tetrasiklinler ve glisilsiklinler	33
2.4.7. Sülfonamidler, Trimetoprim, Trimetoprim-Sülfametoksazol	34
2.4.8. Glikopeptitler	34
2.4.9. Fusidik Asit	35
2.4.10. Linkozamidler	35
2.5. <i>Escherichia coli</i>	35
2.5.1. Tarihçesi	35
2.5.2. Sınıflandırma ve klinik önemi	35
2.5.3. Görünüm ve boyanma özellikleri	36
2.5.4. Üreme özellikleri ve koloni morfolojisi	36
2.5.5. Biyokimyasal özellikleri	36
2.5.6. Direnç	37
2.5.7. Antijen yapısı	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. Suşların tanımlanması	38
3.2. Suşların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi	38
3.3. MİK değerlerinin belirlenmesi	39
3.3.1. Antibiyotiklerin hazırlanması	40
3.3.2. Sıvı Mikrodilüsyon yöntemi ile MİK belirlenmesi	40
3.4. Checkerboard metodunun uygulanması	41
3.4.1. FİK indeksinin hesaplanması ve yöntemler	41
3.4.2. İlaç-ilaç etkileşiminin genişletilmiş kavramsal bir çerçevesi	44
4. BULGULAR	54
5. TARTIŞMA	80
6. SONUÇLAR	89
7. KAYNAKLAR	91

TABLO LİSTESİ

		Sayfa
Tablo I	: Kinolonlar	29
Tablo II	: Kullanılan Antibiyotiklerin Disk Difüzyon Zon Çapları	39
Tablo III	: Kullanılan antibiyotiklerin MİK değerleri	40
Tablo IV	: Antagonizma grubunda kullanılan suşların özellikleri	54
Tablo V	:Antagonizma grubunda kullanılan suşların antibiyotiklere duyarlılık yüzdeleri	56
Tablo VI	: Sinerji grubunda kullanılan suşların özellikleri	56
Tablo VII	: Sinerji grubunda kullanılan suşların antibiyotiklere duyarlılık yüzdeleri	58
Tablo VIII	: Antagonizma grubundaki suşların değerlendirme sonuçları	79
Tablo IX	: Sinerji grubundaki suşların değerlendirme sonuçları	79

ŞEKİL LİSTESİ

	sayfa
Şekil 1 : Örnek mikroplak	42
Şekil 2 : Örnek mikroplağın yöntem 1 ile değerlendirilmesi	42
Şekil 3 : Örnek mikroplağın yöntem 2 ile değerlendirilmesi	43
Şekil 4 : Örnek mikroplağın yöntem 3 ile değerlendirilmesi	43
Şekil 5 : Örnek mikroplağın yöntem 4 ile değerlendirilmesi	44
Şekil 6 : Örnek mikroplağın yöntem 5a ile değerlendirilmesi	52
Şekil 7 : Örnek mikroplağın yöntem 5b ile değerlendirilmesi	53
Şekil 8 : Antagonizma grubu 1.plak ve değerlendirilmesi	59
Şekil 9 : Antagonizma grubu 2.plak ve değerlendirilmesi	59
Şekil 10 : Antagonizma grubu 3.plak ve değerlendirilmesi	59
Şekil 11 : Antagonizma grubu 4.plak ve değerlendirilmesi	59
Şekil 12 : Antagonizma grubu 5.plak ve değerlendirilmesi	60
Şekil 13 : Antagonizma grubu 6.plak ve değerlendirilmesi	60
Şekil 14 : Antagonizma grubu 7.plak ve değerlendirilmesi	60
Şekil 15 : Antagonizma grubu 8.plak ve değerlendirilmesi	60
Şekil 16 : Antagonizma grubu 9.plak ve değerlendirilmesi	61
Şekil 17 : Antagonizma grubu 10.plak ve değerlendirilmesi	61
Şekil 18 : Antagonizma grubu 11.plak ve değerlendirilmesi	61
Şekil 19 : Antagonizma grubu 12.plak ve değerlendirilmesi	61
Şekil 20 : Antagonizma grubu 13.plak ve değerlendirilmesi	62
Şekil 21 : Antagonizma grubu 14.plak ve değerlendirilmesi	62
Şekil 22 : Antagonizma grubu 15.plak ve değerlendirilmesi	62
Şekil 23 : Antagonizma grubu 16.plak ve değerlendirilmesi	62
Şekil 24 : Antagonizma grubu 17.plak ve değerlendirilmesi	63
Şekil 25 : Antagonizma grubu 18.plak ve değerlendirilmesi	63
Şekil 26 : Antagonizma grubu 19.plak ve değerlendirilmesi	63
Şekil 27 : Antagonizma grubu 20.plak ve değerlendirilmesi	63
Şekil 28 : Antagonizma grubu 21.plak ve değerlendirilmesi	64

Şekil 29	: Antagonizma grubu 22.plak ve değerlendirilmesi	64
Şekil 30	: Antagonizma grubu 23.plak ve değerlendirilmesi	64
Şekil 31	: Antagonizma grubu 24.plak ve değerlendirilmesi	64
Şekil 32	: Antagonizma grubu 25.plak ve değerlendirilmesi	65
Şekil 33	: Antagonizma grubu 26.plak ve değerlendirilmesi	65
Şekil 34	: Antagonizma grubu 27.plak ve değerlendirilmesi	65
Şekil 35	: Antagonizma grubu 28.plak ve değerlendirilmesi	65
Şekil 36	: Antagonizma grubu 29.plak ve değerlendirilmesi	66
Şekil 37	: Antagonizma grubu 30.plak ve değerlendirilmesi	66
Şekil 38	: Antagonizma grubu 31.plak ve değerlendirilmesi	66
Şekil 39	: Antagonizma grubu 32.plak ve değerlendirilmesi	66
Şekil 40	: Antagonizma grubu 33.plak ve değerlendirilmesi	67
Şekil 41	: Antagonizma grubu 34.plak ve değerlendirilmesi	67
Şekil 42	: Antagonizma grubu 35.plak ve değerlendirilmesi	67
Şekil 43	: Antagonizma grubu 36.plak ve değerlendirilmesi	67
Şekil 44	: Antagonizma grubu 37.plak ve değerlendirilmesi	68
Şekil 45	: Antagonizma grubu 38.plak ve değerlendirilmesi	68
Şekil 46	: Antagonizma grubu 39.plak ve değerlendirilmesi	68
Şekil 47	: Antagonizma grubu 40.plak ve değerlendirilmesi	68
Şekil 48	: Sinerji grubu 1.plak ve değerlendirilmesi	69
Şekil 49	: Sinerji grubu 2.plak ve değerlendirilmesi	69
Şekil 50	: Sinerji grubu 3.plak ve değerlendirilmesi	69
Şekil 51	: Sinerji grubu 4.plak ve değerlendirilmesi	69
Şekil 52	: Sinerji grubu 5.plak ve değerlendirilmesi	70
Şekil 53	: Sinerji grubu 6.plak ve değerlendirilmesi	70
Şekil 54	: Sinerji grubu 7.plak ve değerlendirilmesi	70
Şekil 55	: Sinerji grubu 8.plak ve değerlendirilmesi	70
Şekil 56	: Sinerji grubu 9.plak ve değerlendirilmesi	71
Şekil 57	: Sinerji grubu 10.plak ve değerlendirilmesi	71
Şekil 58	: Sinerji grubu 11.plak ve değerlendirilmesi	71
Şekil 59	: Sinerji grubu 12.plak ve değerlendirilmesi	71
Şekil 60	: Sinerji grubu 13.plak ve değerlendirilmesi	72

Şekil 61	: Sinerji grubu 14.plak ve değ erlendirilmesi	72
Şekil 62	: Sinerji grubu 15.plak ve değ erlendirilmesi	72
Şekil 63	: Sinerji grubu 16.plak ve değ erlendirilmesi	72
Şekil 64	: Sinerji grubu 17.plak ve değ erlendirilmesi	73
Şekil 65	: Sinerji grubu 18.plak ve değ erlendirilmesi	73
Şekil 66	: Sinerji grubu 19.plak ve değ erlendirilmesi	73
Şekil 67	: Sinerji grubu 20.plak ve değ erlendirilmesi	73
Şekil 68	: Sinerji grubu 21.plak ve değ erlendirilmesi	74
Şekil 69	: Sinerji grubu 22.plak ve değ erlendirilmesi	74
Şekil 70	: Sinerji grubu 23.plak ve değ erlendirilmesi	74
Şekil 71	: Sinerji grubu 24.plak ve değ erlendirilmesi	74
Şekil 72	: Sinerji grubu 25.plak ve değ erlendirilmesi	75
Şekil 73	: Sinerji grubu 26.plak ve değ erlendirilmesi	75
Şekil 74	: Sinerji grubu 27.plak ve değ erlendirilmesi	75
Şekil 75	: Sinerji grubu 28.plak ve değ erlendirilmesi	75
Şekil 76	: Sinerji grubu 29.plak ve değ erlendirilmesi	76
Şekil 77	: Sinerji grubu 30.plak ve değ erlendirilmesi	76
Şekil 78	: Sinerji grubu 31.plak ve değ erlendirilmesi	76
Şekil 79	: Sinerji grubu 32.plak ve değ erlendirilmesi	76
Şekil 80	: Sinerji grubu 33.plak ve değ erlendirilmesi	77
Şekil 81	: Sinerji grubu 34.plak ve değ erlendirilmesi	77
Şekil 82	: Sinerji grubu 35.plak ve değ erlendirilmesi	77
Şekil 83	: Sinerji grubu 36.plak ve değ erlendirilmesi	77
Şekil 84	: Sinerji grubu 37.plak ve değ erlendirilmesi	78
Şekil 85	: Sinerji grubu 38.plak ve değ erlendirilmesi	78
Şekil 86	: Sinerji grubu 39.plak ve değ erlendirilmesi	78
Şekil 87	: Sinerji grubu 40.plak ve değ erlendirilmesi	78

KISALTMALAR

ADT	: Antibiyotik Duyarlılık Testleri
APA	: Aminopenisilanik Asit
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CLSI	: Clinical and Laboratory Standarts Institute
CFU	: Koloni Oluşturan Ünite
DHP	: Dehidropeptidaz
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDP	: Energy Dependent Phase
FİK	: Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon
GSBL	: Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz
KAMHB	: Katyon Ayarlı Mueller-Hinton-Buyyon
LPS	: Lipopolisakkarid
MRSA	: Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MRKNS	: Metisiline Dirençli Koagülaz Negatif Stafilokok
µg	: Mikrogram
ml	: Mililitre
OMP	: Outer Membran Protein
OMU	: Ondokuz Mayıs Üniversitesi
PABA	: Paraamino Benzoik Asit
PBP	: Penisilin Bağlayan Protein
RNA	: Ribonükleik Asit
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
TMP/SMZ	: Trimetoprim-Sülfametoksazol

ÖZET

ANTİMİKROBİYAL KOMBİNASYONLARIN AKTİVİTE DEĞERLENDİRİLMESİNDE FİK İNDEKSİ YÖNTEMİ İLE BREAKPOINT TEMELLİ YÖNTEMİN KARŞILAŞTIRILMASI

Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen amikasin-siprofloksasin ve siprofloksasin-meropenem kombinasyonlarının *Escherichia coli* suşları üzerine olan etkisi checkerboard yöntemiyle test edilip, birden çok yöntem ile değerlendirilmiştir.

Çalışma kapsamına çeşitli klinik örneklerden soyutlanan 80 *E.coli* izolatu dahil edildi. Bu suşların 40 tanesi antagonizma grubu ve siprofloksasin- meropenem antibiyotik kombinasyonu olarak planlandı, 40 tanesi sinerji grubu olarak planlanıp amikasin-siprofloksasin antibiyotik kombinasyonları için ayrıldı. Öncelikle tüm suşların tek tek tüm antibiyotikler için MİK değeri belirlendi. Bu işlem öncelikle E-test ve E-test ile net MİK bulamadığımız suşlarda mikrodilüsyon yöntemiyle yapıldı. Elde edilen MİK değerlerine göre siprofloksasin duyarlı, meropenem duyarlı 20 suş (%50) ; siprofloksasin dirençli, meropenem duyarlı 20 suş (%50) antagonizma grubunda; siprofloksasin dirençli, amikasin dirençli 7 suş (%17.5); siprofloksasin dirençli, amikasin orta duyarlı 11 suş (%27.5); siprofloksasin duyarlı , amikasin duyarlı 11 suş (%27.5) ve siprofloksasin dirençli, amikasin duyarlı 11 suş (%27.5) sinerji grubunda bulundu. Sonrasında tüm suşlara checkerboard yöntemi uygulandı, plakların görüntüleri kayıt altına alınıp ve değerlendirmeleri yapıldı. Bonapace ve ark. 2002 yılında yaptıkları çalışmadan örnek alınarak 4 ayrı metotla FİK indeksi hesaplandı. Çalışmamızda; antagonizma grubundan 4.suş yöntem 1ve yöntem 3 ile sinerjistik; 6.suş yöntem 3 ve yöntem 4 sinerjistik; 17.suş yöntem 2 ile antagonistik; 26.suş yöntem 3 ile sinerjistik bulundu. Sinerji grubunda ise 8.suş yöntem 3 ve yöntem 4 ile sinerjistik; 19.suş yöntem 3 ve yöntem 4 ile sinerjistik; 35.suş yöntem 1, yöntem 3 ve yöntem 4 ile sinerjistik; 39.suş ise yöntem 3 ile sinerjistik bulundu. Çalışmadaki diğer suşlar diğer yöntemler ile aditif/indiferent bulundu. Sonrasında bu suşlar Acuner ve arkadaşlarının ‘İlaç-ilaç etkileşiminin genişletilmiş kavramsal bir çerçevesi’ adındaki yayınlanmamış çalışmasından örnek alınarak 2 ayrı yöntemle daha değerlendirildi. Yöntem 5a ‘biyokimyasal etki’, yöntem 5b ‘girişimsel etki’adıyla anılmaktadır. Çalışmamızın

antagonizma grubundaki suşlardan 6.suş yöntem 5a ile sinerjistik; sinerji grubundaki suşlardan 8.suş yöntem 5a ile sinerjistik, 19.suş yöntem 5a ile sinerjistik, 35.suş yöntem 5a ile sinerjistik bulunmuştur. Çalışmadaki diğer suşlar yöntem 5a ile belirsiz etkili bulunmuştur. Yöntem 5b ise; plaklarda bu değerlendirme için gerekli dilüsyonların bulunmaması nedeni ile değerlendirilememiştir ve ‘Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak’ olarak sonuçlandırılmıştır. Sonuç olarak toplam 5 yöntemle değerlendirilen suşlarda 1 suş dışında antagonistik etkiye rastlanmamıştır. Ancak tüm yöntemlerle ve tüm kombinasyonlarla sinerjistik etki görülmediği için bu antibiyotik kombinasyonlarının tedavide kullanılması için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Sözcükler:

Escherichia coli, Siprofloksasin, Meropenem, Amikasin, Checkerboard, FİK indeksi,

ABSTRACT

COMPARISON OF FIC INDEX WITH BREAKPOINT- BASED METHOD IN THE EVALUATION OF COMBINATORY ACTIVITY OF ANTIMICROBIALS

In the study the effects of amikacin-ciprofloksasin and ciprofloksasin-meropenem combinations on *E.coli* strains isolated from clinical samples were tested by checkerboard- assay and evaluated by various methods.

Eighty *E.coli* isolates recovered from various clinical samples were included in the study. Of these isolates, forty were considered as antagonism group and ciprofloksasin- meropenem antibiotic combinations, forty were considered as synergism group and ciprofloksasin- amikacin antibiotic combinations. At first MIC values of each drug for all strains were that remind. The MIC values were performed by E-test and than reperformed by microdilution method for the strains for which MIC values could not be detected by E-test. According to MIC values twenty strains susceptible to ciprofloksasin and susceptible to meropenem, twenty strains rezistans to ciprofloksasin and susceptible to meropenem were in the antagonism group. Seven strains rezistans to ciprofloksasin and rezistans to amikacin, eleven strains rezistans to ciprofloksasin and intermediate susceptible to amikacin, eleven strains susceptible to ciprofloksasin and susceptible to amikacin, eleven strains rezistans to ciprofloksasin and susceptible to amikacin were in the synergism group. All combinations test were performed by checkerboard method and the plate images were recorded and evaluated. FIC index was calculated by four different methods according to a study performed by Bonapece at all in 2002. In our study; 4. strain in the antagonism group found synergistic by method 1 and method 3, 6. strain in the antagonism group found synergistic by method 3 and method 4, 17. strain in the antagonism group found antagonistic by method 2, 26. strain in the antagonism group found synergistic by method 3. In the synergism group 8. strain was found synergistic by method 3 and method 4, 19. strain was found synergistic by method 3 and method 4, 35. strain was found synergistic by method1, method 3 and method 4, 39. strain was found synergistic by method 3. The remaining strains were found additive/ indiferent by the other methods. Than all strains were evaluated by two different methods based

on the unpublished study 'An Extended Conceptual Framework of Drug-Drug Interaction' of performed by Acuner at all. Method 5a is referred to biochemical effect and method 5b is referred to interventional effect. In our antagonism group 6.strain was found synergistic by method 5a, in our synergism group 8.strain was found synergistic by method 5a, 19.strain was found synergistic by method 5a, 35.strain was found synergistic by method 5a. Method 5b was could not be evaluated because of the absence of the dilutions necesarry for evaluation and it was concluded that the plate which does not need the technical consideration of the test. As a conclusion except from one strain, no antagonism was detected by five different methods. However since synergistic effect was not seen in all combinations by all methods, further studies about these antibiotic combinations for the using in the therapy are needed.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Enfeksiyonların tedavisinde sadece etken mikroorganizmaları etkileyecek en dar spektrumlu ve tek bir antimikrobiyal ilaç bir çok nedenle ilk tercih olmaktadır. Ayrıca immun sistemi normal olan konakta bir çok infeksiyon tek bir antimikrobiyal ajanla tedavi edilebilmektedir. Bu uygulama mikroorganizmalara karşı önemli bir savunma sistemi oluşturan normal floranın bozulmasını engellemek açısından ayrı bir önem taşımaktadır (Gazi ve ark, 2007).

Ancak bazı hasta gruplarında ve genellikle hastane kaynaklı meydana gelen ciddi enfeksiyonların tedavisinde tek başına kullanılan antibiyotiklerin yeterli düzeyde etki yaratmaması araştırmacıları kombine antibiyotik kullanımına yönlendirmiştir (Deniz ve ark, 2008).

Antimikrobiyal ilaç kombinasyonlarından; geniş spektrum elde etmek, dirençli mutantların gelişmesini önlemek, toksisiteyi en aza indirmek ve iki ilaç arasında sinerjistik etki elde etmek için faydalanılır (Deniz ve ark, 2008).

Antimikrobiyal kombinasyonların aktivitelerinin değerlendirilmesinde günümüzde çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bunlar arasında en fazla kullanılan checkerboard tekniğidir. Checkerboard test sonuçları, isobologram denilen grafiksel bir yöntemle yorumlanabilmektedir. Ayrıca isobologramın matematiksel eşdeğer bir ifadesi olan “Fraksiyonel inhibitör konsantrasyon” (FİK) indeksi de, literatürde antimikrobiyal kombinasyonların aktivite sonuçlarının değerlendirilmesinde ve raporlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Antimikrobiyal kombinasyonların, anti-infektif etki sonuçlarının değerlendirilmesi, geleneksel olarak, isobologram veya FİK indeksi değerlerine göre belirlenen; sinerji, antagonizma, additif etki gibi tanımlara göre yapılmaktadır. Test edilen kombinasyonun, tedavi amaçlı kullanımı için, FİK indeksi değerinin ≤ 0.5 olduğu ve “sinerjistik etki” olarak değerlendirildiği durumlarda karar verilebilmektedir.

Ancak, geleneksel yöntem olarak, isobologram veya FİK indeksi sonuçlarına göre yapılan değerlendirmelerde, *in vitro* koşullarda belirli düzeyde “sinerjistik etki” elde edilmiş olmasına karşın, *in vivo* “terapötik etki” elde edilip edilemeyeceği tam olarak kestirilememektedir. Çünkü, belirli düzeyde elde edilen sinerjistik etki sonucunun, standart antibiyotik duyarlılık test yöntemlerindeki; duyarlı, orta duyarlı,

dirençli kategorik sonuç yorumlarından hangisine, hangi pozitif kestirim gücü değeri ile eşdeğer olduğu bilinmemektedir. Dahası, pozitif kestirim gücü değerinin bilinmiyor olması, duyarlı, orta duyarlı ve dirençli yorum kategorilerinin belirlenmesini sağlayan kırılma noktalarının (“Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK)” veya “inhibisyon zon çapı”) farmakokinetik/farmakodinamik parametrelere göre saptanmış olup olmadığından bağımsızdır. Bu durum, özellikle farmakokinetik/farmakodinamik parametrelere göre saptanmış MİK değerlerine göre belirlenmiş yorum kategorileri sözkonusu olduğunda, tedavi başarısızlığına neden olabilecek daha da ciddi bir sorundur.

Antimikrobiyal kombinasyonların dama-tahtası tekniğiyle anti-infektif aktivitelerinin ölçülmesinde, isoblogram veya FİK indeksi kullanılarak yapılan sonuç değerlendirmelerine alternatif yeni bir yöntem olarak, Michael M. Tunney, Eileen M. Scoot ve ark.’nın çalışmasından (Tunney ve ark, 2004) bağımsız olarak, Acuner ve ark. (Acuner İ.Ç., Güney A.K., Deveci A. 2009), kuramsal olarak, “breakpoint”-temelli yeni bir sonuç değerlendirmesi yöntemi önermişlerdir. Bu yeni değerlendirme yönteminde; kombinasyonun akvitesinin, standart antibiyotik duyarlılık testlerindeki kategorik sonuç yorumlarına eşdeğer olarak bilinebileceği ve böylelikle terapötik etkinin kestirilebileceği ileri sürülmektedir.

Bu çalışmada, mikrodilüsyon tekniği ile uygulanan dama-tahtası test sonuçlarının değerlendirilmesinde, FİK indeksi sonuç değerlendirme yöntemleri ile “breakpoint”-temelli yeni sonuç değerlendirme yöntemini karşılaştırmayı amaçladık, “Breakpoint”-temelli yeni yöntemin terapötik kestirim gücünün daha yüksek olduğu ortaya konulursa, dirençli bakterilere bağlı enfeksiyonlarda, kombine antibiyotik tedavisinin başarısının bilinebilmesi sağlanacak, uygunsuz ve başarısız antibiyotik tedavisi oranları azaltılabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Antibiyotik direnci gerek toplum gerekse hastane kökenli enfeksiyonların tedavisinde sorun yaratmakta ve giderek büyüyen bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Yeni antibakteriyel ilaçların klinik tedaviye girmesi kaçınılmaz olarak bunlara dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Direnç nedeniyle tedavi başarısızlıklarının en aza indirgenmesi ancak duyarlılık testlerinin standart bir yöntem ile uygulanması ve sonuçlarının doğru yorumlanması ile mümkündür (Gülay, 2002).

Antibiyotik Duyarlılık Testleri (ADT) ilk olarak 1874 senesinde William Roberts'in *Penicillium glaucum* küfö ile kontamine olan sıvı ortamlarda bakterinin kolayca üreyemediği gözlemine dayanır. Antibiyotik duyarlılık testlerinde difüzyon tekniği 1940'lı yıllarda penisilinin keşfinden sonra gelişmeye başlamıştır. Daha sonra farklı yöntemler geliştirilmeye başlanmış 1950'lerin sonlarında da antibiyotik duyarlılık testlerinde standartizasyona gerek olduğu ortaya çıkmıştır (Gür, 1997).

ADT, çeşitli mikroorganizmalara bağlı gelişen enfeksiyonların tedavisini yönlendirmek, yeni geliştirilen ilaçların in vitro aktivite spektrumlarını saptamak ve direnç oranları konusunda epidemiyolojik veriler elde etmek amacıyla uygulanan *in vitro* testlerdir. ADT sonuçları ile esas ulaşılmak istenen hedef, enfeksiyonun tedavisi için kullanılan ilacın klinik başarı sağlayabilme oranını önceden tahmin edebilmektir (Espinell-Ingroff ve ark, 2003).

Antibiyotik duyarlılık testlerinde "difüzyon" ve "dilüsyon" temelli olmak üzere başlıca iki metod kullanılır.

2.1.1. Difüzyon testleri

2.1.1.1. Disk difüzyon testi

2.1.1.2. E-test

2.1.2. Dilüsyon testleri

2.1.2.1. Sıvı dilüsyon testi

2.1.2.2. Agar dilüsyon testi

2.1.1. Difüzyon testleri

2.1.1.1. Disk difüzyon testi

Rutin laboratuvarlarda antibiyotik duyarlılığının saptanmasında en sık olarak kullanılan yöntem disk difüzyon testidir. Ucuz ve uygulaması basit olan bu yöntem Kirby- Bauer tarafından geliştirilmiştir (Demirpek, 2010).

Bu test, kağıt disklerle emdirilen antimikrobiyallerin, duyarlılığı araştırılan organizmanın inoküle edildiği besiyerine difüze olması temeline dayanmaktadır. Bu amaçla; belli miktarlarda antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler, test edilecek olan mikroorganizmanın yoğun bir şekilde inoküle edildiği katı besiyerlerine yerleştirilir. Diskler bir süre sonra çözünüp agara doğru difüze olurken, inoküle edilen mikroorganizma da çoğalmaya başlar. Belirli bir inkübasyon süresinden sonra ilacın inhibitör konsantrasyonlarının sağlandığı diskin çevresinde üreme görülmez (CLSI M2-A10,2009).

Mikroorganizma ilaca ne kadar duyarlı ise, diskin etrafında oluşan inhibisyon zonu o kadar geniş olacaktır. Inhibisyon zonunun çapı mm şeklinde ölçülerek, standart zon tablolarına göre değerlendirmeler yapılır ve mikroorganizmanın kullanılan antimikrobik ajanlara karşı duyarlılık durumu belirlenir (Demirpek, 2010).

2.1.1.2. E-test

Mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılıklarının tespiti için kullanılan E-test, dilüsyon ve diffüzyon testlerinin kombinasyonundan ibarettir. E-test, antimikrobiyal duyarlılığı MİK değerleri cinsinden direkt olarak değerlendirmektedir. E-test, disk diffüzyon testleri gibi uygulanmasına rağmen, stabil antibiyotik konsantrasyonu gradienti olması nedeniyle klasik disk difüzyon testlerinden daha duyarlı olduğu bilinir (Demirpek, 2010).

E- test; ince, por içermeyen plastik bir şeritten ibarettir. Şeritin bir yüzü MİK değerlerinin okunduğu ve µg/ml cinsinden kalibre edilmiş gradientten oluşur. En üst kısmında antibiyotiği tanımlayan, iki harfli kod bulunmaktadır. Önceden belirlenmiş antibiyotik gradientinin üst noktasındaki (antibiyotik isminin yazılı olduğu uç) bölüm, maksimum konsantrasyonu; diğer uç ise, minimum konsantrasyonu gösterir. E-test şeritlerinin diğer yüzünde ise, belirlenen antibiyotik konsantrasyonları ile kaplı yüzey bulunmaktadır. E-test şeritleri inokule edilmiş agar plağı üzerine yerleştirildiğinde ilk 5 saniyede gradientin % 90'ı, 30 dakikada ise, % 100'ü agar matriksine geçer. Inkübasyon

sonunda bakteriyel üreme görünür hale geldikten sonra şerit merkezli simetrik inhibisyon zonu oluşur. MİK değeri elipsin şerit ile kesiştiği noktadan µg/ml cinsinden okunur. E- test MİK değerlerinin CLSI referans dilüsyon yöntemleriyle uyumluluğu gösterilmiştir (Bal, 1999).

2.1.2. Dilüsyon testleri

Dilüsyon testleri, bir antimikrobiyal ajanın bir mikroorganizmanın üremesini inhibe etmek veya öldürmek için gerekli olan minimum konsantrasyonunu belirlemek için uygulanır. Dilüsyon testleri "sıvı dilüsyon" ve "agar dilüsyon" olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır.

2.1.2.1. Sıvı dilüsyon testleri

Tüp dilüsyon "makro" ve "mikro" olmak üzere iki şekilde uygulanabilir. Her iki yöntemin de prensibi aynıdır. Makrodilüsyonda test tüpleri, mikrodilüsyonda ise "U" tabanlı "mikroplate"ler kullanılır. Tüp dilüsyon metodunda besiyeri olarak katyon (kalsiyum ve magnezyum) eklenmiş Mueller-Hinton buyyon kullanılır.

Test edilecek olan antibiyotikler önce özel çözücülerinde içinde hazırlanır ve takiben bu sıvı besiyerinde iki kat azalan sulandırımı yapılır. Mikroorganizmanın standart bir inokulumu hazırlanıp, antimikrobiyal ajanın çeşitli dilüsyonlarını içeren her bir tüpe eşit miktarlarda eklenir. Mikroorganizma ayrıca antibiyotik içermeyen, üremenin göstergesi olan kontrol tüpüne de eklenir. Bakteri inoküle edilmemiş, sadece besiyeri konmuş bir tüp veya çukur da besiyerinin sterilit kontrolü olarak hazırlanır. Besiyerleri 35°C'de bir gecelik inkübasyondan sonra bakteri üremesini gösteren bulanıklık yönünden incelenir. Mikroorganizmanın üremesini önleyen, gözle görünür bir bulanıklığın olmadığı en düşük ilaç konsantrasyonu, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak değerlendirilir (CLSI M7-A8, 2009).

2.1.2.2. Agar dilüsyon testleri

Agar dilüsyon yönteminin prensipleri tüp dilüsyon yöntemiyle aynıdır. Tek fark, agar dilüsyon yönteminde antibiyotik sulandırımının agar içeren besiyerine konması ve petri plaklarına dökülmesidir. Böylece her plakta antibiyotiğin farklı konsantrasyonları bulunur. Bu yöntem için de önerilen besiyeri Mueller-Hinton agardır. Test edilecek bakterinin yoğunluğu 0.5 McFarland bulanıklığa ayarlanır, takiben 1:10 oranında sulandırılarak yaklaşık 10^7 cfu/ml (Koloni oluşturan ünite/ml) elde edilir. Bu bakteri süspansiyonundan elle veya özel inokülatörler yardımıyla 1-2 µl inoküle edilir.

Böylelikle agar yüzeyindeki bakteri sayısı ortalama 10^4 cfu/ml olur. İnoküle edilen plaklar 35 °C'de 18-24 saat süreyle inkübe edilir. MİK değeri üremenin engellendiği en düşük antibiyotik konsantrasyonudur (Demirpek, 2010).

2.2. Kombinasyon testleri

Daha öncede belirtildiği gibi enfeksiyonların tedavisinde sadece etken mikroorganizmaları etkileyecek dar spektrumlu ve tek bir antimikrobiyal ilaç tercih edilmektedir. Böylece patojenlere karşı önemli savunma sistemi oluşturan normal floranın bozulmasında azaltılması amaçlanmaktadır (Gazi ve ark, 2007). Ancak bazı hasta gruplarında meydana gelen ciddi enfeksiyonların tedavisinde tek başına kullanılan antibiyotiklerin yeterli düzeyde etki oluşturmaması, direnç veya antibiyotiğe ulaşamaması araştırmacıları kombine antibiyotik kullanımına yönlendirmiştir .

2.2.1.Kombine Antibiyotik Kullanımının Gerekçeleri;

-İnfeksiyon etkeninin bilinmediği, durumu ağır olan bazı hastalarda geniş bir antibakteriyel spektrum sağlanması; Kombinasyon tedavilerinin tercih edilmesinin en önemli nedenidir. Ciddi enfeksiyon şüphesi bulunan ağır hastaların tedavisinde, enfeksiyonda etken olması en muhtemel mikroorganizmalara karşı etkili olan antibiyotik kombinasyonu ile tedaviye başlanmalıdır. Özellikle febril nötropenik olgularda en azından kültür antibiyogram sonuçları elde edilinceye kadar sinerjik etkili iki antibiyotiğin kombinasyonu önerilmektedir (Brooks ve ark,1995).

-Tek bir antimikrobik ajanın spektrumunun etken mikroorganizmaların hepsine etkili olmadığı polimikrobik enfeksiyonların tedavisi; Antibiyotiklerin kombinasyon halinde kullanımı sonucunda genişletilen etki spektrumu ile birden fazla mikroorganizmanın etken olduğu enfeksiyonların tedavisi sağlanır. Özellikle ciddi travmalarda ve bunu izleyen damar harabiyetlerinde antibiyotiklerin kombinasyon halinde kullanımı sıkça başvurulanan tedavi rejimleri arasında yer alır (Conte, 1995).

-Tedavi sırasında tek bir ajana karşı direnç gelişimi olasılığının azaltılması; Bazı mikroorganizmaların etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde tek bir antibiyotiğin kullanılması dirençli suşların ortaya çıkmasına ve buna bağlı olarak tedavi şansının azalmasına neden olur. Aralarında çapraz direnç gelişimi olmayan antibiyotik kombinasyonları dirençli suşların ortaya çıkmasını geciktirir ya da önler (Brooks ve ark, 1995).

-İlaçları düşük dozda kombine ederek yüksek dozda tek başına kullanıldıklarında ortaya çıkacak toksisiteyi azaltmak; Antibiyotiklerin kombinasyon halinde kullanılmasıyla elde edilen sinerjistik etkiden yararlanılarak, normalde uygulanan günlük dozdan daha düşük dozda uygulanmaları sonucunda olası toksik yan etkilerin azaltılması sağlanmaktadır (Krogstad ve ark, 1986).

İlaçların kombine edilerek tedavide kullanılması tedavi süresini kısaltabilir ve direnç gelişimini önleyebilir. Ancak maliyet ve toksik etkiler artabileceğinden kombinasyon tedavisinin etkinliği önceden değerlendirilmelidir (Te Dorsthorst ve ark, 2002).

2.2.2. Kombine Antibiyotik Tedavisinin Dezavantajları;

-Antibiyotik antagonizması; antibiyotik kombinasyonu ile elde edilen etkinin, bu antibiyotiklerin tek başına kullanıldıkları zaman elde edilen etkiden daha düşük olmasıdır. En sık rastlanan antagonistik kombinasyon, biri bakterisidal diğeri bakteriostatik olan ve bakteri hücre duvarı sentezine etkili iki antibiyotik birliktedir (Yıldız, 2008).

-Dirençli mikroorganizmaların kolonizasyonlarında artışlar ve süperinfeksiyonlar; Kombine antibiyotik tedavisi sırasında normal flora daha fazla inhibe olur özellikle mantarlar veya çoklu dirençli gram-negatif basillerin kolonizasyonuna ve zamanla süperinfeksiyonlarına yol açabilir. Bu yeni infeksiyonların tedavisi başlangıçtaki tedaviden daha da zor olabilir bu nedenle tüm antibiyotik tedavileri mümkün olduğunca dar spektrumlu olmalıdır (Yıldız, 2008).

- Toksisitenin artması; Kombine antibiyotik tedavisi toksik yan etki görülme riskini artırır. Örneğin aminoglikozidlerin; vankomisin veya üçüncü kuşak sefalosporinlerle kombine edilmesi nefrotoksisite riskinin artışına neden olur.

- Farmakolojik istenmeyen etkileşimler; Tedavide kullanılan diğer ilaçlarda olduğu gibi antimikrobik ajanlarda birbirlerinin metabolizmalarını etkilerler. Ayrıca kombinasyondaki antibiyotikler birbirlerinin farmakokinetiklerini değiştirebilir .

- Mali yükün artması; Seçilen ajanlara göre değişmekle birlikte kombinasyon uygulaması, tedavinin maliyetini artırır (Yıldız, 2008).

Antibiyotiklerin kombine kullanımlarında in vitro olarak; aditif, sinerjistik, indiferent veya antagonistik etkileşim görülebilmektedir.

Sinerji;

Sinerji kelimesi ‘birlikte çalışmak’ anlamına gelen iki yunanca sözcükten gelmektedir. Sinerji pozitif bir ilişkidir. İlaçların ayrı olarak test edildiklerinde elde edilen etkilerinin toplamından daha büyük bir etkinlik oluştururlar. Gram negatif septisemi veya bakteriyemi vakalarında sinerjistik etki gösteren antibiyotiklerin birlikte kullanılmasıyla, hastanın hayatını kurtarmak açısından en iyi sonuçların elde edildiği bir çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (Anderson ve ark, 1978).

Antagonizma;

Negatif bir ilişkidir ve ilaçlar ayrı olarak test edildiklerinde oluşan etkilerinin toplamından belirgin şekilde daha düşük etkinlik elde edilir. Antagonizma genellikle tek yönlüdür, yani bir ilaç diğerinin antibakteriyel etkisini antagonize eder, fakat kendi etkisini değiştirmez. Tetrasiklinlerin penisilinlerin etkisini antagonize etmeleri buna örnektir. Nadiren iki antibakteriyel ilaç karşılıklı olarak birbirinin etkisini antagonize edebilir; örneğin, fusidik asit ve bazı penisilinlerin bazı stafilokoklara karşı birbirlerinin etkisini antagonize etmelerinde olduğu gibi (Ayanoglu, 1987) .

Aditivite;

İki ilacın kombinasyonunda oluşturdukları etkinin ayrı ayrı etkileri toplamına eşit olduğu durumdur.

İndiferent;

İki ilacın kombinasyonundan elde edilen sonuç, bunlardan en etkin olan ilacın sonucundan farksız olmadığında etkisiz durumdan bahsedilir (Eliopoulus ve Moellering, 2000). Bu tip etkileşme gösteren iki ilacın birlikte kullanımı belli bir bakteriye karşı etki gücünde artma yapmaz, fakat etki spektrumunun genişlemesini sağlayabilir. Ancak böyle bir uygulama tedavinin maliyeti yanında toksik reaksiyon insidansını da artırdığı gözlenmiştir (Moellering ve ark,1986).

Sonuç olarak antibiyotik kombinasyonlarının pek çok haklı gerekçesi vardır, ancak klinik pratikte hangi kombinasyon tedavisinin daha etkili olduğuna karar vermek zordur. Yani kombinasyon tedavisinin etkinliği klinik olarak değerlendirilmelidir.

Antimikrobik kombinasyonlarının etkileşimlerinin anlaşılabilmesi için uygulanan tüm in vitro duyarlılık işlemlerine **sinerji testleri** denilmektedir. Sinerjinin bir diğer tanımı; tek başına bir antibiyotiğin MİK değerine oranla, aynı antibiyotiğin kombinasyon MİK’inde en az dört kat veya iki dilüsyon düşüş olmasıdır.

2.3. Antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkinliğini ölçen testler;

2.3.1. Checkerboard (Dama tahtası) metodu

2.3.2. Zamana bağlı öldürme (time-kill) yöntemleri

2.3.3. Disk difüzyon yöntemi

2.3.4. E test yöntemi

2.3.1. Checkerboard (dama tahtası) yöntemi

Checkerboard metodu antimikrobiyal kombinasyonları değerlendirmek için çok sıklıkla kullanılan bir metottur. Tercih edilmesinin başlıca nedenleri; mantığını anlamının kolay olması, hesaplamanın ve sonuçları yorumlamanın kolay olması ayrıca mikrobiyoloji laboratuvarlarındaki mevcut ekipmanların kullanılarak yapılabilir olmasıdır(Satish ve ark, 2005). Ancak bu yöntemde kombinasyonların farmakodinamik özellikleri hakkında bilgi edinilemez (Mukherjee, 2005) .

Test edilen mikroorganizmalar için ilaçların MİK değerlerinin alt ve üstündeki çoğul dilüsyonları ile yapılan bir model olduğundan “checkerboard” (dama tahtası) adı kullanılmıştır (Mukherjee, 2005). Her bir antimikrobiyalın MİK değerinin 4-5 kat altı ve iki kat üzerindeki dilüsyonları kullanılır. Checkerboard sisteminde "x" eksenini tek başına A ilacının dilüe edilmiş aynı miktarlarını içeren kuyucukların bulunduğu sıraları, "y" eksenini ise B ilacının dilüe edilmiş aynı miktarlarını içerir. Her iki ekseninde de ilk sıralar sadece bir ilacı içerir ve aynı ilacın MİK değerini gösterir. Sonuçta sistemdeki her bir kare test edilen iki ilacın tek bir kombinasyonunu içerir. Sonuçlar, test edilen mikroorganizmaya göre değişmekle birlikte, 24-48 saatlik inkübasyonun ardından görsel ya da spektrofotometrik olarak değerlendirilir. Üremenin inhibe edildiği her kombinasyon için FİK indeksi hesaplanır (Te Dorsthorst, 2002).

Checkerboard yöntemi agar dilüsyon ve sıvı dilüsyon metodu olmak üzere iki şekilde sınıflandırılır. Sıvı dilüsyon metodu ise; tüp dilüsyon ve mikropate dilüsyon şeklinde uygulanabilir (Satish ve ark, 2005).

Agar dilüsyon metodu; Bu yöntem sınırlı sayıdaki antibiyotik kombinasyonlarına karşı çok sayıda suşun test edilmesi gerektiğinde avantajlı olabilir. Bakteriyel inokulumun hacmi bu metot ile başlangıç antimikrobiyal stok solüsyonlarının dilüsyonunu belirlemek için kullanılan hesaplamalara katılmaz, çünkü inokulum agar plağının yüzeyine uygulanır. Aynı dilüsyon şeması kullanılarak, bir

patojene karşı üç ilaç kombinasyonunu çalışmak için üç boyutlu bir sistem oluşturmak da mümkün olabilir (Te Dorsthorst, 2002). Checkerboard testinin doğruluğu ve üretkenliği için doğru inokulumun kullanılması kritiktir. Fazla miktarlarda inokulum, inokulum etkisinden dolayı MİK in hatalı yüksek hesaplanması ile sonuçlanabilir, aksine az bir inokulum MİK in yanlış olarak düşük hesaplanmasına yol açabilir. Çoğu bakteriyel çalışmalar için inokulum 0.5 Mc Farland standart bulanıklığına getirilebilir. Bu bir çok bakteri için yaklaşık 10^8 CFU /mL ye tekabül eder (Satish ve ark, 2005).

Mikrotitre plaklarının kullanımı: Test edilen her iki ilacın karışımlarını içeren test tüpleri ile test edilen standart checkerboard için fazla miktarda antimikrobiyal ve besiyeri gerekmektedir. Bu yüzden birçok çalışan mikrotitre plaklarını kullanmayı tercih etmektedir, çünkü daha düşük miktarlarda antibiyotik ve broth gerektirmektedir. Ek olarak antimikrobiyal dilüsyonları hazırlamak, yaymak ve inokulumu eklemek için otomatize ekipman kullanılabilir. Standart test tüp (makro) checkerboard tekniğine nazaran bu teknik ile daha az hacimler kullanılmasına rağmen testin kavramsal yanları ve üretilen bilginin doğası genelde aynıdır, ancak makro metod kullanıldığında karşılaşılmayan bazı potansiyel problemler mikrotitre checkerboard testi ile görülebilmektedir (Satish ve ark, 2005).

İlk problem buharlaşmadır. Her mikrotitre kuyucuğundaki hacimler küçük olduğundan (100 ila 200 mikro litre) , buharlaşmanın az miktarları bile test edilen antimikrobiyallerin konsantrasyonlarını anlamlı derecede arttırabilir ve bu da hatalı MİK değerlerine neden olabilir. Bu sorun en iyi plastik kapaklar kullanılarak çözülebilir (Satish ve ark, 2005).

İkinci problem ise anerop ortamdır. Birçok araştırmacının deneyimi plastik kap veya kapakların zorunlu aeroplara üremesini inhibe etmeyeceğini göstermektedir. Ancak bu ihtimali dışlamak için en iyi kontrol, antimikrobiyalın olmadığı kuyucukta test organizmasının bolca üremesidir (Satish ve ark, 2005).

Üçüncü problem ise yüzey elektriklenmesidir. Belirli koşullar altında statik elektrik birikebilir ve antimikrobiyallerin efektif dilüsyonunu bozabilir. Plâğin altını nemli bir bez ile silmek genelde bu problemi çözmek için yeterlidir (Satish ve ark, 2005).

Çoğu checkerboard testleri 35-37° C' de 16-20 saatlik inkübasyondan sonra görülebilir Bazen son üreme noktaları hızlı üreyen organizmalar için erken olarak

belirlenebilir veya yavaş üreyen izolatlar için daha uzun bir inkübasyon gerektirebilir (Satish ve ark, 2005).

2.3.2. Time-kill curve (Zaman-ölüm eğrisi)

Bakteriyostatik ve bakterisid aktiviteyi zamana karşı gösterir. Dama tahtası metodunun tersine antimikrobiyal ilişkiyi dinamik olarak gösterir. Sık kullanılan bir sinerji testidir. Zaman alıcı, uygulaması zor, sınırlı sayıda antimikrobik ile yapılabilir ve dikkat gerektiren bir metoddur (Mukherjee, 2005).

Sadece inhibisyon sonuçları veren dama tahtası yönteminin aksine test edilen kombinasyonun mikrobisidal aktivitesini ölçer. Bu nedenle bakterisidal tedavinin istendiği klinik durumlar için uygun bir yöntemdir. Bir avantajı da, sadece bir kez değerlendirilen dama tahtası yöntemine göre, antimikrobiyal etkileşimin zaman içindeki dinamik davranışını ortaya koymasıdır. Ancak bu yöntemde tekrarlayan koloni sayımı için gerekli işlemler oldukça yorucudur. Bu nedenle herhangi bir izolat ile test edilebilen ilaç kombinasyon ve dilüsyon sayıları belirgin oranda sınırlanır (Mukherjee, 2005; Eliopoulus ve Moellering, 2000).

Bu yöntemde standart hücre süspansiyonu farklı zaman aralıkları için ilaç kombinasyonlarının farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılır. Belirli zaman aralıklarında besiyerine pasaj yapılarak inkübasyona bırakılır. Her zaman aralığı için canlı kalan hücreler hesaplanabilir ve test edilen her ilaç konsantrasyonu için öldürme-zaman eğrisi elde edilebilir. Koloni sayımları tespit edildiğinde sonuçları görmek için en kolay yol semilogaritmik bir kağıtta değerlerin işaretlenmesidir. Bu kağıtta zaman için apsis, ordinat için de logaritmik ölçek kullanılır. Aritmetik kağıt kullanılırsa ordinat üzerinde 10'un katları arasında koloni sayımları logaritmik olarak belirtilir (Mukherjee, 2005; Eliopoulus ve Moellering, 2000).

Sonuçlar yalnız başına çok aktif tek ilaçla karşılaştırıldığında kombinasyonun etkilerine bakılarak alınır. Sinerji, kombinasyon ile 24 saatteki öldürmede çok aktif ilacın tek başına kullanılmasına göre 100 ya da daha fazla katlık bir artış göstermesi olarak tanımlanır. Antagonizma çok aktif tek ilaçla karşılaştırıldığında kombinasyonda 100 ya da daha fazla bir azalma olarak tanımlanır. Additivite (ya da indifference) çok aktif tek ilaçla karşılaştırıldığında kombinasyonda 24 saatteki öldürmede 10 kattan daha az bir değişme olarak tanımlanır (azalma ya da artma) (Mukherjee , 2005; Eliopoulus ve Moellering, 2000).

2.3.3. Disk difüzyon yöntemi

Bir test mikroorganizmasının yayıldığı agar plaklarına antimikrobiyallerin difüzyonuna dayanan kalitatif bir yöntemdir. Önemli bir avantajı ticari olarak hazır, antimikrobiyal emdirilmiş disk ya da kağıt şeritlerin ve agar plakların kullanılabilmesidir. Diğer önemli avantajı bu yöntemin laboratuvarında kolaylıkla yapılabilmesidir (Espinel-Ingroff ve Pfaller, 2003).

Disk difüzyon yöntemi; iki ilaç arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için test edilen mikroorganizmanın yayıldığı plağa A ve B ilaçlarını içeren diskler yerleştirilir. Diskler arası mesafe değişebilmekle birlikte, genellikle tek başlarına test edildiklerinde ilaçların elde edilen inhibisyon zonlarının yarıçapları toplamına eşit ya da daha büyük olmalıdır. Sinerjistik etkileşimde iki ilacın inhibisyon zonlarının birleştiği alanda köprüleşme ya da genişleme, antagonistik kombinasyonda ise iki ilacın inhibisyon zonlarının birleşme yeri yakınındaki alanda inhibisyon zonlarında kesilme gözlenir (Eliopoulus ve Moellering, 2000; Mukherjee, 2005).

2.3.4. E-test yöntemi

Diğer sinerji testlerine göre; daha az emek harcanan, kullanımı kolay, checkerboard yöntemi ile yüksek korelasyon gösteren bir metottur. E-test ve checkerboard yöntemleri arasında %90 oranında korelasyon olduğu belirtilmiştir. E-test metodunda üreticinin önerilerine göre metodolojinin uygulanmadığı takdirde aradaki farkın büyüyebileceği belirtilmiştir (Arslan, 2010).

E-test yöntemi; Plağa ekim yaptıktan sonra önce ilk E-test strip yerleştirilir. Yaklaşık bir saat sonra, ilk E-test stripi çıkarılır. İkinci E-test striplerini birinci ile tamamen aynı yere yerleştirilir. Petriyi ikinci strip üzerindeyken ve bu organizma için önerilen inkübasyon özelliklerine uygun olarak inkübe edilir

Strip değiştirirken dikkat edilmesi gereken noktalar:

- İlk stripin başlangıç ve bitiş yerleri plağın arkasından işaretlenmelidir
- Eğer striplerin antibiyotik konsantrasyonları farklı değerlerden başlıyorsa, her iki stripte de ör. 32 µg/ml değeri aynı yere gelecek şekilde yerleştirilmelidir. Bunun için önce yüksek konsantrasyondan başlayan strip yerleştirilmeli, daha sonra düşük

konsantrasyondan başlayan strip, bir önceki stripin başlama noktasından içeriye doğru kaydırılarak aynı konsantrasyon değerleri aynı hizaya gelecek şekilde ayarlanmalıdır.

E test-değerlendirme;

- FİK indeksi kullanılabilir.

- Ya da kombine edildiğinde elde edilen MİK değeri, tek başına çalışıldığında daha aktif olan ilacın MİK değerinden

- en az iki dilüsyon düşük: sinerji

- en az iki dilüsyon yüksek: antagonizma

- Bu ikisinin arasında: aditif etki olarak kabul edilir (Köksal, 2010).

Bu metodlardan faydalanarak yapılan testler sonrasında **FİK indeksi** hesaplanır. Çeşitli metodlarla hesaplanan FİK indeksi ise aşağıda belirtildiği gibi değerlendirilir.

FİK $\leq$ 0.5:Sinerji

FİK $>$ 4:Antagonizma

0.5<FİK $\leq$ 4: Aditif/indiferent (Johnson, 2004).

2.4. Antimikrobiyal İlaçların Sınıflandırılması

2.4.1. Beta-Laktam Antibiyotikler

2.4.1.1. Penisilinler

2.4.1.2. Sefalosporinler

2.4.1.3. Monobaktamlar

2.4.1.4. Karbapenemler

2.4.2. Aminoglikozidler

2.4.3. Kloramfenikol

2.4.4. Makrolidler, Azolidler, Streptograminler

2.4.5. Kinolonlar

2.4.6. Tetrasiklinler

2.4.7. Sülfonamidler, Trimetoprim, Trimetoprim-Sülfametoksazol

2.4.8. Vankomisin ve Diğer Glikopeptid Antibiyotikler

2.4.9. Fusidik Asit

2.4.10. Linkozamidler

2.4.1. Beta-Laktam Antibiyotikler

Beta-laktam antibiyotikler yan etkilerinin azlığı ve bakterisid olmaları nedeniyle günümüzde en sık kullanılan antibiyotik grubudur (Gür, 2002). 1928 yılında Alexander

Fleming'in çalışma yaptığı *Staphylococcus* bakterilerinin bulunduğu petriye tesadüfen düşen *Penicillium notatum* küf, bakterilerin üremesini durdurmuş ve oluşturduğu madde olan penisilin beta-laktamların atası olarak kabul edilmiştir (Özgüven ve Dizer, 2002; Öztürk, 2003; Başaran, 1998; Chambes, 2005).

Bakterilerin peptidoglikan (mürein) tabakasının sentezini bozarak etki ederler. Bakterilerin hücre duvarında yer alan peptidoglikan tabakası mikroorganizmanın yapısını ve bütünlüğünü sağlar. Bu tabaka çapraz bağlanan kısa peptid zincirleri ile sağlamlaşır. Bu çapraz bağlantı N-asetil muramik asitin yapısında yer alan D-alanin D-alanin moleküllerinin transpeptidasyon reaksiyonu ile birleşmeleri sonucu oluşur. Transpeptidaz reaksiyonu oluşturan enzimlere penisilin bağlayan proteinler "PBP" adı verilir. Betalaktam antibiyotiklerin temel hedefi işte bu penisilin bağlayıcı proteinlerdir. Beta-laktam antibiyotiklerin yapısı ve uzaydaki konfigürasyonları D-alanin D-alanin molekülüne çok benzemektedir. Bu benzerlik beta-laktam antibiyotiklerin PBP ile reaksiyona girmelerini ve D-alanin D-alanin molekülünün yerini alarak transpeptidasyonu engellemelerini sağlar (Gür, 2002).

Beta-laktam antibiyotiklerin hedeflerine bağlanmaları ve etkinlik göstermeleri için gram negatif bakterilerde porin (Outer Membran Protein, OMP) adı verilen içi su dolu protein kanalcıklarından geçmeleri, sitoplazmik membranla dış membran arasındaki periplazmik boşlukta yer alan beta-laktamazlardan etkilenmemeleri gerekmektedir (Kfoury ve ark, 2003). Gram-pozitif bakterilerde dış membran tabakası bulunmayıp, sitoplazmik kalın bir peptidoglikan tabakası uzanmaktadır. Beta-laktamazlar bu tabakaya yapışık veya bakteri hücresi etrafında serbest olarak yer almaktadır (Opal ve ark, 2005). Günümüzde elliden fazla lisanslı beta-laktam türevi vardır ve bunlar kimyasal yapıları bakımından penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler olmak üzere 4 ana gruba ayrılırlar.

2.4.1.1. Penisilinler

Sir Alexander Fleming tarafından bulunan penisilinin, 1939'dan itibaren Florey, Chain ve Abraham klinik deneyler ile farmakolojik özelliklerini belirlemiş, 1941 yılından sonra da seri üretimi ile klinik kullanımı başlamıştır (Özgüven ve Dizer, 2002; Chambes, 1995; Mutlu, 1999).

Bütün penisilinlerde ortak yapı 6-aminopenisilanik asit (6-APA)'dir. Bu yapıya yan zincirlerin bağlanması ile penisilin türevleri oluşturulur (Chambes, 2005). Penisilinler, bakterisidal etki gösteren antibiyotiklerdir. Bakteri hücre duvarına etki ederek bakterinin ölmesine neden olurlar (Özgüven ve Dizer, 2002).

Doğal penisilinler: penisilin G, prokain penisilin G, kristalize penisilin G, benzatin penisilin G, penisilin V (Fenoksi metil penisilin)

Penisilinaza dirençli penisilinler: metisilin, nafsilin, izaksazolil penisilin (kloksasilin, ikloksasilin, flukloksasilin), oksasilin

Aminopenisilinler: ampisilin, amoksisilin, bakampisilin, siklasilin, episilin, pivampisilin

Karboksipenisilinler: karbenisilin, indanil karbenisilin (korindasilin), tikarsilin

Üreidopenisilinler: azlosilin, mezlosilin, piperasilin

Amdinopenisilinler: amdinosisilin, pivamdinosisilin

Beta-laktam inhibitör kombine penisilinler: ampisilin/sulbaktam, amoksisilin/ klavulonat, tikarsilin/klavulonat, piperasilin/tazobaktam

Doğal penisilinler ve penisilinaza dayanıklı penisilinler gram-pozitif bakterilere etkilidirler. Aminopenisilinlerin etki spektrumu Penisilin G'ye benzer ve kendi üyeleri arasında da etkinlik açısından farklılık yoktur. Her ne kadar insan florasında yer alan çoğu *E.coli*, aminopenisilinlere duyarlı ise de hastane kökenlerinde plazmidlerle yayılan direnç yaygındır. *Shigella sonnei*, *Salmonella typhi* dahil çoğu *Salmonella*' lar beta-laktamaza bağlı direnç gösterirler. Ayrıca *Klebsiella*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas* türleri ve *Bacteriodes fragilis*'lerin çoğu penisilinlerin bu sınıfına dirençlidir. Çünkü tüm aminopenisilinler gram-negatif ve gram-pozitif bakterilerin beta-laktamaz enzimlerine duyarlıdır. Bugün için gram-negatif basil infeksiyonlarında aminopenisilinler ampirik olarak seçilmemelidir (Sarı, 2005). *Pseudomonas*'lara etkili penisilinler, *P.aeruginosa*'yı da içine alan pek çok aerob gram-negatif basile etkili olan ilaçlardır. Piperasilin ve azlosilin şu anda *Pseudomonas*'lara en etkili penisilinlerdir. Hepsinin gram-pozitif bakterilere etkinlikleri, penisilin G ve aminopenisilinlerden daha azdır. Bu grup penisilin türevleri beta-laktamazlara dirençli değildir (Sarı, 2005). Son yıllarda klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile ampisilin, amoksisilin, tikarsilin, piperasilin gibi penisilin türevlerinin aynı preparat içinde birleştirilmesi ile beta-laktamaz salgılayan bakterileri de etki spektrumu içine

alan beta-laktamaz inhibitörlü kombine penisilinler geliştirilmiştir. Ancak bu kombine preparatlardaki beta-laktamaz inhibitörleri, tüm beta-laktamazları inhibe edemezler. Bu ilaçlar genellikle *Staphylococcus*, *Haemophilus*, *Bacteriodes*, *Klebsiella* türleri ve *E. coli*'nin basit beta-laktamazlarını inhibe ederler (Chambers, 2005).

2.4.1.2. Sefalosporinler

Sefalosporinler ilk defa 1940 yılında Giuseppe Brotzu tarafından Sardunya adasında *Cephalosporium acremonium* isimli mantardan elde edilmiştir. İlk kullanıma giren sefalosporin sefalotindir. Penisilinlerden beş üyeli tiazolidon halkası yerine, altı üyeli dihidrotiazin halkasının olmasıyla ayrılırlar. Dihidrotiazin halkası sefalosporinlerin beta laktamazlara daha stabil olmasını sağlar. Sefalosporinler bakterisidal etkilidir. Penisilinlere benzer olarak hücre duvarı sentezini inhibe ederler (Leblebicioğlu, 2008). Antibakteriyel etki spektrumları bakımından birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü kuşak ve sefamisinler olmak üzere beş kısımda incelenirler.

1. kuşak sefalosporinler: sefalotin, sefazolin, sefaloridin, sefalekssin, sefapirin, sefradin, sefadroksil, sefasetril, seftezol.

2. kuşak sefalosporinler: sefuroksim, sefamandol, sefonisid, sefonarid, sefaklor, sefotiam

3. kuşak sefalosporinler: sefotaksim, seftizoksım, sefoperazon, seftriakson, moksolaktam, seftazidim, sefsulodin, sefmenoksım, sefpiramid

4. kuşak sefalosporinler: sefepim, sefpirom

Sefamisinler; sefoksitin, sefotetan, sefmetazol

Birinci kuşak ilaçlar gram pozitif organizmalara iyi etkili iken gram negatif organizmalara nispeten daha az etkilidir. İkinci kuşak sefalosporinler gram negatif bakterilerde bulunan bazı beta laktamazlara karşı stabildir ve bunun sonucu olarak gram negatif organizmalara karşı artmış aktiviteye sahiptir. Üçüncü kuşak sefalosporinler genellikle gram pozitif koklara dar spektrumlulardan daha az etkilidir, fakat *P.aeruginosa* ve *Enterobacteriaceae*'lara daha çok etkilidirler (Joseph ve ark, 2009). Gram negatiflere en etkili olan dördüncü kuşak sefalosporinlerdir. Dördüncü kuşak sefalosporinler özellikle geniş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üreten suşların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılırlar.

2.4.1.3. Monobaktamlar

Monosiklik beta-laktam halkasından oluşurlar. Monobaktamlar içerisinde klinikte en sık kullanılan aztreonamdır. Diğer beta-laktam antibiyotikler gibi penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) bağlanarak hücre duvarı sentezini inhibe ederler. Aztreonam yalnızca aerob Gram negatif bakteriler üzerine bakterisidal etki yapan bir antibiyotiktir. Gram pozitifler ve anaerob bakteriler aztreonama karşı dirençlidir (Doğanay, 2003). Ayrıca *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* ve *Acinetobacter* türlerinin çoğu bu antibiyotiğe dirençlidir (Buesing ve Jongensen, 1985).

2.4.1.4. Karbapenemler

Karbapenemler ilk olarak 1976 yılında *Streptomyces cattleya* tarafından üretilen ve “thienamycin adı verilen bileşiğin üzerinde amino ve hidroksil gruplarında değişiklikler yapılarak elde edilmiştir. Beta-laktamların en geniş spektrumlusudur (Livermore ve Woodford, 2000). Diğer beta-laktamları parçalayabilen birçok beta laktamaza direnci ve geniş spektrumu ile o yıllarda ümit vaad eden bir antibiyotik olarak kabul edilmişken, konsantre formlarının aktivitesini çabuk yitirmesi hayal kırıklığı yaratmıştır. Tienamisinin yarı sentetik bir derivesi olan N-formimidoil tienamisin (imipenem)’in bu önemli dezavantajı ortadan kaldırdığı saptanmış ancak bu kez de bu bileşiğin insan böbrek dehidropeptidaz-1 (DHP-1) enzimi tarafından metabolize edildiği anlaşılmıştır. Bu enzim insan böbrek proksimal tüplerinin fırçası kenarlarında bulunmaktadır ve orijinal imipenem molekülünün idrarla atılımını engellemektedir. Böylece imipenem molekülleri proksimal tübüllerde toksik düzeyde birikerek nekroza yol açmaktadır. Bu problem de kısa sürede silastatin moleküllerinin tanımlanmasıyla aşılmıştır. Silastatin DHP-1 enzimini inhibe etmekte ve böylece imipenem molekülünün nefrotoksik özelliğini ortadan kaldırmaktadır. 1986 yılından itibaren bu ilaç ruhsatlandırılarak kullanıma girmiştir (Çakır, 2008). 1996 yılından sonra ise karbapenem grubunun ikinci üyesi olan meropenem kullanıma girmiştir. Meropenem, karbapenem halkasına 1- β -metil grubu eklenerek elde edilmiştir, dihidropeptidaz enziminden etkilenmez. Gram pozitif, Gram negatif ve anaerob bakterilere karşı etkindir (Bonfiglio ve ark, 2002). 2001 yılında ertapenem ve daha sonra doripenemin ve diğer üyelerin gruba dahil olması ile karbapenem grubu genişleme göstermiştir.

Kimyasal yapıları

Karbapenemler ortak bir karbapenem molekülü içeren yarı sentetik beta-laktam antibiyotiklerdir. Bir karbapenem molekülünün penisilin molekülünden iki önemli farklılığı vardır:

a.C1 pozisyonunda bir karbon atomunun yerini bir kükürt atomu almış ve bu da bir tiazolidin halkasıyla birleşmiştir.

b.C2 ve C3 pozisyonları arasında doymamış hidroksil bağı bulunmaktadır.

Karbapenemlerin kimyasal yapılarıyla etkinlikleri arasında da sıkı bir ilişki vardır. Geniş bir beta laktamaz grubuna dirençli olan bu antibiyotiklere bu özelliği veren 6-trans-hidroksimetil gruplarıdır. Yine meropeneme imipenemden farklı olarak DHP-1 enzimine direnç veren bölgesi de C1 atomuna bağlanmış olan metil grubudur. Yine C2 atomuna bağlanmış uzun zincir meropenemin konvülzan etkisini azaltan kısmıdır. Tüm karbapenemlerde bu bölgenin kimyasal yapısı gram negatif mikroorganizmalara etkinlikten sorumludur. Molekül ağırlığının düşük olması bakterinin hücre zarından girişini kolaylaştırır. Penem halkasında bulunan alkil tiyo yan zinciri ise *P.aeruginosa*'ya etkinliği sağlamaktadır (Bimba ve ark, 1985).

Başlıca 3 temel kuşak karbapenemden bahsedilebilir:

Grup 1 karbapenemler: Etki spektrumları daha dar ve nonfermentatif çomaklara etkileri sınırlı, toplum kökenli infeksiyonlarda kullanılabilir. (ertapenem, panipenem)

Grup 2 karbapenemler: Etki spektrumları daha geniş ve nonfermentatif çomaklara da etkili olan, daha çok nozokomiyal infeksiyonlarda kullanılabilirler. (imipenem, meropenem, biapenem, doripenem)

Grup 3 karbapenem: Metisiline dirençli kökenlere etkili olanlardır. Günümüzde bu kuşakta lisanslı ürün yoktur.

Etki mekanizması

Karbapenemler gram negatif ve gram pozitif bakterilerin PBP 1 ve PBP 2 sine bağlanarak hücre elongasyonu ve lizisine neden olurlar (Spratt ve ark, 1997). Bazı *Bacteroides fragilis* suşları ve *Stenotrophomonas maltophilia* tarafından meydana getirilenler dışındaki plazmid ilişkili veya kromozomal olarak üretilen beta laktamazlara dayanıklıdır. Karbapenemazların üretilmesinden kaynaklanan bakteriyel direnç, karbapenem nükleusunun hidrolize olmasına ve bakteri hücre duvarındaki porin kanallarının değişmesine ve ilacın permeabilitesinin azalmasına yol açar (Neu, 1985).

Etki spektrumu

Karbapenemler tüm antibiyotikler içinde en geniş spektruma sahip gruptur. Küçük farklılıklar dışında genellikle benzer antibakteriyel etkiye sahiptir (Joseph ve ark, 2009). Gram negatif çomaklar ve koklar, gram pozitif koklar, anaerob bakteriler üzerine etkilidir. *Enterococcus faecium* kökenleri genellikle karbapenemlere dirençli iken, diğer *Enterokok* türleri orta duyarlı ya da duyarlıdır. Karbapenemlerin en büyük avantajlarından birisi anaerob etkinliğidir. Ertapenem, İmipenem ve meropeneme kıyasla daha dar spektrumludur. Ertapenemin in vitro aktivitesi özellikle *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* kökenlerine karşı imipenem ve meropenemden daha azdır. Yine *Haemophilus influenzae* kökenleri içinde sadece beta laktamaz üretmeyen kökenlere etkilidir (Çakır, 2008). Uzun yarı ömrü ve yüksek oranda proteine bağlanma gibi farmakokinetik özelliklerinden dolayı günde bir kez uygulamaya olanak vermektedir. İntravenöz veya anestetik madde ilavesi ile intramüsküler uygulanabilir (Shah, 2008). Doripenem' de bir 1-beta-metil karbapenemdir. Meropeneme benzer aktivitede olmakla birlikte *P.aeruginosa*'ya in-vitro olarak daha etkili görünmektedir. Komplike üriner sistem ve intra-abdominal infeksiyonlarda ve nozokomiyal pnömonide kullanılmaktadır (Mandell, 2009; Paterson ve Depestel, 2009).

Diğer beta laktamlara ve aminoglikozitlere dirençli olanlar da dahil olmak üzere *Enterobacteriaceae*'ların %90'dan fazlası karbapenemlere duyarlıdır (Neu ve Labthavikul, 1982).

Direnç mekanizmaları

Karbapenemler, antibakteriyel spektrumlarının genişliği, amfilik özellikleri nedeniyle bakteriyel membranlardan hızla geçebilmeleri, AmpC ve GSBL'lere dayanıklı olmaları gibi özellikleri nedeniyle özellikle çoğul dirençli gram-negatif bakteri infeksiyonlarında ilk sırada kullanılan antibiyotik grubudur. Ancak, karbapenemlerin özellikle ampirik tedavide yaygın olarak kullanılması bunlara karşı direnç oranlarının artmasıyla sonlanmıştır.

Direnç gelişim mekanizmaları :

1. İlacın hücre içinde etkin konsantrasyona ulaşamaması,

a. Porin değişimleri: Bu özellikle *P. aeruginosa* suşlarındaki temel direnç mekanizmasıdır. *P. aeruginosa* suşlarında karbapenemler için özel bir porin olan OprD'nin kaybı bu grup antibiyotiklere direnç gelişmesine neden olmaktadır. OprD

kaybı özellikle imipenem tedavisi sırasında gelişmektedir. Bir haftalık imipenem tedavisi sonunda *P. aeruginosa* suşlarının %50'sinde OprD mutasyonları olduğu saptanmıştır .

b. Aktif pompa sistemlerinin indüklenmesi.

2. Karbapenemleri hidrolize eden enzimlerin varlığı,

a. İntrinsik, kromozomal karbapenemazlar: Bu grupta, *Bacillus cereus* II, *Bacteroides fragilis*'in CcrA, *Burkholderia cepacia*'nın PCM-1, *Stenotrophomonas maltophilia*'nın L1, *Chryseobacterium indologenes*'in IND-1-4, *Chryseobacterium meningosepticum*'un BlaB enzimleri sayılabilir. Bunların tümü Bush sınıflandırmasında grup 3'de yer alan metalloenzimlerdir.

b. Kazanılmış (akkiz) karbapenemazlar:

• Sınıf A (Bush grup 2f)'da yer alan karbapenem hidrolize eden enzimler: *E. cloacae*'nin IMI-1 ve NMC-A enzimleri, *Serratia marcescens*'in Sme-1 ve 2 enzimleri, *Klebsiella pneumoniae*'nin KPC-1 enzimi bu grupta yer almaktadır. Bunlar; imipenem, meropenem, penisilinler, genişlemiş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama direnç gelişmesine neden olan ve tazobaktam başta olmak üzere beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olan enzimlerdir.

• Sınıf B metalloenzimler: IMP-1-8, VIM-1-3.

• Sınıf C beta-laktamazlar.

Kromozomal AmpC enzimlerinin aşırı üretiminin özellikle dış membran porin değişimleri ile birleştiğinde karbapenem direncine yol açması büyük olasılıkla en yaygın karbapenem direnç mekanizmasıdır. Bu durum *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *E. coli*, *P. aeruginosa* gibi birçok türde gösterilmiştir. İmipeneme yüksek düzey direnç gösteren dereprese bir *Enterobacter aerogenes* mutantında hücre genomuna AmpD geni sokulduğunda imipenem MİK değerlerinin normale dönmesi AmpC tipi enzimlerin karbapenemlere dirençteki önemini vurgulamaktadır.

• Sınıf D oksasilinazlar: OXA23 (ARI-1)-OXA 27.

3. Hedef PBP değişimleri (nadir).

Karbapenem direncinde genellikle bu mekanizmalardan birkaçı birden rol oynar (Gülay , 2001).

Farmakolojik özellikleri ve ilaç etkileşimleri

İntravenöz olarak verildikten sonra karbapenemler vücuda geniş ölçüde dağılır, fakat anlamlı bir safra atılımları yoktur. İmipenem böbreklerden metabolize ve inaktive edilir. İmipenem ve meropenemin farmakokinetiği benzerdir, Yarılanma ömürleri bir saat civarındadır. İmipenem ve meropenem inflamme meninkslere iyi penetre olur. Ertapenemin Beyin omurilik sıvısına (BOS) penetrasyonu zayıftır (Joseph ve Moellering, 2009). Klasik karbapenemler bağırsak yoluyla emilmez. Genellikle 15-30 dakikalık damar içi yolla verilerak uygulanırlar. İmipenem i.m yolla da verilebilir. Ertapenem hem damar içi yolla hem de kas içine enjeksiyon şeklinde kullanılabilir. Kas içi biyoyararlanımı hemen hemen tamdır (Çakır, 2008).

Karbapenemlerle diğer beta laktamlar arasında çapraz direnç yoktur. Bu nedenle beta-laktamlara dirençli bakterilerle oluşmuş ciddi sistemik infeksiyonlarda karbapenemler kullanılabilir. Özellikle *Pseudomonas* infeksiyonlarında karbapenemler başarıyla kullanılmıştır. Ancak zamanla direnç sorunu ortaya çıkmıştır. Bu nedenle özellikle kistik fibroz gibi psödomonal infeksiyonlarda karbapenemleri bir aminoglikozitle kombine etmek daha doğru olur (Çakır, 2008). Probenesid ile kullanırken dikkatli olmak gerekir. Çünkü karbapenemlerin böbrekler yoluyla atılımı azalır bunun sonucunda yarı ömürleri artar. Ertapenem valproik asit düzeyini düşürür bu nedenle beraber kullanımlarında valproik asit düzeyi izlenmelidir.

Yan etkiler

Diğer beta laktam antibiyotiklere benzerdir. Bulantı kusma ve ishal hastaların %5 inde görülür ve genellikle imipenem ve ertapenemin parenteral kullanımı ile ilişkilidir. Pseudomembranöz kolit yapabilirler. Hastaların %3 ünde ürtiker, cilt döküntüsü ve ilaç ateşi gibi alerjik reaksiyonlar görülebilir. Diğer beta laktam ajanlarla çapraz reaksiyon olabilir. Fakat çalışmalar yetersizdir. Nörolojik hastalığı olanlarda imipenem ve ertapenem %1 oranında nöbetlere sebep olabilir, meropenemin nöbetlerle ilgisi yoktur. Serum transaminazlarında geçici yükseklik, lökopeni ve trombositopeni yapabilirler (Joseph ve ark, 2009).

2.4.2. Aminoglikozidler

Aminoglikozidler; *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinsi funguslardan elde edilen doğal ya da semisentetik antibiyotiklerdir. 1944 yılında *Streptomyces griseus*' tan streptomisin elde edilmesiyle kullanıma girmişlerdir. Elde ediliş ve klinik kullanıma giriş sırasına göre; streptomisin (1944), neomisin (1949), kanamisin (1957), gentamisin (1963), tobramisin (1967), sisomisin (1970), dibekasin (1971), amikasin (1972), netilmisin (1975), isepamisin (1978) ve arbekasin (1990) bu grup antibiyotikleri oluşturur (Willke, 2008).

Kimyasal Yapıları

Aminoglikozidlerin kimyasal yapıları; genellikle santral yerleşen 'heksoz' nükleusa yani aminosiklitol halkasına iki veya daha fazla aminoşekerin glikozid bağlarıyla bağlanmasından oluşmuştur. Aminoglikozidler arasındaki bireysel farklılıklar aminosiklitol halkaya bağlı aminoşekerlerin yapı ve sayısından kaynaklanmaktadır. Aminosiklitol halka streptomisinde olduğu gibi streptidin veya diğerlerinde olduğu gibi 2-deoksistreptamin olabilir (Willke, 2008). Spektinomisin aminoşeker ve glikozidik bağ içermemesi ile diğer aminoglikozidlerden farklılaşır (Willke, 2002; Gilbert, 1995).

Aminoglikozidlerin kimyasal yapıları ile antibakteriyel etkinlikleri arasındaki ilişki çok iyi anlaşılamamıştır. Değişik halkalara bağlı bazı hidroksil ve amino gruplarının bazı bakteri enzimleriyle ya da kimyasal maddelerle modifiye edilmesi antibakteriyel etkinin ve toksisitenin azalmasına neden olmaktadır.

Aminoglikozidler kimyasal yapılarına göre beş aileye ayrılır:

1. Streptomisin ailesi; streptomisin
2. Kanamisin ailesi; kanamisin A, kanamisin B, amikasin, tobramisin, dibekasin
3. Gentamisin ailesi; gentamisin C1, gentamisin C1a, gentamisin C2, sisomisin, netilmisin, isepamisin
4. Neomisin ailesi; neomisin, paromamisin
5. Spektinomisin ailesi; spektinomisin.

Aminoglikozidler suda iyi derece çözünürken, organik çözücülerde çözünmezler. Çok az lipofiliktirler, bundan dolayı yağ içeren zarlardan sınırlı geçişleri vardır. Moleküler ağırlıkları 445 ve 600 dalton arası değişir. Moleküler yapıları; dondurulma, 100 °C'de 4 saat ısıtılma, saatlerce 3-12 pH aralığında kalma gibi koşullarda değişmez. pH 7,4'de katyonik olup çok yüksek pozitif yüke sahiptirler. Bu

aynı zamanda antimikrobiyal aktivite ve toksisitesi ile de yakından ilişkilidir. Antibakteriyel aktivite alkalın pH'da artarken, asidik pH'da azalır (Gilbert, 2005).

Etki Mekanizması

Aminoglikozidlerin antibakteriyel etki mekanizması multifaktöriyel bir süreç olup hücrenin dış yüzeyi ile iyonik etkileşim, iki enerji bağımlı faz ve ribozomlara bağlanma basamaklarından oluşur. Aminoglikozidlerin bakteri hücre yüzeyine bağlanması elektrostatik, pasif bir olaydır ve enerji gerektirmez. Gram negatif bakteri hücre duvarında lipopolisakkaridlere, fosfolipidlerin polar başlarına ve aniyonik dış membran proteinlerine bağlanır, burada rekabetçi olarak Mg^{+2} ve Ca^{+2} iyonlarını yerlerinden oynatırlar. Bunun sonucunda hücre duvarının normal geçirgenlik fonksiyonu bozulur. Bu sebeple protein sentezini inhibe eden diğer antimikrobiyaller (örn: tetrasiklinler, kloramfenikol) bakteriyostatik iken, aminoglikozidler bakterisidal olarak etki gösterirler. Bakteri hücre zarını geçmiş olan aminoglikozid geri dönüşümsüz olarak sitoplazma içinde kalır. Hücre zarına iyonik bağlanmadan sonra aminoglikozidin bakteri içine alınışı birbirini takip eden ve enerji gerektiren iki fazda gerçekleşir. Bunlar: Enerji bağımlı faz 1 ve enerji bağımlı faz 2'dir. Enerji bağımlı faz 1 yavaş seyrederken Enerji bağımlı faz 2 hızlıdır. Bu fazlar için gereken enerji ATP hidrolizi ile veya solunum sırasında proton açığa çıkması ile oluşan transmembran elektrokimyasal yük farkından sağlanır. Bakterinin hücre membran potansiyeli ne kadar fazla ise aminoglikozidin etkisi o kadar fazla olmaktadır.

Anaerob ortamda, düşük pH'da ve yüksek ozmolar ortamda membran potansiyeli azaldığından aminoglikozidlerin antibakteriyel etkileri de azalmaktadır. Dolayısıyla apselerin anaerob ortamda, idrarın hiperozmolar asidik olması durumunda aminoglikozidlerin etkisi azalır (Willke, 2002; Gilbert, 2005; Park, 2009).

Sitoplazmik membranı geçen aminoglikozidler ribozomlara bağlanarak protein sentezini inhibe ederler. Bu olay daha sonraki antibiyotik transport fazı olan Enerji bağımlı faz 2'yi hızlandırır. Enerji bağımlı faz 2'nin hızlanması hücre membranının progresif bozulmasıyla ilişkilidir ve aminoglikozidlere bağlı bakteri ölümünden önce ilk sırada küçük iyonların, bunu takiben daha büyük moleküllerin, en sonunda da proteinlerin bakteri hücresinden sızması gerekçesine dayandırılmaktadır. Bakteri sitoplazmik membranının bozulması aminoglikozidlerin letal etkisini açıklayabilir (Willke, 2002; Gilbert, 2005).

Hücre dışı aminoglikozid yoğunluğu ne kadar fazla ise hücre içi ilaç yoğunluğu o kadar artar ve Enerji bağımlı faz 2'yi tetikleyecek miktara hızla ulaşır, sonuçta bakteri ölümü görülür (Willke, 2002).

Aminoglikozidler bakterilerin 30S ribozomlarında 16S rRNA'nın A alt bölgesine geri dönüşümsüz bağlanarak mRNA kodonlarının ve tRNA antikodonlarının okunmasını bozarlar. (Streptomisin sadece 30S alt birimine bağlandığı halde, diğerleri ilave olarak 50S alt birimine de bağlanırlar.) Bunun sonucunda protein sentezi inhibe olur ve hücre ölümü gerçekleşir (Çolak, 1999; Willke, 2002; Gilbert, 2005).

Etki Spektrumu

Aminoglikozidler kimyasal olarak oldukça stabil, allerjik yan etkileri az görülen, duyarlı bakteri hücrelerine hızlı bakterisidal etkili, geniş antibakteriyal spektruma sahip antibiyotiklerdir (Küçükateş ve ark, 2007).

Aminoglikozidlerin en önemli etkinlikleri *Pseudomonas*'lar başta olmak üzere gram negatif aerop basiller üzerinedir. Gram pozitif bakteriler üzerine etkinlikleri kısıtlıdır (Willke, 2008). Genellikle metisiline duyarlı stafilokoklara etkilidirler. Piyojen streptokoklar aminoglikozidlere nadiren duyarlıdırlar. Gram pozitif koklara bağlı enfeksiyonlarda bu antibiyotikler diğer bazı antibiyotiklerle (örneğin. beta-laktam antibiyotikler, vankomisin) sinerjik etkilerinden yararlanmak amacıyla kombine tedavide kullanılır. *Listeria* ve diğer gram pozitif basillerin çoğu aminoglikozidlere dirençli, *Haemophilus spp.* ve *Neisseria spp.* genellikle duyarlıdır (Willke, 2002; Yamazhan, 2007). Streptomisin *Mycobacterium tuberculosis*'e, kanamisin ve amikasin *Mycobacterium aviumintracellulare* ve diğer atipik mikobakterilere etkilidir. Streptomisin ayrıca *Yersinia pestis* enfeksiyonlarında, streptomisin ve gentamisin *Francisella tularensis* enfeksiyonlarında başarı ile kullanılmaktadır. *Streptococcus pneumoniae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.* ve diğer anaeroplara pratik olarak in vitro etkisizdirler. Diğer yandan aminoglikozidlerin riketsiyalara, funguslara, mikoplazma ve virüslara klinik yönden etkinlikleri yoktur. Aminoglikozidlerin hücre içine girişleri iyi olmadığı için *Legionella* enfeksiyonlarında kullanılmazlar ancak bruselloz, tüberküloz gibi enfeksiyonlarda kombine olarak kullanılırlar. Aminoglikozidler içinde yalnızca spektinomisin gonore tedavisinde, paromomisin ise sindirim kanalından absorbe edilmediğinden oral yoldan

amipli dizanteri tedavisinde ve AIDS'li hastalardaki *Cryptosporidium parvum* enfeksiyonlarında kullanılır (Willke, 2002).

Direnç Mekanizmaları

Aminoglikozidlere karşı bakterilerde sonradan gelişen direnç; ribozomal direnç, membran geçirgenliğinde azalma ve/veya efluks pompalama, aminoglikozidleri modifiye edici enzimlere bağlı olmak üzere başlıca üç önemli mekanizma ile olmaktadır. Bunlar arasında en yaygın ve bu nedenle önemli olanı üçüncü mekanizmadır (Willke, 2008).

a. Ribozomal Direnç: Aminoglikozidlerin bağlandığı ribozomal proteinleri kodlayan genlerdeki tek basamaklı mutasyona bağlı olarak bu proteinlerdeki değişiklik sonucu aminoglikozidin bağlanmasının engellenmesiyle oluşur. Bu tip direnç sıklıkla streptomisine karşıdır. Genellikle tek bir aminoglikozide özgüdür. Yaygın değildir. *E.coli*, *N. gonorrhoeae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, enterokoklar ve *Mycobacterium tuberculosis* gibi birçok bakteri türünde bildirilmiştir (Gür, 2000; Yamazhan, 2007).

b. Permeabiliteye Bağlı Direnç: Aminoglikozidlerin hücre içine taşınmasının engellenmesi bu gruptaki tüm antibiyotiklere çapraz direnç gelişmesine sebep olmaktadır. Hedefleri olan ribozomlara ulaşmadan evvel hücre duvarını ve sitoplazmik membranı geçmek zorunda olan bu katyonik bileşikler gram negatif bakterilerin dış membranında yer alan lipopolisakkarit tabakasındaki divalan katyonlarla (örn: Mg²⁺) yer değiştirirler ve membran bütünlüğünün bozulması ile hücre içine geçerler. Zardaki lipopolisakkarit, dış membran proteinleri, porinler veya fosfolipitlerin yapısındaki değişiklikler aminoglikozidlerin hücre içine alınmasını engeller. Aminoglikozidlerin hücre zarından geçmesini ise elektron transport zinciri ile kazanılan elektriksel potansiyel sağlamaktadır. Bu nedenle, elektron transport sistemi bulunmayan anaerobik mikroorganizmalar aminoglikozidlere doğal olarak dirençlidirler (Gülay, 1999).

c. Enzimatik Direnç: Aminoglikozidlere dirençli bulunan gram pozitif ve negatif bakterilerde en sık görülen mekanizma plazmit tarafından kodlanan enzimlerle antibiyotiğin değiştirilmesidir. Aminoglikozidin hidroksil veya amino gruplarına özgül olarak bağlanan bu enzimler, aminoglikozid yapısını asetilasyon, adenilasyon veya fosforilasyon mekanizmaları ile inaktive ederler. Kataliz ettikleri reaksiyona göre bu enzimler üç grupta toplanmaktadır: Asetiltransferazlar, fosfotransferazlar, nükleotidil transferazlar (Gür, 2002; Shaw ve ark, 1993). Bu enzimler bakteri hücresinde

plazmidlerdeki genetik bilgi ile üretilir, plazmidler aracılığıyla diğer bakterilere aktarılabilir, bu nedenle oldukça yaygın ve endişe vericidir. Bu plazmidler 20 den fazla enzimi kodlamaktadır ve her bir enzim birden fazla aminoglikozidi inaktive edebilmektedir. Duyarlı bakterilerde plazmide bağımlı inaktivasyon enzimleriyle gelişen direnç kanamisinin ve son zamanlarda gentamisin ve tobramisinin klinik uygulamadaki yerini kısıtlamıştır. Amikasin bu enzimlere en az duyarlı olan aminoglikoziddir (Willke, 2008).

Farmakokinetik

Tüm aminoglikozidlerin farmakolojik özellikleri benzerdir. Bu ajanların gastrointestinal absorpsiyonu daima düşüktür. Neomisinin sistemik verilişte ciddi toksisitesi olduğundan sadece oral ve topikal kullanılır. Aminoglikozidler intravenöz verildikten sonra ekstrasellüler alan serbestçe dağılır fakat BOS, vitröz göz sıvısı, biliyer sistem, prostat ve trakeobronşial sekresyonlara inflamasyon varlığında bile penetrasyonu zayıftır.

Normal böbrek fonksiyonu olan erişkinlerde aminoglikozidlerin yarılanma ömrü 2-3 saattir. Primer olarak böbreklerden değişmeden atılır. Aminoglikozidlerin eliminasyonu bireyler arasında, özellikle renal yetmezliği olanlarda önemli farklılıklar gösterir. Bu hastalarda toksisiteyi önlemek ve temel uygun tedaviyi sağlamak için serum aminoglikozit düzeyi monitörize edilmelidir. Konsantrasyon bağımlı öldürme ve postantibiyotik etkinin uzun olması nedeni ile günde tek doz verilerek toksisite artmaksızın yüksek konsantrasyonlarda maksimum bakterisidal aktivite sağlamak mümkündür (Bates ve Nahata, 1994). Renal yetmezlikte ilaç biriktiğinden doz ayarlaması gereklidir. Aminoglikozidler esasen hemodiyalizle ve daha az olarak peritoneal diyalizle uzaklaştırılabilirler.

Yan etkiler

Aminoglikozidlerin en önemli yan etkileri; nefrotoksisite, ototoksiste ve nörotoksik yan etkilerdir. Aminoglikozidler irreversibl vestibülotoksik ve kohleotoksiktir. En fazla streptomisin, daha sonra sırasıyla amikasin, gentamisin, tobramisin ve netilmisin ototoksik etkilidir. Uygulanan ilaç miktarı ne kadar fazla ise ve tedavi süresi ne kadar uzun ise ototoksisite olasılığı o kadar fazladır (Willke, 2008). Aminoglikozit kullanan hastalarda %8-26 oranında hafif veya orta şiddette böbrek yetmezliği gelişebilir. Neomisin nefrotoksisitenin en fazla olduğu, streptomisin ise en az

olduğu aminoglikozittir. Bu etki geri dönüşümlü olup, genellikle ilaç kesildiğinde bu yan etki düzelir (Joseph ve Moellering, 2009). Nörotoksisite; daha çok streptomisin kullanımına bağlı olarak ve oldukça nadir görülür. Nöromusküler blokaj; Miyastenia gravis ve Parkinson hastalığı olan kişilerde, anestezi sonrası, aminoglikozidlerin intraperitoneal veya intraplevral kullanımları sırasında ortaya çıkabilir. Aminoglikozidlerin diğer yan etkileri; deri döküntüleri, flashing ve eozinofili oldukça nadir görülür (Willke, 2008).

2.4.3. Kloramfenikol

Kloramfenikol 1947 yılında streptomyces venezuelae kültürlerinden elde edilmiş ve 1949 yılında klinik kullanıma sunulmuştur (Ayaz, 2008). Gram pozitif ve Gram negatif aerob ve anerob bakterilere karşı etkilidir. Ayrıca *Rickettsia*'lara karşı da etkili bir antibiyotiktir. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin ilk örneğidir. Bakteri ribozomlarının 50S alt ünitesine bağlanır ve protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterir. Özellikle penisiline alerjik hastaları tedavide kullanılır (Ayaz, 2003; Öztürk, 1998).

2.4.4. Makrolidler ve Streptograminler

İlk olarak 1952 yılında Saccharopolyspora erythraea'dan elde edilen eritromisinle gündeme gelen makrolid grubu antibiyotikler, son yıllarda geniş etkinliği, yüksek serum ve doku düzeyleri yanında düşük yan etki profili bulunan yeni üyeleriyle önemli bir antibiyotik grubudur (Yalçın, 2008).

Makrolidlerin en yaygın kullanılan antibiyotiği eritromisindir. Makrolidler bakterinin 50S ribozomal sbunitindeki 23S rRNA 'ya reversibl bağlanırlar, polipeptid zincir elongasyonunun translokasyonunu bloke ederler (Vannuffel ve Cocito, 1996). Genellikle bakteriyostatik ilaçlar olup, gram pozitif ve bazı gram negatif bakterilere, mikoplazmalar, trepanemalar ve riketsiyalara etkili olan nispeten geniş spektrumlu antibiyotiklerdir (Williams ve Sefton, 1993).

Kinopristin ve dalfopristin streptogramin ailesine dahil, Streptomyces cinsi bakteriler tarafından üretilen doğal antibiyotiklerdir (Bayındır, 2008). Ribozomun 50S alt ünitesine bağlanarak, protein sentezini inhibe ederler (Topçu, 2003; Ayaz, 2003).

Esas olarak gram pozitif bakterilere etkilidirler. Seçilmiş gram negatif ve anaerop patojenlere orta derecede etkilidirler (Bratu ve ark, 2005).

2.4.5. Kinolonlar

İnsanoğlunun bakterilerle olan savaşında son yılların en gözde antibakteriyel ajanları arasında yer alan kinolonlar; aslında 1960 'lı yıllardan beri bilinen eski bir antimikrobik grubudur. Bu grubun ilk üyesi, antimalaryal bir ajan olan klorokinin saflaştırılması esnasında elde edilen ara üründen üretilen yapısında flor içeren nalidiksik asittir . Nalidiksik asit sadece gram- negatif aerobik basillere etkili, dar etki alanlı bir bileşik olup, idrarda yüksek yoğunluklara ulaşabildiğinden idrar yolu infeksiyonlarında kullanılan bir antibakteriyeldir. Gram pozitif bakteriler, *P. aeruginosa* ve anaerop bakterilere etkinliklerinin olmayışı nedeniyle klinik kullanımı sadece üriner sistem infeksiyonları ile kısıtlı kalan nalidiksik asit ve daha sonra bunun kimyasal yapısında bazı modifikasyonlarla elde edilen ilk kinolonlar önceleri fazla ilgi çekmemiştir. Ancak daha sonraki yıllarda nalidiksik asite karşı bakterilerin kolay direnç oluşturmaması ve bu bileşiğin özellikle plazmid kökenli dirence duyarsız oluşu dikkatleri tekrar bu grup üzerine toplamıştır (Arda ve Ulusoy, 2008).

Kimyasal Yapıları

Kinolonlar antibiyotik değildir. Bu ajanlar, mantarlardan elde edilmeyip, tamamen sentetik olarak üretilen saf kimyasal maddelerdir. Yani; antibakteriyel etkili kemoterapötiklerdir. Kinolonların temel çekirdeği (nafridin) iki halkadan oluşmaktadır. Birinci pozisyonda (N), üçüncü pozisyonda (COOH) ve dördüncü karbon atomunda (O) içeren temel yapı antibakteriyel etki için şarttır. Tüm yeni kinolonlarda C6 pozisyonunda antibakteriyel aktivite için gerekli olan bir flor (F) bulunmaktadır. Bu değişiklik mikroorganizmalara etkinliği artırırken, kinolonun hücre içine girişini kolaylaştırır. Florokinolon halkasındaki yapı değişiklikleri, kinolonların etkinlikleri, farmokokinetik özellikleri ve yan etki profillerinde değişikliğe neden olmaktadır (Arda ve Ulusoy, 2008).

Kinolonlar kimyasal yapı, kimyasal yapı-aktivite ilişkisi, antimikrobiyal aktivite ve klinik kullanım özelliklerine göre değişik şekillerde sınıflandırılabilir.

1.kuşak kinolonlar dar etki alanlı ajanlar olup, pratik hekimlikte kendilerine iyi yer bulamamışlardır.

2.kuşak kinolonlar oldukça geniş etki spektrumlarına karşın, anaerob bakterilere etkinlikleri iyi değildir.

3.kuşak kinolonlar başta *Streptococcus pneumonia* olmak üzere çok iyi gram pozitif etkinliklerinin yanı sıra anaerob bakterilere de etkilidir.

4.kuşak kinolonlarda anaerob bakterilere ve artmış *Streptococcus pneumonia* etkinliği mevcuttur.

Tablo I: Kinolonlar (Joseph ve Moellering, 2009)

Dar spektrum(1.kuşak)	Geniş spektrum(2.kuşak)	Genişlemiş spektrum(3.kuşak)	Genişletilmiş spektrum(4.kuşak)
Sinoksasin	Siprofloksasin	Sparfloksasin	Gatifloksasin
Nalidiksik asid	Enoksasin	Tosufloksasin	Garenoksasin
Oksolinik asid	Fleroksasin ^a		Gemifloksasin
	Levofloksasin		Moksifloksasin
	Lomefloksasin		Sitafloksasin
	Norfloksasin		Trovanoksasin
	Ofloksasin		
	Pefloksasin		
	Runoksasin		

^a ABD’ de klinik kullanımını için lisans yoktur.

Etki Mekanizması

Kinolonlar bakteri hücresinde DNA sentezini bozarak etkilerini gösterirler ve konsantrasyon bağımlı bakterisidal etkilidirler (Mülazımoğlu, 1999). Bilindiği gibi bakteriler ikiye bölünerek ürerler. Bu üreme sırasında bakterilerin kromozomal Deoksiribonükleik asit (DNA) replike olur. Bakterilerde zarla çevrili bir çekirdek olmadığından kromozom sitoplazma içinde yerleşmiştir. Kromozom çift sarmallı bir DNA iplikçisi olup bakteri hücresinin 200 - 300 katı uzunluğundadır. Bu nedenle; kromozom kendisinden çok daha küçük olan bakteri içine yerleşebilmek için kendi etrafında kıvrımlar oluşturur. Bu olay bile kromozomun bakteri hücresi içine yerleşmesine yetmez ve kıvrımlar bir Ribonükleik asit (RNA) çekirdeği etrafına ikinci

kez bu defa ters yönde sıkışmaya uğrarlar. Bu olaya süpercoiling adı verilir. Bunun sonucunda kromozom ancak bakteri içine yerleşebilir. DNA işlevlerinin devam ettirilebilmesi ve bakterilerin yaşamı için süpercoiling olayı son derece önemlidir. Bakteri hücresinde bu olayı yöneten, kromozom halkalarını önce açıp daha sık kıvrım yapılmasını sağlayan ve sonra açılan uçları yapıştıran enzim DNA-giraz enzimidir. İşte kinolonlar bakteri hücresi ile karşılaştıklarında DNA-giraz enzimine bağlanırlar ve enzim fonksiyonlarını inhibe ederler. Bunun sonucunda da DNA'nın olumsuz yöndeki süpercoilingi engellenir ve bölünemeyen bakteriler anormal şekilde uzayarak ölürler (Bilgehan, 1995; Türkyılmaz, 2000).

Etki Spektrumu

Florokinolonlar *E.coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Campylobacter* ve *Neisseria* türlerine karşı etkin bakterisidal ajanlardır. Bu suşların % 90' ı için florokinolonların minimal inhibisyon konsantrasyonu genellikle 0,2 µg/ml' den daha azdır (Petri, 2006).

En güçlü Gram negatif çomak etkinliği siprofloksasine aittir. *P.aeruginosa*'ya karşı siprofloksasin en iyi etkiye sahiptir (Hooper, 2000; Aygün, 2002). Siprofloksasin ve ofloksasin *S. aureus* 'a karşı en etkili kinolonlardır (Çakır, 2008). Streptokoklara karşı etkinlikleri levofloksasin, gatifloksasin ve moksifloksasin ile sınırlıdır. Streptokoklar, pnömokoklar ve enterokoklar gibi diğer gram pozitif bakteriler için kinolon MİK değerleri oldukça yüksektir (Arda ve Ulusoy, 2008). Solunum yolları patojenlerinden *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ve *Legionella pneumophila* ' ya karşı etkinlikleri çok iyidir (Hooper ve Petri, 2006).

Direnç Mekanizmaları

Kinolonlarda direnç, spontan kromozomal mutasyonlar sonucu hedef enzimde (DNA giraz ve topoizomeraz 4) değişiklik olması veya ilacın hücre içine alımının engellenmesi şeklinde gelişmektedir. Ayrıca, son zamanlarda plazmidlere bağlı direnç gelişimi tanımlanmıştır (Arda ve Ulusoy, 2008).

A) Hedef Enzimde Değişiklik olması

Hedef enzimlerdeki değişimler, DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimlerini kodlayan kromozomal genlerdeki spontan mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (Hooper, 2001; Van Bambeke ve ark, 2005). Bu genler sırasıyla *gyrA* ve *gyrB*, ve *parC* ve *parE* olarak adlandırılırlar. Gram negatif bakterilerde kinolon direnci daha çok *gyrA*

ünitesindeki değişimlere bağlı olarak meydana gelmektedir (Scholar ve Pratt, 2000; Yüce, 2001). GYR-B geninde oluşan mutasyonlara bağlı gelişen direnç ise daha nadir olup tüm kinolonlara karşı olmayabilir (Gür, 2000; Hooper, 2001).

B) İlacın hücre içine girişinin azaltılması

Florokinolonların bakterilerdeki hedeflerine ulaşabilmeleri için sitoplazmik membranı geçmeleri gerekir. Gram negatif bakterilerde sitoplazmik membrana ek olarak dış membranı da geçmeleri gerekmektedir. Florokinolonlar moleküler yapıları küçük olduğu için porlar aracılığıyla sitoplazmik membrandan hücre içine difüzyonla kolayca girerler. Gram negatif bakterilerde florokinolon direnci porin proteinlerinin kaybı ve ilacın bakteriyel emiliminin azalması ile ilişkili olsa da difüzyon ölçüm oranları porin proteinlerinin kaybının tek başına yeterli olmadığını göstermektedir (Hooper, 2001; Gülay, 2002). Son yıllarda, florokinolonların hücre içinde etkin konsantrasyona ulaşmasını engelleyen temel mekanizmanın aktif pompa sistemleri olduğu belirlenmiştir. Hatta gram negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere doğal direncindeki temel rolü eskiden sanıldığı gibi dış membranın değil aktif pompa sistemlerinin oynadığı belirlenmiştir (Gülay, 2002). Biyolojik membranlar hidrofilik moleküller için etkin bir bariyer oluşturmalarına rağmen, hem hidrofil hem lipofil özellik taşıyan amfilik bileşikler bu membranlardan kolaylıkla geçebilmektedir. Bu nedenle evrim sırasında hücreler amfilik bileşiklerin zararlı etkilerinden korunabilmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar arasında en önemlisi aktif pompa sistemleridir. Bakterilerdeki pompa sistemleri, substratları olan ilaçlardan herhangi birinin kullanımı ile indüklenebilir ve tüm substratlara karşı direnç gelişimine neden olabilir. Buna mar (multiple antibiotic resistance) fenotipi adı verilmektedir (Hooper, 2001; Gülay, 2002).

Gram pozitif bakterilerde hücre duvar yapısının farklılığı nedeniyle düşük düzeyde kinolon direnci oluşmaktadır. *S. aureus* kökenlerinde nor A adı verilen bir genin bu grup antibiyotikleri hücre dışına atan bir aktif pompa sisteminin yapımını sağlayarak dirence yol açtığı gösterilmiştir. Özellikle sparfloksasin ve gatifloksasin bu tip bir direnç mekanizmasından etkilenmektedir (Yılmaz, 2003). Bu direnç söz konusu olduğunda sadece kinolonlara karşı değil başka grup antibiyotiklere karşıda direnç görülmektedir. Bazı mutantlarda direnç düşük düzeyde olup, ancak diğer direnç mekanizmalarıyla kombine olduğunda klinik anlam kazanır. Kinolonlarda direnç

oluşumu ya yavaş yavaş gelişir, ya da bir defa da ortaya çıkar. Üçüncü ve dördüncü kuşak yeni florokinolonlarda ise direnç gelişimi en az iki basamakta geliştiğinden direnç gelişiminin daha az olduğu öne sürülmektedir (Arda ve Ulusoy, 2008).

C) Plazmidlere bağlı direnç

Bazı *E.coli*, *Enterobacter spp*, *K. pneumoniae* kökenlerinde plazmidler tarafından kodlanan Qnr proteinlerine bağlı direnç bildirilmiştir. Bu proteinler sayesinde DNA giraz enzimi kinolonların etkisinden korunmaktadır. Düşük düzeyde kinolon direncine yol açmaktadır. Ancak diğer direnç mekanizmalarıyla birleştiğinde ve ek kromozomal mutasyonlar sonucunda yüksek düzey dirence neden olabilmektedir (Arda ve Ulusoy, 2008).

Farmakokinetik ve ilaç etkileşimleri

Kinolonlar biyoyararlanımı oldukça iyi ilaçlardır. Sindirim kanalından emilimleri son derece iyidir. Oral alındıktan 12 saat sonra serum tepe düzeyine ulaşırlar. Eliminasyon yarı ömürleri nispeten uzundur, bu da günde tek doz veya iki kez uygulanabilmelerine izin verir. Aç veya tok karnına alınması kinolonların çoğunun emilimini etkilemez ancak maksimum serum konsantrasyonuna ulaşma süresini uzatır (Arda ve Ulusoy, 2008). Antasidler, magnezyum ve alüminyum içerdikleri için bazı kinolonların (siprofiloksasin, ofloksasin, fleroksasin) emilimini inhibe edebilir (Takanishi, 2000). Tüm kinolonlar gerek küçük moleküllü olmaları gerekse düşük proteine bağlanma oranları nedeniyle serumda, doku ve vücut sıvılarında ve de fagositler içinde yüksek konsantrasyonlara ulaşır. Akciğerler, karaciğer, kalp, kemik, prostat dokusuna iyi etkili oldukları bakterilere karşı MİK değerinin üzerindeki yoğunluklarda ulaşırlar. Polimorf nüveli lökositlerde ve makrofajlarda konsantre olurlar. BOS'na geçişleri çok iyi değildir. En iyi BOS düzeyini pefloksasin ve ofloksasin sağlar. Genellikle idrarla atılırlar. Ancak sparfloksasin, moksifloksasin ve trovafloksasin karaciğerden atılır.

Kinolonlarla birlikte kullanıldığında teofilinin birikimine yol açabilirler (Öztürk ve ark, 2003). Bu yüzden teofilin ile birlikte enoksasin, pefloksasin ve siprofloksasin kullanımından kaçınılmalıdır. Teofilinin kimyasal bir analogu olan kafein ile de benzer etkileşim olabilir. Kinolon kullanılırken aşırı kafein alımından kaçınılmalıdır. Siprofloksasin fenitoin metabolizmasını etkileyip, konsantrasyonunu azaltarak nöbetlerin ortaya çıkmasına neden olabilir (Hooper, 2000; Öztürk ve ark. 2003).

Yan etkiler

Kinolonlar iyi tolere edilebilen ilaçlardır. Diğer antibiyotiklerle karşılaştırıldıklarında yan etki insidansı oldukça düşük ilaçlardır. Kinolonların en sık istenmeyen etkileri arasında %2–20 arasında değişen bir sıklıkta iştahsızlık, bulantı, kusma ve karın ağrısı gibi gastrointestinal sistemi ilgilendiren bulgular sayılsa da bu bulgular genellikle hafif seyretmektedir (Aygün, 2002; Oliphant ve Green, 2002). Sıklık açısından ikinci sırada %0,9–11 ile merkezi sinir sistemi bulguları gelmektedir. Alerjik reaksiyon ve döküntü sıklığı %0,4–2,2 arasında görülür (Takanishi, 2000). Norfloksasin, ofloksasin ve levofloksasin kullanımı sonrası, özellikle 60 yaşın üzerinde ve kortikosteroid kullanan erişkinlerde de nadiren tendinit ve tendon yırtıkları bildirilmiştir (Aygün, 2002) Kinolonların 18 yaşın altındakilerde ve hamilelerde kullanımı önerilmez (Takanishi, 2000). Laboratuvar testlerinde anormallikler en sık norfloksasinde görülür. Ender görülen yan etkileri ise deliryum ve akut psikozdur. Diğer bir yan etki ise fotosensitivitedir. Bu nedenle kinolon kullanan hastaların güneşe çıkmaması önerilir (Arda ve Ulusoy, 2008).

2.4.6. Tetrasiklinler ve glisilsiklinler

Grubun ilk üyesi klortetrasiklinler, 1948 yılında *Streptomyces aureofaciens*' den izole edilmiştir. Glisilsiklinler de, kasık tetrasiklinlerin semisentetik analoglarıdır. Tigesiklin, glisilsiklinler adı verilen bu yeni antibiyotik grubunun ilk üyesidir.

Tetrasiklinler bakteri ribozomunun 30S alt birimi ile birleşerek protein sentezini inhibe ederler. Etkileri bakteriyostatiktir. Gram pozitif, Gram negatif , aerob ve anaerob bakterilere, spiroket, riketsiya, klamidya ve mikoplazmalara karşı etkili geniş spektrumlu antimikrobiyal ajandır. Tigesiklin de ribozomun 30S ünitesine bağlanarak etkisini gösterir (Parlak, 2008).

Gram pozitif, gram negatif ve anaerobik organizmalara karşı güçlü ve geniş spektrumlu aktivitesinden dolayı, tigesiklin komplike cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, intraabdominal enfeksiyonlar ve *P.aeruginosa* hariç çoklu dirençli patojenlerle oluşan nozokomiyal enfeksiyonların tedavisinde kullanılır (Bouchillon ve ark, 2005).

2.4.7. Sülfonamidler ve Trimethoprim

Sülfonamidler, bakteriyel infeksiyonların tedavisinde kullanılan ilk antibiyotiklerdir. Memeli hücreleri nükleik asit sentezi için gerekli olan folik asiti kendileri yapamaz ve bu maddeyi dışarıdan almak zorundadırlar. Buna rağmen bakteri membranları folik asite geçirgen olmadığından folik asiti kendileri yaparlar. Bakteri hücre membranının geçişine izin verdiği paraaminobenzoikasit (PABA) folik asit sentezinde kullanılan ve yapısal olarak sülfonamidlere benzeyen bir maddedir. Sülfonamidler de PABA yerine bağlanarak folik asit sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterirler. Çoğu Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı etkili olurken bunların içinden *Pseudomonas* ve *Enterococcus*'lar sülfonamidlere dirençlidirler. *Chlamydia* ve *Plasmodium* türleri ile *Toxoplasma gondii*'ye de etkilidirler.

Trimethoprim, folik asit sentezine etki ederek hücredeki DNA sentezini engeller. *P. aeruginosa* ve *Bacteroides* türleri dışındaki Gram negatif çomaklara ve çoğu Gram pozitif koklara karşı etkilidir.

Sülfonamid ve trimethoprim, Dünya'da ve Türkiye'de genellikle TMP/SMZ kombinasyonları şeklinde birlikte kullanılırlar. Metabolik yolda sülfametoksazol (SMZ) ve trimethoprim (TMP) beraber çalışarak nükleik asit sentezini engeller. Tek başlarına kullanıldıklarında bakteriyostatik, birlikte kullanıldıklarında bir çok bakteriye karşı bakteriyosidal etki gösterirler (Akbulut, 2003; Aygün, 1998).

2.4.8. Glikopeptitler

Vankomisin *Streptomyces orientalis*'ten üretilen bir antibiyotiktir. Teikoplanin ise kimyasal olarak vankomisin ile ilişkilidir (Somma ve ark, 1984).

Beta-laktam antibiyotiklere dirençli stafilokoklar ve enterokoklardaki artış nedeni ile glikopeptid antibiyotikler (vankomisin ve teikoplanin), klinikte yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır. Klinikte en sık kullanılan glikopeptid antibiyotik vankomisinidir. Özellikle metisiline dirençli *S. aureus* tedavisinde kullanılır.

Hücre duvarındaki peptidoglikan tabakanın oluşumunu engelleyerek bakterisidal etki gösterirler. Gram negatif bakterilerin lipid membranından geçemedikleri için bu bakterilere etkili değildirler. Dirençli Gram pozitif bakterilerin yapmış olduğu

infeksiyonların tedavisinde kullanılırlar. Vankomisin ve teikoplanin oral kullanıma uygun değildir ve bu nedenle damar içi kullanılır (Aygün, 1998).

2.4.9. Fusidik Asit

İlk olarak Danimarka’da geliştirilmiş, 1962 yılında Avrupa’ da, 1998 yılında da ülkemizde kullanıma girmiştir. Protein sentezini inhibe ederek etki gösterir. Genellikle bakteriyostatik etkili olmasına karşın, yüksek dozları bakterisidal etki gösterir. Fusidik asit dar spektrumludur; özellikle MRSA ve metisiline dirençli *Staphylococcus epidemidis* suşlarında etkilidir. MRSA ve Metisiline Dirençli Koagülaz Negatif Stafilokok tedavisinde glikopeptid antibiyotiklere nazaran oral kullanım kolaylığı sağladığından ve maliyet açısından düşük olduğundan tercih edilirler (Tabak, 2003).

2.4.10. Linkozamidler

Yaklaşık 30 yıldır kullanımda olan linkozamidlerin ilk üyeleri linkomisin ve klindamisindir. Bu grup antibiyotiklerin antibakteriyel etkisi Gram pozitif mikroorganizmalar ve anaerob mikroorganizmalar ile sınırlıdır. Bazı mikoplazmalara ve protozoonlara karşı etkilidir. Gram negatif basillere etkin ajanlarla kombine olarak mikst infeksiyonların tedavisinde kullanılır. Bakteri ribozomunun 50S alt birimine bağlanıp, protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterirler (Kılıç, 2008).

2.5. *Escherichia coli*

2.5.1.Tarihçesi

Bu bakteri 1885’de Theodor Escherich tarafından ishalleri süt çocuklarının dışkılarından elde edilmiştir. 1919’da Castellani ve Chalmer tarafından *Escherichia* cinsi ismi önerilene kadar *Bacterium coli commune* ismi ile tanınmıştır (Unat, 1986; Töreci, 2002).

2.5.2.Sınıflandırma ve Klinik önemi

Escherichia cinsi, *Enterobacteriaceae* ailesinin tanımlamalarına uygun olarak hareketli ve hareketsiz bakterilerden oluşmaktadır. *Escherichia albertii*, *Escherichia blattae*, *E.coli*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii* ve *Escherichia vulneris* olmak üzere altı türü vardır. Tipik tür *E.coli*’dir (James ve ark, 2009).

E.coli hemen her zaman sağlıklı bireylerin barsak florasında bulunmakla birlikte, bazı suşlar immün düşkün bireylerde olduğu kadar sağlıklı kişilerde de barsak dışı ve barsak enfeksiyonlarına neden olabilmektedir (Kaper ve ark, 2004).

E.coli enfeksiyonlarının en yaygın görülenleri; üropatojenik suşlarla oluşan idrar yolu enfeksiyonları ve enteropatojenik suşlarla oluşan ishallerdir (Joklik ve ark, 1984). Ayrıca akciğer enfeksiyonlarında etken olabilmekte, nozokomiyal pnömoniye neden olan başlıca mikroorganizmalar arasında bildirilmektedir (Murray ve ark, 2002). Bunların dışında neonatal menenjit, sepsis, karın içi enfeksiyonlar ve yara enfeksiyonlarının da nedeni olabilmektedir (Leblebicioğlu, 2001).

2.5.3. Görünüm ve boyanma özellikleri

E.coli; yaklaşık 2-4 µm boyunda ve 1.0-1.5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak çomakçık şeklinde bakterilerdir. Bazı kültürlerde, koka benzer küçük, kısa; bazı kültürlerde de normalden uzun ve hatta Y harfi şeklinde dallanan flamanlı şekiller bulunabilir (Bilgehan, 2002).

2.5.4. Üreme özellikleri ve koloni morfolojisi

Besiyerinde, hafif kabarık, yuvarlak, düzgün, 1-2 mm.çapında, parlak, S tipi koloniler yaparlar. Bazı kökenlerin kolonileri hafif mukoid koloniler şeklinde olup R kolonileri de oluşabilir. MacConkey besiyerinde laktozu fermente ettiğinden kırmızı renkte, safrayı presipite ettiğinden etrafında zon oluşan koloniler; Eozine metilen blue (EMB) besiyerinde laktozu fermente ettiğinden metalik refle veren yeşil-siyah koloniler oluştururlar (Erdem, 1999; Bilgehan, 2000). Cistein Laktoz Elektrolit Deficient agar ve Xylose Lysine Deoxicholate agar besiyerlerinde sarı koloniler oluşturarak ürerler. Bazı kökenler özellikle üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilenler, kanlı jelozda hemoliz yapabilirler (Kepekçi, 2005) .

2.5.5. Biyokimyasal özellikleri

E.coli'nin önemli biyokimyasal özellikleri; glikozdan asit ve gaz oluşturması; laktoz, D-mannitol, D-sorbitol, L-arabinoz, L-ramnoz, maltoz, D-ksiloz, trehaloz ve D-mannozu fermente etmesi; adonitol, inositol, sellobioz, eritrol, D-arabitolü fermente etmemesi; nitratı indirgemesi; katalaz, metil kırmızısı, lizin dekarboksilaz, ONPG deneylerinin pozitif olması; oksidaz Voges-Proskauer, fenilalanin deaminaz, lipaz, 25°C'de DNaz deneylerinin negatif olması; indol oluşturması; H₂S, üreaz

oluşturmaması; tek karbon kaynağı olarak sitratta ürememesi; jelatini hidrolize etmemesi olarak belirtilebilir (Töreci, 2002; Erdem, 1999).

2.5.6. Direnç

E.coli oldukça dirençli bir bakteridir. 60°C ısıda 30 dakika, oda ısısında uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilir. Soğuğa dirençli, dezenfektanlara karşı dirençsizdir (Erdem, 1999; Bilgehan, 2000).

Bakterilerde direnç geçişi kromozomal ya da plazmid aracılı olabilir. Kromozomal dirençte ya ilacın hedefinde veya ilacın yakalanmasını denetleyen membran taşıma sistemini kodlayan gende mutasyon vardır. Direnç plazmidleri (R faktörleri) kromozom dışı, çembersel, çift iplikli DNA molekülleri olup antibiyotikleri yıkabilen ve membran taşıma sistemlerini değiştirebilen çeşitli enzimlere ait genleri taşırlar (Kepekçi, 2005). *E.coli* kökenlerinin çoğu bakteriden bakteriye kolayca geçebilen direnç plazmitleri taşıdıklarından bugün dışkıdan izole edilen *E.coli* bakterilerinin özellikle hastane ortamından ayrılan kökenlerinin önemli bir kısmı ampisilin, sefalotin, streptomisin, tetrasiklinler, sulfonamid, bir kısmı da kloramfenikol, kanamisin ve trimetoprim' e ve başka kemoterapötiklere karşı direnç kazanmışlardır.

2.5.7. Antijen Yapısı

E.coli'nin O, H, K ve fimbria antijenleri vardır. Bu antijenlerin özelliklerine göre *E.coli* grup ve tiplere ayrılır. 1000'den fazla antijenik tip mevcuttur (Bilgehan, 2000; Kepekçi, 2005) .

O antijenleri sıcaklığa dayanıklıdır ve 2,5 saat kaynatmaya dayanabilirler. O antijenleri Lipopolisakkarit' in polisakkarit kısmında bulunan somatik veya hücre duvarı antijenleridir (Töreci, 2002). Hareketli suşlarda kirpik antijenleri (H antijenleri) bulunur. Protein yapısındadırlar ve O, K antijenlerine nazaran sıcaklığa duyarlıdırlar (Bozkaya, 2005). *E.coli*'nin diğer bir antijen tipi ise K antijenleridir ve kapsül antijenleri olarak adlandırılırlar. K antijenleri 100° C' de 1–2 saat kaynatıldığında inhibe olurlar. pH 6'ya dayanıklıdırlar. Az sayıdaki serogruptaki suşlar tarafından oluşturulurlar. *E.coli*'nin fimbria antijenleri protein yapısında çeşitli hücrelere ve eritrositlere tutunmayı sağlayan, oda sıcaklığında oluşturulmayan ve 37°C' de var olan antijenlerdir (Strohl ve ark, 2006; Farmer, 1995).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

01.04.2010 ile 31.10.2011 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıp laboratuvarları, Mikrobiyoloji Bölümü, Bakteriyoloji Altdisiplin laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 64 suş, OMU Tıp Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Ahmet Yılmaz Çoban' dan 6 suş ve GATA Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü'nden 9 suş ve Gazi devlet hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarından 1 *E.coli* suşu temin edildi. Suşlar amikasin, siprofloksasin ve meropenem antibiyotiklerinin direnç durumuna göre seçildi. Sinerji çalışması için 40 ve antagonizma çalışması için 40 olmak üzere toplam 80 suş kullanıldı.

3.1. Suşların tanımlanması

Laboratuvara gelen klinik örnekler rutin olarak kullanılan %5 koyun kanlı agar ve EMB agara ekildi. 35° C' de 18-24 saatlik inkübasyonun ardından kanlı ve EMB agarda üreyen koloniler değerlendirmeye alındı. Koloni morfolojisi ve gram boyama deneylerinin sonucuna göre gram negatif olarak karar verilen suşların tür düzeyinde tanımlaması VITEK2 Compact (BioMerieux, Fransa) veya BD Phoenix 100 (Becton Dickinson) otomatize sistemlerinde yapıldı. Dış merkezlerden alınan suşların tanımlanması örneğin alındığı merkezlerde yapıldı.

3.2. Suşların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi

Suşların amikasin, siprofloksasin ve meropenem antibiyotiklerine duyarlılığı CLSI M100-S21 'de önerildiği şekilde disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Mueller Hinton Agar ve 30µg amikasin(Becton Dickinson) , 10µg meropenem (Becton Dickinson), 5µg siprofloksasin (Becton Dickinson) içeren diskler kullanıldı. Buzdolabında +4 °C' de saklanan diskler kullanımından önce potens kaybını önlemek için 10-15 dakika oda ısısında bekletildi. İnokulum direkt koloni süspansiyonu metodu ile hazırlandı. %5 koyun kanlı agara pasajlanmış bakteri kolonilerinden alınarak, % 0,9 NaCl içinde bir süspansiyon hazırlandı. Bakteri yoğunluğu spektrofotometrik olarak 0,5 McFarland bulanıklık derecesine eşdeğer olacak şekilde ayarlandı. İnokulum süspansiyonu hazırlandıktan sonra steril eküvyon ile Mueller-Hinton Agar plağına inokule edildi. Bakteri süspansiyonunun absorbe olması için kapak aralık olarak birkaç

dakika beklendikten sonra antibiyotik diskleri, merkezleri arasında en az 24 mm olacak şekilde agar yüzeyine bastırılarak yerleştirildi. Kapakları alta gelecek şekilde kapatıldı. 15 dakika içinde 35°C'lik etüve kaldırdı. 24 saatlik inkübasyonun ardından CLSI M100-S21 standartlarına göre inhibisyon zon çapları ölçülerek duyarlı, orta derecede duyarlı ve dirençli olarak değerlendirildi.

Tablo II: Kullanılan Antibiyotiklerin Disk Difüzyon Zon Çapları (CLSI M100-S21)

Antibiyotik cinsi	Antibiyotik dozu	Duyarlı (mm)	Orta duyarlı (mm)	Dirençli (mm)
Amikasin	30 µg	≥17	15-16	≤14
Siprofloksasin	5 µg	≥21	16-20	≤15
Meropenem	10 µg	≥23	20-22	≤19

3.3. MİK değerlerinin belirlenmesi

E.coli klinik suşlarına karşı amikasin (0,016-256µg/ml) , siprofloksasin (0,002-32 µg/ml) ve meropenem (0,002-32 µg/ml)' in Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri E-test yöntemi ile belirlendi. E- test için üretici firmanın (Biomérieux, Türkiye) önerileri doğrultusunda; kanlı agarda üretilen *E.coli* kolonilerinden Mueller Hinton buyyonunda 0,5 McFarland standard bulanıklığına eş süspansiyonlar elde edildi. Hazırlanan eş süspansiyon steril pamuklu eküvyon çubuğu yardımı ile Mueller Hinton agar içeren besiyeri plakların yüzeyine sürülerek ekildi. E-test şeritleri yerleştirilmeden önce 15-20 dakika nemin emilmesi için beklendi. Penset yardımı ile antibiyotiklerin E-test şeritleri, besiyeri plaklarına yerleştirildi. Aerobik ortamda, normal atmosferde, 35 ±2°C de ve 16-20 saat inkübasyon sonucunda elips şeklindeki inhibisyon zonunun şeritle kesiştiği nokta sayısal MİK değeri olarak kabul edildi. Her bir antibiyotiğin MİK değerleri üretici firma ve CLSI önerilerine uygun olarak ölçüldü. Sonuçlar CLSI'nın sınır değerleri baz alınarak değerlendirildi .

Tablo III: Kullanılan antibiyotiklerin MİK değerleri (CLSI M100-S21)

ANTİBİYOTİK	Duyarlı (µg/mL)	Orta duyarlı (µg/mL)	Dirençli (µg/mL)
AMİKASİN	≤16	32	≥64
SİPROFLOKSASİN	≤1	2	≥4
MEROPENEM	≤1	2	≥4

Checkerboard metodu için her bir bakterinin çalışılan antibiyotiklere karşı net MİK değerlerinin elde edilmesi gerekir. Eğer E-test de elde ettiğimiz değer bize o suşun net MİK değerini vermiyorsa (elde ettiğimiz MİK değeri E-testteki aralığın dışında ise) bizim bu bakteriye sıvı mikrodilüsyon yöntemini uygulamamız gerekir.

3.3.1. Antibiyotiklerin hazırlanması

Çalışmada kullanılan antimikrobiyal maddelerden Siprofloksasin (Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti), Amikasin (Sigma Aldrich, ABD) ve Meropenem (Astra Zeneca Pharmaceuticals) ‘den temin edildi. Bu antimikrobiyal ajanların 4096 mg/ml ‘lik stok solüsyonları CLSI standardına uygun olarak su içinde çözülerek istenilen final konsantrasyonlara göre sulandırım yapıldı. Küçük miktarlarda tüplere bölünen bu solüsyonlar kullanılıncaya kadar -80 ° C’de saklandı. Çözeltiler ihtiyaç olduğunda eritilip aynı gün kullanıldı.

3.3.2. Sıvı Mikrodilüsyon yöntemi ile MİK belirlenmesi

Testte CLSI ‘in önerileri doğrultusunda katyon ayarlı Mueller-Hinton Agar (KAMHB) ve U tabanlı 96 kuyucuklu plaklar kullanıldı. İlk olarak hazırlanan antibiyotik stok solüsyonundan ulaşılmak istenen dilüsyonlar hazırlandı. Steril U tabanlı MİK plağının ilk kuyuğundan başlayarak tüm kuyucuklarına steril pipet ucu takılmış otomatik pipet yardımıyla 100 µl KAMHB konuldu. Daha sonra 2 numaralı sütundaki kuyucuğa antibiyotik içeren çözeltiden 100µl konulup seri dilüsyon yapıldı. 1 numaralı sütundaki kuyucuklara antibiyotik konulmayıp bakteri üreme kontrolü olarak (Pozitif Kontrol) kullanıldı. Seri dilüsyonlarla 11.kuyucuğa kadar gelindi. 12.kuyucuk sütunu negatif kontrol olarak belirlendiği için dilüsyon yapılmadı. Daha sonra kanlı agarda

Üretilen *E.coli* kolonilerinden 0,5 McFarland Standard bulanıklığına eş süspansiyonlar elde edildi. Bu süspansiyonlar 1/100 oranında dilüe edildi. Her yatay sıraya ayrı bakteri süspansiyonundan 100'er µl 11.kuyucuğa kadar eklendi. Buharlaşmayı önlemek için plakların üstü kapatılıp 35 ±2°C de 24 saat inkübe edildi. Sonuçlar görsel olarak değerlendirildi. Gözle görülür üremenin olmadığı en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak kabul edildi.

3.4. Checkerboard metodunun uygulanması

Bu yöntemde 96 kuyucuklu steril mikrolaklar kullanıldı. Her bakteri ve buna karşı denenecek kombinasyon için bir mikrolak paneli kullanıldı. Kombinasyon testi için antibiyotiklerin hazırlanmış olan stok solüsyonlarından ayrı cam tüplerde seri dilüsyonları yapıldı. Plaktaki X eksenindeki ilk sıra ve Y eksenindeki ilk sıra çalışılan ilaçların MİK değerlerini gösterirken, PK kuyucuğuna antibiyotik konulmayıp bakteri üreme kontrolü olarak (PK), NK ise besiyeri kontrol kuyucuğu olarak kullanıldı ve bu kuyucuğa sadece KAMHB konuldu. 96 kuyucuklu mikrolaklara X eksenine tek başına A ilacının ve Y eksenine tek başına B ilacının dilüsyonlarından 50'şer µl dağıtıldı. 0,5 McFarland standard bulanıklığına eş süspansiyonlar 1/100 oranında dilüe edildi. Bu süspansiyondan tüm kuyucuklara 100'er µl dağıtıldı. Bu şekilde inokülüm konsantrasyonu 1:2 ve ilaç konsantrasyonları 1:4 oranında seyreltilerek test konsantrasyonlarına ulaşılmış oldu (50 µl ilaç A + 50 µl ilaç B + 100 µl bakteri süspansiyonu) Mikrolakların zeri kapakları ile kapatılarak 35°C'de inkübe edildi ve sonuçlar 24 saat sonra görsel olarak değerlendirildi. İlaçlar arasındaki etkileşimi değerlendirmek için FİK indeksi hesaplandı.

3.4.1. FİK indeksinin hesaplanması ve yöntemler

Siprofloksasin, meropenem ve amikasin' in tek başlarına *E.coli* zerine MİK değerleri okunduktan sonra (siprofloksasin-amikasin, siprofloksasin-meropenem) ilaçların birlikte bulunduğu kuyucuklar reme ynnden değerlendirildi. Her suş iin yapılan kombinasyonda, FİK indeksi eşitli yntemlerle hesaplandı. (Bonapace ve ark. 2002)

Şekil 1: Örnek mikroplak:

b7 MIK64	a1b7	a2b7	a3b7	a4b7	a5b7	a6b7	a7b7
b6 MIK32	a1b6	a2b6	a3b6	a4b6	a5b6	a6b6	a7b6
b5 MIK16	a1b5	a2b5	a3b5	a4b5	a5b5	a6b5	a7b5
b4 MIK8	a1b4	a2b4	a3b4	a4b4	a5b4	a6b4	a7b4
b3 MIK4	a1b3	a2b3	a3b3	a4b3	a5b3	a6b3	a7b3
b2 MIK2	a1b2	a2b2	a3b2	a4b2	a5b2	a6b2	a7b2
b1 MIK1	a1b1	a2b1	a3b1	a4b1	a5b1	a6b1	a7b1
PK	a1 MIK1	a2 MIK2	a3 MIK4	a4 MIK8	a5 MIK16	a6 MIK32	a7 MIK64

Yöntem 1:

Şekil 2: Örnek mikroplağın yöntem 1 ile değerlendirilmesi

B7							
B6							
B5	1a						
B4		1b					
B3			1c				
B2				1d			
B1					1e		
pk	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7

$$FİK_1 = (B5/B5) + (A1/A5) = a$$

$$FİK_2 = (B4/B5) + (A2/A5) = b$$

$$FİK_3 = (B3/B5) + (A3/A5) = c$$

$$FİK_4 = (B2/B5) + (A4/A5) = d$$

$$FİK_5 = (B1/B5) + (A5/A5) = e$$

$$FİK_{toplam} / 5 = (a+b+c+d+e) / 5 = f$$

Yöntem 2:

Şekil 3: Örnek mikroplağın yöntem 2 ile değerlendirilmesi

B7					2		
B6					2		
B5	2	2	2	2	2	2	2
B4					2		
B3					2		
B2					2		
B1					2		
pk	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7

$$FİK = (B5/B5) + (A5/A5) = g$$

Yöntem 3:

Şekil 4: Örnek mikroplağın yöntem 3 ile değerlendirilmesi

B7							
B6							
B5	1a						
B4		1b					
B3			1c				
B2				1d			
B1					1e		
pk	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7

Yöntem 1 de elde ettiğimiz $FİK_1$, $FİK_2$, $FİK_3$, $FİK_4$, $FİK_5$ değerlerinden, en küçük olan değer $FİK$ indeksidir.

Yöntem 4:

Her iki ilacın 0.25 MİK'i ve her iki ilacın 2 MİK'ini içeren kuyucuklar işaretlenir. Bu kuyucuklardan ikisinde de üreme olmaması sinerji, ikisinde de üreme olması antagonizma, diğer durumlar ise Aditif/indiferent olarak değerlendirilir.

Şekil 5: Örnek mikroplağın yöntem 4 ile değerlendirilmesi

B7									
B6						4y			
B5									
B4									
B3			4x						
B2									
B1									
pk	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7		

4x(-), 4y(-)=Sinerji

4x(+), 4y(+)=Antagonizma

4x(+), 4y(-)=Aditif/indiferent

‘Genişletilmiş ilaç etkileşim konsepti’ne dayalı olarak, ‘girişimsel etki’ nin zonları, iki ilaç kombinasyonu için kuramsal ilaç etkileşim testinden sonra örnek bir checkerboard testinin (microdilüsyon plağı) iki-boyutlu bir temsilde gösterilmektedir.

3.4.2. Yöntem 5: İlaç-ilaç etkileşiminin genişletilmiş kavramsal bir çerçevesi (Acuner İ.Ç., Güney A.K., Deveci A., 2009.)

Şekil 1. ‘Genişletilmiş ilaç etkileşim konsepti’ne dayalı olarak, ‘biyokimyasal etki’ nin zonları, iki ilaç kombinasyonu için kuramsal ilaç etkileşim testinden sonra örnek bir checkerboard testinin (microdilüsyon plağı) iki-boyutlu bir temsilde gösterilmektedir.

Şekil 2. ‘Genişletilmiş ilaç etkileşim konsepti’ne dayalı olarak, ‘girişimsel etki’ nin zonları, iki ilaç kombinasyonu için kuramsal ilaç etkileşim testinden sonra örnek bir checkerboard testinin (microdilüsyon plağı) iki-boyutlu bir temsilde gösterilmektedir.

Genişletilmiş teorik çerçeve iki varsayıma dayanmaktadır:

1) İlaç etkileşimi, ilaç konsantrasyon geçişlerinin tüm farklı kombinasyonları için geçerli tek düze bütün bir (tüm doz-etki noktalarının özeti) fenomen değildir, aksine konsantrasyon-bağlıdır. Bu nedenle, ilaç konsantrasyonlarının belirli kombinasyonları farklı etkiler sergileyebilir. Dolayısıyla, spesifik ilaç kombinasyonları spesifik etkiler elde etmek için kullanılabilir. Bu doğrultuda, bireysel düzeyde antimikrobiyal terapi için genellikle, ilaç A ve ilaç B'nin, hedeflenen etkiye ulaşan (ör, bakteriyel üremenin inhibisyonu) kombine edilmiş minimum konsantrasyonları ($C_{AB_{cMIC}}$; kombine minimum inhibitör konsantrasyon) tercih edilecektir.

2) Standardize in vitro test koşulları altında bakteriyel üremeyi inhibe eden ilaç A ve ilaç B'nin kombine edilmiş en düşük konsantrasyonlarına ($C_{AB_{cMIC}}$), $C_{AB_{cMIC}}$ içindeki C_A ve C_B standardize yorumlamalı kriterler tarafından tanımlanan 'terapötik zon' içinde olmak kaydıyla, in vivo enfeksiyon alanında benzer şekilde tanımlanmış bir doz rejimi ile ulaşılabilir ve devam ettirilebilir. Böylelikle, terapötik duruma sınırlı olarak, $C_{AB_{cMIC}}$ tüm doz-etki değerleri için özet bir istatistik olarak kabul edilebilir.

Antimikrobiyal ilaçların kombinasyon testinde, ayrıık veriler (ayrıık C değerleri; başlangıç C'nun iki kat dilüsyonları) 2^n skalasında (2^n C) test edilir, aynı anda ardışıık kuyucuklarda test edilen C değerleri checkerboard düzlemi üzerinde (mikrodilüsyon plağı) $n+1$ skalasına (mütekabil değerler; 2^{n+1} V) karşılıık gelir. Dolayısıyla, bir checkerboard düzleminin iki-boyutlu temsili, her boyut üzerinde, hem temel eksenini (ör. $n+1$ skalası) hem de non-izometrik sekonder eksenini (2^n skalası) göstermektedir. Orjin noktası ve non-izometrik sekonder eksenin alt sınırı (test edilen en düşük C değeri) arasındaki segment ölçeklendirilmemektedir (ölçeklendirilmeyen segment), oysa temel ekseninde muntazaman ölçeklendirilmektedir. Ek olarak, C değerlerine karşılıık gelen C' değerlerini taşıyan iki izometrik projeksiyon ekseninin (A-projeksiyon –aksis, " a_{Ap} "; B-projeksiyon-aksis, " a_{Bp} ") iki-boyutlu ilaç-ilaç etkileşim düzlemini sınırlandırdığı kabul edilir. Temelde, standardize bir antimikrobiyal duyarlılık test metodu ile (bir mikropakta broth mikrodilüsyon ile checkerboard testi) bir bakteriyel popülasyonun aynı inokülüm yoğunluğına karşı tek başına (C_A veya C_B) ya da kombinasyonda ($C_{A,B}$) test edilen iki ilacın, antimikrobiyal A ve antimikrobiyal B, farklı konsantrasyonlarının (C) mütekabil ayrıık değerleri ile iki temel ve iki non-izometrik sekonder eksen (eksen, " a "; A-eksen, " a_A ", B-eksen, " a_B ", A-sekonder-eksen, " a_{As} "; B-sekonder-eksen, " a_{Bs} ")

tarafından sınırlandırılan iki-boyutlu bir ilaç-etkileşim düzlemi (R^2 ; C^2) değerlendirilmektedir. İki-boyutlu ilaç-etkileşim düzlemi (C^2) içindeki, etki kategorileri, modaliteleri ve durumları, aşağıdaki gözlenebilir karar kriterleri (alttaki tanımlar kısmına bakınız) ile tanımlanmaktadır.

Genişletilmiş çerçeve tarafından sunulan yeni konseptlerin olası klinik kullanımları: Klinik olarak, en düşük $C_{A,B}$, özellikle ‘terapötik zon’ daki, potansiyel yan veya toksik etkiler göz önüne alındığında kullanım için tercih edilen kombinasyon olacaktır. Ancak, bu kuralın istisnaları olabilir; bir örnek, canlı olmayan çevrelerde çapraz-dirençten veya ‘antagonistik pleyotropi fenomeni’(genişletilmiş ilaç etkileşim konseptinde iki-yönlü etkiye karşılık gelen) ile epistatik sinerjiden kaçınarak çoklu-ilâç direncinin gelişimine veya varlığına karşı koymak için iki-yönlü etkiden faydalanmaktadır.

Teknik hususiyetler:

Konsantrasyon-gradyent farklılıklarına duyarlı metodolojik yaklaşımların tekrarlanabilirlik problemlerinden muzdarip olduğu iyi bilinmektedir . Dolayısıyla, tüm metot validasyon ve verifikasyon çalışmalarında yapılması gerektiği gibi, dilüsyon-temelli duyarlılık testlerinin geliştirme ve uygulama çalışmalarının ayrıca ön bir tekrarlanabilirlik değerlendirme basamağı içermesi bir ön-koşuldur . Ek olarak, metotun günlük kullanımında, kalite kontrol ve yeterlilik test çalışmaları yapılmalıdır.

Temel olarak duyarlılık breakpoint’inin altında (duyarlılık breakpoint’ini de içermektedir), ayrık C_A ve C_B değerlerinin eşit sayıları (eşit konsantrasyonları gerekli değildir) (duyarlılık breakpoint’ini dışarıda bırakan her ilacın en az iki C değeri) test edilmelidir. Eğer tüm olası etkileşimler araştırılacak ise, test edilecek olan üst C değerleri C_{MIC} veya C_{BP-R} ‘nin en az 2 alt dilüsyonlarını (her halükarda daha büyüktür) içermelidir, bu arada test edilen alt C değerleri de C_{MIC} or C_{BP-R} ‘nin en az 2 yüksek dilüsyonlarını (her halükarda daha küçüktür) içermelidir.

Tanımlar:

İki-boyutlu ilaç-etkileşim düzleminde (C^2), aşağıdaki etkinin kategorileri, modaliteleri ve durumları, bir chequerboard testi üzerine gözlenebilir karar kriterleri ile tanımlanmaktadır:

Kategori: Etki tipi**Modalite: Hedef Etkileşimine karşı İlaç-İlaç Kombinasyonu (Biyokimyasal Etki)**

Tanımlar: İki-boyutlu ilaç-etkileşim düzlemi (C^2) içerisinde, değerlendirme ‘en kısa yer değişim vektörü’nün ($r_{sd} = \overrightarrow{PO}$) biyokimyasal etkinin eksenleri ve zonlarına ilişkin relatif pozisyonuna dayanmaktadır.

Noktalar:

$C_{A,B}$ veya $C_{i,j}$: İlaç A ve B’nin bilinen konsantrasyonlarının, C_A (C_i) ve C_B (C_j), bir karışımı ile elde edilen bir ilaç kombinasyonlu bir kuyucuğa karşılık gelen C^2 düzleminde bir nokta.

$C_{A,B}^-$ or $C_{i,j}^-$: Üremenin olmadığı, ilaç A ve B’nin bilinen konsantrasyonlarının, C_A (C_i) ve C_B (C_j), bir karışımı ile elde edilen bir ilaç kombinasyonlu bir kuyucuğa karşılık gelen C^2 düzleminde bir nokta.

O or $C_{0,0}$: C^2 düzleminde orjin noktası; ilacın olmadığı üreme kontrol kuyucuğu; (0,0) değerleri ile A-ekseni ve B-ekseni için kesişim noktası.

R or C_{MIC_A, MIC_B} : C^2 düzleminde referans noktası; A-ekseni ve B-ekseni üzerinde C_{MIC_A} (L_{MIC_A}) ve C_{MIC_B} (L_{MIC_B}) değerlerinden çizilen dik hatlar için kesişim noktası-imaginary-.

P or $C_{i_{sd}j_{sd}}^-$: C^2 düzleminde $C_{AB_{cMIC}}$ (bakteriyel üremeyi inhibe eden en düşük $C_{A,B}$) pozisyon noktası (test sonrası nokta); $C_{0,0}$ ‘a en kısa uzaklık (sd) ile $C_{i,j}^-$ noktası; en kısa yer değişim vektörlü nokta (her iki eksene, temel eksen ve non-izometrik sekonder eksen, dayanan hesaplamaların bir sonucu olarak, $P = {}_{[2]^n}P^2$ veya ${}_{[n+1]s}P^2$, herhangi biri küçüktür ; $({}_{[2]^n}C_{i_{sd}}^-)^2 + ({}_{[2]^n}C_{j_{sd}}^-)^2 = {}_{[2]^n}P^2$ ve $({}_{[n+1]s}V_{i_{sd}}^-)^2 + ({}_{[n+1]s}V_{j_{sd}}^-)^2 = {}_{[n+1]s}P^2$)

Vektörler

r_d : yer değişim vektörü; $C_{i,j}^-$ ve $C_{0,0}$ arasında bir vektör

r_{sd} : en kısa yer değişim vektörü; $C_{i_{sd}j_{sd}}^-$ ve $C_{0,0}$ arasındaki vektör (her iki eksene, temel eksen ve non-izometrik sekonder eksen, dayanan hesaplamaların bir sonucu olarak,

$P=[2^n]P^2$ veya $_{[n+1]s}P^2$, herhangi biri küçüktür ; $([2^n]C_{i_{sd}}^-)^2 + ([2^n]C_{j_{sd}}^-)^2 = [2^n]P^2$ ve $(_{[n+1]s}V_{i_{sd}}^-)^2 + (_{[n+1]s}V_{j_{sd}}^-)^2 = _{[n+1]s}P^2$.

Eksenler

a_{SYN-ANG} : Antagonizmaya karşı sinerjizm eksen; eksen, R ve C_{0,0} arasında çizilen hat uzatılarak elde edilir; etki R'den C_{0,0} 'a doğrultusunda aditif veya sinerjistiktir, oysa R'den C_{0,0} dışı doğrultudaysa antagonistiktir.

a_{AMB(A↑B↓)} veya a_{AMB(A↓B↑)} : (A↑B↓) (A eksen ile kesişim doğrultusunda; C_{A↓B↑}) veya (A↓B↑) (B eksen ile kesişim doğrultusunda; C_{A↑B↓}) formunda güçlendirici ve zayıflatıcı etkiler ile iki-yönlü etki eksen; R'de a_{SYN-ANG} 'e dik olarak çizilen hattın uzatılması ile elde edilen eksen.

Hatlar, Eğriler

c_e : (E eğrisi); C_{MIC_A} dan C_{MIC_B} 'ye, çizilen, 0≤s≤1 iken, C_{MIC_B} xs kadar C_j⁻ eklendiğinde C_{MIC_A} x (1-s) kadar C_i⁻ içeren noktlardan geçen eğri.

Sinerjizm eğrisi: MİK'e dayalı yöntemlerdeki teknik tekrarlanabilirlik sorunlarından kaynaklanan artı 1, eksi 1 dilüsyon kabul edilmesine dayalı veya MİK2in bir alt dilüsyonu ile MİK arasında test edilemeyen dilüsyonlarından köken alan MİK' lerin 1 altı dilüsyonlarından çizilen eğri.

Antagonizm eğrisi: MİK' e dayalı yöntemlerdeki teknik tekrarlanabilirlik sorunlarından kaynaklanan artı 1, eksi 1 dilüsyon kabul edilmesine dayalı MİK' lerin 1 üstü dilüsyonlarından çizilen eğri.

Zonlar

Z_{pSYN} : Sinerjizm eğrisi ile orjin, A ve B eksenleri arasında kalan alan

Z_B(Belirsizlik zonu): sinerjizm zonu ve antagonizma zonu arasında kalan alan

Z_{pANG} : 'saf antagonizma' zonu; zon L_{MIC_A} , L_{MIC_B} (bu hatlar çıkarılarak), a_{Ap} ve a_{Bp} tarafından sınırlandırılmıştır.

Z_{AMB(A↑B↓)} : A- güçlendirici ve B-zayıflatıcı etkiler ile 'iki-yönlü' etkileşim zonu; zonlar a_{AMB} ekseninin (A↑B↓; C_{A↓B↑}) doğrultusunda L_{MIC_A} , L_{MIC_B} , a_A (bu çizgiler ve eksen çıkarılarak) ve a_{Bp} eksenleri ile sınırlandırılmıştır.

Z_{AMB(A↓B↑)}: A- güçlendirici ve B-zayıflatıcı etkiler ile 'iki-yönlü' etkileşim zonu; zonlar a_{AMB} ekseninin (A↓B↑; C_{A↑B↓}) doğrultusunda L_{MIC_A} , L_{MIC_B} , a_A (bu çizgiler ve eksen çıkarılarak) ve a_{Bp} eksenleri ile sınırlandırılmıştır.

Z_{IDF} : ‘indiferens’ zonu; diğer tüm zonlar beklenen etkiyi gösterirken, kesin olarak **L_{MIC_A}**, **L_{MIC_B}**, **a_A**, **a_B** (hatlar ve hatlarla kesişene kadar eksenlerin segmentleri çıkarılarak) sınırlandırılan zonda etki olmadığında sadece bir ‘tüm etki’ olarak gözlenebilir.

Etkileşim durum

Saf sinerjistik etkileşim: Karar kriteri (Değerlendirici kriter): Eğer **P**, **Z_{pSYN}** içindeyse, ilaç kombinasyonunun biyokimyasal etkisi saf sinerjistikdir.

Etkileşimde belirsizlik: Karar kriteri (Değerlendirici kriter): Eğer **P**, **belirsizlik zonu** içindeyse, ilaç kombinasyonunun biyokimyasal etkisi belirsizliklidir.

Saf antagonistik etkileşim: Karar kriteri (Değerlendirici kriter): Eğer **P**, **Z_{ANG}** içindeyse, ilaç kombinasyonunun biyokimyasal etkisi antagonistiktir.

İki-yönlü (karşı-yönlü) etkileşim: Karar kriteri (Değerlendirici kriter): Eğer **P**, **Z_{AMB(A↑B↓)}** içindeyse, ilaç kombinasyonunun biyokimyasal etkisi, bir A- güçlendirici ve B-zayıflatıcı karakteristik ile iki-yönlüdür.

İki-yönlü (karşı-yönlü) etkileşim: Karar kriteri (Değerlendirici kriter): Eğer **P**, **Z_{AMB(A↓B↑)}** içindeyse, ilaç kombinasyonunun biyokimyasal etkisi, bir A- zayıflatıcı ve B-güçlendirici karakteristik ile iki-yönlüdür.

İndiferens etkileşim: Karar kriteri (Değerlendirici kriter): Eğer **P**, **C_{MIC_A}** veya **C_{MIC_B}** üzerindeyse, ilaç kombinasyonunun biyokimyasal etkisi indifferanttir.

Modalite: Klinik Koşul Etkileşimine Karşı İlaç-ilaç Kombinasyonu (Klinik Etki; Müdahaleli Etki)

Tanımlar: İki-boyutlu ilaç-etkileşim düzlemi (C^2) içinde, değerlendirme ilaç A ve B için MİK sınır değerlerinin eksenlerine **P**’nin relatif pozisyonuna dayanmaktadır, şöyle ki:

Noktalar:

C_{BP-S_A} : A-ekseni üzerindeki bir **C_A** değerine tekabül eden ilaç A için duyarlılık sınır değeri noktası.

C_{BP-I_A} veya **C_{BP-I-IIim_A}**, **C_{BP-I-ulim_A}** : A-ekseni üzerinde bir **C_A** değerine/ lerine tekabül eden ilaç A için ara duyarlılık noktası

C_{BP-R_A} : A-ekseni üzerindeki **bir** C_A değerine tekabül eden ilaç A için dirençlilik sınır değeri noktası.

M_{S-I_A} or $M_{S-I-lim_A}$: C_{BP-S_A} ve C_{BP-I_A} arasındaki A ekseninin orta noktası

M_{I-R_A} or $M_{I-ulim-R_A}$: C_{BP-I_A} ve C_{BP-R_A} arasındaki A ekseninin orta noktası

C_{BP-S_B} : B-ekseni üzerindeki bir C_B değerine tekabül eden ilaç B için duyarlılık sınır değeri noktası.

C_{BP-I_B} , $C_{BP-I-lim_B}$, $C_{BP-I-ulim_B}$: B ekseninde bir C_B değerine/ lerine tekabül eden ilaç B için ara duyarlılık noktası

C_{BP-R_B} : B-ekseni üzerindeki bir C_B değerine tekabül eden ilaç B için dirençlilik sınır değeri noktası.

M_{S-I_B} or $M_{S-I-lim_B}$: C_{BP-S_B} ve C_{BP-I_A} arasındaki B ekseninin orta noktası

M_{I-R_B} or $M_{I-ulim-R_B}$: C_{BP-I_B} ve C_{BP-R_B} arasındaki B ekseninin orta noktası

Eksenler:

a_{S-I_A} : M_{S-I_A} veya $M_{S-I-lim_A}$ ' ya dik olarak çizilen hattın uzatılmasıyla elde edilen eksen

a_{I-R_A} : M_{I-R_A} veya $M_{I-ulim-R_A}$ ' ya dik olarak çizilen hattın uzatılmasıyla elde edilen eksen

a_{S-I_B} : M_{S-I_B} veya $M_{S-I-lim_B}$ ' dan çizilen çizgi uzatarak elde edilen eksen

a_{I-R_B} : M_{I-R_B} veya $M_{I-ulim-R_B}$ 'dan çizilen çizgi uzatarak elde edilen eksen

Zonlar:

Z_{SAB} : Bi-sensitive zon; zon a_{S-I_A} , a_{S-I_B} , a_A ve a_B eksenini ile sınırlandırılmıştır. (bu eksenler hariç)

$Z_{S_A I_B}$: Uni-sensitive zon; zon a_{S-I_B} , a_{I-R_B} , a_B ve a_{S-I_A} eksenini ile sınırlandırılmıştır. (bu eksenler hariç)

$Z_{I_A S_B}$: Uni-sensitive zon; zon a_{S-I_A} , a_{I-R_A} , a_A ve a_{S-I_B} eksenini ile sınırlandırılmıştır. (bu eksenler hariç)

$Z_{I_A I_B}$: Bi-intermediate zon; zon a_{S-I_A} , a_{S-I_B} , a_{I-R_A} ve a_{I-R_B} eksenini ile sınırlandırılmıştır. (bu eksenler hariç)

Z_{RAB} : Bi-resistant zon; zon a_{I-R_A} , a_{I-R_B} , a_{Ap} ve a_{Bp} eksenini ile sınırlandırılmıştır. (bu eksenler hariç)

$Z_{R_A I_B}$: Uni-resistant zon; zon a_{I-R_A} , a_{S-I_B} , a_{I-R_B} ve a_{Bp} eksenini ile sınırlandırılmıştır. (bu eksenler hariç)

$Z_{I_A R_B}$: Uni-resistant zon; zon a_{I-R_B} , a_{S-I_A} , a_{I-R_A} ve a_{A_P} ekseni ile sınırlandırılmıştır. (bu eksenler hariç)

$Z_{S_A R_B}$: Ambi-valent zon; zon a_{S-I_A} , a_{I-R_B} , a_B ve a_{A_P} ekseni ile sınırlandırılmıştır. (bu eksenler hariç)

$Z_{R_A S_B}$: Ambi-valent zon; zon a_{S-I_B} , a_{I-R_A} , a_A ve a_{B_P} ekseni ile sınırlandırılmıştır. (bu eksenler hariç)

Etkileşim durum:

Terapötik:

Bi-sensitive(S_{AB})(Sensitive):Eğer P, $Z_{S_{AB}}$ içindeyse, ilaç kombinasyonunun müdahaleli etkisi sensitiv'dir.

Uni-sensitive ($S_A I_B$ or $I_A S_B$): Eğer P $Z_{S_A I_B}$ veya $Z_{I_A S_B}$, içindeyse, ilaç kombinasyonunun müdahaleli etkisi uni-sensitive'dir.

Bi-intermediate ($I_A I_B$)(Intermediate) : Eğer P $Z_{I_A I_B}$, içindeyse, ilaç kombinasyonunun müdahaleli etkisi bi-intermediate'dir.

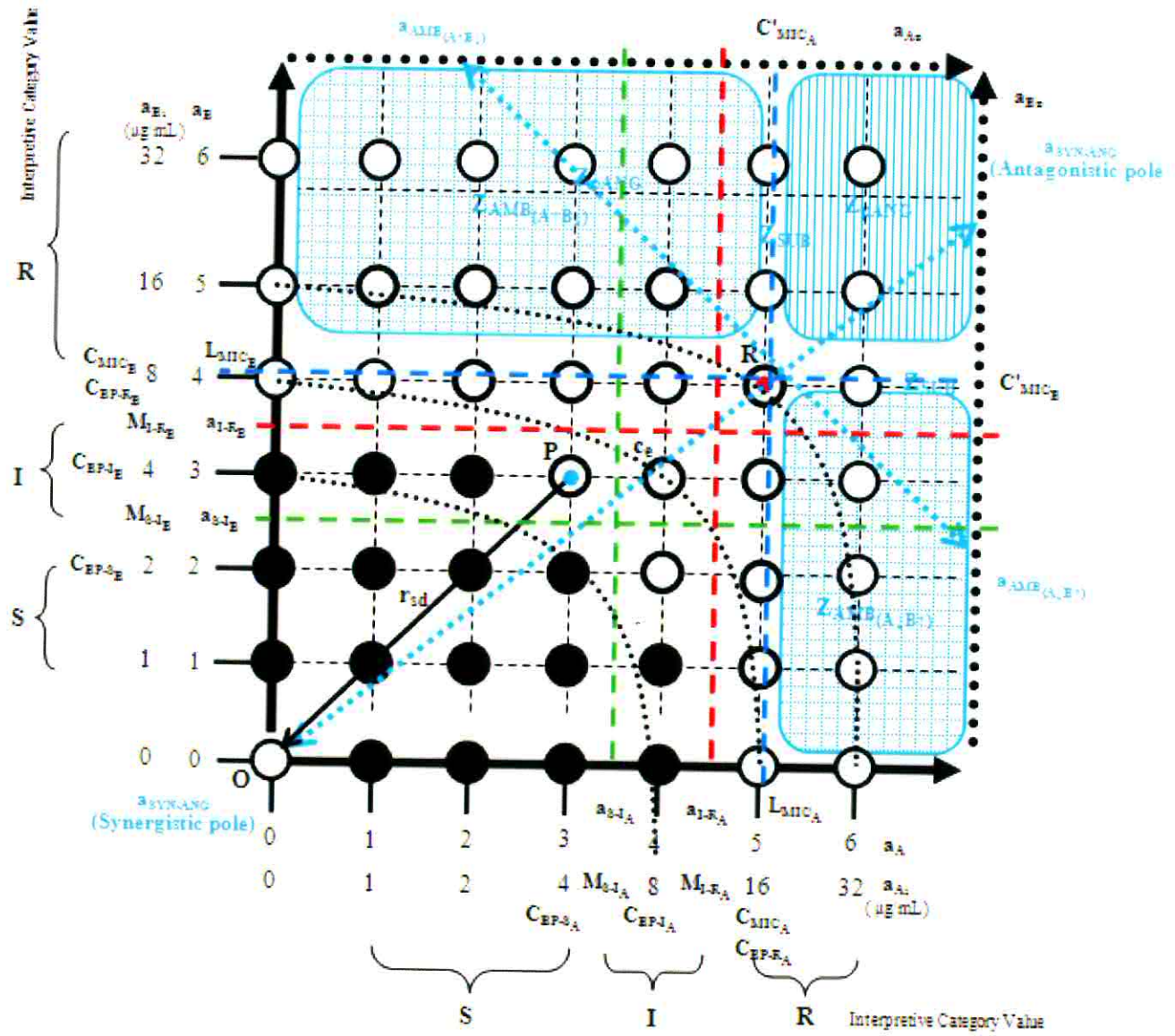
Non-Terapötik:

Ambivalent ($S_A R_B$ or $R_A S_B$) : Eğer P $Z_{S_A R_B}$ veya $Z_{R_A S_B}$, içindeyse, ilaç kombinasyonunun müdahaleli etkisi ambi-valent'dir.

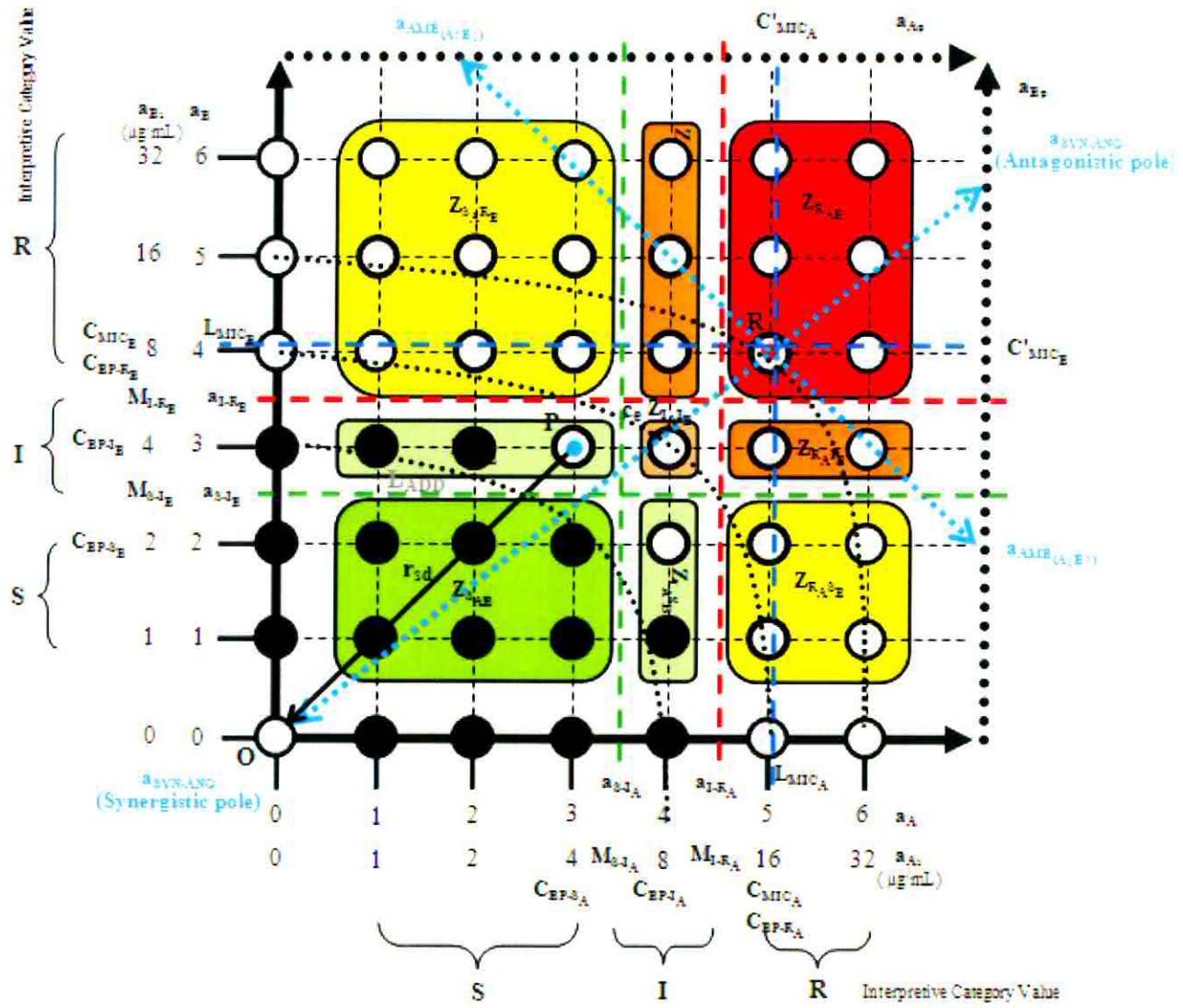
Uni-resistant ($R_A I_B$ or $I_A R_B$): Eğer P $Z_{R_A I_B}$ veya $Z_{I_A R_B}$, içindeyse, ilaç kombinasyonunun müdahaleli etkisi uni-resistant'dir.

Bi-resistant (R_{AB}) (Resistant) : Eğer P $Z_{R_{AB}}$, içindeyse, ilaç kombinasyonunun müdahaleli etkisi bi-resistant'dir.

Şekil 6 : Örnek mikroplağın yöntem 5a ile değerlendirilmesi (biyokimyasal etki)



Şekil 7 : Örnek mikroplağın yöntem 5b ile değerlendirilmesi (girişimsel etki)



4. BULGULAR

4.1. Çalışmada kullanılan suşların duyarlılıkları ve MİK değerleri

Çalışmamızın antagonizma grubunda siprofloksasin ve meropenem antibiyotiklerinin duyarlılık durumu değerlendirilmiştir. Siprofloksasin duyarlı, meropenem duyarlı 20 suş ; siprofloksasin dirençli, meropenem duyarlı 20 suş toplanmıştır. Suşların MİK değerleri, örnek türleri ve GSBL özellikleri tabloda gösterilmiştir. Bu grup antagonizma grubu için planlanmıştır ve bu antibiyotik kombinasyonları checkerboard yöntemi ile test edilmiştir.

Tablo IV :Antagonizma grubunda kullanılan suşların özellikleri

Suş Kodu	Sipro. duyarlılığı	Sipro. MİK	Meropenem duyarlılığı	Meropenem MİK	Örnek türü	GSBL
1	S	0,001	S	0,008	İdrar	-
2	S	0,007	S	0,015	İdrar	-
3	S	0,0625	S	0,015	İdrar	-
4	S	0,003	S	0,015	İdrar	-
5	S	0,003	S	0,015	İdrar	-
6	S	0,003	S	0,007	İdrar	-
7	S	0,003	S	0,007	İdrar	-
8	S	0,001	S	0,007	İdrar	-
9	S	0,001	S	0,007	İdrar	-
10	S	0,007	S	0,007	İdrar	-
11	S	0,001	S	0,015	İdrar	-
12	S	0,001	S	0,007	İdrar	-
13	S	0,003	S	0,015	İdrar	-
14	S	0,003	S	0,007	İdrar	-
15	S	0,007	S	0,015	İdrar	-

16	S	0,007	S	0,015	İdrar	-
17	S	0,004	S	0,003	Svs	-
18	S	0,003	S	0,015	İdrar	-
19	S	0,001	S	0,015	İdrar	-
20	S	0,015	S	0,03	İdrar	-
21	R	32	S	0,015	İdrar	-
22	R	128	S	0,015	Yara	+
23	R	16	S	0,015	Eksuda	+
24	R	32	S	0,007	İdrar	+
25	R	16	S	0,015	İdrar	-
26	R	32	S	0,015	İdrar	-
27	R	64	S	0,03	İdrar	+
28	R	64	S	0,015	İdrar	+
29	R	16	S	0,015	İdrar	-
30	R	32	S	0,015	İdrar	-
31	R	128	S	0,015	İdrar	-
32	R	128	S	0,03	İdrar	+
33	R	64	S	0,015	İdrar	-
34	R	128	S	0,015	İdrar	-
35	R	128	S	0,03	İdrar	-
36	R	256	S	0,03	İdrar	+
37	R	256	S	0,03	İdrar	+
38	R	64	S	0,06	İdrar	-
39	R	256	S	0,03	İdrar	-
40	R	128	S	0,03	idrar	+

Tablo V : Antagonizma grubunda kullanılan suşların antibiyotiklere duyarlılık yüzdeleri

		Duyarlılık n(%)	
Antibiyotik	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
Meropenem(n=40)	40 (n=100)	-	-
Siprofloksasin(n=40)	20 (n=50)	-	20 (n=50)

Çalışmamızın sinerji grubunda siprofloksasin ve amikasin antibiyotiklerinin duyarlılık durumu değerlendirilmiştir. Siprofloksasin dirençli, amikasin dirençli 7 suş ; siprofloksasin dirençli, amikasin orta duyarlı 11 suş; siprofloksasin duyarlı , amikasin duyarlı 11 suş ve siprofloksasin dirençli, amikasin duyarlı 11 suş toplanmıştır. Suşların MİK değerleri, örnek türleri ve GSBL özellikleri tabloda gösterilmiştir. Bu grup sinerji grubu için planlanmıştır ve bu antibiyotik kombinasyonları checkerboard yöntemi ile test edilmiştir.

Tablo VI: Sinerji grubunda kullanılan suşların özellikleri

Suş kodu	Sipro duyarlılığı	Sipro MİK değeri	Amikasin duyarlılığı	Amikasin MİK değeri	Örnek türü	GSBL
1	R	128	R	64	İdrar	+
2	R	64	R	64	idrar	+
3	R	128	R	64	idrar	-
4	R	256	R	64	TAK	+
5	R	128	R	128	idrar	-
6	R	128	R	64	idrar	+
7	R	64	I	32	İdrar	+
8	R	64	I	32	İdrar	+
9	R	64	I	32	İdrar	+
10	R	64	I	32	idrar	+
11	R	64	S	4	İdrar	+

12	R	64	S	4	Yara	+
13	R	64	S	4	Abse	+
14	R	64	S	8	İdrar	+
15	R	16	S	2	İdrar	-
16	R	8	S	8	akıntı	-
17	R	8	S	4	İdrar	-
18	R	32	S	2	İdrar	+
19	R	128	I	32	İdrar	+
20	R	128	I	32	İdrar	+
21	R	256	I	32	İdrar	+
22	R	64	I	32	İdrar	+
23	R	128	I	32	parasentez	+
24	R	128	R	256	Yara	+
25	R	128	I	32	İdrar	+
26	R	64	S	16	İdrar	+
27	R	128	I	32	İdrar	+
28	R	128	S	16	İdrar	+
29	S	0.06	S	4	eksuda	+
30	R	4	S	4	İdrar	-
31	S	0.015	S	4	Svs	+
32	S	0.0625	S	2	Yara	+
33	S	1	S	8	Yara	+
34	S	0.125	S	8	İdrar	+
35	S	0.03	S	4	İdrar	-
36	S	0.125	S	8	İdrar	-
37	S	0.0625	S	8	İdrar	-
38	S	0.25	S	0.5	İdrar	-
39	S	0.015	S	8	İdrar	+
40	S	0.015	S	4	İdrar	-

TAK: Trakeal aspirat kültürü

SVS: Steril vücut sıvısı

Tablo VII : Sinerji grubunda kullanılan suşların antibiyotiklere duyarlılık yüzdeleri

		Duyarlılık(%)	
Antibiyotik	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
Amikasin (=40)	22(n=55)	11(n=27.5)	7 (n=17.5)
Siprofloksasin(n=40)	1(n=27.5)	-	72.5(n=29)

4.2. Çalışılan plaklar ve değerlendirilme sonuçları

Aşağıda toplam 80 suşun değerlendirme sonuçları yer almaktadır.

İlk 40 suş antagonizma grubu, ikinci 40 suş sinerji grubudur.

Yöntem 1, Yöntem 2, Yöntem 3'ün yanında parantez içinde gösterilen değer suşun hesaplanan FİK indeksi değeridir.

M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
M 0,000 48							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

**ŞEKİL
8**
Suş:1

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.564)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.02)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

**ŞEKİL
9**
Suş:2

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.07)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.88)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,00 7	C 0,0 15	C 0,0 3	C 0,0 625	C 0,1 25

**ŞEKİL
10**
Suş:3

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.05)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.94)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 024	C 0,0 00 48	C 0,00 09	C 0,0 01	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15

**ŞEKİL
11**
Suş:4

Yöntem 1: sinerji (0.495)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (0.79)
Yöntem 3: sinerji (0.26)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,125							
M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

**ŞEKİL
12**
Suş:5

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.96)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.53)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
M 0,000 48							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

**ŞEKİL
13**
Suş:6

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.825)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: sinerji (0.44)
Yöntem 4: sinerji
Yöntem 5a: sinerjistik etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 09	C 0,0 01	C 0,00 3	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3	C 0,0 62 5

**ŞEKİL
14**
Suş:7

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.26)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.12)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

**ŞEKİL
15**
Suş:8

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.2)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (1.9)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.02)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

**ŞEKİL
16
Suş:9**

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.39)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.12)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
M 0,000 48							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

**ŞEKİL
17
Suş:10**

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.71)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.54)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

**ŞEKİL
18
Suş:11**

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.196)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.06)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

**ŞEKİL
19
Suş:12**

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.39)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.12)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 02	C 0,0 00 48	C 0,00 09	C 0,0 01	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15

ŞEKİL
20
Suş:13

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.19)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.06)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

ŞEKİL
21
Suş:14

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.235)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.12)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,00 7	C 0,0 15	C 0,0 3	C 0,0 625	C 0,1 25

ŞEKİL
22
Suş:15

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.22)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.06)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

ŞEKİL
23
Suş:16

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.18)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.05)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

ŞEKİL
24
Suş:17

Yöntem 1: Aditif/indiferent (2.54)
Yöntem 2: antagonistik (6)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.13)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

ŞEKİL
25
Suş:18

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.21)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.06)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,125							
M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
P.K	C 0,00 048	C 0,0 00 9	C 0,00 1	C 0,0 03	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3

ŞEKİL
26
Suş:19

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.12)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (1.46)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.86)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,125							
M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
P.K	C 0,00 09	C 0,0 01	C 0,00 3	C 0,0 07	C 0,0 15	C 0,0 3	C 0,0 62 5

ŞEKİL
27
Suş:20

Yöntem 1: Aditif/indiferent (3.2)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.06)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 2	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 12 8

ŞEKİL
28
Suş:21

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.1)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.9)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,125							
M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
P.K	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256	C 51 2

ŞEKİL
29
Suş:22

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.02)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.7)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 2	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 12 8

ŞEKİL
30
Suş:23

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.23)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.06)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,012 5							
M 0,062 3							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 25 6

ŞEKİL
31
Suş:24

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.2)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.125)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 2	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 12 8

ŞEKİL
32
Suş:25

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.08)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.96)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,125							
M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
P.K	C 2	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 12 8

ŞEKİL
33
Suş:26

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.779)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (1.5)
Yöntem 3: sinerji (0.45)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,125							
M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 25 6

ŞEKİL
34
Suş:27

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.889)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (1.5)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.56)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 25 6

ŞEKİL
35
Suş:28

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.87)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (1.48)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.52)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 1	C 2	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64

ŞEKİL
36
Suş:29

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.87)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (1.48)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.52)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,125							
M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
P.K	C 2	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 12 8

ŞEKİL
37
Suş:30

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.83)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (1.46)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.52)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256	C 51 2

ŞEKİL
38
Suş:31

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.1)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.96)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 25 6

ŞEKİL
39
Suş:32

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.85)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.56)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 25 6

**ŞEKİL
40
Suş:33**

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.21)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.06)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,125							
M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 25 6

**ŞEKİL
41
Suş:34**

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.08)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.9)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,125							
M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 25 6

**ŞEKİL
42
Suş:35**

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.09)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,125							
M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
P.K	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256	C 51 2

**ŞEKİL
43
Suş:36**

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.2)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.3)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256	C 51 2

ŞEKİL
44
Suş:37

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.02)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.75)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,025							
M 0,012 5							
M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 25 6

ŞEKİL
45
Suş:38

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.22)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.04)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256	C 51 2

ŞEKİL
46
Suş:39

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.03)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.625)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

M 0,062 5							
M 0,03							
M 0,015							
M 0,007							
M 0,003							
M 0,001							
M 0,000 9							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 25 6

ŞEKİL
47
Suş:40

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.09)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 256							
AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
P.K	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256	C 256

ŞEKİL
48
Suş:1

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.12)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 256							
AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
P.K	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256	C 512

ŞEKİL
49
Suş:2

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.25)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.06)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL
50
Suş:3

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.1)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL
51
Suş:4

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.04)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.75)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 256							
AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL
52
Suş:5

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.107)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.03)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 256							
AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
P.K	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256	C 512

ŞEKİL
53
Suş:6

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.98)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.625)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL
54
Suş:7

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.05)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.75)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL
55
Suş:8

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.774)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Sinerji (0.5)
Yöntem 4: Sinerji
Yöntem 5a: Sinerjistik etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL 56
Suş:9

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.91)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.625)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL 57
Suş:10

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.72)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (1.5)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.56)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL 58
Suş:11

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.97)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.75)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL 59
Suş:12

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.05)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.75)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL 60
Suş:13

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.05)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.75)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL 61
Suş:14

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.95)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.56)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
AK 0.125							
P.K	C 2	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128

ŞEKİL 62
Suş:15

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.25)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.06)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
P.K	C 1	C 2	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64

ŞEKİL 63
Suş:16

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.04)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.75)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
AK 0.125							
P.K	C 1	C 2	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64

ŞEKİL
64
Suş:17

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.04)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.75)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
AK 0.125							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL
65
Suş:18

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.662)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (1)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.56)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 256							
AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
P.K	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256	C 512

ŞEKİL
66
Suş:19

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.675)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (1.5)
Yöntem 3: Sinerji (0.375)
Yöntem 4: Sinerji
Yöntem 5a: sinerjistik etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 256							
AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
P.K	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256	C 512

ŞEKİL
67
Suş:20

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.25)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.06)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
P.K	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256	C 512	C 10 24

ŞEKİL
68
Suş:21

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.91)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.625)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
P.K	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256	C 51 2

ŞEKİL
69
Suş:22

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.135)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 256							
AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 25 6

ŞEKİL
70
Suş:23

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.72)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (1.5)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.53)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 512							
AK 256							
AK 128							
AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 25 6

ŞEKİL
71
Suş:24

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.103)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.75)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 128							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL
72
Suş:25

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.93)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.56)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL
73
Suş:26

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.97)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.75)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL
74
Suş:27

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.05)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.75)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 64							
AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
P.K	C 4	C 8	C 16	C 32	C 64	C 128	C 256

ŞEKİL
75
Suş:28

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.98)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.75)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
AK 0.125							
P.K	C 0.00 7	C 0.0 15	C 0.03 625	C 0.0 25	C 0.1 5	C 0.2 5	C 0.5

ŞEKİL
76
Suş:29

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.1)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
AK 0.125							
P.K	C 0.06 25	C 0.1 25	C 0.25	C 0.5	C 1	C 2	C 4

ŞEKİL
77
Suş:30

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.94)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.56)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
AK 0.125							
P.K	C 0.00 04	C 0.0 009	C 0.00 1	C 0.0 03	C 0.0 07	C 0.0 15	C 0.0 3

ŞEKİL
78
Suş:31

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.08)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.96)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
AK 0.125							
P.K	C 0.00 7	C 0.0 15	C 0.03 625	C 0.0 25	C 0.1 5	C 0.2 5	C 0.5

ŞEKİL
79
Suş:32

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.25)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.06)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
P.K	C 0.01 5	C 0.0 3	C 0.06 25	C 0.1 25	C 0.2 5	C 0.5	C 1

**ŞEKİL
80**
Suş:33

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.18)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.01)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
P.K	C 0.00 1	C 0.0 03	C 0.00 7	C 0.0 15	C 0.0 3	C 0.0 625	C 0.1 25

**ŞEKİL
81**
Suş:34

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.17)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.008)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
P.K	C 0.00 1	C 0.0 03	C 0.00 7	C 0.0 15	C 0.0 3	C 0.0 625	C 0.1 25

**ŞEKİL
82**
Suş:35

Yöntem 1: sinerji (0.49)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (1.23)
Yöntem 3: Sinerji (0.225)
Yöntem 4: Sinerji
Yöntem 5a: Sinerjistik etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin öngördüğü
teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
P.K	C 0.00 3	C 0.0 07	C 0.01 5	C 0.0 3	C 0.0 625	C 0.1 25	C 0.2 5

**ŞEKİL
83**
Suş:36

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.86)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.62)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b: Klinik etkinin
değerlendirilmesi için testin
öngördüğü teknik hususiyetleri
karşılamayan plak

AK 32							
AK 16							
AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
P.K	C 0.01 5	C 0.0 3	C 0.06 25	C 0.1 25	C 0.2 5	C 0.5	C 1

ŞEKİL
84
Suş:37

Yöntem 1: Aditif/indiferent(1.131)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (0.98)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b:Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
AK 0.125							
P.K	C 0.01 5	C 0.0 3	C 0.06 25	C 0.1 25	C 0.2 5	C 0.5	C 1

ŞEKİL
85
Suş:38

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.28)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1.06)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b:Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
AK 0.125							
P.K	C 0.00 3	C 0.0 07	C 0.01 5	C 0.0 3	C 0.0 625	C 0.1 25	C 0.2 5

ŞEKİL
86
Suş:39

Yöntem 1: Aditif/indiferent (0.77)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: sinerji (0.49)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b:Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

AK 8							
AK 4							
AK 2							
AK 1							
AK 0.5							
AK 0.25							
AK 0.125							
P.K	C 0.00 3	C 0.0 07	C 0.01 5	C 0.0 3	C 0.0 625	C 0.1 25	C 0.2 5

ŞEKİL
87
Suş:40

Yöntem 1: Aditif/indiferent (1.23)
Yöntem 2: Aditif/indiferent (2)
Yöntem 3: Aditif/indiferent (1)
Yöntem 4: Aditif/indiferent
Yöntem 5a: Belirsiz etki
Yöntem 5b:Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

Tablo:VIII; Antagonizma grubundaki suşların farklı yöntemlerle değerlendirme sonuçları

	Sinerji	Antagonizma	Aditif/İndiferent	Belirsiz	Diğer
Yöntem 1	1 (% 2.5)	-	39 (% 97.5)	-	-
Yöntem 2	-	1 (%2.5)	39 (% 97.5)	-	-
Yöntem 3	3 (% 7.5)	-	37 (% 92.5)	-	-
Yöntem 4	1 (% 2.5)	-	39 (% 97.5)	-	-
Yöntem 5a	1 (% 2.5)	-	-	39 (% 97.5)	-
Yöntem 5b	-	-	-	-	*40(%100)

*; Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

Tablo:IX; Sinerji grubundaki suşların farklı yöntemlerle değerlendirme sonuçları

	Sinerji	Antagonizma	Aditif/İndiferent	Belirsiz	Diğer
Yöntem 1	1(% 2.5)	-	39(% 97.5)	-	-
Yöntem 2	-	-	40(% 100)	-	-
Yöntem 3	4(% 10)	-	36(% 90)	-	-
Yöntem 4	3(% 7.5)	-	37(% 92.5)	-	-
Yöntem 5a	3(% 7.5)	-	-	37(% 92.5)	-
Yöntem 5b	-	-	-	-	*40(%100)

*; Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak

5. TARTIŞMA

Çoğul antibiyotik direnci gösteren bakterilerle oluşan infeksiyonlar tüm dünyada büyük bir sorundur. Bu infeksiyonlar tedavi maliyetini artırması, hastanede kalış süresini uzatması, hastanın mortalite ile morbiditesinin artışına yol açması yönünden oldukça önemlidir. Bu infeksiyonlardan en sık izole edilen patojenlerin başında *Escherichia coli* gelmektedir (Kaper ve ark, 2004).

E.coli, klinik mikrobiyoloji laboratuvarında hem en sık izole edilip, hem de hemen hemen her organ ve dokuda infeksiyon oluşturabilmektedir. *E.coli* infeksiyonlarının en yaygın görülenleri; üropatojenik şuşlarla oluşan idrar yolu infeksiyonları ve enteropatojenik şuşlarla oluşan ishallerdir (Joklik ve ark. 1984). Ayrıca akciğer infeksiyonlarında etken olabilmekte, nozokomiyal pnömoniye neden olan başlıca mikroorganizmalar arasında bildirilmektedir (Murray ve ark, 2002). Bunların dışında neonatal menenjit, sepsis, karın içi infeksiyonlar ve yara infeksiyonlarının da nedeni olabilmektedir (Leblebicioğlu, 2001).

E.coli infeksiyonlarının tedavisi hastalığın bulunduğu yer ve özgül izolatin gösterdiği direnç kalıbına bağlıdır. Hastanelerde sıklıkla nozokomiyal infeksiyon etkeni olan *E.coli* infeksiyonları arasında giderek artan direnç, tüm dünyada önemli bir problem olmaya devam etmektedir (Çelen ve ark, 2005). Özellikle son zamanlarda *E.coli* infeksiyonlarının tedavisinde beta-laktamlara, tetrasiklinlere, florokinolonlara, kloramfenikole, aminoglikozitlere ve trimetoprim-sulfametoksazole karşı gelişen dirençte dramatik bir artış söz konusudur (DiPersio ve Dowzicky 2007; Reinert ve ark, 2007). Özellikle Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığındaki artış önemli bir sorun haline gelmiştir (Çelen ve ark, 2005)

GSBL enzimleri tüm dünyada hastane infeksiyonlarında önemli bir problem haline gelmiştir ayrıca ayaktan tedavi edilen hastalardan izole edilen bakterilerde de görülme sıklığı artmaya başlamıştır (Paterson, 2006). GSBL taşıyan bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek tedavi seçenekleri oldukça sınırlıdır. GSBL taşıyan bakteriler aztreonam ve 3. Kuşak sefalosporinlere ve geniş spektrumlu penisilinlere karşı direnç gösterirken, sefoksitin ve karbapenemlere karşı duyarlılıklarını genellikle sürdürürler. Beta-laktam dışındaki tetrasiklin, kloramfenikol, trimetoprim-sulfametoksazol, kinolon ve aminoglikozid antibiyotik gruplarına ise çoğu zaman değişik mekanizmalarla direnç geliştirebilirler (Patterson,2001).

Ülkemizde GSBL varlığının araştırıldığı çok sayıda çalışma yapılmış olup, bu çalışmaların 1995 yılından itibaren yoğunlaştığını görmekteyiz. 2002-2005 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesinde yapılan bir çalışmada poliklinik hastalarının idrar örneklerinden izole edilen 4424 suşun %49' u *E. coli*, %8' i *K. pneumoniae* , %6'sı *Enterokok spp.*, %3' ü *Proteus* cinsi olarak, yatan hastaların ise 815' inde üreme bulunmuş bunun da %31' i *E. coli* %9'u *K. pneumoniae* , %7'si *Enterokok spp.* olarak tanımlanmıştır. Poliklinik hastalarından izole edilen *E. coli* suşlarından %4'ü GSBL oluştururken, bu oran servislerde yatan hastalardan izole edilen suşlarda %8 bulunmuştur (Okaygün ve ark, 2006). Delialioğlu ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları çalışmada klinik hastalardan izole edilen *E. coli* suşlarında %29 ve poliklinik hastalarından izole edilen *E. coli* suslarında %7,7 oranında GSBL üretimi bildirmişlerdir (Delialioğlu ve ark, 2005). 2008 yılında hastanemizde yapılan bir çalışmada ESBL pozitifliği; yatan hastalardan izole edilen *E. coli* suşlarında %36.3, *K. pneumoniae*'de %47.6 ve poliklinik hastalarından izole edilen *E. coli* suşlarında %21, *K. pneumoniae*'de %23,5 oranında olduğu ayrıca GSBL varlığı açısından servis ve poliklinik hastaları arasında istatistiksel farkın olduğu saptanmıştır ($p<0.05$) (İşler, 2008). Sağlam ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; kan kültürlerinden izole edilen *E. coli* suşlarının GSBL üretme sıklığı ve GSBL üreten ve üretmeyen suşlar arasında antibiyotik duyarlılığı farklılıklarının saptanması amaçlanmıştır. İzole edilen 95 *E.coli* suşunun 37'sinde (% 39) GSBL varlığı saptanmış. GSBL oluşturma kadınlardan elde edilen suşlarda erkeklerden, çocuklardan elde edilenlerde erişkinlerden, yoğun bakımdan elde edilenlerde servislerden elde edilenlere göre daha yüksek bulunmuş ($p<0.05$). İmipenem, meropenem ve ertapenem bütün suşlara etkili bulunmuş. GSBL pozitif *E.coli* suşlarında tedavide kullanılan antibiyotiklere direnç oranının, GSBL negatif suşlara oranla anlamlı oranda yüksek olduğu görülmüş (Sağlam D ve ark, 2011). Van Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda 2010 yılında yapılan çalışmada kliniklerde yatan ya da ayaktan polikliniklere başvuran erişkin hastalardan alınan 600 idrar örneği değerlendirmeye alınmıştır. En sık izole edilen mikroorganizmalar sırasıyla *E. coli*, *Klebsiella spp.* ve *Proteus spp.* olmuş. Toplam 375 *E.coli* suşu çalışmaya alınmış ve bunların % 29.9'u GSBL pozitif bulunmuş. Amikasin, imipenem ve meropenem GSBL pozitif veya negatif *E.coli* suşlarının tümüne etkili iken, fosfomisin GSBL pozitif ve negatif suşlarda % 85 ve % 95, nitrofurantoin ise %

82 ve % 90 oranında etkili bulunmuş. GSBL pozitif suşlarda amikasin, imipenem ve meropenem dışındaki antibakteriyellere duyarlılık, GSBL negatif suşlara göre ileri derecede anlamlı olacak şekilde daha az bulunmuş (Bayram ve ark, 2011)

Kullandığımız antibiyotiklerden siprofloksasin kinolon grubu bir antibiyotiktir. Kinolonlar bakteri hücresinde DNA sentezini bozarak etkilerini gösterirler ve konsantrasyon bağımlı bakterisidal etkilidirler (Mülazımoğlu, 1999). Kullandığımız diğer bir antibiyotik amikasin aminoglikozit grubundandır ve etkisini bakteride ribozoma bağlanıp; protein sentezinin inhibe ederek gösterirler. Meropenem ise karbapenem grubundadır. Karbapenemler ise gram negatif ve gram pozitif bakterilerin PBP 1 ve PBP 2 sine bağlanarak hücre elongasyonu ve lizisine neden olurlar (Spratt ve ark, 1997).

İlhan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen 1997 yılında 1257 ve 2000 yılında 1344 *E. coli* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere dirençleri incelenmiştir. 1997 yılında en çok direnç izlenen antibiyotikler sırasıyla ampisilin (% 60.5), trimetoprim/ sulfometaksazol (% 36.3), siprofloksasin (% 15.1) olarak tespit edilirken, sefotaksim, amikasin ve imipeneme direnç izlenmemiştir. 2000 yılında ise direnç oranları sırasıyla ampisilin (%71.4), trimetoprim/ sulfometaksazol (%55.9), siprofloksasin (%29.5), sefotaksim (%8.3), amikasin (%6.1) olarak bulunurken, imipeneme direnç izlenmemiştir (İlhan ve ark, 2001) Aksaray ve arkadaşları tarafından 2000 yılında E-test yöntemi ile yapılan çalışmada *E.coli* izolatlarının %43,8'i siprofloksasine, %69,9'u sefepime, %98,6 'sı imipeneme ve %19,2'si piperasillin/tazobaktama karşı duyarlı olarak saptanmıştır (Aksaray ve ark, 2000). Erdem ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları çalışmada Sivas Kızılay Tıp Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarında 2002 yılı içerisinde izole edilen toplum kaynaklı üropatojenik 289 *E.coli* suşunun antibiyotik duyarlılıkları incelenmiştir. Kirby-Bauer disk difüzyon testi ile elde edilen sonuçlara göre ampisiline %82.4, trimetoprim-sulfametoksazole %56.3, ampisilin/sulbaktama %44.8, sefuroksime %31.3, seftriaksona %8.9, sefepime %8.1, gentamisine %6.9, siprofloksasine %6.9, ofloksasine %4.6, amikasine %3.9 ve netilmisine %1 direnç saptanırken imipenem direnci görülmemiştir (Erdem ve ark, 2004)

Şahin ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları çalışmada 151 *E. coli* suşunun direnç durumları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırılmış, ampisiline %77,

amoksisilin-klavulanik aside %44, sefakloro %34, sefuroksime %18, seftriaksona %10, seftazidime %6, imipeneme %2, amikasin %3, gentamisine %16, siprofloksasine %17, trimetoprim-sulfametoksazol %43 oranında direnç bulunmuştur (Şahin ve ark, 2004). Zarakolu ve arkadaşlarının 2006 yılında yapmış oldukları çalışmada, 2000-2004 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesinde nozokomiyal Gram negatifler bakteriler incelenmiştir. 2000 yılındaki tüm *E.coli* izolatlarının meropenem ve imipeneme duyarlı olduğunu, seftazidime %39, sefepime %29, piperasillin/tazobaktam %22, siprofloksasine %59 oranında dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. 2004 yılında izole ettikleri tüm *E.coli* izolatlarında yine amikasin ve imipeneme karşı direnç gözlenmezken, seftazidime %32, sefepime %35, piperasillin/tazobaktam %9, siprofloksasine %73 oranında direnç gözlemlendiğini bildirmişlerdir (Zarakolu ve ark, 2006) Akay ve arkadaşlarının 2006 yılında yapmış olduğu üriner sistem infeksiyonlarında *E.coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılığı çalışmasında; sefepim %98,3, meropenem %97,7, amikasin %95,0 ve netilmisin'e %95,8 oranlarında duyarlılık, ampisilin %50,8, kotrimaksazol %60,6 ve amoksisilin klavunat'a %69,6 direnç saptamışlardır (Akay ve ark, 2006) Kalem ve arkadaşlarının 2008 yılında yapmış oldukları çalışmada, idrardan izole edilen 178 *E.coli* suşunun CLSI kriterleri temel alınarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik dirençleri araştırılmış; imipeneme 178(%100), amikasin 157(%88.2), nitrofurantoin 151(%84.8), gentamisine 129(%72.5), sefuroksime 124(%69.7), siprofloksasine 111(%62.4), ampisilin/ sulbaktam 92(%51.7), trimetoprim/ sulfametoksazol 79(%44.4) ve ampisiline 39(%21.9) duyarlı bulunmuştur (Kalem ve ark, 2008). Dündar ve arkadaşlarının 2008 yılında idrar kültürlerinde mikroorganizmaların izole edilmesi ve antibiyotik duyarlılıkları için Vitek-2 ile yapılan çalışmalarında; GSBL saptanma oranı *E.coli*'de poliklinikten başvuran hastalarda %14, yatan hastalarda %24 bulunmuştur. Yatan hastaların %35'inde, poliklinikten başvuran hastaların %58'inde *E.coli* izole edilmiştir. Poliklinik ve servis hastalarında siprofloksasin direnci *E.coli*'de %28, trimetoprim-sulfametoksazol direnci ise *E.coli*'de %, olarak; duyarlılığı ise ampisilin %39, ampisilin/sulbaktam %50, piperasilin/ tazobaktam %83, sefoperazon/ sulbaktam %92, sefuroksim aksetil %70, seftriakson %84, imipenem %100, siprofloksasin %72, ko-trimoksazol %56, gentamisin %80, amikasin %87, nitrofurantoin %88 saptanmıştır (Dündar ve ark, 2008). Koçoğlu ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmada,

ülkemizde florokinolon direnci merkezlere göre farklılık göstermekte ve bu farklılıklar epidemiyolojik faktörlere, infeksiyon kontrol önlemlerine ve antibiyotik kullanım politikalarına bağlanmaktadır (Koçoğlu ve ark, 2007). Arslan ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan çok merkezli bir çalışmada üropatojen *E.coli* suşlarında siprofloksasin direnci için belirlenen risk faktörlerinin başında daha önce siprofloksasin kullanılmış olması gelmektedir (Arslan ve ark, 2005). Kuzucu ve arkadaşlarının 2011’de yaptığı çalışmaya, Ocak 2007-Şubat 2008 tarihleri arasında hastanede yatan ve polikliniklere başvuran hastalara ait 208 idrar, 16 kan, 26 yara, 17 steril vücut sıvısı, dört trakeal aspirat ve yedi diğer örneklerden izole edilen GSBL pozitif 239 *E.coli*, 28 *Klebsiella pneumoniae* ve 11 *Klebsiella oxytoca* suşu dahil edilmiştir. Bakterilerin tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler kullanılmış; antibiyotik duyarlılıkları CLSI standartlarına göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle çalışılmıştır. İzolatların GSBL üretimi çift disk sinerji yöntemiyle araştırılmış, şüpheli olgularda sefotaksim-klavulanik asit E-test şeritleri (BioMerieux, Fransa) kullanılmıştır. Karbapeneme dirençli suşlarda CLSI tarama kriterlerine göre modifiye Hodge testi çalışılmış ve ertapenem (Etest®, BioMerieux, Fransa), imipenem ve meropenem (MIC. Evaluator Strips, Oxoid, İngiltere) için MİK değerleri belirlenmiştir. Çalışılan tüm suşlar (278/278; %100) amikasin duyarlı bulunmuş; imipenem/meropenem duyarlılığı %99.3 (276/278), ertapenem duyarlılığı %98.6 (274/278) olarak saptanmıştır. *E.coli* suşlarının; ertapenem duyarlılığı sırasıyla %99.2, imipenem/meropenem duyarlılığı ise sırasıyla %100 olarak saptanmıştır. Çalışmada iki *E.coli* suşunda karbapenem direnci saptanmıştır. İki *E.coli* suşunun ertapeneme dirençli (MİK > 32 µg/ml), ancak imipenem (MİK= 0.25 µg/ml) ve meropeneme (MİK=0.5 µg/ml) duyarlı olduğu izlenmiştir. Karbapeneme dirençli olan dört suşta modifiye Hodge testi ile karbapenemaz üretimi gösterilmiştir (Kuzucu ve ark, 2011).

Yıllar içerisinde tüm Gram negatif bakterilerde olduğu gibi *E.coli* suşlarında da antibakteriyel ajanlara karşı artan direnci söz konusudur. Bu direnç artışında çeşitli mekanizmaların yanında özellikle uygunsuz endikasyonda antibiyotik kullanımının rolü büyüktür (Sucu ve ark, 2004; Akay ve ark, 2006).

Biz çalışmamızda kullandığımız suşları amikasin, siprofloksasin ve meropenem duyarlılıklarına bakarak seçtik. Toplamda kullandığımız 80 suşun 31 tanesinde (%38.75) siprofloksasin duyarlı, 49 tanesinde (%61.25) siprofloksasin dirençlidir. 7 suş

(%8.75) amikasin dirençli, 11 suş (%13.75) amikasin orta duyarlı ve 62 suş (%77.5) amikasin duyarlıdır, meropenem ise tüm suşlarda (%100) duyarlıdır. Siprofloksasin MİK değerleri 0,001-256, amikasin MİK değerleri 0.5-256, meropenem MİK değerleri 0,007-0,06 değerleri arasındadır. Çalışmamızdaki suşların antibiyotik duyarlılıkları; siprofloksasin direncinin sık olması, amikasin direncinin nadir ve meropenem direncinin olmayışı diğer çalışmalarla ortaktır. Ayrıca suşlarımızın 38 tanesinin (%47.5) GSBL(+) olması diğer çalışmalardaki verileri de desteklemektedir.

Klinik uygulamalarda iki ya da daha fazla antibiyotiğin kombine kullanımına sıklıkla ihtiyaç duyulmaktadır. Bunlar genellikle miks infeksiyonların tedavisi, antibiyotiklere karşı gelişen direncin önlenmesi ya da geciktirilmesi düşünülen durumlar, tek başlarına verildiğinde toksik etkileri fazla olan antibiyotiklerin bu etkilerinden kaçınmanın düşünüldüğü vakalar, antimikrobiyal etkinliğin artırılmasının uygun olduğu durumlar ve sepsis gibi ciddi infeksiyonlarda ampirik tedavinin geciktirilmemesi gereken durumlardır. Bu durumlarda sinerjik etkinliği olan kombinasyonların seçimine özen gösterilir (King ve ark, 1981)

Antibiyotik sinerjizmini araştırmak amacıyla kullanılan yöntemler; E-test yöntemi, disk difüzyon yöntemi, checkerboard ve time-kill yöntemleridir. Karşılaştırılmalı çalışmalarda sonuçlar tüm yöntemlerin birbiriyle korele olduğunu göstermektedir. Sinerjik etkinlik araştırılırken kombinasyonu oluşturan antibiyotiklerin tek başlarına MİK değerlerine bakmak ve kombinasyon hakkında yorum yapmak yanıltıcı olabilmektedir. Bazı çalışmalarda antibiyotiklerden birisi dirençli olsa bile sinerjik etkinlik saptanabilmektedir. Bunun yanında kombinasyonu oluşturan her iki antibiyotiğin de dirençli olduğu durumlarda sinerjik etkinliğin daha yüksek olduğu, bazen de bunun tam tersi sonuçların alındığı çalışmalar da vardır. Sinerji testleri ile antibiyotik kombinasyonlarının araştırılması ve doğru uygulanması, dirençli mikroorganizmalara karşı yeni ajanlar bulununcaya kadar insanoğlunun infeksiyonlarla olan savaşında ayakta kalmasını sağlayacak önemli bir faktör olarak görünmektedir. Ancak çalışmalar farklı mikroorganizmaların hatta aynı tip mikroorganizmaların farklı suşlarının aynı veya benzer antibiyotik çiftlerine karşı farklı davrandıklarını göstermiştir. Antibiyotikler arasındaki etkileşme olaylarının diğer bir önemli özelliği invitro ve invivo olarak saptanan etkileşme tiplerinin birbirine uymamasıdır. Yani

invitro sinerjizm meydana getirebilen konsantrasyonları, invivo olarak vücutta oluşturmak mümkün olmayabilir.

Antimikrobiyal kombinasyonların aktivitelerinin değerlendirilmesinde en fazla kullanılan dama-tahtası tekniğidir. Checkerboard test sonuçları, isobologram denilen grafiksel bir yöntemle yorumlanabilmektedir. Ayrıca isobologramın matematiksel eşdeğer bir ifadesi olan FİK indeksi de, literatürde antimikrobiyal kombinasyonların aktivite sonuçlarının değerlendirilmesinde ve raporlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Antimikrobiyal kombinasyonların, anti-infektif etki sonuçlarının değerlendirilmesi, geleneksel olarak, isobologram veya FİK indeksi değerlerine göre belirlenen; sinerji, antagonizma, additif etki gibi tanımlara göre yapılmaktadır. Test edilen kombinasyonun, tedavi amaçlı kullanımına, FİK indeksi değerinin ≤ 0.5 olduğu ve “sinerjistik etki” olarak değerlendirildiği durumda karar verilebilmektedir.

Hoşgör Limoncu ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları çalışmada 2 GSBL(+) *E.coli* , 2 GSBL(+) *K.pneumoniae*, 2 *P.aeruginosa*, 2 *Acinetobacter spp.*, 2 Mec A (+) MRSA ve 2 VRE suşu kullanmışlar. Time kill metoduyla yaptıkları çalışmada *E.coli* suşlarında amikasin/siprofloksasin, amikasin/levofloksasin 4MİK ve amikasin/ertapenem MİK konsantrasyonlarında antibiyotik kombinasyonları arasında sinerji, ertapenem/florokinolon antibiyotik kombinasyonları arasında ise antagonizma saptamışlardır. *Acinetobacter* suşları tüm antibiyotik kombinasyonları için 4MİK de sinerjistik bulunmuş. *K.pneumoniae* suşları amikasin/ertapenem, amikasin/levofloksasin ve ertapenem/siprofloksasin kombinasyonlarını MİK konsantrasyonlarında sinerjistik, amikasin/siprofloksasin ertapenem/siprofloksasin ve ertapenem/levofloksasin kombinasyonlarını 4MİK konsantrasyonlarında sinerjistik bulmuşlar. *P. aeruginosa* suşları ertapenem/siprofloksasin kombinasyonunu MİK konsantrasyonunda, amikasin/ertapenem, ertapenem/levofloksasin kombinasyonlarında 4MİK konsantrasyonunda sinerjistik, MRSA ve VRE suşları ise test edilen antibiyotik kombinasyonlarında antagonistik bulunmuştur (Hoşgör Limoncu ve ark, 2008).

Biz de Hoşgör Limoncu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada aralarında antagonizma saptanan ertapenem/florokinolon kombinasyonundan örnek alarak meropenem/ siprofloksasin kombinasyonunu ve sinerjistik olarak da yine bu çalışmada saptanan amikasin/siprofloksasin kombinasyonunu seçtik. 40 antagonizma ve 40 sinerji olmak üzere toplamda 80 suş üzerinde antibiyotiklerin kombinasyon etkisini

checkerboard metoduyla belirledik. Checkerboard metodunda; her bir antimikrobiyalın MİK değerinin 4-5 kat altı ve iki kat üzerindeki dilüsyonları kullanılır. Checkerboard sisteminde "x" eksenini tek başına A ilacının dilüe edilmiş aynı miktarlarını içeren kuyucukların bulunduğu sıraları, "y" eksenini ise B ilacının dilüe edilmiş aynı miktarlarını içerir. Her iki ekseninde de ilk sıralar sadece bir ilacı içerir ve aynı ilacın MİK değerini gösterir. Sonuçta sistemdeki her bir kare test edilen iki ilacın tek bir kombinasyonunu içerir. Sonuçlar, test edilen mikroorganizmaya göre değişmekle birlikte, 24-48 saatlik inkübasyonun ardından görsel ya da spektrofotometrik olarak değerlendirilir. Üremenin inhibe edildiği her kombinasyon için FİK indeks hesaplandı (Te Dorsthorst, 2002).

Çalışmamızda FİK indeksini Bonapace ve ark. 2002 yılında yaptıkları çalışmada olduğu gibi dört ayrı metodla belirledik. Bu yöntemlerle hesapladığımız FİK indeksi $FİK \leq 0.5$: Sinerji, $FİK > 4$: Antagonizma ve $0.5 < FİK \leq 4$: Aditif/indiferent olarak değerlendirildi.

Moellering *Enterobacteriaceae* familyasından birçok bakteri türüne karşı, çeşitli aminoglikozitlerle çeşitli sefalosporinlerin kombine etkilerini mikrodilüsyon yöntemi ile araştırmış ve amikasin/ sefalotin çifti ile *E.coli* suşlarında sinerjik etkiler göstermiştir (Jones, 1986). Mark A.Pierce ve ark, *E.coli* suşlarında sefotaksim ve amikasin çifti ile %61 oranında, (Pierce, 1985) Klastersky ve ark, sefalotin ve gentamisin, sefalotin ve tobramisin çifti ile %50 oranında sinerjistik etkiler elde etmişlerdir (Klastery ve ark, 1973). Thomas ve arkadaşları 1977 yılında trimetoprim/ amikasin antibiyotik kombinasyonunu *E.coli* suşları üzerinde checkerboard metoduyla test etmişler ve sinerjistik bulmuşlar (Thomas ve ark, 1977). Nworu ve Esimone 2006 yılında ampicilin/siprofloksasin ilaç kombinasyonunu *E.coli* suşları üzerinde checkerboard tekniğiyle test etmişler ve sinerjistik bulmuşlar (Nworu ve Esimone, 2006).

Çetin ve Erbaş şerit difüzyon yöntemi ile yaptıkları çalışmada 25 *E.coli* suşunun sefuroksim sodyum- siprofloksasin kombinasyonuna karşı etkinliğini araştırmışlar ve %68 oranında sinerjistik etki bulmuşlar (Çetin ve Erbaş, 1992) Deniz ve arkadaşları GSBL (+) *E. coli* ve *K. pneumoniae* kökenleri üzerinde tigesiklinin gatifloksasin ve levofloksasin ile kombinasyonunun etkinliğini araştırmışlar. Bunun için E-test yöntemiyle, önce tigesiklin, gatifloksasin ve levofloksasinin minimum inhibitör konsantrasyon değerlerini belirlemişler ve ardından tigesiklin+gatifloksasin, tigesiklin+levofloksasin kombinasyonlarının etkinliğini araştırmışlar. Tigesiklin,

gatifloksasin ve levofloksasinle kombine edildiğinde tüm kökenlerde aditif/indiferan etki görüldü. Kombinasyonların hiçbirinde sinerjik etki görülmediği gibi antagonistik etki de saptanmadı.(Deniz ve Hoşgör- limoncu,2008)

Tateda ve arkadaşları 2006 yılında çok ilaca dirençli *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının etkisini checkerboard plağının değerlendirilmesini FİK indeksi yöntemine alternatif olarak breakpoint temelli yöntemle yapmışlar. Çalışmanın sonucu olarak Tateda ve arkadaşları breakpoint temelli yöntemin çok ilaca dirençli *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında alternatif bir değerlendirme yöntemi olduğunu göstermişlerdir (Tateda ve ark, 2006). Milne ve Gould 2010 yılında yaptıkları çalışmada nonfermentatif gram negatif basillerde sinerji testini E-test metoduyla saptamışlar. Değerlendirmeyi ise FİK indeksi yöntemine alternatif olarak duyarlılık breakpoint indeksi adını verdikleri yöntemle yapmışlar ve bu yöntemin klinikte kullanılabilir bir yöntem olduğunu belirtmişler (Milne ve Gould, 2010). Bizde çalışmamızda yöntem 5 olarak Acuner ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi breakpoint temelli yeni sonuç değerlendirme yöntemini kullandık. Bu yöntemde klinik etki ve biyokimyasal etki olmak üzere 2 parametre üzerinde durulmakta ve bu yöntemin FİK indeksi yöntemine göre; kombinasyonun akvitesinin, standart antibiyotik duyarlılık testlerindeki kategorik sonuç yorumlarına eşdeğer olarak bilinebileceği ve böylelikle terapötik etkinin kestirilebileceği ileri sürülmektedir.

Çalışmamızda; antagonizma grubundan 4.suş yöntem 1, yöntem 3 ile sinerjistik; 6.suş yöntem 3, yöntem 4 ve yöntem 5a ile sinerjistik; 17.suş yöntem 2 ile antagonistik; 26.suş yöntem 3 ile sinerjistik bulunmuştur. Sinerji grubunda ise 8.suş yöntem 3, yöntem 4 ve yöntem 5a ile sinerjistik; 19.suş yöntem 3, yöntem 4, yöntem 5a ile sinerjistik; 35.suş yöntem 1, yöntem 3, yöntem 4 ve yöntem 5a ile sinerjistik; 39.suş ise yöntem 3 ile sinerjistik bulunmuştur. Çalışmadaki diğer suşlar diğer yöntemler ile aditif, indiferent, yöntem 5a ile belirsiz etkili bulunmuştur. Yöntem 5b ise; plaklarda bu değerlendirme için gerekli dilüsyonların bulunmaması nedeni ile değerlendirilememiştir ve ‘Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak’ olarak sonuçlandırılmıştır. Ancak tüm yöntemlerle ve tüm kombinasyonlarla sinerjistik etki görülmediği için bu antibiyotik kombinasyonlarının tedavide kullanılması için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6.SONUÇLAR

1- Çalışmamızda siprofloksasin dirençli 49 suş (%61.25), siprofloksasin duyarlı 31 suş(%38.75) bulunmuştur.

2- Çalışmamızda amikasin dirençli 7 suş (%8.75), amikasin orta duyarlı 11 suş (%13.75) ve amikasin duyarlı 62 suş (%77.5) bulunmuştur.

3- Çalışmamızda tüm suşlar meropeneme duyarlı (%100) bulunmuştur.

4- Suşlarımızın Siprofloksasin MİK değerleri 0,001-256, amikasin MİK değerleri 0.5-256, meropenem MİK değerleri 0,007-0,06 değerleri arasındadır.

5- Suşlarımızın 38 tanesinin (%47.5) GSBL(+) bulunmuştur.

6- Çalışmamızda; antagonizma grubundan 4.suş yöntem 1ve yöntem 3 ile sinerjistik; 6.suş yöntem 3 ve yöntem 4 sinerjistik; 17.suş yöntem 2 ile antagonistik; 26.suş yöntem 3 ile sinerjistik bulundu.

7- Sinerji grubunda ise 8.suş yöntem 3 ve yöntem 4 ile sinerjistik; 19.suş yöntem 3 ve yöntem 4 ile sinerjistik; 35.suş yöntem 1, yöntem 3 ve yöntem 4 ile sinerjistik; 39.suş ise yöntem 3 ile sinerjistik bulundu.

8- Çalışmadaki diğer suşlar diğer yöntemler ile aditif, indiferent bulundu.

9-Çalışmamızın antagonizma grubundaki suşlardan 6.suş yöntem 5a ile sinerjistik etkili bulunmuştur.

10- Çalışmamızda sinerji grubundaki suşlardan 8.suş yöntem 5a ile sinerjistik, 19.suş 5a ile sinerjistik, 35.suş 5a ile sinerjistik bulunmuştur.

11- Çalışmadaki diğer suşlar yöntem 5a ile belirsiz etkili bulunmuştur.

12- Yöntem 5b ise; plaklarda bu değerlendirme için gerekli dilüsyonların bulunmaması nedeni ile değerlendirilememiştir ve ‘Klinik etkinin değerlendirilmesi için testin öngördüğü teknik hususiyetleri karşılamayan plak’ olarak sonuçlandırılmıştır.

7. KAYNAKLAR

- Acuner İÇ, Güney AK, Deveci A, 2009. Terapötik Sinerji. (Yayınlanmamış çalışma.)
- Akbulut A, 2003. Sülfonamidler, Trimetoprim, Trimetoprim-Sülfometoksazol Antibiyotikler. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (ed), Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye, 381-392
- Akay H, Duranay M, Akay A. Üriner Sistem Enfeksiyonlarından İzole Edilen Mikroorganizmaların Dağılımı Ve *Escherichia Coli* Suslarında Antibiyotik Duyarlılığı. *İst Tıp Fak Derg.* 2006;69:1-4
- Aksaray S, Dokuzoğuz B, Güvener E. Surveillance of Antimicrobiol Resistance Among Gram Negative Isolates from Intensive Care Units in Eight Hospitals in Turkey. *J. Antimicrob Chemother*, 45, 2000; 695
- Arslan H, Kurt Azap Ö, Ergönül Ö, Timurkaynak F. Risk Factors For Ciprofloxacin Resistance Among *Escherichia coli* Strains İsolated From Community-Acquired Urinary Tract Infections İn Turkey. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2005. 56,914-918
- Anderson ET, Young LS, Hewitt WL, 1978. Antimicrobial synerjism in the therapy of Gram- negative rod bacteremia . *Chemotherapy*. 24:45
- Arda B, Ulusoy S, 2008. Kinolonlar. Güncel bilgiler ışığında Antibiyotikler. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (ed), Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye, 487-512
- Arslan U, 2010. Kombinasyon Testleri ve Makrometod.
- Ayanoğlu G, 1987. Antibiyotik-Antibiyotik olumsuz etkileşimleri, *Ankem Dergisi*, 1(3):298
- Ayaz C, 2008. Kloramfenikol ve Tiamfenikol. Güncel bilgiler ışığında Antibiyotikler, Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (ed). Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye, 479-487
- Available from: URL : <http://www.drinh.com/konsultasyon/k17.pdf> *IntJ Antimicrob Agents* 2003;22:S49-52
- Aygün G, 2002. Kinolonlar. Antibiyotikler II. İÜ. Cerrahpasa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinlerde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi No:31 . s:39-54

- Aygün G, 1998. Glikopeptid Antibiyotikler, Günümüzde Antimikrobik Tedavi, Yücel A, Tabak F, Öztürk R, Mert A.(ed), İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği, Yayın No:12, İstanbul, Türkiye, 55-57
- Bal Ç, 1999. Antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkinliğinin saptanması . Flora Derg; 4 : 219-29
- Başaran G, 1998. Beta Laktam Antibiyotikler, Günümüzde Antimikrobik Tedavi, Yücel A, Tabak F, Öztürk R, Mert A.(ed), İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği, Yayın No:12, İstanbul, Türkiye. 42-50
- Bates RD, 1994. Nahata MC. Once-daily administration of aminoglycoside. Ann. Pharmacother. 28: 757-766
- Bratu S, Tolaney P, Karamudi U, et al. Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: Molecular Epidemiology and In Vitro Activity of Polymyxin B and Other Agents, *J Antimicrob Chemother.* 2005;. 56: 128-132
- Bayram Y, Eren H, Berktaş M. İdrar örneklerinden izole edilen bakteriyel patojenlerin dağılımı ve GSBL pozitif ve negatif *Escherichia coli* suşlarının fosfomisin ve diğer antimikrobiyallere duyarlılık paterni. *Ankem dergisi.* 2011;25 (4):232-236
- Bayındır Y. Streptograminler: Kinupristin- Dalfopristin. Güncel bilgiler ışığında Antibiyotikler, Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (ed), Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye. 2008; 415-427
- Bilgehan H. “*Escherichia*” Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, 10. Baskı. 2000; 3-17.
- Bilgehan H. Bağışık Yanıt ve Temelleri . Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi Kitabı, 10. Baskı, Barış Yayınları. 2002; 303-317
- Bilgehan H. Nonfermentatif gram olumsuz basiller, Klinik Mikrobiyoloji. Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları . 9. Basım .İzmir Şafak Matbaacılık, 1995:161- 178
- Bimbaum J, Kahan FM, Kroop H. Carbapenems a New Class of Beta-Lactam Antibiotics: Discovery and Development of Imipenem-Cilastatin. *Am. J. Med.* 1985
- Bonfiglio G, Russo G, Nicoletti G. Recent developments in carbapenems. *Expert Opin Investig Drugs.* 2002;11(4): 529-44

- Bonapace CR, Bosso JA, Friedrich LV, White RL. Comparison of methods of interpretation of checkerboard synergy testing *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 44 . 2002; 363–366
- Bouchillon SK, Hoban DJ, Johnson BM, Hsiung A ,Dowzicy MJ. 2005. In vitro activity of tigecycline against Gram- negative and Gram-pozitive clinical isolates from the United States Tigecycline Evalution and Surveillance Trial (TEST Program;2004). *Diagn.Microbiol.Infect. Dis.*52:173-179
- Bozkaya E. Tıbbi Mikrobiyoloji 2, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. Nobel Tıp Kitabevleri, 2005; 65-68
- Bratu S, Mooty M, Nichani S, Landman D, Gullans C. Pettinato B , Karumudi U, Tolaney P , Quale J.2005.Emergence of KPC-possesing Klebsiella pneumonia in Brooklyn , New York: epidemiology and recommendations for detection. *Antimicrob.Agents Chemother.*49:3018-3020
- Brooks GF, Butel JS, Ornston LJ, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Medical Microbiology*. 20.ed. Appleton @Large, Connecticut, 1995
- Buesing MA, Jongensen JH. İn vitro activity of aztreonam in combination with newer beta-lactams and amikacin against multiply resistant gram-negative bacilli. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985;283-285
- Chambers HF. Penicillins. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Sixth edition, Pennsylvania: Elsevier Churchill Livingstone Inc, 2005;281-93
- CLSI 2009, M2-A10, Antimikrobik disk difüzyon duyarlılık testleri için uygulama standartları; onaylanmış standart- dokuzuncu baskı
- CLSI 2009, M7-A8, Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically.
- Conte JE. *Manual of Antibiotics and Infectious Diseases*. 8.ed. William @Wilkins, Baltimore, 1995; 63-82
- Çakır N. Kinolonlar. Güncel bilgiler ışığında Antibiyotikler, Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (ed), Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye, 2008; 307-321

- Çelen MK, Hoşoğlu S, Geyik MF, Akalın Ş, Ayaz C: Dicle Üniversitesi Hastanesi'ndeki antibiyotik tüketimi indeksi ve geliştirilen kontrollü antibiyotik kullanımının etkileri, Flora 2005; 10(4):180
- Çetin TE, Erbaş Y. Sefuroksim sodyumun aztreonam, tobramisin ve siprofloksasin ile olan kombinasyonlarının E.coli , P.mirabilis ve P.aeruginosa suşları üzerine etkisinin araştırılması. Ankem dergisi 6 (no:3).1992; 374-379
- Çolak D. Antimikrobiyal İlaçlar ve Etki Mekanizmaları. İçinde: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ed: Ustaçelebi Ş, Güneş Kitabevi, Ankara. 1999; s. 81-89.
- Demirpek U. Antimikrobiyal duyarlılık testleri. 2010 Dergisi.
- Delialioğlu N, Öcal ND, Emekdas G. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae türlerinde genişlemiş spektrumlu beta laktamaz oranları. ANKEM Derg. 2005; 19 (2): 84-87
- Deniz İ, Hoşgör-Limoncu M. Tigesiklinin florokinolonlarla kombinasyonunun in vitro etkinliği. Türk Mikrobiyoloji Cem Derg. 2008. 38 (3-4):100-105
- DiPersio JR, Dowzicky MJ. Regional Variations In Multidrug Resistance Among *Enterobacteriaceae* in the USA and Comparative Activity of Tigecycline, a New Glycylcycline Antimicrobial, *Int J Antimicrob Agent*, . 2007; 29: 518-527
- DiPersio JR, Dowzicky MJ. Regional variations in multidrug resistance among *Enterobacteriaceae* in the USA and comparative activity of tigecycline, a new glyclcline antimicrobial, *Int J Antimicrob Agent* 2007; 29: 518-527
- Deniz İ. Hoşgör-Limoncu M. Tigesiklinin florokinolonlarla kombinasyonunun in vitro etkinliği, Türk Mikrobiyoloji Cem Derg (2008)38(3-4):100-105
- Doğanay M. Monobaktam Antibiyotikler. Antibiyotikler, Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (ed), Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye, 2003; 287-292
- Dündar D, Willke A, Tamer G, İdrar Yolu Enfeksiyonu Etkenleri ve Antimikrobiyal Duyarlılıkları. Klimik Dergisi. 2008; 21 (1):7-11
- Ensor VM, Livermore DM, Hawkey PM. A novel Reverse-line Hybridization Assay for Identifying Genotypes of CTX-M-type Extended-Spectrum β -Lactamases, *J Antimicrob Chemother*. 2007; 59: 387-395
- Erdem H, Avcı A, Pahsa A. Toplum kaynaklı üropatojenik *Escherichia coli* suşlarında antibakteriyel direnç. ANKEM Derg 2004;18(1):40-44

- Eliopoulus GM, Moellering RC. Antimicrobial Combinations. In: Lorian V ed. Antibiotics in Laboratory Medicine, 4th ed, Williams and Wilkins, Baltimore, MD USA. 2000; 432-4993
- Erdem B .“*Enterobacteriaceae*” Prof. Dr. Şemsettin Ustaçelebi, Temel ve Klinik mikrobiyoloji,.Güneş kitabevi.1 baskı. 1999; 480-485
- Espinel-Ingroff AV, Pfaller MA. Susceptibility test Methods: Yeast and Filamentous Fungi, In: Murray PR, Baron EJ , Pfaller MA , Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology ASM Press, 8th ed, Washington DC, 2003; 1880-1893
- Farmer, III. Enterobacteriaceae Intruduction and Identification, Murray PR, Baron EJ, P Faller MA, Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology, ASM Press, Washington, USA.1995; 654
- Gazi H, Tünger Ö, Vural Ş, et al. Çeşitli Antibiyotik Kombinasyonlarının Çoğul Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarına In vitro Etkileri, Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2007; 1: 11-14
- Gilbert DN. Aminoglycosides. In: Principles and Practice of Infectious Diseases. Eds: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, 6th ed, Churchill and Livingstone, Philadelphia, 2005
- Gülay Z. Kinolonlarda Direnç Problemi. ANKEM Derg 16. No:3 2002; 232-237
- Gülay Z. Antimikrobiyal İlaçlara Direnç. İçinde: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ed: Ustaçelebi Ş, Güneş Kitabevi, Ankara. 1999; s. 91-107
- Gülay Z. Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Yorumu. Toraks Dergisi . 2002; 3: 75-88
- Gülay Z. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları ve Çözüm Önerileri: Beta-Laktamlara ve Karbapenemlere Direnç .Hastane infeksiyonları dergisi. Cilt: 5 Sayı: 3 Yıl: 2001
- Gür D. Antimikrobik tedavide yeni direnç sorunları. Modern Tıp Seminerleri 9, Güneş Kitabevi 2000; 63-66
- Gür D. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel tıp kitabevleri, 2002;182-193
- Gür D. Beta Laktamazlar. Flora. 1997; 3:3-18

- Gradelski E, Kolek B, Bonner DP, et al. Activity of Gatifloxacin and Ciprofloxacin in Combination with Other Antimicrobial Agents, Int J Antimicrob Agent,.2001; 17: 103-107
- Hoşgör-Limoncu M, Ermertcan S, Tasli H, Yurtman AN. Activity of Amikacin, Ertapenem, Ciprofloxacin and Levofloxacin alone and in Combination against Resistant Nosocomial Pathogens by Time –Kill, West Indian Med J 2008 ; 57(2):106
- Hooper DC. Mechanisms of action and resistance of older and newer quinolones. Clin Infect Dis 2001 ; 31(suppl 2) : 24-28
- Hooper DC. New Uses for New and Old Quinolones and the Challenge of Resistance. Clin Infect Dis 2000;30. s:243-254
- İşler H. Klinik ve poliklinik idrar örneklerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarında ESBL oranlarının belirlenmesi, bu oranların VITEK-2 ve Çift disk sinerji yöntemleriyle karşılaştırılması. SAMSUN,2008
- Johnson MD, MacDougall C, Ostrosky-Zeichner L, Perfect JR, Rex JR. Combination Antifungal Therapy, Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2004; 48, 693-715
- Jones RN. In vitro evaluations of amikacin: An assessment of the currently used methods of disc diffusion and dilution susceptibility, antimicrobial synergy and the measurement of amikacin concentrations. Am. J. Med. 1986. 80 Suppl., 6B:88
- Joklik WK, Willet HP, Amos B, Wilferd GM. Zinsser Microbiology. 18 th ed. Prentice-Hall International Inc. 1984; 603-60
- Joseph DC, Yao Robert C, Moellering JR . Antibakteriyel ajanlar. 2009; 1077-1113
- Kaper JB, Nataro ve HL Mobley. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat.Rev. Microbiology 2004; 2:123-140
- Kalem F, Gündem NS, Arslan U, Tuncer I. İdrar Örneklerinden İzole Edilen *Escherichia Coli* Suşlarının Antimikrobiyal Duyarlılığı. ANKEM Derg 2008;22(4):193-197
- King TC, Schlessinger D, Krogstad DJ. The assesment of antimicrobial combinations. Rev Infect Dis 1981 ;(3): 627-33

- Klastersky J, Henri A, Vandenborre L. Antimicrobial activity of tobramycin and gentamicin used in combination with cephalotin and carbenicillin. Am.J.Med.Sci,1973. 266 (1):13
- Koçoğlu E, Karabay O, Koç İnce N, Özkardeş F, Yıldırım R. Toplum Kaynaklı Üriner Sistem Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Escherichia coli* suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz ve bazı antibiyotiklere Direnç Sıklığının Araştırılması. 2007. ANKEM Derg ;21(1):5-9
- Kuzucu Ç, Yetkin F, Görgeç S, Ersoy Y. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* Suşlarının Ertapenem ve Diğer Karbapenemlere Karşı Duyarlılıklarının Araştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni. 2011; 45(1): 28-35
- Kepekçi P. İdrar kültürlerinden izole Edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarında Fosfomisin Trometamol Duyarlılığı. Uzmanlık Tezi. 2005
- Kfoury JNS, Araj GF. Recent development in B-lactamases and extended spektrum Blactamases. British Journal Medicine 2003;327:1209-13
- Kılıç SS. Linkozamidler. Güncel bilgiler ışığında Antibiyotikler. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (ed). Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye. 2008; 397-413
- Korenian M. 1999 .Synergy testing and antibiotic combinations: E test Practical Guide. Solna, Sweden : AB Biodisk,
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Shreckenberger PC, Winn WC. Antimicrobial susceptibility Testing.Color atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology In:. 6 th ed. JB Lippincott Company, Philadelphia : 2006
- Köksal İ. Sinerji Testleri : Laboratuvardan kliniğe yaklaşımlar Sinerji Sonuçlarının Klinikteki Yeri .Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Trabzon XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. 11 Kasım 2010 Girne
- Krogstad DJ, Moellering RC Jr. Antimicrobial Combination. In:Lorian V (ed). Antibiotics in Laboratory Medicine, 2. ed. William @ Wilkins, Baltimore, 1986; 537-595
- Küçükateş E, Kansız E, Gültekin N. Gram negatif bakterilerde isepamisin, amikasin ve gentamisine karşı direnç. İnfek Derg, 2007; 21(1): 21-5

- Leblebicioğlu H. Hastanede kazanılmış pnömonilerde uygun antibiyotik kullanımı. *Klinik Derg.* 2001;14(3):107-113
- Leblebicioğlu H. Parenteral sefalosporinler. Güncel bilgiler ışığında Antibiyotikler. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (ed). Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye, 2008; 285-295
- Livermore DM, Woodford N. Carbapenemases: a problem in waiting. *Curr Opin Microbiol* 2000;3: 489-95
- Livermore DM. The Need for New Antibiotics. 2004; 10 (Suppl. 4): 1-9
- Mandell L: Doripenem: a new carbapenem in the treatment of nosocomial infection, *Clin Infect Dis* 2009 ;49(Suppl 1):S1-3
- Milne K. E. N. ve Gould I. M. Combination testing of multidrug-resistant cystic fibrosis isolates of *Pseudomonas aeruginosa*: use of a new parameter, the susceptible breakpoint index. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 82–90
- Moellering RC, et al.:Beta- lactam /aminoglycoside combinations, *Am.J.Med.*, 1986. 80 Suppl.5C:30
- Mukherjee PK, Sheehan DJ, Hitchcock CA, Ghannoum MA. Combination treatment of invasive fungal infections, *Clinical Microbiology Reviews*, 2005;18, 1, 163-194
- Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Enterobacteriaceae. *Medical Microbiology*. 4th ed. Mosby. 2002; 326-330
- Mutlu G, Ögenç D. Mikroorganizmalarda Hücre Yapısı, Temel ve Klinik Mutlu, Mikrobiyoloji, Ustaçelebi Ş.(ed), Güneş Kitabevi, Ankara, Türkiye, 1999
- Mülazımoğlu L. Yeni kinolonlar, Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Kemoterapi Derneği. 1999;30 – 4
- Nataro JP, Bopp CA, Fields P I, Kaper JB, Strockbine NA. *Escherichia*, *Shigella* ve *Salmonella*. *Manual of clinical microbiology*. 2009; 670-677
- Neu HC, P Labthavikul. Comparative in vitro activity of N-formimidoyl thienamycin against gram positive and gram negative aerobic and anaerobic species and its beta-lactamase stability. *Antimicrob. Agents Chemother*. 1982; 21:180-187
- Neu HC. Carbapenems:special properties contributing to their activity. *Am.J.M.E.D.* 78 (Suppl.6A) 1985; 33-40

- Nworu CS , Esimone CO.Comparative evaluation of three in vitro techniques in the interaction of ampicilin and ciprofloksasin against *Staphylococcus* and *Escherichia coli*. Tropical journal of pharmaceutical research, december 2006;5 (2):605-611
- Oliphant CM, Green GG. Quinolones: A Comprehensive Review. American Family Physician. Volume 65, Number 3. 2002; 455-464
- Opal SM, Medeiros AA. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. Sixth edition, Pennsylvania: Elsevier Churchill Livingstone Inc, 2005:253-70
- Okaygün E , Kipritçi Ö , Akman A .Toplum ve hastane kayıtlı ürünler sistem enfeksiyonlarında etken mikroorganizmalar ve antibiyotik dirençleri. 2006; ANKEM Derg. 2006; 20-1 ;13
- Özgüven V, Dizer U. Antibakteriyel İlaçlar, Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M.(ed), Cilt 1, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Türkiye. 2002;192-214
- Öztürk R, Tabak F, Mert A, Aygün G, Sahin N, Acicbe Ö, Aktuğlu Y. Antibiyotikler ve Antimikrobiyal Profilaksi. enfeksiyon Hastalıkları. iç Hastalıkları. Ed: İlicin Biberoğlu, Süleymanlar Ünal. Güneş Kitabevi, 2. Baskı. 2003; s:2891-2893
- Öztürk R. Makrolidler, Linkozamidler, Streptogramin, Kloramfenikol ve Tetrasiklinler", Günümüzde Antimikrobik Tedavi, Yücel A, Tabak F, Öztürk R, Mert A.(ed), İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği, Yayın No:12, İstanbul,Türkiye, (1998) 65-76
- Öztürk R. Penisilinler, Antibiyotikler. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (ed), Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye. 2003; 223-238
- Park YJ. Aminoglycoside resistance in Gram-negative bacilli. Korean J Clin Microbiol. 2009; 12:57-61
- Parlak M. Tetrasiklinler. Güncel bilgiler ışığında Antibiyotikler, Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (ed), Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye. 2008;441-448

- Parsley TL, Provonchee RB. Synergistic activity of trimetoprim and amikacin against gram-negative bacilli. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. Sept.1977,p.349-352
- Patterson JE. Antibiotic utilization, is there an effect on antimicrobial resistance. *Chest* 2001;119:426-430
- Paterson DL, Depestel DD: Doripenem, *Clin Infect Dis* 2009;49(2):291-8
- Petri W. Quinolones. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11th ed. Ed: LL Brunton, JS Lazo, KL Parker. McGraw-Hill Companies. 2006; P:1119-1122
- Petersen PJ, Labthavikul P, Jones CH, Bradford PA. In Vitro Antibacterial Activities of Tigecycline in Combination with Other Antimicrobial Agents Determined by Checkerboard and Time-kill Kinetic Analysis, *J Antimicrob Chemother*.2006; 57: 573-576
- Pierce MA, Elliott AM, Cobbs CG. Cefotaxime aminoglycoside interactions, *Chemotherapy*. 1985; 31:336
- Reinert RR, Low DE, Rossi F, et al. Antimicrobial Susceptibility Among Organisms from the Asia/Pacific Rim, Europe and Latin and North America Collected as Part of TEST and the In Vitro Activity of Tigecycline, *J. Antimicrob Chemother*. 2007; 60: 1018-1029
- Sarı H. Karbapenemlere dirençli gram-negatif basil izolatlarında imipenem-EDTA / meropenem-EDTA disk yöntemi ve modifiye hodge testi ile metallo-beta-laktamaz varlığının araştırılması. Uzmanlık tezi, İstanbul .2005
- Satish K Pillai, Robert C Moellering Jr , George M Eliopoulos. Antibiotics In Laboratory Medicine.2005. Antimicrobial Combinations. 2005.365-440
- Sağlam D, Durmaz S, Kılıç H, Atalay MA, Erçal BD, Şarlı Ş, Perçin D. Kan kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında GSBL sıklığı ve direnç paternleri. *Ankem dergisi*. 2011;25(4):250-255
- Sturenburg E, Mack D. Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J Infect*.2003; 47(4):273-95
- Scholar EM, Pratt WB .The Fluoroquinolones. The Antimicrobial Drugs. 2th. Ed. Oxford University Press. 2000; p:257-279

- Shah PM. Parenteral carbapenems, Clin Microbiol Infect 2008;14(Suppl 1):175-80
- Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. Microbiol Rev. 1993. 57:138-163
- Somma S, Gastaldo L , Cordi A. Teicoplanin, a new antibiotic from Actinoplanes teichomyceticus nov. Sp.Antimicrob. Agents Chemother. 1984; 26:917-923
- Spratt BG, Jobanputra V, Zimmermann W. Susceptibility of anaerobic bacteria to trovafloxacin: comparison with other quinolones and non-quinolone antibiotics. Infect.Dis.Clin.Pract.5(suppl.3): 1997; 101-109
- Strohl AW, Rouse H, Fisher BD. Microbiology, Ang Ö. (Çeviri Editörü), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Türkiye .2006; 175-177
- Şahin İ, Şencan İ, Kaya D, Gülcan A, Öksüz Ş. Hastane infeksiyonu etkeni üropatojen *Escherichia coli* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç durumu. ANKEM Derg 2004;18(4):193-195
- Tabak F. Fusidik asit. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S (eds): Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler, 1. Baskı. s. 421, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara .2003
- Takanishi GC. Quinolone Antibiotics for UTI's. Women's health in primary care Vol.3, No.6. 2000; 409-410
- Tateda K, Ishii Y, Matsumoto T, Yamaguchi K. 'Break-point Checkerboard Plate' for screening of appropriate antibiotic combinations against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Scand J Infect Dis. 2006;38(4):268-72
- Te Dorsthorst DTA, Verweij PE, Meletiadis J, Bergervoet M, Punt NC, Meis JFGM , Mouton JW. *In vitro* interaction of flucytosine combined with amphotericin B or fluconazole against thirty-five yeast isolates determined by both the fractional inhibitory concentration index and the response surface approach, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46, 9, 2002; 2982-89
- Töreci K . *Escherichia* türleri. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi, Nobel tıp kitapları, 2002; 1564-1574
- Tunney MM , Eileen M. Scoot. Use of breakpoint combination sensitivity testing as a simple and convenient method to evaluate the combined effects of ceftazidime and tobramycin on *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* complex

- isolates in vitro. Journal of Microbiological Methods (2004) Volume: 57, Issue: 1, Pages: 107-114
- Türkyılmaz FR. Yeni kinolonlar, Modern Tıp Seminerleri 9, Güneş Kitabevi. 2000; 51-58
- Unat EK. *Escherichia coli*. Tıp bakteriyolojisi ve virolojisi, Dergah Tıp yayınları. 1986; 2. baskı, 546
- Vannuffel P, Cocito C. Mechanism of action of streptogramins and macrolids. 1996. Drugs 51(Suppl.I):20-30
- Williams JD, Sefton AM. Comparison of macroide antibiotics. J. Antimicrob. Chemother. 1993. 31(Suppl.C): 11-26
- Willke A. Aminoglikozitler. Güncel bilgiler ışığında Antibiyotikler. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (ed). Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara, Türkiye. 2008; 365-375
- Willke Topçu A. Aminoglikozidler. İçinde: Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Ed: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul. 2002; 1:214-223
- Yalçın AN. Makrolidler. Güncel bilgiler ışığında Antibiyotikler. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (ed), Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye. 2008; 377-386
- Yamazhan T. Sulfonamidler ve aminoglikozidler. Ankem Derg: 2007; 21(ek2):52-56
- Yıldız O. Güncel bilgiler ışığında Antibiyotikler. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. (ed). Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye .2008; 127-137
- Yılmaz FF. idrar Yolu Enfeksiyonlarından izole Edilen *Escherichia coli* Kökenlerinde Florokinolon Direncinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.2003
- Yüce A. Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. Klimik Dergisi. Cilt 14,Sayı:2, 2001; s:41-46
- Zarakolu P, Haşcelik G, Ünal S. Hastane Enfeksiyonu Etkeni Gram Negatif Bakterilerin Çeşitli Antimikrobiyal Ajanlara Karşı Duyarlılık Durumu. Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi MYSTIC Çalışması Verisi (2000-2004), *Mikrobiyol Bülteni*

