

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PAN-ANTİBİYOTİK DİRENÇLİ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*  
VE *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* SUŞLARINA KARŞI  
SON SEÇENEK AJANLARDAN BİRİ OLAN KOLİSTİNİN  
İN VİTRO ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Şahin YAZTÜRK**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. Mustafa YILMAZ**

**ELAZIĞ 2007**

**DEKANLIK ONAYI**

.....

**DEKAN**

**Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.**

.....

Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN

**Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı**

**Tez, tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.**

**Prof. Dr. Mustafa YILMAZ**

.....

**Danışman**

**Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri**

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

## TEŐEKKÜR

Eđitimimde büyük katkıları olan, her konuda destek ve yardımlarını gördüğüm başta tez danıŐmanım değerli hocam Prof. Dr. Mustafa YILMAZ olmak üzere, Prof. Dr. Zülal AŐŐI TORAMAN'a, Prof. Dr. Adnan SEYREK'e, Doç. Dr. Ahmet KZRGL'e ve Yrd. Doç. Dr. Yasemin BULUT'a teŐekkürü borç bilirim.

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıŐtıđım ve tezimin çalıŐmalarında benden yardımlarını esirgemeyen başta Uz. Dr. Yusuf YAKUPOĞULLARI ve Dr. Ayten GÜNDÜZ'e ve diğer asistan arkadaşlarıma teŐekkür ederim.

Ayrıca Klinik Mikrobiyoloji yardımcı sağlık personeline teŐekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

1. ÖZET .....	1
2. ABSTRACT .....	3
3. GİRİŞ .....	5
3.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	7
3.2. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .....	8
3.3. Nozokomiyal Enfeksiyonlar .....	8
3.4. CLSI Tarafından Önerilen Antipseudomonal Antibiyotikler .....	12
3.4.1. Beta-Laktam Antibiyotikler .....	12
3.4.2. Aminoglikozitler .....	13
3.4.3. Kinolonlar .....	14
3.4.4. Kolistin .....	15
3.5. Antibiyotik Direnci .....	18
3.5.1. Antibiyotiklere Direncin Moleküler Temeli .....	19
3.5.1.1. Doğal Direnç .....	19
3.5.1.2. Kazanılmış Direnç .....	19
3.6. Gram-Negatif Çomaklarda Antibiyotik Direnci .....	20
3.6.1. Beta-Laktam Direnci .....	20
3.6.2. Aminoglikozit Direnci .....	20
3.6.3. Kinolon Direnci .....	21
3.7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ve <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Türlerinde Antibiyotik Direnci .....	21
4. GEREÇ VE YÖNTEM .....	24
4.1. Örneklerin Alınması ve İşlenmesi .....	24
4.2. Kültür ve İdentifikasyon .....	24
4.3. Kullanılan Besiyerleri .....	24
4.3.1. Kanlı Agar Besiyeri .....	24
4.3.2. Eosin Metilen Blue (EMB) Agar Besiyeri .....	25
4.3.3. Çukulatamsı Agar .....	25
4.4. Bakterilerin İdentifikasyonunda Kullanılan Biyokimyasal Testler .....	26
4.4.1. Triple Sugar Iron Agar .....	26
4.4.2. Simmon's Sitrat Agar .....	27
4.4.3. Üre Agar .....	27

4.4.4. İndol (SIM Medium) Besiyeri .....	28
4.4.5. Oksidaz Testi .....	28
4.5. Antibiyotik Duyarlılık Testleri .....	29
4.5.1. Disk Difüzyon Yöntemi .....	29
4.5.2 E-Test Yöntemi.....	30
5. BULGULAR.....	33
6. TARTIŞMA .....	35
7. KAYNAKLAR.....	46
8. ÖZGEÇMİŞ .....	57

## TABLolar LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Hastane infeksiyonu etkenlerinin infeksiyon odağına göre oransal dağılımı .....	11
<b>Tablo 2.</b> <i>P. aeruginosa</i> 'da mutasyonlara bağılı direnç türleri .....	23
<b>Tablo 3.</b> <i>P. aeruginosa</i> ve <i>S. maltophilia</i> suşlarının duyarlılık testlerinde kullanılan antibiyotiklerin CLSİ tarafından önerilen duyarlılık zon çapları .....	30
<b>Tablo 4.</b> CLSİ tarafından MİK dağılımına göre önerilen duyarlılık sınırlar .....	31
<b>Tablo 5.</b> Çalışılan <i>P. aeruginosa</i> ve <i>S. maltophilia</i> suşlarının soyutlandığı klinik örneklerle göre sayısal dağılımı .....	33
<b>Tablo 6.</b> Çalışılan <i>P. aeruginosa</i> ve <i>S. maltophilia</i> suşlarının soyutlandığı örneklerin kliniklere göre sayısal dağılımı .....	34

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Kolistinin moleküler yapısı .....	15
Şekil 2. RND pompa sistemi .....	22
Şekil 3. Bir Pan-R <i>P. aeruginosa</i> suşunun disk difüzyon ile yapılan antibiogram görüntüsü .....	32
Şekil 4. Bir Pan-R <i>P. aeruginosa</i> suşunun kolistin direnci .....	32
Şekil 5. Pan-R <i>P. aeruginosa</i> suşlarının kolistin MİK dağılımı .....	35
Şekil 6. Pan-R <i>S. maltophilia</i> suşlarının kolistin MİK dağılımı .....	35

## 1. ÖZET

Çoklu dirençli bakteriler, özellikle hastanede yatan ve genel durumu kötü hastalar için önemli bir sağlık riski oluşturmaktadır. Rasyonel olmayan antibiyotik kullanımı ve standart infeksiyon kontrol önlemlerinin yeterince uygulanmaması sonucu bu tür direnç fenotipleri hızlı bir yayılım göstermiş ve Türkiye ile birlikte birçok ülkede ciddi bir tedavi sorunu olarak ortaya çıkmıştır.

Gram negatif bakterilerde gelişen çoklu direnç fenotipleri nedeniyle polipeptit yapılı bir antibiyotik olan Kolistinin (Polymxin-E) önemi tekrar artmaya başlamıştır. Ancak, ülkemizde aşırı dirençli suşlara karşı bu antibiyotiğin etkinliğini birdiren çalışma sayısı oldukça kısıtlıdır.

Bu çalışmada, Ocak 2004 ve Şubat 2007 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında soyutlanan ve Clinic Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilen tüm antipseudomonal antibiyotiklere karşı disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyogramda dirençli olduğu saptanan 57 *Pseudomonas aeruginosa* ve 10 *Stenotrophomonas maltophilia* suşunun Kolistin duyarlılığı Etest (AB Biodisk) yöntemi araştırılmıştır.

Kolistinin *P. aeruginosa* ve *S. maltophilia* suşlarına karşı etkinliği sırasıyla %56.1 ve %40 olarak saptanmıştır. *P. aeruginosa* suşlarının Kolistin için ölçülen MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 2 µg/ml ve 16 µg/ml; *S. maltophilia* suşlarının Kolistin için ölçülen MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri ise 4 µg/ml ve ≥256 µg/ml olarak bulunmuştur.

Bu sonuçlar ışığında; Kolistinin, çalışılan *pseudomonas* ve *stenotrophomonas* suşlarına karşı etkinliği orta düzeyde olduğu görülmüştür. Bilimsel literatürle karşılaştırıldığında çalışmamızda daha yüksek direnç sıklığı dikkati çekmektedir. Çalıştığımız suşların pan-antibiyotik dirençli olmaları nedeniyle çoklu direnç genlerini taşımaları, elde ettiğimiz bu düşük duyarlılık sonuçlarının başlıca nedeni olarak düşünülmüştür.

Ortaya çıkabilecek ciddi yan etkiler göz önüne alındığında, pan-antibiyotik dirençli non-fermentatif ajanlara karşı Kolistinin kullanımı öncesi, in vitro etkinliğinin saptanması faydalı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, Kolistin, Disk-Difüzyon, Etest.

## 2. ABSTRACT

### **The Investigation of In Vitro Colistin Activity, Which Is One of the Last Choice Agents, Against Pan-Antibiotic Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* and *Stenotrophomonas Maltophilia*.**

Multiple drug resistant bacteria is bearing high risk particularly for hospitalized patients who are with worse clinic conditions. Inappropriate antibiotic management and inadequate execution of standard infection control measurements have yielded rapid dissemination of these resistant phenotypes and emerged as a serious therapeutic problem in many countries and as well Turkey.

The clinic importance of colistin (polymixin-E) which is a polypeptide antibiotic has recently been increasing due to development of multiple drug resistance phenotypes among gram negative bacteria. However, there is limited data about the activity of colistin for multiple drug resistant bacteria in our country.

In this study, colistin susceptibility was investigated with Etset (AB Biodisk) method for 57 *Pseudomonas aeruginosa* and 10 *Stenotrophomonas maltophilia* which were determined as pan-antibiotic resistant in disk diffusion test, performed against to Clinic Laboratory Standards Institute (CLSI) suggested antibiotics, isolated in Firat University Medical Faculty Microbiology and Clinic Microbiology Laboratory between January 2004 and February 2007.

Colistin activity against to *P. aeruginosa* and *S. maltophilia* strains were found as 57.1% and 40%, respectively. MIC<sub>50</sub> ve MIC<sub>90</sub> values of colistin for

*P. aeruginosa* and *S. maltophilia* were 2µg/ml and 16 µg/ml; 4 µg/ml and ≥256 µg/ml, orderly.

Regarding to our results, we determined that colistin was moderately active against to studied *P. aeruginosa* and for *S. maltophilia* strains. Our resistance rates were regarded as higher when considered with the findings in the scientific literature. The main reason of these low susceptibility rates obtained was considered as the multiple resistance gene accomodation of the studied pan-antibiotic resistant starins.

When concerning with the possible side effects may emerge, it will be benefit to perform in vitro susceptibility test before administration of colistin.

**Key Words:** *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, Colistin, Disc Diffusion, Eest.

### 3. GİRİŞ

Antibiyotiklere karşı direnç gelişimi, antibiyotiklerin evrimi ile birlikte olmuştur. 1930-1940'lı yıllarda penisilinin kullanıma girmesiyle bakteriyel hastalıkların tedavisinde büyük bir ilerleme sağlanmıştır. Hastalık etkeni mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç kazanabilmeleri ve bu direncin yerel değişiklikler gösterebilmesi, antibiyotik kullanımının en önemli zorluklarından biridir [1].

Nozokomial enfeksiyonlar, maliyet artışı, hastalar için morbidite ve mortalite artışı ile birlikte hastanede yatış süresini uzatarak önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir [2, 3]. Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 2 milyon hastane enfeksiyonu geliştiği ve bununda yaklaşık 4 milyar USD ek maliyete ve yıllık 80.000 ölüme neden olduğu bildirilmektedir [4]. İngiltere'de ise bu rakamın yaklaşık 2 milyar USD olduğu hesaplanmıştır [5]. Ayrıca hastane enfeksiyonlarının oluşturduğu ek maliyetin hasta başına 1500-2000 USD olduğu, pediatrik hastalarda bu rakamın 10.000 USD'yi aştığı vurgulanmaktadır [6, 7]. Hastane enfeksiyonlarının yol açtığı morbidite ve mortalitenin yanı sıra en kolay ölçülebilen parametre hastanede yatış süresinde gözlenen uzamadır. Değişik çalışmalarda hastanede ek yatış süresinin 4-33 gün olduğu bildirilmiştir [3, 8, 9]. Nozokomial enfeksiyonların neden olduğu ek mortalite hızlarının ise % 4 ile % 33 arasında değiştiği saptanmıştır [3, 8, 10].

Önemli bir hastane enfeksiyonu etkeni olan *P. aeruginosa* ve son zamanlarda önemi gittikçe artan *S. maltophilia*, hızlı antibiyotik direnci kazanması ve çoklu direnç geliştirmesinden dolayı neden oldukları enfeksiyonlarda yüksek mortaliteye sahiptir [11, 12, 13].

Mikroorganizmalar duyarlı oldukları antibiyotiklere karşı farklı mekanizmalarla direnç kazanabilmektedir. Bunlardan en sık kullanılan mekanizma, ilacı tahrip eden enzimlerin sentezlenmesidir [14]. Ayrıca, antibiyotiğin hedef molekülünde değişiklik oluşturması, permeabilitenin azalması veya eflüks sistemleri ile hücreye giren ilaç miktarlarının azaltılması diğer sık rastalanan direnç mekanizmaları olarak sayılabilir [14, 15].

Gerek gram pozitif ve gerekse gram negatif patojenlerin neden olduğu nozokomiyal enfeksiyonların tedavisi için günümüzde artık yüksek potensli veya son seçenek antibiyotikler kullanılmaktadır. Bu durum, direnç sorununu iyice arttırarak karbapenem dirençli gram negatif bakteriler ve glikopeptid dirençli gram pozitif patojenlerin ortaya çıkışını indüklemiştir [11 - 15].

Son yıllarda çoklu dirençli gram negatif bakterilerin neden olduğu ve yüksek mortalite ile seyreden enfeksiyonların prevalansındaki artış nedeniyle tıp literatüründe alternatif bir ajan olarak kolistin gündeme gelmiştir [16, 17]. Yetmişli yıllarda daha sık kullanıyorken potansiyel yan etkileri nedeniyle kullanım tercihi azalan bir ilaç olan Kolistin etkinliği hakkında değişik ülkelerden yapılan çalışmaların sayısı artmaktadır. Ancak, ülkemizde aşırı dirençli gram negatif patojenlere karşı kolistin etkinliğini bildiren çalışma sayısı oldukça sınırlı olup şimdiye kadar pan-antibiyotik dirençli gram negatif çomaklar için Kolistin etkinliğini bildiren çalışma ise henüz yapılmamıştır.

Bu çalışmada tıp merkezimizde soyutlanan ve pan-antibiyotik dirençli bakteri olarak tanımlanan pseudomonas ve stenotrophomonas türü bakterilerin in vitro kolistin duyarlılığının araştırılması ve elde edilen sonuçların literatür ışığında yorumlanması amaçlanmıştır.

### 3.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Nonfermantatif, oksidaz (+), küçük, bazen ikişerli, bazen zincir oluşturacak gibi fakat çoğu kez tek tek görülen sporsuz, uçlarındaki tek, nadiren 2-3 adet kirpikleriyle çok hareketli, gram (-) çomaklardır. Her besiyerinde (Mc Conkey dahil) ürerler. Optimal 37 °C de fakat aynı zamanda oda ısısında ve 41°C'de de üreyebilir. Sporsuzdurlar. Bazıları hücre dışına alginat saldıkları için mukoid koloniler yaparlar. % 5 koyun kanlı agarda R koloni tipinde beta hemoliz yaparlar. Kültürlerinde tatlımsı, aromatik meyve, olgun üzüm ya da trimetilamin kokusuna benzer bir özel koku oluştururlar [18].

*Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin çoğu mavi-yeşil bir ekstrasellüler pigment olan piyosiyenin üretirler. Bu pigment sadece aerop ortamda oluşur. Bu pigmenti başka hiçbir bakteri oluşturmadığından görülmesinin önemli tanı değeri vardır. *P. aeruginosa*'nın bazı kökenleri başka pigmentlerde oluşturabilirler. Bunlar piyoverdin (veya fluorescein) wood ışığında yeşil floresans verir [19].

Pyorubin kırmızı renkte ve pyomelanin kahverengi pigmentlerdir. Az sayıdaki kökenler'de pigment oluşturmazlar [19].

*Pseudomonas aeruginosa*'a insanlarda ve özellikle çeşitli nedenlerle savunma mekanizmaları aksamış kimselerde önemli hastalıklar oluşturur. Antiseptiklerden birçoğuna ve antibiyotiklere dirençli olduğundan hastane ortamından kolayca yuvalanırlar. Çeşitli hastane infeksiyonlarına neden olurlar. Bunlar [19, 20];

- Yanık yarası infeksiyonları,
- Kronikleşmeye meyilli idrar yolları infeksiyonları,
- Menenjitler,

- Kornea ülseri,
- Panoftalmi,
- Bronşit,
- Bronkopnömoni,
- Septisemi,
- Orta kulak infeksiyonları,
- Çocuklarda diyareler,
- Kistik fibrozis ve diğer infeksiyonlardır.

### **3.2. *Stenotrophomonas maltophilia***

Pseudomonas'lardan oksidaz negatif olmasıyla ayrılır. Hastane ortamında ve altta yatan bir hastalığı olan hastalarda idrar yolu enfeksiyonları, bakteriyemi, pnömoni, menenjit gibi enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojen bir bakteridir [21, 22]. Antibiyotik duyarlılık profili *S. maltophilia*'nın kendine özgüdür. *P. aeruginosa*'ya etkili birçok beta laktam antibiyotiğe ve aminoglikozitlere dirençlidir. Bu nedenle geniş spektrumlu bu antibiyotiklerin kullanımı *S. maltophilia* kolonizasyon riskini artırır. *Stenotrophomonas maltophilia*, genellikle pseudomonasların dirençli olduğu trimetoprim/sülfametoksazole (ko-trimoksazol) duyarlı, karbapenemlere ise %60 sıklıkla dirençlidir. Etkili olabilecek diğer antibiyotikler tikarsilin/klavunat, siprofloksasindir [21, 22].

### **3.3. Nozokomiyal İnfeksiyonlar**

Hastalar hastaneye başvurduktan sonra gelişen ve başvuru anında inkübasyon döneminde olmayan veya hastanede gelişmesine rağmen bazen taburcu olduktan sonra ortaya çıkabilen infeksiyonlara hastane infeksiyonu

denilir. Bu tür infeksiyonlar genellikle hastaneye yattıktan 48-72 saat sonra ve taburcu olduktan sonra ilk 10 gün içinde oluşurlar [23, 24].

Hastane infeksiyonları tıptaki gelişmelerle birlikte ortaya çıkan, tüm dünyayı ilgilendiren önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır [25, 26].

Artmış antibiyotik kullanımı (flora değişikliği, çoklu-dirençli patojenler) gibi mikrobiyal faktörler, yaş, metabolik ve immünsüpresyona yol açan bozukluklar, immünsüpresif ilaçlar travma-yanık gibi konakçı faktörleri, cerrahi uygulamalar, invaziv girişimler (kateterizasyon, entübasyon vb.), el yıkamama gibi hijyenik ve çevresel faktörler hastane infeksiyonları oluşumunda önemli faktörlerdir. Hastane infeksiyonları [25, 26];

- Hastane kalış süresinde uzama,
- Morbiditede artış,
- Yaşam kalitesinde bozulma,
- Mortalitede artış,
- İşgücü ve üretkenlik kaybı,
- Maliyet artışlarına neden olur

Ülkemizde yapılan değişik çalışmalarda, hastane infeksiyonlarının, hastanede yatış süresinde ortalama 10 gün uzama, % 16 mortalite ve ortalama 1500 USD ilave maliyete yol açtığı bildirilmiştir [27].

19. yüzyılın ortalarında el yıkamanın öneminin anlaşılması ile başlayan hastane infeksiyonları kontrol programları 1970’li yıllarda ABD’de her hastanede infeksiyon kontrol hemşiresi ve hastane epidemiyoloğu bulunması, “National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS)” sisteminin kuruluşu ve 1976 yılında “Joint Commission for Accreditation of Healthcare Organizations (JCAHO)” nun;

hastanelerin akreditasyonu için infeksiyon kontrol aktivitelerinin organizasyonu, sörveyans, rapor hazırlanması verilerin değęlendirilmesi vb. ile ilgili standartların belirlenmesiyle gelişmiştir. Yine ABD’de yapılan “Study on the Efficacy of Nosocomial Infection Control (SENIC)” çalışmaları ile maliyet - etkin çalışmalar oldukları tespit edilmiştir [23, 24].

Yurt dışında hastane kontrol çalışmaları bu şekilde hızla gelişirken ülkemizde de ilk kez 1984 yılında Hacettepe Üniversitesi ve 1985 yılında İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültelerinde “hastane infeksiyon kontrol komiteleri” kurulmuş ve bu alandaki çalışmalar başlamıştır. 1996 yılında TÜBİTAK destekli bir proje olarak başlayan Türkiye’de ulusal bir hastane infeksiyon takip ve kontrol projesi (Noso Line) ile ulusal bazdaki çalışmalar hız kazanmıştır. Aynı proje halen 2000 yılında kurulan hastane infeksiyonları derneği çatısı altında yürütölmektedir ve 2003 yılı sonu itibarı ile 60 merkez bu çalışmalara katılmaktadır [27, 28].

Hastane infeksiyonları yataklı sağlık kurumlarındaki en önemli kalite göstergelerinden biridir. Hastane infeksiyonları hasta güvenliği çalışmalarının bir parçası haline gelmiştir [27, 28]. İnfeksiyon yerine göre en sık izole edilen nozokomiyal patojenlerin dağılımı Tablo 1’de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Hastane infeksiyonu etkenlerinin infeksiyon odağına göre oransal dağılımı (%) [29, 30, 31]

<b>Üriner Sistem</b>	<b>%</b>	<b>Pnömoni</b>	<b>%</b>
<i>E. coli</i>	31.6	<i>P. aeruginosa</i>	23
<i>P. aeruginosa</i>	18.7	<i>A. baumannii</i>	22
<i>K. pneumoniae</i>	10.3	<i>K. pneumoniae</i>	17
<i>A. baumannii</i>	9.6	<i>S. aureus</i>	15
<i>E. faecalis</i>	3.8	<i>E. coli</i>	5

<b>Bakteriyemi</b>	<b>%</b>	<b>Cerrahi Alan</b>	<b>%</b>
<i>A. baumannii</i>	17.3	<i>A. baumannii</i>	29.3
<i>P. aeruginosa</i>	14.4	<i>S. aureus</i>	27.5
<i>K. pneumoniae</i>	14.4	<i>P. aeruginosa</i>	8.6
<i>S. aureus</i>	13.4	<i>E. coli</i>	6.8
<i>S. epidermidis</i>	5.7	<i>E. faecalis</i>	5.1

Özellikle son yıllarda, yeni patojenlerin ortaya çıkması ile mikrobiyoloji laboratuvarlarının yapmış olduğu etken tespiti ve uygun antibiyotik duyarlılığının standartlara uygun olarak bildirilmesi önem arz etmektedir. Dolayısı ile klinik mikrobiyologların 3 temel görevi vardır;

1. Rutin tanısal işlemlerin yapılması ve sonuçlandırılması,
2. Gerekli hallerde klinisyenler ile hasta sonuçları konusunda temas,
3. İnfeksiyon kontrolü ile ilgili çalışmalara katılmaktır [32, 33, 34].

### **3.4. CLSI Tarafından Önerilen Antipseudomonal Antibiyotikler [35]**

#### **3.4.1. Beta-Laktamlar**

İlk keşfedilen antibiyotik olan penisilin ile başlayan beta-laktam serüveni zamanla temel yapı esas alınarak geliştirilmiş ve bugün oldukça ileri bir noktaya gelmiştir. Tüm dünyada en çok kullanılan antibiyotiklerdir [36]. Ökaryotik hücre yapısına karşı olan düşük yan etki insidansı, tüm yaş gruplarında uygulanabilmeleri ve neredeyse tüm bakteriyel kökenli infeksiyonlarda kullanılabilmesi, üstün etkinlikleri, geniş spektrum ve güçlü bakterisid etkilerinin olması bu yoğun tercihin altında yatan sadece birkaç nedendir. Ancak ne yazık ki bu aşırı tercih ediliş, beraberinde de hızlı bir direncin ortaya çıkmasına neden olmaktadır [36].

Beta-laktam antibiyotikler başlıca 5 grupta toplanabilir [36]. Bunlar;

1. Penisilinler
2. Sefalosporinler
3. Monobaktamlar
4. Karbapenemler
5. Betalaktamaz inhibitörler (klavulonik asit, sulbaktam, tazobaktam)

Tüm beta-laktam antibiyotikler bakterilerin sitoplazmik membranı üzerinde bulunan ve bakteri hücre duvarında peptidoglikan sentezinden sorumlu olan, aynı zamanda penisilin bağlayıcı protein (PBP) adı verilen proteinlere bağlanarak etkilerini gösterirler. Antibiyotik, bu moleküle bağlandıktan sonra bakteri hücre duvar sentezi gerçekleştirilememekte ve bakteri osmotik şartlar altında yapısını devam ettiremeyerek veya bölünme esnasında gerekli olan

sentezin yapılamaması sonucu parçalanarak ölmektedir [37]. Pseudomonas ve diğer non-fermentatif etkenler için önerilen başlıca beta-laktam antibiyotikler şunlardır [35]:

1. Piperasilin
2. Seftazidim
3. Aztreonam
4. Sefepim
5. Karbapenemler
6. Piperasilin-Tazobaktam
7. Tikarsilin-Klavulonik Asit

### **3.4.2. Aminoglikozitler**

Kimyasal yapıları aminosiklitol halkasına 2 veya daha fazla aminoşekerin glikozit bağıyla bağlanmasından oluşurlar. Aminoglikozitler genel olarak ribozomların 30s subünitine bağlanarak, mRNA'daki genetik bilginin yanlış okunmasına ve protein sentezinin inhibe olmasına yol açar. Diğer protein sentezini inhibe eden antibiyotiklerin bakteriyostatik olmalarına rağmen aminoglikozitlerin bakterisidal olmaları, protein sentezini inhibe etmelerinin yanısıra, bakterinin sitoplazmik membran yapısını da bozmalarına bağlıdır [38]. Mikroorganizmalar arasında aminoglikozitlere karşı direnç çoğunlukla amikasin asetil-transferaz enzimlerini kodlayan genlerin klonal veya plazmidler aracılığı ile yayılımı sonucu olmaktadır. Parenteral uygulanırlar. Serumda yarı ömrü 6-12 saat arasında değişir. İdrar başta olmak üzere çeşitli vücut sıvıları ile atılırlar ve BOS'a geçişleri iyi değildir [38].

Pseudomonas ve diğer non-fermemntatif etkenler için önerilen başlıca aminoglikozit antibiyotikler şunlardır [35]:

1. Gentamisin
2. Netilmisin
3. Tobramisin
4. Amikasin

### **3.4.3. Kinolonlar**

İlk kinolon olan nalidiksik aside C-7 pozisyonunda piperazin halkası eklenmesi ile siprofloksasin türetilmiştir [39].

Bakterilerin DNA Giraz enziminin gyr-A kısmına bağlanarak bu enzimi dolayısı ile de DNA sentezini bozarak bakterisid etki gösterir. *Enterobacteriaceae* ailesi başta olmak üzere neredeyse tüm gram olumlu ve olumsuz basterilere karşı etkinlik gösterebilmektedir. Dolayısıyla hemen hemen tüm vücut bölge infeksiyonlarında kullanılabilir. *P. aeruginasa*'ya karşı en etkin kinolon halen siprofloksasin olup; ikinci etkin molekül ise 3. kuşak kinolonlardan olan ofloksasindir [36, 37].

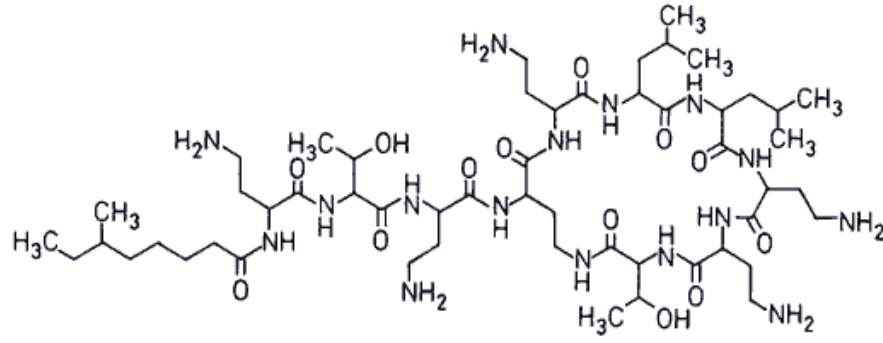
Oral olarak alımı ile gastro intestinal sistemden % 70-80 oranında emilir. Yaklaşık olarak 2-3 saat sonra serumda maksimal konsantrasyona erişir. Renal yoldan atılımı olan siprofloksasinin % 40-50'si idrarla değişmeden elimine edilir [39].

Bakterilerdeki bazı mutasyonlar sonucu gyr-A bölgesindeki yapısal değişim ile ilacın bağlanması azalmakta böylelikle kinolonlara karşı direnç gelişmektedir [36, 37].

#### **3.4.4. Kolistin (Polymxin E)**

Polipeptid yapılı antibiyotiklerdendir. Bu kompleks bir yapıdır. Fazla polar olan peptid grubu bir yağ asidine bağlanmıştır. Bu nedenle moleküllerinde hidrofilik ve lipofilik nitelikte iki ayrı grup bulunur. Deterjan özelliği bulunan yüzeyde aktif maddelerdir. Bakteri hücresinin sitoplazmik membranının permeabilitesini artırmak suretiyle bakterisid etki yaparlar. Diğer bir bakterisid antibiyotik grubu olan penisilinlerden farklı olarak, gelişmesini tamamlamış ve üremesi durmuş bakterileri de yok ederler. Tedavi edici dozlarda sistemik olarak verildikleri takdirde konak hücreleri üzerinde de toksik etkisi vardır. Konak hücresi ile bakteri arasında fazla selektiflik göstermezler [40, 41].

Bin dokuz yüz elli yılında Japonya’da *Bacillus colistinus*’tan Polymxin-E diğer adıyla kolistin elde edilmiştir. Polymxinler kimyaca, bir amid bağı ile metil-6-oktanoik aside bağlanmış dekapeptidten ibarettir. Dekapeptid’in yedi amino asidi bir halka oluşturur ve bu halkaya diğer üç amino asidin yaptığı lineer zincir bağlanmıştır. Polymxin B ve Polymxin E arasında tek aminoasit farkı vardır [40, 41]. Kolistinin moleküler formülasyonu  $2(C_{52}H_{98}N_{16}O_{13}) \cdot 5(H_2SO_4)$  olup; moleküler yapı Şekil 1’de gösterilmiştir [40].



Şekil 1. Kolistinin moleküler yapısı [40]

Kolistinin klinik kullanımı daha çok 70’li yıllarda ABD ve Avrupa ülkelerinde olmuştur [42]. CLSI (NCCLS) ilk olarak 1970 yılında yayımladığı önerilerde Kolistin için duyarlılık sınırları vermiş ancak 1981 yılından itibaren kullanımı artık neredeyse yok denecek kadar azaldığı için rutin duyarlılık kriterlerinden geri çekmiştir [43]. Kullanımının dramatik olarak azalmasının nedeni bu ilaca karşı gelişen antimikrobiyal direnç değil, ilacın indüklediği nefro ve nöro toksisitedir [42]. Ayrıca, 80’li yıllardan itibaren daha etkin ve yan etki insidansı ciddi oranda az olan 3. kuşak sefalosporinlerin; ve takip eden yıllarda mükemmel antibakteriyel etkinlikleri ile karbapenemlerin kullanıma sunulması Kolistinin tamamen kullanımdan kalkmasına yol açmıştır [42].

Antibakteriyel spektrumu oldukça dardır. Sadece gram negatif aerobik basiller karşı etkilidir. En etkin olduğu türler shigella, pseudomonas, enterobacter, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli*’dir. Anaerobik ajanlara karşı kesin etkisizdir [16].

Kolistin, sülfat veya metilsülfat tuzu şeklinde kullanılır. Son şekline “kolistimetat-sodyum” adı verilir. Sülfat tuzu ağızdan, kolistimetat ise parenteral olarak kullanılır [40, 41].

Kolistinin klinik kullanımı, özellikle aşırı dirençli non-fermentatif ajanların neden olduğu ve klasik tedavilere cevap alınamayan olgularla sınırlıdır. Neden olduğu ciddi yan etkiler de göz önüne alındığında uzun hayat beklentisi olmayan ve çoğunlukla terminal dönem hastaların akut infeksiyonlarında kullanımı önerilmektedir. Kistik fibrozis hastalarında sık tekrarlayan pseudomonas ve burkholderia türü bakterilerin neden olduğu alt solunum yolu enfeksiyonları, bilimsel literatürde belirtilen en sık Kolistin kullanılan hastaları oluşturmaktadır [16, 40-42].

Ağız yolundan alındığında gastrointestinal kanaldan çok az absorbe olur. Bu yoldan barsak antiseptiği olarak da kullanılır. Bu amaçla günde 300-420 mg dozunda (3-4 kezde olmak üzere) verilir. Kolistimetat'ın intramüsküler injeksiyon yerinden absorpsiyonu ve böbrekten itrahi yavaş olur. Tek bir dozunun yaptığı etkin kan düzeyleri 8 saat kadar devam eder. İntramüsküler yoldan günde 2,5-5 mg/kg dozunda kullanılır ve bu doz 2 kezde verilir. Duyarlı bakterilere bağlı ağır infeksiyon hallerinde 75 mg dozunda intravenöz yoldan yavaş infüzyon suretiyle verilebilir. İntramüsküler verilişte daha az ağrı yaptığından Polimiksin-B'ye tercih edilir [40, 41].

Parenteral uygulaması halinde, görme bozukluğu, ağız etrafında ve bazen ekstremitelerin uç kısımlarında parestezi gibi nörotoksik semptomlara neden olabilmektedir. Özellikle böbreklerin toplayısı sistem, glomerül epileri ve papiller hücrelerine olan zararlı etkilerinden dolayı nefrotoksik olarak kabul edilir. Günlük mutad dozlarda verilse bile sık sık albuminüri, silendirüri, hematüri, NPN'de artma yapabilir. Bu belirtiler genellikle tedavinin 4-5'inci günü ortaya çıkar. Böbrekte yaptığı patolojik lezyonlar akut tübüler nekroz şeklinde olduğu gibi,

interstisyel nefrit şeklinde de olabilir. Histamin açığa çıkması nedeniyle yüz, boyun ve göğüs bölgesinde diffüz kızarıklıklara (Flushing reaksiyonu) neden olabilir. Nöromüsküler blok ve buna bağlı solunum felci yapabilir. Bu durum İ.V. kalsiyum glukonat injeksiyonu ile geri döndürülebilmektedir [16, 40-42, 44].

Nefrotoksik ve diğer nörotoksik yan etkilerin kalıcı olup-olmadığı konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Kolistin, bakteri hücrelerine “self-promoted uptake” sistemi ile alınır ve lipopolisakkarit (LPS) üzerine bağlanarak aktivitesini gösterir [45, 46]. Sadece gram negatif bakterilere etkili olmasının moleküler mekanizması LPS molekülüne spesifik olarak çalışmasından dolayıdır. Nikas [45] ve Hancock [46] non-fermentatif ajanlarda Kolistin direncinin dış membran proteinlerinden olan OprH’in mutasyonu sonucu ilacın bakteri LPS’si üzerindeki bağlanma bölgesinin  $Mg^{++}$  iyonlarınca bloklanması sonucu geliştiğini bildirmişlerdir. Bu mekanizmanın aktivasyonu ile sadece Kolistin direnci değil, Polymxin, aminoglikozit ve EDTA gibi antibakteriyel ajanlara da ko-direnç ortaya çıkmaktadır [47].

### **3.5. Antibiyotik Direnci**

Antibiyotiklerin birçoğu mikroorganizmalar tarafından üretilir. Dolayısı ile bu mikroorganizmalar kendi oluşturdukları antibiyotiklere doğal dirençlidir [48].

Penisilinin kullanıma girmesinden sonraki 40 yılda 20 antibiyotik sınıfı keşfedilmesine rağmen, 1980 yılından sonra çok az sayıda önemli antibiyotik keşfedilmiştir. Direnç sorununu aşacak antibiyotiklerin geliştirilmesinin direnç

gelişimine göre daha yavaş olması ve önemli miktarda ekonomik kaynak gerektirmesi konunun önemini ortaya koymaktadır [48, 49].

### **3.5.1. Antibiyotik Direncinin Moleküler Temeli**

#### **3.5.1.1. Doğal Direnç**

Bakteriler bir antibiyotiğe yapısal olarak dirençli olabilir. Örneğin bir streptomyces kendi antibiyotiğine karşı dirençten sorumlu genlere sahiptir. Gram negatif bakterilerin bazı antibiyotiklere karşı permeabilite bariyeri oluşturan bir dış membran vardır. Bazı mikroorganizmaların bazı antibiyotikler için transport sistemleri yoktur veya mikroorganizmaların antibiyotik için uygun hedefi olmayabilir [48, 49].

#### **3.5.1.2. Kazanılmış Direnç**

Bakteriler daha önce duyarlı oldukları antibiyotiklere direnç kazanabilirler. Bu tip direnç bakteriyel genomdaki değişikliklerin sonucudur. Bu olay 2 temel genetik süreç tarafından yönlendirilir [48, 49];

- 1) Mutasyon ve seleksiyon (vertikal evrim)
- 2) Genlerin suşlar ve türler arasında değişimi (horizontal evrim)

Bakterilerde mutasyon ve seleksiyon yoluyla direnç geliştikten sonra, dirençten sorumlu genler genetik değişimin bir veya birkaç yoluyla diğer bakterilere aktarılır. Bakteriler gen değişimini 3 süreçle yapabilir [48, 49]:

1. Konjugasyon
2. Transdüksiyon
3. Transformasyondur.

### **3.6. Gram-Negatif Çomaklarda Antibiyotik Direnci**

#### **3.6.1. Beta-Laktam Direnci**

Bakteriler arasında beta-laktam ajanlara karşı direnç geliştirmek için 4 temel yol vardır.

1. Dış membrandan geçmek için gereken kanalların (porinler) daralması veya bazı kanalların sayısının azalması (örnek; *P. aeruginosa* 'da Opr-D ve Opr-M porinlerinde down-regülasyon ile Amp-C de-represe mutant suşlarda karbapenem direncinin sağlanması) [37, 50].

2. Periplazmik boşlukta yerleşmiş olan bazı pompa sistemleri sayesinde içeri girmiş olan antibiyotiğin aktif olarak dışarı pompalanması (örnek; *P. aeruginosa* 'da Mex-A ve Mex-B efflux sistemleri) [37, 50].

3. Beta-laktamların bağlanarak etkinliklerini gösterdikleri PBP yapısında değişiklik yaparak (konformasyonel değişim) antibiyotiğin bağlanmasının engellenmesi veya azaltılması [37].

4. Beta-laktam antibiyotikleri parçalayan “beta-laktamaz” enzimlerinin üretimi (genel beta-laktam direnci, hemen hemen tüm bakteri türlerinde görülür). Klinikte en çok gözlenen beta-laktam direncidir [37, 50].

#### **3.6.2. Aminoglikozit Direnci**

Aminoglikozid direncine yol açan mekanizmalar [37]:

1. Aminoglikozid modifiye edici enzimlerler
2. Hedef bölgesine bağlanmayı önleyen ribozomal değişiklikler,
3. Bakteriyel hücrenin ilaca karşı geçirgenliğinin kaybolması.

Direncin en sık mekanizması olan aminoglikozid modifiye edici enzimleri kodlayan genler plazmidler ve transpozonlar üzerinde mikroorganizmadan mikroorganizmaya geçebilir. Bazı aminoglikozid modifiye edici enzim genleri, özellikle amikasin direnci ile ilişkili olanlar kromozomaldır. Aminoglikozid modifiye edici enzimlerin çoğu non-selektif olarak birçok aminoglikozidi inaktive eder [37].

### **3.6.3. Kinolon Direnci**

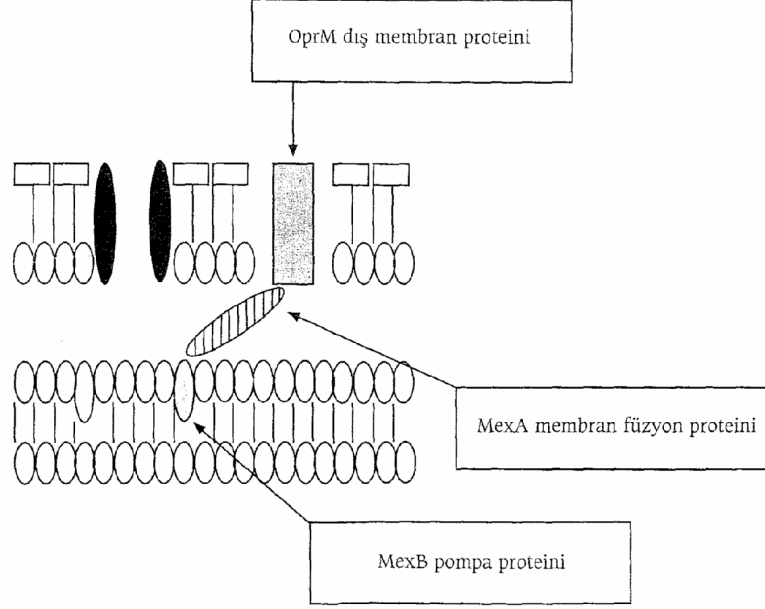
Kinolonlar bakteriyel DNA sentezi için gerekli olan DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimlerini inhibe ederek etki gösterirler. Kinolonlara karşı direnç, bu enzimleri kodlayan genlerde kromozomal mutasyonlar, porin ve eflüks mutasyonları yoluyla gelişir. Enzim mutasyonları ilacın enzime bağlandığı hedef bölgede değişikliğe yol açarak ilaca afiniteyi azaltır. Yine dış membran porin proteinlerinde değişikliğe yol açan mutasyonlar, ilacın dış membrandan girişini azaltarak hedef enzime daha az miktarda ilacın ulaşmasına yol açarlar [37].

### **3.7. *Pseudomonas aeruginosa* ve *Stenotrophomonas maltophilia* Türlerinde Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları**

*P. aeruginosa* ve *S. maltophilia* birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençli olmalarının yanısıra sık mutasyonlar ile tüm tedavilere dirençli hale gelebilmekte ve dolayısı ile aşırı antibiyotik kullanılan ortamlar olan hastanelerde ve yoğun bakımlarda önemli infeksiyonlara neden olabilmektedirler [51, 52].

*P. aeruginosa*'nın beta-laktamlara, özellikle de karbapenemlere karşı direnç geliştirmesinde, penisilin bağlayan proteinler (PBP)'in yapısında ya da afinitesinde meydana gelen değişiklikler, beta-laktamaz üretimi, porin-D eksikliği

gibi çeşitli mekanizmaların yanı sıra pompa mekanizması da rol oynamaktadır. Bu üç bölümlü pompada aşağıda gösterilen şekilde gibidir [51, 52]..



**Şekil 2.** RND Pompa Sistemi

RND pompa sistemi bir pompa proteini, bir dış membran proteini (OMP) ve membran füzyon proteini (MFP) adı verilen bir periplazmik protein bulunmaktadır.

Permeabilitenin azalmasına bağlı direnç, özellikle enzimatik direnç ve pompa (eflüx) atım sistemleri ile birleşirse önemli derecede klinik dirence yol açmaktadır. Bu durum son yıllarda özellikle *P. aeruginosa* ve *E. coli*' de bildirilmiştir [53, 54].

Sefalosporinler, karbapenemler, monobaktamlar, aminoglikozitler, florokinolonlar ve Polymxinler *P.aeruginosa*'nın doğal direncinden

etkilenmemektedir. Çoğunlukla mutasyonlar ile gelişen direnç mekanizmaları bu antibiyotikleri etkisiz hale getirebilmektedir [51].

Topoizomerazlardaki mutasyonlar florokinolon direncine; kromozomal AmpC'nin de-represyonu penisilin ve sefalosporinlere; atım pompa sistemlerinin up-regulasyonu ise birçok farklı antibiyotik grubuna dirence yol açmaktadır. Aşağıdaki tabloda *P. aeruginosa*'da mutasyonlara bağlı gelişen direnç türleri ve direnç substartları gösterilmiştir.

**Tablo 2.** *P. aeruginosa*'da mutasyonlara bağlı direnç türleri [51, 55-57]

Mekanizma	Mutasyon yeri	Fq	Direnç fenotipi										
			Carb-Tik	Pip-Azl	Caz-Azt	Cfp-Cfpr	İmi	Mer	Agl	Pm			
Afinite azalması													
Topoizomeraz II													
Topoizomeraz IV	gyrA	r/R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	parC	r/R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AmpC'nin aşırı üretimi													
Kısmi													
Tamamen	ampD	-	R	R	R	r	-	-	-	-	-	-	-
	ampD+diğer	-	R	R	R	R	-	-	-	-	-	-	-
Up-regulation													
MexAB-OprM													
MexCD-OprJ													
MexEF-OprN	nalB, nalC	R/R	R	r/R	r/R	r/R	-	r	-	-	-	-	-
MexXY-OprM	nfxB	r/R	r/R	r/R	r/R	R	-	r	-	-	-	-	-
	nfxC	r/R	r/R	r/R	r/R	r/R	r	r	-	-	r/	-	-
		r/R	r/R	r/R	r/R	r/R	-	r	R	-	R	-	-
Aminoglikozid transportunda azalma													
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	r/	-	-
											R	-	-
OprD'nin kaybı													
	oprD, nfxC	-	-	-	-	-	-	R	r	-	-	-	-
Membran değişiklikleri													
													R

Agl: Aminoglikozidler, Azl: Azlosilin, Azt: Aztreonam, Caz: Seftazidim, Carb: Karbenisilin, Cfp: Sefepim, Cfpr: Sefpirom, Fq: Florokinolon, İmi: İmipenem, Mer: Meropenem, Pip: Piperasilin, Pm: Piperasilin, Pm: Polymxin, r: Azalmış duyalılık, R: Gerçek direnç, Tik: Tikarsilin.

## 4. GEREÇ VE YÖNTEM

### 4.1. Örneklerin Alınması ve İşlenmesi

Ocak 2004 ile Şubat 2007 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi'nde çeşitli nedenlerden dolayı yatarak tedavi gören hastalardan infeksiyon etkeni olarak soyutlanan non-fermentatif gram olumsuz çomaklardan *P. aeruginosa* ve *S. maltophilia* suşları değerlendirildi. CLSI [35] önerileri doğrultusunda yapılan disk difüzyon antibiyogramda tüm antibiyotiklere dirençli bulunan suşlar için pan-antibiyotik dirençli bakteri tanısı; Deplano ve ark. [58] tarafından belirtildiği üzere tüm penisilinler, sefalosporinler, monobaktam, karbapenemler, aminoglikozitler ve kinolonlara dirençli olması ile konuldu.

### 4.2. Kültür ve İdentifikasyon

Usulüne uygun olarak alınan örnekler, türlerine göre kanlı agar, Eosin Metilen Blue (EMB) agar ve çukulatamsı agar besiyerlerine ekilerek 35 °C'de 18-24 saatlik aerobik kültüre alındı. Kan gibi steril vücut sıvıları Bactec (Becton Dickinson / US) şişelerine alınarak otomatize kan kültürü cihazında inkübe edildi. Üreme saptanan şişelerden kanlı agar ve EMB agar besiyerlerine pasaj yapılarak çoğaltıldı.

### 4.3. Kullanılan Besiyerleri

#### Kanlı Agar Besiyeri (Oxoid/İngiltere)

Triptikaz	15 gr
Soyon (Soya enzimatik hidrolizatı)	5 gr
NaCl	5 gr
Agar	15 gr
Saf su	1000 ml

**Hazırlanışı:** Bu karışım ısıtılarak eritildikten sonra 121 °C'de 15 dakika otoklavda bekletilerek steril hale getirildi. 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra defibrine koyun kanından 70 ml eklendi. Homojenize olması için karıştırıldıktan sonra steril petri kutularına dökülerek soğutuldu.

#### **EMB Agar Besiyeri (Oxoid/İngiltere)**

Pepton	10 gr
Laktoz	5 gr
Sükroz	5 gr
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2 gr
Agar	13,5 gr
Eosin Y	0,4 gr (% 2'lik eriyikten 2 ml)
Metilen mavisi	0,065 gr (% 3,25'lik eriyikten 0,2 ml)
Saf su	1000 ml

**Hazırlanışı:** Bu karışım ısıtılarak eritildikten sonra 121 °C'de 15 dakika otoklavda bekletilerek steril hale getirildi. Steril petri kutularına döküldü.

#### **Çukolatamsı Agar (Oxoid/İngiltere)**

Proteoz pepton	7,5 gr
Poli pepton	7,5 gr
Nişasta	1 gr
NaCl	5 gr
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4 gr
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 gr
Agar	10 gr
Saf su	1000 ml

**Hazırlanışı:** Bu karışım ısıtılarak eritildikten sonra 121 °C’de 15 dakika otoklavda bekletilerek steril hale getirildi. Karışımın ısı 45-50 °C olunca içine 70-100 ml steril kan eklendi. Eklenen kanın hemolize olmasını takiben steril petri kutularına (4 mm kalınlıkta olacak şekilde) döküldü.

Besiyerlerinde usulüne uygun olarak ekimi yapılan klinik örnekler inkübasyon süresi sonunda değerlendirmeye alındı. Koloni yapısı, üreme özellikleri ve gram boyama özelliklerine göre gram negatif çomak morfolojisindeki izolatlar, biyokimyasal özelliklerinin saptanması için TSİ, sitrat, üre ve indol besiyerlerine ekilerek 35 °C’de 18-24 saatlik inkübasyona alındı. Bu süre sonunda oluşan reaksiyonlar değerlendirildi.

#### **4.4. Bakterilerin İdentifikasyonunda Kullanılan Biyokimyasal Testler**

##### **Triple Sugar Iron Agar (TSİ) (Oxoid / İngiltere)**

Yeast extract	3 gr
NaCl	5 gr
Laktoz	10 gr
Sükroz	10 gr
Glikoz	1 gr
Ferrous amonium sulfat	0,2 gr
Na-thiosulfat	0,025 gr
Agar	3 gr

**Hazırlanışı:** Adı ve miktarları belirtilen maddelerin belirtildiği orandaki karışımından 47 gram tartılarak 1 litre distile suda eritildi ve pH: 7,4’e ayarlandı. Otoklavda 121 °C’de steril edildikten sonra tüplere yatık olarak döküldü.

### **Simmon's Sitrat Agar (Oxoid / İngiltere)**

Na-sitrat	2 gr
NaCl	5 gr
MgSO <sub>4</sub>	0,2 gr
Amonyum dihidrojen fosfat	1 gr
Dipotasyum fosfat	1 gr
Bromthymol mavisi	0,08 gr
Agar	15 gr

**Hazırlanışı:** Adı geçen maddelerin belirtildiği orandaki karışımından 24,2 gr tartılarak 1 litre distile suda eritildi ve pH: 6,9'a ayarlandı. Otoklavda 121°C de steril edildikten sonra tüplere yatık olarak döküldü.

### **Üre Agar (Christensen Urea Agar) (Oxoid / İngiltere)**

Pepton	1 gr
Glikoz	1 gr
NaCl	5 gr
Disodyum fosfat	1,2 gr
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,8 gr
Fenol Kırmızısı	0,012 gr
Agar	15 gr

**Hazırlanışı:** Toz halindeki karışımdan 18 gr alınarak 100 ml distile suda eritildi. pH: 6,8'e ayarlandı. Otoklavda 121°C de steril edildikten sonra % 29'luk üre solüsyonundan eklendi. 50 °C ye kadar soğuduktan sonra 900 ml distile su + Agar karışımı ile birleştirilerek tüplere dik olarak döküldü.

### **İndol (SIM Medium) Besiyeri (Oxoid / İngiltere)**

Tripton	2 gr
Pepton	6,1 gr
Ferrous amonium sülfat	0,2 gr
Na-thiosülfat	0,2 gr
Agar	30,5 gr

**Hazırlanışı:** Yukarıdaki maddelerden belirtilen oranlardaki karışımdan 39 gram tartılarak 1000 ml distile steril su içinde eritildi. pH: 7,3'e ayarlandı. Otoklavda 121 °C de steril edildikten sonra tüplere dik olarak döküldü.

TSİ besiyerindeki karbonhidratlara etki etmeyen, sitrat olumlu, üre olumsuz ve kovaks ayırıcı ile pozitif reaksiyon vermeyen izolatların sitokrom oksidaz aktivitesi test edildi.

### **Oksidaz Testi**

P-aminodimetilanilin	0,1 gr
Saf su	10 ml

**Hazırlanışı:** Yavaşça karıştırılarak homojenize edilen her iki madde ışık geçirmeyen cam bir şişeye alınarak +4 °C de saklanır. Dört numaralı filtre kağıdına bir damla bu eriyikten damlatılır. Bir öze ile alınan bakteri kolonisi ıslatılmış filtre kâğıdına sürülür. Birkaç saniye içinde menekşe moru rengine dönüşüm olması pozitif reaksiyon olarak kabul edilir.

Oksidaz testi pozitif sonuçlanan ve Mueller Hinton agar besiyerinde yeşil pigment oluşturarak üreyen izolatlar *P. aeruginosa* olarak tanımlandı.

Çalışılan suşların alt tür düzeyinde kesin identifikasyonları API ID 32 GN (Bio Merieux / Fransa) otomatize kitleri ile yapıldı.

#### **4.5. Antibiyotik Duyarlılık Testleri**

Uygun besiyerine ekim yapıp yeterli inkübasyon süreleri sonunda izole edilen ve tür düzeyinde tanımlanan bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları CLSI [51] önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Antibiyotik duyarlılık deneylerinde Mueller-Hinton agar kullanıldı.

##### **Mueller - Hington Agar (Oxoid / İngiltere)**

Et suyu	300 ml
Pepton	17,5 gr
Nişasta	1,5 gr
Agar	17 gr

**Hazırlanışı:** Karışımın üzerine 1000 ml distile su eklenerek çözünmesi için karıştırıldı. Otoklavda 121 °C’de steril edildikten sonra steril petri kutularına 4 mm kalınlığında döküldü.

##### **4.5.1. Disk Difüzyon Yöntemi**

Kültür plaklarında üremiş olan bakteri kolonilerinden steril pamuklu eküvyon yardımı ile bir miktar alınarak steril serum fizyolojik içerisinde 0,5 Mc Farland bulanıklık sağlanacak şekilde süspanse edildi. Bu süspanسیون steril eküvyon ile Mueller-Hinton agar besi yeri üzerine yaygın ekim yapıldı. Yirmi dakika kadar etüve bırakılan plakların kurumamasından sonra üzerlerine seftazidim 30 µg, siprofloksasin 5 µg, gentamisin 10 µg, amikasin 30 µg, aztreonam 30 µg,

sefepim 30 µg, imipenem 10 µg, meropenem 10 µg ve piperasilin-tazobaktam 100 µg disklerinden (Oxoid / İngiltere) yerleştirildi [51].

*S. maltophilia* için hazırlanan antibiyogram plakları 30° C de, *P. aeruginosa* için hazırlanan antibiyogram plakları ise 35 °C de inkübe edildi. Yirmi dört saatlik aerobik inkübasyonu takiben antibiyotik disklerinin etrafında oluşan inhibisyon zon çapları ölçüldü. CLSI [35] kriterlerine göre elde edilen sonuçlar Tablo 3'te da belirtilen kriterler doğrultusunda duyarlı (S) veya dirençli (R) olarak yorumlandı.

**Tablo 3.** *P. aeruginosa* ve *S. maltophilia* suşlarının antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılan antibiyotiklerin CLSI tarafından önerilen duyarlılık zon çapları [35].

Antibiyotikler	Dirençli (R) mm	Duyarlı (S) mm
Seftazidim	≤ 14	≥ 18
Gentamisin	≤ 12	≥ 15
Amikasin	≤ 14	≥ 17
Aztreonam	≤ 15	≥ 22
Sefepim	≤ 14	≥ 18
Siprofloksasin	≤ 15	≥ 21
İmipenem	≤ 13	≥ 16
Meropenem	≤ 13	≥ 16

#### 4.5.2 E -test Yöntemi

Disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıkları değerlendirilen *P. aeruginosa* ve *S. maltophilia* suşlarının çalışılan antibiyotiklere karşı direncinin MİK düzeyinde saptanması ve izolatların Kolistin duyarlılığının belirlenmesi için E-test yöntemi kullanıldı.

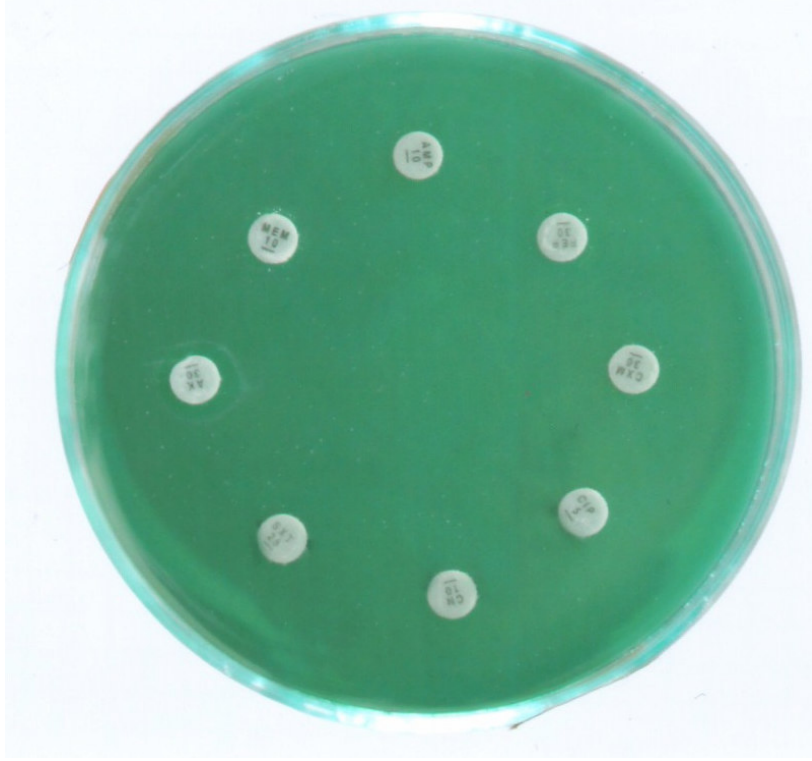
Steril serum fizyolojik içerisinde 0,5 Mc Farland bulanıklıkta süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyondan steril eküvyonlarla Mueller Hinton besiyeri yüzeyine yaygın ekim yapıldı. Plaklar kuruduktan sonra seftazidim, siprofloksasin, amikasin, aztreonam, sefepim, imipenem ve piperasilin-tazobaktam stripleri yerleştirildi. *S. maltophilia* suşları 30 °C’de 24 saat; *P. aeruginosa* suşları 35 °C’de 18 saat aerobik inkübasyona alındı. İnkübasyonu takiben E-test şeritlerinin inhibisyon elipslerinin kesiştiği noktalar okunarak MİK değerleri kaydedildi. Elde edilen sonuçlar MİK değerleri CLSI önerileri doğrultusunda değerlendirildi [35].

**Tablo 4.** CLSI tarafından MİK değerlerine göre önerilen duyarlılık sınırları.

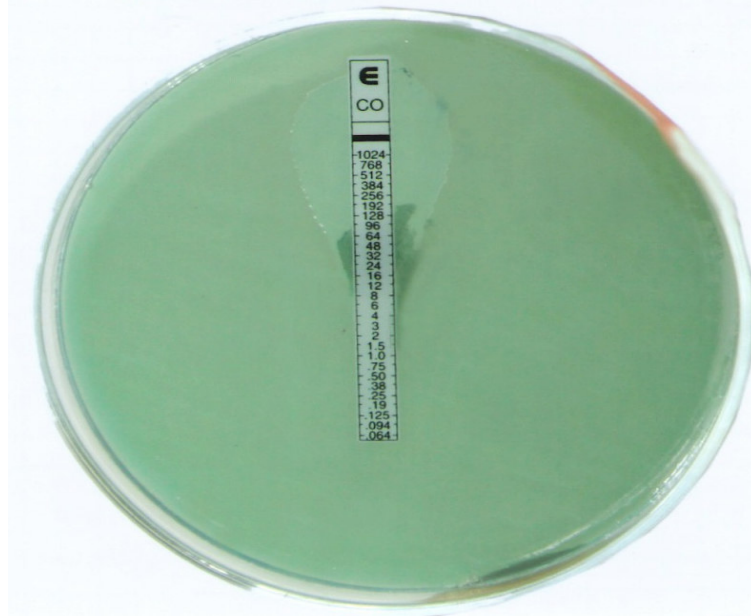
Antibiyotik	Duyarlılık Sınırları (µg/ml)	
	Duyarlı	Dirençli
Amikasin	≤ 16	≥ 64
Aztreonam	≤ 8	≥ 32
Sefepim	≤ 8	≥ 32
Seftazidim	≤ 8	≥ 32
Siprofloksasin	≤ 1	≥ 4
İmipenem	≤ 4	≥ 16
Piperasilin + Tazobaktam	≤ 64	≥ 128
Kolistin*	≤ 2	≥ 4

\*Kolistin için Duyarlılık sınırlar 1980 NCCLS’den alınmıştır [43].

Disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyogramda hiçbir duyarlılık zonu oluşturmayan izolatlar (**Şekil 3**) pan-antibiyotik dirençli olarak tanımlandı ve bu suşlar için Kolistinin Etest ile in vitro etkinliği araştırıldı.



**Şekil 3.** Bir Pan-R *P. aeruginosa* suşunun disk difüzyon ile yapılan antibiyogram görüntüsü.



**Şekil 4.** Bir Pan-R *P. aeruginosa* suşunun kolistin direnci (MİK 8 µg/ml)

## 5. BULGULAR

Ocak 2004 ile Şubat 2007 tarihleri arasında, Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda infeksiyon etkeni olarak soyutlanan non-fermentatif patojenlerden; yapılan duyarlılık testleri sonunda pan-antibiyotik dirençli olarak kabul edilen 57 *P. aeruginosa* ve 10 *S. maltophilia* olmak üzere toplam 67 adet gram negatif bakteri çalışmaya alındı. Bu suşların; % 85,1'i *P. aeruginosa*, %14,9'u ise *S. maltophilia* idi.

Çalışmaya alınan pseudomonas ve streptotrophomonas türü bakteriler idrar, kan, balgam endotrakeal aspirat ucu (ETA), çeşitli cerrahi yaralar, göz sürüntüsü, abse materyali, plevral sıvı gibi klinik örneklerden izole edildi. Bakterilerin soyutlandığı örneklerin klinik dağılımı Tablo 5'te gösterilmiştir.

**Tablo 5.** Çalışılan *P. aeruginosa* ve *S. maltophilia* suşlarının soyutlandığı klinik örneklerin sayısal dağılımı.

<b>Klinik Örnek</b>	<i>P. aeruginosa</i> (n)	<i>S. maltophilia</i> (n)
Kan	8	1
İdrar	13	2
<b><u>Solunum Sistemi</u></b>		
Balgam	7	4
Endotrakeal aspirat (ETA)	6	
Plevral sıvı eksudası	1	
Kateter ucu (endotrakeal)	2	
<b><u>Yara Örnekleri</u></b>		
Cerrahi yara	15	1
Kateter ucu	3	2
Göz sürüntüsü	1	
Abse materyali	1	
<b>Toplam</b>	<b>57</b>	<b>10</b>

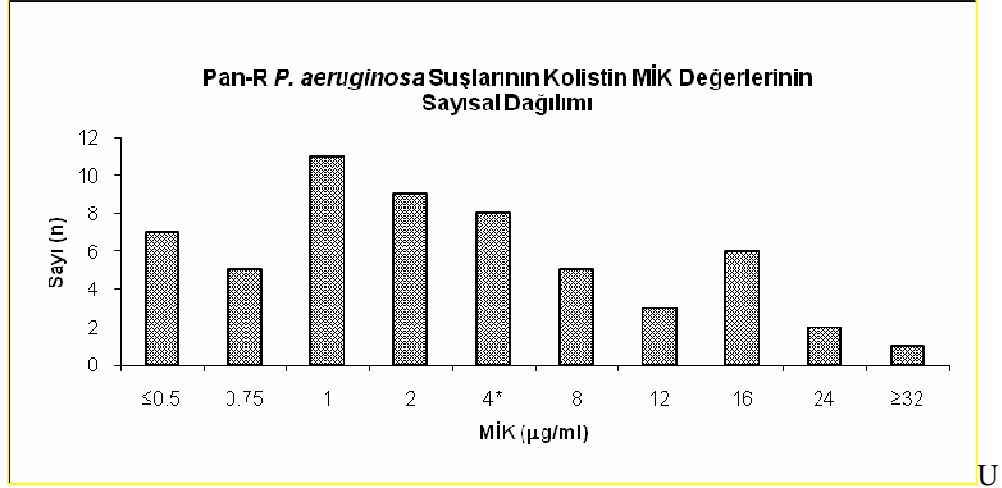
Çalışmaya alınan patojenlerin dahili ve cerrahi klinikler olmak üzere yoğun bakım ünitelerinden geldiği saptandı. İzolatların soyutlandığı klinik örneklerin gönderildiği kliniklerin sayısal dağılımı Tablo 6’da gösterilmiştir.

**Tablo 6.** Çalışılan *P. aeruginosa* ve *S. maltophilia* suşlarının soyutlandığı örneklerin kliniklere göre sayısal dağılımı.

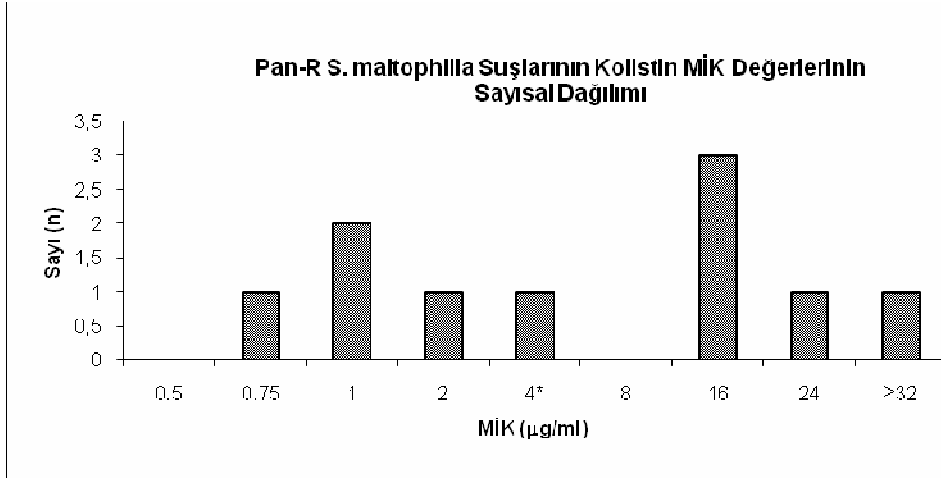
<b>Klinikler</b>		<i>P. aeruginosa</i> (n)	<i>S. maltophilia</i> (n)
<b>Dahili Tıp Klinikleri</b>	Dahiliye	5	2
	Nöroloji	7	
	Göğüs Hastalıkları	7	4
	Pediyatri	3	3
	Onkoloji	2	
	Acil Yoğun Bakım (AYB)	4	
<b>Cerrahi Tıp Klinikleri</b>	Genel Cerrahi	12	
	Plastik Cerrahi	5	
	Beyin Cerrahi	6	
	Ortopedi	2	
	Üroloji	2	1
	Kalb-Damar Cerrahisi	1	
<b>Toplam</b>		<b>57</b>	<b>10</b>

Etest ile yapılan MİK ölçümleri sonunda 57 Pan-R *P. aeruginosa* suşunun 32’si (%51.7) kolistine karşı duyarlı bulunmuştur. Geri kalan 25’inde (%48.3) değişik MİK düzeylerinde Kolistin direnci saptandı. Çalışmaya alınan *P. aeruginosa* suşlarının Kolistin MİK değerlerinin sayısal dağılımı Şekil 5’te gösterilmiştir.

Toplam 10 Pan-R *S. maltophilia* izolatlarının 4’ünde (%40) kolistin duyarlılığı saptandı. Geri kalan 6 (%60) izolat değişik MİK düzeylerinde Kolistin direnci göstermişlerdir. Çalışmaya alınan *S. maltophilia* suşlarının Kolistin MİK değerlerinin sayısal dağılımı Şekil 6’da gösterilmiştir.



Şekil 5. Pan-R *P. aeruginosa* suşlarının MİK dağılımı



Şekil 6. Pan-R *S. maltophilia* suşlarının MİK dağılımı

Çalışmaya *P. aeruginosa* suşlarının Kolistin için ölçülen MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 2 µg/ml ve 24 µg/ml; *S. maltophilia* suşlarının Kolistin için ölçülen MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri ise 4 µg/ml ve 24 µg/ml olarak bulunmuştur.

## 6. TARTIŞMA

Pseudomonaslar doğada, toprak ve sularda saprofit olarak yaşayan bakteriler olmakla beraber özellikle genel durumu kötü, organ yetmezliği bulunan, yoğun bakım desteğine muhtaç olan, geniş alan yanıkları bulunan ve immün sistemi baskılanmış hastalarda fırsatçı hastane infeksiyonlarına neden olurlar [18]. Birçok antibiyotiğe ve dezenfektan solüsyona doğal dirençli oldukları için selektif baskı sonucu bu gibi maddelerin aşırı tüketildiği hastane ortamlarında dominant hale gelerek nozokomiyal salgınlara yol açabilmektedirler. Yapılan çalışmalarda *P. aeruginosa* suşlarının %5.9 oranında nozokomiyal kan infeksiyonlarına, %10.2 oranında kateter ilişkili kan infeksiyonlarına, %22.7 oranında nozokomiyal pnömonilere, %24 oranında ventilatör ilişkili pnömonilere, %59 oranında yanık infeksiyonlarına ve %15 oranında cerrahi yara infeksiyonlarına neden olduğu bildirilmiştir [59-62].

Ürettikleri biofilm (alginat) ile mekanik yüzeylerde uzun süre canlılığını kaybetmeden yaşayabilen *P. aeruginosa* suşları, kateter, mekanik ventilatör tüpü, endotrakeal aspiratör ucu gibi tıbbi aletlerin yüzeyine yapışarak intravasküler katetere bağlı kan infeksiyonları, ventilatör ilişkili pnömoni ve nozokomiyal pnömoni gibi infeksiyonlara neden olarak hastane mortalitesinin artmasına önemli etkide bulunurlar [63]. Pseudomonasların ürettikleri biofilm, sadece cansız yüzeylere tutunmalarını kolaylaştırmakla kalmadığı gibi aynı zamanda bu bakterilerin birçok etkili dezenfektandan korunmasına da yardımcı olur. Diğer taraftan, aminoglikozitler başta olmak üzere birçok beta laktam antibiyotiğin alginat içindeki bakteriye ulaşarak öldürücü konsantrasyonlara ulaşmasını engelleyerek antimikrobiyal tedavinin etkinliğini azlatır [64].

*S. maltophilia*, özellikle son 20 yılda klinik önemi artmış bir non-fermentatif bakteridir [21]. Aşırı fiziksel koşullara, birçok antibiyotik serisine ve kimyasal dezenfeksiyona dirençli olması ve metabolizmasının oldukça yavaş oluşu ile hastane ortamlarında kalıcılığını devam ettirebilmektedir [65]. Beta-laktam antibiyotiklerin hemen hemen hepsine karşı gösterdiği yüksek düzeyli direnç sayesinde özellikle bu antibiyotiklerin aşırı kullanıldığı kliniklerde, yoğun bakım ve yeni doğan ünitelerinde salgınlara neden olduğu bildirilmiştir [66]. Yoğun bir polisakkarit ve protein içerikli biofilm tabakası oluşturması, neden olduğu infeksiyonların patogeneze katkıda bulunduğu gibi, tedavinin başarı şansını da düşüren bir faktör olarak vurgulanmaktadır [21, 66]. Özellikle pediatrik hastalarda ventilatör ilişkili pnömonin en önemli patojenlerinden biri haline gelmiştir [21].

*S. maltophilia*, seftazidim dışındaki tüm sefalosporinlere karşı dirençlidir. Bazı çalışmalarda seftazidimin etkinliği %10-66; karbapenem etkinliği %40-70; siprofloksasin etkinliği ise %10-60 arasında bulunmuştur [21, 67]. *S. maltophilia*, suşlarına karşı en etkin beta-laktam antibiyotik tikarsilin-klavulonik asit olarak bildirilmektedir. Ancak bu antibiyotiğin de tek başına etkinliği %80 civarındadır [21, 67]. *S. maltophilia* suşlarında genel olarak ko-trimoksazol direnci çok sık görülmemektedir. Tek başına ko-trimoksazol duyarlılığı %60-90 arasında olduğu saptanmıştır [21, 67]. Değişik çalışmalarda düşük duyarlılık bildirilmiş olmakla birlikte bunun en önemli nedeni olarak mutant kolonilerin artışı sorumlu tutulmuştur [21, 67].

*S. maltophilia*'nın neden olduğu özellikle ciddi infeksiyonlarında monoterapinin başarı oranı %50-60 civarındadır [68, 69]. Antibiyotiklere diğer

bakterilere göre daha dirençli olmaları ve de hastaların çoğunlukla bağışıklık sisteminde bozukluk olması nedeniyle infeksiyonlarının kontrol altına alınması oldukça güç olmaktadır [21, 65, 68]. Bakterinin metabolizmasının yavaş oluşu ve mutant kolonilerin çok sık oluşması antimikrobiyal direncin temelini oluşturur [21]. Yine metabolizmasının yavaş oluşu sayesinde dezenfektan ve antiseptik solüsyonlarda diğer bakterilere göre daha uzun süre canlı kalabilmektedirler [66].

*S. maltophilia*'nın neden olduğu ciddi infeksiyonlarında kombinasyon tedavisi önerilmektedir [21, 68, 69]. En sık başvuru kombinasyonlar, siprofloksasin, imipenem, seftazidim ve ko-trimoksazol gibi antibiyotiklerin ikili kullanımınıdır. Ancak şu ana kadar bildirilen en etkin kombinasyon tikarsilin-klavulonik asit ile ko-trimoksazolün kombinasyonu olup tedavi başarısı %90 civarındadır. Bu ikili antibiyotik tedavisine siprofloksasin veya minosiklin eklenmesi ile tedavi başarısı daha da arttırılabilmektedir [21, 66, 68].

*P. aeruginosa* suşları birçok antibiyotiği karşı doğal dirençlidir. Amoksisilin-klavulonik asit ve ampisilin-sulbaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar, 1., 2. kuşak sefalosporinlerin hepsi; 3. kuşak sefalosporinlerin çoğunluğu, sefamisinler, ko-trimoksazol, kloramfenikol ve tetrasiklin gibi sık kullanılan antibiyotiklerin *pseudomonas* suşlarına karşı rutin duyarlılık deneylerinde dahi test edilmeleri artık önerilmemektedir [35].

*P. aeruginosa* ve *S. maltophilia* suşlarının mutasyon hızları  $10^{-3}$  civarındadır [18]. Dolayısı ile çok hızlı fenotipik değişim potansiyelleri buldukları için in vitro testler de duyarlı bulunsalar dahi antimikrobiyal tedavi esnasında kullanılan antibiyotiğe direnç geliştirerek başarısız tedavilere yol açabilmektedirler [21]. Bu amaçla CLSI, *Stenotrophomonas* için yapılan duyarlılık

testinin süresini 24-48 saat olarak önererek mutant kolonilerin saptanılmasını önermektedir [35].

Değişik kaynaklarda *P. aeruginosa*'ya bağlı gelişen endokardit, selülit ve osteomyelit gibi uzun süre tedavi gerektiren infeksiyonlar esnasında kültür ve antibiyogram işlemlerinin tekrarlanarak kullanılan antibiyotiklerin etkinliklerinde değişim olup-olmadığının saptanması tavsiye edilmektedir [19].

Tedavi esnasında antimikrobiyal direnç gelişimine neden olan mekanizmalardan bir diğeri ise pseudomonas türü bakterilerin AmpC indüklenebilir kromozomal beta-laktamaz ve OXA türü kromozomal beta-laktamaz enzimlerinden üretmesidir [51]. *P. aeruginosa* suşlarının tamamı bu enzimlerden üretebilir. Özellikle sefalosporin, ampisilin-sulbaktam ve imipenem tarafından üretimi indüklenen bu enzimlerin dereprese mutant türler tarafından yoğun olarak üretilmesi sonucu tüm sefalosporinler ve aztreonam etkisiz hale gelmektedir. OXA türü enzimlerin aşırı üretimi ile birlikte eş zamanlı olarak por proteinlerin üretiminin down-regülasyonu sonucu düşük-orta düzeyli karbapenem direnci ortaya çıkabilmektedir [51].

*P. aeruginosa* ve *S. maltophilia* suşlarının antimikrobiyal direnç mekanizmalarından bir diğeri ise metallo beta-laktamaz enzimlerinden üretmeleridir. *P. aeruginosa* suşlarında ilk olarak 1991 yılında tanımlanan bu enzimlerin aktarımı plazmidler ve transpozonlarca olmakta ve yüksek düzey karbapenem direnci ortaya çıkmaktadır [70]. Ancak, bu direnci aktaran gen kasetleri üzerinde genellikle başka antibiyotik dirençleri de kodlandığı için son yıllarda pan antibiyotik dirençli suşların ortaya çıkması hızlanmıştır [71]. Gerek ülkemizden ve Avrupa'dan ve gerekse uzak doğu ülkelerinden metallo enzim

üreten ve tedavi alternatifleri ciddi olarak azalmış suşların neden olduğu infeksiyonlar veya nozokomiyal salgınlar bildirilmeye başlanmıştır [72, 73].

*S. maltophilia* diğer bir metallo enzim üreticisi olarak son yıllarda kendini göstermiştir. L1 ve L2 olarak adlandırılan metallo enzimlerini kromozomlar üzerinde kodlanmaktadır. Klavulanat ile inhibe olabilen L2 enzimine karşın L1 enzimleri bilinen herhangi bir klinik kullanımı olanaklı inhibitörle inaktif edilememektedir. Dolayısı ile *S. maltophilia* suşlarında beta-laktam tedavisinin başarı oranı düşüktür. Özellikle L2 türü metallo enzim üreten kökenlerde tikarsilin-klavulanat etkinlik gösterebilmekte; ancak, aşırı L1 türü MBL üretiminin olduğu suşlarda bu seçenek de etkisiz kalabilmektedir [21].

*S. maltophilia* kökenleri aminoglikozitlere doğal dirençlidir. Bunun moleküler temeli, membran yapısında aminoglikozit türevlerinin geçebileceği kadar büyük porların bulunmamasından kaynaklanır [21]. *Pseudomonas* türlerinde ise genellikle etki olabilen aminoglikozitlere karşı direnç gelişimi aminoglikozit modifiye eden enzimlerin üretilmesine neden olan genlerle olmaktadır. Gerek *pseudomonas* ve gerekse *stentrophomonas* türleri kinolonlara karşı GyrA mutasyonu ile direnç kazanırlar. Çalışmamızda, antimikrobiyal dirençlerin moleküler kökeninin araştırılması için genetik düzeyde çalışma yapılmamış olmakla birlikte, çalıştığımız suşların bu tür direnç genlerini biriktirmeleri sonucu pan-antibiyotik dirençli hale geldiği düşünülmüştür.

İkibinli yıllardan itibaren aşırı dirençli non-fermentatif bakterilerin neden olduğu infeksiyonların prevalansında artış görülmektedir. Çoklu ilaç direnci taşıyan bu patojenler, klinikler ve hastaneler arasında yayılmakta ve direnç genlerini *Enterobacteriaceae* ailesinin üyelerine de aktarabilmektedirler. Non-

fermentatif bakterilerden köken alan metallo enzim genlerini taşıyan *K. pneumoniae* ve *E. coli* gibi suşların bildirimleri her geçen gün artmaktadır. Nitekim pan-antibiyotik dirençli *K. pneumoniae* suşu Yunanistan'dan 2005 yılında bildirilmiştir [74]. Non-fermentatif ajanlara göre daha sık enfeksiyona yol açan bu kökenlerin pan-antibiyotik dirençli hale gelmeleri ileride oluşabilecek sağlık tehditinin büyüklüğünü ortaya koymaktadır.

İkibin beş yılında Belçika'dan bildirilen ve 9 hastayı etkileyen nozokomiyal bir pan-antibiyotik dirençli *P. aeruginosa* salgınının neden olduğu yüksek mortalite sonrası bu patojenlerin artık klinikler ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalar için acil önlem alınması gereken ciddi bir tehdit oluşturduğunu göstermiştir [58]. Tüm antibiyotik serilerine dirençli olan bu epidemik klon ile enfekte olan hastaların tedavisi için intravenöz kolistin uygulaması başlatılmış olsa da bu tedaviyi alan 6 hastadan 3'ü (%50) kurtarılamamıştır. Aynı çalışmada pan-antibiyotik dirençli patojenlerin daha çok hastane personelinin eli ile taşındığı ve klasik antiseptiklere karşı dirençli oldukları vurgulanmıştır.

Kolistin, bir polipeptid antibiyotik olup deterjan etkisi ile bakteri hücre membranının yapısını bozarak membranda porlar açılmasına neden olmakta ve hücre için toksik etki oluşturmaktadır. Dolayısı ile antimikrobiyal etkinliği hücrenin aktif bölünme fazında olup-olmamasından etkilenmemektedir. Mutant OprH por proteinlerinin aşırı üretimi ile hücre duvar yapısında bulunan LPS moleküllerinde  $Ca^{++}$  ve  $Mg^{++}$  iyonları birikmekte ve dolayısı ile Kolistin bağlanması mümkün olmayarak direnç gelişmektedir [42, 45, 46].

Gales ve arkadaşlarınca [47] 2001 yılında Brezilya'da yapılan bir çalışmada Kolistinin çoklu dirençli 60 *A. baumannii* suşuna karşı %96; 12 *B. cepacia* suşuna karşı % 0; 9 *K. pneumoniae* suşuna karşı %100; 80 *P. aeruginosa* suşuna karşı %100 ve 23 *S. maltophilia* suşuna karşı %70 civarında in vitro etkin olduğu bildirilmiştir. Çalışılan bu suşların hemen hemen hepsi aynı zamanda karbapenemlere de yüksek oranda duyarlı suşlar olmakla birlikte aynı çalışmada serratia ve morganelle suşlarına karşı Kolistin etkinliği %37 civarında bulunmuş ve karbapenem dirençli olarak saptanan 3 *A. baumannii* suşunun hepsinin (%100) Kolistine karşı da direnç gösterdikleri belirtilmiştir.

Falagas ve arkadaşlarınca [74] 2005 yılında Yunanistan'da yapılan bir klinik çalışmada ise pan-antibiyotik dirençli *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* suşların neden olduğu bakteriyemi, pnömoni ve menejit gibi nozokomiyal infeksiyonlarda Kolistinin karbapenem, kinolon ve aminoglikozitlerle yapılan kombinasyonu sonunda hastaların %66'sında başarı sağlandığı bildirilmiştir.

Kasiakou ve arkadaşlarınca [75] 2000 ve 2004 yılları arasında yine Yunanistan'da yapılan retrospektif kohort çalışmada 54 kistik fibrozisli hastada gelişen pnömoni ve bakteriyemi gibi infeksiyonlardan soyutlanan acinetobacter, pseudomonas ve stenotrophomonas gibi bakteriler arasında Kolistin duyarlılığı %55-100 arasında saptanmıştır. Bu çalışmada intravenöz Kolistin ile değişik antibiyotikler kombine edilerek kullanılmış ve hastaların %66.7 'sinde tedavi başarısına ulaşılmıştır. Aynı çalışmada hastaların genelinde serum kreatinin düzeylerinde anlamlı yükselme gözlenmiş ve %8'inde ise akut böbrek yetmezliği gelişmiştir.

Li ve arkadaşlarınca [76] 2007 yılında Avustralya’da yapılan bir çalışmada *A. baumannii* suşlarının Kolistine karşı %42-91 civarında duyarlı olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada, Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon (FİK) deneyi ile yapılan kolistin + rifampin kombinasyonunun etkinliği kolistin dirençli suşlarda oldukça yüksek bulunmuştur.

Giamarellous [77] tarafından yapılan bir çalışmada ise 24 aşırı dirençli *S. maltophilia* suşunda kolistin + rifampin ve kolistin + ko-trimoksazol kombinasyonunun etkinliği ölçülmüştür. Çalışma sonunda kolistin + rifampin kombinasyonunun etkinliği %60; kolistin + ko-trimoksazol kombinasyonunun etkinliği ise % 41.7 olarak ölçülmüştür.

Giacometti ve arkadaşlarınca [78] İtalya’da yapılan bir çalışmada ise 12 *S. maltophilia* klinik izolatında kolistin etkinliği %50’nin altında saptanmış ve ölçülen kolistin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 4 µg/ml ve 8 µg/ml olarak bildirilmiştir.

İkibin altı yılında Tan ve arkadaşlarınca [79] Singapur’dan bildirilen bir çalışmada ise ile çoklu direnç gösteren gram negatif çomakların disk difüzyon yöntemi kolistin duyarlılığı araştırılmış ve *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *S. maltophilia* ‘dan oluşan toplam 102 klinik izolat için kolistin duyarlılık oranları sırasıyla %67, %100, %94, %100 ve %0 olarak bulunmuştur.

Hogardt ve arkadaşlarınca [80] 2004 yılında Almanya’da yapılan 2 yıllık bir çalışmada kistik fibrozis hastalarından soyutlanan yaklaşık 401 *P. aeruginosa*

ve 50 *S. maltophilia* suşunda Kolistinin in vitro etkinliği mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılmış ve duyarlılık oranı sırasıyla %56.3 ve %14 olarak saptanmıştır.

Ülkemizden, 2005 yılında Azap ve ark. [81] yaptığı bir çalışmada ise 132 çoklu ilaç direnci olan gram negatif bakteride kolistin duyarlılığı disk difüzyon yöntemi ile araştırılmış ve 55 *P. aeruginosa* suşunun 52'si (% 94.1) ve 21 *S. maltophilia* suşunun 15'inin (% 71.4) duyarlı olduğu saptanmıştır.

Yaptığımız bu çalışmada ise E-test ile yapılan MİK ölçümleri sonunda 57 Pan-R *P. aeruginosa* suşunun 32'si (%51.7) kolistine karşı duyarlı bulunmuştur. Geri kalan 25'inde (%48.3) değişik MİK düzeylerinde Kolistin direnci saptanmıştır. Diğer taraftan, toplam 10 Pan-R *S. maltophilia* izolatlarının 4'ünde (%40) kolistin duyarlılığı saptanmıştır. Çalışmaya *P. aeruginosa* suşlarının Kolistin için ölçülen MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 2 µg/ml ve 24 µg/ml; *S. maltophilia* suşlarının Kolistin için ölçülen MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri ise 4 µg/ml ve 24 µg/ml olarak bulunmuştur.

Hastanelerde yatan birçok hasta antibiyotik tedavisi almaktadır. Ancak gereksiz ve yanlış antibiyotik kullanımının önlenmesi için yöntemler geliştirilmelidir. Hastane hijyeni ve infeksiyon kontrol önlemlerine uyulması ve bu konularda hastane personelinin eğitilmesi önemlidir.

Mikrobiyoloji laboratuvarı tarafından dirençli mikroorganizmaların erken ve doğru identifikasyonu yapılmalı ve mikrobiolog ile klinisyen arasında etkin iletişim sağlanmalıdır. Bu iletişim sağlandığında uygun antibiyotik kullanımının ve gerekli önlemlerin alınmasıyla direnç sıklığının azaldığı ve dirençli suşların yayılımının yavaşlatıldığı bilinen bir gerçektir.

Bu çalışmada, ülkemizde ilk olarak pan-antibiyotik dirençli pseudomonas ve stentrophomonas suşlarında kolistin etkinliği araştırılmış ve elde edilen sonuçlar bilimsel literatürde bildirilen sonuçlara yakın olarak bulunmuştur.

Bazı çalışmalarda çoklu dirençli gram negatif patojenler için son seçenek olarak bildirilen ve ülkemizde henüz kullanılmamakta olan Kolistinin, neden olabileceği ciddi yan etkiler de göz önüne alındığında, in vitro etkinliğinin ölçüldükten sonra uygulanıp-uygulanmamasına karar verilmesi daha faydalı olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Moellering RC. **Principles of anti-infective therapy.** In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). **Principles and Practice of Infectious Disease.** 4<sup>th</sup> ed. New York: Churchill Livingstone, 1995:199-211.
2. Leth RA, Moller YK. **Surveillance of hospital acquired infection based on elektronik hospital registries.** **Journal of hospital infection,** 2006;62: 71-79.
3. Jarvis WR. **Selected aspects of the socioeconomic impact of nosocomial infections: morbidity, mortality, cost and prevnetion.** **Infect Control Hosp. epidemiol** 1996;17: 552-7
4. Yalçın AN. **Hastane İnfeksiyonlarının Maliyeti.** **Klinik dergisi,** 2004;17:19-20.
5. Plowman R, Graves N, Griffin MAS, et al. **The rate and cost of hospital-acquired infections occuring in patiens admitted to selected specialities of a district general hospital in England and the national burden imposed.** **J. Hosp. Infect,** 2001;47: 198-209.
6. Coello R, Glenister H, Foreres J, et al. **The cost of infection in surgial patients: a-case control study.** **J. Hosp. Infect,** 1993;24:239-50.
7. Yalçın AN, Hayran M, Ünal S. **Economic Analysis of Nosocomial İnfections in a Turkish University Hospital,** **J. Chemother,** 1997; 9:411-4.
8. French GL, Cheng AFB. **Measurement of the cost of hospital infection by prevalence surveys.** **J. Hosp. Infect,** 1991; (suppl A):65-72.

9. Juarez - Munoz IE, Vazquez - Rodriguez A, Games-Eternood J, et al. **The costs of hospital infections in a group of patients in a tertiary care hospital.** *Gac Med Mex* 1999; 135: 457-62.
10. Dinkel RH, Lebok VA. **Survey of nosocomial infections and their influence on hospital mortality rates.** *J. Hosp. Infect*, 1994; 28: 297-304.
11. Bert F, Lambert-Zechovsky N. **Pseudomonas aeruginosa: Actualité sur la résistance aux  $\beta$ -lactamines et implications thérapeutiques.** *Antibiotiques* 2000;2:195-201.
12. Cavalo JD, Leblanc F, Fabre R, GERPB. **Surveillance de la sensibilité de Pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques en France et distribution des mecanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines: étu-de GERPB 1998.** *Pathol Biol* 2000;48:472-7.
13. Furushita M, Okamoto A, Maeda T, Ohta M, Shiba T. **Isolation of Multidrug-Resistant Stenotrophomonas Maltophilia from Cultured Yellowtail (Seriola quinqueradiata) from a Marine Fish Farm.** *Appl. Environ. Microbiol* 2005; 71: 5598-5600.
14. French GL, Philips I. **Antimicrobial resistance in hospital flora and nosocomial infections.** In: May hall CG (ed). *Hospital Epidemiology and Infection Control*. 2<sup>nd</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, 1999:1243-64.
15. Mayer KH, Opal SM, Medeiros AA. **Mechanisms of antibiotic resistance.** In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Disease*. 4<sup>th</sup> ed. New York: Churchill Livingstone, 1995:236-53.
16. Livermore DM. **The thread from the pink corner.** *Ann Med* 2003; 35: 1-9.

17. Turhan Ö, Saba R, İnan D, Günay V. **Çoklu ilaç dirençli Pseudomonas aeruginosa tedavisinde Kolistin.** *Flora Derg.* 2001; 6(2): 131-140.
18. Gorbach SL, Barlett JG, Blacklow NR. **Pseudomonas aeruginosa and Related Bacteria.** In: M. Pollack (ed): *Infectious Diseases*, 1998; 1824-1830.
19. Polack M. *P. aeruginosa.* In: **Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Disease. 4<sup>th</sup> ed.** New York: Churchill Livingstone, 1995:1980-2002.
20. Bilgehan H. **Klinik Mikrobiyolojik Tamı Fermantasyon Yapmayan Olumsuz Bakteriler. 2005.** s. 466-475.
21. Senol E. ***Stenotrophomonas maltophilia*: the significance and role as a nosocomial pathogen.** *J Hosp Infect* 2004; 57: 1-7.
22. Tünger A, Çavuşoğlu C. **Asya Mikrobiyoloji, Bakteriyoloji,** s. 178.
23. Haley RW, Morgan WM, Culver DH, et al. **Update from the SENIC project.** *Hospital Infection Control: Recent progress and opportunities under prospective payment.* *Am J Infect Control* 1985; 13: 97-108.
24. Haley RW, Culver DH, White JW, et al. **The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections in US hospitals.** *Am J Epidemiol* 1985; 121: 182-205.
25. Brachman P. **Nosocomial infection control: an overview.** *Rev Infect Dis* 1981; 3: 640-8.

26. Haley RW, Culver DH, White JW, Morgan WM, Emori TG. **The nationwide nosocomial infections rate: a new need for vital statistics.** *Am J. Epidemiol* 1985; 121: 159-67.
27. Arman D. **Hastane infeksiyonları kontrolünde Türkiye'nin durumu.** In: Tekeli E, Wilke A, eds. 8. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği ve Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 1997: 149-52.
28. Yalçın AN, Hayran M, Ünal S. **Economic analysis of nosocomial infections in a Turkish University Hospital.** *J Chemoter.* 1997; 9: 411-4.
29. Otkun M, Akata F, Teker B, et al. **Trakya Üniversitesi Hasnatesi'nde Hastane İnfeksiyonları: 1995 yılı sonuçları.** *İnfeks Derg.* 1997; 11: 23-7.
30. Görenek L, Beşirbellioğlu B, Gül C, Tabak F, Hacıbektaşoğlu A. **GATA Eğitim Hastanesi'nde hastane infeksiyonu insidansı,** *Hastane İnfeks Derg.* 1997; 1: 97-100.
31. Mamıkoğlu L, Günseren F, Özçelik, et al. **Akdeniz Üniversite Hastanesi'nde hastane infeksiyonları: 1994-1995.** *Hastane İnfeks Dergisi.* 1998; 2: 42-5.
32. Kolmos HI. **Interaction between the microbiology laboratory and clinician: what the microbiologist can provide.** *J. Hosp. Infect.* 1999; 43 (Suppl): 285-91.
33. Wilson MP, Spencer RC. **Laboratory role in the management of hospital acquired infections.** *J. Hosp. Infect.* 1999; 42: 1-6.
34. Derbentli Ş. **Hastane İnfeksiyonlarının Kontrolünde Mikrobiyoloji Laboratuvarının Rolü ve Deneyimlerimiz.** *Klinik Derg.* 1994; 7: 3-5.

35. **National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standards M<sub>2</sub>A<sub>7</sub> Wayne, PA: NCCLS, 2000.**
36. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M, **Asya Mikrobioloji antibakteriel İlaçlar**, s. 35.
37. Mayer KH, Opal SM, Medeiros AA. **Mechanisms of antibiotic resistance, In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 4<sup>th</sup> ed.** New York: Churchill Livingstone. 1995: 212-224.
38. Gilbert DN. **Aminoglycosides. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 4<sup>th</sup> ed.** New York: Churchill Livingstone. 1995: 279-305.
39. Hooper DC. Quinolones. **In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 4<sup>th</sup> ed.** New York: Churchill Livingstone. 1995: 364-375.
40. Bergan T, Fuglesang J. **Polimixin antibiotics. chemical and pharmacokinetic properties. Antibiot Chemother** 1982; 31: 119-144.
41. Hancock RE, Chaple DS. **Peptide antibiotics. Antimicrob Agents Chemother** 1999; 43: 1317-1323.
42. Berlana D, Llop JM, Fort E, Badia MB, Jodar R. **Use of colistin in the treatment of multiple drug resistant gram negative infections. Am J Health Syst Pharm** 2005; 62: 39-47.

43. **National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standards. Wayne, PA: NCCLS, 1981.**
44. **Azap ÖK, Arslan H, Ergin F, İnci EK. Kolistinin Non-Fermentatif Gram-negatif bakterilere in-vitro etkinliği. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 2005; 58: 65-67.**
45. **Hancock REW, Bell A. Antibiotic update in to gram negative bacteria. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1988; 7: 713-720.**
46. **Nicas TI, Hancock REW. Outer membrane protein H1 of *Pseudomonas aeruginosa*: involvement in adaptive and mutational resistance to ethylenediaminetetraacetate, polymyxin B, and gentamicin. J. Bacteriol 1980; 143:872–878.**
47. **Gales AC, Reis AO, Jones RN. Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: review of available interpretative criteria and quality control guidelines. J Clin Microbiol 2001; 39: 183-190.**
48. **Bacterial resistance to antibiotics. 1996 Kenneth Todar University of Wisconsin Department of Bacteriology. <http://www.bact.wisc.edu/> Bact330/lecturebactres.**
49. **Bennet J, Joseph W. Bacterial resistance and antibiotic use in the emergency department. Pediatr Clin. North Am. 1999; 46: 1125-43**
50. **Livermore DM. Of *Pseudomonas*, Porins, Pumps and Carbapenems. J. Antimicrob Chemother. 2001; 47: 247-250.**

51. Livermore DM. **Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Our worst nightmare?** *Clin Infect Dis.* 2002; 34: 634-40.
52. Alonso A, Martinez JL. **Cloning and Characterization of SmeDEF, a novel multidrug efflux pump from *Stenotrophomonas maltophilia*.** *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44: 3079-86.
53. Quintiliani JR, Courvalin P. **Mechanisms of resistance to antimicrobial agents.** Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. (eds): *Manual of clinical Microbiology*, 6<sup>th</sup> ed., American Society of Microbiology, Washington 1995; pp. 1308-24.
54. Gür D. **Hastane infeksiyonlarında önem kazanan gram olumsuz bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları. Hastane İnfeksiyonları Dergisi.** 1997; 1: 38-45.
55. Péchere JC, Köhler T. **Patterns and modes of  $\beta$ -laktam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*.** *Clin Microbiol Infect.* 1999; 5(Suppl 1): 15-8.
56. Livermore DM. **Of *Pseudomonas*, porins, pumps and Carbapenemes.** *J Antimicrob Chemother.* 2001; 47: 247-50.
57. Jo JT, Brinkman FS, Hancock RE. **Aminoglycoside efflux in *Pseudomonas aeruginosa*: Involment of novel outer membrane proteins.** *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47: 1101-11.
58. Deplano A, Denis O, Poirel L, Hockuet D, Nonhoff L, Byl B, Normdan NP, Vincent PJ, Struelens MJ. **Molecular Characterization of an epidemic clone**

- of panantibiotic-resistant *P. aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 1198-1204.
59. Kim JM, Park ES, Jeong JS, Kim KM, Kim JM, Oh HS, Yoon SW, Chang HS, Chang KH, Lee SI, Lee MS, Song JH, Kang MW, Park SC, Choe KW, Pai CH, Nosocomial Infection Surveillance Committee of the Korean Society for Nosocomial Infection Control. **Multicenter surveillance study for nosocomial infections in major hospitals in Korea.** *Am J Infect Control* 2000; 28: 454-458.
60. Larson EL, Cimiotti JP, Haas J, Nesin M, Allen A, Della-Latta P, Saiman L. **Gram-negative bacilli associated with catheter-associated and non-catheter-associated bloodstream infections and hand carriage by healthcare workers in neonatal intensive care units.** *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6: 457-461.
61. Park DR. **The microbiology of ventilator-associated pneumonia.** *Respir Care* 2005; 50: 742-765.
62. Agnihotri N, Gupta V, Joshi RM. **Aerobic bacterial isolates from burn wound infections and their antibiograms. a five-year study.** *Burns* 2004; 30: 241-243.
63. Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, Oh MD, Choe KW. **Bloodstream infections caused by antibiotic-resistant Gram-negative bacilli: risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome.** *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 760-766.

64. Ramsey DM, Wozniak DJ. **Understanding the control of *P. aeruginosa* alginate synthesis and the prospects for management of chronic infections in cystic fibrosis.** *Molecular Microb* 2005; 56: 309-322.
65. Seyman D, İnan D, Gül G, Saba R. ***Stenotrophomonas maltophilia* ile gelişen nozokomiyal infeksiyonlar.** *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 2004; 8: Ek 2.
66. Spencer RC. **The emergence of epidemic, multiple antibiotic resistant *S. maltophilia* and *B. cepacia*.** *J Hosp Infect* 1995; 30: 453-464.
67. Görenek L, Şenses Z, Kılıç A, Baysallar M, Doğancı L, Pahsa A. **GATA Ankara Eğitim Hastanesi'nde 2000-2003 yılları arasında saptanan *Stenotrophomonas maltophilia* infeksiyonları.** *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 2004: 8
68. Zuravieff JJ, Yu VL. **Infections caused by *P. maltophilia* with emphasis on bacteremia: case reports and review of the literature.** *Rev Infect Dis* 1982; 6: 1236-1246.
69. Muder RR, Haris AP, Muller S. **Bacteremia due to *S. maltophilia*: a prospective multicenter study of 91 episodes.** *Clin Infect Dis* 1996; 22: 508-512.
70. Normdan P, Poirel L. **Emerging carbapenemases.** *Clin Microbial Infect* 2002; 6: 321-331.
71. Livermore DM. **Acquired carbapenemases.** *J Antimicrob Chemother* 1997; 39: 673-676.

72. Toraman ZA, Yakupoğulları Y. **Carbapenemase producing *P. aeruginosa* and ciprofloxacin use in neonatal intensive care units.** *J Hosp Infect* 2003;46: 164-165.
73. Poirel L, Normdan P. **Acquired carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase and their genetic support.** *Curr Pharm Biotechnol* 2002; 3: 117-127.
74. Falagas ME, Bliziotis IA, Kasiakou SK, Samonis G, Athanassopoulou P, Michalopoulos A. **Outcome of infections due to pandrug-resistant (PDR) Gram-negative bacteria.** *BMC Infect Dis* 2005; 8: 1-24.
75. Kasiakou SK, Michalopoulos A, Soteriades ES, Samonis G, Sermaides GJ, Falagas ME. **Combination therapy with intravenous colistin for management of infections due to multi drug resistant gram negative bacteria in patients without cystic fibrosis.** *Antimicrob Agent Chemother* 2005; 3136-3146.
76. Li J, Nation RL, Owen RJ, Wong S, Spelman D, Franklin C. **Antibiograms of multidrug resistant clinical *A. baumannii*: promising therapeutic options for treatment of infections with colistin resistant strains.** *Clin Infect Dis* 2007; 45: 594-598.
77. Giamarellos BEJ, Karnesis L, Giamarellou H. **Synergy of colistin with rifampin and trimethoprim/sulfamethoxazole on multidrug-resistant *S. maltophilia*.** *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2002 ; 44: 259-263.
78. Giacometti A, Crioni O, Prete SD, Barchiesi F, Fortuna M, Drenaggi D, Scalise G. **In vitro activities of membrane-active peptides alone and in combination**

**with clinically used antimicrobial agents against *S. maltophilia*. Antimicrob Agents Chemother** 2000; 44: 1716-1719.

79. Tan TY, Ng SY. **The in vitro activity of colistin in gram negative bacteria. Singapore Med J** 2006; 47: 621-624.

80. Hogardt M, Schmoldt S, Götzfried M, Adler K, Heesemann J. **Pitfalls of polymyxin antimicrobial susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients. J Antimicrob Chemother** 2004; 54: 1057-1061.

81. Azap ÖK, Arslan H, Ergin F, İnci EK. **Kolistinin Non-Fermantatif Gram-negatif bakterilere in-vitro etkinliği. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası.** 2005; 58: 65-67.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1958 yılında Diyarbakır'da doğdum. İlköğrenimimi İstanbul'da ve Batman'da tamamladım. Orta ve lise eğitimimi Batman Lisesi'nde tamamlayarak 1978-79 öğrenim yılında mezun oldum.

1981 yılında D.Ü. Eğitim Fakültesi Fizik-Kimya Bölümü'ne, 1982 yılında da A.Ü. Veteriner Fakültesi'ne girdim. Değişik nedenlerle bitirmediğim.

1984 yılında D.Ü. Tıp Fakültesine girerek 1990 yılında tıp doktoru olarak mezun oldum. 1990 yılında Şanlıurfa'da pratisyen hekim olarak göreve başladım. 1995 yılından itibaren Şanlıurfa il Sağlık Müdürlüğü İlaç Eczacılık Şube Müdürlüğü ve Sağlık İl Müdürlüğü bünyesinde değişik idari görevlerde yönetici olarak yer aldım. Nisan 2003 tarihine kadar bu görevleri yaptım.

Nisan 2003 tarihinden itibaren Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Halen bu göreve devam etmekteyim.

Evli ve 5 çocuk babasıyım.