



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***PSEUDOMONAS AERUGINOSA* SUŞLARINA ETKİLİ BAZI  
ANTİBİYOTİK VE KOMBİNASYONLARININ , POLİMORF NÜVELİ  
LÖKOSİT (PNL) FONKSİYONLARI ÜZERİNE İN VİTRO ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

GÜLGEZ NESLİHAN TAŞKURT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof.Dr. Adile ÇEVİKBAŞ

İSTANBUL-2008

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda danışmanlığımı üstlenerek bana sürekli yol gösteren, sıcak ilgisini ve değerli fikirlerini esirgmeden sürekli yanımda olan hocam, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Adile Çevikbaş'a çalışmalarımdaya deneyimleriyle beni yönlendiren Yrd. Doç. Dr. Ümran Soyogul Güner'e, teşekkür ederim.

Çalışmalarımızı beraber yürüttüğümüz Biyolog Bilge Sümer'e her zaman yanımda olduğu, verdiği destek ve arkadaşlığı için teşekkür ederim.

Çalışmalarımdaya sürekli yanımda olan katkılarını hiç esirgemeyen sevgili arkadaşım Erkan Rayaman'a ve Pervin Rayaman'a teşekkür ederim.

Çalışmalarımın istatistiksel analizini yapan Doç. Dr. Nural Bekiroğlu'na teşekkür ederim.

Maddi ve manevi tüm desteklerinden dolayı aileme çok teşekkür ederim.

İlaç hammaddelerinin temininde yardımcı olan Biofarma İlaç San. Ltd. Şti, Mustafa Nevzat İlaç San. A.Ş, Bilim İlaç San. Ve Tic. A.Ş. ve İbrahim Ethem Ulagay İlaç San. Türk A.Ş ilaç firmalarına teşekkür ederim.

Çalışmamı destekleyen Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

	SAYFA
<b>ÖZET</b>	1
<b>SUMMARY</b>	2
<b>GİRİŞ ve AMAÇ</b>	4
<b>GENEL BİLGİLER</b>	8
1. Polimorf Nüveli Lökositler (PNL)	8
1.1. Nötrofiller	8
1.2. Eozinofiller	10
1.3. Bazofiller	11
2. Fagositoz	12
2.1. Oksijene Bağımlı Öldürme Mekanizması	13
2.2. Oksijene Bağımlı Olmayan Öldürme Mekanizması	14
3. <i>Candida albicans</i>	16
4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
5. Antipseudomonal Antibiyotikler	22
4.1. Seftazidim	22
4.2. Sefepim	23
4.3. Amikasin	25
4.4. Siprofloksasin	26

4.5. Tobramisin	27
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>31</b>
<b>1. GEREÇLER</b>	<b>31</b>
1.1. Sağlıklı Genç Gönüllüler	31
1.2. Mikroorganizma	31
1.3. Besiyeri	31
1.4. Çözeltiler	31
1.5. Tamponlar	32
1.6. Boyalar	32
1.7. Mc Farland Tüpleri	33
1.8. Kimyasal Maddeler	33
1.9. Antipseudomonal Antibiyotikler	33
1.10. Kullanılan Araçlar	34
<b>2. YÖNTEM</b>	<b>35</b>
2.1. Antipseudomonal Etkili Antibiyotiklerin Stok Çözeltilerinin Hazırlanması	35
2.2. Polimorf Nüveli Lökositlerin (PNL) Elde Edilmesi	36
2.3. Lökosit (PNL) Canlılık Deneyi	37
2.4. Fagositoz ve Hücre İçi Ölüm Deneyi	37
2.4.1. <i>C.albicans</i> Kökeninin Hazırlanması	37
2.4.2. <i>C.albicans</i> Opsonizasyonu	37
2.4.3. Antipseudomonal Antibiyotiklerin Tek Başına ve Kombinasyonlarının Sağlıklı Gençlerin PNL Fonksiyonları	

(Fagositik ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesi)Üzerine İn Vitro Etkisi	38
<b>BULGULAR</b>	40
2.3. Polimorf Nüveli Lökosit Canlılık Deneyi	40
2.4.3. Antipseudomonal Antibiyotiklerin Tek Başına ve Kombinasyonlarının Sağlıklı Gençlerin PNL Fonksiyonları (Fagositik ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesi)Üzerine İn Vitro Etkisi	41
<b>TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	47
<b>SONUÇ</b>	55
<b>KAYNAKLAR</b>	56
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	63
<b>EKLER</b>	
1. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurul Raporu	

## **KISALTMALAR ve SİMGELER**

- CI : Hücre içi öldürme aktivitesi  
EDTA : Etilendiamintetraasetik asit  
FI : Fagositik aktivite  
FTS : Fizyolojik tuzlu su  
HBSS : Hanks'ın dengeli tuz çözeltisi  
PBS : Fosfat tamponlu tuz çözeltisi  
PNL : Polimorf nüveli lökosit  
AMK : Amikasin  
CIP : Siprofloksasin  
CEF : Sefepim  
CTZ : Seftazidim  
TOB : Tobramisin

## ÖZET

Çalışmamızda antipseudomonal ilaçlardan sefepim (160µg/ml), seftazidim (130 µg/ml), tobramisin (8 µg/ml), amikasin (21µg/ml) ve siprofloksasinin (4,6 µg/ml) tek başına ve kombine kullanımlarının terapötik konsantrasyonlarının PNL fonksiyonları (fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesi) üzerine etkisi yaş ortalaması 25 olan sağlıklı gönüllülerde in vitro koşullarda araştırılmıştır.

PNL'ler ( $1 \times 10^7$  hücre /ml) EDTA'lı venöz kandan ficoll-hypaque gradient yöntemi ile ayrılmıştır. Fagositöz ve hücre içi öldürme aktivitesi tayininde Alexander ve arkadaşlarının (1968) yöntemi değiştirilerek kullanılmıştır.

Siprofloksasin (4,6 µg/ml), tobramisin (8 µg/ml), seftazidim (130 µg/ml), amikasin (21µg/ml) ve sefepim (160µg/ml)in tek başına PNL fonksiyonları üzerine etkisi araştırılmıştır. Sefepim (160 µg/ml) ve amikasin (21 µg/ml) fagositik ve hücre içi öldürme aktivitelerini değiştirmemiştir. Seftazidim (130 µg/ml), tobramisin (8 µg/ml), siprofloksasin (4,6 µg/ml) fagositik aktiviteyi anlamlı olarak artırmıştır ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,05$  ve  $p < 0,001$ ). Hücre içi öldürme aktivitesindeki artış anlamlı olarak bulunmamıştır.

Antipseudomonal ilaç kombinasyonları kontrolle karşılaştırıldığında amikasin + seftazidim (42 + 260 µg/ml) kombinasyonu hücre içi öldürme aktivitesini, amikasin + tobramisin (42 + 16 µg/ml) kombinasyonu fagositik aktiviteyi, anlamlı olarak artırmıştır ( $p < 0,05$ ). Amikasin + sefepim (42 + 320 µg/ml) kombinasyonu PNL fonksiyonlarını artırmamıştır. Siprofloksasin + sefepim (9,2 + 320 µg/ml), siprofloksasin + seftazidim (9,2 + 260 µg/ml), siprofloksasin + tobramisin (9,2 + 16 µg/ml) kombinasyonları fagositik aktiviteyi anlamsız olarak artırmıştır. ( $p > 0,05$ ) Bu kombinasyonlar PNL'lerin diğer fonksiyonlarını etkilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Antipseudomonal Antibiyotikler, Polimorf Nüveli Lökosit (PNL), Fagositik Aktivite, Hücre İçi Öldürme

## SUMMARY

### **Investigation of Effects of Some Antibiotics and Their Combinations on Polymorphonuclear Leucocyte Functions Which are Effective Against *Pseudomonas aeruginosa* Strains In Vitro**

In our study the effects of antipseudomonal drugs cefepime (160µg/ml), ceftazidime (130 µg/ml), tobramycin (8 µg/ml), amikacin (21 µg/ml) and ciprofloxacin (4,6 µg/ml) alone and amikacin+cefepime (42+320 µg/ml), amikacin+ceftazidime (42+260 µg/ml), amikacin+tobramycin (42+16µg/ml), ciprofloxacin+cefepime (9,2+320 µg/ml), ciprofloxacin+ceftazidime (9,2+260µg/ml) and ciprofloxacin+tobramycin (9,2+16 µg/ml) combinations at therapeutic doses on polymorphonuclear leucocyte (PMN) functions (phagocytosis and intracellular killing activity) of healthy volunteers whose average age was 25, were investigated in vitro.

PMN's  $1 \times 10^7$  cell/ml) were isolated by ficoll-hypaque gradient centrifugation method from venous blood with EDTA. Phagocytosis and intracellular killing activity were assayed by modifying Alexander's method (1968).

The effects of ciprofloxacin (4,6 µg/ml), tobramycin (8 µg/ml) and ceftazidime(130 µg/ml) alone on the PMN functions have been studied. Cefepime (160 µg/ml) and amikacin (21 µg/ml) did not change the PMN's phagocytic and intracellular killing activities statistically significant. Ceftazidime(130 µg/ml), tobramycin (8 µg/ml), ciprofloxacin (4,6 µg/ml) significantly increased the PMN's phagocytic activity.( $p < 0,05$ ,  $p < 0,05$ ,  $p < 0,001$ ) The increase in intracellular killing activity was not statistically significant.

When antipseudomonal drugs combinations were compared with the control, amikacin+ceftazidime(42+320 µg/ml) combination increased PMN's intracellular killing activity, amikacin+tobramycin (42+16 µg/ml) combination increased phagocytic activity significantly ( $p < 0,05$ ). Amikacin + cefepime (42 + 320 µg/ml) did not change

the PMN's function significantly. Ciprofloxacin+cefepime (9,2+320 µg/ml), ciprofloxacin+ceftazidime (9,2+260), ciprofloxacin+tobramycin (9,2+16 µg/ml) increased PMN's phagocytic activity insignificantly. ( $p>0,05$ ) These combinations did not affect the other PMN functions.

**Key Words:** Antipseudomonal Antibiotics, Polymorphonuclear Leucocyte (PMN), Phagocytic Activity, Intracellular Killing



## GİRİŞ VE AMAÇ

*P. aeruginosa*'nın neden olduğu infeksiyonlar genellikle hastane kaynaklıdır ve hastada herhangi bir doku hasarının bulunması, yanık, travma , cerrahi girişim, intravenöz ya da üriner kataterin kullanılmış olması , immün sistemi baskılayan ilaçların , antibiyotiklerin ya da radyasyon ile uzun süreli tedavinin uygulanmış olması kişiyi, *P. aeruginosa* infeksiyonlarına duyarlı hale getirmektedir. Hastanelerde sekonder bakteriyemilere neden olan başlıca mikroorganizmalardan biri olup, hastaların kataterizasyon, trakeostomi, cerrahi girişim geçirmiş olmaları, immün sistemlerinin baskılanmış olması bakteriyemi riskini artırmaktadır. Ayrıca bu tip hastalar kendi trakeal ya da intestinal floralarında taşıdıkları bakterilerle de endojen infeksiyonlara yakalanabilmektedirler.

Bugün bakterileri hedef alan biyolojik yanıt değiştirici ajan olarak kabul edilen antibiyotiklerin konağın immün sistem hücreleri ile olan olası etkileşimlerinin ve klinik etkilerinin anlaşılması fagositlerin ve immün düzenlemenin potansiyel terapötik değerini ön plana çıkarmaktadır.

Fagositlerin konak savunmasındaki yararlı rolleri ayrıntılı olarak bilinmektedir. PNL sayısında ve fonksiyonlarındaki eksiklikler , fatal potansiyele sahip bakteriler ve fungal infeksiyonların gelişimi için ciddi bir risk oluştururlar. Bugün ex vivo analizler ilaç-fagosit etkileşiminde terapötik konsantrasyondaki antibiyotiklerin kimyasal mediyatörler, sitokinler, hücre temasları, proteinler ve enzimler üzerine etki ederek biyolojik yanıtı değiştirdiğini göstermiştir.

Bugün tedavide herhangi bir antibiyotiğin immün düzenleyici profili, bu ilacın spesifik ve non-spesifik immün mediyatörler üzerindeki etkisini kapsıyor olsa da fagositin doğal ve edinsel savunma mekanizmaları ve homeostaz üzerindeki anahtar rolü nedeni ile PNL'ler immün düzenleme için önemli bir hedeftir.

Sefoksitin ve sefmetazolün çeşitli PNL fonksiyonları üzerinde benzer uyarıcı etkiler ve kemoatraktan aktivitesi gösterilmiştir . Sefaklor ve sefatamet fagositoz ve bakterisit aktiviteyi güçlendirmiş ve PNL'ler tarafından LTB<sub>4</sub> üretimini azaltmışlardır.

İkinci kuşak florokinolonlardan olan siprofloksasin, çeşitli infeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bugün bazı florokinolonların potansiyel immün uyarıcı (immünostimulan) özelliklerine yeni bir ilgi artışı vardır. Çeşitli hayvan modellerinde in vivo siprofloksasin tedavisinin letal dozda radyasyon alan, kemik iliği nakli yapılmış farelerde hematopoitik organları ve nötrofilleri hızla iyileştirdikleri gözlenmiştir.

S. Güner ve ark, kronik böbrek yetmezliği görülen hastalarda; Adalati ve ark, Hepatit B virüs infeksiyonlu hastalarda; siprofloksasinin PNL fonksiyonlarını kontrole göre artırdığını bildirmişlerdir (1).

Hastane infeksiyonu etkeni olarak *P. aeruginosa*'nın sıklıkla gözlenmesi ve antibiyotiklere dirençli suşlar geliştirmesi, bu mikroorganizma ile oluşan infeksiyonların tedavisini zorlaştırmaktadır.

Özellikle risk altında olan hastalarda *P. aeruginosa* infeksiyonları hızla geliştiğinden, başarılı sonuçlar , ancak uygun bir tedavi şekli, zamanında uygulandığında elde edilmektedir. Tedavide aminoglikozit grubu antibiyotiklerin önemli bir yeri olmasına rağmen en önemli ilerlemeler antipseudomonal aktiviteye sahip beta laktam grubu antibiyotiklerin ve kinolonların keşfedilmesiyle elde edilmiştir. Ancak tedavi sırasında direnç gelişiminin sıkça gözlenmesi, araştırmacıları alternatif tedavi rejimlerinin arayışına yöneltmiştir .

Tedavide antibiyotiklerin kombinasyon halinde kullanılması, araştırılan alternatif tedavi rejimlerinin başında yer almıştır. Antibiyotiklerin kombinasyon halinde kullanılmaları; sinerjist etkinin elde edilmesi, etki spektrumunun

genişletilmesi, bakterisidal etkinin artırılması ya da hızlandırılması, direnç gelişiminin önlenmesi ve antibiyotiklerin olası toksik yan etkilerinin azaltılması gibi olumlu sonuçların elde edilmesini sağlamaktadır.

Son yıllarda literatür ve Özbek B'in yaptığı çalışmalarda sefepim, sefpirom ve seftazidimin tek başına ve amikasin ve siprofloksasin ile kombinasyonlarının, kan kültürlerinden izole ettikleri 15 *P. aeruginosa* suşuna karşı in vitro etkileri araştırılmıştır. Araştırmacılar, suşlardan %95'nin amikasine %77'sinin sefepime, %68'nin sefpiroma, %59'nun seftazidime, %46'sının siprofloksasine duyarlı veya orta duyarlı olduğunu saptamışlardır. Amikasin içeren kombinasyonlarda sefepim, sefpirom ve seftazidimin sırası ile %80, %80, %93,3 oranında sinerjist etki ; %20, %20, %6,7 oranında additif etki saptamışlardır. Siprofloksasin ile yapılan kombinasyon çalışmalarında ise sırası ile %60, %40, %60 oranında sinerjist etki ; %40, %60, %40 oranında additif etki bulmuşlardır ve hiçbir kombinasyon ile antagonist etki saptamamışlardır (49).

Araştırmacıların bulguları ciddi *P. aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde antibiyotiklerin tek başlarına yetersiz kaldıklarında, uygun antibiyotik kombinasyonlarının seçiminin tedavide başarılı olacağını göstermektedir. Bu arada antibiyotik tedavisinin immün sistem hücre fonksiyonları üzerine etkilerinin bilinmesi de önemlidir.

*P.aeruginosa*'nın fagositoza ve antipseudomonal ilaçlara karşı gösterdiği direnç bazı durumlarda tedaviyi olumsuz yönde etkilemektedir. Uzun süre tedavi gören, immün sistemi zayıf olan *P.aeruginosa* ile infekte hastaların ; immün sistem hücreleri içerisinde önemli rolleri olan polimorf nüveli lökositler ; şüphesiz daha çok olumsuz yönde etkilenmektedir.

Ertaş Ö. sekonder antitüberküloz ilaçlardan tek başına amikasin, paraamino salisilik asit ve ofloksasinin terapötik konsantrasyonlarının sağlıklı PNL fonksiyonlarını anlamlı olarak artırdığını ; fakat bu ilaçların diğer antitüberküloz

ilaçlarla kombinasyonunun anlamsız da olsa PNL fonksiyonlarını azalttığını ve/ veya artırdığını göstermiştir (22).

Göçer P. , yaşlı ve genç PNL'lerde sefodizim+rifampisininin terapötik konsantrasyonuna erişen kombinasyonunda, sefodizimin rifampisininin etkisini olumlu yönde stimüle ettiğini göstermiştir (28).

Literatürde de bu konuda yapılan çalışmalarda :

Bilinçsiz antimikrobik ilaç kullanımının hastanın immün sisteminin uyarılması için gerekli sürenin oluşumunu engellediği bildirilmektedir. İmmün sistem üzerine olumsuz etkileri bildirilen antimikrobiklerin, hastanın immün sisteminin yetersizliği dikkate alınmadan tedavide bilinçsizce kullanımı belki de immün sistemin üstesinden gelebileceği enfeksiyona karşı hastayı tamamen savunmasız bırakabilir. İmmün sistemi güçlendirme ve düzeltme yeteneğini birarada bulunduran antibiyotik ve kombine kullanımlarının doğru seçimi, özellikle immün sistemi bozuk veya baskılanmış hastaların tedavisinde şüphesiz daha iyi bir klinik iyileşme sağlayacaktır. Aksi durumda immün sistemi olumsuz yönde etkileyen antibiyotik ve kombine kullanımları, immün sistemi bozuk veya baskılanmış hastalarda enfeksiyon tedavisini başarısız kılacak ve hastanın immün sistemini de daha da olumsuz yönde etkileyecektir.

Çalışmamızda ; son günlerde klinik hastalardan izole edilen *P.aeruginosa* suşlarına karşı duyarlılıkları tespit edilen antibiyotiklerin ( sefepim, tobramisin ve seftazidim) tek başına ve amikasin veya siprofloksasin ile kombine kullanımlarının sağlıklı insan PNL fonksiyonları (fagositoz ve hücre içi öldürme aktivitesi) üzerine etkilerini araştırmayı amaçlıyoruz. Sağlıklı PNL'ler üzerinde aldığımız sonuçları değerlendirip bir başka çalışma konumuzda da *P. aeruginosa* üzerine etkili olan bu ilaç kombinasyonlarının etkisini immünosupresif hasta PNL'lerinde de araştırmayı düşünüyoruz.

## GENEL BİLGİLER

### 1. Polimorf Nüveli Lökositler (PNL)

Polimorf nüveli lökositler çok loblu çekirdekli hücreler olup kemik iliğindeki pluripotent kök hücrelerden oluşmaktadır (48,60).

Granüositler toplam kan lökositlerinin %60-70'ini oluşturmaktadır. Monosit-makrofajlara kıyasla oldukça kısa ömürlü (2-3 gün) hücrelerdir. Granüositler boyanma özelliklerine göre üçe ayrılmaktadırlar. Bunlar, nötrofiller, eozinofiller ve bazofillerdir. PNL'ler antijen için özgüllük göstermezler, ancak antikor ve kompleman ile birlikte akut inflamasyonda mikroorganizmalara karşı korunmada önemli rol oynarlar. İnfeksiyonda sayıları artan PNL'lerin asıl görevi fagositozdur (48,3).

#### 1.1. Nötrofiller

Nötrofiller dolaşımdaki lökositlerin %60-70'ini ve granüositlerin %90'ını oluşturmaktadır. Çapları 10-20 µm olup çekirdekleri kromatin iplikçikleri ile bağlantılı iki veya daha çok lobdan oluşmaktadır. Çekirdekteki lob sayısı hücrenin yaşı ile ilgilidir. Genç hücreler lobsuz, ince uzun çekirdeklere sahipken, zamanla iki loblu ve çok loblu çekirdekler oluşur. Nötrofillerin kandaki ömrü 6-10 saat iken, dokuda 4-5 gün yaşayabilmektedirler (48,3,35).

Nötrofilleri sitoplazmik granülleri çeşitli enzimler içeren özel tip lizozomlardır. Bu sitoplazmik granüller iki çeşittir; 1) Azurofilik granüller (A granülleri, primer granüller) 2) Spesifik granüller (B granülleri, sekonder granüller) (46).

Her iki granülün çeşitli özellikleri birbirlerinden farklıdır. Azurofilik granüller, uygun boyalarla boyandıklarında daha koyu boyanmakta ve daha büyük görünmektedirler. Azurofilik granüller hücre içinde ilk önce sentezlendiklerinden dolayı bunlara primer granüller de denmektedir. Azurofilik granüller total granüllerin %20'sini oluştururlar. Bu granüllerde myeloperoksidaz, asit fosfataz, lizozim, hidrolaz, elastaz, kollegenaz bulunmaktadır.

Spesifik granüller ise boyalarla daha açık boyanan küçük granüllerdir. Bunlar daha sonra sentezlendiklerinden sekonder granüller olarak da adlandırılırlar. Spesifik granüller alkali fosfataz, lizozim, laktoferin ve kollegenaz içermektedir. Nötrofillerdeki azurofilik ve spesifik granüllerin esas işlevi yabancı organizma ve parçacıkları hücre içinde sindirmektir.

Nötrofiller IgG ( özellikle IgG 1 ve IgG 3) Fc parçası ile C3b için spesifik yüzey reseptörleri ve kemotaktik reseptörler taşırlar. Ayrıca çeşitli sitokinler için reseptörleri vardır. Sitoplazmalarında onlara ameboid hareket etme yeteneği kazandıran kontraktıl proteinler (aktin filamentleri) bulunur (38). Antibakteriyel enzimler taşırlar (21,48). Özellikle bakteriler olmak üzere, vücuda giren yabancı materyali fagosite edip, etkisiz hale getirirler. Küçük parçacıkları fagosite etmelerinden ötürü mikrofajlar olarak da adlandırılırlar (46). Kan içinde fonksiyon yapmazlar. Damar dışına aktif hareket ile çıktıktan ve doku içine geçtikten sonra aktif fonksiyonları görülür (50).

Mikroorganizma istilasına ilk cevap nötrofillerden gelir. Yuvarlak şekilli iken sitoplazmik pseudopodlarını uzatır, pseudopod katı partikülü kuşatarak içine alır. Pseudopod uçlarının birbiriyle kaynaşması sonucu yabancı madde bir membranla kuşatılı duruma geçer (fagozom). Fagozomun içi ekstraselüler sıvıyla doludur (50).

Azurofilik ve spesifik granüller fagozom membranına yapışır ve içeriklerini fagozom içine boşaltırlar. Böylece nötrofil sitoplazması granüllerde bulunan enzimlerin etkisinden korunur. Azurofilik granüldeki lizozomik enzimler bakteri duvarını harap eder. Spesifik granüllerdeki fagositinler işlev görür. Fagositoz olayı

sırasında peroksit oluşur. Nötrofil içinde bulunan myeloperoksidaz, peroksit ile birleşip bakteri duvarındaki tirozin molekülüne etki ederek parçalar. Fagositik aktiviteden sonra lizozomlar tükenir, lökosit ölür. Metabolik aktiviteleri oldukça fazladır. Hem aerobik hem de anaerobik glikolizis yapabilirler. Oksijen yokluğunda da fonksiyon yapabilmeleri büyük avantaj sağlar. Örneğin, bakteriyi öldürür ve nekrotik doku içindeki bakteri artıklarını temizlemeye yardım ederler (50).

## 1.2. Eozinofiller

Eozinofiller lökositlerin % 1-4'ünü oluşturmaktadır (46,21). Çapları 12-15 µm'dir. Kemik iliğindeki kök hücreden oluşurlar. Eozinofillerde endoplazmik retikulum, golgi aygıtı iyi gelişmemiştir ve mitokondri sayısı azdır.

Etrafları birim zarla çevrili olan granülleri vardır, bunlar kan boyaları ile parlak pembe renkte boyanırlar (46). Asit boya olan eozinle kırmızı boyanırlar (50). Eozinofil lökositlerin granülleri miyeloperoksidaz, asit fosfataz , katepsin, beta-glukuronidaz, fosfolipaz, histaminaz, RNaz içerirler. Elektron mikroskobu bu granüllerin, yapısal 2 unsurunun olduğunu gösterir. Granüllerin esasını matriks (eksternum) oluşturur. Matriks içinde, daha yoğun olan kristalloid (internum) yer alır. Hidrolitik enzimler, esas olarak matriksde bulunurlar. Kristalloid, miyeloperoksidaz içerir (46). Antibakteriyel enzim içermezler (21) .

Eozinofillerin de, ameboid hareket (46,21,50) ve fagositoz yetenekleri vardır. Ancak bu yönde nötrofiller kadar aktif değildirler (46) ve antijen ve antikorlardan çok her iki unsurun oluşturdukları kompleksleri fagosite ederler (46,50). Granül nötrofillerdeki gibi fagozom membranına yapışır. Fagositoz sonrası kristalin erimeden kalması ve matriks bölümünün kaybolduğunun görülmesi, matrikste lizozomal enzimlerin bulunduğunu gösterir (50).

Eozinofiller, kandan çıkıp çevre bağ dokusuna geçerler geçiş mast hücrelerinden salınan anafilaktik eozinofil kemotaktik faktör (ECF-A) etkisiyle olur (27,46).

Bu nedenledir ki bağ dokusunda, mast hücreleri çevresinde çok sayıda eozinofil ve lökositin varlığı gözlenir. Adrenokortikotropik hormon ve kortizol, eozinofillerin sayılarında azalmaya neden olur (46).

Allerjik reaksiyonlarda kanda eozinofil sayısı artar. Allerjik reaksiyonun başlıca mediatörleri lökotrien ve histamindir, olay yerine gelen eozinofil ise bunları parçalayan enzimleri salgılamaktadır. Son yıllarda eozinofillerin salgıladıkları maddelerle bazı parazitleri öldürdükleri ve bu nedenle paraziter hastalıklarda sayıca artıkları gösterilmiştir (50).

### **1.3. Bazofiller**

Bazofil lökositler, kandaki total lökositlerin % 0.5'ini oluştururlar. Ortala büyüklükleri 10-12µm arasında değişen bazofillerin nükleusları iki lopludur. Her iki nükleus lobunu birleştiren köprü kısa ve kalın olup, nükleus loplarının biri diğeri üzerine bir S harfi örneği kıvrılmıştır (46).

Sitoplazma çok sayıda granül içerir. Bu granüller, diğer granüosit lökositlerden daha büyük olup, daha çok sayıdadırlar ve kısmen nükleusu örterler (46). Şekil ve büyüklükleri değişiktir. Fakat genel olarak oldukça yoğun ve iri granüllerdir. Hematolojik tekniğe göre hazırlanıp asit ve bazik boya karışımları ile boyanmış kan yaymalarında bazofili gösterir, bazik boyalarla çoğu zaman metakromatik boyanırlar. Pozitif periyodik asit-Schiff (PAS) reaksiyonu verirler (21).

Sitoplazmik granüller, heparin, histamin, serotonin ve lökotrienleri içerirler. Lipid tabiatlı ve prostaglandinlerle ilgili bir maddenin bulunduğu da gösterilmiştir (46).

Bazofil lökositler, diğer granüositler gibi ameboid hareketleriye fagositoz yaparlar. Ancak bu yönde pek aktif değildirler (46).

## 2. FAGOSİTOZ

Bu terim, sözcük olarak "hücrenin yemesi" anlamına gelmektedir. Fagositoz amiplerde bile görülen, ökaryot hücrelerin ayırt edici özelliklerinden biri olup, mikroorganizmaların yutulup öldürüldüğü bir olaydır. Fagositoz hücre dışındaki maddelerin hücre zarının içe çökmesi ile hücre içine alınması şeklinde tanımlanır (48,60).

Vücudumuzdaki birçok hücre fagositoz yeteneğine sahiptir, ancak bu işlemle görevli başlıca hücreler nötrofiller ve monositlerden türeyen makrofajlardır .

Metchnikoff daha 1860 yıllarında fagositoz sisteminin özellikle bakteri infeksiyonlarına ( bu sistem temel olarak bakteriyel infeksiyonlara dirençte çok önemlidir ancak mantar, paraziter ajanların bığoğuna karşı da etkindir.) karşı dirençteki rolünü ve sistemin temel kurallarını belirlemiştir. Bu kurallara göre fagositer sistemin normal çalışması için;

- 1) Yeterli sayıdaki fagositik hücrenin kemik iliğinde yapımı,
- 2) Bu hücrelerin dolaşıma normal sayıda geçmeleri,
- 3) Fagositlerin uyarı alınca bakterinin (mikroorganizma) bulunduğu bölgeye doğru hızla hareketleri,
- 4) Fagositik hücre ile bakteri arasında ilişkinin kurulması veya diğeri bir deyişle fagositik hücrenin bakteriyi yakalamasının kolaylaştırılması (opsonizasyon)
- 5) Bakterinin fagositozu ( hücre içine alınması)
- 6) Granüllerin fagozoma boşalmaları
- 7) Değişik mekanizmalarla bakterinin öldürülmesi gerekmektedir (67).

Fagositoz birkaç morfolojik ve biyokimyasal basamaktan oluşan karmaşık bir işlemdir.

Dokuya bir patojen girdiğinde, kompleman sisteminde yer alan serum proteinlerinin salınması ile karakterize olan ve vazodilatasyonla takip edilen lokal bir inflamasyon reaksiyonu başlamaktadır. Kemotaksi fagositozun ilk basamağı olup PNL'lerin endotel boyunca , infeksiyon bölgesine göçü olarak tanımlanmaktadır. Kemotakside birçok biyolojik molekül kemotaktik faktör olarak rol almaktadır. Bu kemotaktik faktörler nötrofilleri uyarmaktadır. Bunlar; kompleman bileşenleri (C5a), araşidonik asit metabolitleri (LTB4), sitokin ve kemokinler (IL-8, NAP), trombosit aktivasyon faktörüdür (PAF).İnfeksiyon yerinde PNL'lerin patojenleri tanınması ve aderensi opsoninler aracılığı ile olmaktadır. Opsoninler, bakteri ve diğer partiküllerin fagositin sitoplazma zarına bağlanmasını kolaylaştırmaktadır (14,41).

Nötrofil tarafından fagosite edilecek olan patojen, nötrofiller tarafından çıkarılan yalancı ayaklar ile kuşatılmaktadır. Yalancı ayakların karşılıklı gelen uçları kaynaşır ve patojen, etrafı nötrofil hücre zarının oluşturduğu bir vakuolle çevrili halde sitoplazma içine alınır. Bu vakuole "fagozom" adı verilmektedir. Patojenin sitoplazma içine alınmasından hemen sonra spesifik granüller fagozom zarı ile kaynaşır ve enzimler fagozom içine boşalır. Buradaki pH 4'e kadar düşebilmektedir. Bu sindirici enzimler vakuol içindeki asit pH' da aktifleşmekte ve patojeni öldürerek sindirmektedir (35).

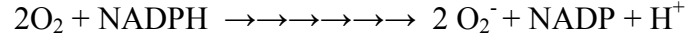
Nötrofillerin içindeki patojenler iki mekanizma ile ortadan kaldırılmaktadır. Bunlar:

## **2.1. Oksijene Bağımlı Öldürme Mekanizmaları**

Bu mekanizma, solunum patlaması sonucunda oluşan toksik moleküllerle olmaktadır. Fagositlerin hedef patojene aderensinden önce aşırı oksijen tüketimi olayına solunum patlaması denir (20).

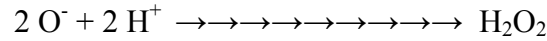
Oksijene bağımlı öldürme mekanizması nikotinamid dinikleotid fosfohidrojen (NADPH) oksidaz sisteminin aktivasyonuna bağlı olmakta ve bu sistem ile moleküler oksijen süperoksit anyonuna indirgenmektedir (20).

#### NADP Oksidaz



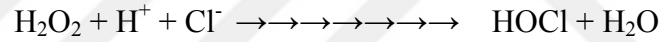
Hücre içindeki asidik ortamda, bu oksijen radikalinin % 80'i süperoksit dismutaz ile  $H_2O_2$ 'ye dönüştürülmektedir.

#### Süperoksit dismutaz



Halid varlığında azurofilik granüllerden myeloperoksidaz enzimi salınmakta ve  $H_2O_2$  daha kuvvetli bir bakterisidal ajan olan hipoklorik aside (HOCl) dönüşmekte ve mikroorganizma öldürülmektedir (42).

#### Myeloperoksidaz



## 2.2. Oksijene Bağımlı Olmayan Öldürme Mekanizmaları

Bu mekanizma, gastrointestinal yol ve vajinal mukoza gibi anaerobik ortamlardaki mikroorganizmaların öldürülmesinden sorumludur. Bu mekanizmada lizozim, laktoferin ve katyonik proteinler görev almaktadır .

Defensinler katyonik proteinler olup nötrofillerin azurofilik granüllerinin önemli bileşenlerindedir. Gram pozitif ve gram negatif bakterilere, mantarlara ve bazı zarflı virüslere karşı etkilidir. Aktiviteleri pH ve mikroorganizmaların büyüme fazına bağlıdır.

Bakterisit geçirgenlik artırıcı proteinler (BPI) yalnız nötrofillerde bulunur ve fonksiyonları enzimatik aktivite gerektirmemektedir. BPI toksinleri nötralize

edebilmekte ve bakteri hücre zarlarının geçirgenliğini artırarak mikrobisit etki göstermektedir ([www.els.net-güncelleme](http://www.els.net-güncelleme) 01.07.2003).

Nötral serin proteaz ailesi (NSP) azurofil granüllerin en önemli bileşenlerinden olup, bu ailenin elastaz, proteinaz 3, azurosidin ve katepsin G olmak üzere en az 4 üyesi bulunmaktadır. Elastaz ve katepsin G, patojenleri enzime bağlı ve enzime bağlı olmayan olmak üzere iki şekilde öldürmektedir .

Laktoferin nötrofillerin spesifik granüllerinde bulunan, demir bağlayabilen bir proteindir ve Fe <sup>+3</sup> için yüksek afiniteye sahiptir. Bakteri gelişimi için gerekli olan demiri bağladığından fagosite edilmiş olan mikroorganizmanın hücre içinde gelişmesine olanak vermemekte ve bakterinin lizozime olan geçirgenliğini artırmaktadır .

Lizozim nötrofillerde spesifik ve azurofil granüllerde yer almaktadır. N-asetil muramik asit ve N-asetil glukozamin arasındaki  $\beta$ -1,4 bağlarına bağlanabilen çok fonksiyonlu bir proteindir ([www.dent.ucla.edu/pic/members/neutrophils/neutrophils2.html-güncelleme](http://www.dent.ucla.edu/pic/members/neutrophils/neutrophils2.html-güncelleme) 20.12.2003) .

Bu mekanizmaların hepsinin bir arada bulunması genellikle mikroorganizmaların ölmesini sağlamaktadır. Ölü mikroorganizmalar daha sonra lizozomal enzimler ile sindirilmektedir. Ölmüş nötrofiller, mikroorganizmalar ve yarı yarıya sindirilmiş yapılar iltihaplı bölgede sarı renkli ve kıvamlı bir sıvının (cerahat) birikmesine neden olur (35).

### 3. *Candida albicans*

Kandida'lar Deuteromycota' da yer alan Blastomycetes sınıfının Criptococcales takımının Cryptococcaceae ailesinin üyeleridir. Candida cinsi içerisinde en sık karşılaşılan patojen tür *Candida albicans* (*C. albicans*)'tır (70) .

Sabouraud'un glikozlu agar besiyerinde, *C.albicans*'ın 2-3 günlük kolonileri (4-6x6-10 µm) krem renğinde, yuvarlak, gri-beyaz ve hafif pürüklü olarak görülmektedir (70,36).

Kandidalar adi besiyerlerinde ve özellikle sabouraud besiyerinde ürerler (45). Mısır unu-Tween 80 agarda 26 derecede 72 saat içinde yalancı hifler, yalancı hiflerin boğumları çevresinde kümeler yapan yuvarlak blastosporlar ve yalancı hif uçlarında kalın duvarlı, tek veya birkaç tane ve bu tür için tanı koydurucu olan klamidospore oluşturur ( 63).

İnsanda kandida infeksiyonlarının en az %90'ı *C. albicans* tarafından oluşturulur. İnsan ve hayvanlarda mukozalarda kommensal olarak bulunurlar. *C. albicans*'ın neden olduğu her türlü infeksiyon "Kandidamikoz" olarak tanımlanır (36). Şişmanlık, diabetes mellitus, geniş spektrumlu antimikrobiklerin, kortikosteroidlerin, immunosüpresif ve sitotoksik ilaçların kullanımı, vücut direncini kıran kronik hastalıklar, immün yetmezlik, uyuşturucu bağımlılığı, sürekli ven kateteri ve sonda kullanımı gibi kandidamikoz oluşumunu kolaylaştırıcı faktörler, yüzeysel (mukozal) ve derin kandidamikozlar oluşturmaktadır. Kandidaların normal florada bulunması nedeni ile infeksiyonların çoğu iç kaynaklıdır (endojen infeksiyon) (37) .

*C. albicans* diğer kandida türlerinden basit morfolojik testlerle ayrılmaktadır. Bunlardan birincisinde *C. albicans* serumda 37 °C'de 90 dakikada inkübe edildiğinde gerçek hif veya çimlenme borusu (germ tüp) meydana getirir. İkinci olarak besin bulunmayan ortamlarda *C. albicans* büyük küresel klamidospore meydana getirmektedir (8).

Kandidaların mukoza epitel ve endotel hücrelerine yapışması kolonizasyonun ilk aşamasıdır. *C. albicans*'ı bu cins içerisinde en sık karşılaşılan tür olarak öne çıkaran özelliklerden biri de mukoza yüzeylerine yapışma özelliğidir (8).

*C. albicans* kültürlerde tomurcuklanarak, oval maya hücreleri (Blastokonidiler) ve uzun mayamsı hücrelerden oluşan veya nadir de olsa gerçek bölmeli hifler halinde gelişebilen dimorfik bir mayadır. Hem gerçek hifler, hem de yalancı hifler mayamsı blastokonidi kümeleri üreterek maya şeklinde de gelişebilmektedir. *C. albicans*'ın gerçek fenotipini pH, sıcaklık ve besiyeri gibi ortam koşulları belirlemektedir (8).

Normal florada kommensal olarak bulunan kandidalar, lokal veya genel, immün sistemin zayıfladığı durumlarda hafif veya ağır sistemik infeksiyonlara neden olabilirler. En sık olarak mukozalar tutulurken, deri ve iç organlar nadiren tutulur (36).

AIDS, hamilelik, diyabet, yaşlılık, doğum kontrol haplarının kullanımı, yanıklar, progesteron hormonunun alınması, yoğun antibiyotik kullanımı, normal bakteri florasının baskılanmasına yol açarak kandida infeksiyonları için zemin hazırlamaktadır (8).

Kutanöz ve mukoz kandidiyazis, immün sistemi baskılanan kişilerde (AIDS, hamilelik, diyabet, yeni doğanlar ve yaşlılar) görülmektedir. Pamukçuk, dilde, dudak ve çenede meydana gelmekte ve birçok AIDS hastasında görülmektedir. Vajinal mukozada mayaların yayılması ile vulvovajinit oluşmaktadır. Bu durum genellikle hamileler ve diyabetli hastalarda görülmekte ve mikrobiyal floranın lokal asiditesini ve sekresyonunu değiştiren antibiyotiklerin kullanımı ile olmaktadır (8).

Nötrofiller, monositler ve eozinofiller *C. albicans* infeksiyonlarına karşı savunmada rol oynarlar. PNL'lerin savunmadaki rolü yalancı hiflere zarar vermek, blastosporları fagosite etmek ve öldürmektir. Monositlerin in vitro öldürme kapasitesi PNL'lerden daha etkilidir (48).

*C. albicans*'ın PNL'ler tarafından fagositozu, ısıya duyarlı ve ısıya dirençli serum opsoninleri ile artırılır. IgG ve diğer serum bileşikleri *C. albicans*'ı opsonize ederler. *C. albicans*'ın hücre içinde öldürülmesinden sorumlu en büyük mekanizma myeloperoksidaz , hidrojen peroksit ve süperoksit anyon sistemidir (48).

#### 4. *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonadaceae* ailesinde ki *Pseudomonas* cinsinde suda ve toprakta yaşayan, Gram negatif, nonfermentatif, aerobik basillerin bulunduğu çeşitli türler yer almaktadır. Doğada çok yaygın olan bu basiller organik materyalin tekrar düzenlenmesinde rol alırlar. Çoğu türler bitki ve hayvan için patojendir. *Pseudomonas* cinsinde en sıklıkla izole edilen insan patojeni, *P. aeruginosa*' dır. Özellikle savunma sistemi kırılmış bireyler için önemli bir fırsatçı patojendir (51).

*P. aeruginosa* sağlıklı ve normal insanda hemen nadiren hastalık oluşturur. Oysa özellikle hastane ortamında, bağışık yanıtı ve savunma sistemleri bozulmuş insanlarda , başka bir deyişle fırsat bulduğunda her sistem ve organda infeksiyon oluşturabilir :

##### Endokardit:

*P. aeruginosa* ilaç bağımlılarında doğal kapakta ve diğerlerinde protez kalp kapağında yerleşerek infektif endokardite neden olur. Kesin tanı pozitif kan kültürü ve cerrahi sırasında alınan kapak ya da endokardiyal örneğin histopatolojik incelenmesi ile konulur (59).

##### Pnömoni:

*P. aeruginosa* lokal respiratuvar veya sistemik konak savunma sisteminde bozukluk olan kişilerde akut, hayatı tehdit eden bakteremik veya non bakteremik pnömoniye sebep olur. Hastane ortamında özellikle de yoğun bakım biriminde

bulunmak, solunum cihazlarının kullanılması ve daha önce antibiyotik kullanmış olmak *P.aeruginosa* pnömonisi olma ihtimalini artırır. Hastane dışı pnömonilerinde ise altta yatan ciddi bir hastalık , kronik akciğer hastalığı predispozan faktörlerdir. Bakteriyemik pseudomonas pnömonisi kanser kemoterapisi alan nötropenik hastalar ve AİDS hastalarında görülür. Kan dolaşımı invazyonu ile deride ektima gangrenosumun pulmoner karşılığı olan lezyonlar görülür (59).

#### Bakteriyemi:

*Pseudomonas* cinsi bakteriler hematolojik malinite, immünglobulin eksikliği, hipokomplementemi, nötropeni, diabetes mellitus, organ transplantasyonu, ağır yanıklar, difüz dermatitler, ve AİDS predispozan faktörlerdir. Özellikle ektima gangrenozum tarzındaki tipik deri lezyonlarının görülmesi *P.aeruginosa* bakteriyemisi için ayırt ettiricidir (59).

#### Santral Sinir Sistemi İnfeksiyonları:

*P.aeruginosa* 'nın menejit ya da beyin absesine neden olması 3 yolla gerçekleşir:

1. Kulak mastoid veya paranasal sinus gibi bir kaynaktan komşuluk yolu ile,
2. Kafa travması , cerrahi, invaziv tanısal girişimler ile subaraknoid aralığa veya beyine direkt inokulasyon,
3. Üriner sistem, endokard, akciğer gibi uzak kaynaktan bakteremi sırasında *P.aeruginosa* kanserli hastalarda görülen menenjitin *Listeria monositogenes*'ten sonra ve beyin absesinin *E. coli* 'den sonra en sık ikinci nedeni olarak bildirilmektedir (59).

#### Kulak İnfeksiyonları:

*P.aeruginosa* normal kulakta nadiren bulunmasına rağmen yaralanma, maserasyon, inflamasyon ve nem varsa eksternal kulak yolunda sıklıkla yerleşir. Eksternal otit kendini sınırlayıcı, benign olup yüzmekle çok ilişkilidir. Malin eksternal otit ise ağırlıklı olarak yaşlı diyabetik kişilerde , kısmen de uzun süreli

küçük damar hastalığı olanlarda görülür. *P.aeruginosa* kronik süpüratif otitis media'lı çocuk ve yetişkinlerin orta ve dış kulak yolundan en sık izole edilen bakteriyel patojendir (64).

#### Göz İnfeksiyonları:

*P. aeruginosa* bakteriyel keratitin en sık nedenlerinden biridir. bunun dışında endoftalmit,oftalmia neonatarum, blefarokonjonktivit, skleral abse, ve orbital sellülite neden olmaktadır. Kontakt lens kullananlar, ağır yanıklı, komadaki, önceden göz radyasyonu almış olanlar, yoğun bakımda yatanlar ve AİDS hastaları *P. aeruginosa* keratitine aday hastalardır (59).

#### Kemik ve Eklem İnfeksiyonları:

Hematojen veya komşuluk yolu ile infeksiyon oluşur. Hematojen infeksiyonlar daha çok İV ilaç bağımlılarında üriner sistem veya pelvik infeksiyonu takiben gelişir. Komşuluk yolu ile görülen infeksiyonlar penetre edici bir travma , cerrahi girişim , yada yumuşak doku infeksiyonunu takiben gelişir (59).

#### Üriner Sistem İnfeksiyonları:

*P. aeruginosa* ile üriner sistem infeksiyonları çoğunlukla kateterizasyon, sonda veya cerrahi girişime bağlı olarak hastane kökenli ve iatrojeniktir. Üretradan komşulukla olabileceği gibi primer bir odaktan bakteremi ilede gelişebilir (59).

#### Gastrointestinal İnfeksiyonlar:

*P. aeruginosa* orofarenksten rektuma kadar bütün gastrointestinal sistemde infeksiyon yapabilir. En sık yenidoğanlarda ve hematolojik malinitesi olanlarda kemoterapiye sekonder nötropeni gelişen hastalarda ortaya çıkar (59).

### Deri ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları:

Yanık, travma, dekübit ülseri veya dermatit gibi bütünlüğü bozulmuş deride nemde varsa *pseudomonas* cinsi bakteri lezyonları deride gelişebilir. Ektima gangrenozum dışında subkutan nodüller, derin abseler, sellülit, veziküler ve püstüler lezyonlar , bül veya nekrotizan fasiit gelişebilir (59).

Hastane infeksiyonlarında antibiyotik tedavisi oldukça güç olup belirli kurallar dahilinde yapılması gerekmektedir. Kullanılan antibiyotiklere bağlı olarak farklı hastanelerde, hatta aynı hastanenin farklı servislerinde etken olan bakteri ve direnç paternleri değişiklik göstermektedir.

Tunçbilek ve ark (62) yaptığı bir çalışmada *P.aeruginosa*'nın imipenem duyarlılığı %91, amikasine %86, seftazidime %80, siprofloksasine %49 olarak bulunmuştur.

Ocak 1999-Aralık 1999 tarihleri arasında Şişil Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen yara, abse ve akıntı örneklerinden izole edilen *P.aeruginosa* suşları üzerine yapılan çalışmada; imipeneme %94, amikasine %74, seftazidime %48 ve siprofloksasine %77 oranında duyarlılık bulunmuştur (32).

## 5. Antipseudomonal Antibiyotikler

### 5.1. Seftazidim

Sefalosporinlerin ilk üyesi olan Sefalosporin C ilk kez 1944 yılında *Cephalosporium acremonium* isimli bir mantardan izole edilmiş, yapısı aydınlatıldıktan sonra sentezlenen ilk türevi olan sefalotinin 1964 yılında klinik kullanıma girmesiyle bunu yeni sefalosporin türevlerinin tedaviye girmesi izlemiştir. Sefalosporin yapısında yapılan değişikliklerle üretilen sefalosprin grubu antibiyotikler günümüzde dört gruba ayrılmaktadır (29,47).

Sefalosporinler beta laktam halkasına bağlı dihidrotiazin halkasından oluşan 7-amino-sefalosporanik asit (sefem) çekirdeğinden ve bu çekirdeğin 3 ve 7 numaralı karbon atomlarına bağlı farklı yan dallardan oluşmuşlardır (47).

Seftazidim üçüncü kuşak sefalosporinler arasında yer alan yarı sentetik bir antibiyotiktir. Sefem çekirdeğinin 3 numaralı karbon atomuna bağlı N-metil piridin grubu seftazidimin antipseudomonal aktivitesini artırırken, 7 numaralı karbon atomuna bağlı yan dalda bulunan aminotiyazol grubu penisilin bağlayan proteinlere olan ilgiyi ve periplazmaya girişi artırmaktadır (47).

Seftazidimin yapısında bulunan karboksipropil grubu Gram pozitif bakterilere karşı belirgin, *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakterilere karşı ise orta derecede bir etki azalmasına, *Pseudomonas aeruginosa*'ya olan aktivitesinde önemli bir artışa neden olmakta, diğer aminotiyazolil sefalosporinlere dirençli olan *Acinetobacter*, *Serratia* ve *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarına karşı ise etkili olmasını sağlamaktadır (47).

Seftazidimin en önemli özelliği *P. aeruginosa*'ya karşı önemli etkiye sahip ilk sefalosporin olmasıdır. Bu etki kendisinden sonra klinik kullanıma giren ve dördüncü kuşak sefalosporinler arasında yer alan sefepim ile aynı düzeyde olup, tek başına veya aminoglikozitlerle kombinasyon halinde immun sistemi baskılanmış hastalarda görülen *P. aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisindeki yerini korumasına neden olmaktadır.

*Pseudomonas aeruginosa* türlerinin neden olduğu infeksiyonlarda kullanılan terapötik doz günde 3 defa 2 gr.dır.

## 5.2. Sefepim

Dördüncü kuşak sefalosporinlerin ilk üyesi olan sefepim, sefem çekirdeğinin 3. konumunda pozitif yüklü katernize N-metilpirolidin substitüsyonuna ve 7. konumunda metoksiimil amino tiyazol substitüsyonuna sahiptir. Dördüncü kuşak sefalosporinler, üçüncü kuşak sefalosporinlerden farklı olarak, sahip oldukları pozitif yüklü katerner amonyum grubu ile, fizyolojik pH'da zwitter-iyonik özellik kazanmaktadır. Bu özellik Gram negatif bakterilerin dış membranına daha kolay geçmesine neden olmakta böylece kromozomal beta laktamazları üreten *Enterobacteriaceae* ailesindeki türlere ve *P. aeruginosa*'ya karşı aktivitenin artmasına olanak sağlamaktadır (31,42).

Gram pozitif bakterilere etkili olan sefepim streptokoklara ve metisiline duyarlı stafilokoklara karşı yüksek aktiviteye sahipken metisiline dirençli stafilokoklara, penisiline dirençli pnömokoklara, enterokoklara karşı etkisizdir. Sefepim geniş spektrumlu beta laktamazlara sahip olan *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakterilere karşı üçüncü kuşak sefalosporinlerden daha fazla etkilidir. *P. aeruginosa*'ya karşı seftazidime eşdeğer aktiviteye sahipken diğer *Pseudomonas* türlerine karşı seftazidimden daha az etkilidir (23).

Sefepim duyarlı mikroorganizmaların neden olduğu pnömoni, bronşit ve diğer alt solunum yolu infeksiyonları, piyelonefrit dahil komplike ve komplike olmayan idrar yolu infeksiyonları, deri ve yumuşak doku infeksiyonları, jinekolojik infeksiyonlar, peritonit, safra yolları infeksiyonları dahil intraabdominal infeksiyonlar, febril nötropeni ve sepsiste kullanılır.

Çok ciddi ve yaşamı tehdit eden *Pseudomonas aeruginosa* infeksiyonlarında uygulanan terapötik doz günde 3 defa 2 gr.dır.



### 5.3. Amikasin

İlk aminoglikozit grubu antibiyotik olan streptomisin 1944 yılında *Streptomyces griseus*'dan fermentasyon yolu ile elde edilmiş ve tüberküloz tedavisinde önemli bir gelişmenin başlangıcına neden olmuştur. Gram negatif bakterilerin etken olduğu infeksiyonların tedavisinde aminoglikozitlerin kullanılması ise ilk olarak 1957'de kanamisinin keşfedilmesiyle başlamış, daha sonra bunu etki spektrumları içerisinde *P. aeruginosa*'nın da dahil olduğu diğer aminoglikozitlerin elde edilmesi izlemiştir (11).

Bakterisidal etkili antibiyotikler olan aminoglikozitlerin etkilerini gösterebilmeleri için öncelikle hücrenin içi ile dış membran arasında bir konsantrasyon gradiyentinin oluşması gerekir. Aminoglikozitler ribozomların 30S alt birimlerindeki spesifik reseptörlerine dönüşümsüz bir şekilde bağlanarak, mRNA'nın şifreyi yanlış okumasına ve hatalı aminoasitlerin peptide girmesine neden olurlar. Bu şekilde işlevi olmayan peptit zincirlerinin sitoplazma zarında permeabilite değişikliğine yol açması sonucunda bakterinin ölümüne neden olurlar (11,62).

Amikasin anaerob bakterilere etkisizdir. *S. aureus* ve diğer stafilokoklara etkili iken, streptokoklar ve enterokoklar amikasinine genellikle dirençlidirler (48). Amikasin *Enterobacteriaceae*'deki cinslere ve *P. aeruginosa*'ya karşı gentamisine dirençli suşlar dahil olmak üzere yüksek aktivite gösterir. Bunun dışında *Brucella* cinsinden türler, *Yersinia pestis*, *Fransella tularensis* ve *H. influenzae* dahil olmak üzere genellikle aerob Gram negatif bakterilere etkilidir. Amikasin ayrıca *Mycoplasma* türlerine, *L. pneumophila* ve diğer aminoglikozitlerden farklı olarak *Mycobacterium fortuitum* ve *M. chelonae* suşlarına karşı da aktivite gösterir (11).

İdrar yolu infeksiyonları, septisemi, mide-barsak infeksiyonları, deri-yumuşak doku ve kemik infeksiyonları, pnömoni ve diğer solunum yolu infeksiyonları, post operatif infeksiyonlar ve peritonitte etkilidir. Yaşamı tehdit

eden ve/veya *Pseudomonas* infeksiyonlarında günde 3 defa 500 mg uygulanabilir. Maksimum günlük doz 1.5 g ve maksimum tedavi dozu 15 g'dır.

#### 5.4. Siprofloksasin

Sentetik antibiyotikler olan kinolonların ilk üyesi bir norflorin bileşik olan nalidiksik asittir. 1962 yılında kullanıma giren nalidiksik asidin yapısındaki modifikasyonlar ile ilk florokinolon olan norfloksasin geliştirilmiştir. 1980 yılında kullanıma giren siprofloksasin ile kinolonlar ilk kez idrar yolu infeksiyonlarının dışında da kullanılmaya başlanmıştır (7).

Siprofloksasinin yapısal formülünde 1-cyclo-propyl-6-fluro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-3-quinolone karbonik asit bulunmaktadır. Kinolonlar düşük konsantrasyonda DNA giraz sentezini inhibe ederek bakterisidal etki gösterirken, yüksek konsantrasyonda protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki göstermektedirler. Siprofloksasinin ayrıca bakteri hücre duvarının yapısını bozarak hücre içi materyalin dışarı çıkmasına sebep oldukları ileri sürülmüştür. İnsan hücrelerinin çekirdeğinde DNA'nın kıvrılmasında rol oynayan benzer bir enzim vardır, fakat insan DNA'sı süpersarmal hale sokulmadığından florokinolonlar da etkilerini selektif olarak bakteriler üzerinde gösterirler. Florokinolonlar, insan ve diğer gelişmiş organizmaların hücrelerinde belirgin bir toksik etki yaratmazlar (43,68,69).

Kinolonların antibakteriyel aktivitesi, bakteri hücrelerine penetrasyonu ve DNA girazi inhibe edici potansiyeli oranında artmakta ve kimyasal yapısında bulundurduğu substitüentlere bağlı olarak değişmektedir. Siprofloksasinin N-1 konumunda içerdiği siklopropil substitüenti ve piperazin halkası *P. aeruginosa*'ya karşı daha etkili olmasını sağlamaktadır. Ticari olarak mevcut kinolonlar arasında siprofloksasin, *Pseudomonas* ve birçok Gram negatif türlerine karşı en etkili ajandır. *Staphylococcus spp*, MRSA (metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*) , *H.influenzae*, *E.coli*, *Enterobacter*, *Neisseriae gonorrhoeae*, *Salmonella spp* , *Shigella spp*,

*Mycobacterium tuberculosis*, *Legionella spp*'ya karşı oldukça etkili bir antibiyotiktir (43,68).

Proteinlere %20-40 oranında bağlanmaktadır. Ağızdan alınan tek doz sonrası dağılım hacmi 2.48 – 5.93 L/kg arası değerlerde değişmektedir. Siprofloksasinin 500 mg'lık tek doz kullanımı sonrası serum pik değeri 1.5 ve 2.9 µg/ml olmaktadır. İdrar yolu infeksiyonları gonokok infeksiyonları, deri infeksiyonları, solunum yolu infeksiyonları, bakteriyemi, salmonellozis ve santral sinir sistemi infeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Dokulara oldukça iyi penetre olmakla birlikte böbrek ve prostattaki penetrasyonu çok iyidir.

İnfeksiyona göre değişmekle birlikte, günlük olarak önerilen siprofloksasin dozu günde 2 kez 200 mg.dır. (43,68). İnfeksiyon sebebi *Pseudomonas* olduğunda tedavi dozu günde 3 defa 400 mg.a çıkar.

## 5.5. Tobramisin

Aminoglikozit grubu içerisinde suyla çözünen bir antibiyotik olan tobramisin sülfat, *Streptomyces tenebrarius* 'tan 1967 yılında üretilmiş ve 1974 yılında kliniklerde kullanılmaya hazır hale getirilmiştir. Aminoglikozidlerin kimyasal yapısı 'aminosiklitol' halkasına iki veya daha fazla aminoşekerin glikozid bağıyla bağlanmasından oluşur. Aminoglikozidler arasındaki bireysel farklılık aminosiklitol halkaya bağlı aminoşekerlerin yapı ve sayısından kaynaklanmaktadır. Tobramisin sülfat 0-3-amino-3-deoksi-a-D- glukopiranozil- (1→ 4) -0-[2,6- diamino-2,3,6-trideoksi-a-D-ribo- hezopiranozil-(1→6)] -2-deoksi-L-streptamin, sülfat(2:5) (tuz)dır. (<http://64.233.169.104/search?q=cache:6UON4KtfcgYJ:www.ctf.istanbul.edu.tr/stek/pdfs/31/3101YA.pdf+tobramisin+yap%C4%B1&hl=tr&ct=clnk&cd=22&gl=tr> )

Tobramisin intramüsküler uygulamadan sonra hızla absorbe edilir. Serum pik konsantrasyonu intramüsküler uygulamadan 30-90 dakika sonra oluşur. Vücut ağırlığının kg.'ı başına 1 mg'lık intramüsküler uygulamadan sonra maksimum serum konsantrasyonu 4 µg/ml 'ye ulaşır. Terapötik serum konsantrasyonu 4-6 µg/ml olarak

kabul edilir. Bir saatlik periyottan sonra tobramisin intravenöz ve intramüsküler infüzyon uygulamasının serum konsantrasyon değerleri birbirine benzerdir. Tobramisin gastrointestinal yolda çok az absorbe edilir. Parenteral uygulamadan sonra ; metabolik transformasyon gerçekleşir ve tobramisin glomerular filtrasyonla elimine edilir.

Tobramisin parenteral uygulamadan sonra dokulara ve vücut sıvılarında saptanabilir.

Tobramisin bakteri hücrelerinin protein sentezini inhibe eder. Hem in vitro çalışmalarda hem de klinik infeksiyonlarda bir çok suşa karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Aminoglikozitler Gram pozitif bakterilerin çoğuna karşı düşük bir aktiviteye sahiptir:

Aerop Gram pozitif mikroorganizma : *Stapylococcus aureus*.

Aerop Gram negatif mikroorganizmalar : *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter* türleri, *Enterobacter* türleri, *Klebsiella* türleri, *Serratia* türleri, *Providencia* türleri, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Morganella morganii*

Tobramisin duyarlı suşların neden olduğu ciddi bakteriyel infeksiyonların tedavisinde kullanılır :

- 1) Çocuk ve yetişkinlerde *P. aeruginosa* , *E.coli* ve *Klebsiella spp* 'nin neden olduğu septisemiler.
- 2) *P. aeruginosa*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *E. coli* ve *S. aureus* (penisilinaz ve non- penisilinaz üreten suşlar)'un neden olduğu alt solunum yolu infeksiyonları
- 3) Duyarlı mikroorganizmaların neden olduğu ciddi merkezi sinir sistemi infeksiyonları (menenjit)
- 4) *E.coli*, *Klebsiella spp* ve *Enterobacter spp*'nin neden olduğu intra-abdominal infeksiyonlar (peritonit dahil)

- 5) *P. aeruginosa*, *Proteus spp*, *E.coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp* ve *S. aureus*'un neden olduğu deri ve kemik infeksiyonları
- 6) *P. aeruginosa*, *Proteus spp* (indol pozitif ve indol negatif), *E.coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *S. aureus*, *Providencia spp* ve *Citrobacter spp*'nin neden olduğu komplike ve tekrarlayan üriner sistem infeksiyonları.

Tobramisin intravenöz veya intramüsküler olarak uygulanabilir. Tavsiye edilen dozlar her iki uygulama için de aynıdır.

- Normal renal fonksiyonlu yetişkin hastaların ciddi infeksiyonlarında : 3 mg/kg/gün her 8 saatte bir 3 eşit doz
- Yetişkinler/ yaşamı tehdit eden infeksiyonlarda : 3 veya 4 eşit dozda 5 mg/kg/gün' e kadar çıkarılabilir. Bu dozaj en kısa zamanda 3 mg/kg/gün'e düşürülmeli ve toksisiteyi engellemek amacıyla, serum seviyeleri monitörize edilmeden 5 mg/kg/gün'e çıkarılmamalıdır.
- Çocuk hastalarda: 3 ya da 4 eşit dozda 6-7.5 mg/kg/gün
- Prematüre ya da bir haftadan daha küçük yenidoğanlarda her 12 sa.te bir 2 eşit dozda 4 mg/kg/gün'e kadar.

Tedavi süresinin kısa olması önerilir. Genellikle tedavi süresi 7-10 gündür. 10 günden daha uzun süren tedavilerde nörotoksisite görülebilir.

(<http://64.233.169.104/search?q=cache:6UON4KtfcgYJ:www.ctf.istanbul.edu.tr/stek/pdfs/31/3101YA.pdf+tobramisin+yap%C4%B1&hl=tr&ct=clnk&cd=22&gl=tr> )

Yağlı dokulara hiç giremedikleri için şişman hastalarda doz hesabı, yağsız vücut ağırlığına göre yapılır.

Son yıllarda aminoglikozidlerin tek doz kullanımı ile ilgili çalışmalarda, bu antibiyotiklerin günlük total dozunun tek defada yavaş infüzyonla verilmesinin hem yan etkileri azalttığı, hem de bakterisidal etkiyi artırdığına dair veriler elde edilmiştir. Bu uygulamada günlük toplam doz 24 saatte tek doz olarak uygulanmaktadır. Klinik çalışmalarda bu uygulamanın böbrek fonksiyonları normal olan hastalarda aminoglikozidlerin serum düzeyinin izlenmesine gerek bırakmadığı gösterilmiştir.

Ancak tek doz uygulamanın rutin kullanıma girmesi için daha geniş klinik çalışmalara gereksinim vardır (<http://www.infeksiyon.org/Detail.asp?ctg=12&Article=220> ) .

Aminoglikozidlerin en önemli yan etkileri; nefrotoksisite, ototoksisite ve nörotoksik yan etkilerdir. Aminoglikozidler irreversible vestibulotoksik ve kohleatoksiktir. Uygulanan ilaç miktarı ne kadar fazla ise ve tedavi süresi ne kadar uzun ise ototoksisite olasılığı o kadar fazladır. Vestibuler toksisite gelişen hastalarda önce baş ağrısı, sonra kulak çınlaması, vertigo, nistagmus ve ataksi gelişir. İşitme kaybı ise önce yüksek frekanslı seslere karşı gelişir, sonra tam sağırılığa kadar gidebilir. Ayrıca aminoglikozid kullanan hastalarda % 8-26 oranında hafif veya orta şiddette böbrek yetmezliği gelişir (<http://www.infeksiyon.org/Detail.asp?ctg=12&Article=220> )

Tobramisin kullanımı sırasında nadir de olsa anafilaksi gibi ciddi alerjik reaksiyonlar ve exfoliative dermatitis, toksik epidermal nekrolizis, erythema multiforme ve Stevens-Johnson Sendrom gibi dermatolojik reaksiyonlar rapor edilmiştir. Alerjik reaksiyon oluştuğunda, ilaç kesilmelidir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### 1. GEREÇLER

#### 1.1 Sağlıklı Genç Gönüllüler

Çalışmamıza 20-30 yaş arası 20 sağlıklı gönüllü katılmıştır. Gönüllülerden 10 ml kan alınmıştır. Deneylerimizde gönüllülerin periferik kanlarından elde edilen polimorf nüveli lökositler (PNL) kullanılmıştır. Çalışma için gerekli olan Etik Kurul Raporu 'Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu' tarafından verilmiştir (Ek1).

#### 1.2 Mikroorganizma

*Candida albicans* ATCC (10231) standart kökeni kullanılmıştır.

#### 1.3 Besiyerleri

Katı besiyeri: Sabouraud Dekstroz Agar (Difco)

Sıvı besiyeri: Sabouraud Daztroz Broth (Difco)

İnsan serumu

#### 1.4 Çözeltiler

%0,9 NaCl

%1 BaCl<sub>2</sub> . H<sub>2</sub>O

%1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

0,1 g/ml. EDTA

## 1.5 Tamponlar

### 0,1 M Fosfat Tamponlu Tuzlu Su (PBS) (pH=7,2)

NaCl.....	8 g
KCl.....	0,2 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1,15 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0,4 g
Distile Su.....	1000 ml

### Hanks'ın Dengeli Tuz Çözeltisi (HBSS) (pH=7,4)

NaCl.....	8 g
KCl.....	0,4 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,048 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0,06 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O.....	0,1 g
NaHCO <sub>3</sub> .....	0,35 g
Glikoz.....	1 g
Fenol Kırmızısı.....	17 g
Distile Su.....	1000 ml

## 1.6 Boyalar

Metilen Mavisi (%0,1) (Sigma)

Tripan Mavisi (%0,5) (Sigma)

## **1.7 Mc Farland Tüpleri**

Standart bulanıklık elde etmek için laboratuvarımızda hazırlanan Mc Farland 1 standart tüpü esas alınmış olup; 0,1 ml %1 BaCl<sub>2</sub> 'e 9,9 ml %1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edilerek hazırlanmıştır (6).

## **1.8 Kimyasal Maddeler**

Ficoll-Hypaque (Sigma)

Polymorphoprep (Nycomed)

## **1.9 Antipseudomonal Antibiyotikler**

Seftazidim (Mustafa Nevzat İlaç San. A.Ş.)

Sefepim (İbrahim Ethem Ulagay İlaç San. Türk A.Ş.)

Amikasin (İbrahim Ethem Ulagay İlaç San. Türk A.Ş.)

Siprofloksasin (Biofarma İlaç San. Ltd. Şti.)

Tobramisin (Bilim İlaç San. Ve Tic. A.Ş.)

## 1.10 Kullanılan Araç ve Aygıtlar

Kaba terazi (0,1 g Metter)  
Hassas terazi(0,001 g Bosch)  
Etüv (EN 500 Nüve)  
Pastör fırını(Electro-Mag)  
Otoklav (Nüve)  
Mikroskop (Olympus BH)  
Fotoğraf makinası (Olympus PM-C35DX)  
Otomatik pipetler (5-50 mikrolitre ve 100-1000 mikrolitre) (Scoreks)  
Cam pipetler (2, 5, 10, 25 ml) (Prescicolor)  
Pastör pipeti (Marienfeld)  
Otomatik pipet uçları (sarı-mavi)  
Steril membran filtre (0,22-0,45  $\mu\text{m}$ ) (Millipore)  
pH metre (Orion)  
pH indikatörü (0-14) (Merck)  
Thoma lamı (Labart)  
Enjektör (2.5, 5, 10 ml) (Becton Dickinson)  
Silikon kaplı deney tüpleri (Becton Dickinson)  
Petri kutuları (Anumbra)  
Santrifüj (Nüve 815)  
Karıştırıcı (Kermanlar)  
Buzdolabı (Arçelik AR 5034)  
Derin dondurucu (Uğur)  
Çalkalayıcılı inkübatör (Heildolph)  
Su banyosu (Nüve ST 402)

## 2 YÖNTEM

Çalışmamızda Alexander ve ark. Nötrofil fonksiyonlarını değerlendirme yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır (5). Modifiye edilmiş yöntemimizde dextran yerine ficoll, *Staphylococcus aureus* yerine *Candida albicans* kullanılmıştır.

### 2.1. Antipseudomonal Etkili Antibiyotiklerin Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

Çalışmamızda kullandığımız antibiyotiklerin aşağıda belirtilen tedavi dozlarının plazmada ulaştığı konsantrasyonlar kullanılmıştır. Sefepimin 160µg/ml, seftazidimin 130 µg/ml, tobramisinin 8 µg/ml, amikasinin 21µg/ml ve siprofloksasinin 4,6 µg/ml konsantrasyonları kullanılmıştır.

Çalışmamızda kullanılan antibiyotiklerin ana stokları, her biri için deney tüplerine konulan çözelti miktarlarında serum konsantrasyonları olacak şekilde, aşağıdaki formüle göre hesaplanıp uygun çözücüler içinde hazırlanmıştır. Hazırlanan ilaçlar deney tüplerine dağıtılarak , derin dondurucuda -70 °C'de saklanmıştır.

$$\text{Tartılacak antibiyotik miktarı (mg)} = \frac{\text{Çözücünün hacmi(ml)} \times \text{İstenen Konsantrasyon (µg/ ml)}}{\text{Antibiyotiğin aktivitesi (µg/ mg)}}$$

Deneylerimizde kullandığımız antibiyotiklerin çözücülerini, serum konsantrasyonları, potensleri ve tartılan antibiyotik hammadde miktarları Tablo 1 'de verilmiştir.

**Tablo 1 :** Kullanılan ilaçların çözücüleri, serum konsantrasyonları, potensleri ve tartılan ilaç hammadde miktarları

<b>İLAÇ</b>	<b>ÇÖZÜCÜ</b>	<b>SERUM KONSANTRASYONU (µg/ml)</b>	<b>POTENS (µg/ml)</b>	<b>TARTILAN MİKTAR (gr)</b>
Sefepim	Damıtık Su	160	521	0,6142
Seftazidim	Sodyum Karbonat	130	991	0,2624
Tobramisin	Damıtık Su	8	992	0,0161
Amikasin	Damıtık Su	21	725	0,1160
Siprofloksasin	Damıtık Su	4,6	996	0,0093

## **2.2 Polimorf Nüveli Lökositler (PNL)'in Elde Edilmesi**

Sağlıklı genç gönüllülerden alınan 10 ml. venöz kan, içinde 0,1 g/ml Etilen Diamid Tetra Asetik Asit (EDTA) bulunan silikonlu tüplere alınıp, 2500 rpm.de 30 dakika çevrilmiştir. İşlem sonrasında tüpün dibine çöken eritrositler ile plazma arasında oluşan sarımsı beyaz renkli tabaka (buffy coat) pastör pipeti ile alınmıştır. Bu tabaka içinde 2,5 ml. Ficoll-hypaque ve 2,5 ml. Polymorphoprep bulunan tüpe konularak ve 3000 rpm.de çevrilmiştir. İşlem sonunda tüpün dibine çöken eritrositler ile üstteki monosit tabakasının arasında kalan PNL'ler pastör pipeti ile bir tüpe alınarak 2000 rpm.de buz soğukluğundaki PBS ile 3 kez yıkanmıştır. Son aşamada PNL'ler  $Ca^{++}$  ve  $Mg^{++}$  iyonu içermeyen HBSS ile  $1 \times 10^7$  hücre/ml olacak şekilde süspansiyon haline getirilmiştir (18,33,56). PNL sayımı Thoma lamında yapılmıştır.

### 2.3 Lökosit (PNL) Canlılık Testi

PNL'ler %0,9 NaCl içinde hazırlanmış Tripan mavisi (%0,5) ile 1 :1 oranında karıştırılarak oda ısısında bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda mikroskopta mavi boyanmayan (canlı) hücreler sayılmıştır (18,53).

### 2.4 Fagositoz ve Hücre İçi Ölüm Deneyi

#### 2.4.1 *Candida albicans* Kökeninin Hazırlanması

PNL fonksiyonları (fagositoz ve hücre içi öldürme aktivitesi) nı sağlamak için ışık mikroskopunda boyalı ve boyasız görünümleri iyi izlenen *C.albicans* suşu kullanılmıştır.

*C.albicans* suşu (ATCC 10231) sıvı dekstroz broth besiyerine (SDB) pasajı yapılarak 37 °C'de 18 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda SDB besiyerine *C.albicans* kültüründen pasaj alınmış ve kültür 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Daha sonra maya hücreleri 2000 rpm.de 10 dakika çevrilerek 2 kez fizyolojik tuzlu su (FTS) ile yıkanmıştır. Maya hücrelerinin canlılığı metilen mavisi boyama yöntemiyle saptanmıştır. (54) Maya hücrelerinin sayısı HBSS içinde hücre sayısı  $1 \times 10^7$  maya/ml olacak şekilde Mc Farland 1'e ayarlanmıştır.

#### 2.4.2 *Candida albicans* Opsonizasyonu

Mc Farland 1 standartına göre ayarlanan maya süspansiyonundan 1,5 ml. alınarak üzerine 0,5 ml steril taze insan serumu ilave edilmiş 37 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir (53).

### 2.4.3. Antipseudomonal Antibiyotiklerin Tek Başına ve Kombinasyonlarının Sağlıklı Gençlerin PNL Fonksiyonları (Fagositik ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesi) Üzerine İn Vitro Etkisi

Çalışmamızda antipseudomonal antibiyotiklerin (seftazidim, sefepim, amikasin, siprofloksasin ve tobramisin) tek başına ve bu antibiyotiklerin P.aeruginosa üzerine etkili altı kombinasyonunun ( seftazidim+amikasin, sefepim+amikasin, tobramisin+amikasin, seftazidim+siprofloksasin , sefepim+siprofloksasin, tobramisin+siprofloksasin) PNL fonksiyonları üzerine etkisi araştırılmıştır.

CEF (160µg/ml), CTZ(130 µg/ml), TOB (8 µg/ml), AMK (21µg/ml) ve CIP (4,6 µg/ml) ve AMK+CEF (42 + 320µg/ml), AMK+CTZ ( 42+260 µg/ml), AMK+TOB ( 42+16 µg/ml), CIP+CEF ( 9,2+320 µg/ml), CIP+CTZ (9,2 +260 µg/ml), CIP + TOB ( 9,2+16 µg/ml) kombinasyonlarının sağlıklı gençlerin (n=20) PNL fonksiyonları üzerine in vitro etkisi 13 seri tüpte araştırılmıştır.

Yukarıda belirtilen 13 seri deney tüpüne opsonize maya hücresi ilave edilmeden tüpler çalkalayıcı etüvde 37 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir (Tablo 2). İnkübasyon sonunda tüplerin üzerine 400 µL opsonize maya hücresi ( $1 \times 10^7$  hücre/ml) konulmuş ve aynı ortamda 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Karışımın son hücre yoğunluğu  $5 \times 10^6$  PNL /ml ve  $5 \times 10^6$  maya /ml olmuştur. İnkübasyonun 25. dakikasında ölü maya hücrelerinin boyanması için bu karışıma Metilen mavisi (%0,01) eklenmiştir. İnkübasyonun 30. dakikasının sonunda her bir tüpten lam-lamel arası preparat hazırlanmış 100 adet PNL içinde fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesini gösteren PNL' ler mikroskop altında (x40) sayılarak % cinsinden ifade edilmiştir. Fagositik aktivite tayininde; 100 adet PNL içinde canlı (boya almayan) maya hücrelerini fagosite etmiş olan PNL'ler sayılmış, hücre içi öldürme aktivitesi tayininde ise; 100 adet PNL içinde, PNL'ler tarafından öldürülen maya hücrelerini içeren PNL'ler sayılarak, % cinsinden ifade edilmiştir (18,33).

**Tablo 2: Deneş serilerinin hazırlanması**

SERİLE R (Deneş Tüpleri)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
HÜCR ELE R (PNL)	(300 µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hücr e/ml	(30 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	(30 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	(30 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	(30 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	(30 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	(30 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	(30 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	(30 0µl) 1x10 <sup>7</sup> 0 <sup>7</sup> hücr e/ml	(300 µl) 1x10 <sup>7</sup> 0 <sup>7</sup> hücr e/ml	(30 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	(30 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	(30 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml
İLAÇ	Kontrol 1 (300 µl)	CE F (30 0 µl)	CT Z (30 0 µl)	TO B (30 0 µl)	AM K (30 0 µl)	CIP (30 0 µl)	Kontrol 2 (30 0 µl)	AM K + CE F (30 0 µl)	AM K + CTZ (300 µl)	AM K + TOB (300 µl)	CIP + CE F (30 0 µl)	CIP + CT Z (30 0 µl)	CIP + TO B (30 0 µl)
MA YA	C.al bica ns (400 µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hücr e/ml	C.al bica ns (40 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	C.al bica ns (40 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	C.al bica ns (40 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	C.al bica ns (40 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	C.al bica ns (40 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	C.al bica ns (40 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	C.al bica ns (40 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	C.alb icans (400 µl) 1x10 <sup>7</sup> 0 <sup>7</sup> hücr e/ml	C.alb icans (400 µl) 1x10 <sup>7</sup> 0 <sup>7</sup> hücr e/ml	C.al bica ns (40 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	C.al bica ns (40 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml	C.al bica ns (40 0µl) 1x1 0 <sup>7</sup> hüc re/ml

## BULGULAR

### 2.3.Polimorf Nüveli Lökosit Canlılık Deneyi

Sağlıklı genç gönüllülerin kanından ayrılan PNL'lerin canlılık oranı %98 bulunmuştur.



**Resim 1:** Sağlıklı gençlerden elde edilen PNL'ler tarafından *C. albicans*'ın fagositozu ve hücre içinde ölümü (ışık mikroskobu x100 büyütme)

- 1) Sağlıklı genç PNL'leri
- 2) Sağlıklı genç PNL'leri tarafından *C. albicans*'ın hücre içinde ölümü (ölü maya hücreleri metilen mavisiyle mavi boyanmış)
- 3) Sağlıklı genç PNL'leri tarafından *C. albicans*'ın fagositozu

### 2.4.3. Antipseudomonal Antibiyotiklerin Tek Başına ve Kombinasyonlarının Sağlıklı Gençlerin PNL Fonksiyonları (Fagositik ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesi) Üzerine İn Vitro Etkisi

Çalışmamızda tek başına seftazidim (130 µg/ml), tobramisin (8 µg/ml), siprofloksasin (4,6 µg/ml) sağlıklı gençlerin PNL'lerinin fagositik aktivitesini kontrole göre sırası ile anlamlı olarak ( $p<0,05$ ,  $p<0,05$ ,  $p<0,001$ ) artırmıştır. Tek başına sefepim (160 µg/ml) ve amikasin (21 µg/ml) PNL'lerin fagositik aktivitesini anlamlı olarak artırmamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 3) (Şekil 1).

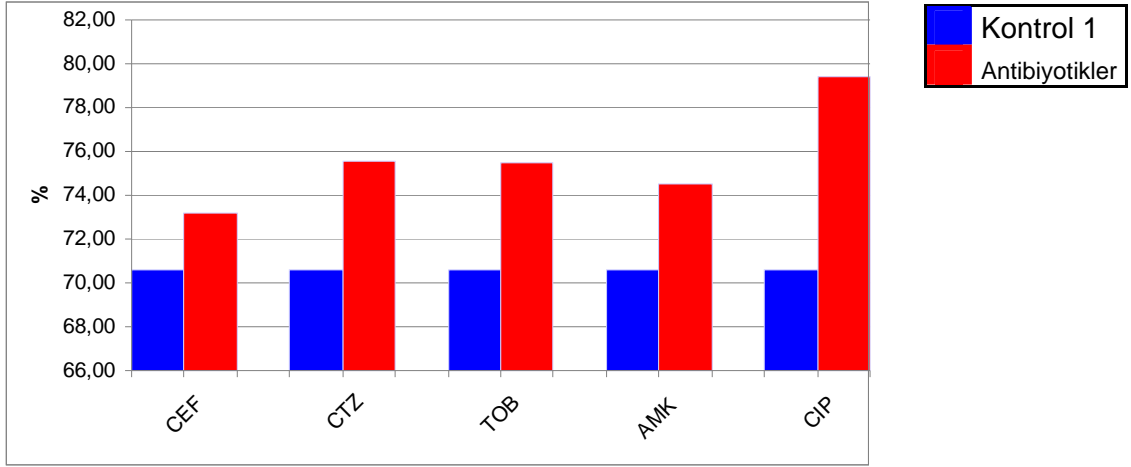
**Tablo 3:** Antipseudomonal Antibiyotiklerin Sağlıklı Genç PNL 'lerinin Fagositik ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkisi (n=20)

Antibiyotikler	Fagositik Aktivite (%)	Hücre İçi Öldürme Aktivitesi (%)
<b>Kontrol 1</b>	70,60 ± 10,10	4,20 ± 1,47
<b>Sefepim (160 µg/ml)</b>	73,18 ± 8,73	5,30 ± 1,87
<b>Seftazidim (130 µg/ml)</b>	75,55 ± 9,99 *	5,05 ± 2,01
<b>Tobramisin (8 µg/ml)</b>	75,48 ± 9,96 *	5,00 ± 2,20
<b>Amikasin (21 µg/ml)</b>	74,53 ± 10,34	4,35 ± 2,23
<b>Siprofloksasin (4,6 µg/ml)</b>	79,38 ± 7,98 **	4,75 ± 1,86

\*  $p < 0,05$  , \*\*  $p < 0,001$

Değerler yüzde oranı ± standart sapma olarak ve sağlıklı gençlerin PNL'leri ile yapılan 20 ayrı deneyin ortalaması alınarak verilmiştir. İstatistiksel anlamlılık için Repeated Measures of Anova Testi kullanılmıştır.

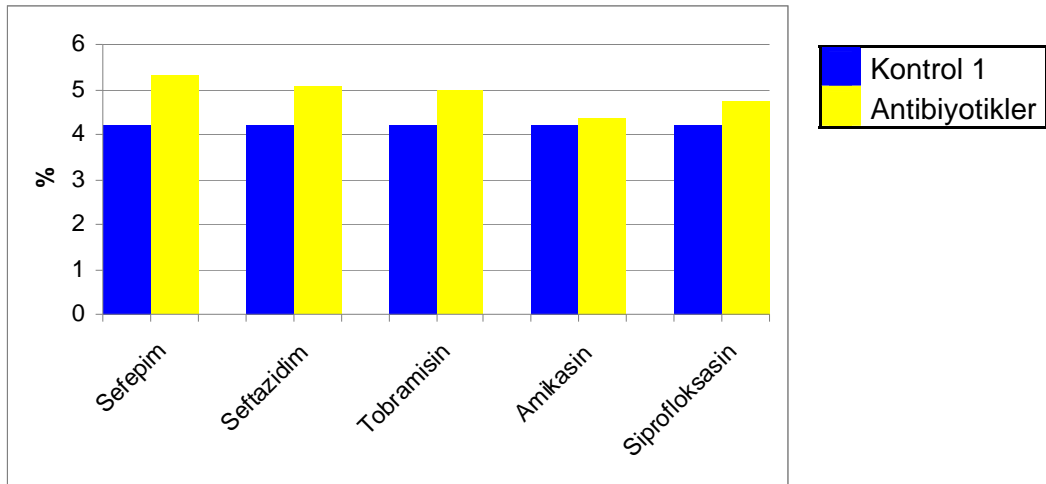
### Fagositik Aktivite



**Şekil 1:** Sefepim (CEF), Seftazidim(CTZ), Tobramisin(TOB), Amikasin(AMK) ve Siprofloksasinin (CIP) Sağlıklı Gençlerin PNL'lerinin Fagositik Aktivitesi Üzerine Etkisi

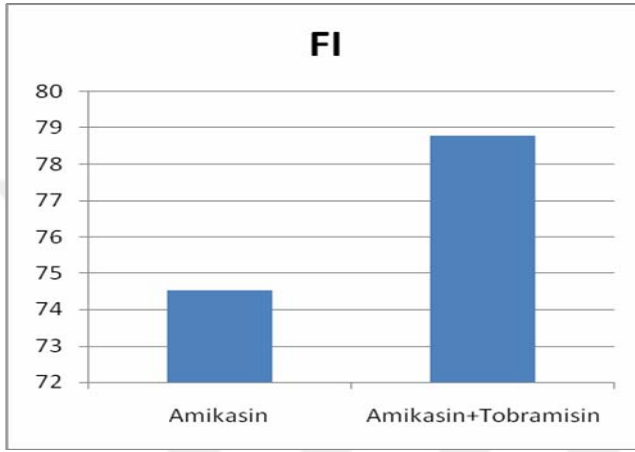
Tek başına seftazidim (130 µg/ml), tobramisin (8 µg/ml), siprofloksasin (4,6 µg/ml) sağlıklı gençlerin PNL'lerinin hücre içi öldürme aktivitesini kontrole göre anlamlı olarak artırmamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 3) (Şekil 2).

### Hücre İçi Öldürme Aktivitesi

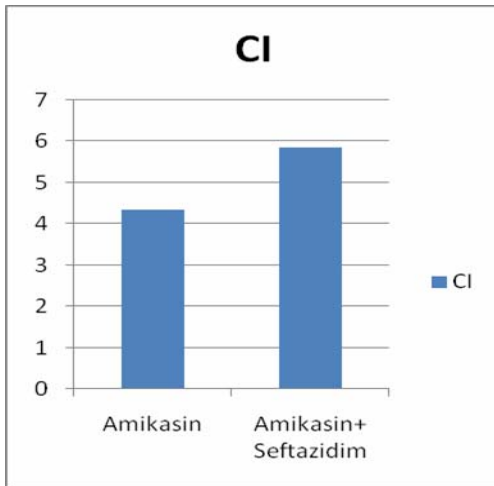


**Şekil 2:** Sefepim, Seftazidim, Tobramisin, Amikasin ve Siprofloksasinin Sağlıklı Gençlerin PNL'lerinin Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine Etkisi

Amikasin+tobramisin (42+16 µg/ml) kombinasyonu PNL'lerin fagositik aktivitesini ( $p<0,05$ ), amikasin+seftazidim (42+260 µg/ml) kombinasyonu PNL'lerin hücre içi öldürme aktivitesini ( $p<0,05$ ); amikasinin tek başına kullanılmasına göre anlamlı olarak artırmıştır (Tablo 4)(Şekil 3,4).



**Şekil 3:** Amikasin-Tobramisin Kombinasyonunun Tek Başına Amikasin'e Göre Fagositik Aktivite Değeri



**Şekil 4:** Amikasin-Seftazidim Kombinasyonunun Tek Başına Amikasin'e Göre Hücre İçi Öldürme Değeri

**Tablo 4:** Amikasin+Sefepim, Amikasin+Seftazidim ve Amikasin+Tobramisin Kombinasyonlarının Sağlıklı Genç PNL 'lerinin Fagositik ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkisi (Tek Başına Amikasin'e göre) (n=20)

Antibiyotik Kombinasyonları	Fagositik Aktivite (%)	Hücre İçi Öldürme Aktivitesi (%)
Amikasin (21 µg/ml)	74,53 ± 10,34	4,35 ± 2,23
AMK + CEF (42+320 µg/ml)	77,95 ± 7,03	5,05 ± 2,74
AMK + CTZ (42+260 µg/ml)	78,00 ± 7,75	5,85 ± 2,46*
AMK + TOB (42+16 µg/ml)	78,80 ± 9,14*	4,10 ± 1,48

\* p <0,05

Değerler yüzde oranı ± standart sapma olarak ve sağlıklı gençlerin PNL'leri ile yapılan 20 ayrı deneyin ortalaması alınarak verilmiştir. İstatistiksel anlamlılık için Repeated Measures of Anova Testi kullanılmıştır.

Amikasin+sefepim kombinasyonu (42+320 µg/ml) PNL fonksiyonlarını anlamlı olarak artırmamıştır (Tablo 4,5) (Şekil 5, 6).

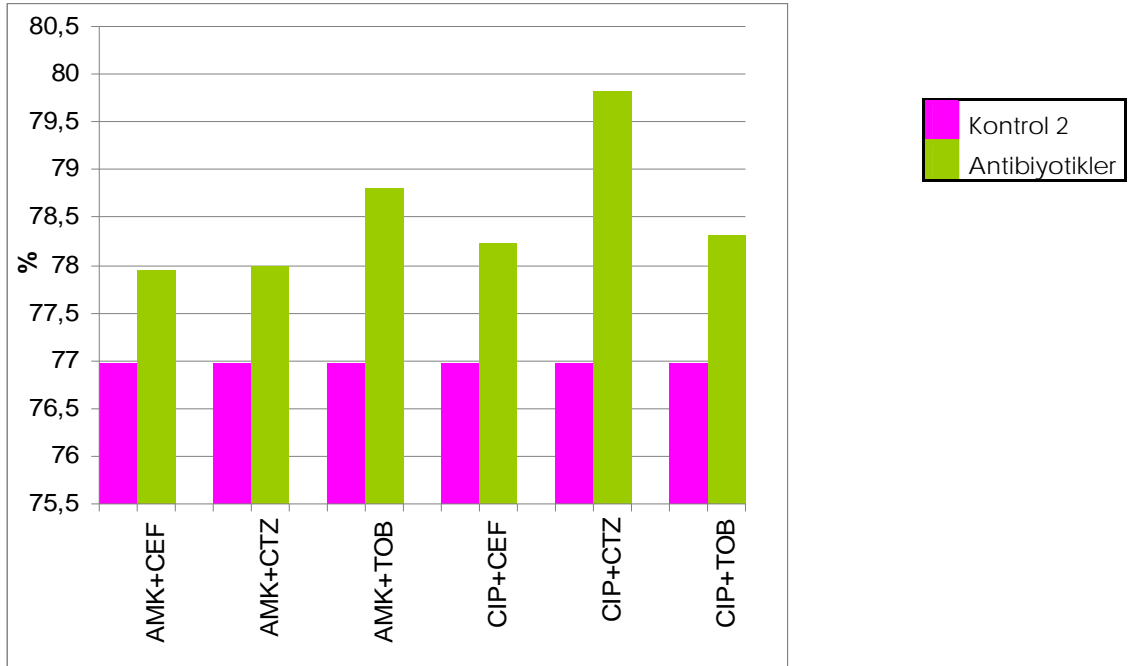
Siprofloksasin+sefepim (9,2+320 µg/ml), siprofloksasin+seftazidim (9,2+260 µg/ml) ve siprofloksasin+tobramisin (9,2+16 µg/ml) kombinasyonları PNL'lerin fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesini anlamlı olarak artırmamıştır (p>0,05) (Tablo 5) (Şekil 5, 6).

**Tablo 5:** Antipseudomonal Antibiyotik Kombinasyonlarının Sağlıklı Genç PNL'lerinin Fagositik ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkisi (n=20)

Antibiyotik Kombinasyonları	Fagositik Aktivite (%)	Hücre İçi Öldürme Aktivitesi (%)
Kontrol 2	76,98 ± 8,84	5,45 ± 2,11
AMK + CEF (42+320 µg/ml)	77,95 ± 7,03	5,05 ± 2,74
AMK + CTZ (42+260 µg/ml)	78,00 ± 7,75	5,85 ± 2,46
AMK + TOB (42+16 µg/ml)	78,80 ± 9,14	4,10 ± 1,48
Kontrol 2	76,98 ± 8,84	5,45 ± 2,11
CIP + CEF (9,2+320 µg/ml)	78,23 ± 9,65	4,45 ± 1,99
CIP + CTZ (9,2+ 260 µg/ml)	79,83 ± 10,00	5,90 ± 2,17
CIP + TOB (9,2+16 µg/ml)	78,30 ± 8,95	5,00 ± 2,38

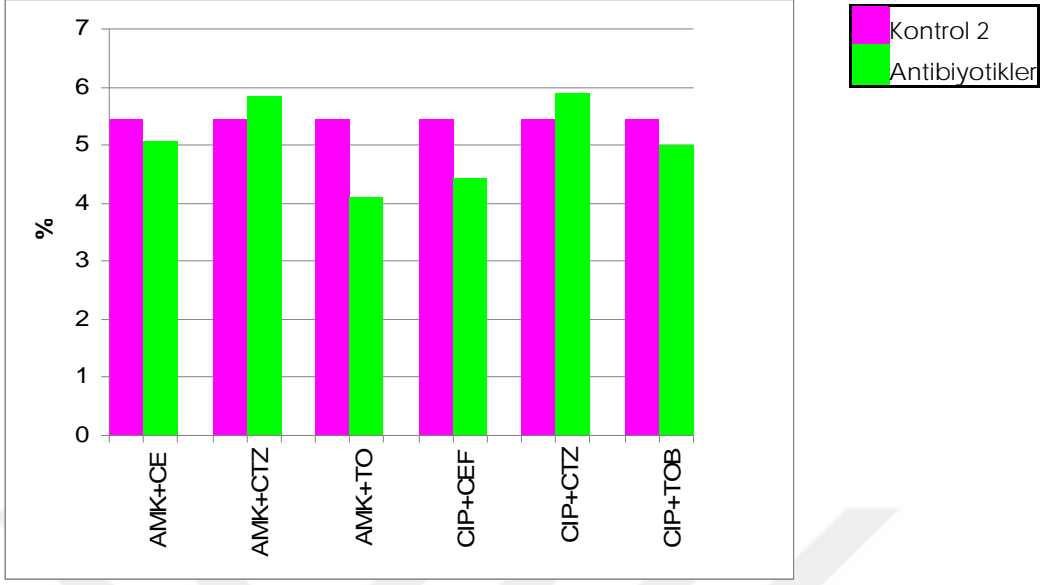
Değerler yüzde oranı ± standart sapma olarak ve sağlıklı gençlerin PNL'leri ile yapılan 20 ayrı deneyin ortalaması alınarak verilmiştir. İstatistiksel anlamlılık için Repeated Measures of Anova Testi kullanılmıştır.

#### Fagositik Aktivite



**Şekil 5:** Antibiyotik Kombinasyonlarının Sağlıklı Gençlerin PNL'lerinin Fagositik Aktivitesi Üzerine Etkisi

### Hücre İçi Öldürme Aktivitesi



**Şekil 6 :** Antibiyotik Kombinasyonlarının Sağlıklı Gençlerin PNL'lerinin Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine Etkisi

## TARTIŞMA VE SONUÇ

*Pseudomonas aeruginosa* nonfermentatif Gram negatif çomaklar içinde infeksiyonlara en sık neden olan etkindir. Özellikle yoğun bakım ünitesi ve nötropenik hastaların izlendiği bölümlerde bu bakterinin etken olduğu hastane infeksiyonları ön plana çıkmaktadır (27,13).

Yurdumuzda Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesinde yapılan bir araştırmaya göre 927 kan örneğinden izole edilen mikroorganizmalar arasında *P. aeruginosa* 'nın %15'lik bir oran ile üçüncü sırada olduğu tespit edilmiştir (39). 1999 ve 2000 yıllarında Türkiye genelindeki sekiz hastaneden izole edilen aerop Gram negatif suşların surveyans sonuçlarının bildirildiği iki ayrı araştırmada *P. aeruginosa*'nın %22.1 'lik ve %24.6'lık oranlarla birinci sırada saptandığı belirtilmiştir (4,30). Hacettepe ve Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanelerinde kan kültürlerinin mikrobiyolojik değerlendirilmesine yönelik yapılan çalışmalarda, kan örneklerinden izole edilen *P. aeruginosa* oranların sırasıyla %14 ve %6.5 olduğu saptanmıştır(19,39). Özellikle immün sistemi baskılanmış, kanser, kistik fibroz, yanık veya travmatik yaralı , organ ya da hücre nakli yapılan hastalarda mortaliteye neden olan başlıca etkenlerden biridir.

*P. aeruginosa* infeksiyonlarında antibiyotiklerin bilinçsizce uygulandığı tedaviler bir yandan dirençli suşların ortaya çıkmasına ve yayılmasına yol açarken diğer yandan da bu suşlarla oluşan infeksiyonların tedavisinde güçlükler yaratmaktadır. Özellikle risk altında olan hastalarda *P. aeruginosa* infeksiyonları hızla geliştiğinden, başarılı sonuçlar, ancak uygun bir tedavi şekli, zamanında uygulandığında elde edilmektedir. *P. aeruginosa* tedavisinde aminoglikozit grubu antibiyotiklerin önemli bir yeri olmasına rağmen en önemli ilerlemeler antipseudomonal aktiviteye sahip beta laktam grubu antibiyotiklerin ve kinolonların keşfedilmesiyle elde edilmiştir. Ancak tedavi sırasında direnç gelişiminin sıkça gözlenmesi, araştırmacıları alternatif tedavi rejimlerinin arayışına yöneltmiştir (24,40).

Antibiyotiklerin kombine kullanımı, alternatif tedavi rejimlerinin başında yer almaktadır. Antibiyotiklerin kombine kullanımlarında; etkene karşı sinerjistik etkinin elde edilmesi, etki spektrumunun genişletilmesi, bakterisidal etkinin artırılması, direnç gelişiminin önlenmesi ve antibiyotiklerin konak üzerine olan toksik yan etkilerinin azaltılması gibi olumlu sonuçların alındığı bildirilmektedir.

*P. aeruginosa* infeksiyonlarının özellikle immün sistemi bozuk veya baskılanmış hastalarda ciddi problemler oluşturduğu bilinmektedir. Antipseudomonal ilaçların tek başına ve kombine kullanımlarının hastanın immün sistem hücre fonksiyonları üzerine etkilerinin bilinmesi tedavide önem kazanmaktadır. Etkene ve immün sistem üzerine olumlu monoterapi veya kombine terapinin doğru seçimi immün sistemi zayıflamış hastaların tedavilerine immünoterapik bir yaklaşım getirebilir. Aksi durumda kötüleşmiş immün sistemi daha da kötüleştirebilir.

Chen YH ve ark. (12) piperasilin, sefepim, aztreonam, amikasin ve siprofloksasinin tek başına ve kombinasyon halinde 100 klinik *P. aeruginosa* suşuna karşı etkisi araştırılmıştır. Araştırmacılar *P.aeruginosa*'ya karşı piperasilin- amikasin, amikasin-sefepim ve amikasin-aztreonam kombinasyonlarının sırasıyla %59, %7 ve %16 oranında etkili olduğunu saptamışlardır.

Burgess DS. ve ark. (9) bir  $\beta$ -laktam antibiyotikler (piperasilin tazobaktam ve sefepim) ile gentamisin, siprofloksasin ve levofloksasinin 12 klinik *P. aeruginosa* suşu üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar  $\beta$ -laktam-gentamisin,  $\beta$ -laktam-siprofloksasin ve  $\beta$ -laktam-levofloksasin kombinasyonlarının *Pseudomonas*'a karşı sırasıyla, %79, %58 ve %67 oranında sinerjistik etki gösterdiğini saptamışlardır.

Wharton RC ve ark. (66) yaptığı bir çalışmada klinikten izole ettikleri toplam 18 *Pseudomonas* suşuna karşı seftazidim-siprofloksasin kombinasyonunun %40, seftazidim-amikasin kombinasyonunun %53 oranında sinerjistik etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Sader HS ve ark. (57) sefepim-aztreonam kombinasyonunun imipeneme dirençli *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına karşı %56,5 oranında sinerjistik etki gösterdiğini saptamışlardır.

Bustamente CI ve ark (10) siprofloksasin-seftazidim kombinasyonunun klinikten izole edilen 108 *Pseudomonas aeruginosa* suşuna karşı %17'si oranında sinerjistik etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Özbek B. (49) tek başına amikasin, sefepim, sefpirom, seftazidim, siprofloksasinin klinikten izole ettiği 15 *P. aeruginosa* suşu üzerine etkilerini in vitro koşullarda araştırmışlardır. Araştırmacılar *P. aeruginosa* suşlarının %95'nin amikasine, %77'sinin sefepime, %68'nin sefpiroma, %59'nun seftazidime, %46'sının siprofloksasine duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Araştırmacıların bulguları ciddi *P. aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde antibiyotiklerin tek başlarına yetersiz kaldıklarında, etkili antibiyotik kombinasyonlarının seçiminin tedavide başarılı olacağını göstermektedir.

*P. aeruginosa* üzerine %95 oranında etkili olan amikasinin immün sistem hücre fonksiyonlarına etkisine bakıldığında; tek başına amikasinin sağlıklı insan PNL fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemediği , buna karşın amikasinin imipenem ile kombinasyonunun PNL'lerin hem fagositik ( $p<0,05$ ) hem de hücre içi öldürme aktivitesini kontrole göre anlamlı olarak ( $p<0,001$ ) artırdığı bildirilmiştir. Araştırmacıların çalışmasında tek başına imipenem fagositik aktiviteyi değiştirmedeği halde hücre içi öldürme aktivitesini anlamlı olarak artırdığı gösterilmiştir ( $p<0,05$ ) (18).

Adalati ve ark. (1) çalışmalarında amikasinin ( $8\mu\text{g/ml}$ ) tek başına PNL fonksiyonlarını etkilemediği bildirilmiştir.

Venezio ve ark. (65) ve ark. terapötik konsantrasyonlarda kullanılan amikasininin in vitro ve in vivo koşullarda PNL fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemediğini

göstermişlerdir. Çalışmamızda da amikasin sağlıklı insan PNL fonksiyonlarını etkilememiştir.

Venezio (65) in vivo koşullarda sağlıklı gönüllülere intavenöz olarak uygulanan terapötik konsantrasyonlardaki antibiyotiklerin (amikasin 32 µg/ml , tobramisin 8 µg/ml, gentamisin 8 µg/ml, netilmisin 8 µg/ml) şırınga sonrası 1,3 saat sonra PNL'lerin adherensini, kemotaksisini ve kandidisidal aktivitesini değiştirmediğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar adı geçen antibiyotiklerle in vitro koşullarda inkübe edilen PNL fonksiyonlarının antibiyotiklerin yüksek doz kullanımına göre değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Amikasin + sefepim kombinasyonunun *P.aeruginosa* suşları üzerine %80 oranında etkili olduğu bildirilmektedir (49). Bu etki tek başına sefepimde %77 iken, amikasin kombinasyonu ile artmıştır. *P.aeruginosa* üzerine %80 oranında etkili olan amikasin + sefepim kombinasyonu ve tek başına sefepim PNL fonksiyonlarını anlamlı olarak artırmamıştır.

Çalışmamızda amikasin + tobramisin kombinasyonu PNL'lerin fagositik aktivitelerini anlamlı olarak artırmıştır ( $p<0,05$ ). Hücre içi öldürme aktivitelerini etkilememiştir. Tobramisin tek başına da fagositik aktiviteyi anlamlı olarak artırmıştır ( $p<0,05$ ).

Amikasin + seftazidim kombinasyonu *P.aeruginosa* suşlarına karşı %93 oranında etkili olmuştur. Bu etki tek başına seftazidimle %59 bulunurken kombinasyonda artmıştır.(49) Aynı kombinasyon fagositik aktiviteyi etkilemezken hücre içi öldürme aktivitesini anlamlı olarak artırmıştır ( $p<0,05$ ). Çalışmamızda seftazidim tek başına PNL'lerin fagositik aktivitesini anlamlı olarak artırmıştır ( $p<0,05$ ). Hücre içi öldürme aktivitesini de anlamsız olarak artırmıştır.

Mc Donald ve ark (2) SUB-MIK'deki sefepimin *P.aeruginosa*'nın epitel hücrelerine ve PNL'lerin yapışmasını engellediğini , terapötik konsantrasyondaki sefepimin PNL'lerin bakterisidal mekanizmasını etkilemediği ve PNL'lerin hücre içi öldürme

aktivitesini etkilemediğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda da tek başına sefepim PNL fonksiyonlarını anlamlı olarak değiştirmemiştir.

Giamarellou H ve ark. (25) seftazidimin (10 mg/L veya daha fazlası) konağın PNL'lerini kemiluminesini ve fagositik aktivitesini anlamlı olarak değiştirmedini, granülositlerin adherensini artırdığını göstermişlerdir.

Svensson AC ve ark. (61) logaritmik üreme fazında subminimal inhibitör konsantrasyonunda seftazidim ile muamele gören *E.coli* ve *P.aeruginosa* 'nın PNL'lerin kemotaksi ve fagositozunu artırdığını saptamışlardır.

Cuffini AM ve ark. (17) seftazidimin ½ MIK'in uygulandığı insan makrofajlarının *S.aureus* ve *P.aeruginosa*'ya karşı fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesini kontrol makrofajlara göre artırdığını saptamışlardır. Seftazidimle muamele edilen bakterilerin, makrofaj lizozomlarını daha duyarlı hale getirdiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda tek başına seftazidimin ( 130 µg/ml) terapötik konsantrasyonu PNL'lerin fagositik aktivitesini anlamlı olarak artırmıştır. (p<0,05) Hücre içi öldürme aktivitesindeki artış anlamlı bulunmamıştır.

Tek başına siprofloksasinin *P.aeruginosa* suşları üzerine %46 oranında etkili iken bu etki sefepimle %60, seftazidim+siprofloksasin kombinasyonunda da %60 oranında olmuştur (49). Siprofloksasinin sefepim, tobramisin ve seftazidimle kombinasyonu PNL fonksiyonlarını artırmıştır. Ancak bu artış anlamlı bulunmamıştır (p>0,05). Çalışmamızda tek başına siprofloksasin PNL fonksiyonlarının fagositozunu anlamlı olarak artırmıştır(p<0,001). Buna karşın hücre içi öldürme aktivitesindeki artış anlamlı bulunmamıştır (p>0,05).

Siprofloksasinin PNL'lerin bakterisidal aktivitesini artırdığı bildirilmiştir. Constance ve ark. (15) siprofloksasinin (2,5 µg/ml) kronik granümatöz hastalığı bulunan çocuk PNL'lerinin *S .aureus*'a karşı hücre içi öldürme aktivitesini artırdığını göstermişlerdir.

Göçer ve ark. (28) siprofloksasinin (2,5 µg/ml) yaşlı hastaların ( $p<0,001$  ,  $p=0,001$ ) ve sağlıklı genç gönüllülerin fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesini anlamlı olarak artırdığını ( $p<0,005$ ,  $p<0,05$ ) bildirmişlerdir.

Günümüzde direnç gelişiminin üstesinden gelebilmek için yeni antimikrobiyal ilaçlar ve yeni kombinasyon tedavi protokolleri geliştirilirken, bu ilaçların immün sistem hücre fonksiyonları üzerine immünomodülatör veya immünosupresif etkileri olup olmadığı klinik uygulamalarda dikkate alınmamaktadır.

*P.aeruginosa*'nın görüldüğü infeksiyonların tedavisinde etkene karşı etkili sefalosporinlerin seçimi ; amikasin veya siprofloksasin ile kombine kullanımları ile tedaviden daha çok yarar sağlanabilir.

Bilindiği gibi infeksiyon etkeni (mikroorganizma) vücuda girdiğinde konağın immün sistemi harekete geçer. Vücuttaki PNL'ler mononükleer fagositik hücreler, B lenfositleri, T lenfositleri, doğal öldürücü hücreler, antikora bağımlı hücreler sitotoksitede rol alan hücreler karmaşık bir etkileşim mekanizması ile yabancı etkeni yıkıma uğratabilirler.

Bugün sıklıkla kullanılan bir dizi ilacın immün sistem hücreleri ve sitokinlerin işlevlerini etkilediği bildirilmektedir.

Çalışmamızda kullanılan antipseudomonal ilaçlardan amikasin-tobramisin kombinasyonu PNL'lerin fagositik aktivitesini, tek başına amikasine göre anlamlı olarak artırmasına ( $p<0,05$ ) rağmen, PNL'lerin hücre içi öldürme aktivitesini etkilememiştir ( $p>0,05$ ). Tek başına seftazidim, tobramisin ve siprofloksasin PNL'lerin fagositik aktivitesini anlamlı olarak artırmıştır ( $p<0,05$ ). Amikasin-seftazidim kombinasyonu, tek başına amikasine göre PNL'lerin fagositik aktivitesini etkilemez iken , hücre içi öldürme aktivitesini ise anlamlı olarak artırmıştır ( $p<0,05$ ) .

İn vitro koşullarda *P.aeruginosa*' ya karşı duyarlılıkları tespit edilen yukarıda adı geçen antipseudomonal antibiyotiklerden tek başına hiçbirinin immün sistem hücre

fonksiyonları üzerine olumsuz etkileri görülmemiştir. Kombine kullanımlarında amikasin + tobramisin, amikasin + seftazidim kombinasyonu diğer kombinasyonlara göre PNL'lerin sırası ile fagositik ve hücre içi öldürme aktivitelerini anlamlı olarak artırmıştır ( $p<0,05$ ).

Özbek'in çalışmalarında tek başına seftazidim, *P.aeruginosa*'ya karşı %59 oranında sinerjistik etki gösterirken seftazidim+amikasin kombinasyonu %80 oranında etkili olmuştur (49). Aynı kombinasyon çalışmamızda PNL'lerin hücre içi öldürme aktivitesini anlamlı olarak artırmıştır ( $p<0,05$ ). *Pseudomonas* infeksiyonlarında etkene karşı etkili olan amikasin+seftazidim ve amikasin+tobramisin kombinasyonunun sağlıklı insan PNL'lerinin fonksiyonları üzerine immünomodülatör etki gösterdiği buna karşın diğer kombinasyonların PNL fonksiyonlarını anlamsız olarak artırdığı görülmüştür.

Günümüzde direnç gelişiminin üstesinden gelebilmek için yeni antipseudomonal ilaçlar ve yeni tedavi protokolleri geliştirilirken bu ilaçların immün sistem hücre fonksiyonları üzerine immünomodülatör veya immünosupresif etkileri olup olmadığı belirlenmelidir.

Tedavi protokolünde etkene karşı etkili, konağın immün sistemi üzerine de immünomodülatör etki gösteren monoterapi veya kombine antibiyotik tedavisinin doğru seçimi, özellikle immün sistemi zayıf ve baskılanmış hastaların tedavisine büyük yararlar getirebilir.

Çalışmamızda *Pseudomonas aeruginosa* infeksiyonlarının tedavisinde en etkili antipseudomonal ilaçların tek başına ve kombinasyonlarının PNL fonksiyonları üzerine etkileri saptanmıştır.

Bu antibiyotiklerden tek başına siprofloksasin, tobramisin ve seftazidim PNL'lerin fagositik aktivitesini kontrole göre anlamlı olarak artırmıştır ( $p<0,001$ ,  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ ). *P.aeruginosa* üzerine %80 oranında etkili olan amikasin+seftazidim

kombinasyonu PNL'lerin hücre içi öldürme aktivitesini tek başına amikasinine göre anlamlı olarak artırmıştır ( $p<0,05$ ).

Sonuç olarak;

Literatürün ve bulgularımızın ışığı altında özellikle immunosupresif hastalarda görülen *Pseudomonas* infeksiyonlarının tedavisinde etkene karşı doğru antibiyotik politikası seçilirken, bu antibiyotik tedavisinin hastanın PNL fonksiyonları üzerine de immunomodülatör etkili olup olmadığına önem verilmelidir.

Etkene karşı etkili, hastanın immün sistem hücreleri üzerine de immunomodülatör etkili tek veya kombine doğru antibiyotik tedavisinin seçilmesi immün sistemi zayıflamış bu hastaların tedavisine immunoterapik bir yaklaşım getirebilir ve hastanın tedavisinden kısa zamanda daha başarılı sonuçlar alınmasını sağlayabilir.

## SONUÇ

Sonuç olarak;

- 1- Çalışmamızda tek başına tobramisin ( 8 µg/ml), seftazidim ( 130 µg/ml) ve siprofloksasin ( 4,6 µg/ml) PNL fagositik aktivitesini sırası ile anlamlı olarak ( p<0,05 , p<0,05 , p<0,001) artırmışlardır.
- 2- Amikasin + tobramisin (42+16 µg/ml) kombinasyonu PNL'lerin fagositik aktivitesini (p<0,05), amikasin + seftazidim kombinasyonu (42+260 µg/ml) PNL'lerin hücre içi öldürme aktivitesini (p<0,05) anlamlı olarak artırmıştır.
- 3- Tek başına amikasin (21 µg/ml), sefepim (160 µg/ml) ve amikasin + sefepim(42+ 320 µg/ml) , siprofloksasin + sefepim (9,2+360 µg/ml), siprofloksasin + tobramisin (9,2+16 µg/ml) , siprofloksasin + seftazidim (9,2+260 µg/ml) kombinasyonları da PNL fonksiyonlarını artırmış; fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

## KAYNAKLAR

- 1- Adalati R, Gürer SÜ, Çevikbaş A, Johanson C.:In vitro effect of amikacin, imipenem, cefodizime, IFN  $\alpha$  on polymorphonuclear leukocyte function in chronic hepatitis patients .Chemotherapy 47:261-265, 2001.
- 2- Aichele O, Mc Donald PJ, Pruul H.: Uptake of cefepime by phagocytosing polymorphonuclear neutrophils and subsequent intracellular killing. Antimicrob Agents Chemother. 1996 August; 40(8): 1870–1874.
- 3- Akay TM.: genel Histoloji. 3. basım, S.85-91, İmaj yayınevi, Ankara,1996
- 4- Aksaray S,Dokuzoğuz B, Güvener E, Yücesoy M, Yuluğ N, Kocagöz S, Ünal S, Çetin S, Calangu S, Günaydın M, Lelebicioğlu H, Esen S, Bayar B, Willke A, Fındık D, Tuncer I, Baysal B, Günseren F, Mamikoğlu L.: Surveillance of antimicrobial resistance among gram negative isolates from intensive care units in eight hospitals in Turkey. J Antimicrob Chemother 2000; 45:695-699.
- 5- Alexander JW, Windhorst DB, Good RA.: Improved tests for the evolution of neutrophil function in human disease. J.Lab&Clin.Med,72(1):136-148, 1968.
- 6- Bilgehan H.: Kliik Mikrobiyolojik Tanı.3.basım, s.133, Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, İzmir, 2002.
- 7- Blondeau JM. :A review of the comparative in vitro activities of 12 antimicrobial agents, with a focus on five new respiratory quinolones. J Antimicrob Chemother 1999; 43 (Suppl B) :1-11.
- 8- Brooks GF, Butel JS, Morse SA: Medical Microbiology. 21. edition, P.603-605, Appleton & Lange, USA, 1998
- 9- Burgess DS, Nathisuwan S.: Cefepime, piperacillin / tazobactam, gentamicin, ciprofloxacin and levofloxacin alone and in combination against Pseudomonas aeruginosa . Diagn Microbiol Infect Dis. 2002; 44 (1) :35-41.
- 10- Bustamente CI, Wharton RC, Wade JC.: Antimicrob Agents Chemother. 1990 ; 34 (9) : 1814-1815.

- 11- Chambers HF: The aminoglycosides. In: Hardman JG., Limbird LE., Molinoff PB., Ruddon RW., Gilman AG. :The Pharmacological Basis of Therapeutics 10. ed. Goodman & Gilman's, USA, 2001; 1219-1238.
- 12- Chen YH, Korvick JA, Yu VL: Antimicrobial agent therapy for *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 2004; 35 (11) : 2167-2172.
- 13- Chu DT, Fernandes PB. : Structure-activity relationships of the fluoroquinolones. Antimicrob Agents Chemother. 1989 ;33: 131-135.
- 14- Cohen SM.: Molecular events in the activation of human neutrophils for microbial killing. Clin infect dis, 18 ( supply 2): 170-179, 1994
- 15- Constance E, Rensburg JV, Joone G., Anderson R.: Interactions of the oxygen-dependent antimicrobial system of the human neutrophil with difloxacin, ciprofloxacin, perfloxacin and fleroxacin in the intrahagocytic eradication of *Staphylococcus aureus*. J Med Microbiol, 32:15-17, 1990.
- 16- Crumplin GC.: Aspects of chemistry in the development of the 4-quinolone antibacterial agents. Rev Infect Dis 1988; (10 Suppl 1) : 2-9.
- 17- Cuffini AM, Carlone NA, Xerri L, Pizzaglio MF.: J. Antimicrob Chemother. 1987; 20 (2) : 261-271.
- 18- Daşdelen N, Soyoğul Güner Ü, Çevikbaş A, İmamoğlu Ç, Johansson C. : PNL fonksiyonlarını inhibe eden ve immünomodülatör etki gösteren antibiyotiklerin kombine kullanımlarının insan PNL fonksiyonları üzerine etkisinin in vitro araştırılması. Türk Mikrob Cem Derg. 1999; V.29pp: 17-22.
- 19- Demir M, Kaleli İ, Cevahir N, Mete E, Şengül M.:İki yıllık kan kültür sonuçlarının değerlendirilmesi. Enfeksiyon derg 2003; 17:297-300.
- 20- Donowitz RG, Mandell GL.: PNL :An effective antimicrobial force. Reviews of infectious diseases, 11supply 7: 1532-1544, 1989
- 21- Erkoçak A.: genel histoloji, 3. baskı, 207-228, Ankara 1980
- 22- Ertaş Ö.: Primer ve sekonder tüberküloz ilaç kombinasyonlarının sağlıklı gönüllülerin polimorf nüveli lökosit fonksiyonları üzerine in vitro etkisinin araştırılması. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2004 (Danışman: Prof. Dr. Adile Çevikbaş)

- 23- Fuchs PC, Jones RN, Barry AL, Thornsberry C. : Evaluation of the in vitro activity of BMY-28142, a new broad-spectrum cephalosporin. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 27 :679-682.
- 24- Giamarellou H.: Therapeutic guidelines for *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 16:103-106.
- 25- Giamarellou H, Bassaris H, Petrikos TG, Busch W, Grouzi E : Monotherapy with intravenous followed by oral high-dose ciprofloxacin versus combination therapy with ceftazidime plus amikacin as initial empiric therapy for granulocytopenic patients with fever. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44(12) : 3264-3271.
- 26- Giamarellou H. : Prescribing guidelines for severe *Pseudomonas* infections. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49 : 229-333.
- 27- Gilligan PH.: *Pseudomonas and Burkholderia*. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. *Manual of Clinical Microbiology*. 6 ed. American Society for Microbiology, Washington D.C., 1995; 509-519.
- 28- Göçer P.: Çinkonun polimorf nüveli lökosit fonksiyonları üzerine etkisinin araştırılması. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2002 (Danışman: Prof.Dr.Adile Çevikbaş)
- 29- Gülay Z. : Hücre duvarı sentezini etkileyen antibakteriyeller. *Ankem Derg* 2003; 17: 192-204.
- 30- Günseren F, Mamikoğlu L, Öztürk S, Yücesoy M, Biberoglu K, Yuluğ N, Doğanay M, Sümerkan B, Kocagöz S, Unal S, Çetin S, Calangu S, Köksal I, Leblebicioğlu H, Günaydın M.: A surveillance study of antimicrobial resistance of gram negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43:373-378.
- 31- Hancock RE, Wong PG.: Compounds which increase the permeability of the *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane. *Antimicrob Agents Chemother.* 1984; 26: 48-52.
- 32- Hoşaf E, Çalica A, Durmaz Çetin B, Seber E : Yara, Abse ve Akıntı Örneklerinden Elde Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

- 33- İmamoğlu Ç, Soyoğul Güner Ü, Çevikbaş A, Palandüz Ş, Daşdelen N, Johansson C.: Non- antimikrobiklerin insan PNL fonksiyonları üzerine in vitro ve ex vivo etkisinin araştırılması. Türk Mikrob Cem Derg. ;V:31 : 113-118.
- 34- Jones RN, Barry AL, Thornsberry C, Gerlach EH, Fuchs TL, Sommers HM.: Ceftazidime , a *pseudomonas* active cephalosporin: in vitro antimicrobial activity evaluation including recommendation for diffusion susceptibility tests. J Antimicrob Chemother 1981; 8 (Suppl B) : 187-211.
- 35- Junqueira CJ, Carneiono J, Kelley RO.: Temel histoloji. 8. basım, s.221-231, Barış Kitapevi, İstanbul, 1998
- 36- Kayser FH: Mantarların genel özellikleri Ed: Kayser FH, Biens K.A, Eckerd J, Lindenmann J: Tbbi Mikrobiyoloji. 8. basım, s.290-291, 1996
- 37- Kayser FH, Biens KA, Eckerd J, Zinkernagel MR: Tıbbi mikrobiyoloji. çeviri. çevirenler: Küçükler M.A, Tünbay E, Anğ Ö, Erturan Z, 9. baskı, nobel Tıp Kitapevleri, istanbul, 2002
- 38- Kılıçturgay K.: İmmunolojiye giriş, Bursa Güneş ve Nobel Tıp Kitapevleri, 8-11, 132-137, 1994
- 39- Köseoğlu Ö, Öztoklu İ, Tezcan S, Haşçelik G, Günalp A.: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesi Kan Kültürlerinin Mikrobiyolojik ve Klinik Değerlendirilmesi: Tanımlayıcı/metodolojik bir çalışma. Enfeksiyon Derg 2000; 14:387-392.
- 40- Krogstad DJ., Moellering RC Jr.: Antimicrobial combination. In: Lorian V. Antibiotics in Laboratory Medicine, 2. ed. William & Wilkins , Baltimore, 1986; 537-595.
- 41- Labro MT, Benna JE, Abdelghaffar H.: Modulation of human PNL function by macrolides: preliminary data concerning diritromycin. J. Antimicro Chemother, 31 supply C: 51-64, 1993
- 42- Laws A, Page M.: The chemistry and structure-activity relationships of C3-quaternary ammonium cephem antibiotics. J Chemother 1996; 8 (Suppl 2) : 7-22.
- 43- Lebel M.: Ciprofloxacin: chemistry, mechanism of action, resistance, antimicrobial spectrum, pharmacokinetics, clinical trials, and adverse reactions. Pharmacotherapy, 8(1): 3-33

- 44- Lianou PE, Votta EG, Papavassiliou JT, Bassaris HP.: In vivo potentiation of polymorphonuclear leukocyte function by ciprofloxacin. J. Chemother. 1993; 5(4): 223-227.
- 45- Moran FJ, Puente LF, Perez-Giraldo C, Hurtado C, Blanco MT, Gomez-Garcia AC.: Effects of cefpirome in comparison with cefuroxime against human polymorphonuclear leukocytes in vitro. J. Antimicrob Chem. 33:57-62, 1994.
- 46- Murathanoğlu O.: Histoloji, İ.Ü. Fen Fak. Basımevi, İstanbul 1996
- 47- Neu HC., Labthavikul P. : Antibacterial activity and  $\beta$ -lactamase stability of ceftazidime, an aminothiazolyl cephalosporin potentially active against *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 1982; 21 : 11-18.
- 48- Özbal Y.: Temel immunoloji nobel tıp kitapevleri ltd, 2. baskı s.47-53, İstanbul, 2000
- 49- Özbek B.: Sefepim, Sefpirom ve Sefiazidimin Amikasin ve Siprofloksasin ile Kombinasyonlarının *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına karşı İn Vitro Etkilerinin Araştırılması. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 2005 (Danışman: Prof. Dr. Gülten Ötük).
- 50- Parker Ş.: Histoloji, uludağ üniversitesi basımevi, 93-109 1990
- 51- Pier GB, Ramphal R. *Pseudomonas aeruginosa* In Mandel GL et al. Principles and Practise of Infectious Diseases, 6th ed. New York: Churcill Livingstone; 2005: 2587-2615
- 52- Proje No: Sağlık-51 : İmmün Sistemi Baskılanmış Hastalarda Yeni Antimikrobik İlaçların Sitokinlerin ve Kombine Kullanımlarının Polimorf Nüveli Lökosit Fonksiyonları Üzerine Etkilerinin İn Vivo ve İn Vitro Araştırılması . M.Ü. Araştırma Fonu Başkanlığı, 1997.
- 53- Richardson MD, Scott G, Shankland GS: effects of ciloftragin on phagocytosis and intracellular killing of *Candida albicans* by human neutrophils. Eur. J. Clin. Mic. Infec. Dis. 11(1):22-26, 1996
- 54- Rodriguez AB., A. Hernanz , M. De la Fuente.: Effect of three  $\beta$ -lactam antibiotics on ascorbate content, phagocytic activity and superoxide anion production in human neutrophils. Cell Physiol Biochem. 1991; 1 : 170-176.

- 55- Rodriguez AB., C. Barriga, M. De la Fuente. : Stimulation of phagocytic processes and antibody- dependent cellular cytotoxicity of human neutrophils by cefmetazole. *Microbiol Immunol.* 1991; 35: 545-556.
- 56- Roilides E, Walsh TJ, Rubin M, Venzon D, Pizzo PA. : Effects of antifungal agents on the function of human neutrophils in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* ; 1990: Vol. 34 (2): 196-201.
- 57- Sader HS, Silbert S.:Heterogeneity of *Pseudomonas aeruginosa* in Brazillian Cyclic Fibrosis Patients. *J Clin Microbiol.* 2001; 39 (11) : 3976-3981.
- 58- Scheffer J, J Köller, W. Cullmann, W. König. : Effects of cefaclor, cefetamet and RO 40-6890 on inflammatory response of human granulocytes. *J. Antimicrob . Chemother.* 1992; 30: 57-66.
- 59- Seher Baştürk: *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* Suşlarında Çeşitli Kinolon Grubu Antibiyotiklerin Duyarlılıklarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi , İnf. Hast ve Klin. Mik.Kliniği,2005.
- 60- Stites PD,Terr AI.:Basic and clinical İmmunology. S.61-77,141-153,Appleton&Lange, 1991
- 61- Svensson AC, Fietta A, Sacchi F. : Effect of beta lactam antibiotics on migration and bactericidal activity of human phagocytes.*Antimicrob Agents Chemother.* 1984; 23(6) : 930-931.
- 62- Tunçbilek S,Tezeren Z, Balaban N, Öztürk S, Işılak İ:Hastane İnfeksiyon Etkeni *Pseudomonas aeruginosa*'ların İnvitro Antibiyotik Duyarlılıkları.İnfeksiyon Dergisi(Turkish Journal of Infection) 12 (3):361-64 (1998)
- 63- Tümbay E: Pratik tıp Mikolojisi, 1. baskı, 145-146, 1983
- 64- Vahaboğlu H, Öztürk R, Aygün G et al. Widespread detection of PER-1 type extended spectrum beta laktamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: A nationwide multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:2265-9.
- 65- Venezio FR, Divincenzo CA. : Effects of aminoglycoside antibiotics on polymorphonuclear leukocyte function in vivo. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985; 27 (5):712-714.

- 66- Wharton RC , Wade JC, Bustamente CI. In vitro activity of ciprofloxacin in combination with ceftazidime, aztreonam and azlocillin against multiresistant isolates of *P. aeruginosa*. Journal of Antimicrob Chemother. 1999; 34 (9) :1814-1815.
- 67- Yeğın O.: Temel İmmunoloji ve immun eksiklik hastalıkları yayın no:45, akdeniz Üniversitesi basımevi, Antalya, 1992
- 68- Yu LV, Merigan Jr Tc. , Barriere SL. : Antimicrobial therapy and vaccines. S. 901-991 Williams&Wilkins, USA, 1999.
- 69- Yüce K.: Antibiyotikler ve infeksiyon hastalıklarında Tedavi Prensipleri. 52-73, Bilgehan Basımevi, İzmir , 1998
- 70- Yücel A, Kantarcıoğlu A: *Candida albicans*'ın taksonomisindeki önemli bazı değişiklikler. Cerrahpaşa J Med 30 (3): 236-246, 1999

## ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında İstanbul'da doğdum. İlköğrenimimi Atatürk İlk Okulunda, orta ve lise öğrenimimi Üsküdar Kız Lisesinde tamamladım. 1998 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde yüksek öğrenimime başladım ve 2002 yılında mezun oldum. 2004 yılında Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimime başladım. Halen bir medikal firmada çalışmaktayım.

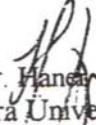


**MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ARAŞTIRMA ETİK KURULU**

Sayı : B.30.2.MAR.0.01.00.02/AEK-08  
Konu:

Sayın : Prof. Dr. Adile ÇEVİKBAŞ

MAR-YÇ-2005- 0210 protokol nolu "Pseudomonas aeruginosa suşlarında etkili bazı antibiyotik ve kombinasyonlarının polimorf nüveli lökosit (PNL) fonksiyonları üzerine in vitro etkilerinin araştırılması" isimli projeniz Fakültemiz Araştırma Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Hacer DİRESKENELİ  
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Araştırma Etik Kurul Başkanı