

BEKİR ÖZER

**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL.
ENST.**

YÜKSEK LİSANS TEZİ İSTANBUL-2021

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**ERAVASİKLİNİN TEK BAŞINA VE ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLER İLE
KOMBİNASYON HALİNDE OLUŞTURDUKLARI ETKİLERİNİN
ACHROMOBACTER CİNSİ KLİNİK SUŞLARA KARŞI ARAŞTIRILMASI**

BEKİR ÖZER

DANIŞMAN
PROF. DR. BERNA ÖZBEK ÇELİK

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2021

İTHAF

Her zaman bana sonsuz destekleri olan Aileme ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince ilk günden beri tüm çalışmalarında yol gösteren, çalışmalarım pandemi döneminde olmasına rağmen hiçbir konuda yardımını esirgemeyen, tezimin hazırlanma sürecinin her kısmında büyük titizlikle ve içtenlikle yardımcı olan, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Anabilim Dalı başkanımız çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Berna Özbek Çelik'e

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleri ile yardımlarını esirgemeyen Anabilim dalımızdaki değerli hocalarım Prof. Dr. Çağla Bozkurt Güzel, Prof. Dr. A. Seher Birteksöz Tan, Prof. Dr. Sibel Döşler, Doç. Dr. Emel Mataracı Kara, Dr. Öğr Üyesi Mayram Hacıoğlu ve Kimyager Emine Tuncer'e

Herhangi bir problem ile karşılaştığımda onu çözmeye yardımcı olan ve desteklerini gördüğüm, laboratuvarıda birlikte çalışma fırsatı bulduğum Araş. Gör. Dr. Özlem Oyardı, Araş. Gör. Fatımanur Yılmaz, Araş. Gör. Damla Damar Çelik ve Ahmet Kesim'e

Hayatım boyunca sevgilerini, desteklerini ve fedakarlıklarını benden esirgemeyen, her zaman yanımda olan anneme, babama ve kardeşime,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2021-37411

İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	İİ
TEŞEKKÜR.....	İİİ
İÇİNDEKİLER	İV
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	Vİİİ
SEMBOLLER /KISALTMALAR LİSTESİ	İX
ÖZET	Xİ
ABSTRACT.....	Xİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Achromobacter</i> Türleri.....	3
2.2. Çalışmada Kullanılan Antibiyotikler ile İlgili Genel Bilgiler.....	6
2.2.1. Eravasiklin	6
2.2.1.1. Yapı-Aktivite İlişkisi	6
2.2.1.2. Etki Mekanizması	7
2.2.1.3. Direnç Mekanizması	8
2.2.1.4. Etki Spektrumu	9
2.2.2. Meropenem	9
2.2.2.1.Yapı-Aktivite İlişkisi	9
2.2.2.2. Etki Mekanizması	11
2.2.2.3. Direnç Mekanizması	11
2.2.2.4. Etki Spektrumu	12
2.2.3. Kolistin.....	12
2.2.3.1. Yapı–Aktivite İlişkisi.....	12

2.2.3.2. Etki Mekanizması	14
2.2.3.3. Direnç Mekanizması	14
2.2.3.4. Etki Spektrumu	15
2.2.4. Seftazidim	15
2.2.4.1. Yapı-Aktivite İlişkisi	15
2.2.4.2. Etki Mekanizması	16
2.2.4.3. Direnç Mekanizması	16
2.2.4.4 Etki Spektrumu	17
3.GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. Bakteri Suşları.....	18
3.2. Besiyerleri	18
3.2.1 Triptik Soya Agar (TSA) Besiyeri (Difco)	18
3.2.2. Mueller Hinton Buyyonu (MHB) (Oxoid).....	18
3.3. Antibiyotikler ve Çözeltiler	19
3.4. Diğer Malzemeler	19
3.5. Bakteri İnokulumunun Hazırlanması	20
3.6. Antibiyotiklerin MİK Değerlerinin Belirlenmesi	20
3.6.1. Deney Koşullarının Standardizasyonu.....	20
3.6.2. Çalışmada Kullanılan Antibiyotiklerin MİK Değerinin Belirlenmesi.....	21
3.7. Antibiyotiklerin ZBÖ Yöntemiyle Etkilerinin Araştırılması	21
3.8. İstatistiksel İncelemeler	23
4. BULGULAR.....	24
4.1. <i>Achromobacter</i> Suşlarına Ait Bulgular.....	24
4.1.1. Deney Koşullarının Standardizyonuna Ait Bulgular	24
4.1.2. MİK Deneylerinde Kullanılan 50 adet <i>Achromobacter</i> Suşlarına Ait Bulgular	24

4.3. Antibiyotiklerin ZBÖ Eğrilerine ait Bulgular.....	27
4.3.1. Antibiyotiklerin Tek Başlarına Oluşturduğu Bakterisidal Etkilere Ait Bulgular	27
4.3.2. Antibiyotik Kombinasyonlarının Oluşturduğu ZBÖ Eğrilerine Ait Bulgular	29
4.4. İstatistiksel Analizlere Ait Bulgular.....	41
5. TARTIŞMA	42
SONUÇ	52
KAYNAKLAR	53
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	70

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: <i>Achromobacter</i> Türlerinde Görülen Antibiyotik Direnç Mekanizmaları	6
Tablo 4-1: Antibiyotiklerin <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 Suşuna Karşı Saptanan MİK aralığı (µg/ml).....	24
Tablo 4-2: 50 adet <i>Achromobacter</i> Suşunun Antibiyotik Duyarlılık Oranları (%)	26
Tablo 4-3: Antibiyotiklerin 50 adet <i>Achromobacter</i> Suşuna Karşı Saptanan MİK Değerleri	26
Tablo 4-4: ZBÖ deneylerinde kullanılan 6 <i>Achromobacter</i> suşuna ait MİK değerleri (µg/ml)	27
Tablo 4-5: ZBÖ deneyleri ile antibiyotiklerin tek başlarına oluşturduğu etkiler	28
Tablo 4-6: ZBÖ deneyinde kullanılan 6 <i>Achromobacter</i> suşuna karşı kullanılan tekli antibiyotiklerin ortalama logaritmik bulguları.....	29
Tablo 4-7: Antibiyotiklerin kombinasyon halinde oluşturduğu sinerji / additif etkilere ait bulgular	30
Tablo 4-8: ZBÖ deneyinde kullanılan 6 <i>Achromobacter</i> suşuna karşı kullanılan eravasiklin kombinasyonlarının ortalama logaritmik bulguları.....	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: <i>A. xylosoxidans</i> 'ın elektron mikroskobu görüntüsü	4
Şekil 2-2: Eravasiklinin kimyasal yapısı	7
Şekil 2-3: Meropenemin kimyasal yapısı	10
Şekil 2-4: Kolistinin kimyasal yapısı	13
Şekil 2-5: Seftazidimin kimyasal yapısı	16
Şekil 4-1: 50 <i>Achromobacter</i> suşuna karşı saptanan MİK değerlerinin dağılımı	26
Şekil 4-2: Antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B)'de tek başlarına ve kombinasyon halinde <i>A. insuavis</i> -1 suşuna karşı elde edilen ZBÖ eğrilerine ait bulgular	33
Şekil 4-3: Antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B)'de tek başlarına ve kombinasyon halinde <i>A. insuavis</i> -2 suşuna karşı elde edilen ZBÖ eğrilerine ait bulgular	34
Şekil 4-4: Antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B)'de tek başlarına ve kombinasyon halinde <i>A. xylosoxidans</i> -1 suşuna karşı elde edilen ZBÖ eğrilerine ait bulgular	35
Şekil 4-5: Antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B)'de tek başlarına ve kombinasyon halinde <i>A. xylosoxidans</i> -2 suşuna karşı elde edilen ZBÖ eğrilerine ait bulgular	36
Şekil 4-6: Antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B)'de tek başlarına ve kombinasyon halinde <i>A. ruhlandii</i> -1 suşuna karşı elde edilen ZBÖ eğrilerine ait bulgular	37
Şekil 4-7: Antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B)'de tek başlarına ve kombinasyon halinde <i>A. ruhlandii</i> -2 suşuna karşı elde edilen ZBÖ eğrilerine ait bulgular	38
Şekil 4-8: 6 <i>Achromobacter</i> suşuna karşı antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B) çözeltileri ile elde edilen antibakteriyel etkilerin ortalamasına ait ZBÖ eğrileri	39
Şekil 4-9: 6 <i>Achromobacter</i> suşuna karşı denenen antibiyotik kombinasyonlarının oluşturduğu sinerjist/additif etkilere ait bulgular	40
Şekil 4-10: Denenen antibiyotik kombinasyonları ile oluşan antibakteriyel etkilerin 6 <i>Achromobacter</i> suşu için ortalama logaritmik değerlerine ait bulgular	40

SEMBOLLER /KISALTMALAR LİSTESİ

ATCC: American Type Culture Collection

ATP: Adenosin Trifosfat

Ca⁺²: Kalsiyum

CAZ: Seftazidim

CFTR: Kistik Fibroz Transmembran Düzenleyici

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CS: Kolistin

ÇİD: Çok İlaça Dirençli

DHP: Dihidropeptidaz

ERV: Eravasiklin

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

GSBL: Geniş Spektrumlu Beta-Laktamaz

KF: Kistik Fibrozis

KİMHB: Katyon İlaveli Mueller Hinton Buyyonu

KOB: Koloni Oluşturan Birim

LPS: Lipopolisakkarit

MEM: Meropenem

Mg⁺²: Magnezyum

MHB: Mueller Hinton Buyyonu

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu

MLSA: Multilocus Sequence Analysis (Çok Lokuslu Dizi Analizi)

mRNA: Mesajcı Ribonükleik Asit

MRSA: Metisilin Dirençli Staphylococcus aureus

NCCLS: National Committee Clinical and Laboratory Standards

PBP: Penisilin Bağlayan Protein

PFGE: Pulsed-Field Gel Electrophoresis: Darbeli Alan Jel Elektroforez

RKP: Ribozomal Koruma Proteinleri

rRNA: Ribozomal Ribonükleik Asit

TetR: Tet Repressör

tRNA: Transfer Ribonükleik Asit

TSA: Triptik Soya Agar

ZBÖ: Zamana Bağlı Öldürme

ÖZET

Özer, B. (2021). Eravasiklinin tek başına ve çeşitli antibiyotikler ile kombinasyon halinde oluşturdukları etkilerinin *Achromobacter* cinsi klinik suşlara karşı araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul. 2021.

Achromobacter cinsi, özellikle *Achromobacter xylosoxidans*, klinikte son on yılda giderek artan şekilde tanımlanan, çok çeşitli enfeksiyonlardan sorumlu bakterilerdir. Özellikle Kistik Fibrozis (KF) hastalarında solunum yolunu kalıcı olarak kolonize etme yetenekleri ile bu hastalarda giderek daha fazla tanımlanmaktadırlar. Günümüzde *Achromobacter* cinsinin klinik etkisi ve optimal tedavi yönetimi hakkında nispeten az şey bilinmektedir. Bu çalışmada, yeni bir tetrasiklin olan eravasiklin'in tek başına ve kolistin, meropenem ve seftazidim ile kombinasyon halinde oluşturdukları in-vitro bakterisidal ve sinerjistik aktiviteleri, KF hastalarından izole edilen *Achromobacter* suşlarına karşı araştırılmıştır. Minimal inhibitör konsantrasyon (MİK)'lar, mikrodilüsyon seyreltme yöntemi ile belirlenmiştir. Test edilen antibiyotik kombinasyonlarının bakterisidal ve sinerjik etkileri, zaman bağlı öldürme eğrisi tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Zamana bağlı öldürme eğrilerine dayanarak, 6. ve 24. saatlerde 4xMİK kolistin tek başına bakterisidal etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Kombinasyon çalışmaları sonuçlarına göre, *Achromobacter* suşlarına karşı 4xMİK'lik eravasiklin-kolistin kombinasyonu 24. saatte sinerjistik ve bakterisidal aktivitelere sahiptir. Eravasiklin-meropenem kombinasyonları ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonları additif etkili olarak bulunmuştur. Test edilen kombinasyonlar ile hiçbir antagonist etkileşim gözlenmemiştir. Bu çalışma bulguları, test edilen antibiyotiklerle ampirik veya kombinasyon tedavisi için bazı önemli in-vitro verileri ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Eravasiklin, Antibiyotik kombinasyon, *Achromobacter* türleri, Kistik fibrozis, Sinerji.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2021-37411

ABSTRACT

Ozer, B. (2021). Investigation of the effects of eravacycline alone or in combination with various antibiotics against clinical strains of the genus *Achromobacter*. Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Microbiology Master Thesis, Istanbul. 2021.

The genus *Achromobacter*, particularly *Achromobacter xylosoxidans*, are bacteria responsible for a variety of infections that have been increasingly identified in clinics over the past decade. Especially they are increasingly being described in Cystic Fibrosis (CF) patients by their ability to permanently colonize the airway of these patients. Today, relatively little is known about its clinical impact and optimal therapy management. In the present study, the in-vitro bactericidal or synergistic activities of eravacycline which is a new tetracycline, either alone or in combination with colistin, meropenem and seftazidime, were assessed using *Achromobacter* strains isolated from CF patients. Minimal inhibitory concentrations (MICs) were determined by broth microdilution technique. Bactericidal and synergistic effects of the tested antibiotic combinations were determined by using the time-kill curve technique. Based on the time-kill curves, we found that 4×MIC colistin has bactericidal effect at 6h and 24h. According to combination study results, only eravacycline-colistin combination at 4×MIC has synergistic and bactericidal activities against *Achromobacter* strains, at 24 h. Eravacycline-meropenem combinations and eravacycline-seftazidime combinations were found to be neither bactericidal nor synergistic. No antagonism was observed with any combination tested.

The findings of this study reveal some important in-vitro data for empirical or combination therapy with the antibiotics tested.

Key Words: Eravacycline, Antibiotic combination, *Achromobacter* species, Cystic fibrosis, Synergy

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. BAP Project No. TYL-2021-37411

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlk kez 1923 yılında Amerikan Mikrobiyoloji Derneği tarafından tanımlanan *Achromobacter* türleri, *Alcaligenaceae* ailesinden, Gram-negatif, peritrik flagellaları ile hareketli, zorunlu aerobik, pigment oluşturmeyen, non-fermentatif, sucul ve aynı zamanda toprakta da bulunabilen çomaklardır (1). *Achromobacter* türleri arasında %1'den daha az genetik dizi farklılığı bulunduğu için geleneksel yöntemlerle doğru tür tanımı yapılması mümkün değildir (2-5). Genellikle klinik örneklerden izole edilen *Achromobacter* türleri *Achromobacter xylosoxidans* olarak adlandırılmaktadır. Ancak son yıllarda yapılan gelişmiş tanı çalışmaları ile doğal çevrede bulunan *A. xylosoxidans* haricindeki *Achromobacter* türlerinin de ciddi insan enfeksiyonlarına neden olduklarını göstermektedir (4, 6, 7). Günümüzde, yapılan genomik çalışmalar sonucunda birçoğu son on yılda olmak üzere 19 *Achromobacter* türü tanımlanmıştır. Bunların klinik vakalardan izole edilen 15'i; (8) *Achromobacter xylosoxidans*, *Achromobacter denitrificans*, *Achromobacter ruhlandii*, *Achromobacter piechaudii* (9), *Achromobacter animicus*, *Achromobacter mucicolens*, *Achromobacter pulmonis* (10), *Achromobacter insolitus*, *Achromobacter spanius* (11), *Achromobacter deleyi* (12), *Achromobacter aegrifaciens*, *Achromobacter insuavis*, *Achromobacter anxifer*, *Achromobacter dolens* (13) ve *Achromobacter marplatensis*' dir (4).

Yabucci ve Ohyama (14-15) tarafından orta kulak iltihaplı hastaların pürülan kulak akıntısından izole edilip tanımlanan *A. xylosoxidans* bu cinsin ilk tanımlanan türü olmakla birlikte dünyada klinik olarak en yaygın görülen türdür (14-15). Klinikte en yaygın görülen ikinci tür (16-18) olan *A. ruhlandii*, Packer ve Vishniac (19) tarafından ilk kez 1950'li yıllarda topraktan izole edilmiş ancak fakültatif ototrofik ve hidrojen oksitleyici bakteri olma özelliklerinden dolayı *Hydrogemonas ruhlandii* olarak adlandırılmıştır (19). Ardından Aragno ve Schlegel (20) tarafından *Alcaligenes* cinsine yakın özellikler içermesinden dolayı *A. ruhlandii* olarak adlandırılmıştır (20). Ancak Yabucci ve Ohyama (9) tarafından yapılan fenotipik ve DNA baz bileşimi, 16s ribozomal ribonükleik asit (rRNA) dizi analizi gibi genotipik yöntemlerle taksonomik olarak *Achromobacter* cinsinin bir türü olduğunu kanıtlamışlardır (9). Avrupa'da klinik olarak en sık görülen (16-18) *A. insuavis* ise Van Damme ve ark. (13) tarafından kistik fibrozis (KF) hastası olmayan kişilerin balgamlarından, su ve çamurdan örnek alınarak *nrdA* gen dizi analizi yöntemiyle izole edilen yeni bir türüdür (13).

Achromobacter türleri ağırlıklı olarak kronik solunum yolu patojenleri olarak KF'li kişilerden izole edilir. Ayrıca akciğer nakli enfeksiyonlarından sonra kötü hijyenik bakım da *Achromobacter* akciğer enfeksiyonunun yaygın nedenleridir (21-23). Pnömoni ve bakteriyemi, KF hastası olmayan konaklarda *Achromobacter* enfeksiyonlarının en yaygın iki klinik görünümüdür (24). Bu türlerin etken olduğu deri ve yumuşak doku, idrar yolu, karın içi organlar, merkezi sinir sistemi, göz ve kulak enfeksiyonları daha az sıklıkta bildirilirken, endokardit ve kemik enfeksiyonları ise çok nadirdir (25-32). *Achromobacter* enfeksiyonlarının çoğu ya hastane kaynaklı ya da sağlık bakımı ile ilişkili olmakla birlikte daha önce düşünüldüğü gibi yalnızca bağışıklığı baskılanmış konaklarda ortaya çıkmaz, kateterler ve endotrakeal tüpler gibi tıbbi cihazlar, diyabet, kronik böbrek yetmezliği, kronik kalp hastalıkları gibi altta yatan diğer hastalıklar ve hâlihazırda veya önceden hastaneye yatmış olmak veya sağlık bakımına maruz kalmak da kişileri risk altına sokmaktadır (24, 33-34).

Achromobacter'ler tüm aminoglikozid grubu antibiyotiklere, çoğu sefalosporine, aztreonama doğal (intrinsik) dirençlidir ve karbapenemlere karşı giderek daha fazla direnç kazanmaktadır (35). Karbapenem direncine esas olarak çoklu ilaç pompaları ve metallo beta-laktamazlar neden olmaktadır. Karakteristik olarak dirençli olan *Achromobacter* cinsi bakteriler rifampin, trimetoprim sulfametaksazol, siprofloksasin ve diğer kinolonlara ise değişen oranlarda direnç gösterirler. Diğer yandan hastanelerde sık kullanılan antiseptik solüsyonlarda da canlı kalabildikleri gösterilmiştir. (36-38). Bu nedenle İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü "Farmasötik Mikrobiyoloji Yüksek Lisans Programına" bağlı olarak yaptığımız tez çalışmamızda, *Achromobacter* cinsinin klinik olarak en önemli üç türüne karşı yeni bir tetrasiklin türevi antibiyotik olan eravasiklinin tek başına ve tedavide sık kullanılan antibiyotiklerle kombinasyon halinde oluşturduğu antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Dünyada ve ülkemizde *A. xylosoxidans* ve diğer *Achromobacter* türlerine bağlı olarak gelişen enfeksiyonların tedavisinde henüz kesin bir tedavi rejimi belirlenememiş olduğundan yeni tedavi protokollerin araştırılması konusundaki tez çalışmamız önemli in- vitro verileri ortaya koymaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

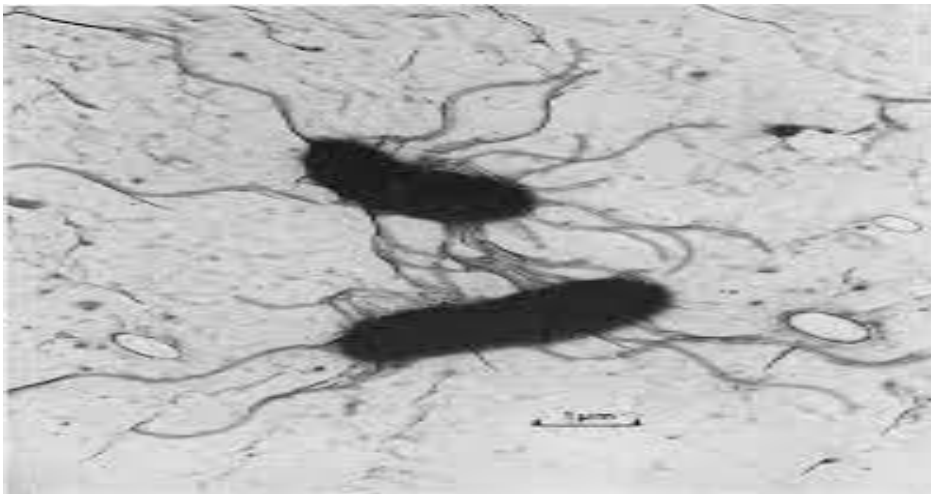
2.1. *Achromobacter* Türleri

Achromobacter türleri zorunlu aerobik, hareketli, oksidaz ve katalaz pozitif, üreaz, indol ve DNAaz negatif Gram-negatif çomak şeklinde bakterilerdir (39). Yakın zamana kadar *Achromobacter* türleri biyokimyasal benzerlikleri nedeniyle genellikle *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter* türleri ve nadiren de *Pandoraea* ve *Ralstonia* türleriyle benzerliklerinden ötürü hatalı olarak tanımlanmıştır (40-42). Diğer yandan, *Achromobacter*’lerin çoğunluğunun geleneksel yöntemler kullanılarak sadece *A. xylosoxidans* olarak tanımlanabilmeleri nedeni ile kesin tür tayini için *nrdA* gen dizi analizi ve çoklu dizi analizi gibi yeni genotipik yöntemler kullanılması gerekmektedir (4, 16). Hızla gelişen taksonomi nedeniyle, biyokimyasal özellikler ile türler arasında güvenilir bir bağlantı kurmak ve doğru tanı koymak mümkün olmamakta, çok lokuslu dizi analizi (Multilocus Sequence Analysis-MLSA) gibi ileri moleküler yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır (4, 7, 13).

Achromobacter türleri genellikle doğal çevre koşullarında varlıklarını sürdürmekle beraber, yüksek miktarda sitozin-guanin dizileri içermeleri ve toksik olan aromatik bileşikleri parçalayabilme yetenekleri sebebiyle olumsuz çevresel koşullar altında da canlılıklarını devam ettirebilmektedirler. (43-46). Bu nedenle hastane ortamlarında serum fizyolojik, diyaliz solüsyonları, intravenöz sıvılar, kontakt lens solüsyonları, klorheksidin glukonat gibi dezenfektan solüsyonları ve ultrason jeli gibi sağlık bakım setlerindeki sulu çözeltilerde yaygın olarak kolonize olabilmektedirler (37, 38, 47). Klinik olarak *Achromobacter* türleri, başta bakteriyemi olmak üzere pek çok enfeksiyon türünde ve nadir görülen hastane enfeksiyon salgınlarında etken olan yeni fırsatçı patojenler olarak kabul edilirler (33, 48-55). KF hastalarında akciğer enfeksiyonuna neden olan başlıca etkenler arasında olan *Achromobacter* türleri, deri ve yumuşak doku, idrar yolu, karın içi organlar, merkezi sinir sistemi, göz ve kulak enfeksiyonlarında, endokardit ve kemik enfeksiyonlarında daha az sıklıkta görülür (24-32). Bu cinsin en yaygın türü olan *A. xylosoxidans* sağlıklı kişilerde nadiren enfeksiyon etkeni olmakla birlikte özellikle altta yatan diğer hastalığından dolayı immün direnci bozulmuş ya da immün baskılayıcı tedavi gören hastalarda, prematüre bebeklerde veya travmaya bağlı olarak immünitesi bozulmuş kişilerde enfeksiyonlara neden

olabilmektedir (56-58). Genellikle düşük virülanslı olarak kabul edilen bu organizmaya bağlı enfeksiyonlar, özellikle KF, malignite, kalp hastalıkları, diyabet, kronik böbrek yetmezliği, kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi eşlik eden bir ya da daha fazla hastalığın (komorbidite) varlığı ve/veya kalıcı tıbbi cihaz kullanımı kişide yüksek morbidite ve mortaliteye neden olabilmektedir (24, 34).

Achromobacter türlerin tamamı biyofilm oluşumu, hareketlilik ve konak hücreyi istila etmeye yardımcı olan peritrik tipte kamçılara sahiptir (43-46, 59-63) (Şekil 2.1). Ayrıca, KF hastalarında enfeksiyona neden olan Gram-negatif çomakların çoğunda bulunan hücre zarına bağlı virülans faktörleri içerirler. Bu faktörler, türe özgü bağışıklık yanıt oluşmasını ve olumsuz çevre koşullarından korumayı sağlayan “O antijeni” ve yüzeye yapışmayı, fagositoz ve çevresel toksinlerden korumayı sağlayan “Vi polisakkarit kapsül”ü içermektedir. (64-66). Jakobsen ve ark. (43) bu türe ait genetik özellikleri aydınlatmaya yönelik araştırmalarında, bu türün ürettiği bir polisakkariti kodlayan *pgaABCD* operonu varlığını ortaya koymuşlardır. Adezyonda görev alan bu polisakkaritin, aynı zamanda enfeksiyon gelişiminde ve patojenlerin antibiyotik ajanlara karşı direnç göstermesinde gerekli bir yapı olan biyofilm oluşumunda görev aldığını ortaya koymuşlardır (43). Diğer yandan *Achromobacter* türleri, hastalık yapabilme yeteneğini sağlayan T3SS adı verilen bir salgı sistemine de sahiptir (64). Bu salgı sistemi, proteinler vasıtasıyla bakteriye/türe konak hücreyi enfekte etme ve bağışık yanıt tepkisinden kaçma yeteneği sağlamaktadır (67, 68). Bu sistem genel olarak, *Bordetella*, *Yersinia*, *Salmonella* ve *Vibrio* türlerinde ve *P. aeruginosa* 'da bulunmaktadır (69).



Şekil 2-1: *A. xylosoxidans*'ın elektron mikroskobu görüntüsü (70)

Achromobacter türleri düşük fosfor ve demir içeren ortamlarda canlılığı ve çoğalmayı sürdürebilmek için bu maddelere karşı yüksek ilgiye sahip demir şelasyonu ve fosfat taşıma ajanlarını kodlayan genlere sahiptirler (71-72). Jakobsen ve ark. (43) yaptıkları çalışmada, benzer bakteri suşları için toksik, rekabetçi florayı engelleyen, bölgesel çoğalma ve potansiyel doku istilasına olanak sağlayan “Kolisin-V” proteinini kodlayan bir gen bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar mukozal doku istilasına neden olabilen selülaz ve proteaz üretimini kodlayan AepA gen bölgesini de bulmuşlardır (43). Diğer yandan, aslında aerobik organizmalar olan *Achromobacter* türlerinin klinik suşları hipoksik ve anoksik koşullarda yaşamını sürdürmeyi ve çoğalmayı sağlayan *P. aeruginosa* türününkine benzer bir denitrifikasyon sistemine sahip olduğu da ortaya konulmuştur (43).

Achromobacter türleri antimikrobiyal ajanlara karşı direnç oluşturmak için effluks pompaları ve başlıca OXA-114 benzeri beta-laktamazlar olmak üzere iki temel içsel direnç mekanizması sahiptir (Tablo 2-1) (35). *Achromobacter* türlerinde AxyABM ve AxyXyOprZ olmak üzere iki tane iyi bilinen çoklu effluks pompası vardır (73). AxyABM effluks pompası, sefepim ve sefuroksim haricinde tüm sefalosporin grubu antibiyotiklerin ve aztreonamın hücre dışına atılımını sağlar. Ancak bu ajanlar için tek bir direnç mekanizması değil birden fazla direnç mekanizması mevcuttur (74). AxyXyOprZ effluks pompası daha geniş bir antibiyotik topluluğuna etki eder. Bunlar; aminoglikozidler, sefepim, karbapenemler, florokinolonlar, tetrasiklinler ve eritromisinin çeşitli oranlarda hücre dışına atılımını sağlar (75). Diğer yandan *Achromobacter* türleri antimikrobiyal ajanların etkisinden korunmak için beta-laktamaz enzimleri de üretirler. *Achromobacter* türlerinde geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL), AmpC beta-laktamazlar ve metallo beta-laktamazlar olmak üzere üç farklı beta-laktamaz enzimi bulunmaktadır. *A. xylosoxidans* türlerinde beta-laktamaz enzimleri ve effluks pompalarına ek olarak aminoglikozid asetil transferaz, fosfotransferazlar ve dihidrofolat redüktazlar enzimlerini kodlayan direnç genide bulunmaktadır. Direnç genlerinin yarısı *P. aeruginosa* ile önemli benzerlikler göstermektedir (73).

Tablo 2-1: *Achromobacter* Türlerinde Görülen Antibiyotik Direnç Mekanizmaları (35)

Direnç	Spektrum
Çoklu İlaç Effluks Pompası/Pompaları	
AxyABM	Sefalosporinler (sefuroksim ve sefepim hariç)
AxyXY-OprZ	Aminoglikozidler, tigesiklin, florokinolonlar, eritromisin, sefepim, karbapenemler dahil tetrasiklinler.
Beta-laktamazlar	
OXA-114 benzeri (kromozomal)	Piperasilin, tikarsilin, benzilpenisilin, sefalotin
GSBL (CTX-M, VEB-1) ve AmpC (CMY-2, AmpC)	Karbapenemler hariç tüm beta-laktamlar
Plazmidik (IMP ve VIM) ve kromozomal (TMB-1) karbapenemazlar	Aztreonam hariç tüm beta-laktamlar
Diğer	
aac(6')Ib-cr, qnrA, oqxA, oqxB	Florokinolonlar, aminoglikozidler
gyrA, parC	Florokinolonlar

Dirençli, fırsatçı ve hidrotellürik özellikte patojenler olan *Achromobacter* türleri sıklıkla hastane ortamlarında ortaya çıkmaktadır. Özellikle hastanelerde diyaliz suyu, demineralize su, nebulizatörler, nemlendiriciler, inkübatörler, ekstrakorporeal (vücut dışı) dolaşım sistemleri, kötü korunmuş heparin şişeleri ve hatta antiseptik ve dezenfektan solüsyonlar gibi çeşitli kontamine solüsyonlarda bulunabilirler. Bu türler sahip oldukları 30°C sıcaklığında ve tropikal iklim şartlarında gelişme yetenekleri ile bulundukları ortama kolayca adapte olurlar (24).

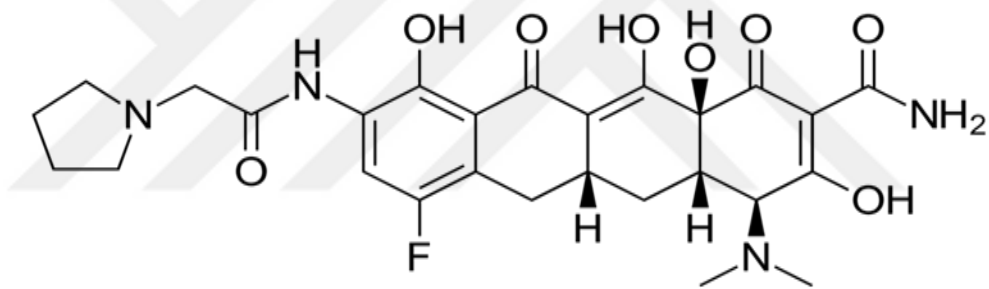
2.2. Çalışmada Kullanılan Antibiyotikler ile İlgili Genel Bilgiler

2.2.1. Eravasiklin

2.2.1.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

Eravasiklin florosiklinden türevlenmiş tetrasiklin grubu bir antibiyotiktir. İlk tetrasiklin antibiyotiği 1940'lı yılların başında *Streptomyces aureofaciens*'ten izole edilen klorotetrasiklinidir. 1950'lilerde klorotetrasiklinin halojen kısmını kaybetmesiyle tetrasiklinler üretilmiştir (76-77).

Tetrasiklinlerin temel kimyasal yapısı dört temel halkadan oluşmaktadır (A, B, C, D). 1,3,10,11,12 ve 12a numaralı karbon atomlarının yerlerine oksijen atomları bağlanır (78-79). Tetrasiklinin D halkasında bulunan 7 ve 9 numaralı karbon atomlarında meydana gelen modifikasyonlar yeni molekülün oluşmasında veya antibiyotik çeşitliliğin artışında oldukça büyük öneme sahiptir (78, 80). 4 numaralı karbon atomu en yaygın dimetilamin'dir. 5, 6, 7 numaralı karbon atomları kendi aralarında çeşitli varyasyonlarla yer değiştirebilirler. Şekil 2.2'de görüldüğü gibi eravasiklin (7 floro-9 pirrolidino asetemido 6 dimetil 6-deoksil tetrasiklin) D halkasında 7 numaralı karbondaki florin atomu ve 9 numaralı karbondaki pirrolidino asetomido'nun varlığı ile bir önceki tetrasiklin grubu antibiyotik olan tigesiklinden ayrılır (78, 79). 4 ve 12 numaralı karbon atomları arasında oluşan stereokimyasal konfigürasyon ve D ve A halkasına yakın keto-enol sistemi antibakteriyel aktivite için önemlidir (79).



Şekil 2-2: Eravasiklinin kimyasal yapısı

2.2.1.2. Etki Mekanizması

Tetrasiklin grubu antibiyotikler protein sentezini engelleyerek etkili olurlar. Bu grupta bulunan antibiyotikler 30s ribozomal alt birimine bağlanırlar ve burada aminoasit transfer ribonükleik asit (tRNA)'nın mesajcı ribonükleik asit (mRNA)'ya bağlanmasını engelleyerek protein sentezinin uzama fazını engeller. Bu olay amino asit parçalarının peptid zincir oluşturmalarını engelleyerek protein sentezini inhibe eder (81-82). Tetrasiklinler ve ribozom arasındaki etkileşim tersine çevrilebilir olduğundan etki mekanizması genellikle bakteriyostatiktir. Bazı türe özgü suşlarda bakterisidal özellik gösterebilirler (76,82).

Tetrasiklinler genellikle Gram-negatiflerde hücre zarının dış porinlerinde bulunan OmpF ve OmpC reseptörleri vasıtasıyla pasif difüzyon ile hücre içerisine girerler. Diğer

bakteri suşlarında ise aktif taşımayla hücre içerisine girebilirler. Aktif taşıma için hem adenozin trifosfat (ATP)'a hem de magnezyum (Mg^{+2})'a ihtiyaç duyarlar (81).

2.2.1.3. Direnç Mekanizması

Tetrasiklin grubu antibiyotikler kendilerine özgü dört adet direnç mekanizmasına sahiptirler. Bunlar; effluks pompaları, ribozomal koruma proteinleri (RKP), ilaç degradasyonu ve RNA mutasyonlarıdır. Bunların içerisinde en yaygın olan effluks pompaları ve RKP'lerdir (83). Bazı Gram-negatifler dış zarlarında spesifik liposakkaritlerin bulunması sebebiyle tetrasiklin grubu antibiyotiklere karşı doğal dirence sahiptirler (83-84).

Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerin hücre zarlarında tetrasikline özgü effluks pompaları bulunabilir; bunlar homoloji sekansına bağlı olarak yedi gruba ayrılır (79, 83). Gram-negatif bakteriler tetrasiklin direnç mekanizması olarak en çok grup 1 effluks pompalarını kullanılır (83). Burada ilaç molekülleri proton değişim mekanizması ile konsantrasyon gradientine antiporter taşıma sistemi ile taşınır. Tetrasiklinlere özgü effluks pompaları, bakteride tetrasiklinlerin çoğuna direnç oluştururken, genellikle minosiklin, tigesiklin ve eravasiklin direnci oluşturmazlar. Effluks pompaları için çok sayıda farklı direnç genleri mevcuttur. Bir gruba karşı etki ederken diğer gruba karşı etki etmeyebilen effluks pompalarını kodlayan genlerin ifadesi, tet repressör (TetR) genleri tarafından düzenlenir. TetB gibi bazı effluks pompaları tetrasiklin ve minosikline karşı direnç sağlar (81). TetR tetrasikline bağlanarak, tetrasikline operatör bölgesinden ayırarak protein sentezinin başlamasını sağlar (83-84).

RKP'ler tetrasiklin ve ribozomal bağlanma bölgesi arasındaki bağı sterik olarak güçsüzleştirerek tetrasiklin ve ribozomun ayrılmasını sağlar. Böylece aminoasit tRNA'ların bölgesine bağlanarak protein sentezinin devam etmesini sağlar. RKP'ler, elongasyon faktörleri, EF-Tu ve EF-G GTPaslar ile yüksek derecede homoloji paylaşırlar. TetO ve TetM, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin klinik izolatlarında tanımlanan en yaygın RKP'lerdir (84).

Tetrasiklin inaktivasyonu, FAD'a bağlı monooksijenazları kodlayan tetX, ve tet 37 genler aracılığıyla gerçekleşir (83). Bu enzimler, 11a karbonun (tetrasiklin çekirdek üzerinde) hidroksilasyonu ile tetrasiklinleri modifiye etmek için NADPH ve oksijen kullanılır, bu da enzimatik olmayan kararsız bir bileşikle sonuçlanır (83-84). Ek

olarak, hidroksile 11a karbonun tetrasiklinin Mg^{+2} bağlanmasını bozduğu ve bunun ribozom için afinitesini azalttığı gösterilmiştir (83).

Ribozomal RNA mutasyonları daha nadir olarak kullanılan bir direnç mekanizmasıdır. 16s rRNA'da bir nokta mutasyonu olarak gerçekleşir. Mutasyon membran porinlerinden Mg^{+2} geçişini sağlar ve tetrasiklinin kompleks yapısı kararsız hale gelir. İnaktif hale gelen bileşikler protein sentezinin devam etmesini sağlar (84).

2.2.1.4. Etki Spektrumu

Eravasiklin, tetrasiklin sınıfında yer alan florosiklin antibiyotığıdır. Eravasiklin kazanılmış effluks pompalarına ve RKP'lere dayanıklı olması sebebiyle Gram-negatif bakterilerde bulunan tetrasikline özgü direnç mekanizmalarından etkilenmez. Yapılan in vitro çalışmalar, eravasiklinin hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilere karşı güçlü aktivite göstermiştir (85).

Gram-negatif bakterilerden etkili olduğu türleri: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Parabacteroides distasonis*, *Bacteroides* türlerine karşı daha güçlü etki gösterdiği yapılan deneylerle kanıtlanmıştır (86).

Gram-pozitif bakterilerden, özellikle komplike karın içi enfeksiyonlara sebep olabilen *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus anginosus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* ve *Clostridium perfringes* türlerine karşı etkili olduğu yapılan deneylerle gösterilmiştir (86).

Eravasiklin, çok ilaca karşı direnç gösteren; GSBL'ler vankomisin dirençli *Enterobacteriaceae* ve karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) karşı da etkilidir (87-88).

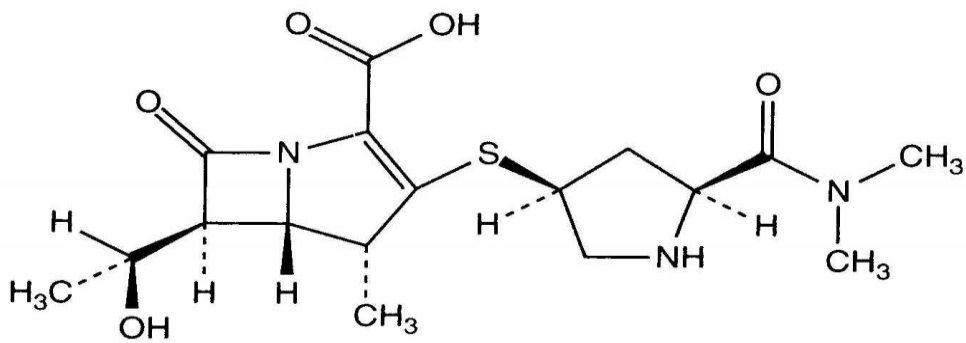
2.2.2. Meropenem

2.2.2.1.Yapı-Aktivite İlişkisi

Karbapenem grubu antibiyotiklerin keşfi 1976 yılında *Streptomyces cattleya* bakterisi tarafından tienamisin antibiyotığının keşfiyle başlamıştır (89). Karbapenemler beta-laktam ailesinde olmasına rağmen 1. pozisyonunda bir kükürt atomunun bulunması ve 2 ve 3 numaralı karbon atomları arasında doymamış bir bağ yapısı bulunması sebebiyle penisilinlerden ayrılır (Şekil 2.3). Karbapenemlerin geniş aktivite spektrumu, neredeyse

tüm beta-laktamazların içsel dirençleriyle ilişkilidir. Karbapenemlerin trans konfigürasyonunda 6'ncı pozisyonda bulunan hidroksi etil yan zinciri beta-laktamazların stabilitesinden sorumludur. Bu yan zincirin trans konfigürasyonunda bulunmasıyla penisilin ve sefalosporinlerden ayrılır (90-91).

Tienamisin doğal olarak üretilen bir antibiyotik olmasına rağmen yapısının kararsız olması sebebiyle yapısını kararlı hale getirecek yarı sentetik işlemler uygulanarak yeni moleküller üretilmeye çalışılmıştır. Bunlardan ilki yarı sentetik olarak üretilen imipenem (N- formimidoil) antibiyotığıdır (89). Yarı sentetik olarak üretilen karbapenem grubu antibiyotiklerin ilkidir. Memelilerin proksimal tübüllerinde bulunan dihidropeptidaz-1 (DHP-1) enzimi tarafından imipenem molekülünün yapısı hızlıca bozulmaktadır (90, 92). Bu molekül böbrekten süzülmeyle böbrekte toksik etkiye neden olmaktadır. İmipenemin oluşturduğu toksik etkiyi önlemek için silastin ile birlikte kullanılmaktadır (90, 92). Meropenem ve bundan sonra üretilen karbapenem grubu antibiyotikler, dihidropeptidazın bozucu etkisinden korunmak için imipenem molekülü gibi ek bir moleküle ihtiyaç duymaz çünkü yapısal olarak imipenem molekülünden farklıdır. Meropenemin iki numaralı karbon atomunda metil grubunun bulunması DHP-1 enziminin bozucu etkisine karşı stabil kalmasını sağlar. Aynı zamanda meropenemde bulunan iki numaralı karbon atomunda bulunan yapısal değişiklik Gram-negatif organizmalara karşı imipenem molekülüne kıyasla daha güçlü antibakteriyel aktivite gösterir (93-95).



Şekil 2-3: Meropenemin kimyasal yapısı

2.2.2.2. Etki Mekanizması

Karbapenemlerde dahil olmak üzere tüm beta-laktam grubu antibiyotikler penisilin bağlayan proteinler (PBP) vasıtasıyla bakterisidal etki gösterirler (90, 96, 97). Karbapenemler PBP'lere bağlanarak peptidoglikan sentezinin transpeptidasyon aşamasının oluşmasını önleyerek hücreyi lizise uğratarak hücrenin ölümüne neden olurlar (93). Karbapenemlerin PBP'lere bağlandıkları bölgelerin afiniteleri antibiyotik ve bakterilere bağlı olarak değişkenlik gösterebilir (90). Meropenem PBP-2 bölgesine kuvvetle bağlanarak Gram-negatif bakterilere karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterirler (90). Meropenem en güçlü ilgiyi bakteriyel PBP-2 ve PBP-3 bölgesinde gösterirken imipenem PBP-1 ve PBP-2 bölgesinden bağlanarak güçlü antimikrobiyal aktivite gösterirler (92).

2.2.2.3. Direnç Mekanizması

Karbapenem grubu antibiyotiklere karşı gelişmiş başlıca dört çeşit direnç mekanizması mevcuttur. Direnç mekanizmaları bakterilerin türlerine bağlı olmak üzere değişkenlik gösterebilirler. Bakteriler, beta-laktamaz enzimlerinin üretimi, Gram-negatif bakterilerin dış zarı geçirgenliğinin değişmesi, effluks pompaları ve PBP'lerin değişmesi olmak üzere dört farklı mekanizma ile karbapenemlere karşı direnç kazanabilirler (89).

Karbapenemlerin, *Enterococcus*, MRSA gibi bazı bakterilerde bulunan PBP'lere zayıf bağlanma özelliği bu antibiyotiklere karşı doğal direnç kazanılmasını sağlar (98).

Bakterilerin oluşturduğu bir diğer direnç mekanizması effluks pompalarıdır. Effluks pompasının ifadesinin artması sonucunda bakteriler direnç kazanabilirler. *P. aeruginosa* izolatlarında effluks pompasının ifadesinin artması sonucunda meropenemlere karşı direnç kazandığı saptanmıştır (98). Gram-negatif bakteriler dış zar geçirgenliğini kaybederek direnç kazanırlar. Karbapenemler Gram-negatif mikroorganizmaların dış zarında bulunan porinler vasıtasıyla hücre içerisine difüzyon yoluyla girerler (99). Porin proteini içermeyen organizmalar OprD proteini kaybetmesiyle zar geçirgenliği azalır bununla birlikte, karbapenemlere karşı duyarlılığı azalır. Örneğin *K. pneumoniae*'de karbapenemaz direnci oluşabilmesi için seçici geçirgenliğin azalması ve bir karbapenemaz gereklidir (100).

Son direnç mekanizması, bakterilerin beta-laktamaz enzimlerini üretmeleri sayesinde oluşturdukları bir direnç mekanizmasıdır. A, D (OXA) ve B sınıfı metallo beta-laktamazlar olmak üzere üç tip beta-laktamaz enzimi bulunmaktadır. Beta-laktamaz

enzimleri karbapenemleri hidrolize ederek bu sayede bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanmalarını sağlarlar. Bunlar; IMP, VIM ve SPM gruplarına ait B Sınıfı metallo beta-laktamazlar, SME, NMC / IMI ve KPC gruplarına ait A Sınıfı enzimleri ve birkaç Sınıf D (OXA) enzimi içerirler (101-102). Bunlar karbapenemleri hidrolize etmelerinden dolayı karbapenemazlar olarak da adlandırılırlar. *S. maltophilia* ve *Aeromonas* türleri tarafından üretilen en güçlü Sınıf B metallo beta-laktamazlar genellikle kromozomlarda kodlanır ve aktif bölgelerinde bir çinko atomu bulunur (90).

2.2.2.4. Etki Spektrumu

Beta-laktam grubu antibiyotiklerin en geniş spektruma sahip olanı karbapenem antibiyotikleridir. Bu grupta bulunan antibiyotikler Gram-pozitif, Gram-negatif, aerobik ve anaerobik bakterilere karşı etkilidir (103).

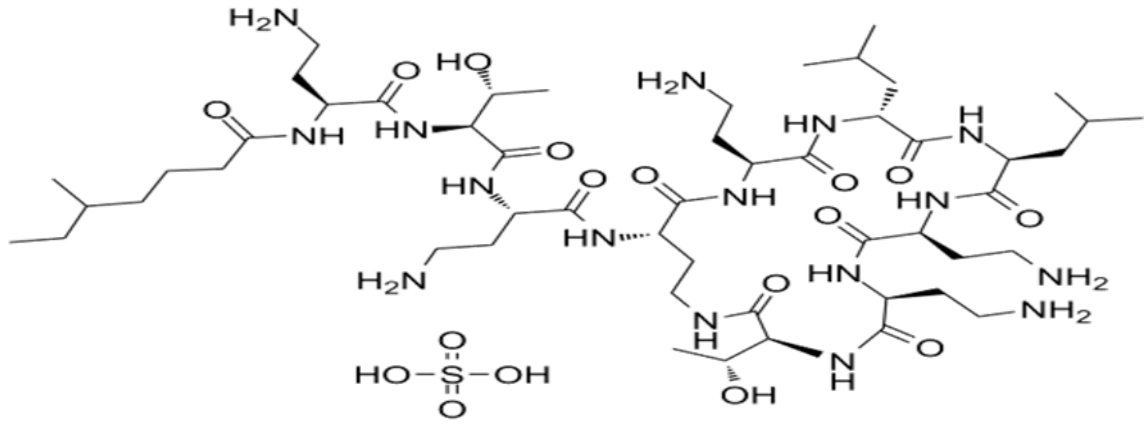
Meropenem, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp gibi Gram-negatif bakteriler üzerinde güçlü aktiviteye sahipken, *S. maltophilia*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *viridans* grup *Streptococcus*, MRSA ve *E. faecium* gibi bakterilere karşı etkisi zayıftır (104). *Bacteroides* spp, *Eubacterium* spp, *Clostridium difficile*, *Fusobacterium* spp, *Peptostreptococcus* spp. duyarlıdır (105).

2.2.3. Kolistin

2.2.3.1. Yapı–Aktivite İlişkisi

Polimiksin bir siklik polipeptid antibiyotığıdır. 1947 yılında *Bacillus polymyxa* suşunun bir alt türü olan *colistinus*’dan izole edilerek üretilmiştir (106-107). Polimiksin antibiyotikleri beş sınıftan oluşmakta ve bunlar, polimiksin-A, polimiksin-B, polimiksin-C, polimiksin-D ve polimiksin-E olarak isimlendirilmektedir. Günümüzde tedavide polimiksin-B ve polimiksin-E (kolistin) kullanılır. Polimiksin-B *B. polymyxa*’dan izole edilirken polimiksin-E *B. polymyxa subsp.colistinus*’tan izole edilmiştir (108-110). Polimiksin-E olarak ta adlandırılan kolistin, 1959 yılında Gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (111-112). Ancak kolistinin artan toksik etkileri sebebiyle kullanımı kısıtlandırılmıştır. Gram-negatiflerin tedavisinde kolistin yerine daha az toksik etkiye sahip aminoglikozidler ve antipsödomonal ilaçlar kullanılmış böylece Gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanımı 1970 yılından 2000’li yılların başlarına kadar

önemli ölçüde düşüş göstermiştir (113-114). Son yıllarda, çok ilaca dirençli (ÇİD) Gram-negatif çomakların oluşturduğu enfeksiyonların görülme sıklığındaki artışa rağmen tedavide bu enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak antibiyotiğin olmaması ve ÇİD'e dirençli yeni bir antibiyotiğin üretilmesindeki zorluklar nedeniyle kolistin tekrar kullanıma girmiş ve kullanımı artarak devam etmiştir (115). Kolistin, bir tripeptid yan zincir içeren siklik yapılı heptapeptidten oluşan bir polipeptid antibiyotığıdır (Şekil 2.4) N-terminal ucunda bulunan yağ asidi kuyrukları açillenerek yan zincirlere kovalent bağlıdır. Yağ asitleri hidrofobik yapıda olması sebebiyle toksisite ve kolistin antimikrobiyal aktivitesinden sorumludur (116). Kolistin, ticari olarak “kolistin sülfat”, “kolistimetat sodyum” olmak üzere iki farklı formu kullanılmaktadır. Bu iki molekül yağ asitlerinin yapılarının farklı olması sebebiyle birbirlerinden farklı özellikler taşır. Kolistimetat sodyum kolay hidrolize olabilmesi nedeniyle inaktif bir molekül aynı zamanda kolistin sülfata göre daha az toksik daha düşük antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (108-110).



Şekil 2-4: Kolistin kimyasal yapısı

2.2.3.2. Etki Mekanizması

Kolistin Gram-negatif bakterilere karşı bakterisidal etki gösterirler (115). Katyonik yapıda olan kolistin molekülü Gram-negatif bakterilerin hücre membranında bulunan anyonik yapıda olan lipopolisakkarit (LPS) tabakasına bağlanır. Aralarında elektrostatik bir etkileşim meydana gelir. Bu etkileşim anyonik yapıdaki LPS tabakasının stabil halde kalmasını sağlayan divalan değerlikli kalsiyum (Ca^{+2}) ve Mg^{+2} atomların yer değiştirmesi yüzünden membran yapısının bozulmaya başlamasıyla membran geçirgenliğin artmasına neden olur (117, 118). Bu olay neticesinde hücredeki ozmotik denge bozularak hücrenin ölümüne neden olur (119).

2.2.3.3. Direnç Mekanizması

Dünya çapında Gram-negatif enfeksiyonlarının tedavilerinde fazla tercih edilmemesi sebebiyle direnç oranı düşüktür. Ancak ÇİD’li *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* gibi Gram-negatif bakteri türlerinde kolistin direnci görülmektedir (120). Kolistine karşı oluşan direnç mekanizması, çeşitli bakteri türleri ile yapılan moleküler çalışmalar sonucunda ortaya koyulmuştur. Dış membran porinlerin yapısının değişmesi, LPS’nin anyon yükünün azalması ve yapısının değişmesi, effluks pompalarının ifadesinin artması, polisakkarit kapsülün fazla üretilmesi (117, 121-126) ve bazı bakterilerin kolistin molekülünü inaktive eden “kolistinaz enzimi” üretmesi kolistine karşı görülen bakteriyel direncin başlıca sebepleridir (127).

Gram-negatif bakterilerde görülen kolistin direnci iki bileşenli regülatör sistemi olan PhoPQ ve PmrAB’nin LPS tabakasının dış kısmında oluşturduğu değişikliklerden kaynaklanmaktadır (128-129). Pmr lokusu, sensör kinaz ve etanolamin transferazı içeren iki bileşenli kendiliğinden düzenlenen bir sinyal aktarım mekanizmasıdır. Etanolamin transferaz LPS tabakasının bileşeni olan lipid-A ya etanolamin ilavesiyle LPS anyon yükün azalmasına ve bu sayede katyon yüklü kolistin LPS’ye bağlanma afinitesinin zayıflaması sayesinde konak hücre kolistin direnci kazanmış olur (130). İki bileşenli regülatör sistemleri ortamdaki kolistinin varlığına göre ifade değişikliği gösterir. Kolistin yokluğunda durgun fazda PmrAB, PmrD, PhoPQ ifadesi artarken kolistin miktarının artışına bağlı olarak PmrD, PhoPQ ifadesi azalmaktadır (131). Diğer yandan, plazmid kökenli “mcr-1” geninde kodlanan ve Gram negatiflerin dış zar Lipit-A yapısını değiştiren bir yapı olan lipit-A fosfoetanolamin transferaz enzimi de kolistini hidrolize ederek antibiyotik direncine neden olur (132). Birçok Gram-negatif bakteri türlerinde

polimiksinlere direnç kazanılması 4-amino-4-deoksi-Larabinoz veya fosfoetanolamin'in Lipit-A'ya ilave edilmesiyle meydana gelir (133). Bu değişiklik, LPS tabakasındaki anyonların azalmasına ve kolistin LPS'ye olan afinitesinin zayıflamasına böylece polimiksinlere karşı bakteriyel direncin gelişmesine neden olur (134).

2.2.3.4. Etki Spektrumu

K. pneumoniae, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Acinetobacter spp*, *Shigella spp*, *Salmonella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Haemophilus influenzae.*, *Yersinia pseudotuberculosis* ve *Bordetella pertussis*'e karşı bakterisidal etkinlik gösterir. *S. maltophilia*'nın neden olduğu enfeksiyonlara karşı aktivite göstermekle beraber duyarlılığı değişkenlik gösterebilir. *Proteus mirabilis*, *Brucella spp.*, *Pseudomallei sp.*, *Morganella morganii*, *Providencia sp.*, *Neisseria sp.*, *Moraxella catarrhalis* ve *B. cepacia* bakterileri doğal dirence sahiptir. Bazı *Mycobacterium* türleri; *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium phlei* ve *Mycobacterium smegmatis* gibi bakteri türlerine karşı etkilidir (117).

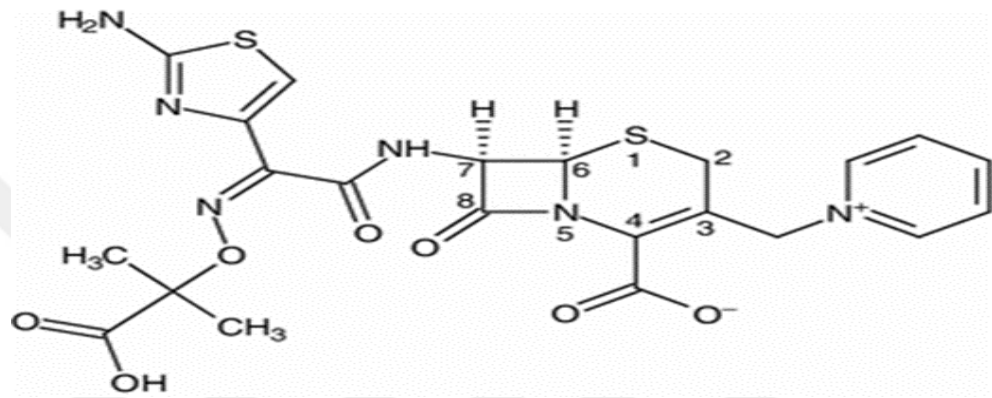
2.2.4. Seftazidim

2.2.4.1. Yapı-Aktivite İlişkisi

Seftazidim üçüncü kuşak bir sefalosporin antibiyotığıdır. Sefalosporinler 1945 yılında *Cephalosporium acremonium* adı verilen bir mantardan izole edilmiştir. 1960 yılından itibaren klinik olarak kullanılmaya başlanmıştır (135).

Sefalosporinlerin temel kimyasal yapısı 7 amino sefalosporinik asittir. Bu yapı sefem nükleusu olarak da adlandırılmaktadır. Sefem nükleusu, bir dihidro tiyazin ve beta-laktam halkasından oluşmaktadır (81, 136). Sefem nükleusu, penisilin temel kimyasal yapısını oluşturan 6- aminopenisilik asitten üstün olması, penisilinlere oranla beta-laktamazlara karşı göstermiş olduğu yüksek stabiliteden dolayı çok sayıda bakteri türüne karşı etki gösterir. Sefalosporinler 3 ve 7' inci pozisyonlarda bulunan yan zincirlere eklenen yeni kimyasal moleküller sayesinde çok sayıda sefalosporin molekülü oluşturulmuştur (135). Bunlardan biri olan seftazidimin, üçüncü pozisyonunda bulunan yan zincir farmakokinetik özelliklerden sorumlu iken yedinci pozisyonunda bulunan yan zincir antimikrobiyal aktiviteden sorumludur. Seftazidimin yedinci pozisyonunda bulunan yan zincir, bir amino tiyadiazol halkası ve karbona bağlı bir karboksi propil

oksimino zincirinden oluşmaktadır (Şekil 2.5). Bu halka yapısı Gram-negatif çomaklara karşı güçlü aktivite sağlar. Diğer sefalosporinlerde bulunan meta oksimino zinciri ile karşılaştırıldığında Gram-negatiflere karşı benzer bir etkiyle etkili olurlar. *P. aeruginosa* karşı artan bir aktiviteye sahipken *Enterobacteriaceae*'ye karşı azalan bir aktiviteye sahiptir (137-139). Seftazidimin *P. aeruginosa* 'ya karşı güçlü bir aktiviteye sahip olması üçüncü pozisyonunda bulunan metil pridinyum yan zincirinden kaynaklanmaktadır (140). Ayrıca bu yan zincir suda çözünürlüğü artırıcı zwitteriyonik özellik sağlar (81).



Şekil 2-5: Seftazidimin kimyasal yapısı

2.2.4.2. Etki Mekanizması

Seftazidim, yapısında bulunan beta-laktam halkasından dolayı diğer beta-laktam antibiyotiklerin etkilerine benzer bir mekanizmayla bakterilere bakterisidal etki gösterirler. Seftazidim hücreye Gram-pozitif bakterilerde difüzyonla geçerken Gram-negatif bakterilerde porlar vasıtasıyla hücre içine girerek PBP'lere bağlanır. PBP'ler hücre duvarının oluşumunu sağlayan pentapeptid yapılı peptidoglikan sentezinden sorumludur. Seftazidim PBP'ye bağlanarak pentapeptid yapıdaki peptidoglikan yapısının oluşmasını önleyerek hücrenin ölümüne neden olur (141-143).

2.2.4.3. Direnç Mekanizması

Bakteriler, diğer beta-laktam ajanlara olduğu gibi seftazidime karşı da benzer birkaç mekanizmayla direnç kazanırlar. Gram-negatif bakterilerde maddelerin hücreye giriş çıkışında sorumlu olan hücre membranında bulunduğundan por kanallarında meydana gelen değişiklikler hücre membranının seçici geçici geçirgenliğini azalmasından dolayı direnç kazanırlar (144).

PBP'ler antimikrobiyal ajanların bağlanma bölgesidir. Burada meydana gelen kromozomal mutasyon seftazidim gibi diğer beta-laktam ajanların PBP'lere bağlanma afinitesini zayıflatarak bakterilerin direnç kazanmalarını sağlar. *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *N. gonorrhoeae* affinite azalmasına bağlı olarak direnç kazanabilmektedir (145).

Dirençli bakterilerin çoğu beta-laktam ajanlarının antibakteriyel aktivitesini etkisiz hale getirmek için beta-laktamazlar olarak adlandırılan enzimler üretirler. (146-147). Beta-laktam halkasına bağlanarak bu halkayı hidrolize eden beta-laktamaz direnç genleri bakteri türlerinde kromozom veya plazmidler üzerinde kodlanabilir. Kromozomlar aracılığıyla kodlananlar Tip-1 beta-laktamazlar aynı zamanda sefalosporinazlar olarak da adlandırılırlar. Tip-1 beta-laktamaz üreten bakteri türlerine örnek olarak *Serratia spp*, *Citrobacter spp.*, *Morganella spp.* ve *Enterobacter spp.* örnek olarak verilebilir. Tip-1 beta-laktamazlar düşük seviyede üretilmelerine rağmen beta-laktam antibiyotikleri tarafından indüklenebilir ve spontan mutasyonlar nedeniyle büyük miktarda üretilir. Plazmid aracılığıyla kodlanan enzimlere örnek olarak TEM, SHV ve OXA verilebilir. Bu enzimler GSBL'ler üretirler. GSBL'ler seftazidim gibi diğer beta-laktam ajanlarını hidrolize etme kapasitesine sahiptirler. Genel olarak TEM-1, TEM-2 ve SHV 1 beta-laktamazlar seftazidime karşı direnç genlerini aktarırlar (146-149).

2.2.4.4 Etki Spektrumu

Seftazidim, üçüncü kuşak sefalosporin antibiyotikidir. Diğer beta-laktam antibiyotikleri gibi geniş spektrumlu antimikrobiyal etki gösterirler. Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı etkilidir. Gram-negatif bakterilerden, *Enterobacter spp.*, *E. coli*, *H. influenzae*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *P. aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *M. catarrhalis*, *Serratia spp*, ve *Citrobacter spp.* türlerine karşı güçlü aktiviteye sahiptirler. Gram-pozitif bakterilerden *Streptococcus spp*, *S. pneumoniae* ve *S. pyogenes* türlerine karşı güçlü aktiviteye sahiptir. MRSA, *S. faecalis*, diğer *Enterococcus*, *L. monocytogenes*, *C. difficile* ve *Campylobacter* türlerine karşı ise zayıf antibakteriyel etkiye sahiptir (150-151).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bakteri Suşları

Çalışmamızda Danimarka Aarhus Üniversitesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Bölümü'nde KF hastaların solunum yolu örneklerinden 2017-2019 yıllarında izole edilen 50 adet *Achromobacter* suşu kullanılmıştır. Bu suşların tanıları API 20 NE (BioMerieux), *nrdA* dizi analizi ve darbeli alan jel elektroforez (pulsed field gel electrophoresis) yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık deneylerinin standardizasyonunu sağlamak için *P. aeruginosa* Amerikan Type Culture Collection (ATCC) 27853 standart suşu kullanılmıştır (152).

3.2. Besiyerleri

3.2.1 Triptik Soya Agar (TSA) Besiyeri (Difco)

Toz halde bulunan TSA'dan 40 gram tartılıp 1000 ml distile suda çözündürülmüştür. Daha sonra 500 ml'lik iki balona 500'er ml aktarılmıştır. Otoklavda 121°C 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavda sterilizasyon işlemi gerçekleşikten sonra balonda bulunan sıvı TSA'lar 15'er ml olacak şekilde steril petri kaplarına paylaştırılmıştır. Petri kaplarında bulunan TSA'lar katılaştıktan sonra sterilite kontrolü yapılarak deneylerde kullanmak için hazır hale gelmiştir.

3.2.2. Mueller Hinton Buyyonu (MHB) (Oxoid)

Toz şekline bulunan MHB'den 21 gr tartılarak, 1000 ml distile suda çözündürülmüştür. Sonrasında 5x200 ml erlen şişelerin her birinde 200 ml olacak şekilde paylaştırılmıştır. Bu işlemden sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

MHB hazırlandıktan sonra bivalent değerlikli katyon olan Ca^{+2} ve Mg^{+2} tuzları distile suda çözündürüldükten sonra MHB içerisine önerilen miktarda koyulmuştur. $MgCl_2.6H_2O$ ve $CaCl_2.2H_2O$ 'nun 10 mg/ml'lik steril stok çözeltileri hazırlanarak membran filtreden (Sartorius 0,2 μm) geçirilerek sterilizasyonu sağlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltiler +4°C saklanmıştır. MHB besiyerine Ca^{+2} tuzlarını içeren çözeltiden 50mg/l, tuzlarını Mg^{+2} içeren çözeltide 25 mg/l olacak şekilde eklenerek katyon ilaveli MHB (KİMHB) hazırlanmıştır.

3.3. Antibiyotikler ve Çözeltiler

Deneyde kullanılan antibiyotikler: meropenem; Astra Zeneca Türkiye (aktivitesi 986 µg/mg), kolistin sülfat; Sanofi Dif İlaç A.Ş. (aktivitesi 1008 µg/mg), eravasiklin; Tetrphase İlaç A.Ş (aktivitesi 981 µg/mg), seftazidim; Glaxosmithkline İlaçları San. Ve Tic. A.Ş. (aktivitesi 845 µg/mg) firmalarından temin edilmiştir. Üretici firmaların önerileri doğrultusunda seftazidim hariç tüm antibiyotikler steril distile suda çözölmüştür. Seftazidimin çözöndürölmesinde sodyum karbonat çözeltisi kullanılmıştır. Aşağıdaki formöl kullanılarak antibiyotiklerin stok çözeltileri hazırlanmıştır.

$$\begin{array}{l} \text{Tartılan} \\ \text{Antibiyotik miktarı} \\ \text{(mg)} \end{array} = \frac{\text{Çözücünün hacmi (ml)} \times \text{İstenen konsantrasyon (µg/ml)}}{\text{Antibiyotiğin aktivitesi (µg/mg)}}$$

Antibiyotiklerin her birinden uygun miktarlarda hassas terazide (Sartorius, CP224S) tartılmış, yeterli miktarda uygun çözöcöde çözöndüröldükten sonra, stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bunun için steril balon içinde anhidrid sodyum karbonattan seftazidimin hesaplanan miktarının tam %10 miktarında tartılmış; steril distile suda çözöndürölmüş bunun üzerine seftazidim ilave edilip çözöndüröldükten sonra gerekli hacme steril distile su ile tamamlanarak stok çözeltileri hazırlanmıştır. Meropenem hariç diğör antibiyotiklerin 5120 mg/L’lik stok çözeltisi daha sonra deneylerde kullanılmak üzere -80°C’de saklanmıştır. Meropenem her deney öncesinde 128 mg/L’lik stok çözeltisi taze olarak hazırlanmıştır.

3.4. Diğör Malzemeler

Eravasiklin, kolistin, seftazidim, meropenemin Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değörlerinin belirlenmesi için 96 kuyulu U tabanlı steril mikropalaklar (Lp Italiana Spa.) kullanılmıştır. Antibiyotik çözeltileri, besiyerleri, bakteri süspansiyonlarının mikropalaklara aktarılması amacıyla tek kanallı otomatik pipetörler (Gilson, Pipeetman), 8 kanallı otomatik pipetör (Gilson, Pipeetman) ve steril uçlar kullanılmıştır. Süspansiyon çözeltilerini hazırlamak için steril polipropilen tüpler ve zamana bağılı öldürme (ZBÖ) (Time Kill Curve) deneylerinde 15 ml’ lik falkon tüpleri (Grainer) kullanılmıştır.

3.5. Bakteri İnokulumunun Hazırlanması

Çalışmada kullanılmak üzere -80°C 'de depolanan 50 adet klinik *Achromobacter* suşlarından TSA içeren petrilere tek düşmüş koloni elde etmek amacıyla azaltma yöntemiyle ekimi yapılmıştır, petrilere 37°C 'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda tek düşmüş kolonilerden alınan örnekler, 4ml KİMHB içeren steril kapaklı tüplere aktarılmıştır. Daha sonra tüp bulanıklığı densitometre (Biosan DEN-1) cihazında 0,5 McFarland bulanıklığa uygun olacak şekilde ayarlanmış böylece 1×10^8 Koloni Oluşturan Birim (KOB)/ml'lik bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Elde edilen bakteri süspansiyonlarının deneylerinde kullanılabilmesi için hazırlanışı daha önce 3.2.2.'de belirtilen KİMHB besiyerinde, MİK deneyi için 1/100 oranında ZBÖ deneyi için 1 / 10 oranında seyreltme yapılarak, MİK deneyi için 1×10^6 kob/ml ve ZBÖ deneyi için 1×10^7 kob/ml bakteri süspansiyonları elde edilmiştir.

Hazırlanan her bakteri süspansiyonunun kontrolü için steril fizyolojik tuzlu su kullanılarak 1×10^{-3} ve 1×10^{-4} oranında seyreltme uygulanmış ve bu seyreltmelerden 100 μl 'lik örnekler alınarak TSA içeren Petri yüzeylerine yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim sonucunda petrilere 37°C etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda koloniler sayılıp seyreltme faktörüne dikkat ederek süspansiyonun mililitresindeki canlı bakteri sayısı tespit edilmiştir.

3.6. Antibiyotiklerin MİK Değerlerinin Belirlenmesi

3.6.1. Deney Koşullarının Standardizasyonu

Uluslararası standartlara uygunluğunu sağlamak amacıyla MİK deneylerimiz The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) "Mikrodilüsyon Metodu" esasına göre çalışılmıştır. Çalışmalarımızda, CLSI doğrultusunda, *P. aeruginosa* ATCC 27853 kontrol suşu olarak kullanılmıştır (152). MİK çalışmalarında, steril U tabanlı 96 kuyulu mikropipler kullanılarak hazırlanışı 3.2.2. bölümde belirtilen KİMHB besiyeri ile antibiyotiklerin seri dilüsyonları elde edilmiştir. Seri dilüsyonlar sonucunda mikropiplerde elde edilen antibiyotik aralıkları; eravasiklin ve meropenem için 32-0,03 $\mu\text{g}/\text{ml}$, kolistin için 64-0,016 $\mu\text{g}/\text{ml}$, seftazidim için 64-0,625 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 'dir. *P. aeruginosa* kontrol suşu için antibiyotiklerin MİK çalışma aralıkları 64-0,625 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 'dir. 1×10^6 kob/ml'lik bakteri süspansiyonu kuyulara ilave edildikten sonra mikropiplerin üst kısmı buharlaşmayı ve olası bir kontaminasyonu önlemek amacıyla steril bir kapakla kapatılmıştır. 37°C 'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda üremenin

olmadığı en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak belirlenmiştir. Kontrol bakteri deneyleri her çalışmaya dahil edilmiştir. Elde edilen sonuçlar CLSI'nin ilgili verileri ile karşılaştırılarak her MİK deneyinin uluslararası standartlara uygunluğu doğrulanmıştır.

3.6.2. Çalışmada Kullanılan Antibiyotiklerin MİK Değerinin Belirlenmesi

Çalışmamızda KF'li hastaların solunum yolu örneklerinden izole edilen 50 adet *Achromobacter* suşuna karşı, eravasiklin, meropenem, kolistin ve seftazidimin MİK değerleri belirlenmiştir. Bu amaçla U tabanlı, 96 kuyulu mikroplağın 2 numaralı kolonundan itibaren 11 numaralı kolon dahil olacak şekilde her bir kuyuya hazırlanışı 3.2.2'de anlatılan KİMBB'den 50'şer µl ilave edilmiştir. Arkasından 1 ve 2 numaralı kolonlardaki her bir kuyuya 50 şer µl denenecek antibiyotiğin başlangıç konsantrasyonunun iki katı olacak şekildeki hazırlanan çözeltilisinden ilave edilmiştir. Sonrasında 2 numaralı kolondan başlamak üzere 11 numaralı kolona kadar 8-kanallı pipet yardımıyla antibiyotiklerin seri dilüsyonu yapılmıştır. Daha sonra 12 numaralı kolonun A sırası kuyu hariç tüm kuyulara 1×10^6 kob/ml bakteri süspansiyonundan eklenmiştir. 12-A kuyusu MHB'nin sterilit kontrolünde diğer kuyular ise üreme kontrolü olarak kullanılmıştır. Daha sonra mikropakların üstü steril kapakla kapatılmış buharlaşmayı engellemek amacıyla naylon bir kılıfın içerisine koyularak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda gözle görülür üremenin olmadığı en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir.

3.7. Antibiyotiklerin ZBÖ Yöntemiyle Etkilerinin Araştırılması

Tez çalışmamızdaki ZBÖ deneyleri National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)'ın "Antimikrobiyal Ajanların Bakterisidal Aktivitesini Belirleme Yöntemleri" esas alınarak çalışılmıştır (153) KF hastalarından izole edilen iki adet *A. xylosoxidans*, iki adet *A. insuavis* ve iki adet *A. ruhlandii* suşu olmak üzere toplam altı adet *Achromobacter* türü bakteriye karşı eravasiklin, meropenem, kolistin ve seftazidimin tek başlarına oluşturdukları bakterisidal etkiler araştırılmıştır. Ayrıca çalışmamızda, 1xMİK ve 4xMİK'lik eravasiklin-meropenem, eravasiklin-kolistin ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonlarının oluşturduğu antibakteriyel (bakterisidal ve sinerjistik) etkiler araştırılmıştır. ZBÖ deneylerinde çalışılan MİK değerleri kolistin ve seftazidim için 2-4 µg/ml, meropenem için 0,125-0,5 µg/ml ve eravasiklin için 0,5-2 µg/ml'dir.

Bu amaçla çalışmada kullanılan her bir antibiyotiğin hazırlanışı 3.3. bölümde anlatılan stok çözeltilerinden KİMBB ile seyreltme yapılarak 40xMİK'lik çözeltileri elde

edilmiştir. Ardından 40xMİK'lik antibiyotik çözeltilerinden $\frac{1}{4}$ oranında KİMHB ile seyreltme yapılarak her antibiyotiğin 10xMİK'lik çözeltiler hazırlanmıştır. Daha sonra 15 ml'lik falkonlara tekli antibiyotik uygulamaları için 8 ml KİMHB ilave edilmiş, kombinasyonlar için ise 7 ml KİMHB ilave edilmiştir. Kontrol deneyi için 15 ml'lik falkona 9 ml KİMHB koyulmuş antibiyotik ilave edilmemiştir. Ardından, deney tüplerine her antibiyotik için 10xMİK'lik veya 40xMİK'lik çözeltilerinden ilave edilmiştir. Son olarak deney tüplerinin her birine, 1 ml 1×10^7 kob/ml'lik bakteri süspansiyonundan ilave edilmiştir. Falkonlar bakteri ilavesinden sonra 37°C'de 70 devir / dakika hızındaki çalkalayıcı su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Her bir tüpten 0., 2., 4., 6., 24. saatlerde örnek alınarak canlı bakteri sayısı tespit edilmiştir. Alınan örneklerdeki canlı bakteri sayısının tespiti için ya doğrudan ya da steril fizyolojik tuzlu su ile gerekli seyreltme işlemi yapılarak TSA içeren petrilere ekilmiştir. Daha sonra petriler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda oluşan koloniler seyreltme faktörü göz önüne alınarak süspansiyonun mililitresinde bulunan canlı bakteri sayısı hesaplanmıştır. Bu deneyler her bir bakteri ve antibiyotik koşulu için iki kez tekrarlanmış ve ortalaması alınmıştır. Her çalışma bakteri canlılığının ve deney koşullarını kontrol edilmesi amacıyla antibiyotiksiz besiyerinde de yapılmıştır.

Elde edilen sonuçlar zaman 'x' ekseninde, logaritmik olarak ifade edilen bakteri sayısı 'y' ekseninde olacak şekilde gösterilerek ZBÖ eğrileri çizilmiştir.

Sonuçlar NCCLS verileri esas alınarak aşağıdaki gibi değerlendirilmiştir (153):

1) Sinerjist Etki: 24. saatte, antibiyotik kombinasyonu ile elde edilen bakteri sayısının, kombinasyonda kullanılan antibiyotiklerden daha aktif olanın tek başına oluşturduğu etki sonucu elde edilen bakteri sayısına göre 100 kat ya da daha fazla ($\geq 2\log_{10}$) azalmış olması sinerjist etki olarak kabul edilmiştir.

2) Additif Etki: 24. saatte, antibiyotik kombinasyonu ile elde edilen bakteri sayısının, kombinasyonda kullanılan antibiyotiklerden daha aktif olanın tek başına oluşturduğu etki sonucu elde edilen bakteri sayısına göre 10 kattan ($< 1\log_{10}$) daha az ya da çok olması additif etki olarak kabul edilmiştir.

3) Antagonist Etki: 24. saatte, antibiyotik kombinasyonu ile elde edilen bakteri sayısının, kombinasyonda kullanılan antibiyotiklerden daha aktif olanın tek başına oluşturduğu etki sonucu elde edilen bakteri sayısına göre 100 kat ya da daha fazla ($\geq 2\log_{10}$) artmış olması antagonist etki olarak kabul edilmiştir.

4) Bakterisidal Etki: Tek başına ya da kombinasyon halinde kullanılan antibiyotiklerin 24. saatte oluşturduğu etki sonucu elde edilen bakteri sayısının, başlangıç inokulumuna göre en az 1000 kat azalmış ($\geq 3\log_{10}$) olması bakterisidal etki olarak kabul edilmiştir.

3.8. İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi için iki yönlü varyans analiz testi olan two-way ANOVA testi kullanılmış ve elde edilen veriler $p<0,05$ olasılık değeri esas alınarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. *Achromobacter* Suşlarına Ait Bulgular

Tez çalışmamızda, 2017-2019 yılları arasında Danimarka Aarhus Üniversitesi Hastanesinden izole edilerek tanımlanan 50 adet *Achromobacter* suşuna karşı antimikrobiyal duyarlılık deneyleri yapılmıştır. Çalışmada kullanılan *Achromobacter* suşlarının türleri ve sayıları dağılımları: *A. xylosoxidans* 21 adet, *A. insuavis* 10 adet, *A. ruhlandii* 9 adet, *A. aegrifaciens* 2 adet, *A. genogrup* 3 adet, *A. mucicolens* 1 adet, *A. spirithus* 1 adet, *A. dolens* 1 adet, *A. piechaudii* 1 adet ve *A. denitrificans* 1 adettir.

4.1.1. Deney Koşullarının Standardizasyonuna Ait Bulgular

Deney koşullarının standardizasyonu için *P. aeruginosa* ATCC 27853 standart suşuna karşı deneylerimizde kullandığımız eravasiklin, meropenem, kolistin ve seftazidimin MİK değerleri broth mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiş ve belirlenen bu değerlerin CLSI tarafından belirtilen sınırlar içerisinde olduğu kontrol edilmiştir (152). CLSI'nın kontrol suş için belirlediği MİK değerleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4-1: Antibiyotiklerin *P. aeruginosa* ATCC 27853 Suşuna Karşı Saptanan MİK aralığı (µg/ml)

Antibiyotik	MİK µg/ml
Eravasiklin	2-8
Meropenem	0,25-1
Kolistin	1-4
Seftazidim	1-4

CLSI'nın kontrol suş değerleri: Eravasiklin 2-16 (µg/ml), Meropenem 0,125-1 (µg/ml), Kolistin 0,5-4 (µg/ml), Seftazidim 1-4 (µg/ml) (152)

4.1.2. MİK Deneylerinde Kullanılan 50 adet *Achromobacter* Suşlarına Ait Bulgular

Çalışmamızda KF hastalarından izole edilmiş 50 adet klinik kökenli *Achromobacter* suşuna karşı eravasiklin, meropenem, kolistin, seftazidimin mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenen MİK değerlerinin sınırları, sırasıyla 0,03-≥8 µg /ml, 0,125-≥8 µg /ml, 0,016-≥64 µg /ml ve 1-≥32 µg /ml olarak belirlenmiştir. 2021 CLSI klavuzunda, kolistin için duyarlı kriteri çıkarılarak sadece orta duyarlı ve dirençli sınır değerleri belirtilmiştir (152). Yaptığımız duyarlılık çalışmalarına ait veriler

değerlendirildiğinde çalışmamızda kullanılan toplam 50 adet *Achromobacter* türü bakterinin kolistin, seftazidim ve meropeneme duyarlı olanlarının sayısı ve oranı sırasıyla 29 (%58) suş, 49 (%98) suş ve 49 (%98) suş olarak saptanmıştır. Çalışmada kullanılan 21 adet *A. xylosoxidans* suşunun kolistin, seftazidim ve meropeneme duyarlı olan suş sayısı sırasıyla 9/21, 20/21 ve 20/21 olarak saptanmıştır. Deneylerde kullanılan 10 *A. insuavis* suşunun kolistin, seftazidim ve meropenem antibiyotiklerine duyarlı suş sayısı sırasıyla 6/10, 10/10, 10/10, olarak saptanmıştır. 9 *A. ruhlandii* suşunun kolistin, seftazidim ve meropenem antibiyotiklerine duyarlı suş sayısı sırasıyla 6/9, 9/9 ve 9/9 olarak saptanmıştır. 3 *A. genogrup* suşunun kolistin, seftazidim ve meropenem antibiyotiklerine duyarlı suş sayısı sırasıyla 3/3, 3/3 ve 3/3 olarak saptanmıştır. 2 *Achromobacter aegrifaciens* suşunun kolistin, seftazidim ve meropenem antibiyotiklerine duyarlı suş sayısı sırasıyla 1 /2, 2/2 ve 2/2 olarak saptanmıştır. *A. mucicolens* suşunun kolistin, seftazidim ve meropenem antibiyotiklerine duyarlı suş sayısı sırasıyla 1/1, 1/1 ve 1/1 olarak saptanmıştır. *A. spirithus* suşunun kolistin, seftazidim ve meropenem antibiyotiklerine duyarlı suş sayısı sırasıyla 1/1, 1/1 ve 1/1 olarak saptanmıştır. *A. dolens* suşunun kolistin, seftazidim ve meropenem antibiyotiklerine duyarlı suş sayısı sırasıyla 0/1, 1/1 ve 1/1 olarak saptanmıştır. *A. piechaudii* suşunun kolistin, seftazidim ve meropenem antibiyotiklerine duyarlı suş sayısı sırasıyla 1/1, 1/1 ve 1/1 olarak saptanırken, *A. denitrificans* suşunun kolistin, seftazidim ve meropenem antibiyotiklerine duyarlı suş sayısı sırasıyla 1/1, 1/1 ve 1/1 olarak saptanmıştır.

Çalışmalarımız sonucu elde edilen veriler, henüz *Achromobacter* türleri için CLSI tarafından duyarlılık sınırları belirlenmediği için diğer bir non-fermentatif bakteri olan *P. aeruginosa* duyarlılık sınır değerleri ile karşılaştırılmış ve 50 adet *Achromobacter* suşunun çalışılan antibiyotiklere duyarlılık ve direnç oranları saptanarak sonuçlar Tablo 4.2.'de gösterilmiştir. Çalışılan antibiyotikler için belirlenen MİK sınırları, suşların %50 ve %90'ının üremesini inhibe eden MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerlerine ait bulgular Tablo 4.3' de gösterilmiştir. Antibiyotiklerin çalışılan 50 adet *Achromobacter* suşuna karşı saptanan MİK değerlerinin dağılımı Şekil 4.1' de gösterilmiştir.

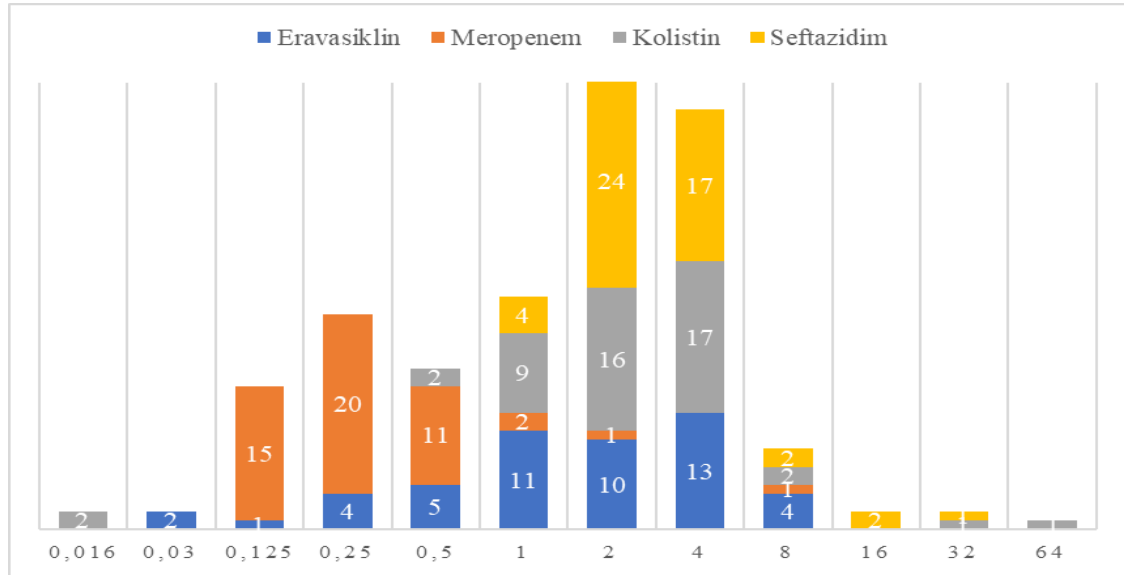
Tablo 4-2: 50 adet *Achromobacter* Suşunun Antibiyotik Duyarlılık Oranları (%)

Antibiyotikler	Duyarlı (n)	Orta duyarlı (n)	Dirençli (n)
Eravasiklin	*	*	*
Meropenem	%98 (49)	-	%2 (1)
Kolistin	-	%58 (29)	%42 (21)
Seftazidim	%94 (47)	%4 (2)	%2 (1)

*: Eravasiklin için antibiyotik duyarlılık sınırları henüz belirlenmemiştir. n: suş sayısı.

Tablo 4-3: Antibiyotiklerin 50 adet *Achromobacter* Suşuna Karşı Saptanan MİK Değerleri

Antibiyotik	MİK (µg/ml)		
	Sınırları	%50	%90
Eravasiklin	0,03-8	2	4
Meropenem	0,125-8	0,25	1
Kolistin	0,016-64	2	8
Seftazidim	1-32	2	8

**Şekil 4-1: 50 *Achromobacter* suşuna karşı saptanan MİK değerlerinin dağılımı**

CLSI'ın *P. aeruginosa* için sınır değerleri esas alındığında, duyarlılık ve direnç aralığı aşağıda belirtilmiştir (152).

Meropenem ve seftazidim için duyarlılık ve direnç aralığı sırasıyla $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ ve $\leq 8 \mu\text{g/ml}$ $\geq 32 \mu\text{g/ml}$, Kolistin için orta duyarlılık ve direnç aralığı sırasıyla $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ olarak belirlenmiştir.

4.3. Antibiyotiklerin ZBÖ Eğrilerine ait Bulgular

ZBÖ deneyleri için seçilen 2 adet *A. insuavis*, 2 adet *A. xylosoxidans* ve 2 adet *A. ruhlandii* suşu insanda enfeksiyon etkeni olarak en sık tespit edilen türlerdir. Bu suşlara ait elde edilen MİK bulguları Tablo 4.4’de gösterilmiştir.

Tablo 4-4: ZBÖ deneylerinde kullanılan 6 *Achromobacter* suşuna ait MİK değerleri (µg/ml)

Suşlar	Eravasiklin	Meropenem	Kolistin	Seftazidim
<i>A. insuavis</i> -1	1	0,5	2	2
<i>A. insuavis</i> -2	1	0,25	2	2
<i>A. xylosoxidans</i> -1	1	0,125	2	2
<i>A. xylosoxidans</i> -2	1	0,5	2	2
<i>A. ruhlandii</i> -1	0,5	0,5	4	2
<i>A. ruhlandii</i> -2	2	0,25	2	4

4.3.1. Antibiyotiklerin Tek Başlarına Oluşturduğu Bakterisidal Etkilere Ait Bulgular

Deneyde kullanılan eravasiklin, meropenem, kolistin ve seftazidim antibiyotiklerinin tek başlarına oluşturmuş oldukları bakterisidal etkiler ZBÖ yöntemi ile araştırılmış ve bunlara ait bulgular Tablo 4.5 ‘de gösterilmiştir. Deneyde kullanılan 6 *Achromobacter* suşuna karşı kullanılan tekli antibiyotiklerin logaritmik ortalama bulguları Tablo 4.6’da gösterilmiştir.

Tablo 4-5: ZBÖ deneyleri ile antibiyotiklerin tek başlarına oluşturduğu etkiler

Antibiyotikler	Belirlenen inkübasyon zamanlarında logaritmik azalma ($\log_{10}$) gösteren suş sayısı											
	2.saat			4.saat			6.saat			24.saat		
	-1	-2	-3	-1	-2	-3	-1	-2	-3	-1	-2	-3
Eravasiklin												
1xMİK	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4xMİK	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Meropenem												
1xMİK	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
4xMİK	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	0
Kolistin												
1xMİK	4	0	0	5	1	0	4	2	0	0	0	0
4xMİK	6	0	0	4	2	0	0	4	2*	1	0	1*
Seftazidim												
1xMİK	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4xMİK	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

* Başlangıç inokulumuna göre canlı bakteri sayısında $\geq 3 \log_{10}$ kob/ml azalma bakterisidal aktivite olarak tanımlanmıştır (NCCLS) (153)

Tablo 4-6: ZBÖ deneyinde kullanılan 6 *Achromobacter* suşuna karşı kullanılan tekli antibiyotiklerin ortalama logaritmik bulguları

Antibiyotikler Kombinasyonlar	ZBÖ deneyinde 6 <i>Achromobacter</i> suşunun ortalamasına ait belirli inkübasyon zamanlarına ait logaritmik bulgular				
	0.saat	2.saat	4.saat	6.saat	24.saat
Eravasiklin					
1xMİK	6,35	6,28	6,23	6,20	7,09
4xMİK	6,31	6,23	6,16	6,02	5,90
Meropenem					
1xMİK	6,34	6,25	6,16	6,10	5,67
4xMİK	6,27	6,14	6,09	5,85	4,70
Kolistin					
1xMİK	6,36	5,41	4,90	4,60	7,83
4xMİK	6,30	5,15	4,58	3,95	5,61
Seftazidim					
1xMİK	6,39	6,28	6,17	6,15	6,93
4xMİK	6,37	6,33	6,15	6,07	5,90

ZBÖ deneylerinden elde edilen veriler, 24 saat boyunca 1xMİK'lik antibiyotik çözeltileri ile bakterisidal etki oluşmadığını göstermiştir. Benzer şekilde 4xMİK'lik eravasiklin, meropenem ve seftazidim antibiyotik çözeltileri ile 24 saat boyunca bakterisidal etki saptanmamıştır. Diğer yandan 4xMİK'lik kolistin ile 6. saatte 2 *Achromobacter* suşuna (*A. xylosoxidans*-1, *A. ruhlandii*-1) karşı bakterisidal etki saptanırken, 24'üncü saatte 1 *Achromobacter* suşuna (*A. xylosoxidans*-2) karşı bakterisidal etki saptanmıştır.

4.3.2. Antibiyotik Kombinasyonlarının Oluşturduğu ZBÖ Eğrilerine Ait Bulgular

Antibiyotiklerin kombinasyon halinde oluşturdukları antimikrobiyal etkinliklerin incelenmesi amacı ile yaptığımız çalışmalarımızda, yeni bir antibiyotik olan eravasiklin, *Achromobacter* tedavi protokollerinde yer alan meropenem, kolistin ve seftazidim antibiyotikleri ile kombine edilmiştir. Kombinasyonun oluşturduğu etkiler ZBÖ yöntemi ile araştırılmış ve ZBÖ eğrileri çizilmiştir. MİK değerleri eravasiklin için 0,5-2 µg/ml, meropenem için 0,125-0,5 µg/ml, kolistin ve seftazidim için 2-4 µg/ml arasında saptanan 6 adet *Achromobacter* suşuna karşı denenen antibiyotik kombinasyonlarının 1xMİK ve 4xMİK'de oluşturmuş oldukları sinerjistik, additif ve bakterisidal etkilerine ait bulgular Tablo 4.7'de ve suşların logaritmik ortalama bulguları Tablo 4.8'de gösterilmiştir. A.

insuavis-1 ve *A. insuavis*-2 suşlarına karşı denenen antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B) değerlerinde oluşturduğu ZBÖ eğrileri sırasıyla Şekil 4.2 ve Şekil 4.3’de; *A. xylosoxidans*-1 ve *A. xylosoxidans*-2 suşlarına karşı denenen antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B) değerlerinde oluşturduğu ZBÖ eğrileri sırasıyla Şekil 4.4. ve Şekil 4.5’de, *A. ruhlandii*-1 ve *A. ruhlandii*-2 suşlarına karşı denenen antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B) değerlerinde oluşturduğu ZBÖ eğrileri sırasıyla Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de gösterilmiştir. Kullandığımız 6 adet *Achromobacter* suşuna karşı denenen antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B) değerlerinde oluşturduğu ortalama değerlere ait ZBÖ eğrileri Şekil 4.8’de gösterilmiştir.

Tablo 4-7: Antibiyotiklerin kombinasyon halinde oluşturduğu sinerji / additif etkilere ait bulgular

Antibiyotikler Kombinasyonlar	Belirlenen İnkübasyon Zamanlarında Logaritmik Azalma Gösteren Suş Sayısı											
	2.saat			4.saat			6.saat			24.saat		
	-1	-2	-3	-1	-2	-3	-1	-2	-3	-1	-2	-3
ERV-MEM												
1xMİK (**)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
4xMİK (**)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	3	0
ERV-CS												
1xMİK (**)	5	0	0	5	1	0	4	2	0	0	0	0
4xMİK (*,**,b)	6	0	0	2	4	0	1	3	2	0	1 *	5 ^{b,*}
ERV-CAZ												
1xMİK (**)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4xMİK (**)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0

ERV: Eravasiklin, MEM: Meropenem, CS: Kolistin, CAZ: Seftazidim

Sinerjist etki (*), Additif etki (**). Bakterisidal etki (b)

Tablo 4-8: ZBÖ deneyinde kullanılan 6 *Achromobacter* suşuna karşı kullanılan eravasiklin kombinasyonlarının ortalama logaritmik bulguları

Antibiyotik kombinasyonları	ZBÖ deneyinde 6 <i>Achromobacter</i> suşunun ortalamasına ait belirli inkübasyon zamanlarına ait logaritmik bulgular				
	0.saat	2.saat	4.saat	6.saat	24.saat
Erv-Mem					
1xMİK	6,3	6,25	6,19	6,1	5,81
4xMİK	6,33	6,3	6,09	5,79	5
Erv-CS					
1xMİK	6,40	5,37	4,95	4,60	7,05
4xMİK	6,38	5,31	4,45	3,92	2,95
Erv-Caz					
1xMİK	6,37	6,33	6,27	6,27	6,68
4xMİK	6,40	6,34	6,14	6,13	5,62

ERV: Eravasiklin, MEM: Meropenem, CS: Kolistin, CAZ: Seftazidim

. Yaptığımız deneyler sonucunda elde edilen veriler değerlendirilerek *A. insuavis-1* suşuna karşı 1xMİK'lik eravasiklin-meropenem, eravasiklin-kolistin ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonları ile additif etki saptanırken; 4xMİK'lik eravasiklin-meropenem ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonlarında additif etki, 4xMİK'lik eravasiklin-kolistin kombinasyonları ile sinerjist etki tespit edilmiştir.

A. insuavis-2 suşuna karşı 1xMİK'lik eravasiklin-meropenem, eravasiklin-kolistin ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonları ile additif etki saptanmıştır. *A. insuavis-2* suşuna karşı 4xMİK'lik eravasiklin-meropenem ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonlarıyla additif etki, 4xMİK'lik eravasiklin-kolistin kombinasyonları ile sinerjist etki tespit edilmiştir.

A. xylosoxidans-1 suşuna karşı 1xMİK'lik eravasiklin-meropenem, eravasiklin-kolistin ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonları ile additif etki saptanmıştır. *A. xylosoxidans-1* suşuna karşı 4xMİK'lik eravasiklin-meropenem ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonları ile additif etki, 4xMİK'lik eravasiklin-kolistin kombinasyonları ile sinerjist etki tespit edilmiştir.

A. xylosoxidans-2 suşuna karşı 1xMİK'lik eravasiklin-meropenem, eravasiklin-kolistin ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonları ile additif etki saptanmıştır. *A.*

xylosoxidans-2 suşuna karşı 4xMİK'lik eravasiklin-meropenem, eravasiklin-kolistin ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonları ile additif etki tespit edilmiştir.

A. ruhlandii-1 suşuna karşı 1xMİK'lik eravasiklin-meropenem, eravasiklin-kolistin ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonları ile additif etki saptanmıştır. *A. ruhlandii-1* suşuna karşı 4xMİK'lik eravasiklin-meropenem ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonları ile additif etki, 4xMİK'lik eravasiklin-kolistin kombinasyonları ile sinerjistik etki tespit edilmiştir.

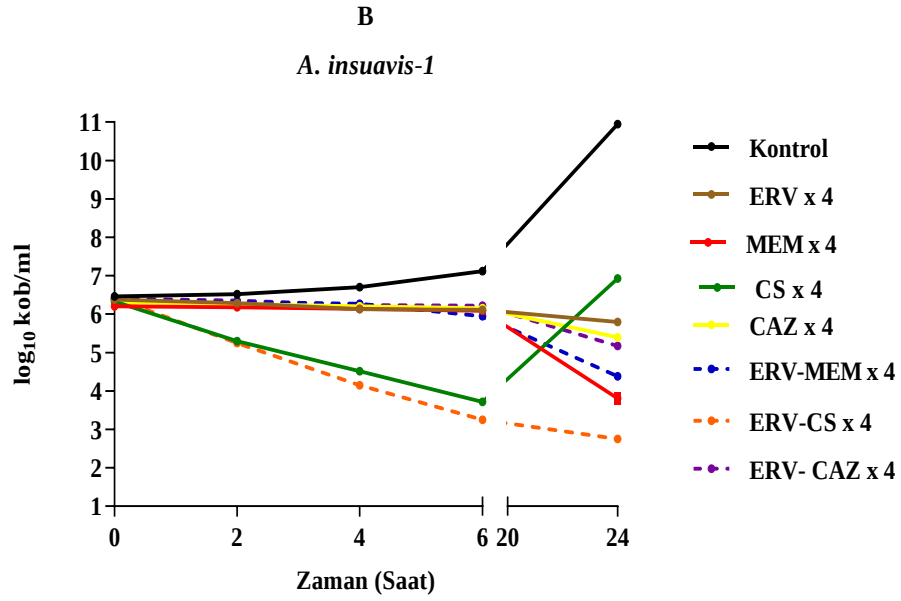
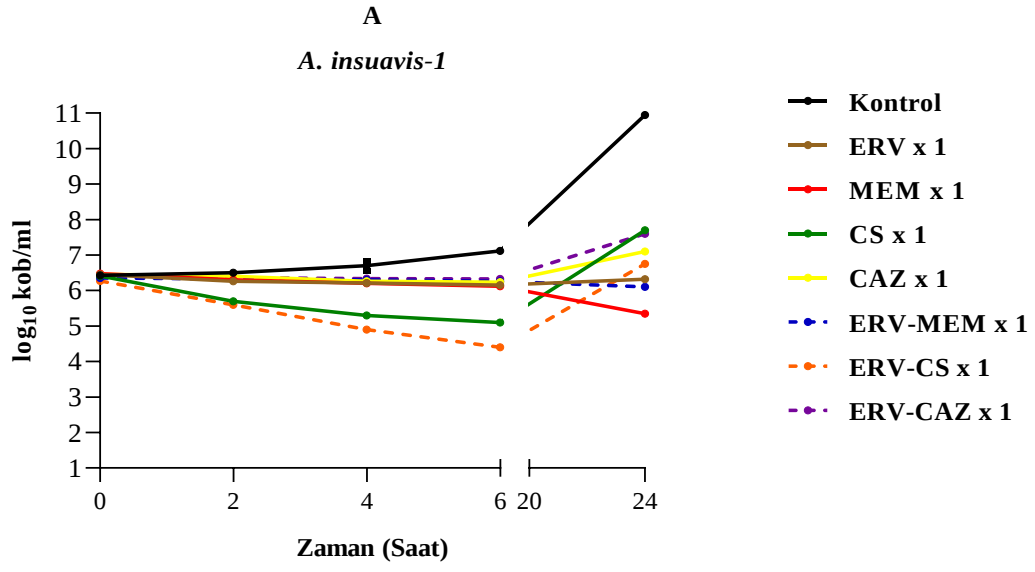
A. ruhlandii-2 suşuna karşı 1xMİK'lik eravasiklin-meropenem, eravasiklin-kolistin ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonları ile additif etki saptanmıştır. *A. ruhlandii-2* suşuna karşı 4xMİK'lik eravasiklin-meropenem ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonları ile additif etki, 4xMİK'lik eravasiklin-kolistin kombinasyonları ile sinerjistik etki tespit edilmiştir.

Deney sonuçları değerlendirildiğinde 24.saatın sonunda eravasiklinin 1xMİK'lik antibiyotik kombinasyonları ile kullandığımız 6 suşun tümüne karşı additif etki tespit edilmiştir (Şekil 4.9).

4xMİK'lik eravasiklin-meropenem ve eravasiklin-seftazidim antibiyotik kombinasyonları ile kullandığımız 6 suşa karşı additif etki tespit edilmiştir (Şekil 4.9).

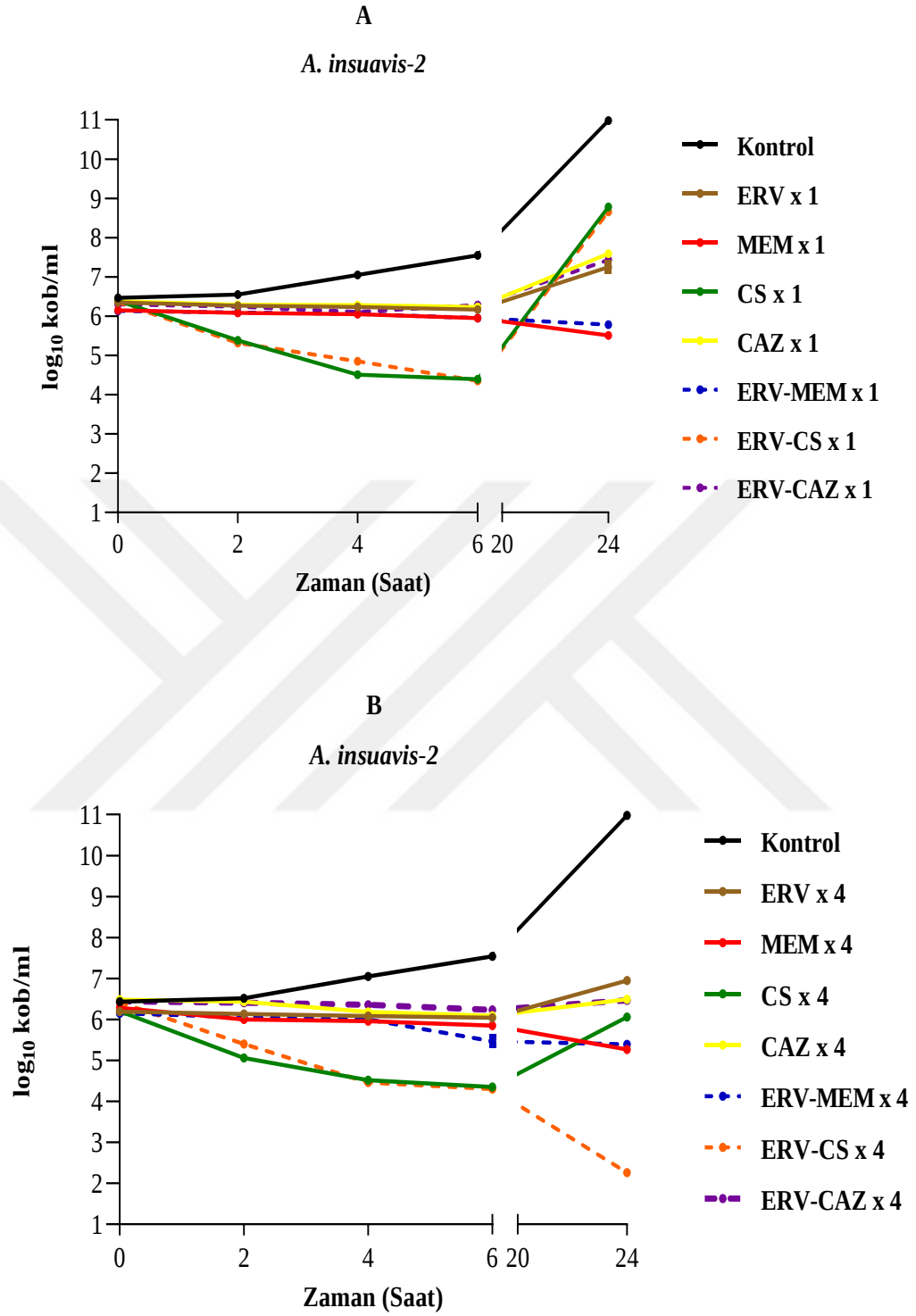
4xMİK'lik eravasiklin-kolistin kombinasyonlarında ise kullandığımız 6 suşun 5'inde sinerjistik etki gözlemlenirken sadece 1'inde (*A. xylosoxidans-2*) additif etki gözlemlenmiştir (Şekil 4.9). Bu kombinasyonların diğer saatlerinde sinerjistik etkileşim görülmemiştir.

Denenen antibiyotik kombinasyonlarının ile oluşan antibakteriyel etkilerin 6 *Achromobacter* suşu için ortalama değerlerine ait bulgular Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



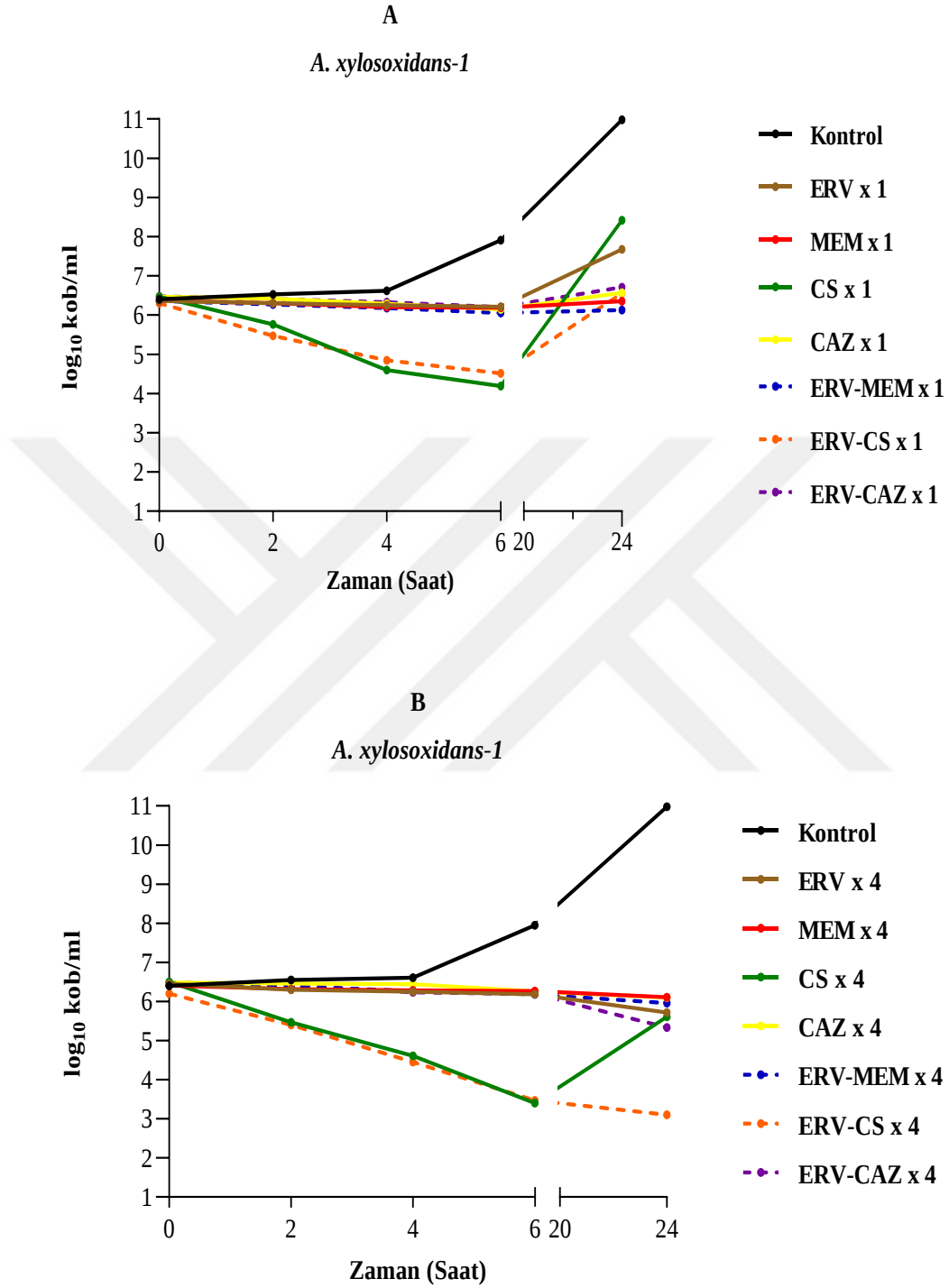
Şekil 4-2: Antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B)'de tek başlarına ve kombinasyon halinde *A. insuavis-1* suşuna karşı elde edilen ZBÖ eğrilerine ait bulgular

ERV: Eravasiklin, MEM: Meropenem, CS: Kolistin, CAZ: Seftazidim



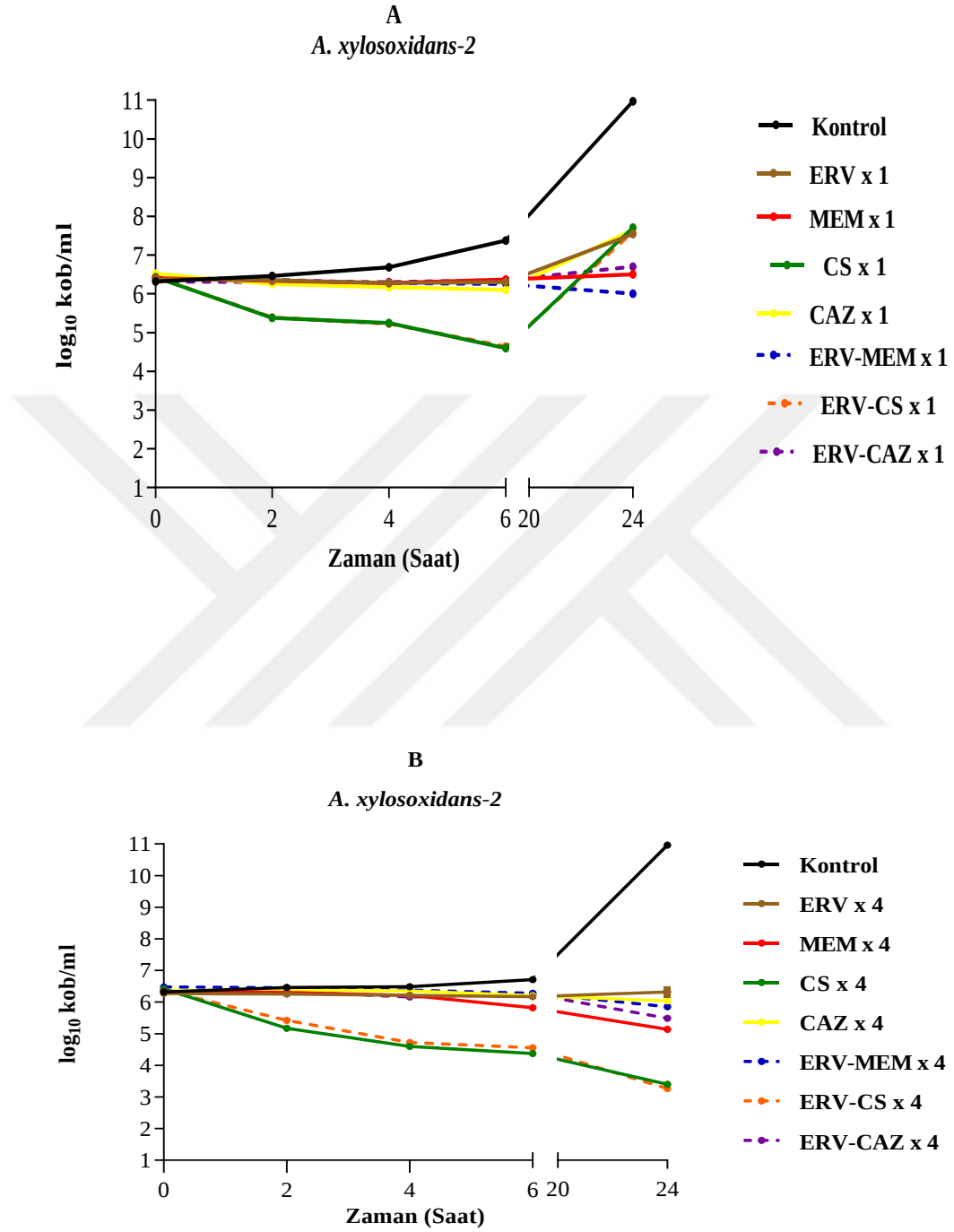
Şekil 4-3: Antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B)'de tek başlarına ve kombinasyon halinde *A. insuavis-2* suşuna karşı elde edilen ZBÖ eğrilerine ait bulgular

ERV: Eravasiklin, MEM: Meropenem, CS: Kolistin, CAZ: Seftazidim



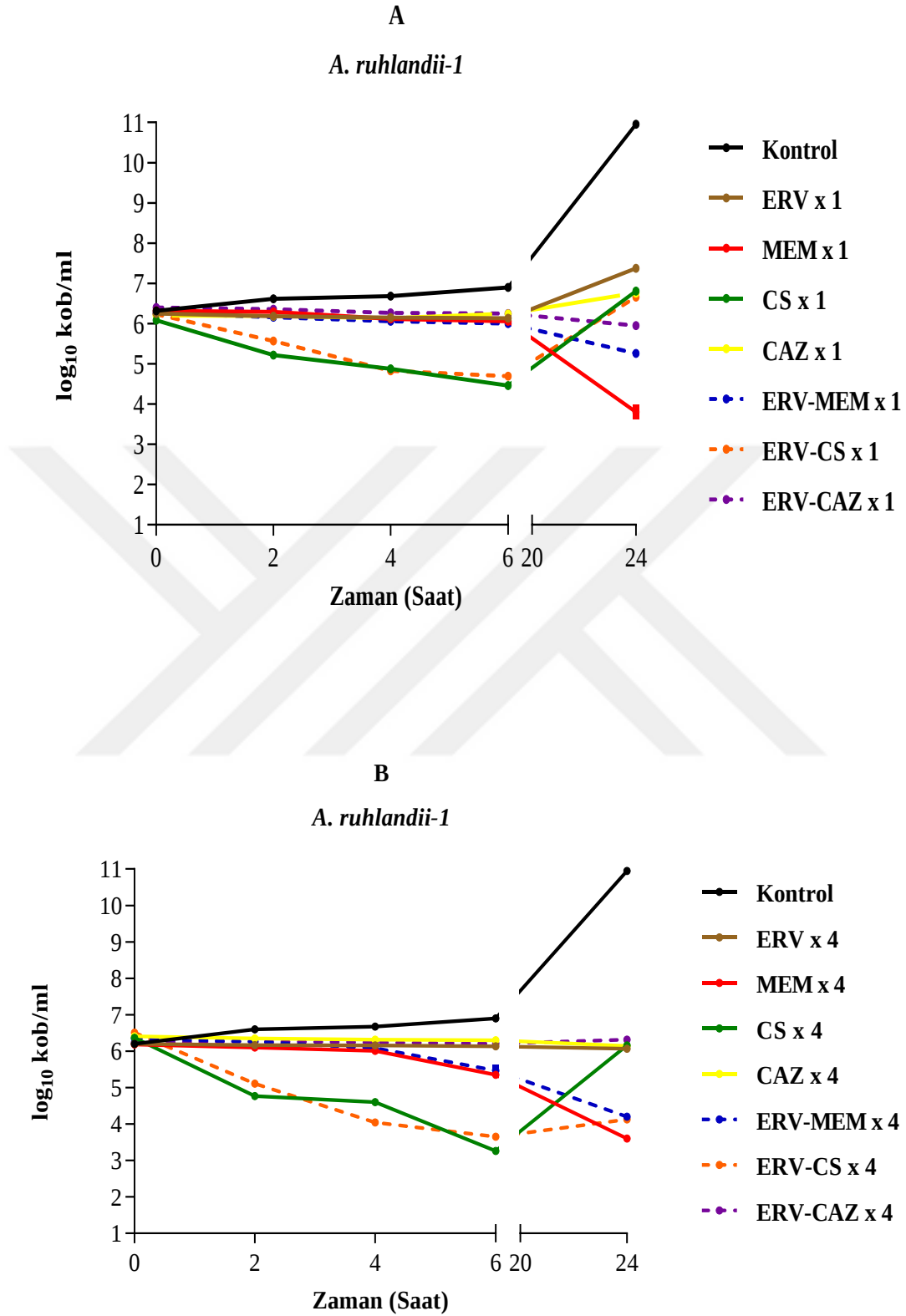
Şekil 4-4: Antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B)’de tek başlarına ve kombinasyon halinde *A. xylosoxidans*-1 suşuna karşı elde edilen ZBÖ eğrilerine ait bulgular

ERV: Eravasiklin, MEM: Meropenem, CS: Kolistin, CAZ: Seftazidim



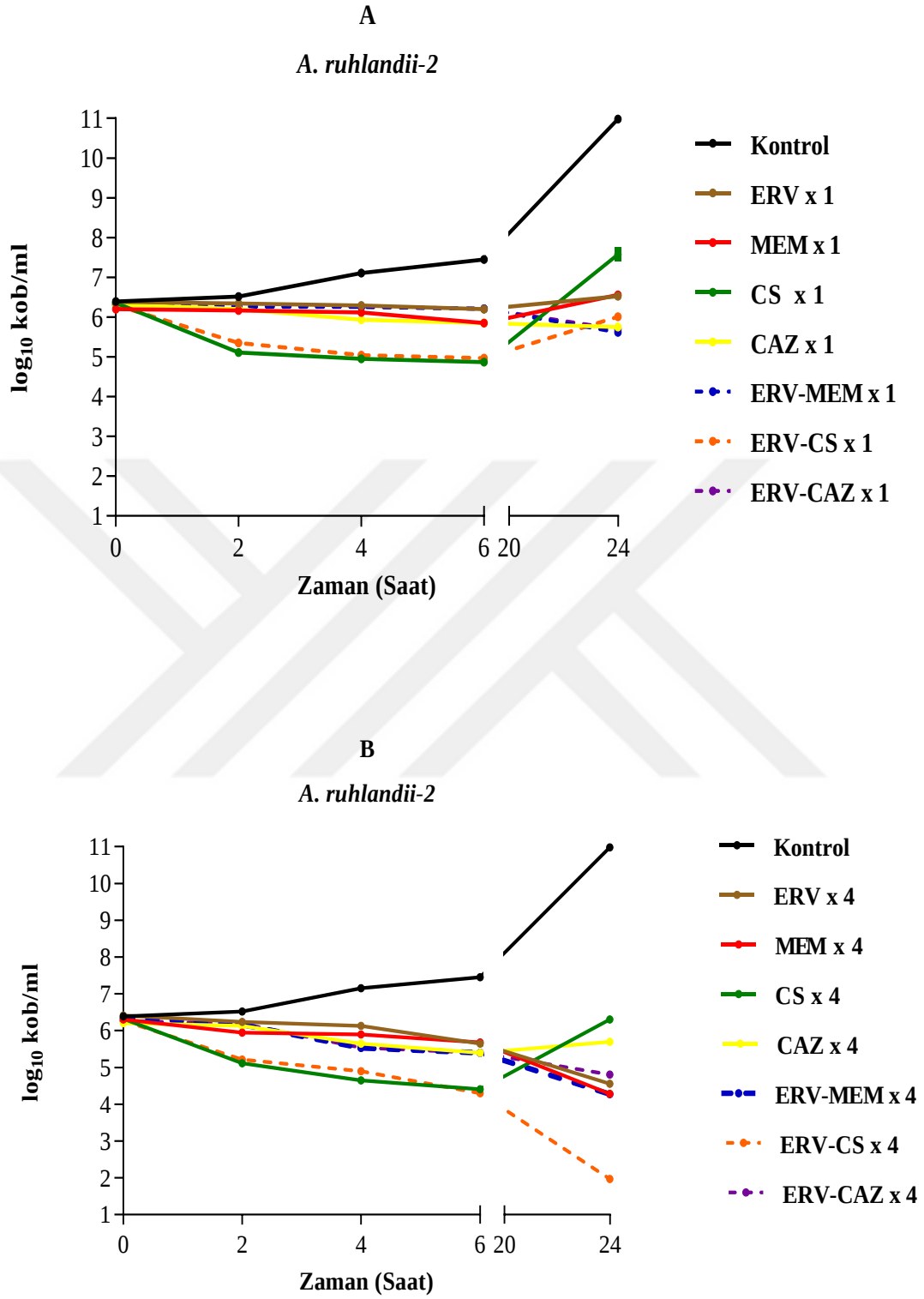
Şekil 4-5: Antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B)'de tek başlarına ve kombinasyon halinde *A. xylosoxidans*-2 suşuna karşı elde edilen ZBÖ eğrilerine ait bulgular

ERV: Eravasiklin, MEM: Meropenem, CS: Kolistin, CAZ: Seftazidim



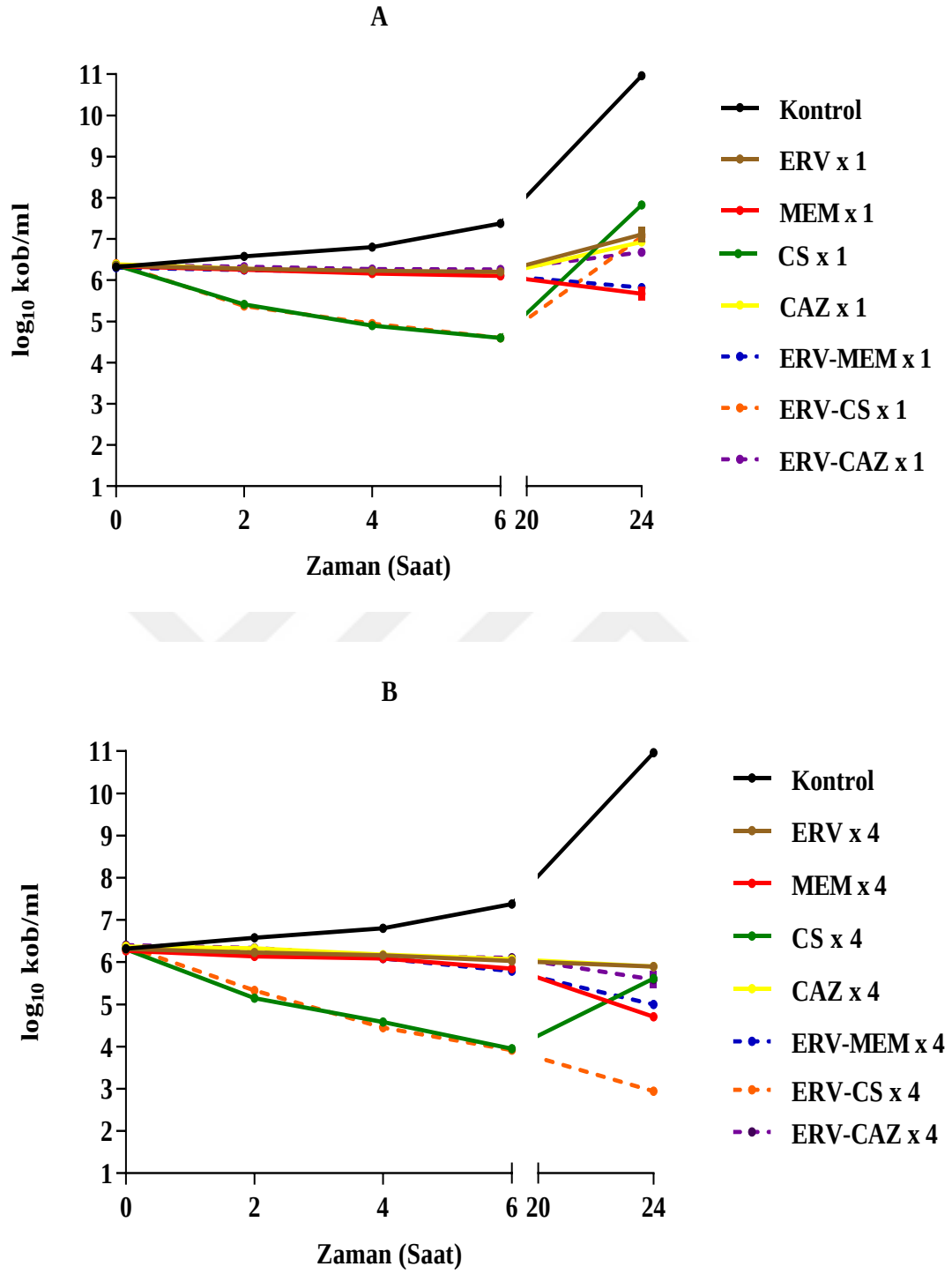
Şekil 4-6: Antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B)'de tek başlarına ve kombinasyon halinde *A. ruhlandii-1* suşuna karşı elde edilen ZBÖ eğrilerine ait bulgular

ERV: Eravasiklin, MEM: Meropenem, CS: Kolistin, CAZ: Seftazidim



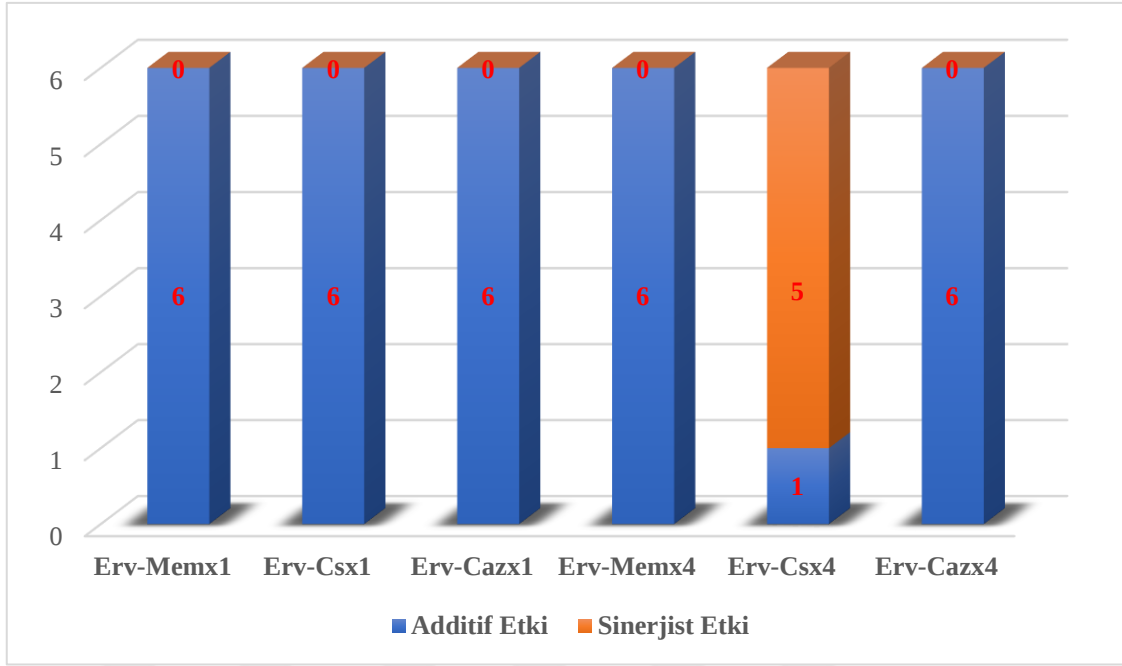
Şekil 4-7: Antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B)'de tek başlarına ve kombinasyon halinde *A. ruhlandii-2* suşuna karşı elde edilen ZBÖ eğrilerine ait bulgular

ERV: Eravasiklin, MEM: Meropenem, CS: Kolistin, CAZ: Seftazidim



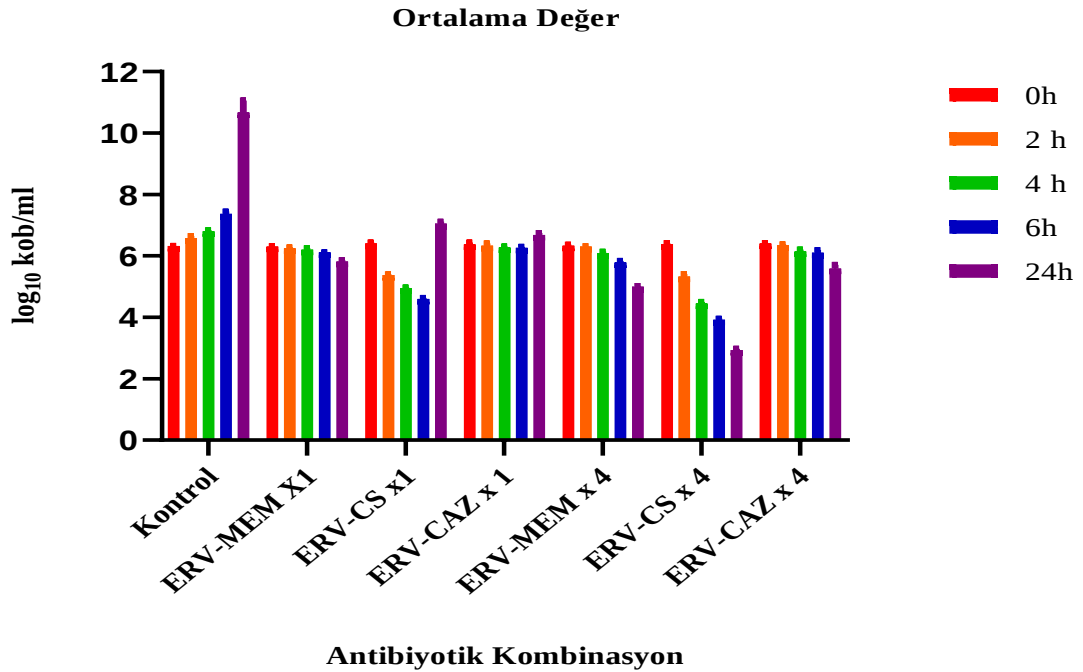
Şekil 4-8: 6 *Achromobacter* suşuna karşı antibiyotiklerin 1xMİK (A) ve 4xMİK (B) çözeltileri ile elde edilen antibakteriyel etkilerin ortalamasına ait ZBÖ eğrileri

ERV: Eravasiklin, MEM: Meropenem, CS: Kolistin, CAZ: Seftazidim



Şekil 4-9: 6 *Achromobacter* suşuna karşı denenen antibiyotik kombinasyonlarının oluşturduğu sinerjist/additif etkilere ait bulgular

ERV: Eravasiklin, MEM: Meropenem, CS: Kolistin, CAZ: Seftazidim



Şekil 4-10: Denenen antibiyotik kombinasyonları ile oluşan antibakteriyel etkilerin 6 *Achromobacter* suşu için ortalama logaritmik değerlerine ait bulgular

ERV: Eravasiklin, MEM: Meropenem, CS: Kolistin, CAZ: Seftazidim

4.4. İstatistiksel Analizlere Ait Bulgular

Antibiyotiklerin 1xMİK ve 4xMİK kombinasyonlarının ortalama $\pm$ standart sapma değerleri çift yönlü varyans analiz testi olan two-way ANOVA multiple comparisons analizi kullanılarak hesaplanmış ve elde edilen veriler $p<0,05$ olasılık değeri esas alınarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, kontrole göre çalışılan tüm kombinasyonların canlı bakteri sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş oluşturduğunu ortaya koyulmuştur ($p<0,0001$). Diğer yandan, yüksek antibiyotik konsantrasyonları ile elde edilen canlı bakteri sayısındaki azalmanın düşük konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,0001$) görülmüştür.



5. TARTIŞMA

KF, ‘‘kistik fibrozis transmembran iletkenlik düzenleyici’’ (CFTR) genindeki mutasyonları yansıtan patobiyolojik özelliklere sahip heterojen resesif bir genetik bozukluktur (154). Bu otozomal resesif bozukluktan sorumlu gen, 1989 yılında Kerem ve ark. (155), Riordan ve ark. (156) ve Rommens ark. (157) liderliğindeki ekiplerin ortak bir çabasıyla keşfedilmiş ve daha sonra CFTR olarak adlandırılan protein ürününün tanımlanmasıyla tamamen aydınlatılmıştır (155-157). cAMP bağlantılı olarak, epitel dokularda klorür ve bikarbonat taşıma kanalını kodlayan CFTR geni, bu dokuda su ve iyon homeostazını düzenler (158). Böylece solunum yolu, bağırsak, pankreas, böbrek, ter bezi ve erkek üreme sistemi dokularındaki epitel hücrelerinin apikal zarları boyunca klorür iyonunun taşınmasında görev alır. Bu proteinin, solunum yolu yüzey sıvısının pH'ını düzenleyen bikarbonat iyonu salgılanması ve salgıların ve müsinlerin hidrasyonunda önemli bir rolü olan epitelyal sodyum kanalının inhibisyonu gibi ek fonksiyonlara da sahip olduğu bilinmektedir (159). Klasik KF, CFTR genindeki iki fonksiyon kaybı mutasyonunu yansıtır ve solunum yollarının ve sinüslerin kronik bakteriyel enfeksiyonu, pankreas ekzokrin yetmezliğine bağlı yağ sindirim bozukluğu, obstrüktif azospermiye bağlı erkeklerde kısırlık ve vücutta yüksek klorür konsantrasyonlu ter ile karakterizedir (154). Klasik olmayan KF’li hastalarda, CFTR proteininin kısmi işlevini veren mutant bir genin en az bir kopyası vardır ve bu tür hastalarda genellikle açık bir sindirim bozukluğu belirtisi yoktur (154, 160).

Bu gendeki mutasyonlar, mukozal hidrasyon ve mukosiliyer işlev arasında değişen bir dizi fizyolojik süreci etkiler. Akciğer epitelinde bu tip kusurlu yolların birlikte oluşumu, ilerleyici ve geri dönüşü olmayan (kronik) akciğer bakteriyel enfeksiyonu ile sonuçlanan bir niş hasarı oluşturur (161-162). Erişkin KF hastalarının %80 kadarı konvansiyonel olarak *P. aeruginosa* ile kronik olarak enfekte olur. Ayrıca *P. aeruginosa* KF hastası erişkinlerin yaklaşık %40'ında baskın bakteridir (163). KF hastalarında *S. aureus* prevalansı yaklaşık %50 olmakla birlikte, özellikle ABD’de metisiline dirençli *S. aureus*’un varlığı hızla artmaktadır (6). Diğer bir konvansiyonel KF patojeni olan *B. cenocepacia*, hastaların sadece %3-4’ünde bulunan ancak akciğer fonksiyonunda ciddi bir azalma ile ilişkili bir mikroorganizmadır (6). Ayrıca patojenler arasında bulunan *Streptococcus* türleri hasta numunelerinin %25’inden fazlasında tanımlanırken, *S.*

maltophilia, *A. xylosoxidans* ve *M. abscessus* gibi tüberküloz olmayan mikobakteriler hastaların %5–10’unda tespit edilmektedir (6, 164-165).

Özellikle KF hastalarında solunum yolu enfeksiyonuna neden olan önemli fırsatçı patojenler olan *Achromobacter* türlerinin küresel enfeksiyon yaygınlık oranı %2 ila %20 arasında değişmektedir (166-168). Bu bakterilerin kesin tanısı için ileri teknoloji gereksinimi nedeniyle *Achromobacter* türleri genellikle *A. xylosoxidans* olarak adlandırılırsa da diğer türlerde ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır (4, 6, 7).

Dünyada *Achromobacter* türlerine karşı yapılan antimikrobiyal duyarlılık deneyleri kısıtlıdır ve bu cinsin sahip olduğu direnç mekanizmaları nedeniyle tam etkili bir tedavi yöntemi konusundaki yeni araştırmalara ihtiyaç vardır. Bu nedenle yaptığımız yüksek lisans tez çalışmamızda klinikte yaygın olarak saptanan *Achromobacter* türlerinin duyarlılık durumları incelenmiş ve dünya çapında yapılan araştırmalar ile karşılaştırılmıştır. 2013-2018 yılları arasında Caverly ve ark. (169) tarafından yapılan bir araştırmada, Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada’da KF’li hastalarının solunum örneklerinden izole edilen bakteriler *nrdA* dizi analizi yöntemi ile incelenerek 100 adet *Achromobacter* suşu saptanmıştır. Tanımlanan 100 suşun 50 tanesi *A. xylosoxidans*, 25 tanesi *A. ruhlandii* ve kalan 25 tanesi de *A. dolens* olarak tanımlanmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık deneyleri sonucunda bu suşlara karşı seftazidim ve meropenemin duyarlılık oranları sırasıyla %71 ve %72 olarak bildirilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada ise $MIC_{50/90}$ değerleri 8/32 µg/ml, seftazidime duyarlılık oranı %71 olarak belirlenmiştir (169).

Bu konuda Brezilya’da 2003-2008 yılları arasında Pereira ve ark. (18) tarafından yapılan bir araştırmada, iki KF merkezinde salgın, kronik ya da sporadik vakalar olmak üzere toplam 39 hastanın solunum sıvılarından örnek alınarak çoklu dizi analizi yöntemiyle incelenmiş ve 122 *Achromobacter* suşu tanımlanmıştır. Bu suşların 94’ü (%77) *A. xylosoxidans* olarak tanımlanırken 28’i (%23) *A. ruhlandii* olarak tanımlanmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık deneyinde kullanılan 94 *A. xylosoxidans* suşunun imipenem ve seftazidime duyarlılık / direnç oranları sırasıyla %90,4 / %9,6 ve %88,2 / %11,8 oranında saptanmıştır. Salgın hastalarından izole edilen 28 adet *A. xylosoxidans* suşuna karşı imipenem ve seftazidim duyarlılık oranı sırasıyla %100 ve %100 olarak saptanmıştır. Kronik KF vakalardan alınan 66 adet *A. xylosoxidans* suşuna karşı imipeneme ve seftazidime duyarlılık / direnç oranları, sırasıyla %86,4 / %13,6 ve

%83,3 / %16,7 olarak saptanmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık deneyinde kullanılan 28 adet *A. ruhlandii* suşuna karşı imipenem ve seftazidim duyarlılık oranları sırasıyla %100 ve %100 olarak saptanırken kronik KF hastalarından alınan 22 adet *A. ruhlandii* suşuna karşı ise imipeneme duyarlılık oranı %100, seftazidime duyarlılık oranı ve %100 olarak saptanmıştır. Sporadik KF vakalarından izole edilen 6 adet *A. ruhlandii* suşuna karşı ise imipenem ve seftazidime duyarlılık oranları sırasıyla %100 ve %100 olarak saptanmıştır. Bu bulgular, kronik hastalarda uzun süreli kullanıma bağlı olarak artan antibiyotik direnç oranlarını açıkça ortaya koymaktadır (18).

1996-2013 yılları arasında Papalia ve ark. (17) tarafından yapılan araştırmada, Arjantin'deki altı sağlık merkezinden solunum sıvılarından izole edilen 41 adet *Achromobacter* suşu nrdA dizi analizi ve çoklu dizi analizi yöntemleri ile tanımlanmış ve izole edilen suşların %63'ü *A. xylosoxidans* %17'si *A. ruhlandii* olarak tanımlanırken geriye kalanlar *A. dolens* (%9,8), *A. insuavis* (%4,9), *A. marplatensis* (%2,4) ve *A. pulmonis* (%2,4) olarak saptanmıştır. Yapılan antimikrobiyal duyarlılık deneylerinde bu suşlara karşı duyarlılık oranları kolistin, seftazidim ve meropenem için sırasıyla %15, %70 ve %80 olarak belirlenmiştir (17).

Avrupa kıtasında görülen *Achromobacter* insidansı ve bu suşların antibiyotik duyarlılık durumları konusundaki literatür taramalarımızda, sıklıkla bu cinsin KF hastalarında oluşturduğu hastalıklara ilişkin verilere rastlanmıştır. Amoureux ve ark. (170) tarafından 2014 yılında yapılan araştırmada, Fransa'da bulunan dokuz KF merkezinden alınan örnekler nrdA ve çoklu dizi analizi yöntemiyle incelenerek 109 *Achromobacter* suşu izole edilip tanımlanmıştır. Tanımlanan izolatların %73,4'ü *A. xylosoxidans* (80 adet), %9,2'si *A. insuavis* (10 adet), %3,7'si *A. dolens* (4 adet), %3,7'si *A. mucicolens* (4 adet), %2,8'i *A. marplatensis* (3 adet), %2,8'i *A. aegriofaciens* (3 adet), %1,8'i *A. insolitus* (2 adet), %0,9'u *A. pulmonis* (1 adet), %0,9'u *A. deleyi* (1 adet) ve %0,9'u *A. genogrup* (1 adet) olarak tanımlanmıştır. *A. ruhlandii* suşu Brezilya, Arjantin, ABD ve Danimarka KF merkezlerinde çok yaygın bulunmasına rağmen Fransa'da yapılan çalışmaların hiçbirinde rastlanılmamıştır. Duyarlılık deneylerinde kullanılan 109 adet *Achromobacter* suşuna karşı meropenem ve seftazidim duyarlılık ve direnç oranları sırasıyla %72 / %28 ve %70 / %30 olarak saptanmıştır (170).

2001-2011 yılları arasında Wang ve ark. (171) tarafından yapılan araştırmada, Danimarka Aarhus Üniversitesi Hastanesi'nde KF'li hastaların balgamlarından alınan

örnekler çoklu dizi analizi ve darbeleri alan jel elektroforez yöntemi kullanılarak tanımlanmıştır. Elde edilen 34 adet *Achromobacter* suşunun 13 tanesi *A. xylosoxidans*, birer tanesi *A. ruhlandii* ve *A. insolitus* olarak belirlenmiş, diğer suşların türleri belirlenememiştir. Duyarlılık deneylerinde kullanılan 34 *Achromobacter* cinsi bakteriye karşı meropenem, seftazidim ve kolistin duyarlılık oranları sırasıyla %94, %62 ve %74 olarak saptanmıştır (171).

1 Mart 30-Eylül 2015 tarihleri arasında Coward ve ark. (172) tarafından yapılan araştırmada, İngiltere’de bulunan 13 araştırma hastanesinden KF’li hastaların çoğunlukla balgam ve solunum sıvılarından alınan örnekler *nrdA*/*gyrB* dizi analizi ve darbeleri alan jel elektroforezi yöntemi ile araştırılarak 138 *Achromobacter* suşu tanımlanmıştır. Tanımlanan 138 *Achromobacter* suşunun %68,8’i *A. xylosoxidans* (95 adet), %8’i *A. dolens* (11 adet), %6,6’sı *A. insuavis* (9 adet), %5,1’i *A. sp. Cluster-II* (7 adet), %3,6’sı *A. ruhlandii* (5 adet), %2,9’u *A. marplatensis* (4 adet), %2,2’si *A. deleyi* A.sp. Cluster-IV (3 adet), ve kalanların hepsi birer adet (%0,7) olmak üzere, *A. deleyi* sp.V, *A. mucicolens*, *A. denitrificans* ve *A. piechaudi* olarak isimlendirilmiştir. Araştırmacılar yaptıkları duyarlılık çalışmalarında, farklı sayıda *Achromobacter* suşuna karşı seftazidim, kolistin, meropenem ve minosiklinin direnç durumunu araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan 81 *Achromobacter* suşuna karşı seftazidim ve meropenem duyarlılık oranları, sırasıyla, %44 ve %56,8 direnç oranı %55,6 ve %43,2 olarak saptanmıştır. Kolistin duyarlılık deneyinde kullanılan 74 *Achromobacter* suşuna karşı duyarlılık oranı %73 ve direnç oranı %27 olarak bildirilmiştir. Minosiklin duyarlılık deneyinde ise kullanılan 15 *Achromobacter* suşuna karşı duyarlılık oranları %66,6 ve direnç oranı %33,3 olarak belirlenmiştir (172).

2001-2019 yılları arasında Okoliegbe ve ark. (173) tarafından yapılan araştırmada, sekizi İskoçya bir tanesi Belfast’ta olmak üzere dokuz hastanede yatan KF’li hastalardan alınan örnekler *nrdA* dizi analizi yöntemi ile araştırılmış ve 112 *Achromobacter* suşu tanımlanmıştır. Bu suşların %78,57 *A. xylosoxidans* olarak tanımlanmıştır. Diğer izolatların büyük çoğunluğu *A. ruhlandii* ve *A. insuavis* olarak tanımlanmıştır. Duyarlılık deneyinde kullanılan seftazidim, kolistin, meropenem ve minosiklinin *A. xylosoxidans* suşlarına karşı duyarlılık oranları sırasıyla %23, %30, %37,3, %54,1 olarak saptanmıştır. Seftazidim, meropenem ve minosiklinin *A. xylosoxidans* haricindeki suşlara karşı duyarlılık oranları sırasıyla %37,5, %37,5 %91,7 olarak saptanmıştır (173).

Çin'in Beijing kentinde 2008-2011 yılları arasında Liu ve ark. (34) tarafından yapılan bir araştırmada, KF hastalarının soluk borusu sıvıları ve balgamlarından alınan örnekler, API 20 NE (bioMerieux Vitek, Marcy l'Etoile, France) ve VITEK II sistem (bioMerieux Inc., Hazelwood, USA) yöntemleri kullanılarak incelenmiş ve 41 *A. xylosoxidans* suşu tanımlanmıştır. *Achromobacter xylosoxidans* suşuna karşı seftazidim ve meropenem antibiyotiklerinin duyarlılık oranları sırasıyla %70,7 ve %56,1 olarak saptanmıştır (34).

Ülkemizde 2015-2018 yılları arasında Aydemir ve ark. (174) tarafından yapılan bir araştırmada Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde çeşitli bölümlerinden klinik örnekler toplanmıştır. İzole edilen örneklerin 16'sı yara, 10'u kan, 4'ü idrar 6'sı trake ve 1'i kateterden izole edilmiştir. Elde edilen suşların tür düzeyinde tanımlanması VİTEK-2 otomatik sistemi ve kütle spektrofotometrisi yöntemleri ile belirlenmiştir. Yapılan duyarlılık deneylerinde *A. xylosoxidans* suşuna karşı seftazidim, imipenem ve meropenem antibiyotiklerinin duyarlılık oranları sırasıyla %80,4, %61,4 ve %43,5 olarak saptanmıştır (174).

Ülkemizde Damar-Çelik ve ark. (175) tarafından yapılan bir çalışmada, Danimarka Aarhus Üniversitesi Hastanesinden temin edilen 22 klinik *A. xylosoxidans* suşuna karşı meropenem, levofloksasin, kolistin ve kloramfenikol sırasıyla 20/22, 17/22, 14/22 ve 9/22 oranlarında duyarlı olarak saptanmıştır (175).

Tez çalışmamızda, 2017-2019 yılları arasında Danimarka Aarhus Üniversitesi Hastanesinde KF hastalarının solunum yolu örneklerinden izole edilerek API 20 NE (BioMerieux), nrdA dizi analizi ve darbeli alan jel elektroforez yöntemleri ile tanımlanan 50 adet *Achromobacter* suşuna karşı antibiyotik duyarlılık deneyleri yapılmıştır. Deneylerimizde kullanılan *Achromobacter* suşlarının tür dağılımına bakıldığında en büyük oranın (21/50) *A. xylosoxidans*'a ait olduğu görülmektedir. Ardından ikinci ve üçüncü sıklıkla çalıştığımız suşların sırası ile *A. insuavis* (10/50) ve *A. ruhlandii* (9/50) olması deneylerimizde kullandığımız suşların dünya genelinde KF hastalarından en sık izole edilen *Achromobacter*'lerin yaygınlığı ile uyumlu bulunmuştur. Yaptığımız duyarlılık çalışmalarına ait veriler değerlendirildiğinde, çalışmamızda kullanılan toplam 50 adet *Achromobacter* suşuna karşı kolistin, seftazidim ve meropenemin duyarlılık durumu (oranları) sırasıyla 29 (%58), 49 (%98) ve 49 (%98) olarak saptanmıştır. Çalışmamızda kullanılan antibiyotikler arasında en düşük duyarlılık oranının kolistin ile

elde edilmiştir. Kolistin, Gram-negatif bakterilere karşı geniş spektrumlu aktivitesi ile *P. aeruginosa* ve *Achromobacter* türleri gibi yaygın KF etkeni patojenler dahil olmak üzere KF hastalarında antimikrobiyal tedavi amacıyla sıklıkla kullanılır. Kolistin direncine sıklıkla neden olan plazmid kökenli “mcr-1” geninde kodlanan ve Gram negatiflerin dış zar Lipit-A yapısını değiştiren bir lipit-A fosfoetanolamine transferazı sentezler. (132). Ancak bizim suşlarımızda izole edildiği Aarhus Üniversitesi Hastanesinde yapılan ve *Achromobacter* suşlarında görülen kolistin direnç mekanizmasının araştırıldığı bir çalışmada, suşlarda mcr-1 geni belirlenememiş, suşlarda görülen kolistin direncinin KF hastalarında sık görülen antibiyotik dirençli enfeksiyon etkenlerine karşı bu antibiyotiğin sıklıkla kullanılmasından ileri geldiği öne sürülmüştür (176).

Seftazidim ve meropenem duyarlılık deneyleri sonuçlarından elde ettiğimiz veriler, bu antibiyotiklere karşı gelişen direncin düşük olduğunu ve tedavide ilk seçilecek antibiyotikler olarak yerlerini koruduklarını göstermektedirler. Yeni bir antibiyotik olan eravasiklinin CLSI veya European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) gibi standardizasyon merkezlerince, tezde çalışılan bakteri cinsine karşı duyarlılık değerleri henüz saptanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda eravasiklin’in duyarlılık değerleri verilememiş elde edilen MİK değerleri etkinliğinin değerlendirilmesi için esas alınmıştır. Antibiyotiklerin MİK sınırları karşılaştırıldığında, eravasiklin ile elde edilen MİK aralığının (0,03-8 µg/ml) diğer üç antibiyotik ile elde edilenlerden daha düşük olduğu görülmüştür. MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri esas alındığında, bu antibiyotiğin çalışılan suşların yarısının üremesini durdurmak için gerekli olan konsantrasyonunun seftazidim ve kolistin gerekli olan ile eşit olduğu anlaşılmıştır. Antibiyotiklerin MİK₉₀ değeri karşılaştırıldığında ise eravasiklin için elde edilen 4 µg/ml’lik değerin kolistin ve seftazidim ile elde edilen 8 µg/ml’lik değerden düşük olduğu, meropenem için elde edilen 1 µg/ml’lik değerden yüksek olduğu görülmüştür. Bu bulgular, yeni bir tetrasiklin türevi antibiyotik olan eravasiklinin, *Achromobacter* suşlarının etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde yeni bir seçenek olabileceğini göstermektedir.

Tedavide uygulanacak antibiyotiğin seçimi için kullanılan duyarlılık deneyleri genellikle antibiyotiğin bakteriyostatik veya inhibitör etkisini ölçmektedir. Pratikte bu veriler birçok enfeksiyonun tedavisinde yeterli olmaktadır. Ancak yetersiz tedavinin genellikle mortalite ile sonuçlandığı immün sistemi hasar görmüş kişilerde oluşan sepsis, endokardit, menenjit, pnömoni gibi enfeksiyonların tedavisinde bakterisidal

aktivite gerekmektedir. Bu nedenle çalışmamızda araştırılan bir diğer parametre, üç farklı türden seçilen altı adet *Achromobacter* suşuna karşı eravasiklin, seftazidim, meropenem ve kolistin bakterisidal (kob değerinde $\geq 3 \log_{10}$ azalma) etkilerinin varlığıdır. NCCLS kriterleri doğrultusunda uygulanan ZBÖ deneyleri, çalışmanın 6. saatinde 4xMİK'lik kolistin iki *Achromobacter* suşuna (*A. xylosoxidans*-1 ve *A. ruhlandii*-1) karşı bakterisidal etkili olduğunu göstermiştir. Ancak 24. saatte 4xMİK kolistin ile sadece *A. xylosoxidans*-2'ye karşı bakterisidal etki saptanmıştır. Denenen diğer antibiyotikler ile her iki konsantrasyonda da bakterisidal aktivite tespit edilmemiştir. Bu konuda yapılan benzer bir çalışmada, Damar-Çelik ve ark. (175) *A. xylosoxidans* suşları ile 1xMİK ve 4xMİK'lik kolistin ve meropenem antibiyotikleri ile 6. ve 24. saatlerde paralel veriler elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Literatür çalışmaları, farklı *Achromobacter* türlerine ilişkin duyarlılık verileri konusunda araştırmaların sınırlı olduğunu göstermektedir. Ancak, genellikle *A. ruhlandii* suşlarının daha dirençli olduğu, Danimarka'da pandrug-dirençli bir *A. ruhlandii* salgını sırasında ve daha yakın zamanda, çoğu imipenem-dirençli suşların *A. ruhlandii*'ye ait olduğu bir Arjantin çalışmasında gösterilmiştir (17). Çalışmamızda kullanılan suşlar arasında ciddi bir direnç farklılığı görülmemiştir. Ancak bu durum çalışmanın sınırlı sayıda bakteri içermesinden kaynaklanmış olabilir.

Özellikle immün sistemi baskılanmış, akciğer nakli sonrası enfekte olmuş, pnömoni gelişmiş hastalarda mortalite ile sonuçlanabilen *Achromobacter* enfeksiyonlarının tedavi edebilmek için kısa süre içerisinde etkili bir tedaviye başlamak gerekmektedir. Özellikle, kronik *Achromobacter* enfeksiyonu olan hastalar, *Achromobacter* enfeksiyon öyküsü olmayan hastalar ile kıyaslandığında daha yüksek ölüm veya transplantasyon riski ile ilişkilendirilmiştir (177). Bu mikroorganizmanın gerek doğal antibiyotik dirençli oluşu gerekse zaman içinde antibiyotiklere karşı yeni direnç mekanizmaları geliştirmesi ve etkeni olduğu enfeksiyonların tedavisinde güçlük yaratması, kombinasyon tedavi rejimlerinin denenmesine yol açmıştır. Antibiyotiklerin etki spektrumunu genişletmek, bakterisidal etkilerini arttırmak veya suşların antibiyotiklere direnç geliştirmesini önlemek kombinasyon tedavisinin amaçlarını oluşturmaktadır. Ayrıca elde edilen sinerjist etki, antibiyotiklerin daha düşük dozda uygulanmalarını ve buna bağlı olarak olası toksik yan etkilerin azaltılmasını sağlamaktadır (178). Genellikle immün yetmezlikli kişilerde oluşan enfeksiyonların,

bakteriyel endokarditin ve antibiyotik dirençli suşların neden olduğu sistemik enfeksiyonların tedavisinde, antibiyotiklerin bakterisidal etkilerini arttırmak ve hızlandırmak için kombinasyon halinde oluşturdukları sinerjist etkilerden yararlanılmaktadır. KF olmayan hastalardaki *Achromobacter* enfeksiyonları, genellikle uygun kaynak kontrolü ve enfekte suşa karşı in-vitro aktiviteye sahip tek bir beta-laktam antibiyotik (örn., seftazidim ve piperasilin-tazobaktam) tedavisi ile yönetilebilir. Trimetoprim-sülfametoksazol tek başına idrar yolu enfeksiyonları gibi daha az şiddetli enfeksiyonlar için düşünülebilir, ancak ciddi enfeksiyonlarda kullanımı için veriler çok sınırlıdır. Beta-laktam MİK değerleri yüksek olan suşlar için trimetoprim-sülfametoksazol, tetrasiklinler, florokinolonlar veya kolistin gibi aktif bir antibiyotik ile yapılacak kombinasyon tedavileri protokollerde yer alsa da bu konudaki bilimsel veriler yetersizdir (35). KF hastalarında *Achromobacter* pulmoner alevlenmelerinin tedavisi için standart tedavi protokolleri henüz yoktur ve tedavi genellikle sistemik ve/veya inhale antibiyotiklerden oluşur. İnhal antibiyotiklerin eklenmesi ile yapılan kombinasyon tedavileri, tek başına sistemik tedaviye kıyasla daha fazla klinik fayda sağlayabildiği gösterilmiş olsa da kanıtlar az sayıda hastayla yapılan gözlemsel çalışmalardan elde edilmiştir (179-180).

Bu nedenle tezimizde, *Achromobacter* enfeksiyonlarının antibiyotik kombinasyonları ile tedavisine yönelik olarak üç farklı antibiyotik kombinasyonu in-vitro olarak denenmiş ve elde edilen veriler, dünyada ve ülkemizde yapılmış çok az sayıdaki literatür verileri ile karşılaştırılmıştır. Ülkemiz dışında yapılan çalışmaları incelediğimizde, 2001-2019 yılları arasında İskoçya’da E-test yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiş bir çalışmada, bulgular fraksiyonel inhibitör kombinasyon testi kullanılarak sınıflandırılmıştır. *A. xylosoxidans* suşlarına karşı seftazidim-imipenem kombinasyonu %53,85 oranında sinerjist etkili olarak saptanmıştır. Çalışmada, seftazidim-sülfametoksazol kombinasyonu ile sinerjizm oranı %20 olarak saptanırken, seftazidim-minosiklin kombinasyonu additif etkili saptanmıştır. Aynı çalışmada, meropenem-tobramisin kombinasyonu sinerjizm oranı %13,33 olarak saptanmıştır. Çalışmada, *A. xylosoxidans* haricindeki suşlara karşı seftazidim-sülfametoksazol kombinasyonu %11,1 oranında antogonist etkili olarak saptanmıştır. Ayrıca *A. xylosoxidans* haricindeki suşlarına karşı seftazidim-minosiklin kombinasyonu ile antogonist ve sinerjist etkiye rastlanmazken seftazidim-tobramisin ile sinerjizm oranı %20 olarak saptanmıştır (173).

Ülkemizde Damar-Çelik ve ark. (175) tarafından yapılan çalışmada, beş *A. xylosoxidans* suşlarına karşı çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının in-vitro etkisi araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan beş suşa karşı 1xMİK'lik meropenem-kolistin kombinasyonunun iki suşa sinerjistik, üçüne de additif etkili olduğu saptanırken, 4xMİK'lik kombinasyonun ise üç suşta sinerjistik etkili, ikisinde ise additif etkili olduğu saptanmıştır. Çalışmada kullanılan beş *A. xylosoxidans* suşuna karşı 1xMİK'lik meropenem-levofloksasin kombinasyonu ile bir suşa sinerjistik etki, dört suşa ise additif etki saptanmıştır. 4xMİK'lik kombinasyon ile iki suşa karşı sinerjistik etki saptanırken, üç tanesine karşı da additif etki saptanmıştır. (175).

Tez çalışmamızda, yeni bir tetrasiklin türevi antibiyotik olan eravasiklinin tek başına ve *Achromobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılan antibiyotikler olan kolistin, seftazidim ve meropenem ile yapılan ikili kombinasyonlarının antimikrobiyal etkinlikleri araştırılmıştır. ZBÖ yöntemi ile bu antibiyotik kombinasyonlarının çalışmamızda kullanılan altı adet *Achromobacter* türü bakteriye karşı 1xMİK ve 4xMİK'de oluşturacakları olası sinerjistik etkiler araştırılmıştır. Deney sonuçlarımız değerlendirildiğinde, 24.saatte denenen üç kombinasyonunda 1xMİK'lik çözeltileri ile araştırılan suşlara karşı sadece additif etki gösterdikleri saptanmıştır. Benzer olarak, 4xMİK'lik eravasiklin-meropenem ve 4xMİK'lik eravasiklin-seftazidim kombinasyonları denenen altı suşa karşı additif etkili olarak saptanmıştır. Diğer yandan 4xMİK'lik eravasiklin-kolistin kombinasyonu çalışmamızda kullanılan altı suşun beşine karşı sinerjistik etkili, birine (*A. xylosoxidans*-2) karşı additif etki olarak belirlenmiştir. Eravasiklin kombinasyonu ile elde edilen bulgularımızın, İskoçya'da yapılan minosiklinin seftazidim kombinasyonu ile elde edilen additif etki ile benzer olduğu görülmüştür (173). Diğer yandan, kolistin kombinasyonu ile elde edilen sinerjizm bulgularımızın, Damar-Çelik ve ark. (175)'nin *A. xylosoxidans* suşlarına karşı elde ettikleri sinerjistik etki verileri ile benzer olduğu da saptanmıştır (175).

Eravasiklin-kolistin kombinasyonu ile konsantrasyona bağlı olarak elde edilen sinerjistik etkinin ZBÖ deneylerimizde kullanılan suşlara dağılımı incelendiğinde, denenen üç farklı *Achromobacter* türüne karşı sinerjistik etkileşimin varlığı görülmüştür. Bu bulgu, eravasiklin-kolistin kombinasyonunun özellikle sinerjistik etkinin gerekli olduğu immün yetmezlikli hastalarda görülen ciddi *Achromobacter* enfeksiyonlarında seçilebilir olduğunu ortaya koymaktadır. Diğer yandan özellikle kolistin ile görülen nispeten yüksek

direnç oranlarının azaltılması ya da kontrol altına alınabilmesi için KF tedavisinde çok büyük önemli yere sahip bu antibiyotiğin sinerjist veya additif etkili olduğu bir kombinasyon ile verilmesi önemlidir. Bulgularımız, eravasiklin-kolistin kombinasyonunun gelecekte tedavi protokollerinde yer alabilecek additif etkileşimlere sahip olduğunu ortaya koymakla birlikte bu konuda yapılacak olan klinik çalışmalara yönlendirici olacaktır. Ancak in-vitro deneyler ile ortaya koyulan sinerjist etkinin klinik çalışmalar ile desteklenmesi ve klinik çalışmaların en az 4xMİK'lik serum konsantrasyonun yakalanması gerekliliği unutulmamalıdır.

Çalışmamızda eravasiklin ile kombine edilen antibiyotikler ile genellikle additif etki saptanmıştır. Ancak eravasiklin-seftazidim ya da eravasiklin-meropenem kombinasyonlarının incelenen üç farklı *Achromobacter* türüne de additif etkili olması bu kombinasyonların, hem kronik enfeksiyonlara bağlı olarak bu antibiyotiklere karşı gelişebilecek antibiyotik direncini engellemek hem de bu antibiyotiklerin farmakokinetik özellikleri sonucu tek başlarına yeterli konsantrasyonlara ulaşamayacakları enfeksiyon bölgelerinde yeterli antibakteriyel etkinin sağlanabilmesi için kullanılabileceklerini göstermektedir. Bu antibiyotikler ile çalışmamızda denenen suşlara karşı düşük direnç oranları tespit edilmesine rağmen hem KF hastalarında hem de immün yetersiz hasta gruplarında hızlı bakterisidal etki elde etmek amacıyla da seçilebilir kombinasyonlar olarak klinikte değerlendirilebileceklerdir.

Eravasiklin-kolistin kombinasyonunun konsantrasyona bağlı olarak oluşturduğu sinerjist etkinin, istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) olduğu iki faktörlü varyans analizi testi ile ortaya koyulmuştur. Çalışmamızda incelenen kombinasyonlardan hiçbirinin *Achromobacter* suşlarına karşı antibakteriyel aktivitenin azalmasına neden olabilecek antagonist etkileşim riskine sahip olmadığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak; in-vitro deneylerden elde edilen bulgularımız, klinik olarak en sık karşılaşılan üç *Achromobacter* türünün neden olduğu ciddi enfeksiyonlarda direnç gelişimini önlemek, antibiyotiklerin bakterisidal etkilerini arttırmak ve hızlandırmak için tedavide seçilebilecek antibiyotik kombinasyonları hakkında yönlendirici olacaktır.

SONUÇ

1-Çeşitli antibiyotiklerin tek başlarına ve eravasiklin ile kombinasyon halinde *Achromobacter* cinsinden üç bakteri türüne karşı in-vitro etkilerinin araştırıldığı çalışmamızda, yeni bir tetrasiklin türevi antibiyotik olan eravasiklinin, klinikte bu bakterilerin tedavisinde kullanılan antibiyotikler olan seftazidim ve kolistin etkisine benzer antibakteriyel etkiye olduğu saptanan MİK50 ve MİK90 değerleri ile ortaya koyulmuştur. Bu bulgumuz, eravasiklinin gelecekte bu bakterilerin tedavisinde yer alabilecek yeni bir seçenek olduğunu göstermektedir.

2-Çalışmamızda denenen antibiyotik kombinasyonlarının *Achromobacter* suşlarına karşı etkileri karşılaştırıldığında, bakterisidal ve sinerjistik etkinin sadece eravasiklin-kolistin kombinasyonunun 4xMİK'e eşit çözeltisi ile elde edildiği gözlenmiştir. Konsantrasyona bağlı olarak elde edilen sinerjistik etkinin suşlara dağılımı incelendiğinde denenen üç farklı *Achromobacter* türüne karşı var olduğu saptanmıştır. Bu bulgu, eravasiklin-kolistin kombinasyonunun özellikle sinerjistik etkinin gerekli olduğu ciddi *Achromobacter* enfeksiyonlarında seçilebilir olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak in-vitro deneyler ile ortaya koyulan sinerjistik etkinin klinik çalışmalar ile desteklenmesi ve klinik çalışmaların en az 4x MİK'lik serum konsantrasyonun yakalanması gerekliliği unutulmamalıdır.

3-Eravasiklin-meropenem ve eravasiklin-seftazidim kombinasyonları ile çalışılan her iki konsantrasyonda da sadece additif etki elde edilmiştir. Bu kombinasyonlar ile elde edilen additif etki, klinikte özellikle kronik KF hastalarında sık antibiyotik kullanımına bağlı olarak gelişen antibiyotik direncinin önlenmesi ve antibakteriyel spektrumun genişletilmesi amacıyla fayda sağlayabilecektir.

4-Diğer yandan çalışılan antibiyotik kombinasyonlarından elde edilen antibakteriyel etkilere ait veriler kontrol ile karşılaştırıldığında hepsinin istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

5-Son olarak çalışılan kombinasyonların hiçbiri ile antagonist etki görülmemesi, bunların olası klinik kullanımlarının ileri çalışmalar ile desteklenmesi yolunda olumlu bir sonuç olmuştur.

KAYNAKLAR

1. Bergey DH, Harrison FC, Breed RS, Hammer BW, Huntoon FM. *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins, MD; 1923
2. Busse HJ, Auling G: Genus II. *Achromobacter* Yabuuchi and Yano 1981, 477VP emend. Yabuuchi, Kawamura, Kosako and Ezaki 1998a, 1083. *In Bergey's manual of systematic bacteriology*. Edited by Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT. New York: Springer Verlag; 2005: 658–662
3. Gomila M, Tvrzová L, Teshim A, Sedláček I, González-Escalona N. *Achromobacter marplatensis* sp. nov., isolated from a pentachlorophenol-contaminated soil. *Int J Syst Evol Microbiol* 2011; **61**: 2231–2237
4. Spilker T, Vandamme P, Lipuma JJ. A multilocus sequence typing scheme implies population structure and reveals several putative novel *Achromobacter* species. *J Clin Microbiol* 2012; **50**: 3010–3015
5. Gomila M, Prince- Manzano C, Svensson-Stadler L, Busquets A, Edward M, Martinez DL ve ark. Genotypic and phenotypic applications for the differentiation and species-level identification of *Achromobacter* for clinical diagnoses. *Plos One* 2014; **9(12)**: e114356
6. Lipuma JJ. The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. *Clin Microbiol* 2010; **23**: 299–323
7. Ridderberg W, Wang M, Nørskov-Lauritsen N. Multilocus sequence analysis of isolates of *Achromobacter* from patients with cystic fibrosis reveals infecting species other than *Achromobacter xylosoxidans*. *J Clin Microbiol* 2012; **50**: 2688–2694
8. Dumolin C, Peeters C, Ehsani E, Tahon G, Canck ED, Cnockaert M ve ark. *Achromobacter veterisilvae* sp. nov., from a mixed hydrogen-oxidizing bacteria enrichment reactor for microbial protein production. *Int J Syst Evol Microbiol* 2019; **70**: 530–536
9. Yabuuchi E, Kawamura Y, Kosako Y, Ezaki T. Emendation of genus *Achromobacter* and *Achromobacter xylosoxidans* (Yabuuchi and Yano) and proposal of *Achromobacter ruhlandii* (Packer and Vishniac) comb. nov., *Achromobacter piechaudii* (Kiredjian ark.) comb. nov. and *Achromobacter*

- xylosoxidans* subsp. *denitrificans* (Ruger and Tan) comb. nov. *Microbiol Immunol* 1998; **42**: 429–438
10. Vandamme P, Moore ER, Cnockaert M, Brandt ED, Svensson-Stadler L, Houf K ve ark. *Achromobacter animicus* sp. nov., *Achromobacter mucicolens* sp. nov., *Achromobacter pulmonis* sp. nov. and *Achromobacter spiritinus* sp. nov. from human clinical samples. *Syst Appl Microbiol* 2013; **36(1)**: 1–10
 11. Coenye T, Vancanneyt M, Falsen E, Swings J, Vandamme P. *Achromobacter insolitus* sp. nov. and *Achromobacter spanius* sp. nov., from human clinical samples. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003; **53**: 1819–1824
 12. Vandamme P, Peeters C, Inganas E, Cnockaert M, Houf K, Spilker T ve ark. Taxonomic dissection of *Achromobacter denitrificans* Coenye ve ark. 2003 and proposal of *Achromobacter agilis* sp. nov., nom. rev., *Achromobacter pestifer* sp. nov., nom. rev., *Achromobacter kerstersii* sp. nov. and *Achromobacter deleyi* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2016; **66**: 3708–3717
 13. Vandamme P, Moore ER, Cnockaert M, Peeters C, Svensson-Stadler L, Houf K ve ark. Classification of *Achromobacter* genogroups 2, 5, 7 and 14 as *Achromobacter insuavis* sp. nov., *Achromobacter aegrifaciens* sp. nov., *Achromobacter anxifer* sp. nov. and *Achromobacter dolens* sp. nov. respectively. *Syst Appl Microbiol* 2013; **36**: 474–482
 14. Yabuuchi E, Oyama A. *Achromobacter xylosoxidans* n. sp. from human ear discharge. *Jpn J Microbiol* 1971; **15**: 477–481
 15. Yabuuchi E. Twenty-seven years with the nomenclature of *Achromobacter xylosoxidans* [in Japanese]. *Rinsho Biseibutshu Jinsoku Shindan Kenkyukai Shi* 1999; **10**: 1–12
 16. Spilker T, Vandamme P, Lipuma JJ. Identification and distribution of *Achromobacter* species in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2013; **12**: 298–301
 17. Papalia M, Steffanowski C, Traglia G, Almuzara M, Martina P, Galanternik L ve ark. Diversity of *Achromobacter* species recovered from patients with cystic fibrosis, in Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2019; **52**: 13–18
 18. Pereira RHV, Leao RS, Carvalho-Assef AP, Albano RM, Rodrigues ERA, Firmida MC ve ark. Patterns of virulence factor expression and antimicrobial resistance in *Achromobacter xylosoxidans* and *Achromobacter ruhlandii* isolates from patients with cystic fibrosis. *Epidemiol Infect* 2017; **145**: 600–606

19. Packer L, Vishniac W. Chemosynthetic fixation of carbon dioxide and characteristics of hydrogenase in resting cell suspensions of *Hydrogenomonas ruhlandii* nov. spec. *J Bacteriol* 1955; **70(2)**: 216-223
20. Aragno M and Schlegel H. *Alcaligenes ruhlandii* (Packer and Vishniac) comb. nov. a peritrichous hydrogen bacterium previously assigned to *Pseudomonas*. *Alcaligenes ruhlandii* (Packer and Vishniac 1955) Aragno and Schlegel 1977 AL. *Int J Syst Bacteriol* **27**: 279-281
21. Ridderberg W, Bendstrup KE, Olesen HV, Jensen-Fangel S, Norskov-Lauritsen N. Marked increase in incidence of *Achromobacter xylosoxidans* infections caused by sporadic acquisition from the environment. *J Cyst Fibros* 2011; **10**: 466–469
22. Warner NC, Bartelt L, Lachiewicz A, Tompkins KM, Miller MB, Van Duin D. Cefiderocol for the treatment of *Achromobacter xylosoxidans* infections in two lung transplant patients with cystic fibrosis. Washington, IDweek, 2019; DC: abstr 730
23. Lobo LJ, Tulu Z, Aris RM, Noone PG. Pan-resistant *Achromobacter xylosoxidans* and *Stenotrophomonas maltophilia* infection in cystic fibrosis does not reduce survival after lung transplantation. *Transplantation* 2015; **99**: 2196–2202
24. Marion-Sanchez K, Pailla K, Olive C, Le Coutour X, Derancourt C. *Achromobacter* spp. healthcare associated infections in the French West Indies: a longitudinal study from 2006 to 2016. *BMC Infect Dis* 2019; **19**: 795
25. D'Amato RF, Salemi M, Mathews A, Cleri DJ, Reddy G. *Achromobacter xylosoxidans* (*Alcaligenes xylosoxidans* subsp. *xylosoxidans*) meningitis associated with a gunshot wound. *J Clin Microbiol* 1988; **26**: 2425–2426
26. Tena D, Gonzalez-Praetorius A, Perez-Balsalobre M, Sancho O, Bisquert J. Urinary tract infection due to *Achromobacter xylosoxidans*: report of 9 cases. *Scand J Infect Dis* 2008; **40**: 84–87
27. Tena D, Martinez NM, Losa C, Solis S. Skin and soft tissue infection caused by *Achromobacter xylosoxidans*: report of 14 cases. *Scand J Infect Dis* 2014; **46**: 130–135

28. Asano K, Tada S, Matsumoto T, Miyase S, Kamio T, Sakurai K ve ark. A novel bacterium *Achromobacter xylosoxidans* as a cause of liver abscess: three case reports. *J Hepatol* 2005; **43**: 362–365
29. Arshad JI, Saud A, White DE, Afshari NA, Sayegh RR. Chronic conjunctivitis from a retained contact lens. *Eye Contact Lens* 2019; **46**: e1–e4
30. Ruiz AT, Castellanos JG, Marroig JFA, Riera JM, Collado VC. Eradication of *Achromobacter* spp. multiresistente with colistin otic in patient with chronic otitis media suppurated. *Rev Esp Quimioter* 2019; **32(6)**: 569–570
31. Xia R, Otto C, Zeng J, Momeni-Boroujeni A, Kagan J, Meleney K ve ark. *Achromobacter* endocarditis in native cardiac valves: an autopsy case report and review of the literature. *Cardiovasc Pathol* 2018; **36**: 6–10
32. Ozer K, Kankaya Y, Baris R, Bektas CI, Kocer U. Calcaneal osteomyelitis due to *Achromobacter xylosoxidans*: a case report. *J Infect Chemother* 2012; **18**: 915–918
33. Gomez-Cerezo J, Suarez I, Rios JJ, Pena P, Garcia de Miguel MJ, de Jose M ve ark. *Achromobacter xylosoxidans* bacteremia: a 10-year analysis of 54 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003; **22**: 360–363
34. Liu C, Guo J, Yan W, Jin Y, Pan F, Fang X ve ark. Hospital-acquired pneumonia due to *Achromobacter xylosoxidans* in the elderly: a single-center retrospective study in Beijing. *J Infect Dev Ctries* 2017; **11**: 10–18
35. Isler B, Kidd TJ, Stewart AG, Harris P, Patersen DL. *Achromobacter* infections and treatment options. *Antimicrob Agents Chemother* 2020; **64 (11)**: e01025-1020
36. Steinberg JP, Del Rio C. Other Gram-negative bacilli. In: Mandell GL, Douglas Jr RG, Bennett JE, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. New York: Churchill Livingstone, 2000: 2459-2474
37. Igra-Siegmán Y, Chmel H, Cobbs C. Clinical and laboratory characteristics of *Achromobacter xylosoxidans* infection. *J Clin Microbiol* 1980; **11**: 141-145
38. Tsay RW, Lin LC, Chiou CS. *Alcaligenes xylosoxidans* bacteremia: clinical features and microbiological characteristics of isolates. *J Microbiol Immunol Infect* 2005; **38**: 194-199

39. Busse HJ, Auling G. *Achromobacter*. In *Bergey's manual of systematics of Archaea and Bacteria*. Baltimore: Williams & Wilkins, MD; 2015: 1–14
40. Saiman L, Chen Y, Tabibi S, San Gabriel P, Zhou J, Liu Z ve ark. Identification and antimicrobial susceptibility of *Alcaligenes xylosoxidans* isolated from patients with *cystic fibrosis*. *J Clin Microbiol* 2001; **39 (11)**: 3942–3945
41. Fernandez-Olmos A, Garcia-Castillo M, Morosini MI, Lamas A, Maiz L, Canton R. MALDI-TOF MS improves routine identification of non-fermenting Gram-negative isolates from cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2012; **11**: 59–62
42. Kidd TJ, Ramsay KA, Hu H, Bye PT, Elkins MR, Grimwood ve ark. Low rates of *Pseudomonas aeruginosa* misidentification in isolates from cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol* 2009; **47**: 1503–1509
43. Jakobsen TH, Hansen MA, Jensen PØ, Hansen L, Riber L, Cockburn A ve ark. Complete genome sequence of the cystic fibrosis pathogen *Achromobacter xylosoxidans* NH44784-1996 complies with important pathogenic phenotypes. *Plos One* 2013; **8**: e68484
44. Felgate H, Giannopoulos G, Sullivan MJ, Gates AJ, Clarke TA, Baggs E ve ark. The impact of copper, nitrate and carbon status on the emission of nitrous oxide by two species of bacteria with biochemically distinct denitrification pathways. *Environ Microbiol* 2012; **14**: 1788–1800
45. Hassanshahian M, Ahmadinejad M, Tebyanian H, Kariminik A. Isolation and characterization of alkane degrading bacteria from petroleum reservoir waste water in Iran (Kerman and Tehran provenances). *Mar Pollut Bull* 2013; **73**: 300–305
46. Majumder A, Bhattacharyya K, Bhattacharyya S, Kole SC. Arsenic-tolerant, arsenite-oxidising bacterial strains in the contaminated soils of West Bengal, India. *Sci Total Environ* 2013; **463-464**: 1006–1014
47. Spear JB, Fuhrer J, Kirby BD. *Achromobacter xylosoxidans* (*Alcaligenes xylosoxidans* subsp. *xylosoxidans*) bacteremia associated with a wellwater source: case report and review of the literature. *J Clin Microbiol* 1988; **26**: 598–599

48. Vidal F, Mensa J, Almela M, Olana M, Martinez JA, Marco F ve ark. Bacterimia in adults due to glucose non-fermentative Gram-negative bacili other than *P.aeruginosa*. *Q J Med* 2003; **96**: 227-234
49. Duggan JM, Goldstein SJ, Chenoweth CE, Kauffman CA, Bradley SF. *Achromobacter xylosoxidans* bacteremia: report of four cases and review of the literature. *Clin Infect Dis* 1996; **23**: 569–576
50. Ahmed MS, Mistal C, Rayan R, Kuduvalli M, Anijeet HKI. *Achromobacter xylosoxidans*, an emerging pathogen in catheter-related infection in dialysis population causing prosthetic valve endocarditis: a case report and review of literature. *Clin Nephrol* 2009; **71(3)**: 350-354
51. Olshtain-Pops K, Block C, Temper V, Hidalgo-Grass C, Gross I, Moses AE ve ark. An outbreak of *Achromobacter xylosoxidans* associated with ultrasound gel used during transrectal ultrasound guided prostate biopsy. *J Urol* 2011; **185(1)**: 144-147
52. Siebor E, Llanes C, Lafon I, Ogier-Desserrey A, Duez JM, Pechinot A ve ark. Presumed pseudobacteremia outbreak resulting from contamination of proportional disinfectant dispenser. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007; **26(3)**: 195-198
53. Behrens-Muller B, Conway J, Yoder J, Conover CS. Investigation and control of an outbreak of *Achromobacter xylosoxidans* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2012; **33**: 180–184
54. Tena D, Carranza R, Barberá JR, Valdezate S, Garrancho JM, Arranz M ve ark. Outbreak of long-term intravascular catheter-related bacteremia due to *Achromobacter xylosoxidans* subspecies *xylosoxidans* in a hemodialysis unit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; **24**: 727-732
55. Amoureux L, Bador J, Siebor E, Taillefumier N, Fanton A, Neuwirth C. Epidemiology and resistance of *Achromobacter xylosoxidans* from cystic fibrosis patients in Dijon, Burgundy: first French data. *J Cyst Fibros* 2013; **12 (2)**: 170-176

56. McGuckin MB, Thorpe RJ, Koch KM, Alavi A, Staum M, Abrutyn E. An outbreak of *Achromobacter xylosoxidans* related to diagnostic tracer procedures. *Am J Epidemiol* 1982; **115**: 785–93
57. Granowitz EV, Keenholtz SL. A pseudoepidemic of *Alcaligenes xylosoxidans* attributable to contaminated saline. *Am J Infect Control* 1998; **26**: 146–148
58. Reina J, Antich M, Siquier B, Alomar P. Nosocomial outbreak of *Achromobacter xylosoxidans* associated with a diagnostic contrast solution [letter]. *J Clin Pathol* 1988; **41**: 920–921
59. Nicolosi D, Nicolosi VM, Cappellani A, Nicoletti G, Blandino G. Antibiotic susceptibility profiles of uncommon bacterial species causing severe infections in Italy. *J Chemother* 2009; **21**: 253–260
60. Molina-Cabrillana J, Santana-Reyes C, González-García A, Bordes-Benítez A, Horcajada I. Outbreak of *Achromobacter xylosoxidans* pseudobacteremia in a neonatal care unit related to contaminated chlorhexidine solution. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007; **26**: 435–437
61. Wiatr M, Morawska A, Składzień J, Kedzierska J. *Alcaligenes xylosoxidans*-a pathogen of chronic ear infection [in Polish]. *Otolaryngol Pol* 2005; **59**: 277–280
62. Qin X, Razia Y, Johnson JR, Stapp JR, Boster DR, Tsosie T ve ark. Ciprofloxacin-resistant Gram-negative bacilli in the fecal microflora of children. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **50**: 3325–3329
63. LiPuma JJ, Rathinavelu S, Foster BK, Keoleian JC, Makidon PE, Kalikin LM ve ark. In vitro activities of a novel nanoemulsion against *Burkholderia* and other multidrug-resistant cystic fibrosis-associated bacterial species. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; **53**: 249–255
64. Li X, Hu Y, Gong J, Zhang L, Wang G. Comparative genome characterization of *Achromobacter* members reveals potential genetic determinants facilitating the adaptation to a pathogenic lifestyle. *Appl Microbiol Biotechnol* 2013; **97**: 6413–6425
65. Rietschel ET, Kirikae T, Schade FU, Mamat U, Schmidt G, Loppnow H ve ark. Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function. *FASEB J* 1994; **8**: 217–225

66. Roberts IS. The biochemistry and genetics of capsular polysaccharide production in bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1996; **50**: 285–315
67. Marshall NC, Finlay BB. Targeting the type III secretion system to treat bacterial infections. *Expert Opin Ther Targets* 2013; **18 (2)**: 137-152
68. Nicholson TL, Brockmeier SL, Loving CL, Register KB, Kehrli ME, Shore SM. The *Bordetella bronchiseptica* type III secretion system is required for persistence and disease severity but not transmission in swine. *Infect Immun* 2013; **82**: 1092-1103
69. Audia JP, Lindsey AS, Housley NA, Ochoa CR, Zhou C, Toba M ve ark. In the absence of effector proteins, the *Pseudomonas aeruginosa* type three secretion system needle tip complex contributes to lung injury and systemic inflammatory responses. *Plos One* 2013; **8**: e81792
70. Holmes B, Snell JJS, Lapage P. Strains of *Achromobacter xylosoxidans* from clinical material. *J Clin Path* 1977; **30**: 595-601
71. Iwasaki H, Yoshimura T, Suzuki S, Shidara S. Spectral properties of *Achromobacter xylosoxidans* cytochromes c' and their NO complexes. *Biochim Biophys Acta* 1991; **1058**: 79–82
72. Tian F, Ding Y, Zhu H, Yao L, Du B. Genetic diversity of siderophore-producing bacteria of tobacco rhizosphere. *Braz J Microbiol* 2009; **40**: 276–284
73. Hu Y, Zhu Y, Ma Y, Liu F, Lu N, Yang X ve ark. Genomic insights into intrinsic and acquired drug resistance mechanisms in *Achromobacter xylosoxidans*. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; **59**: 1152–1161
74. Bador J, Amoureux L, Duez JM, Drabowicz A, Siebor E, Llanes C ve ark. First description of an RND-type multidrug effluks pump in *Achromobacter xylosoxidans*, AxyABM. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; **55**: 4912–4914
75. Bador J, Amoureux L, Blanc E, Neuwirth C. Innate aminoglycoside resistance of *Achromobacter xylosoxidans* is due to AxyXY-OprZ, an RND-type multidrug effluks pump. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; **57**: 603–605
76. Zhanel GG, Homenuik K, Nichol K, Noreddin A, Vercaigne L, Embil J ve ark. The glycyliclins: a comparative review with the tetracyclins. *Drugs* 2004; **64(1)**: 63–88
77. Nelson ML, Levy SB. The history of the tetracyclins. *Ann N Y Acad Sci* 2011; **1241**: 17–32

78. Xiao XY, Hunt DK, Zhou J, Clark RB, Dunwoody N, Corey Fyfe ve ark. Fluorocyclines. 1.7-fluoro-9-pyrrolidinoacetamido-6-demethyl-6-deoxytetracycline: a potent, broad spectrum antibacterial agent. *J Med Chem* 2012; **55(2)**: 597–605
79. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001; **65(2)**: 232–260
80. Clark RB, Hunt DK, He M, Achorn C, Chen CL, Deng Y ve ark. Fluorocyclines 2. Optimization of the C-9 side-chain for antibacterial activity and oral efficacy. *J Med Chem* 2012; **55(2)**: 606–622
81. Beale JM. Antibacterial Antibiotics. In: Beale JM, Block JH, Editors. *Wilson And Gisvold's Textbook Of Organic Medicinal And Pharmaceutical Chemistry*. 12. th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins 2011; **12**: 258–329.
82. Brenner GM, Stevens CW. *Inhibitors of bacterial protein synthesis*. In: Brenner GM, Stevens CW, editors. *Pharmacology*. 4.th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders 2013; **4**: 408–416.
83. Nguyen F, Starosta AL, Arenz S, Sohmen D, Dönhöfer A, Wilson DN. Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms. *Biol Chem* 2014; **395(5)**: 559–575
84. Thaker M, Spanogiannopoulos P, Wright GD. The tetracycline resistome. *Cell Mol Life Sci* 2010; **67(3)**: 419–431
85. Abdallah M, Olafisoye O, Cortes C, Urban C, Landman D, Quale J. Activity of eravacycline against *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter baumannii*, including multidrug-resistant isolates, from New York city. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; **59(3)**: 1802–1805
86. Wright H, Xerava [package insert]. Watertown, MA: Tetraphase Pharmaceutical, Inc; 2018.
87. Heaney M, Mahoney MV, Gallagher JC. Eravacycline: The tetracyclines strike back. *Ann Pharmacother* 2019; **53(11)**: 1124–1135
88. Sutcliffe JA, O'Brien W, Fyfe C, Grossman TH. Antibacterial activity of eravacycline (TP-434), a novel fluorocycline, against hospital and community pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; **57(11)**: 5548–5558

89. Salmon-Rousseau A, Martins C, Blot M, Buisson M, Mahy S, Chavanet P ve ark. Comparativew review of imipenem/cilastin versus meropenem. *Med Mal Infect* 2020; **50**: 316-322
90. Zhanel GG, Johanson C, Embil JM, Noreddin A, Gin A, Vercaigne L ve ark. Ertapenem: review of a new carbapenem. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2005; **3** (1): 23–39
91. Moellering RC, Eliopoulos GM, Sentohnik DE. The carbapenems: new broad spectrum beta-lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 1989; **24**: 1–7
92. Edwards SJ, Emmas CE, Campbell HE. Systematic review comparing meropenem with imipenem plus cilastatin in the treatment of severe infections. *Curr Med Res Opin* 2005; **21** (5): 785–794
93. Beaulieu P, Pichette V, Desroches J, Souich P. *Précis de pharmacologie: du fondamental à la clinique*. éd. Les presses de l'université de Montréal Bibliothèque et Archives nationales du Québec, Québec 2015
94. Zhanel GG, Wiebe R, Dilay L, Thomson K, Rubinstein E, Hoban DJ ve ark. Comparative review of the carbapenems. *Drugs* 2007; **67**: 1027-1052
95. Dalhoff A, Janjic N, Echols R. Redefining penems. *Biochem Pharmacol* 2006; **71**: 1085-1095
96. Norrby SR. Carbapenems. *Med Clin North Am* 1995; **79** (4): 745–759
97. Keating GM, Perry CM. Ertapenem: a review of its use in the treatment of bacterial infections. *Drugs* 2005; **65** (15): 2151–2178
98. Pournaras S, Maniati M, Spanakis N, Ikonomidis A, Tassios PT, Tsakris A ve ark. Spread of effluks pump-overexpressing, non-metallo-beta-lactamase-producing, meropenem-resistant but ceftazidime-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* in a region with blaVIM endemicity. *J Antimicrob Chemother* 2005; **56**(4): 761–764
99. Hurst M, Lamb HM. Meropenem: a review of its use in patients in intensive care. *Drugs* 2000; **59**(3): 653–680
100. Kim SY, Park YJ, Yu JK, Kim HS, Park YS, Yoan JB ve ark. Prevalence and mechanisms of decreased susceptibility to carbapenems in *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; **57**(1): 85–91
101. Livermore DM, Sefton AM, Scott GM. Properties and potential of ertapenem. *J Antimicrob Chemother* 2003; **52** (3): 331–344

102. Fritsche TR, Stilwell MG, Jones RN. Antimicrobial activity of doripenem (S-4661): a global surveillance report (2003). *Clin Microbiol Infect* 2005; **11 (12)**: 974–84
103. Thyrum PT, Yeh C, Birmingham B, Lasseter K. Pharmacokinetics of meropenem in patients with liver disease. *Clin Infect Dis* 1997; **24(2)**: 184-190
104. Jones RN, Alridge KE, Allen SD, Barry AL, Fuchs PC, Gerlach H ve ark. Multicenter in vitro evaluation of SM 7338, a new carbapenem. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; **33(4)**: 562-565
105. Kattan JN, Villegas MV, Quinn JP. New developments in carbapenems. *Clin Microbiol Infect* 2008; **14(12)**: 1102-1111
106. Benedict RG, Langlykke AF. Antibiotic activity of *Bacillus polymyxa*. *J Bacteriol* 1947; **54(1)**: 24
107. Koyama Y. A new antibiotic 'colistin' produced by spore-forming soil bacteria. *J. Antibiot* 1950; **3**: 457–458
108. Levin AS, Barone AA, Penco J, Santos MV, Marinho IS, Aruda EAG ve ark. Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis* 1999; **28(5)**: 1008-1111
109. Li J, Turnidge J, Milne R, Nation RL, Coulthard K. In vitro pharmacodynamic properties of colistin and colistin methanesulphonate 65 against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; **45(3)**: 781-785
110. Kwa A, Kasiakou SK, Tam VH, Falagas ME. Polymyxin B: similarities to and differences from colistin (polymyxin E). *Rev Anti Infect Ther* 2007; **5(5)**: 811-821
111. Biswas S, Brunel JM, Dubus JC, Gaubert MR, Rolain JM. Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2012; **10(8)**: 917–934
112. Ross S, Puig JR, Zaremba EA. Colistin: some preliminary laboratory and clinical observations in specific gastroenteritis in infants and children. *Antibiot Annu* 1959; **7**: 89–100

113. Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2005; **25(1)**: 11–25
114. Landman D, Georgescu C, Martin DA, Quale J. Polymyxins revisited. *Clin Microbiol Rev* 2008; **21(3)**: 449–465
115. Bialvaei AZ, Kafil HS. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin* 2015; **31(4)**: 707–721
116. Brink AJ, Richards GA, Colombo G, Bartolotti F, Colombo P. Multicomponent antibiotic substances produced by fermentation: implications for regulatory authorities, critically ill patients and generics. *Int J Antimicrob Agents* 2014; **43**: 1–6
117. Falagas ME, Kasiakou SK, Saravolatz LD. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis* 2005; **40(9)**: 1333–1341
118. Lim LM, Ly N, Anderson D, Yang JC, Macander L, Jarkowski A ve ark. Resurgence of colistin: a review of resistance, toxicity, pharmacodynamics and dosing. *Pharmacotherapy* 2010; **30(12)**: 1279–1291
119. Clausell A, Garcia-Subirats M, Pujol M, Busquets M, Rabanal F, Cajal Y. Gram-negative outer and inner membrane models: insertion of cyclic cationic lipopeptides. *J Phys Chem B* 2007; **111(3)**: 551–563
120. Park YK, Choi JY, Shin D, Ko KS. Correlation between overexpression and amino acid substitution of the PmrAB locus and colistin resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents* 2011; **37(6)**: 525–530
121. Bengoechea JA, Skurnik M. Temperature-regulated efflux pump/potassium antiporter system mediates resistance to cationic antimicrobial peptides in *Yersinia*. *Mol Microbiol* 2000; **37(1)**: 67–80
122. Campos MA, Vargas MA, Regueiro V, Llompart CM, Alberti S, Bengoechea JA. Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infect Immun* 2004; **72(12)**: 7107–7114
123. Kline T, Trent MS, Stead CM, Lee MS, Sousa MC, Felise HB ve ark. Synthesis of and evaluation of lipid A modification by 4-substituted 4-deoxy arabinose analogs as potential inhibitors of bacterial polymyxin resistance. *Bioorg Med Chem Lett* 2008; **18(4)**: 1507–1510

124. Raetz CR, Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu Rev Biochem* 2002; **71**: 635–700
125. Schindler M, Osborn MJ. Interaction of divalent cations and polymyxin B with lipopolysaccharide. *Biochemistry* 1979; **18(20)**: 4425–4430
126. Kim Y, Bae IK, Lee H, Jeong HS, Yong D, Lee K. In vivo emergence of colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates of sequence type 357 during colistin treatment. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014; **79**: 362-366
127. Ito-Kagawa M, Koyama Y. Selective cleavage of a peptide antibiotic, colistin by colistinase. *J Antibiotics* 1980; **33(12)**: 1551-1555
128. Lopez-Rojas R, Dominguez-Herrera J, McConnell MJ, Docobo-Perez F, Smani Y, Fernandez-Reyes M ve ark. Impaired virulence and in vivo fitness of colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Infect Dis* 2011; **203**: 545-548
129. Zavascki AP, Goldani LZ, Li J, Nation RL. Polymyxin B for the treatment of multi drug-resistant pathogens: a critical review. *J Antimicrob Chemother* 2007; **60**: 1206-1215
130. Snitkin ES, Zelazny AM, Gupta J, Palmore TN, Murray PR, Segre JA ve ark. Genomic insights into the fate of colistin resistance and *Acinetobacter baumannii* during patient treatment. *Genome Res* 2013; **23**: 1155-1162
131. Kim SY, Choi HJ, Ko KS. Differential expression of two-component systems, pmrAB and phoPQ, with different growth phases of *Klebsiella pneumoniae* in the presence or absence of colistin. *Curr Microbiol* 2014; **69**: 37-41
132. Liu Yi-Y, Chandler CE, Leung LM, Mc Elheny CL, Mettus RT, Shanks RMQ ve ark. Structural modification of lipopolysaccharide conferred by mcr-1 in Gram-negative ESKAPE pathogens. *Anti Microb Agents Chemother* 2017; **61(6)**: e00580-17
133. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JD, Vinogradov E, Seeman T ve ark. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; **54(12)**: 4971-4977
134. Beceiro A, Llobet E, Aranda J, Bengoechea JA, Doumith M, Hornsey M ve ark. Phosphoethanolamine modification of lipid A in colistin-resistant variants of *Acinetobacter baumannii* mediated by the pmrAB two-component regulatory system. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; **55(7)**: 3370-3379

135. Neu HC, Labthavikul P. Antibacterial activity and β lactamase stability of ceftazidime, an aminothiazolyl cephalosporin potentially active against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1982; **21**: 11-18
136. Andes D, Craig W. Cephalosporins. In: Mandell G, Bennett J, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*. 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier 2010; **7**: 323–337
137. Dunn GL. Ceftizoxime and other third-generation cephalosporins: structure-activity relationships. *J Antimicrob Chemother* 1982; **10**: 1–10
138. Neu HC. Beta-lactam antibiotics: structural relationships affecting in vitro activity and pharmacologic properties. *Rev Infect Dis* 1986; **8(3)**: S237–259
139. Neu HC, β -lactamase stability of cefoxitin in comparison with other β -lactam compounds. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1983; **1**: 313-316
140. Caprile KA. The cephalosporin antimicrobial agents: a comprehensive review. *J Vet Pharmacol Ther* 1988; **11(1)**: 1–32
141. Popham DL, Young KD. Role of penicillin-binding proteins in bacterial cell morphogenesis. *Curr Opin Microbiol* 2003; **6(6)**: 594–599
142. Vollmer W, Blanot D, de Pedro MA. Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiol Rev* 2008; **32(2)**: 149–167
143. Sauvage E, Kerff F, Terrak M, Ayala JA, Charlier P. The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis. *FEMS Microbiol Rev* 2008; **32(2)**: 234–258
144. Livermore DM. Mechanisms of resistance to cephalosporin antibiotics. *Drugs* 1987; **34(2)**: 64–88
145. Kurt H. Sefalosporinler. *Güncel Gastenteroloji* 1997; **1(2)**: 197-202
146. Bush K. Characterization of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; **33(3)**: 259-276
147. Livermore OM. Clinical significance of β -lactamase induction and stable depression in Gram-negative rods. *Eur J Clin Microbiol* 1987; **6**: 439-445
148. Lindberg F, Normark S. Contribution of chromosomal β -lactamases to β -lactam resistance in enterobacteria. *Rev Infect Dis* 1986; **3**: 292-304
149. Norrby SR. Patterns of Multi-Resistance and Their Clinical Significance. *Scand J Infect Dis* 1991; **23(78)**: 1-70

150. Richards DM, Brogden RN. Ceftazidime A Review of its Antibacterial Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Use. *Drugs* 1985; **29(2)**: 105-161
151. Harper PB. The in-vitro properties of ceftazidime. *J Antimicrob Chemother* 1981; **8**: 5-13
152. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Thirty first-edition M100S, Wayne PA, USA; 2021
153. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for determining an bactericidal activity of antimicrobial agents. Approved Guideline M26-A NCCLS, Wayne; 2002
154. Welsh MJ, Ramsey BW, Accurso FJ, Cutting GR. Cystic fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2001: 5121-5188
155. Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A ve ark. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989; **245**: 1073–1080
156. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z ve ark. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; **245**: 1066–1073
157. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M ve ark. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989; **245**: 1059–1065
158. Saint-Criq V, Gray MA. Role of CFTR in epithelial physiology. *Cell Mol Life Sci* 2017; **74**: 93–115
159. Gentzsch M, Mall MA. Ion channel modulators in cystic fibrosis. *Chest* 2018; **154**: 383–93
160. Knowles MR, Durie PR. What is cystic fibrosis. *N Engl J Med* 2002; **347 (6)**: 439-442
161. Elborn JS. Cystic fibrosis. *Lancet* 2016; **388**: 2519–2531
162. Bhagirath AY, Li Y, Somayajula D, Dadashi M, Badr S, Duan K. Cystic fibrosis lung environment and *Pseudomonas aeruginosa* infection. *BMC Pulm Med* 2016; **16**: 174

163. O'Toole GA. Cystic fibrosis airway microbiome: overturning the old, opening the way for the new. *J Bacteriol* 2018; **200**: e00561-17
164. Parkins MD, Floto RA. Emerging bacterial pathogens and changing concepts of bacterial pathogenesis in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2015; **14**: 293–304
165. Acosta N, Whelan FJ, Somayaji R, Poonja A, Surette MG, Rabin HR. The evolving cystic fibrosis microbiome: a comparative cohort study spanning 16 years. *Ann Am Thorac Soc* 2017; **14**: 1288–1297
166. Ciofu, O, Hansen, CR, Høiby, N. Respiratory bacterial infections in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 2013; **19**: 251–258
167. Tan K, Conway SP, Brownlee KG, Etherington C, Peckham DG. *Alcaligenes* infection in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2002; **34**: 101–104
168. Baets FD, Schelstraete P, Daele SV, Haerynck F, Vaneechoutte M. *Achromobacter xylosoxidans* in cystic fibrosis: prevalence and clinical relevance. *J Cyst Fibros* 2007; **6**: 75–78
169. Caverly LJ, Spilker T, Kalikin LM, Stillwell T, Young C, Hwang DB ve ark. In vitro activities of β -Lactam – β -Lactamase Inhibitor antimicrobial agents against cystic fibrosis respiratory pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 2019; **64(1)**: e01595-19
170. Amoureux L, Sauge J, Sarret B, Lhoumeau M, Bajard A, Tetu J ve ark. Study of 109 *Achromobacter* spp. isolates from 9 French CF centres reveals the circulation of a multiresistant clone of *A. xylosoxidans* belonging to ST 137 *J. Cyst. Fibros* 2019; **18 (6)**: 804-807
171. Wang M, Ridderberg W, Hansen CR, Hoiby N, Jensen-Fangel S, Olesen HV ve ark. Early treatment with inhaled antibiotics postpones next occurrence of *Achromobacter* in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2013; **12(6)**: 638-643
172. Coward A, Kenna DTD, Woodford N, Turton JF. Structured surveillance of *Achromobacter*, *Pandorea* and *Ralstonia* species from patient in England with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2020; **19 (3)**: 388-393
173. Okoliegbe LN, Hjazi K, Cooper K, Ironside C, Gould LM. Longitudinal surveillance and combination antimicrobial suscepibility testing of multi drug resistant *Achromobacter* spp. from cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2020; **64 (11)**: 01467-20

174. Aydemir Ö, Agah -Terzi H, Şahin-Özözen E, Köroğlu M, Altındış M. Nadir bir infeksiyon etkeni *Achromobacter xylosoxidans*. *Flora* 2019; **24(4)**: 307-312
175. Damar-Çelik D, Norskov Lauritsen N, Özbek-Çelik B. Comparative in vitro activities of meropenem in combination with colistin, levofloxacin, or chloramphenicol against *Achromobacter xylosoxidans* strains isolated from patients with cystic fibrosis. *J Antimicrob Resist* 2020; **22**: 713-717
176. Pedersen MG, Olesen HV, Jensen-Fangel S, Norskov-Lauritsen N, Wang M. Colistin resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Achromobacter* spp. cultured from Danish cystic fibrosis patients is not related to plasmid-mediated expression of mcr-1. *J Cyst Fibros* 2018; **17(2)**: 22-23
177. Somoyaji R, Stanojevic S, Tullis DE, Stephenson AL, Ratjen F, Waters V. Clinical outcomes associated with *Achromobacter* species infection in patients with cystic fibrosis. *Ann Am Thorac Soc* 2017; **14 (9)**: 1412-1418
178. Edwards F, MacGowan A, Macnaughton E. Antimicrobial therapy: principles of use. *Medicine* 2021; **49 (10)**: 624-631
179. Almuzara M, Limansky A, Ballerini V, Galanternik L, Famiglietti A, Vay C. In vitro susceptibility of *Achromobacter* spp. isolates: comparison of disk diffusion, Etest and agar dilution methods. *Int J Antimicrob Agents* 2010; **35**: 68-71
180. Mathy V, Grohs P, Compain F. In vitro activity of β -lactams in combination with avibactam against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Achromobacter xylosoxidans* isolates from patients with cystic fibrosis. *J Med Microbiol* 2018; **67**: 1217-1220

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ERAVASİKLİNİN TEK BAŞINA VE ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLER İLE KOMBİNASYON HALİNDE OLUŞTURDUKLARI ETKİLERİNİN ACHROMOBACTER CİNSİ KLİNİK SUŞLARA KARŞI ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLIK RAPORU

% 7	% 6	% 4	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 1
2	doaj.org İnternet Kaynağı	% 1
3	AKTAŞ, Gülseren. "Antibiyotik Kombinasyonları ve Sinerjistik Etkileşimleri", Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2014. Yayın	% 1
4	cms.galenos.com.tr İnternet Kaynağı	<% 1
5	acikerisim.pau.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
7	aac.asm.org İnternet Kaynağı	<% 1