

**ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**YENİ BENZOFURAN, NAFTOFURAN VEYA SİKLOBÜTAN HALKASI
İÇEREN KETON VE KETOKSİM TÜREVİ BİLEŞİKLERİN
ANTİBAKTERİYEL VE ANTİFUNGAL AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

EKİN DEMİRAY

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADYAMAN

2013

TEZ ONAYI

Ekin DEMİRAY tarafından hazırlanan “yeni benzofuran, naftofuran veya siklobütan halkası içeren keton ve ketoksim türevi bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hesna YİĞİT

Jüri Üyeleri:

Yrd. Doç. Dr. Hesna YİĞİT

Adıyaman Üniversitesi FEF Biyoloji Bölümü

Prof. Murat KOCA

Adıyaman Üniversitesi- FEF Kimya Bölümü

Yrd. Doç. Dr. Sadık AKGÜN

Adıyaman Üniversitesi Tıp F Temel Mikrobiyoloji

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Doç. Dr. Mustafa ÖZDEN

Enstitü Müdürü

...İmza.....

...İmza.....

...İmza.....

.....

İÇİNDEKİLER TABLOSU

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGE DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı ve Kapsamı	1
1.2. Antibiyotik Nedir?	1
1.3. Antibiyotik Sınıfları	4
1.3.1. DNA'ya veya Sentezine Etki Eden Antibiyotikler: Kinolonlar	4
1.3.2. DNA'ya Etki Eden Antibiyotikler: Nitrofurazonlar ve Metronidazoller	6
1.3.3. RNA Sentezine Etki Eden Antibiyotikler: Rifampisin	8
1.3.4. Hücre Duvarına Etki Eden Antibiyotikler	9
1.3.5. Hücre Zarına Etki Eden Antibiyotikler	16
1.3.6. Protein Sentezine Etki Eden Antibiyotikler	17
1.3.7. Biyokimyasal Yolakları İnhibe Eden Antibiyotikler	20
1.4. Antibiyotik Direnci	21
1.5. Hücrede Etki Ettikleri Mekanizmaya Göre Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç Mekanizmaları	23
1.5.1. DNA Sentezine Etki Eden Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç: Kinolon Direnci	23
1.5.2. RNA Sentezine Etki Eden Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç: Rifampisin	24
1.5.3. Hücre Duvarına Etki Eden Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç	27
1.5.3.1. Beta laktam Direnci	27
1.5.3.2. Glikopeptid Direnci:	34
1.5.3.3. Fosfomisin Direnci	34
1.5.4. Hücre Zarına Etki Eden Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç	35

1.5.4.1. Daptomisin Direnci:	35
1.5.4.2. Polimiksin Direnci:	36
1.5.5. Protein Sentezini Engelleyen Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç	36
1.5.6. Biyokimyasal Yolakları Engelleyen Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç	39
1.6. Diğer Direnç Mekanizmaları	40
1.6.1. OprD Porları Aracılıklı Direnç	40
1.6.2. Efluks Aracılıklı Direnç	41
1.7. Direncin Neden Olduğu Sorunlar ve Direncin Ekonomik Boyutları	41
1.8. Yeni Antibiyotiklerin Geliştirilmesi Gereklidir	46
1.9. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar ve Özellikleri	47
1.9.1. <i>Staphylococcus aureus</i> ve MRSA	47
1.9.2. <i>Enterococcus faecalis</i> ve VRE	50
1.9.3. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	52
1.9.4. <i>Echerichia coli</i>	53
1.9.5. <i>Enterobacter aerogenes</i>	55
1.9.6. <i>Acinetobacter baumannii</i>	56
1.9.7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
1.9.8. <i>Candida albicans</i>	61
1.10. Çalışmada kullanılacak bileşikler ve Özellikleri	63
1.10.1. Keton	63
1.10.2. Ketoksim	64
1.10.3. Benzofuran İçeren Bileşikler	64
1.10.4. Siklobütan	65
1.10.5. Naftofuran	66
1.11. Benzofuran, Naftofuran ve Siklobütan Halkası İçeren Keton ve ketoksim Türevlerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları	68
1.11.1. Keton ve Ketoksim İçeren Benzofuranlar	68
1.11.2. Keton ve Ketoksim İçeren Naftofuranların Biyolojik Etkinlikleri	73
1.11.3. Keton ve Ketoksim İçeren Siklobütanlar, Antimikrobiyal Aktiviteleri, Genel Yapıları Formülleri, Özellikleri	76
2. MATERYAL VE YÖNTEM	78

2.1.	Kimyasal maddeler	78
2.2.	Tezde Kullanılan Bileşikler	79
2.3.	Tezde Kullanılan Cihazlar ve Gereçler	89
2.4.	Tezde Kullanılan Mikroorganizmalar	90
2.5.	Bileşiklerin Antibakteriyel ve Antifungal Aktivitelerinin Mikrodilüsyon ve Disk Difüzyon Yöntemiyle İncelenmesi	91
2.6.	Antibakteriyel Aktivite Gösteren Bileşiklerin Zamana Bağlı Öldürme Eğrilerinin (Kinetik Öldürme Eğrilerinin) Tayini.	93
2.7.	Antibakteriyel veya Antifungal Aktivite Gösteren Bileşiklerin Minimum Bakteriosidal Konsantrasyonlarının (MBC) Tayini.	93
3.	BULGULAR VE SONUÇ	94
3.1.	DMSO da Çözünen Bileşiklerin Belirlenmesi	94
3.2.	DMSO da Çözünmeyen Bileşiklerden Kloroformda Çözünenlerin Belirlenmesi	100
3.3.	DMSO da Çözünen Bileşiklerin Gram (-) Antibakteriyel Aktivitelerinin Mikrodilüsyon Yöntemiyle Belirlenmesi	101
3.4.	DMSO da Çözünen Bileşiklerin Gram (+) Antibakteriyel Aktivitelerinin Mikrodilüsyon Yöntemiyle Belirlenmesi	102
3.5.	DMSO da Çözünen Bileşiklerin Antifungal Aktivitelerinin Mikrodilüsyon Yöntemiyle Belirlenmesi	104
3.6.	DMSO da Çözünmeyip Kloroformda Çözünen Bileşiklerin Antibakteriyel ve Antifungal Aktivitelerinin Araştırılması	105
3.7.	Antibakteriyel Aktivite Gösteren Bileşiklerin Zamana Bağlı Öldürme Eğrilerinin (Kinetik Öldürme Eğrilerinin) Tayini.	105
4.	TARTIŞMA	109
	KAYNAKLAR	111
	ÖZGEÇMİŞ	127

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YENİ BENZOFURAN, NAFTOFURAN VEYA SİKLOBÜTAN HALKASI İÇEREN KETON VE KETOKSİM TÜREVİ BİLEŞİKLERİN ANTİBAKTERİYEL VE ANTİFUNGAL AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

EKİN DEMİRAY

Adıyaman Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Yıl: 2013 Sayfa: 127 + x

Bu tezde yeni benzofuran, naftofuran veya siklobütan halkası içeren keton ve ketoksim türevi bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri Gram (+) ve Gram (-) bakteriler ve 4 *Candida* türü üzerinde araştırılmıştır. Çalışmada bileşiklerin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyonları (MBC) belirlenmiş ve etkili bulunan bileşiklerin zamana bağlı öldürme eğrileri çiktirılmıştır.

Bileşiklerden 4, 21, 41 ve 45 bazı bakteriler üzerinde, 18 ise hem Gram (+) bakteriler hem de *Candida* türleri üzerinde aktivite göstermiştir. MBC ve öldürme eğrileri 18 ve 21 nolu bileşiklerin bakteriyosidal olduklarını göstermiştir. *Candida* türleri üzerindeki MBC ve MİK değerleri 18 nolu bileşik için aynıdır. 18 numaralı bileşiğin bakteriler için MİK değerleri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213'te 32-64 µg/mL, Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)'da 16-32 µg/mL, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212'de 32-64 µg/mL, Vankomisine dirençli *Enterococcus faecalis* (VRE)'de 16-32 µg/mL olarak bulunmuştur. Mayalarda ise *Candida krusei* ATCC 6258'de 32 µg/mL, *Candida albicans* ATCC 10231'de 64 µg/mL, *Candida glabrata* ATCC 90030'da 128 µg/mL, *Candida parapsilosis* ATCC 22019'de 128 µg/mL olarak saptanmıştır. 21 numaralı bileşiğin *Enterococcus faecalis* ATCC 29212'de MİK değeri 32-64 µg/mL, VRE'ye karşı ise 32-64 µg/mL olarak tesbit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel, antifungal, keton, ketoksim, oksim

ABSTRACT

Master of Science Thesis

INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF NEW KETON AND KETOXIME DERIVATIVES THAT CONTAINING BENZOFURAN, NAPHTHOFURAN OR CYCLOBUTANE RING

Ekin Demiray

Adiyaman University

Institute of Science

Department of Biology

Year: 2013 Pages: 127 + x

In this thesis new keton and benzofuran, naphthofuran or cyclobutane ring containing ketoxime derivatives were investigated for Gram (+) and Gram (-) antibacterial and antifungal activities for 4 *Candida* specieses. Minimum İnhibition Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the compounds were determined and time kill studies were carried out for the active compounds.

Compounds 4,, 21, 41 and 45 were active against some of the bacteria while compound 18 was active on some of the bacteria as well as the yeasts tested. The results from the MBC and time kill studies suggested that compounds number 18 and 21 are bacteriocidal. MIC and MBC results for the *Candida* specieses were the same indicating sidal activity. MIC values of compound 18 were as follow: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 32-64 µg/mL, Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 16-32 µg/mL, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 32-64 µg/mL, Vancomycin Resistant *Enterococcus faecalis* (VRE) 16-32 µg/mL. Teh MIC values of compound 18 for yeasts were: *Candida krusei* ATCC 6258 32 µg/mL, *Candida albicans* ATCC 10231 64 µg/mL, *Candida glabrata* ATCC 90030 128 µg/mL and *Candida parapsilosis* ATCC 22019 128 µg/mL. MIC values for compound 21 were: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 32-64 µg/mL and VRE 32-64 µg/mL.

Key Words: Antibacterial, Antifungal, ketone, ketoxim, oxim

TEŞEKKÜR

Bu çalıőmanın yűrűtűlmesinde baőından sonuna dek her adımda maddi ve manevi yardım ve katkılarını esirgemeyen tez danıőmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Hesna YiĐit'e sonsuz saygı ve teőekkűrlerimi sunarım.

Tez çalıőmalarım sırasında gerekli imkânı ve kolaylıkları saĐlayan Adıyaman Ŭniversitesi Fen Edebiyat Fakűltesi Biyoloji Bűlűmű Baőkanı Sayın Doç. Dr. E.Rıdvan SIVACI' ya ve Kimya Bűlűm Baőkanı Murat KOCA' ya ve Adıyaman Ŭniversitesi Merkez Laboratuvarı Műdűrű Doç. Dr. Cumhuri KIRILMIŐ' a, Uzm. Fatih AYMELEK' e ve Merkez Laboratuvar personeline teőekkűrlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalıőma sűresince benden yardımlarını esirgemeyen sevgili dostlarım Sevran EROĐLU, Arő Gör. A. Osman AYAŐ, Arő. Gör. Őzge ERKEN, Mustafa YARDIMCI, Rűveyda ALTAŐ ve bu çalıőma boyunca bana yardımcı olan tűm hocalarım ve arkadaşlarıma teőekkűrlerimi sunarım.

Son olarak yaőamım boyunca daima benimle birlikte olan ailemin tűm fertlerine, maddi manevi desteklerinden ve anlayıőlarından űtűrű teőekkűrű bir borç bilirim.

SİMGELER DİZİNİ

µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
AAC	Asetil transferaz
AB-MDR	Çoklu ilaç direnci bulunan <i>Acinetobacter baumannii</i>
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ANT	Nükleotidil transferaz
APH	Fosforil transferaz
ATCC	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
BSI	Kan Dolaşımı Enfeksiyonları
CA-MRSA	Toplumla ilişkili MRSA
CLSI	CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute
DHFR	Dihidrofolat redüktaz
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
Eap	Ekstraselüler aderens protein
Fnbp	Fibronektin bağlanma proteini
GlcNAc	N-asetilglukozamin
GSBL (ESBL)	Genişlemiş-spektrumlu beta-laktamaz (Extended-Spectrum Beta-Bactamase)
GSBL-EC	Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz üreten <i>Escherichia coli</i>
GSBL-KP	Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz üreten <i>Klebsiella pneumoniae</i>
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IS	İnsersiyon Sekansı
LPS	Lipopolisakkarit
MBC	Minimum Bakteriosidal Concentration
MBL	Metallo beta laktamaz
MDR	Çok ilaca dirençli (multi drug resistant)

MİK	Minimum Inhibitory Konsantrasyon
mm	Milimetre
mM	Milimolar
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
MRSA	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MurNAc	N-asetilmuramik asit
NDM	New-Delhi Metallo beta laktamaz
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
NMT	N-Miristoil-Transferaz Enzimi
O.D	Optik Dansite
OMP	Outer Membran Protein
PABA	Para-aminobenzoik asit
PA-MDR	Çoklu ilaç direnci bulunan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PBP	Penisilin Bağlayan Protein
PTC	Peptidil Transferaz Center
PVL	Panton– Valentine lökositinler
QRDR	Quinolone Resistance Determining Region
RNA	Ribonükleik asit
rRNA	Ribozomal RNA
SAR	Yapı-Aktivite ilişkisi
SCC	<i>Staphylococcal</i> Cassette Chromosome
TI	Terapötik İndeks
<i>Tn</i>	Transpozon
VRE	Vancomycin-resistant <i>Enterococcus</i>
VRSA	Vancomycin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
WTA	Wall teikoik asit
MFP	Membran Füzyon Proteini

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Antibiyotiklerin tarihçesi ve antibiyotiklere karşı gelişen direncin ilk rapor edildiği tarihi	3
Şekil 1.2 Antibiyotikler bakterilerin büyüme ve çoğalmalarına yaptıkları etkiye göre sınıflandırılabilirler	3
Şekil 1.3 Kinolonların yapısı	5
Şekil 1.4 A. DNA Topoizomerazlar	5
Şekil 1.5 Metronidazolün ve nitrofurazonun yapısı	7
Şekil 1.6 Rifampisin yapısı	8
Şekil 1.7 Rifampisinler RNA Polimeraz enziminine bağlanarak transkripsiyonu engellerler	9
Şekil 1.8 A: Gram (-) bakterilerden <i>E. coli</i> 'deki peptidoglikanın yapısı. Transgligozilaz enzimi iki şeker arasındaki beta 1-4 glikozit bağımlı katalizlerken transpeptidaz (PBP) enzimleri çapraz bağları oluştururlar. B: Gram (+) bakterilerden <i>S. aureus</i> 'ta peptidoglikanın yapısı	10
Şekil 1.9 A: Metisiline dirençli <i>S. aureus</i> R27'nin penisilin bağlanma proteini 2a (PBP2a)'yı gösteren Şekil B: <i>Mycobacterium tuberculosis</i> 'te penisilin PBP'ye bağlanışını gösteren resim	11
Şekil 1.10 Beta-laktam cinsi antibiyotiklerin genel yapısı	11
Şekil 1.11 A: penisilin bağlanma proteinleri (PBP) peptidoglikan sentezi sırasında pentapeptidler arasındaki çapraz bağların oluşumunu katalizlemektedirler. Bu aşama peptidoglikan tabakanın bütünlüğünün sağlanması açısından hayati öneme sahiptir. B: Beta laktam antibiyotikleri PBP proteinlerine bağlanarak iş yapmalarını engellerler	12
Şekil 1.12 Vankomisin yapısı	14
Şekil 1.13 Vankomisin gibi glikopeptid türevleri peptidoglikan öncüsü moleküllerin sonundaki D-Ala-D-Ala rezidülerine yüksek ilgiyle bağlanır. Böylece hücre duvarı sentezi durur ve bakteri ölür	15
Şekil 1.14 MprF gibi hücre zarının sentezinde rol oynayan proteinlerde meydana gelen mutasyonlar fosfatidilgliserol moleküllerinin lizin ile yüklenmesine neden olur	16
Şekil 1.15 Polimiksin ve daptomisin kimyasal yapısı	17
Şekil 1.16 A: Aminoglikozitler	18
Şekil 1.17 Trimetoprim ve sülfonamidler	20
Şekil 1.18 Kazanılmış direnci sağlayan mekanizmalara örnekler	22
Şekil 1.19 Klinik <i>S. pneumoniae</i> suşlarındaki gyrA ve parC mutasyonları	23
Şekil 1.20 pMG252 plazmitinde kinolon direncini kodlayan bölge	24

Şekil 1.21	<i>E. coli</i> RNA Polimeraz enzimi beta alt ünitesinde rifampisin direncine neden olan mutasyonlar	25
Şekil 1.22	Rifampisin'e karşı gelişen direnç mekanizmaları ve direnç geliştiren mikroorganizmalar, rifampisinin modifikasyonu	26
Şekil 1.23	Beta-laktamaz enzimleri A) Gram (+) bakterilerde hücre dışına salgılanır. B) Gram (-) bakterilerde ise periplazmik boşluğa salınırlar	28
Şekil 1.24	Beta-laktamazlar laktam halkasını hidroliz ederler böylece beta laktamlar işlevlerini kaybederler	30
Şekil 1.25	<i>Enterococcus</i> 'ta van operonunun düzenlenişi ve vankomisin direncinin ortaya çıkışı	35
Şekil 1.26	Bakterilerdeki antibiyotik direnç mekanizmalarının genel şekli	40
Şekil 1.27	A: Dış zarda bulunan porlardan bazı besin maddelerinin yanı sıra karbapenem gibi antibiyotiklerde girebilir. Efluks pompaları da içeri giren antibiyotikleri pompalamada yetersiz kalabilir. B: Porları kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonlar ya da por geninin promotor bölgesinin hareketli genetik elemanlarıyla bozulması sonucu por ifadesi azalabilir	42
Şekil 1.28	Enfektif hastalıkların dünyada neden oldukları yıllık ölüm oranları	43
Şekil 1.29	Dünya anti-enfektif ilaç pazarı ve ilaçların yıllık pazar oranları	43
Şekil 1.30	Bakteriler üzerinde seçici baskı oluşumunu özetleyen şekil	45
Şekil 1.31	Kullanıma giren yeni antibiyotik sayısındaki azalma	45
Şekil 1.32	Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre toplumu ilgilendiren önemli hastalıklar	46
Şekil 1.33	<i>S. aureus</i> 'un kolonizasyonu, konak hücre, konak hücrenin bağışıklık faktörleri ve diğer mikroorganizmalarla etkileşimleri içeren çok etkenli bir süreçtir	48
Şekil 1.34	Japonya-Fukuoka'da Hara-Sanshin Hastanesinde GSBL üreten <i>K. pneumoniae</i> suşlarının yüzdesinin yıllar içindeki artışı	53
Şekil 1.35	Türkiye'de 2000-2003 arasında GSBL üreten <i>E.coli</i> ve <i>K. pneumoniae</i> sıklığı	55
Şekil 1.36	Hitit çalışması kapsamında 2004-2005 yılları arasında ülkemizdeki altı merkezdeki <i>E. coli</i> ve <i>K. pneumoniae</i> suşlarındaki GSBL Sıklığını Gösteren grafik	55
Şekil 1.37	1993-2002 yılları arasında ABD'den toplanan <i>P. aeruginosa</i> izolatlarının çoklu ilaç direnç sıklığı	59
Şekil 1.38	Compact çalışmasında 2008 yılında ülkemizde on merkezden toplanan Gram (-) dağılımı ve karbapenemlere direnç durumu	60
Şekil 1.39	Artemis disc sürveyans programı kapsamında 1997-2003 arasındaki invazif candidemi vakalarındaki <i>C. albicans</i> sıklığı	62

Şekil 1.40 Ülkemizde çeşitli merkezlerdeki fungal enfeksiyonlardaki <i>C. albicans</i> izolasyon sıklığını gösteren grafik	63
Şekil 1.41 Keton içeren bazı önemli bileşikler ve ketonların genel yapısı	64
Şekil 1.42 Ketoksimlerin genel yapısı ve biyolojik etkinliği bulunan ketoksimler	64
Şekil 1.43 Benzofuranların genel yapısı	65
Şekil 1.44 Siklobütanların Genel yapısı	66
Şekil 1.45 Naftofuranların Genel yapısı	67
Şekil 3.1. Zamana bağlı öldürme grafiği: <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	106
Şekil 3.2. Zamana bağlı öldürme grafiği: <i>E. faecalis</i> VRE	107
Şekil 3.3. Zamana bağlı öldürme grafiği: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 (107
Şekil 3.4 <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA'nın zamana bağlı öldürme eğrileri	108

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Ülkemizde bazı merkezlerdeki kinolonlara dirençlilik durumu	6
Çizelge 1.2 Nitrofurazonlar için bazı bilgiler ve Türkiye’den çalışmalar	7
Çizelge 1.3 Metronidazoller ve Türkiye’den bazı çalışmalar	7
Çizelge 1.4 Rifampisin için özetler ve ülkemizdeki rifampisin dirençliliği	9
Çizelge 1.5 β -laktamlar ve ülkemizde β -laktam dirençlilik durumları	13
Çizelge 1.6 Glikopeptidler ve ülkemizdeki vankomisin dirençliliği	14
Çizelge 1.7 Fosfomisinlerle ilgili bazı bilgiler	15
Çizelge 1.8 Daptomisinler ve polimiksinler ülkemizdeki dirençlilik	16
Çizelge 1.9 Protein sentezini engelleyen bazı antibiyotikler ve özellikleri	19
Çizelge 1.10 Biyokimyasal yolakları inhibe eden ilaçlar ve ülkemizdeki bazı merkezlerde görülen dirençlilik oranları	21
Çizelge 1.11 Mikroorganizmaların bazı antibiyotiklere karşı sahip oldukları doğal direnç mekanizmaları	22
Çizelge 1.12 Rifampisin’e karşı gelişen direnç mekanizmaları ve direnç geliştiren mikroorganizmalar, rifampisinin modifikasyonu	26
Çizelge 1.13 Beta-laktamazların sınıflandırılmasını gösteren örnek tablo	30
Çizelge 1.14 Dünyada yaygın olan bazı GSBL enzimleri	33
Çizelge 1.15 Çalışmada kullanılan mikroorganizmaları özetleyen tablo	47
Çizelge 1.16 Ülkemizde <i>Staphylococcus aureus</i> ’un neden olduğu enfeksiyonlar ve <i>S. aureus</i> sıklığı ile ilgili bazı bilgiler	50
Çizelge 1.17 Ülkemizdeki VRE’ler ile ilgili bazı verileri özetleyen tablo	51
Çizelge 1.18 Türkiye’den bazı merkezlerdeki <i>K. pneumoniae</i> suşlarının antibiyotik direnç durumlarını gösteren tablo	53
Çizelge 1.19 Ülkemizdeki <i>E.coli</i> sıklığı ve antibiyotik dirençlilik oranları hakkındaki bazı çalışmalar ile ilgili bilgiler	54
Çizelge 1.20 <i>Enterobacter aerogenes</i> için Türkiye’de yapılan çalışmalar	56
Çizelge 1.21 Ülkemizdeki <i>A. baumannii</i> sıklığı ve dirençlilik oranları	57
Çizelge 1.22 Türkiye’deki <i>P. aeruginosa</i> sıklığı ve dirençlilik oranları	58
Çizelge 1.23 <i>A. baumannii</i> ve <i>P. aeruginosa</i> ’da direnç	60
Çizelge 1.24 <i>C.albicans</i> ’ın ülkemizdeki sıklığını ve direnç	62
Çizelge 1.25 Biyolojik açıdan önemli benzofuran halkalı bazı bileşikler	65
Çizelge 1.26 Biyolojik açıdan önemli bazı siklobütan türevleri	66

Çizelge 1.27 Biyolojik açıdan aktif bazı naftofuran örnekleri	67
Çizelge 1.28 Biyolojik etkinliği gösterilmiş olan bazı benzofuran türevleri	72
Çizelge 1.29 Bazı naftofuran türevleri ve biyolojik etkinliklerini özetleri	75
Çizelge 1.30 Bazı siklobütan türevleri ve biyolojik aktivitelerinin özeti	77
Çizelge 2.1 Tezde kullanılan kimyasal madde ve hazır besiyerleri	78
Çizelge 2.2 Tez çalışmasında kullanılan bileşikler	79
Çizelge 2.3 Tez çalışmasında kullanılan cihazlar	89
Çizelge 2.4 Tez çalışmasında kullanılan gereçler	89
Çizelge 2.5 Tez çalışmasında kullanılan mikroroganizmalar	90
Çizelge 3.1 DMSO içerisinde (12,8 mg/mL) çözünen bileşikler	94
Çizelge 3.2 DMSO içerisinde çözünmeyen bileşikler	97
Çizelge 3.3 DMSO da çözünmeyip kloroformda çözünen bileşikler	100
Çizelge 3.4 DMSO da çözünen bileşiklerin üzerinde denendiği Gram (-) Bakteriler	101
Çizelge 3.5 DMSO da çözünen bileşiklerin üzerinde denendiği Gram (+) Bakteriler	103
Çizelge 3.6 Gram (+) bakteriler için MİK deneylerinin sonuçları	103
Çizelge 3.7 Antifungal aktivite: 18 nolu bileşik ve Amfoterasin B için MİK ($\mu\text{g/mL}$) değerleri	104

1. GİRİŞ

1.1. Tezin Amacı ve Kapsamı

Bu tezin temel amacı dünya çapında sorun yaratan dirençli mikroorganizmalara karşı yeni benzofuran, naftofuran ve siklobütan halkalı keton ve ketoksim türevlerinin biyolojik aktivitelerinin incelenmesidir. Bu tez kapsamında kullanılacak olan dirençli mikroorganizmalar arasında Gram (+) bakterilerden MRSA (Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*), VRE (vankomisine dirençli *Enterococcus faecalis*), Gram (-) bakterilerden MDR-PA (çoklu ilaç direnci bulunan *Pseudomonas aeruginosa*), MDR-AB (çoklu ilaç direnci bulunan *Acinetobacter baumannii*), GSBL-EC (Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz içeren *Escherichia coli*) ve GSBL-KP (Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz içeren *Klebsiella pneumoniae*) bulunmaktadır. Aynı zamanda bu bileşiklerin antifungal aktiviteleri mayalardan *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* 90030, *Candida parapsilosis* 22019 üzerinde incelenecektir. Adıyaman Üniversitesi Kimya Bölümünde sentezlenerek kimyasal analizleri tamamlanmış olan bu yeni keton ve ketoksim türevlerinin biyolojik aktivitelerinin yukarıda bahsedilen mikroorganizmalar üzerinde test edilmesi planlanmıştır. Literatürde bu tip bileşiklerin bazılarının antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir.

1.2. Antibiyotik Nedir?

Mikroorganizmaların meydana getirdikleri enfeksiyonların kontrolü için dahili olarak kullanılacak kimyasal maddelere gereksinim duyulmaktadır. Kemoterapötik madde olarak adlandırılan bu moleküller klinik, veterinerlik ve tarım gibi alanlarda öneme sahiptirler. Kemoterapötik maddeler antimikrobiyal maddeler ve antibiyotikler olmak üzere ikiye ayrılabilir. Antimikrobiyal maddeler sentetik olarak üretilirken, antibiyotikler doğada hali hazırda bulunmaktadır (Madigan ve Martinko 2010).

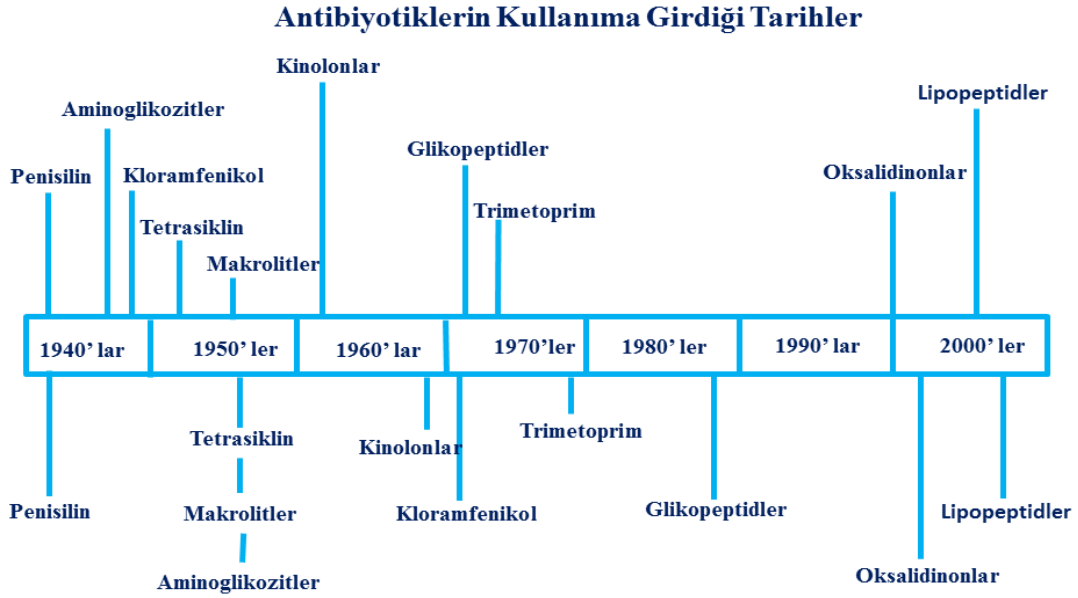
Antibiyotikler mikroorganizmalar tarafından diğer mikroorganizmaları öldürmek veya üremelerini engellemek amacıyla üretilen kimyasal maddelerdir (Sipahi 2008, Madigan

ve Martinko 2010). Antimikrobiyal tedavi insanlar ile mikroorganizmalar arasındaki biyokimyasal farklılıkların avantajlarını kullanmaktadır. Tedavide kullanılan antibiyotikler ökaryotik eşdeğerlerinden farklı olan prokaryotik mekanizmaları hedeflediğinden insanlara zarar vermemektedirler ve bu olay seçici toksisite olarak adlandırılmaktadır (Alberts vd. 2008). Antibiyotikler sentetik antimikrobiyal maddelerin tersine doğal bileşiklerdir ve mantarlar ile bakteriler tarafından üretilip diğer mikroorganizmaları öldürür veya gelişimlerini engellerler. Antibiyotik terimi sıklıkla antibakteriyel ile eş anlamlı olarak kullanılsa da antibiyotik kelimesinin anlamı antifungal vb. bileşikleri de içerdiği için daha geniş bir alanı kapsamaktadır (Madigan ve Martinko 2010). Mikroorganizmaların antibiyotiklere ve diğer kemoterapötik maddelere duyarlılıkları değişiklik gösterir. Bir antibiyotik hem Gram (-) hem de Gram (+) bakteriler üzerinde etkinlik gösterebiliyorsa geniş spektrumlu; Gram (+) ve (-) gibi sadece belli bir gruptaki bakteriye etki ediyor ise dar spektrumlu olarak adlandırılır. Geniş spektrumlu antibiyotikler tıpta geniş çaplı enfeksiyonların tedavisinde tercih edilmektedirler fakat geniş spektrumlu antibiyotiklere duyarlı olmayan bakterilerin neden oldukları enfeksiyonların tedavisinde de dar spektrumlu antibiyotikler oldukça etkili olmaktadır. Geniş spektrumlu antibiyotiklere tetrasiklin örnek teşkil ederken dar spektrumlulara örnek olarak ise vankomisin verilebilir. (Madigan ve Martinko 2010).

1930 ve 40'lı yıllarda Sülfamiazol ilaçlar ve penisilinler gibi antibiyotiklerin kullanıma girmesinden sonra insan ölümleri belirgin bir şekilde azalmıştır (Yoneyama ve Katsumata 2006). Penisilin'in 1929 yılında Alexander Fleming tarafından keşfedilmesiyle başlayan bu süreçte ölümcül hastalıklar tedavi edilebilmiş, ortalama insan ömrü uzamıştır (Bush 2004). Şekil 1.1 antibiyotiklerin kullanıma girdiği tarihleri ve bu antibiyotiklere karşı direnç gelişimini özetlemektedir (Högdberd vd. 2010).

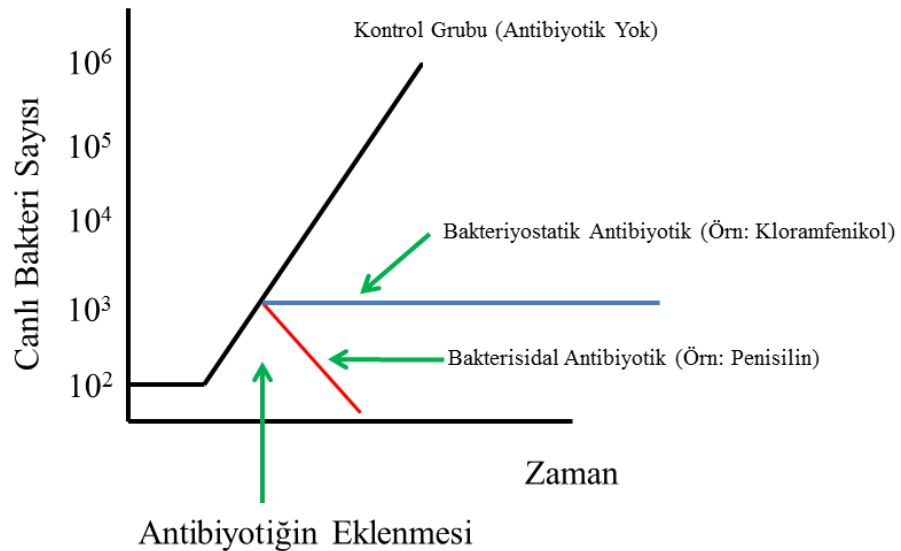
Antibiyotikler, kimyasal yapılarına göre, hücrede etki ettikleri mekanizmalara göre veya hücreye etkilerine göre sınıflandırılabilirler (Harvey vd. 2009). Antibiyotiklerin bakterileri öldürüp öldürmemelerine göre sınıflandırılmasında, eğer bir antibiyotik bakterinin büyümesini veya çoğalmasını engelliyor fakat öldürmüyorsa bakteriyostatik olarak sınıflandırılırlar. Bakteriyostatik antibiyotikler bakterilerin büyümesini durdururlar ve bu sırada konağın bağışıklık sistemi de bakterileri yok eder. Bakterisidal

ilaçlar ise bakterileri doğrudan öldürmektedirler. Ciddi enfeksiyonlarda bakterisidal antibiyotikler tercih edilmektedir (Harvey vd. 2009). Şekil 1.2 bakteriyostatik ve bakterisidal antibiyotiklerin etkisi gösterilmektedir.



Antibiyotiklere Karşı Direncin İlk Rapor Edilişi

Şekil 1.1 Antibiyotiklerin tarihçesi ve antibiyotiklere karşı gelişen direncin ilk rapor edildiği tarihi Högbreg vd. 2010'dan uyarlanmıştır)



Şekil 1.2 Antibiyotikler bakterilerin büyüme ve çoğalmalarına yaptıkları etkiye göre sınıflandırılabilirler. Bakterisidal ajanlar mikroorganizmayı öldürürken bakteriyostatik ajanlar hücrenin gelişimini durdurmaktadır (Harvey vd. 2009'dan uyarlanmıştır)

1.3. Antibiyotik Sınıfları

Antibiyotikler kimyasal yapılarına göre, hücreyi öldürüp öldürmemelerine veya hücrede etki ettikleri mekanizmalara göre sınıflandırılırlar (Kohanski vd. 2010). Bu tezin amacına uygun olan sınıflandırma şekli hücrede etkiledikleri mekanizmaya göre yapılan sınıflandırmadır (Savjani vd. 2009, Kohanski vd. 2010):

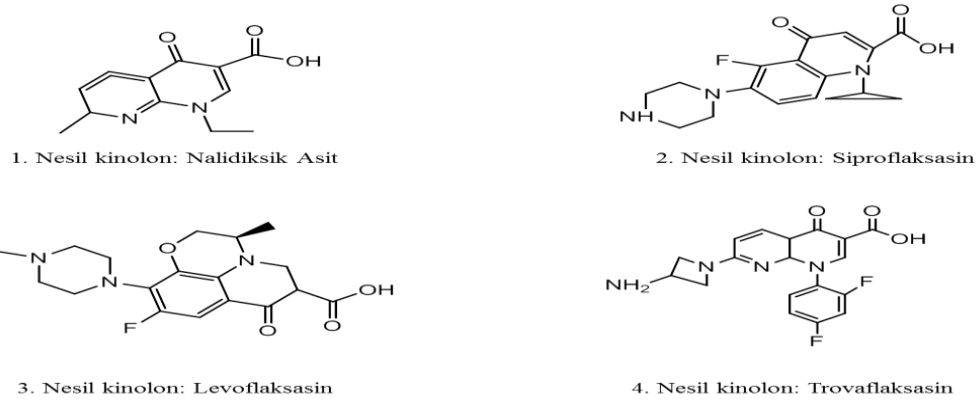
- a) DNA'ya veya Sentezine Etki Eden Antibiyotikler
- b) RNA Sentezine Etki Eden Antibiyotikler
- c) Hücre Duvarına Etki Eden Antibiyotikler
- d) Hücre Zarına Etki Eden Antibiyotikler
- e) Protein Sentezine Etki Eden Antibiyotikler
- f) Biyokimyasal Yolakları İnhibe Eden Antibiyotikler.

1.3.1. DNA'ya veya Sentezine Etki Eden Antibiyotikler: Kinolonlar

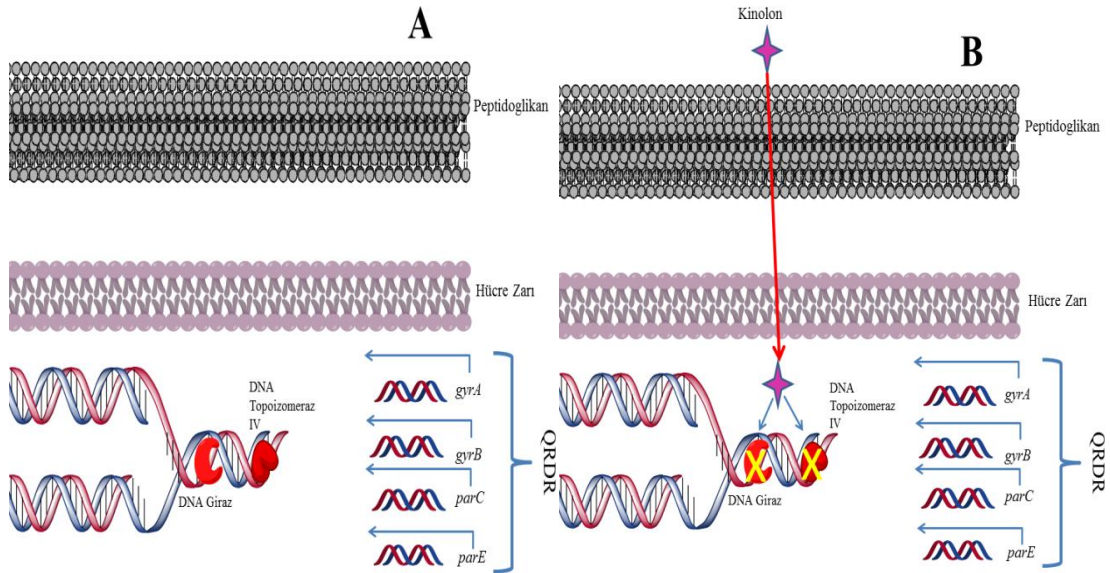
DNA topoizomerazlar DNA'nın topolojisinde değişiklikler yapan enzimlerdir. DNA topoizomeraz II (DNA Giraz) ve topoizomeraz IV gibi enzimler DNA'ya negatif süpersarmalleri eklerler ve replikasyon sırasında DNA'da çift zincir kırıklarını oluşturup bu kırıkları tekrar bağlarlar, replikasyondan sonra kardeş zincirlerin birbirlerinden ayrılmasını sağlarlar. Bu olaylar bakterilerin DNA'larının hücrede paketlenmesi, replikasyon sırasında DNA'daki gerilimin azaltılması ve bakterilerin yaşamlarını devam ettirebilmeleri için temel işlemlerden biridir. Kinolon cinsi antibiyotikler ise bu enzimleri hedef alarak hücre ölümüne neden olmaktadır (Madigan ve Martinko 2010, Collin vd. 2011). Kinolonlar çift zincir kırılımı esnasında DNA Giraz ile kinolon-DNA Giraz-DNA karmaşımı oluştururlar ve dolayısıyla DNA girazın işlevini bozarlar. Sonuç olarak DNA girazın durması replikasyonun durmasına ve hücrenin ölümüne neden olur (Savjani vd. 2009, Kohanski vd. 2010). Kinolonların diğer bir bakteriyel topoizomeraz olan Topoizomeraz IV'ün aktivitesini de engelledikleri görülmüştür (Savjani vd. 2009).

İlk kinolon 1962'de Leshner ve çalışma arkadaşları tarafından tesadüfen bulunmuştur ve o günden bu yana kinolonlar klinikte başarıyla kullanılmaktadırlar (Ahmed ve

Daneshtalab 2012). Kinolonların dört jenerasyonu bulunmaktadır. Birinci jenerasyonda nalidiksik asit, ikinci jenerasyonda siproflaksasin ve ofloksasin örnek olarak sayılabilir. Üçüncü jenerasyon kinolonlar siproflaksasine kıyasla daha fazla Gram pozitif aktivite gösterirler. Bununla birlikte Gram negatif aktiviteleri de oldukça iyidir. Bunlara örnek olarak gatifloksasin levofloksasin ve moksifloksasin sayılabilir. Dördüncü jenerasyon kinolonlar daha geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Bunlara örnek olarak trovafloksasin verilebilir (Harvey vd. 2009).



Şekil 1.3 Kinolonların yapısı (<http://www.sigmaaldrich.com> dan uyarlanarak çizilmiştir)



Şekil 1.4 A. DNA Topoizomerazlar replikasyon ve transkripsiyon gibi olaylarda DNA'da meydana gelen gerilim kuvvetini azaltırlar, DNA'ya negatif süpersarmalleri eklerler ya da replikasyon sırasında kardeş zincirlerin birbirlerinden ayrılmalarını sağlarlar B. Kinolonlar DNA Topoizomerazlara bağlanarak DNA-DNA Topoizomeraz-Kinolon kompleksi oluşturarak hücre ölümüne neden olurlar (Lister vd. 2009'dan uyarlanmıştır)

Çizelge 1.1 Ülkemizde bazı merkezlerdeki kinolonlara dirençlilik durumu

Antibiyotik *	Direnç Mekanizması*	Türkiye’de Kinolon Direncini İnceleyen Bazı Çalışmalar
1.Nesil Kinolonlar (Nalidiksik Asit)	i. QRDR Mutasyonları ii. Porların Azalması iii. Efluks Pompaları iv. Plazmid kökenli <i>qnrA</i>	a) İstanbul’da yapılan bir çalışmada GSBL üreten suşlar içerisinde %4’ünün <i>qnr</i> pozitif olduğu bildirilmiştir (Naziç vd. 2005). b) İzmir ve Ankara’da nalidiksik asit direnci sıklığı GSBL üreten kinolonlara dirençli suşlarda %47,4 olarak bulunmuştur (Öktem vd. 2008).
2. Nesil Kinolonlar (Siproflaksasin)	i. QRDR Mutasyonları ii. Porların Modifikasyonu iii. Efluks Pompaları	a) İstanbul Üniversitesi’nde GSBL <i>E.coli</i> ’lerin %59’u ve GSBL <i>K. pneumoniae</i> ’lerin %33’ünün siproflaksasinlere dirençli olduğu belirtilmiştir (Köksal vd. 2009). b) Nalidiksik asit direnci bulunan bakterilerin %78,6’sında siproflaksasin direncine rastlanılmıştır (Öktem vd. 2008).
3. Nesil Kinolonlar (Levoflaksasin)	i. QRDR Mutasyonları ii. Porların Modifikasyonu iii. Efluks Pompaları	a) İstanbul Üniversitesi’nde Gram (-)’lerde levoflaksasin direnci %23 olarak saptanmıştır (Kucukates 2005).
4. Nesil Kinolonlar (Trovaflaksasin)	i. QRDR Mutasyonları ii. Porların Modifikasyonu iii. Efluks Pompaları	a) Hacettepe Üniversitesi’nde 632 klinik Gram (+ ve -) suş üzerinde yapılan çalışmada trovaflaksasinin MİK değerleri 0,008 ile 16 µg/mL olarak bulunmuştur (Gür vd. 1998).

*Harvey vd. 2009

1.3.2. DNA’ya Etki Eden Antibiyotikler: Nitrofurazonlar ve Metronidazoller

Nitrofurazonlar (nitrofurantoin ya da furabid) nitroheterosiklik bileşikler sınıfına üye antibiyotiklerdir. *E. coli*’nin neden olduğu idrar yolları enfeksiyonlarında kullanılan nitrofurazonlar diğer Gram (-) bakteriler üzerinde fazla etkili değildir (Wagenlehner vd. 2011). *E. coli*’de bulunan oksijene duyarlı Tip I nitroredüktaz enzimi tarafından aktive edilen bu ilaçlar DNA ve protein sentezi gibi yaşamsal süreçlerin engellenmesine neden olurlar (Roldan vd. 2007).

Çizelge 1.2 Nitrofurazonlar hakkında bazı bilgiler ve Türkiye’den çalışmalar

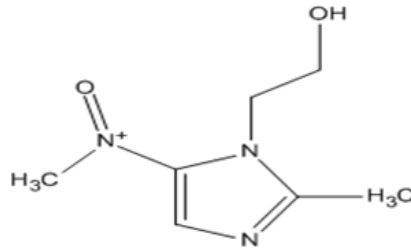
Direnç Mekanizması	Türkiye’den Bazı Çalışmalar
Oksijene duyarsız nitrodedüktaz enzimi mutasyonları (McCalla vd. 1978).	a) Ege Üniversitesi Bakteriyojoloji Laboratuvarında Ocak-Aralık 2006 döneminde idrardan izole edilen GSBL <i>E. coli</i> suşlarının nitrofurazon direnç oranları %11,8 olarak bulunmuştur (Pullukçu vd. 2007) b) Ay vd. <i>E. coli</i> ’de nitrofurantoin direnç oranını poliklinik hastalarında %13 servisteki hastalarda ise %22 olarak belirlemiştir (Ay vd. 2003).

Metronidazol *Helicobacter pylori* enfeksiyonlarında, protozoal, anaerobik enfeksiyonların tedavisinde 45 yıldan fazladır kullanılan bir antibiyotiktir. Etki mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olsa da metronidazol nitrofurazon gibi inaktif olarak difüzyonla sitoplazmaya girer. Sitoplazmada kısa ömürlü serbest nitröz radikale çevrilir. İlacın bu formunun oksidasyon yoluyla DNA sentezini engellediği ve DNA’da tek ve çift zincir kırıkları oluşturduğu düşünülmektedir (Löfmark vd. 2010).

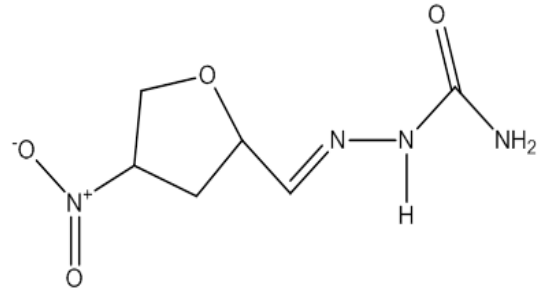
Çizelge 1.3 Metronidazoller ve Türkiye’den bazı çalışmalar

Etki Spektrumu	Direnç Mekanizması	Türkiye
<i>H. pylori</i> Anaerobikler Protozoalar	Por modifikasyonları Redüksiyon etkinliğinin değiştirilmesi	a) Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Polikliniğinde soyutlanan <i>H. pylori</i> suşlarında metronidazol direnci %45,5 olarak bulunmuştur (Çağdaş vd. 2012). b) Karaman’da yapılan bir çalışmada Gram (+) anaeroblarda metronidazol direnci %0, Gram (-) bakterilerde ise %8,3 olarak bulunmuştur (Doğan ve Baysal 2010).

Metronidazol



Nitrofurazon

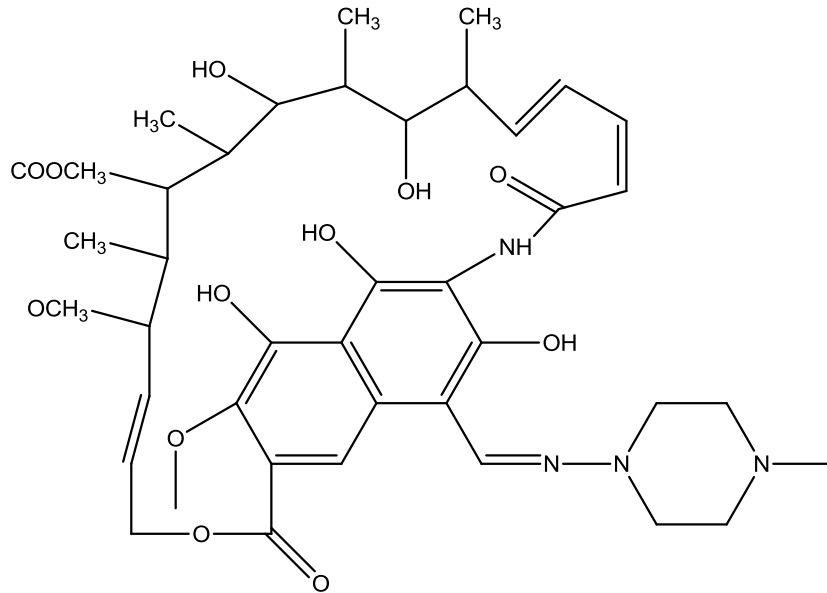


Şekil 1.5 Metronidazolün ve nitrofurazonun yapısı (Roldan vd. 2007’den uyarlanmıştır)

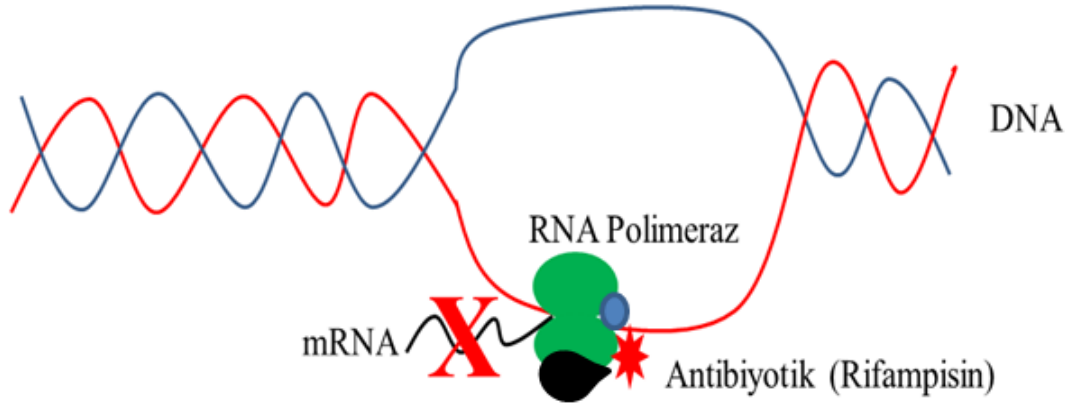
1.3.3. RNA Sentezine Etki Eden Antibiyotikler: Rifampisin

RNA'ların en önemli görevlerinden biri DNA'daki genetik kodun ribozomlarda proteine dönüşmesinde aracılık yapmaktır. RNA polimeraz II DNA'daki genetik kodun mRNA'ya yazılmasından (transkripsiyondan) sorumlu, *rpoB* geni tarafından kodlanan çok alt birimli bir enzimdir (Savjani vd. 2009). Ansamisin ailesine üye olan Rifampisin gibi antibiyotikler RNA Polimeraz enziminin aktif merkezindeki korunmuş aminoasitlere bağlanarak transkripsiyonun başlama aşamasını engeller ve böylelikle mRNA sentezini önledikleri bildirilmiştir (Tupin vd. 2010).

Rifampisinler ilk defa 1959' da Sensi ve arkadaşları tarafından *Amycolatopsis mediterranei* (*Streptomyces mediterranei*)'de keşfedildi (Tupin vd. 2010). Bu antibiyotikler bakteriler, kloroplastlar ve mitokondriler için spesifiktirler fakat insan DNA'ya bağımlı RNA Polimeraz enzimine bağlanamazlar (Savjani vd. 2009, Harvey vd. 2009, Madigan ve Martinko 2010). Rifampisinin günlük tavsiye edilen dozu (600 mg) genelde hastalarda iyi tolere edilir. Fakat bazı hastalarda yan etkiler gözlenebilmektedir. Yan etkilerin iki ana tipi vardır. Bunlar 1) Karaciğer Toksisitesi 2) Alerjik tepkimelerdir (Aristoff 2010).



Şekil 1.6 Rifampisinin yapısı (Tupin vd. 2010'dan uyarlanmıştır)



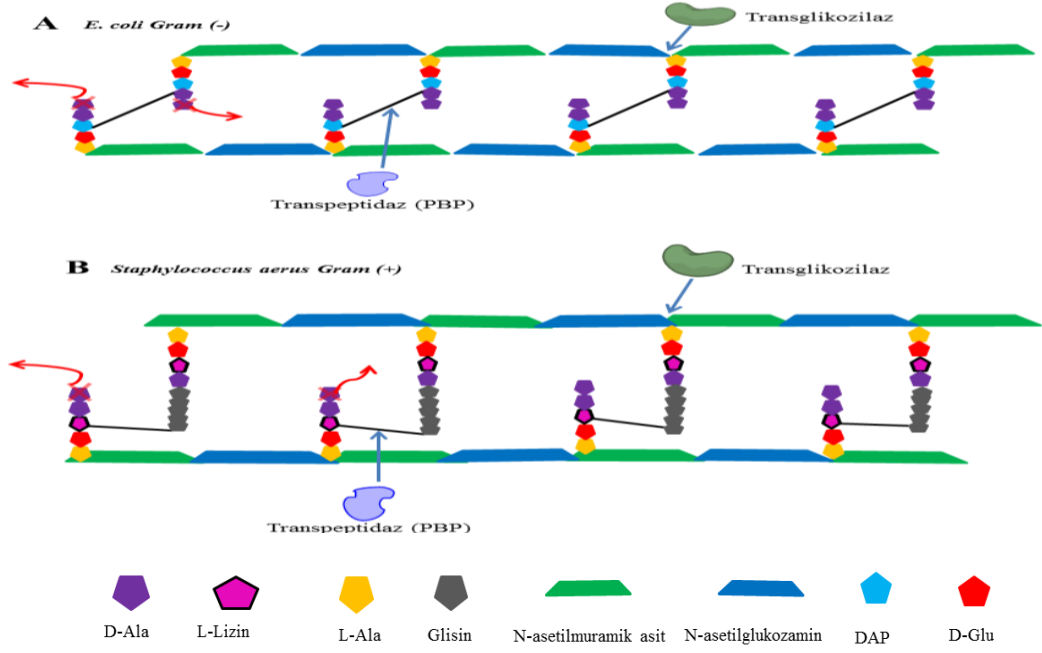
Şekil 1.7 Rifampisinler RNA polimeraz enziminine bağlanarak transkripsiyonu engellerler (Yoneyama ve Katsumata 2006'dan uyarlanmıştır)

Çizelge 1.4 Rifampisin hakkında özet bilgileri ve ülkemizdeki rifampisin dirençlilik durumu

Etki Spektrumu	Direnç Mekanizması (11-Tupin vd.2010)	Türkiye
Gram (- ve +), Antimikobakteriyel	I. <i>rpoB</i> mutasyonları II. Hedefte modifikasyon ve duplikasyon III. Porların azalması Efluks pompaları.	a) 2008'de ülkemiz genelinde pnömokoklarda %2 olarak saptanmıştır (Erdem 2008) b) Trabzon'da 2005-2010 arası <i>M. Tuberculosis</i> 'te %0.5 şeklinde bulunmuştur (Aydın vd. 2011) , c) Samsun'da <i>M. Tuberculosis</i> 'te 2004-2006 arası %2,9 (Bilgin vd. 2010) ,Sivas'ta 2004-2006 arası %4,4 (Gönlügür 2007). d) Ankara'da MDR <i>M. Tuberculosis</i> suşlarında %47,4, olarak bulunmuştur (Kisa vd. 2012).

1.3.4. Hücre Duvarına Etki Eden Antibiyotikler

Bakterilerin hücre zarlarının dışında peptidoglikan tabaka adı verilen bir hücre duvarı bulunmaktadır. Peptidoglikan tabaka bakterilerin hayatta kalabilmeleri için oldukça önemli bir yapıdır. (Kohanski vd. 2010). Peptidoglikan temel olarak üç ana kısımdan oluşur. Bunlar N-asetilmuramik asit (MurNAc) ve N-asetilglukozamin (GlcNAc) den oluşan polisakkarit yapı ve N-asetilmuramik asite kovalent olarak bağlı bulunan pentapeptid yapı ve pentapeptidler arasındaki çapraz bağlardır. Peptidoglikan tabakanın bileşenleri sitoplazmada sentezlenir ve daha sonra transglikozilasyon ve transpeptidasyon aşamaları için hücre dışına taşınırlar. Transpeptidasyon aşamasından sorumlu enzimlere Penisilin Bağlanma Proteinleri ya da transpeptidazlar (PBP) denilmektedir (Green 2002).

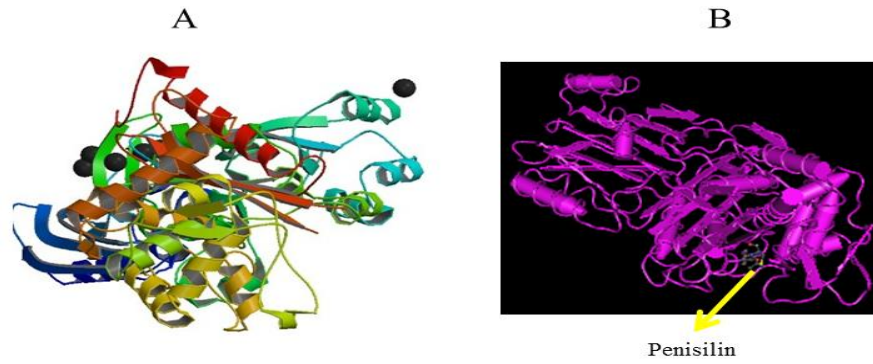


Şekil 1.8 A: Gram (-) bakterilerden *E. coli*'deki peptidoglikanın yapısı. Transglukozilaz enzimi iki şeker arasındaki beta 1-4 glikozit bağımlı katalizlerken transpeptidaz (PBP) enzimleri çapraz bağları oluşturur. **B:** Gram (+) bakterilerden *S. aureus*'ta peptidoglikanın yapısı (Lister vd. 2009, Madigan ve Martinko 2010'dan uyarlanmıştır)

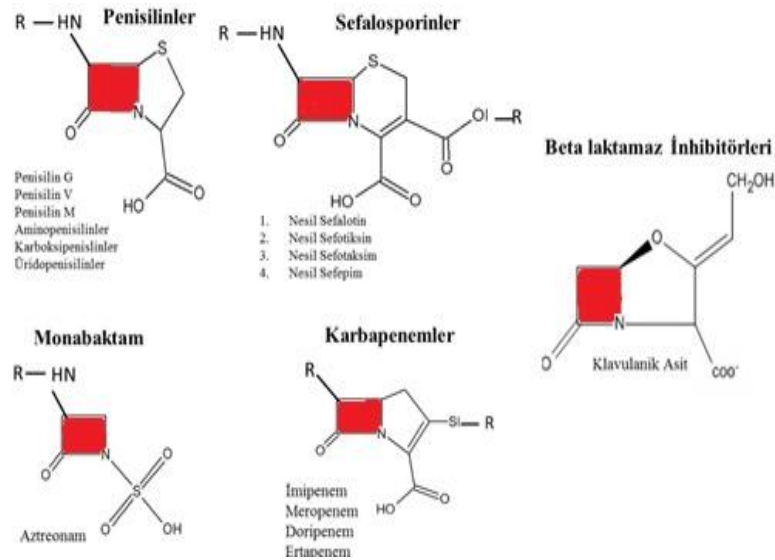
Beta-laktam cinsi antibiyotikler peptidoglikan sentezinin son aşaması olan peptid (transpeptid) bağı oluşumunu engellerler. Bu etkilerini de transpeptidazların (PBP) iş yapmalarını engelleyerek gösterirler. Beta-laktam cinsi antibiyotikler siklik amid halkası içerirler ve pentapeptidlerin sonundaki D-alanil-D-alanin moleküllerinin analogu olarak işlev yaparlar. PBP'ler bu antibiyotikleri çapraz bağ oluşumunun açılma aşaması sırasında sanki substratmış gibi kullanırlar. Beta-laktamlar çoğunlukla PBP'lerin aktif bölgelerindeki serin aminoasitlerine geri dönüşümsüz bir şekilde bağlanırlar (Nordmann vd. 2012). PBP'nin penisilasyonu proteinin aktif bölgesinin inhibe olmasına neden olur. Böylece enzim çalışamaz hale gelir. Bu antibiyotikler hem Gram (-) hem de Gram (+) bakterilere karşı kullanılabilirler (Shahid vd. 2009, Kohanski vd. 2010, Drawz ve Bonomo 2010).

Başlıca dört sınıf beta-laktam bulunmaktadır. Bunlar monobaktamlar, penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemlerdir. Bu bileşiklerin hepsi ortak olarak siklik amid halkası taşımaktadırlar (Nordmann vd. 2012). Monobaktamlar beta-laktam halkalarına bağlı başka bir yan grup içermezler. Monobaktamlara sentetik olarak üretilen aztreonam

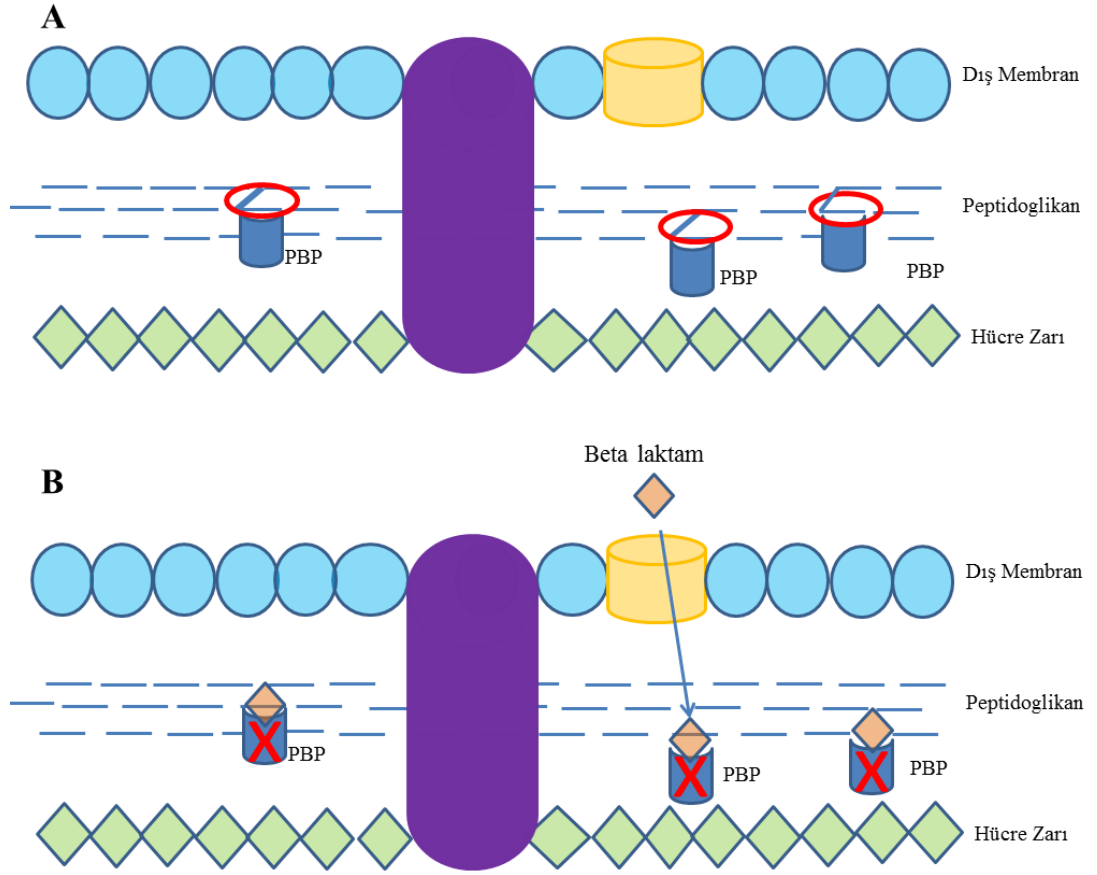
örnek verilebilir. Penisilinlerin temel yapısı bir tiazolidin halkası ve bir beta-laktam halkasından oluşmaktadır. Sefalosporinlerde beta-laktam halkası yanında penisilindeki 5 üyeli tiazolidin halkası yerine 6 üyeli bir dihidrotiazin halkası bulunmaktadır. Karbapenemler sefalosporinlerdeki 5 üyeli halka yapısında metilenin yerine bir sülfürün geçmesiyle diğer beta-laktam antibiyotiklerinden ayrılmaktadır. Karbapenemler *Streptomyces cattleya* tarafından üretilen bir bileşik olan tienamisinin türevleridir. Bu antibiyotikler beta-laktamların en geniş spektrumlu grubunu oluşturmaktadır (Demir 2006).



Şekil 1.9 A: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* R27'nin penisilin bağlama proteini 2a (PBP2a)'yı gösteren şekil (Lim ve Strynadka 2002). B: *Mycobacterium tuberculosis*'te penisilin PBP'ye bağlanması (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/structure?term=penicillin>)



Şekil 1.10 Beta-laktam cinsi antibiyotiklerin genel yapısı. Beta-laktam halkaları kırmızı renkle vurgulanmıştır (Nordmann ve Poirel 2012'den ve Helfand vd. 2003' den uyarlanmıştır)



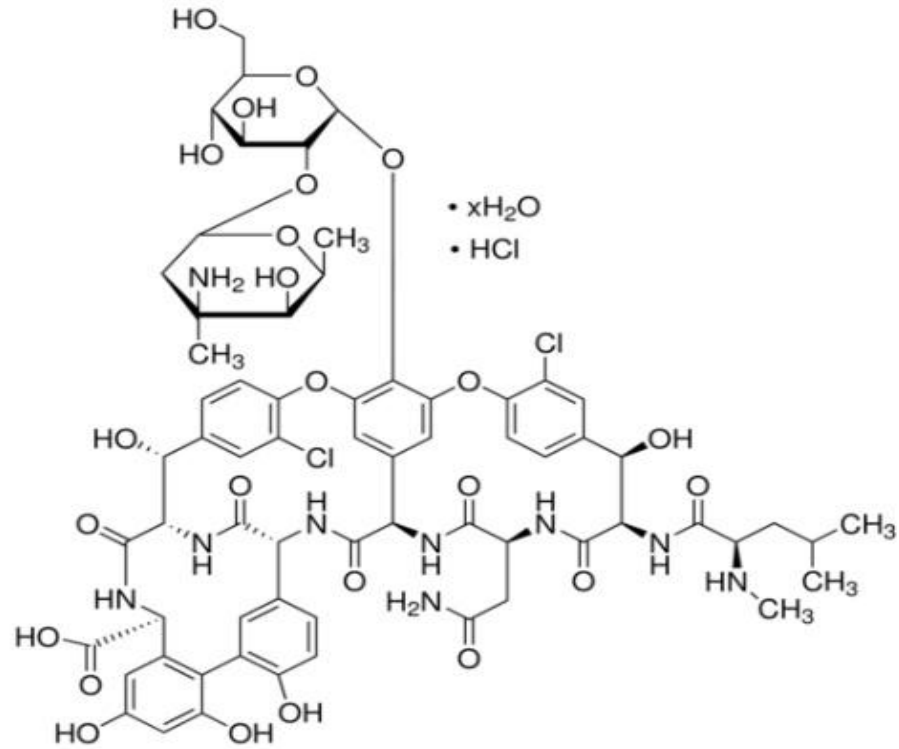
Şekil 1.11 A: Penisilin Bağlanma Proteinleri (PBP) peptidoglikan sentezi sırasında pentapeptidler arasındaki çapraz bağların oluşumunu katalizlemektedirler. **B:** Beta-laktam antibiyotikleri PBP proteinlerine bağlanarak iş yapmalarını engellerler (Lister vd. 2009'dan uyarlanmıştır)

Beta-laktam inhibitörleri beta-laktamazların etkilerini engellemek için beta-laktam antibiyotikleriyle kombine bir şekilde kullanılmaktadırlar (Llarena ve Bou 2009). Bu moleküllerin en sık kullanılanları klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktamdır (Bush ve Macielag 2010; Drawz ve Bonomo 2010). Klavulanik asit 1970 yılında *Streptomyces clavuligerus*'tan izole edilerek klinikte kullanılan ilk beta-laktamaz inhibitörüdür. Bu molekülün tek başına antibakteriyel etkisi düşüktür fakat amoksisilin ile kombine edildiğinde *Staphylococcus aureus*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis* ve *E. coli* gibi patojenlerde amoksisilinin minimum inhibe edici konsantrasyonunun (MİK) belirgin bir şekilde düştüğü gözlenmiştir. Amoksisilin-klavulanat, Tikarsilin-klavulanat, Piperasilin-tazobaktam, Amfisilin-sulbaktam sık kullanılan beta-laktam-beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonlarıdır (Drawz ve Bonomo 2010).

Çizelge 1.5 Beta- laktamlar ve ülkemizde çeşitli merkezlerdeki beta-laktam dirençlilik durumları

Antibiyotik	Direnç Mekanizması	Türkiye’den Bazı Çalışmalar
Penisilin	I. β -laktamaz II. Mutant PBP III. Porin modifikasyonu IV. Efluks (Savjani vd. 2009, Bush 2010).	a) Ülkemiz genelinde <i>S.aureus</i> ’ta 2004 yılında metisilin direncinin %41 (Altunsoy vd. 2011), b) Ankara’da 2000-2006 arası yeni doğan yoğun bakım birimlerinde Gr (-) bakterilerde amfisilin direncinin ise %100 olduğu belirtilmiştir (Baş vd. 2010), c) Ankara’da 2005-2006 arası hastane kökenli <i>S. pneumoniae</i> izolatlarında penisilin direnci %49,4 olarak bildirilmiştir (Uncu vd. 2007).
Sefalosporin	I. Sefalosporinaz II. GSBL III. Mutant PBP IV. Porin modifikasyon V. Efluks (Strateva ve Yordanov 2009, Savjani vd. 2009).	a) Ülkemizde 2004 yılında <i>E.coli</i> ’nin seftriakson direnci %34,8, <i>K. pneumoniae</i> ’nin ise %39,3 olduğu bildirilmiştir. <i>P.aeruginosa</i> ’nın seftazidim direnç oranının ise aynı yıllar içerisinde %42,8 olduğu görülmüştür (Altunsoy vd. 2011). b) Baş vd. Ankara’da 2000-2006 yılında Hastane Kökenli Gram (+ ve -) bakterilerde sefotaksim direncini %88 olarak bulmuşlardır (Baş vd. 2010).
Karbapenem	I. Karbapenema II. Porin modifikasyonu III. Efluks IV. PBP mutasyonları (Bush 2010, Lister vd. 2009).	a) Ülkemizde <i>A. baumannii</i> ’deki imipenem direnci sıklığının 2000-2006 arası %20’den %60’a çıktığı, bu rakamın 2012 yılında ise %33,4 olduğu belirtilmiştir (Gur vd. 2008, Leblebicioğlu vd. 2012). b) Ankara Bilkent Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesinde 2007-2010 arası nozokomiyal <i>Acinetobacter</i> suşlarının imipenem ve meropenem dirençliliklerinin %80 dolaylarında olduğu, 2010 yılında ise imipenem direncinin %74’e meropenem direncinin ise %80,3’e çıktığı rapor edilmiştir (Özdem vd. 2011). c) Zonguldak Karaelmas Üniversitesi’nde karbapenemlere dirençli klinik <i>A. baumannii</i> suşlarının karbapenem direnci sıklıklarının 2005-2006 arasında %66 olduğu açıklanmıştır (Aydemir vd. 2012).
Monobaktam	I. Porin modifikasyonu II. efluks III. PBP mutasyonları (Harvey vd. 2009).	a) İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde yoğun bakımdan alınan klinik <i>P. aeruginosa</i> suşlarında 1999-2000 yılları arasında aztreonam direnç sıklığı %92 (Aktaş vd., 2005). b) İstanbul’da özel bir hastanede yapılan çalışmada ise 2006-2007 yılları arasında GSBL üreten <i>E. coli</i> ve <i>K. pneumoniae</i> suşlarının aztreonam dirençlerinin %100 olduğu belirtilmiştir (Akyar 2008).
β -laktam β -laktamaz inhibitör kombinasyonu	I. İlacın içeri girememesi, II. duysuz β -laktamaz (Harvey vd. 2009).	a) 2003-2004 yılında ülkemiz genelinde klinik <i>E. coli</i> suşlarının %24,3’ü <i>Klebsiella pneumoniae</i> suşlarının ise 33,8’i dirençli olarak bildirilmiştir (Altunsoy vd. 2011).

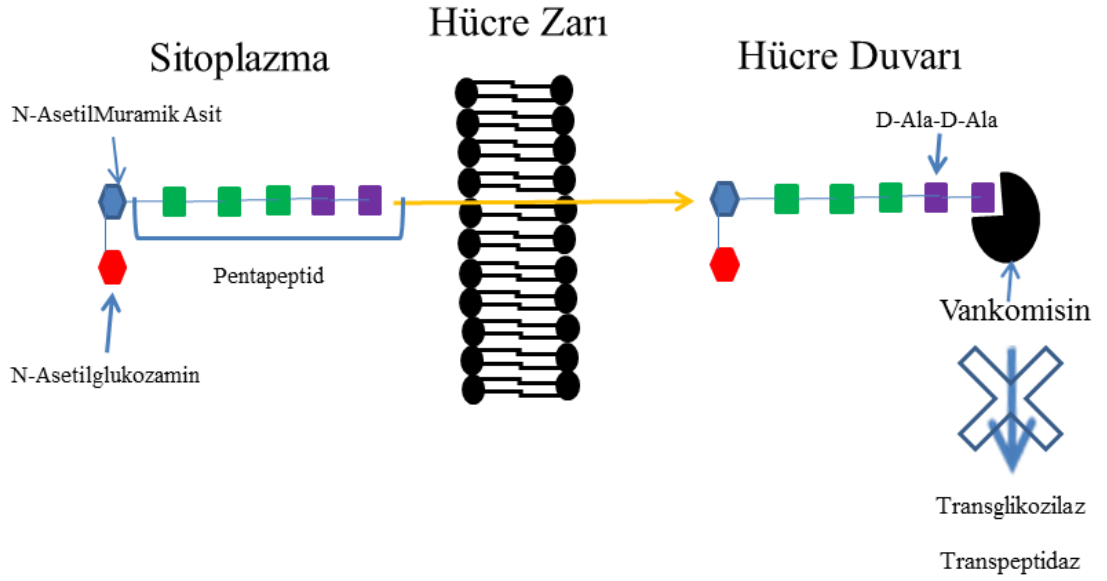
Hücre duvarı sentezine etki eden bir başka antibiyotik sınıfı ise **glikopeptidlerdir**. Glikopeptid tipi antibiyotikler de beta-laktamlarla benzer etki göstermektedirler (Savjani vd. 2009). Bir glikopeptid türevi olan vankomisin antibiyotiği N-asetilmuramik asit ve pentapeptid moleküllerinin sonundaki D-Ala-D-Ala rezidülerine yüksek afinite ile bağlanır. Bu sayede peptidoglikan sentezinin transglikozilasyon aşaması ve dolaylı olarak transpeptidasyon aşaması engellenmiş olur (Courvalin 2006).



Şekil 1.12 Vankomisin yapısı (<http://www.sigmaaldrich.com/> dan alınmıştır)

Çizelge 1.6 Glikopeptidler ve ülkemizdeki çeşitli merkezlerdeki vankomisin dirençliliği

Etki Spektrumu	Direnç Mekanizması	Türkiye’den Bazı Çalışmalar
Gram (+) kok ve basiller, <i>Clostridium</i> türleri gibi anaerobikler, <i>Actinomyces</i> gibi türler (Harvey vd. 2009).	Vankomisinin bağlandığı hedefin modifikasyonu veya ortadan kaldırılması (Courvalin 2006).	<p>a) Gaziantep Çocuk Hastanesi’nde antibiyotik kullanımının yoğun olduğu bölümlerde yatan hastaların 2011 yılında %14,6’sında vankomisine dirençli <i>Enterococcus</i> (VRE) bulunmuştur (Yiş vd. 2011).</p> <p>b) Ankara’da Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nde 2005-2007 arasında MRSA’ların vankomisinlere % 100 duyarlı oldukları belirtilmiştir (Pelitli vd. 2011).</p> <p>c) Aynı hastanede 2007-2010 arası ise MRSA ların %1,5’inin orta düzey vankomisin direnci geliştirdikleri belirtilmiştir (Çelikkilek vd. 2011).</p>



Şekil 1.13 Vankomisin gibi glikopeptid türevleri peptidoglikan öncüsü moleküllerin sonundaki D-Ala-D-Ala rezidülerine yüksek ilgiyle bağlanır. Böylece hücre duvarı sentezi durur ve bakteri ölür (Courvalin 2006'dan uyarlanmıştır)

Günümüzde vankomisin ve teikoplanin klinikte kullanılan iki glikopeptid türevidir. Vankomisin yapısının 1982'de ortaya konulması diğer glikopeptid antibiyotiklerinin de ortaya çıkarılmasında öncülük etmiştir. Bu gelişmeden hemen sonra teikoplanin ve ristosetin yapısı açığa çıkarılmış, 1995 yılında ise doğal glikopeptid antibiyotiklerden olan balhimisin rapor edilmiştir (Nicolau vd. 1999). Sayılanların dışında glikopeptidlerin yarı sentetik türevleri olan oritavansin ve kloroeremomsin II ve III faz klinik aşamalarında değerlendirilmektedir (Françoise vd. 2004).

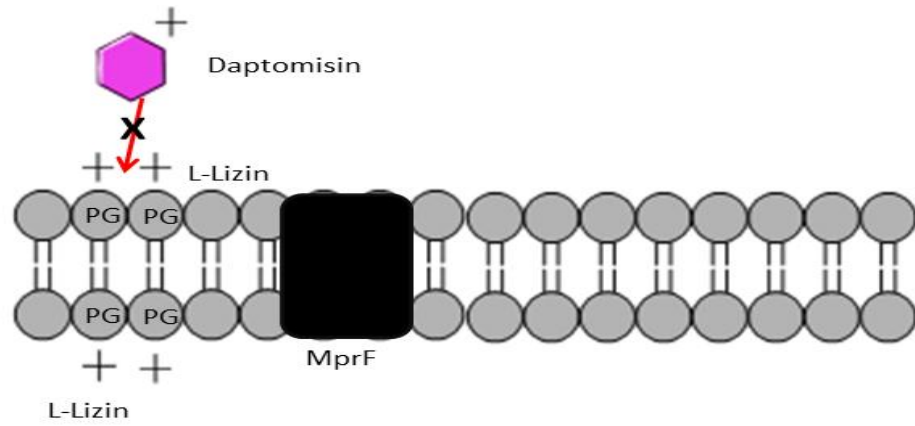
Fosfomisin hücre duvarı sentezine etki eden bir diğer tip antibiyotiktir. Bu ilaçlar peptidoglikan polimerizasyonunun ilk safhasını engellerler. Bunu da N-asetilmuramilpentapeptid (NAMP)-UDP sentezini yapan intrasitoplazmik enzim piruvil transferaz aktivitesini inhibe ederek yaparlar (Savjani vd. 2009).

Çizelge 1.7 Fosfomisinlerle ilgili bazı bilgiler

Etki Spektrumu	Direnç Mekanizması	Türkiye
Gram (+ ve -) (Baylan 2010)	Kromozomal veya plazmid kökenli (Baylan 2010).	Erzurum Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde 2008-2009 arasında GSBL <i>E. coli</i> suşlarında fosfomisin direnç görülmemiştir (Uyanık vd. 2009).

1.3.5. Hücre Zarına Etki Edenler Antibiyotikler

Daptomisin *Streptomyces roseosporus* tarafından üretilen, Gram (+) kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan bir antibiyotiktir (Liao vd. 2012). Bu antibiyotik diğer ilaçlardan farklı olarak bakteriyel hücre zarına bağlanmaktadır. Daptomisin hücre zarına bağlanması hücre zarında iyon kanallarının oluşumuna ve hücre içerisindeki potasyum iyonlarının hızlı bir şekilde dışarı pompalanmasına neden olur. Hücre zarının depolarizasyonu sonucunda da hücre ölümü gerçekleşir (Wu vd. 2011).

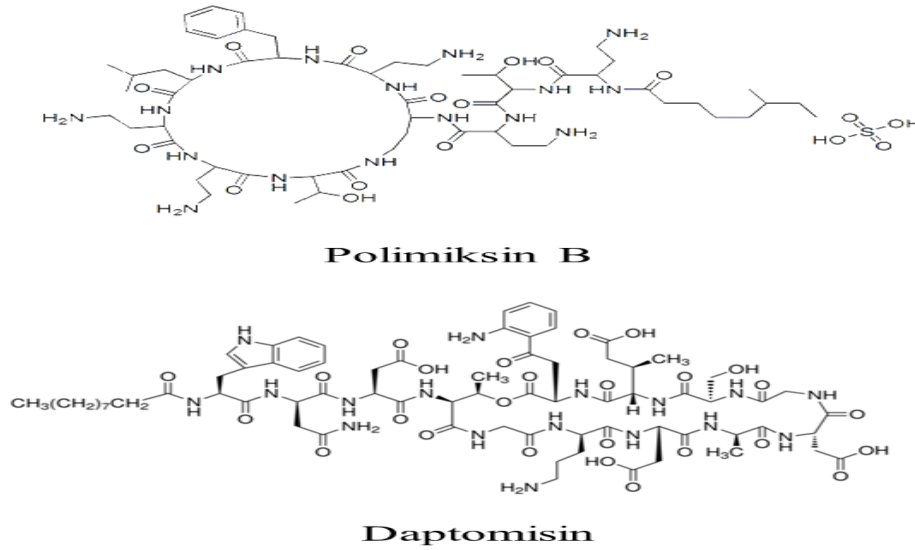


Şekil 1.14 MprF gibi hücre zarının sentezinde rol oynayan proteinlerde meydana gelen mutasyonlar fosfatidilgliserol moleküllerinin lizin ile yüklenmesine neden olur. Hücre zarının yüzeyinin pozitif yüklenmesi sonucu ise daptomisin hücre zarına etkin bir şekilde bağlanamaz ve direnç gelişir (Peleg vd. 2012'den uyarlanmıştır)

Çizelge 1.8 Daptomisinler ve polimiksinlere ülkemizdeki bazı merkezlerdeki dirençlilik durumu

Antibiyotik	Direnç Mekanizması	Türkiye
Daptomisin	I. Membran akışkanlığının değiştirilmesi, II. Yüzeyin net (+) yükünün artırılması, III. Daptomisin hücre zarına bağlanmasının azaltılması (Nannini vd.2010).	a) Türkiye’de Yedi ildeki Hastanelerin Yoğun Bakım ünitelerinden izole Edilen MRSA Suşlarında daptomisin direnci %0,4 olarak saptanmıştır (Cesur vd. 2012). b) İzmir’de bir hastanede 2006-2010 arasında kan kültürlerinden soyutlanan 64 adet MRSA suşunda daptomisin direncine rastlanılmamıştır (Afşar vd. 2011).
Polimiksin (Kolistin)	I. LPS Modifikasyonu II. Eflüks III. Por modifikasyonu (Yahav vd. 2012).	a) Türkiye’den 5 hastanenin katıldığı çok merkezli bir çalışmada çocuk yoğun bakım birimlerinde tedavi gören 77 hasta kolistin ile tedavi edilmeye çalışılmıştır. Hastaların %89,5’i başarıyla tedavi edilebilmiştir (Paksu vd. 2012).

Polimiksinler grubuna üye olan kolistin gibi antibiyotikler hücre zarına bağlanarak bu zarın bütünlüğünü bozarlar. Bu yapı evrensel olduğu için insanlarda toksik etki yapabilirler. Bu nedenle bu tip antibiyotikler son çare olarak kullanılırlar. Bunlar rezerv antibiyotikleri olarak da anılmaktadırlar (Savjani vd. 2009). Polimiksinler özellikle 1970'lerden sonra nefrotoksisite ve nörotoksisiteleri nedeniyle yerlerini başka antibiyotiklere bırakmışlardır. Pozitif yüklü olan bu ilaçlar Gram negatif bakterilerde lipopolisakkarit (LPS) tabakasına kuvvetli bir şekilde bağlanarak hücre zarının yapısını bozarlar ve hücre geçirgenliğinin değişmesi sonucu hücre ölümüne neden olurlar (Yahav vd. 2012).



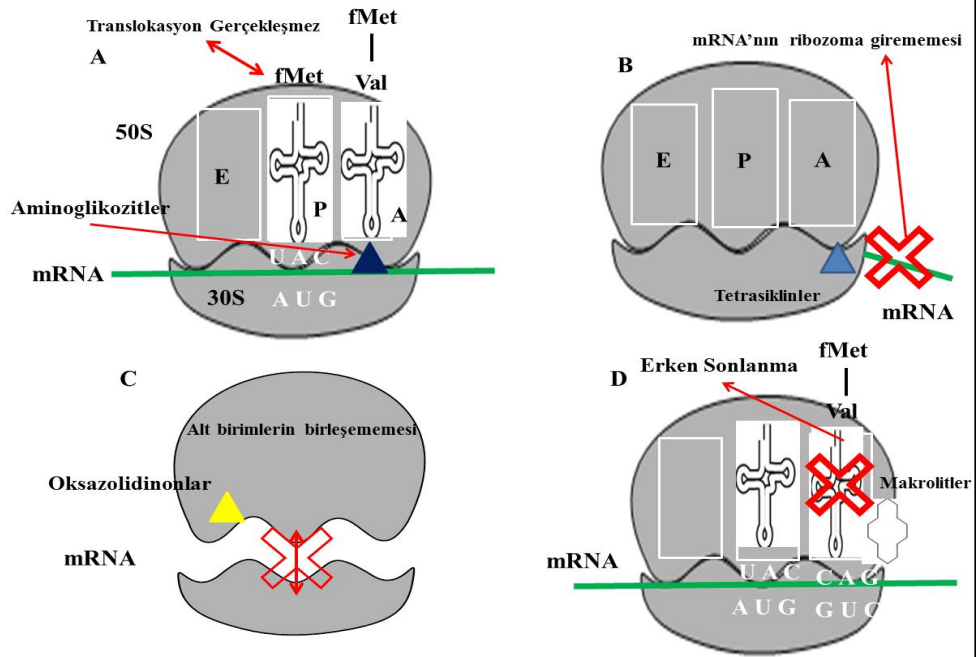
Şekil 1.15 Polimiksin ve daptomisin kimyasal yapısı. (<http://www.sigmaaldrich.com/>,
(<http://www.lookchem.com>)

1.3.6. Protein Sentezine Etki Eden Antibiyotikler

Ribozomlar protein sentezinin gerçekleştiği yerlerdir. Prokaryotlarda ribozomlar 50S ve 30S'ten oluşan 2 alt birimden meydana gelir ve bu prokaryotik ribozomlar 70S'tir. Protein sentezi yapılmıyorken bu alt birimler ayrılırlar ve sentez başlayacağı zaman birleşirler. Protein sentezini inhibe eden antibiyotikler ribozomun 50S ya da 30S alt birimine bağlananlar olarak iki alt gruba ayrılabilirler (Kohanski vd. 2010, McCoy vd. 2011). **50S inhibitörleri:** oksazolidinonlar, makrolitler (eritromisin), linkozamidler ve streptograminlerdir. Makrolit linkozamid ve streptograminlerin hepsine birden MLS_B adı verilmektedir. MLS_B ler ribozomun 50S alt ünitesiyle ilişki kurarak aktivite

gösterirler (Kohanski vd. 2010; Woodford 2005). **30 S İnhibitörleri:** Tetrasiklin, aminoglikozit gibi antibiyotikler ribozomun 30S alt birimine bağlanarak protein sentezini engellerler (McCoy vd. 2011).

Protein sentezini engelleyen antibiyotiklerin çoğu başlıca üç anahtar noktaya bağlanmaktadır. Bu bölgeler 30S alt birimdeki A bölgesi, 50 S alt birimdeki Peptidil Transferaz Merkezi (PTC) ve yine 50S alt birimdeki peptid çıkış tüneldir. Aminoglikozit tipi antibiyotikler 30S alt birimdeki A bölgesine bağlanarak translokasyonu engellerler. Tetrasiklinler reversibl olarak 30S alt birime bağlanırlar ve aminoasil tRNA'nın mRNA-ribozom karmaşımına bağlanmasını önlerler. PTC bölgesiyle etkileşen streptograminler, makrolitler (eritromisin) ve oksazolidinon (linezolid) gibi antibiyotikler 50S alt birime bağlanıp peptid bağı oluşumunu durdurularak protein sentezini engeller (Bozdoğan ve Applebaum 2004, Harvey vd. 2009, McCoy vd. 2011).



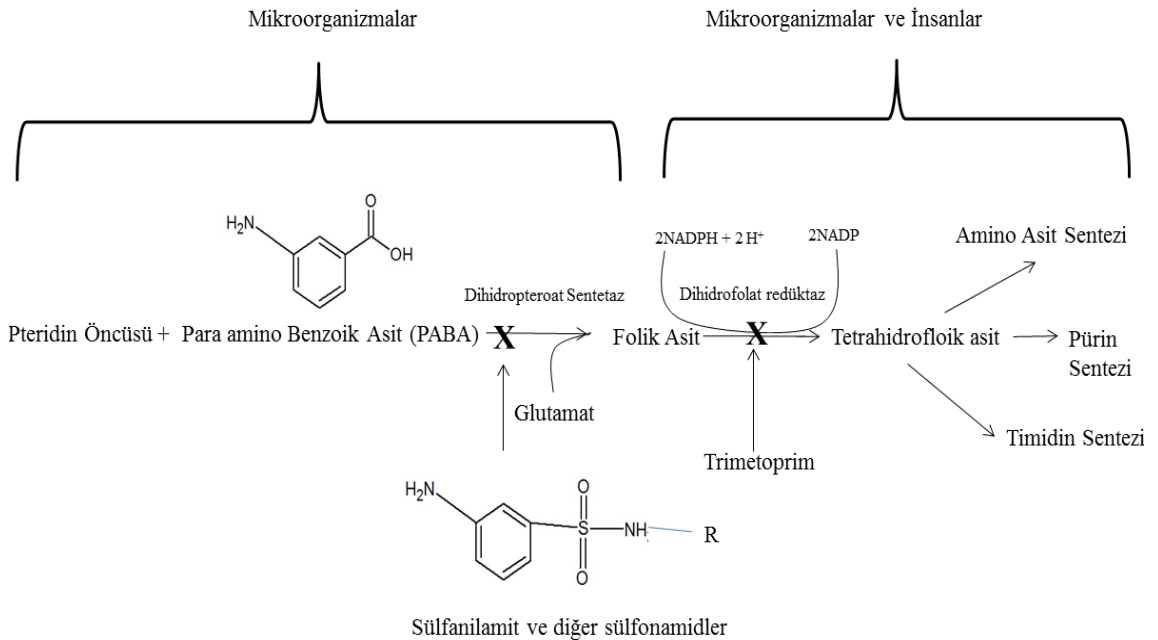
Şekil 1.16 A: Aminoglikozitler 30S alt birime bağlanarak proteinlerin yanlış katlanmasına neden olurlar. B: Tetrasiklin 30S alt üniteye bağlanarak mRNA'nın ribozoma girişini engellerler. C: Oksazolidinonlar 50S alt birime bağlanarak iki alt birimin birleşmesini engellerler ve böylece protein sentezi engellenmiş olur. D: Makrolitler 50S alt birime bağlanarak mRNA'nın ribozomdan erken ayrılmasına neden olurlar (Bozdoğan ve Applebaum 2004, Harvey vd. 2009, McCoy vd. 2011'den uyarlanmıştır)

Çizelge 1.9 Protein sentezini engelleyen bazı antibiyotikler, çeşitli özellikleri ve Türkiye’den bazı çalışmalar

Antibiyotik	Direnç Mekanizması	Türkiye’den Bazı Çalışmalar
Aminoglikozitler	I. 16 S rRNA mutasyonları, II. 16 S rRNA metilasyonu, III. Eflüks pompaları, IV. Por modifikasyonu, V. Aminoglikozit modifiye edici enzimler (Ramirez ve Tolmasky 2010).	a) Bakırköy Çocuk ve Doğum Hastanesinde GSBL üreten suşlarda aminoglikozit direnci %39,9 üretmeyenlerde ise %9,7 olarak saptanmıştır (Kızılca vd. 2012). b) Karadeniz Teknik Üniversitesi’nde klinik <i>M. tuberculosis</i> suşlarının streptomisine direnç oranı %5,2 şeklinde bulunmuştur (Aydın vd. 2011). c) Baş vd. Ankara’da bir hastanenin yenidoğan yoğun bakım birimlerinden izole edilen Gram (-) bakterilerde amikasin direncinin %25 ile %33 arasında olduğunu belirtmiştir (Baş vd. 2010).
Tetrasiklinler	I. R faktörü ve tet gibi proteinlerle dışarı atılma. II. Enzimatik inaktivasyon III. Hedefe bağlanmayı önleyen protein üretimi (Woodford 2005).	a) Adana Başkent Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Merkezi’nden izole edilen klinik <i>S. pneumoniae</i> suşlarının tetrasiklin direnci %31,1 değerinde gözlenmiştir (Uncu vd. 2007). b) İstanbul’da içilebilir sulardan izole edilen <i>Aeromonas</i> türlerinin tetrasiklin dirençlerinin %12 olduğu bulunmuştur (Koksal vd. 2007).
Makrolitler	I. Hedefin modifikasyonu. II. Eflüks pompaları III. rRNA operonlarının sayısal artışı (Bozdoğan ve Applebaum, 2004, McCusker ve Fujimori 2012).	a) 2004 yılında ülkemizde Pnömonokokal makrolit direnci %3 olarak saptanmıştır (Bozdoğan ve Applebaum 2004). b) Aydın Adnan Menderes Üniversitesi’deki klinik <i>S. pneumoniae</i> suşlarının eritromisin direnç oranları %40 şeklinde rapor edilmiştir (Telli vd. 2011).
Kinopristin Dalfopristin	I. Enzimatik aktivite II. 23S rRNA metilasyonu (Harvey vd. 2009).	a) Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi’nde 2002-2003 yılları arasında hastane kaynaklı Gram (+) koklarda Kinopristin/Dalfopristin direnç oranı ortalama %2,44’tür (Tünger vd. 2004).
Okzasolidinonlar	Hedef mutasyonu (Harvey vd. 2009).	a) Tünger’in 2002-2003 yılları arasında Ege Üniversitesi’nde yapmış olduğu çalışmada VRE suşların %5,2’sinin dirençli olduğu belirtilmiştir (Tünger vd. 2004). b) 2007 yılında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi’nde bulunan MRSA’larda linezolid direnci saptanmamıştır (Eksi vd. 2011)

1.3.7. Biyokimyasal Yolakları İnhibe Eden Antibiyotikler

Folik asit pürin ve pirimidin (RNA ve DNA sentezi için gereklidir) ve diğer hücre büyümesi ve çoğalmasında gerekli olan bileşiklerin sentezinde rol alan bir ko-enzimdir. Bakterilerin çoğu folik asiti dışarıdan alamadıklarından kendileri sentezler. Bu sentez sırasında görev alan enzimlerden bazıları dihidropteroat sentetaz ve dihidrofolat redüktaz enzimleridir. Sülfonamidler (sülfa antibiyotikleri) folik asit sentezini inhibe eden antibiyotiklerdir ve etkileri bakteriyostatiktir. Bunlar para-aminobenzoik asitten (PABA) dihidropteroik asit oluşumunu sağlayan enzimi inhibe ederler. Sülfonamidler PABA analoglarıdır. Bunlar dihidropteroat sentetaz enzimi için PABA ile yarışır. Diğer bir sınıf folat sentezi inhibitörü trimetoprim antibiyotığıdır. Bu folik asit sentezi yolağı üzerindeki dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe eder. Şöyle ki trimetoprim, dihidrofolik asitten tetrahidrofolik asit (folik asit) sentezini yapan enzimi inhibe eder. Sülfonamid + trimetoprim kombinasyonları örn: Ko-trimaksazol folik asit sentez yolağında ardışık inhibisyonlarla bakterisit etki yaparlar (Harvey vd. 2009, Savjani vd. 2009, Sangurdekar 2011).



Şekil 1.17 Trimetoprim ve sülfonamidler biyokimyasal yolaklarda iş yapan enzimlerin işlev yapmalarını engeller (Harvey vd. 2009 'dan uyarlanmıştır)

Çizelge 1.10 Biyokimyasal yolları inhibe eden antibiyotikler ve ülkemizdeki bazı merkezlerde görülen dirençlilik oranları

Antibiyotik	Direnç Mekanizması	Türkiye
Sülfonamid ve Trimetoprim	I. Plazmid kökenli <i>sulI</i> ve <i>sul 2</i> II. Kromozomal <i>folP</i> mutasyonları	a) Hıfısı Sıhha verilerine göre co-trimaksazol direnci 1996 yılında %69,3 iken bu rakam 2003 yılında %38,5'e gerilemiştir (Karaca vd. 2005). b) 2004-2005 yılları arasında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Acil Bölümünde idrar yolları enfeksiyonuna yol açan <i>E. coli</i> suşlarında sülfonamid/trimetoprim direncinin sıklığı %34 olarak saptanmıştır (Güneysel vd. 2007). c) İstanbul'da içme sularından izole edilen <i>Aeromonas</i> türlerinde trimetoprim/sülfametoksazol direnci sıklığı %14 şeklinde bulunmuştur (Köksal vd. 2007).

1.4. Antibiyotik Direnci

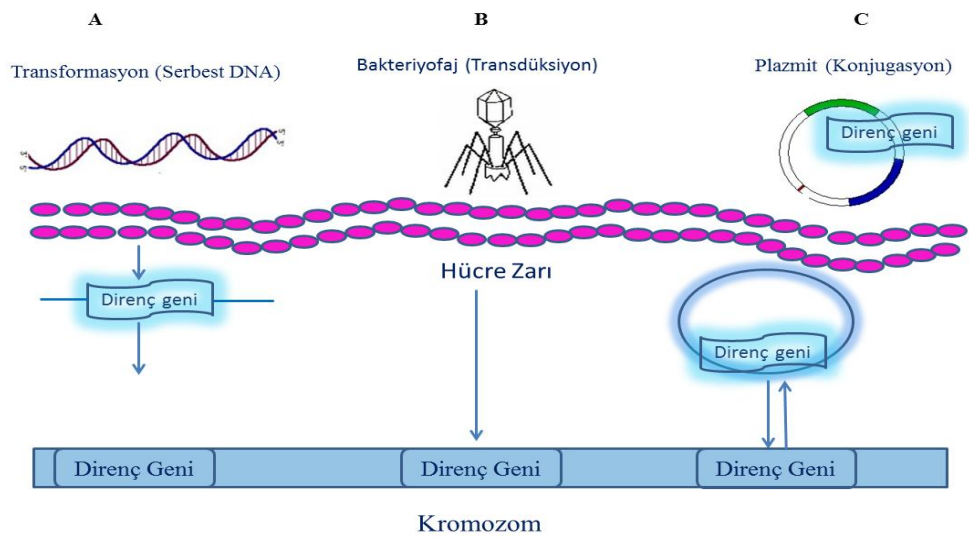
Direnç bir bakteri suşunun antibiyotik varlığında diğer suşlarının öldüğü ya da gelişmelerinin engellendiği koşullarda yaşayıp çoğalabilmesi olarak tanımlanır (Savjani vd. 2009). Antimikrobiyal direnç özellikle son yirmi yılda hızla artan ve kontrol edilemeyen bir sorun haline almaya başlamıştır (Coculescu 2009).

Antibiyotik direnci 2 şekilde meydana gelebilir. Bunlar doğal (intrinsik) ve edinilmiş/kazanılmış dirençtir. İlkinde doğal direnç mekanizmaları canlının kromozomunda doğal olarak bulunan genler tarafından kodlanmaktadır veya bakteri yapısından dolayı antibiyotikten etkilenmemektedir. Doğal dirence sahip bakteriler vücudun tolere edebileceği maksimum antibiyotik konsantrasyonunda büyüyüp gelişebilirler. Antibiyotik varlığında bakterilerin büyümeleri sınırlanmaz ya da durmaz. Aminoglikozitleri taşıyacak sistemleri olmayan anaerob bakteriler, hücre duvarı olmayan *Mycoplazmalar*, dış zarları bazı antibiyotiklere geçirgen olmayan *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* gibi Gram (-) bakteriler bazı antibiyotiklere doğal direnci bulunan mikroorganizmalardır. Pek çok Gram (-) bakterideki AmpC beta-laktamaz enziminin üretimi veya çoklu ilaç direnci sağlayan efluks pompaları (MDR efflux pumps) bu tip dirence örnektir (Aleksun ve Levy 2007, Coculescu 2009).

Çizelge 1.11 Mikroorganizmaların bazı antibiyotiklere karşı sahip oldukları doğal direnç mekanizmaları

Doğal (İntrinsik) Direnç	Direnç Gelişen İlaç	Mekanizma
Anaerobik bakteriler	Aminoglikozit	Aminoglikozit alımını sağlayacak oksidatif metabolizmanın yokluğu (E. T. S yok) (Madigan ve Martinko 2010) .
Gram pozitif bakteriler	Aztreonam	Aztreonamın bağlanacağı PBP nin yokluğu (Madigan ve Martinko 2010)
Gram negatif bakteriler	Vankomisin	Vankomisin hücre içine alınmasını sağlayan sistemin bulunmaması ve ilacın dış zarı geçememesi (Madigan ve Martinko 2010) .
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sülfonamidler, trimetoprim, tetrasiklin ve kloramfenikol	Hücre içine alımı sağlayan sistemin olmaması. Bu nedenle bu antibiyotiklerin etkili hücre içi konsantrasyonu sağlayamamaları (Madigan ve Martinko 2010).
<i>Klebsiella spp.</i>	Amfisilin	Kromozomal beta-laktamaz üretimi ile amfisilin hedef molekülü olan PBP'ye ulaşmadan parçalanması (Lister vd. 2009).

Edinilmiş direnç üç şekilde meydana gelebilir. Bunlar: 1) Mutasyonlar yoluyla hedefin modifikasyonu 2) Hedefi koruyan gen ürünlerinin kazanılması 3) Antibiyotiği etkisiz bırakan enzimlerin kazanılmasıdır. Kazanılmış/edinilmiş direnç plazmidler, bakteriyofajlar, transpozonlar (*Tn*) ve diğer hareketli genetik elemanlarla mikroorganizmalar arasında taşınabilir. Kazanılmış direnç genelde konjugasyon, transformasyon ve transdüksiyon yoluyla elde edilir. Gen transferi yakın türler arasında sıklıkla gözlenmekle beraber Gram (+) ve Gram (-) bakteriler gibi evrimsel açıdan yakın olmayan türler arasında da meydana gelebilmektedir (Aleksun ve Levy 2007).



Şekil 1.18 Kazanılmış direnci sağlayan mekanizmalara örnekler (Aleksun ve Levy 2007den uyarlanarak yapılmıştır)

1.5. Hücrede Etki Ettikleri Mekanizmaya Göre Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç Mekanizmaları

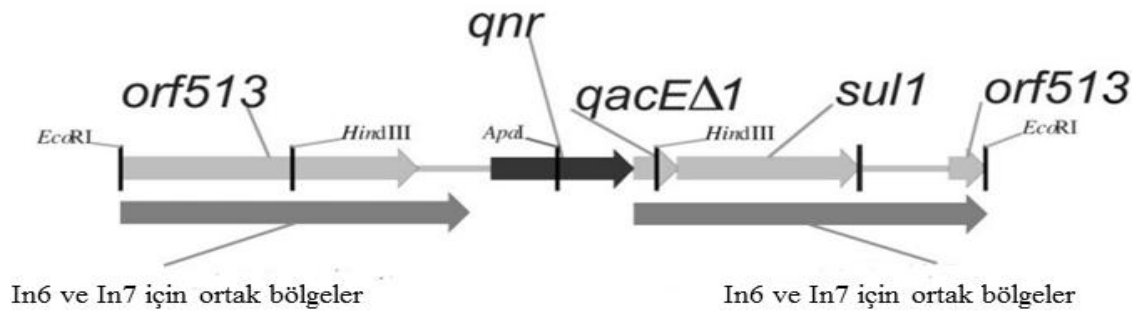
1.5.1. DNA Sentezine Etki Eden Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç: Kinolon Direnci

Kinolonlar geniş spektrumlu antibiyotiklerin sıkça kullanılan bir sınıfıdır. Bu antibiyotikler DNA Giraz ve DNA Topoizomeraz IV adlı iki paralog enzimi hedef almaktadırlar. Her iki enzimde iki alt birimden oluşmaktadır. DNA Giraz iki GyrA ve iki GyrB, DNA Topoizomeraz IV ise ParC ve ParE alt birimlerinden meydana gelir (Wong ve Kassen 2011). Kinolonlara karşı direnç Quinolone Resistance Determining Region (QRDR) adı verilen bir gen bölgesinden köken almaktadır ve *gyrA* ve *gyrB* genleri DNA girazı kodlarken, *parC* ve *parE* genleri ise topoizomeraz IV ü kodlamaktadırlar (Woodford 2005). Li-Fen Hu ve arkadaşları QRDR bölgesinde *gyrA*'nın seksen üçüncü ve *parC*'nin sekseninci pozisyonundaki mutasyonların yüksek seviyede kinolon direncine neden olduğunu bildirmiştir (Hu vd. 2007). Bu bölge prokaryotlarda yüksek seviyede korunmuş bir bölge olup çoğunlukla serin veya treonin aminoasitlerini içermektedir. Direncin ortaya çıkmasına sebep olan mutasyon serin amino asidinin lösin veya izolösine dönüşümü sonucu gerçekleşir (Wong ve Kassen 2011). QRDR bölgesinde *gyrA* ve *parC* de meydana gelen mutasyonlar fluorokinolonlara yüksek derecede dirence neden olmaktadır. *gyrB* ve *parE* genlerinde de mutasyonlara rastlanmasına karşın bu mutasyonların şiddetli dirence yol açmadıkları gözlenmiştir (Woodford 2005).

Pozisyon	Potansiyel Amino Asit Değişimleri	
	İlk Adım	İkinci Adım
Ser79 TCT ParC	İkinci Kodon Pozisyonu TTT Phe TAT Tyr TGT Cys İlk Kodon Pozisyonu ACT Thr GCT Ala CCT Pro	1.CTT Leu 2.ATT Ile 3.GTT Val
Ser81 TCC GyrA	İkinci Kodon Pozisyonu TTC Phe TAC Tyr TGC Cys İlk Kodon Pozisyonu ACC Thr GCC Ala CCC Pro	1.ATC Ile 2.CTC Leu 3.GTC Val

Şekil 1.19 Klinik *Streptococcus pneumoniae* suşlarındaki *gyrA* ve *parC* mutasyonlarına örnekler (Korzheva vd. 2005'ten uyarlanmıştır)

Plazmid kökenli *qnr* genleri kinolon direncinde rol oynamaktadır. *qnr*'lar ilk kez 1998'de rapor edilmişlerdir (Martinez 1998). Bu proteinler topoizomerazlara bağlanarak bakteriyel topoizomerazları kinolonların etkisine karşı korumaktadırlar. Bu proteinlerin 90'dan fazla tipi bulunmaktadır ve yapılarında pentapeptid tekrarları içermektedirler. *qnr* proteinlerinin kökenlerinin araştırılması sonucu *Shewanella algae*'de kromozomal QnrA proteinine rastlanmıştır. *qnrA* geninin plazmid kökenli *qnr* türevlerinde kromozomal *qnr* genine nazaran sadece birkaç aminoasit farklılığı saptanmıştır. (Nordmann ve Poirel 2005).



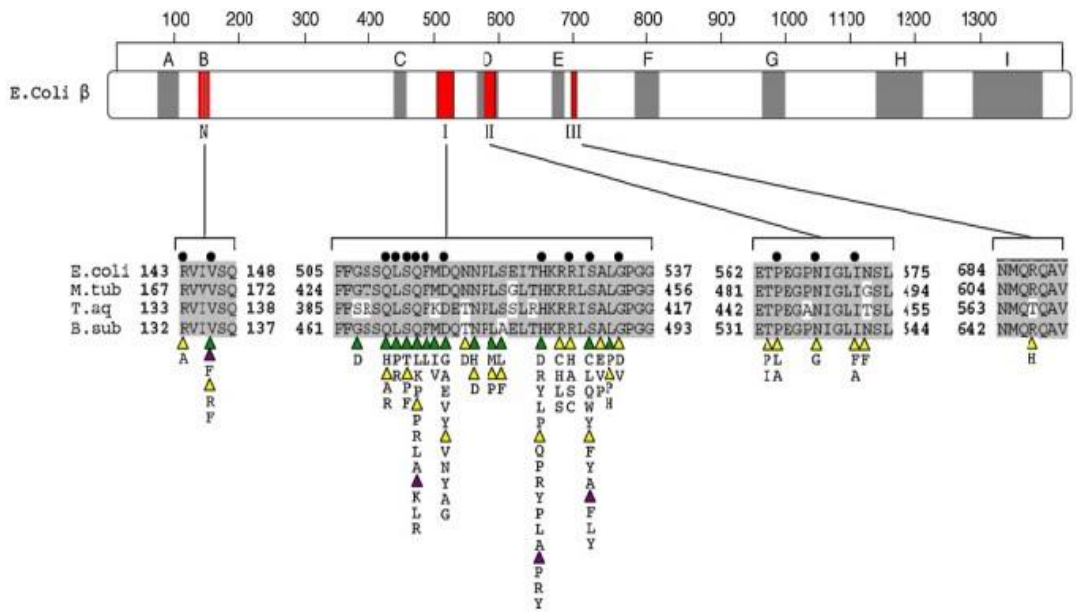
Şekil 1.20: pMG252 plazmidinde kinolon direncini kodlayan bölge. *qacEΔ1* kuaterner amonyum bileşiklerine ve sülfonamid direncine neden olur. *qnr* ise kinolon direncinde rol oynar. Bu iki gen sıklıkla yan yana bulunmaktadır (Tran ve Jacoby 2002)

Bahsedilenler dışında Gram (-) efluks pompalarının ve porin kayıplarının kinolon direncine sebep olduğu belirtilmiştir (Wong ve Kassen 2005).

1.5.2. RNA Sentezine Etki Eden Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç: Rifampisin

Rifampisinler transkripsiyon sırasında DNA'dan mRNA sentezi yapılmasını engelleyen hidrofobik antibiyotiklerdir. Bu antibiyotik seçici toksisitesi nedeniyle ökaryotik hücrelere zarar vermemektedir (Savjani vd. 2009). Rifampisin gibi RNA sentezi inhibitörlerine karşı gelişen direnç karşımıza en sık olarak RNA Polimeraz enziminin aktif merkezini kodlayan *rpoB* genindeki mutasyonlarla ortaya çıkmaktadır. Rifampisinin bakteriyel RNA Polimeraza bağlanması on beş amino asit içeren bir rezidüden gerçekleşir. Bu amino asitlerde meydana gelen mutasyonlar biri hariç dirençli

fenotipin ifade edilmesine neden olur. *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis* gibi rifampisine dirençli olabilen canlılar bu mutasyonları taşımaktadırlar (Tupin vd. 2010). Rifampisin direnci *Mycobacterium tuberculosis* türlerinin %90'ından fazlasında *rpoB* geninde 516., 526. ve 531. kodonlardaki tek nokta mutasyonlarıyla meydana gelebilir. *Staphylococcus aureus*'ta rifampisin direncini sağlayan mutasyon *rpoB* geninin 481. kodonunda gerçekleşir. Böylece rifampisin RNA Polimeraza etkin bir şekilde bağlanamaz ve direnç gelişmiş olur (Coculescu 2009).



Şekil 1.21 *E. coli* RNA polimeraz enzimi beta alt ünitesinde rifampisin direncine neden olan mutasyonlar. 1342 aminoasit uzunluğundaki alt ünite bulunmaktadır. Gri alanlar yüksek seviyede korunmuş bölgeleri kırmızı alanlar rifampisin direnç kümelerini göstermektedir. Yeşil üçgenler *M. tuberculosis*, sarı üçgenler *E. coli*, mor üçgenler ise *B. subtilis* türlerini temsil etmektedir. Rifampisin ve beta alt ünitesi arasındaki önemli etkileşimler ise siyah noktalarla gösterilmiştir (Tupin vd. 2010)

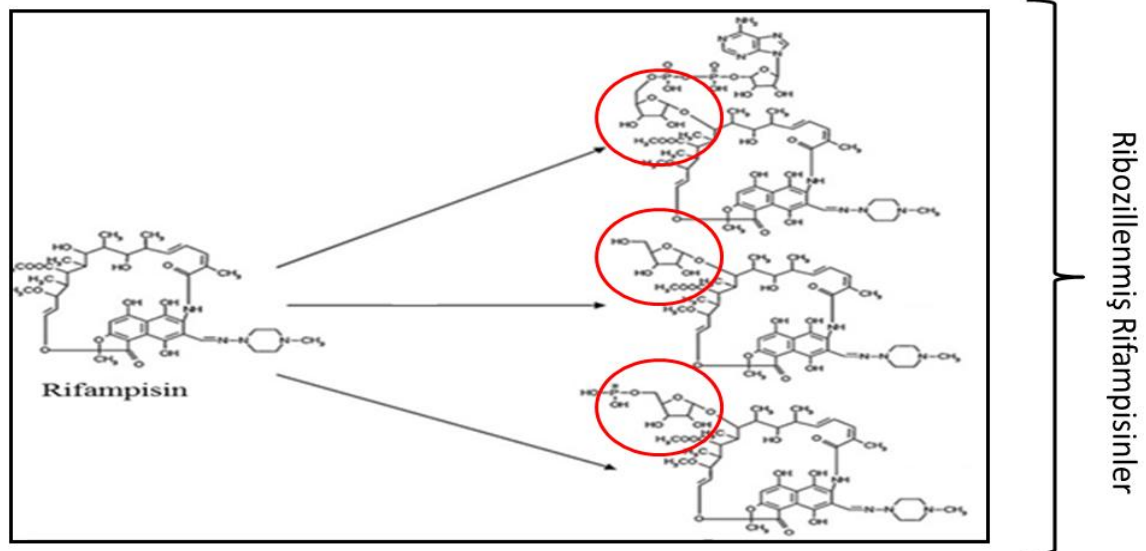
Rifampisine karşı gelişen bir diğer direnç mekanizması ise hedef duplikasyonu adını alır. *Nocardia farcinia* gibi bakterilerde RNA Polimerazın β alt ünitesini kodlayan iki adet gen vardır. Bu genler *rpoB* ve *rpoB2* dir. Bu iki gen %88,8 homologtur. Fakat *rpoB2*'deki farklı bölgelerin varlığından ötürü rifampisin diğer *rpoB2*'yi içeren RNA Polimeraza bağlanamaz ve direnç gelişir. *Streptomyces coelicolor* düşük konsantrasyonlardaki rifampisine doğal olarak dirençlidir. Bu mikroorganizmadaki RNA Polimeraz bağlanma proteini rbpA'nın bazal seviyelerde rifampisin direncine

neden olduğu Newell ve arkadaşları tarafından kanıtlanmıştır (Newell vd. 2006, Tupin vd. 2010).

Rifampisin direncinde rol oynayan bir başka mekanizma ise rifampisin modifikasyonudur. Bakteriler rifampisini glukozilasyon, ribozilasyon, fosforilasyon gibi yöntemlerle inaktive edebilirler. *Mycobacterium smegmatis* rifampisine doğal olarak dirençli bir mikroorganizmadır. Bu bakterinin ürettiği Arr enzimi mono (ADP-Ribozil) transferaz gibi hareket ederek rifampisinin ribozilasyonunu katalizler. Sayılanlardan başka porinlerin kaybının ve effluks pompalarının antibiyotiği dışarı pompalamasının da rifampisin direncinde etkili oldukları bildirilmektedir (Tupin vd. 2010).

Çizelge 1.12 Rifampisin'e karşı gelişen direnç mekanizmaları ve direnç geliştiren mikroorganizmalar, rifampisin modifikasyonu (Tupin vd. 2010'dan uyarlanmıştır)

Direnç Mekanizması	Mikroorganizma	Direnç Derecesi
Mutasyonlar	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Çok yüksek veya yüksek
<i>rpoB</i> Geni Duplikasyonu	<i>Nocardia farcinica</i> , <i>Amycolatopsis mediterranei</i>	Yüksek
RNAP bağlanma proteinleri	<i>Streptomyces coelicolor</i> , <i>M. tuberculosis</i>	Düşük veya orta
Rifampisin Modifikasyonu	<i>Mycobacterium smegmatis</i> DSM 43756, <i>Bacillus ssp.</i>	Düşük veya orta



Şekil 1.22 Rifampisin'e karşı gelişen Ddirenç mekanizmaları ve direnç geliştiren mikroorganizmalar, rifampisin modifikasyonu (Tupin vd. 2010'dan uyarlanmıştır)

1.5.3. Hücre Duvarına Etki Eden Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç

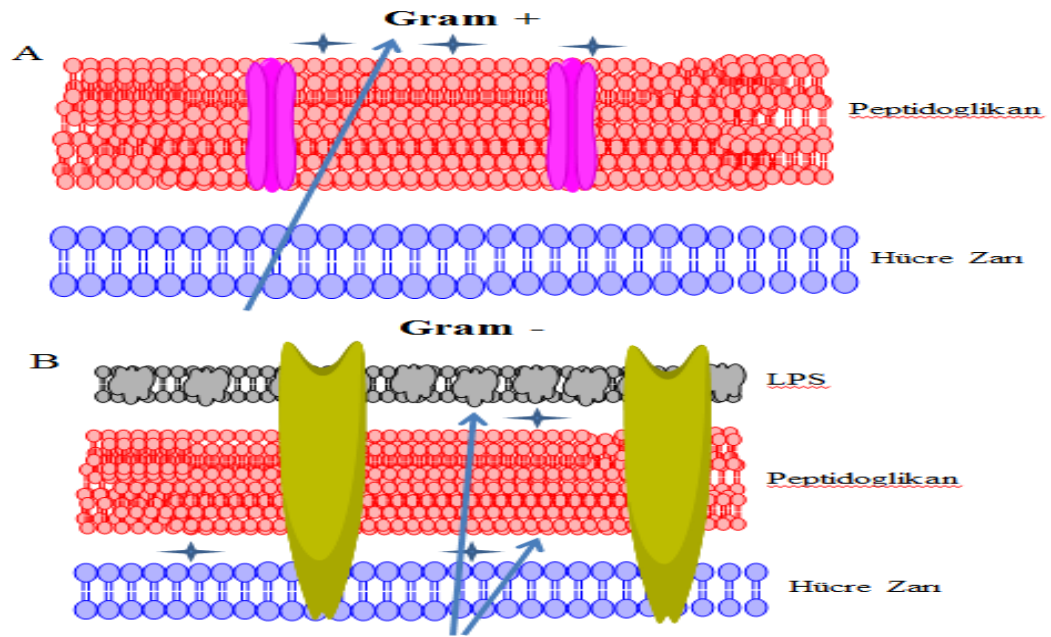
Hücre duvarı sentezini engelleyen antibiyotikler üçe ayrılabilir: A) Beta- laktamlar B) Glikopeptidler C) Diğerleri: Fosfomisin, sikloserin, basitrasin, ristosetin, ramoplanin, mersadisin, moenomisin. Bu sınıflardan en geniş beta-laktamlardır ve beta-laktamların kullanım alanı oldukça fazladır (Woodford 2005). 1940’larda penisilinin kullanıma girmesinden hemen sonra dahi bu antibiyotiklere karşı direnç geliştiği bildirilmiştir (Hawkey 2008). Hücre duvarı sentezi inhibitörlerine karşı pek çok farklı yolla direnç gelişebilir. Bu yollar arasında beta-laktamları hidroliz eden beta-laktamaz enzimlerinin üretimi (Perez vd. 2007, Savjani vd. 2009, Bush 2010), dışarıdan antibiyotiğin içeri girişinin porinlerdeki mutasyonlarla engellenmesi ya da azaltılması (Savjani vd. 2009), mutant PBP üretimiyle beta-laktamların substratlarına ilgisinin düşürülmesi ve böylece beta-laktam etkisinden kaçılması (Jovetic vd. 2010), effluks pompaları ile antibiyotiğin dışarı pompalanması (Savjani vd. 2009), *Tn 1546* gibi transpozonlar üzerinde taşınan *van* genleri/operonunun edinilmesi sonucu glikopeptidlere direnç gelişmesi (vankomisin direnç geni) bulunmaktadır (Jovetic vd. 2010).

1.5.3.1. Beta-laktam Direnci

A) Hedefin Modifikasyonu: Beta-laktam direnci antibiyotiğin etki ettiği hedefte modifikasyonlar meydana gelmesi sonucu gelişebilir. Normal şartlarda beta-laktamlar PBP proteinlerine bağlanarak transpeptidasyon işlemini engellerken *mecA* genini edinen bakteriler normal PBP yerine PBP2’ veya PBP2a adlı proteini üretir. Beta-laktamların bu yeni proteine ilgileri düşük olduğundan PBP inhibisyonu gerçekleşmez yani direnç gelişir. Bu gen 2 kilobazlık (kb) *Staphylococcal Cassette Chromosome (SCC)* üzerinde taşınabilir (Woodford 2005). Bu geni taşıyan *S. aureus* suşlarına *SCC-mec* taşımayanlara ise non-*SCC-mec* denilmektedir (Malachova ve DeLeo 2010). *SCC-mec* bakteriler aynı zamanda bu gen kaseti üzerinde kendi rekombinaz genleri olan *ccrAB* ve *ccrC* genlerini de taşıyabilmektedirler (Hawkey 2008). *SCC*’ler *Transpozonlar (Tn)*’lar ve plazmidler ile başka direnç genleriyle beraber de transfer edilebilmektedirler. Örneğin *Enterococcus faecium*’da bulunan PBP5 proteininin *Tn 5382* üzerinde *vanB* geninin yanında aktarılabildiği gösterilmiştir. *mecA* geninin kökeni tam olarak

bilinmese de *Staphylococcus sciuri*'de bu genin homologu bulunmuştur (Woodford 2005, Savjani vd. 2009).

B) Antibiyotiğin Hidrolizi: Beta-laktamaz adı verilen enzimler beta-laktamları hidroliz edilebilirler. Bu enzimler beta-laktam antibiyotiklerine karşı gelişmiş direncin ana nedenleridirler (Bush 2010). Örneğin *Staphylococcus aureus*'ta bu olay *blaZ* geninden kodlanan beta-laktamazlar ile sağlanmaktadır (Plata vd. 2009). Bu olay sonucunda beta-laktamlar hidroliz olup PBP'ye bağlanamazlar yani etkinliklerini kaybederler.



Şekil 1.23 Beta-laktamaz enzimleri A) Gram (+) bakterilerde hücre dışına salgılanır. B) Gram (-) bakterilerde ise periplazmik boşluğa salınırlar (Madigan ve Martinko 2010'dan uyarlanmıştır)

Beta-laktamaz genlerinin düzenlenmesine *Staphylococcus aureus*'taki *blaZ* genlerinin regülasyonu örnek teşkil edebilir. *blaZ* genleri beta-laktamaz üreten *Staphylococcus aureus* suşlarında iki genin kontrolü altındadır. Bu genler represör *blaI* ve anti-represör *blaR1* genleridir. Beta-laktamların yokluğunda *blaI* geninin ürünü olan BlaI proteini *blaZ* geninin operatör bölgesine bağlanarak *blaZ* ifadesini belirli bir oranda baskılar ve *blaZ* geninin bazal seviyede ifade edilmesine neden olur. Penisilin gibi beta-laktamların varlığında ise beta-laktamlar transmembran sensör-transducer BlaR1 proteinine bağlanır. Beta-laktamların bu proteine bağlanması BlaR1'in otokatalitik aktivasyonuna neden olur. Aktifleşen BlaR1 BlaI'yı inaktif fragmentlere parçalar. Böylece *blaZ* ifadesi

üzerindeki baskı ortadan kalkmış olur ve bu genden beta-laktamaz enzimleri bazal seviyenin üstündeki miktarlarda sentezlenmeye başlanır. Yukarıda bahsedilen PBP2a proteinlerinin ifadesinin düzenlenmesi de *blaZ* genlerinin düzenlenmesine benzemektedir. PBP2a düzenlenmesinde BlaR1 yerine MecR1 ve BlaI yerine ise MecI proteinleri üretilmektedir (Lowy 2003).

AmpC beta-laktamaz enzimleri *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* gibi bakterilerde doğal olarak bulunan ve beta-laktam tipi antibiyotikleri hidroliz edebilen enzimlerdir (Bonomo ve Szabo 2006; Lister vd. 2009). Pek çok Gram (-) bakterinin kromozomunda uyarılabilir bir *ampC* sefalosporinaz geni bulunmaktadır (Jacobs vd. 1997). Örneğin doğal tip (wild-type) *P. aeruginosa* suşları bu gen ürününü sadece bazal seviyede üretmektedirler. Bu genin uyarıldığı durumlarda karbapenemler hariç bütün beta-laktamlara karşı direnç geliştirebilmektedir (Lister vd. 2009).

Beta-laktamazlar Gram (-) bakteriler tarafından periplazmik boşluğa salınır ve antibiyotik PBP'ye bağlanmadan hidroliz edilir. Gram (+) bakterilerde ise beta-laktamazlar hücre dışına salınırlar. Yapılan bir derlemeye göre günümüzde 950'den fazla beta-laktamaz enzimi saptanmıştır (Bush 2010). Beta-laktamların bu kadar çeşitli ve etkin olmaları nedeniyle günümüze kadar bazı sınıflandırmalar yapılmıştır. 1968 de Sawai penisilinaz ve sefalosporinaz olarak beta-laktamları iki sınıfa, 1973'te Richmond ve Sykes substratlarına göre beş sınıfa ayırmıştır. Günümüzde kabul gören iki adet sınıflandırma bulunmaktadır. Bunlar Bush-Jacoby ve Ambler sınıflandırmalarıdır (Anonim). Bush-Jacoby sınıflandırmasında substrat ve inhibitör profiline göre dört ana büyük grup bulunmaktadır (Bush 1989; Bush vd. 1995). Birinci grupta klavulanik asit gibi beta-laktamaz inhibitörleri tarafından etkili bir şekilde inhibe edilemeyen sefalosporinazlar; ikinci grupta beta-laktamaz inhibitörleriyle etkili bir şekilde inhibe edilen beta-laktamazlar; üçüncü grupta klasik beta-laktamaz inhibitörleriyle aktiviteleri engellenemeyen metallo beta-laktamazlar; dördüncü grupta ise klavulanik asit tarafından inhibe edilemeyen penisilinazlar bulunur. Çok çeşitli beta-laktamaz tipleri olduğu için de bu sınıflandırmalar zaman içinde güncellenmektedirler (Bush 1989; Bush ve Jacoby 1995; Bush ve Jacoby 2010). Ambler sınıflandırılmasında ise beta-laktamazlar aminoasit homolojilerine göre A, B, C, D olmak üzere 4 ana sınıfa

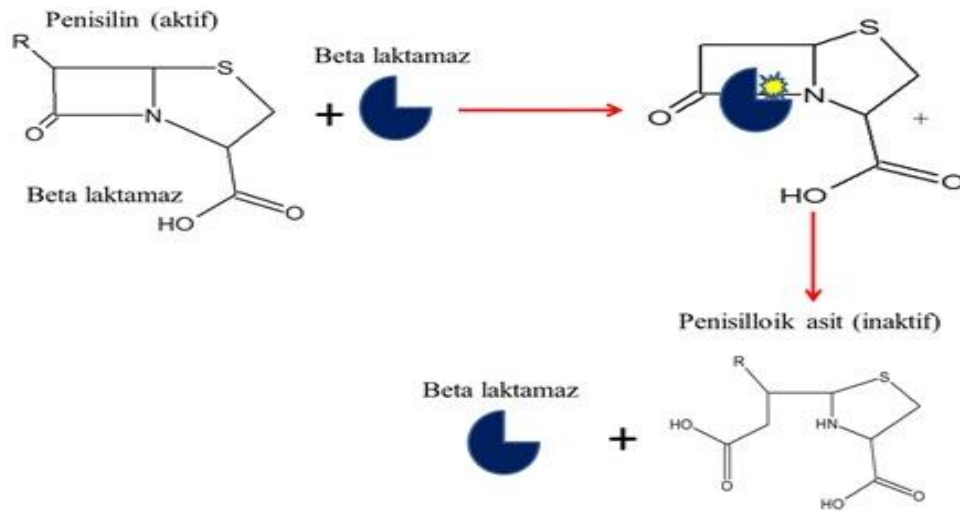
ayrılmışlardır. Ambler'in ilk sınıflandırmasında iki sınıf bulunmasına karşın bu rakam zaman içerisinde dörde yükselmiştir. Ambler sınıflandırmasında sınıf A da aktif bölgesinde serin bulunduran serin beta-laktamazlar, sınıf B de ise aktiflikleri için genelde +2 değerlikli çinko iyonuna ihtiyaç duyan metallo-beta-laktamazlar bulunmaktadır. İlerleyen zamanlarda sınıf A'nın içinden AmpC beta-laktamazlar olarak bilinen enzimler sınıf C ve OXA beta-laktamazlar olarak bilinen enzimler sınıf D olarak ayrılmışlardır (Hall ve Barlow 2005).

Çizelge 1.13 Beta-laktamazların sınıflandırılmasını gösteren örnek tablo

Enzim	Bush-Jacoby Sınıfı	Ambler Sınıfı	Substrat
AmpC beta-laktamazlar	1	C	Sefalosporinler
Penisilinazlar	2b	A	Penisilinler
IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1	3a	B	Karbapenemler
CphA, Sfh-1	4	Bilinmiyor	Karbapenemler
OXA-11, OXA-15	2de	D	Genişlemiş Spektrumlu Sefalosporinler
TEM50	2ber	A	Genişlemiş Spektrumlu Sefalosporinler
TEM-3, SHV-2, CTX-M-15	2be	A	Genişlemiş Spektrumlu Sefalosporinler

*Bush ve Jacoby 1995 ve Bush ve Jacoby 2010'dan uyarlanmıştır

Substratlarına karşı gösterdikleri spesifiteye göre dört adet genel beta-laktamaz sınıfı sayılabilir. Bunlar: 1) Penisilinazlar 2) AmpC tipi sefalosporinazlar 3) Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL) 4) Karbapenemazlardır (Bush 2010).



Şekil 1.24 Beta-laktamazlar, laktam halkasını hidroliz ederler böylece beta-laktamlar işlevlerini kaybederler (Lowy 2003'den uyarlanarak çizilmiştir)

Penisilinazlar: Penisilinazlar ilk defa penisilinin kullanımından sonraki birkaç yıl içinde rapor edilen enzimlerdir (Chambers ve DeLeo 2009).

AmpC sefalosporinazlar: AmpC tipi sefalosporinazlar bazı *Enterobacteriaceae* üyelerinde ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi bakterilerde hali hazırda düşük seviyede sentezlenen enzimlerdir. Bu enzimler aminopenisilin ve sefalosporin gibi antibiyotikleri hidroliz etmektedirler (Strateva ve Yordanov 2009).

Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz (GSBL)'lar: Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamazlar (GSBL) ilk kez 1980'li yıllarda tanımlanmış enzimlerdir (Falagas ve Karageorgopoulos 2009). Bush ve Jacoby'nin yaptığı son derlemede 950 den fazla GSBL tipi belirlenmiştir (Bush 2004). Pek çok GSBL enzimi TEM ve SHV enzimlerinden köken almaktadır (Bradford 2001). Günümüzde sık izole edilen GSBL enzimleri CTX-M'lerdir (Falagas ve Karageorgopoulos 2009). GSBL taşıyan organizmalar dünya çapında sorun yaratmaktadır ve sayıları artış içindedir. GSBL taşıyan bakteriler fluorokinolon ve aminoglikozit gibi diğer antibiyotik sınıflarına da dirençli olabilmektedirler. Bu nedenle GSBL taşıyan patojenlerin tedavisi özellikle zor olmaktadır (Perez vd. 2007; Hawkey ve Jones 2009; Högdberg vd. 2010). Pek çok GSBL tipi olmasına rağmen TEM (204'den fazla varyantı vardır), SHV (168'den fazla türevi vardır), OXA (255 kadar alt tipi vardır) ve CTX-M (135 kadar varyantı bulunmaktadır) enzimleri en çok rastlanılanlardır (Perez vd. 2007; Savjani vd. 2009). Bunun yanı sıra *P. aeruginosa*'da yaygın olan GSBL tipleri ise PER ve OXA tipi GSBL'lerdir (Perez vd. 2007; <http://www.lahey.org/studies/other.asp>).

CTX-M'ler daha önceleri dünyada fazla yayılım göstermezken nadir türler olan *Kluyvera spp.*'den bunların diğer türlere yayılmasıyla çok daha büyük bir sorun oluşturmaya başlamışlardır. İşin daha kötü tarafı bu enzimleri taşıyan *K. Pneumoniae* gibi bakterilerin *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M}* gibi direnç genlerini *E. coli* gibi patojenlere geçirebilmeleridir (Hawkey 2008). Plazmid kodlu *bla_{CTX-M}* 'in hareketinde plazmidler, *İnseriyon Sekansları (IS)* (*ISEcp-1*, *ISEcp1*-benzeri elementler, *ISCR*) bazı integronlar veya *Tn21* ailesi rol oynamaktadır (Perez vd. 2007; Chong vd. 2011).

Yapılan çalışmalarda CTX-M lerin beta-laktam hidrolizlerini Asn104, Ser237, Asp240 gibi spesifik aminoasitler aracılığıyla gerçekleştirdikleri ortaya çıkarılmıştır (Bonnet 2004).

CTX-M enzimlerinden en yaygın olanlar CTX-M-15 ve CTX-M-14'tür (Hawkey 2008). CTX-M-15 2001 yılında ilk kez Hindistan'da rapor edilmiştir. *bla_{CTX-M-15}* geni genellikle IncF grubu plazmidlerle aktarılır. CTX-M-15 CTX-M-1 grubuna dahil olan CTX-M-3 enziminden köken alır ve tek bir aminoasitin yer değiştirmesiyle farklılaşır (Chong vd. 2011). CTX-M-14'e ise ilk kez Çin'de rastlanılmıştır (Hawkey 2008, Chong vd. 2011). Günümüzde CTX-M enzimleri Amerika'da nispeten daha seyrek fakat ülkemizde dahil olmak üzere Avrupa ve Uzak Doğu'da bu enzimlere oldukça sık rastlanılmaktadır. Avrupa ve Uzak Doğu'da CTX-M-3 ve 14 Güney Amerika'da CTX-M-2 ve 9 Doğu Avrupa'da ise CTX-M-15 yaygındır (Hawkey 2008).

TEM enzimleri *bla_{TEM}* geninde kodlanır ve bu enzimlerinin kaynağı *E. coli*'dir. *bla_{TEM-1}* ve *bla_{TEM-2}* genlerindeki plazmid aracılıklı mutasyonlar *bla_{TEM}* geninden kaynaklanan GSBL türevlerinin ortaya çıkmasıyla sonuçlanmıştır. TEM-1 Gram (-) bakterilerde en sık karşılaşılan beta-laktamaz enzimlerinden birisidir. Bu enzimin GSBL özelliği bulunmasa da türevlerinin GSBL özellik sergilediği bilinmektedir. 1989 yılında rapor edilen TEM-3 GSBL özellik sergileyen ilk TEM türevi olmuştur (Bradford 2001).

SHV-1 beta-laktamazlar en sık olarak *K. pneumoniae*'den soyutlanmaktadır. *bla_{SHV}* tipi GSBL'ler *K. pneumoniae* kromozomunda bulunan *bla_{SHV-1}* atasal geninin türevleridirler ve *bla_{SHV-1}* genlerinin *IS*'ler aracılığıyla kromozomdan plazmidlere taşındıkları, daha sonra ise özellikle Inc tipi plazmidlerle türler arasında aktarıldıkları düşünülmektedir. SHV-1, TEM-1 gibi kendisi bir GSBL olmasa da SHV GSBL'lerin kökenini oluşturmaktadır. SHV türevlerinin GSBL profili kazanmasında 238. pozisyondaki serin-glisin değişimlerinin önemli olduğu düşünülmektedir. SHV-10 gibi GSBL türevlerinin beta-laktamaz inhibitörlerine karşı da dirençli olabildiği bilinmektedir. *bla_{SHV}* ve *bla_{TEM}* enzimlerinin aktarılmasında integronların (*In*)'lerin rol aldıkları henüz görülmemiştir. GSBL aktivitesi olan SHV'ler *bla_{SHV-1}* geninin mutasyonlarla oluşan versiyonlarıdır (Bradford 2001; Chong vd. 2011).

Çizelge 1.14 Dünyada yaygın olan bazı GSBL enzimleri Hawkey 2008; Chong vd. 2011; <http://www.lahey.org/> 'den uyarlanmıştır)

Enzim	Varyant Sayısı	Bush-Jacoby Sınıfı	Ambler Sınıfı	Kökeni
SHV-14	168	2b	A	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
TEM-13	204	2b	A	<i>Escherichia coli</i>
CTX-M-15	135	2be	A	<i>Kluyvera türleri</i>
OXA-10	255	2de	D	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Metallo Beta-laktamazlar: Metallo beta-laktamaz (MBL) enzimleri ilk kez 1960'larda patojenik açıdan önemsiz birkaç suşta tanımlanmıştır. Fakat 1990'larda bu enzimleri kodlayan hareketli genetik elemanların *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi Gram (-) bakterilere geçişiyle klinik açıdan sorun oluşturmaya başlamışlardır (Cornaglia vd. 2011). Metallo beta-laktamazlar aktiviteleri için en az bir adet çinko iyonuna ihtiyaç duyan ve pek çok beta-laktam sınıfını hidroliz edebilen enzimlerdir. Bu enzimler özellikle karbapenemleri hidroliz edebilirler (Hawkey ve Jones 2009; Öztürk 2008; Bush 2010). MBL enzimlerinin VIM, IMP, SPM, GIM gibi farklı tipleri bulunmaktadır. VIM ve IMP en sık rastlanan MBL tipleridir, kökenleri ise *P. aeruginosa*'dır. VIM enzimlerine ülkemizde de rastlanılmaktadır. (Hawkey ve Jones 2009; Cornaglia vd. 2011,). Bugüne kadar 80 farklı tipte MBL tanımlanmıştır ve bu enzimlerin %75'i plazmid üzerinde kodlanmaktadır. Plazmidlerin yanı sıra sınıf I integronlarda MBL transferinde rol aldıkları bilinmektedir (Bush 2010).

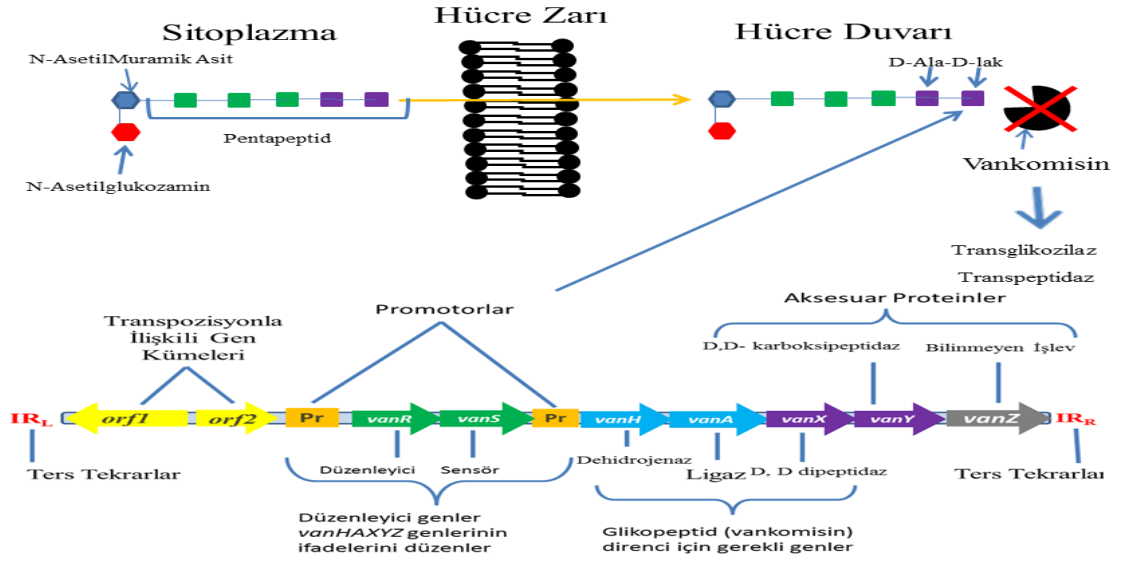
Karbapenemazlar: Karbapenemazlar karbapenemleri hidroliz eden ve beta-laktamaz inhibitörlerinden kısmi olarak etkilenen enzimler olarak tanımlanmaktadır. Karbapenemazlar 1980'lerin ortalarında *Enterobacteriaceae* familyasında tanımlanmışlardır. Bu enzimlerden en yaygın olanları *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz (KPC), ve New Delhi metallo beta-laktamazlar (NDM)'dir (Daikos ve Markogiannakis 2011). NDM enzimleri görece olarak daha yeni enzimlerdir. Bu enzimler mevcut bütün beta-laktam antibiyotiklerini hidroliz edebilirler. NDM-1 NDM enzimlerinin bir alt tipidir ve bu enzimi taşıyan mikroorganizmalar genellikle öteki antibiyotik sınıflarına da dirençli olurlar bu nedenle de tedavi seçenekleri kısıtlıdır (Pillai vd. 2011). KPC üretimi yüksek seviyede karbapenem, sefalosporin ve penisilin direncine neden olabilmektedir. Tüm *bla_{KPC}* genleri *Tn*' ler ile ilişkilidir. *Tn3* ailesine üye 10 kb'lık *Tn4401 bla_{KPC}* genini taşıyabilmektedir (Bush 2010).

1.5.3.2. Glikopeptid Direnci

Hücre duvarı sentezi inhibitörlerinin bir diğer sınıfı glikopeptidlerdir. Bir glikopeptid olan vankomisin Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* tedavisinde kullanılan çok önemli bir antibiyotiktir (Appelbaum 2006). Vankomisine karşı farklı şekillerde direnç gelişebilmektedir. Bu direnç mekanizmalarından ilki daha kalın hücre duvarına sahip ve D-Alanil-D-Alanin yerine Açıl-D-Alanil-D-Alanin sentezleyen *S. aureus* suşlarında gözlenmiştir. İkinci ve asıl mekanizma ise *van* operonlarının edinilmesiyle ortaya çıkan dirençtir. Bu tip direnç özellikle *Enterokoklarda* vankomisin direncine neden olmakta ve ayrıca Transpozon (*Tn*) 1546 gibi hareketli genetik elemanlarla *S. aureus* gibi türlere de aktarılabilir. *van* operonlarına sahip türler hücre duvarı sentezi esnasında D-Alanil-D-Alanin yerine D-Alanil-D-Laktat veya D-Ala-D-Ser sentezleyerek vankomisinin substratına olan ilgisinin düşmesine neden olurlar ve böylece yüksek seviyede vankomisin direnci gelişir (Perichon ve Courvalin 2009). Günümüze değin bazı *van* operonları tanımlanmıştır. Bunlar *vanA*, -B, -C, -D, -E, -G ve -L, -M, -N'dir. *van* operonlarından üzerinde en fazla çalışılmış olanlardan biri *vanA*'dır. *vanA* operonu 9 genden oluşmaktadır. Bu operonda *orf1* ve *orf2* sırasıyla transpozaz ve resolvaz enzimlerini kodlar. *vanX* ve *vanY* genleri peptidaz enzimleri olarak normal peptidoglikan öncülerini ayırır. *vanH* dehidrojenaz enzimidir ve piruvatı D-laktata dönüştürür. *vanA* ise ligaz olarak D-Ala-D-Lak oluşumunu katalizler. *vanR* ve *vanS* genleri diğer *van* genlerinin çalışmasını düzenlemektedir. *vanZ*'nin görevi ise henüz netlik kazanmamıştır (Courvalin 2006, Alekshun ve Levy 2007; Perichon ve Courvalin 2009).

1.5.3.3 Fosfomisin Direnci

Kimyasal yapısı ve etki ettiği bölgenin farklılığı nedeniyle fosfomisine karşı direnç nadir olarak gözlenmektedir. Gelişen direnç mekanizmaları kromozomal, nadir olarakta plazmid kökenlidir. Kromozomal mutasyonların çoğu ilacın içeri taşınmasını sağlayan L-alfa-gliserofosfat ve heksoz fosfat genlerinde meydana gelir. Plazmid aracılıklı direnç ise Plazmidte kodlanmış glutatyon S-transferaz enzimleri olan FosA ve FosB'den kaynaklanır. Bu enzimler ilacı inaktive etmektedirler (Baylan 2010).



Şekil 1.25 *Enterococcus*'ta *van* operonunun düzenlenişi ve vankomisin direncinin ortaya çıkışı. *van* operonu peptidoglikan sentezinde D-Ala-D-Ala yerine D-Ala-D-Lak takarak vankomisinin hedefine ilgisinin düşmesine neden olur. Bu nedenle de vankomisin gibi glikopeptidlere direnç gelişir (Courvalin 2006, Alekshun ve Levy 2007'den uyarlanmıştır)

1.5.4 Hücre Zarına Etki Eden Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç

1.5.4.1. Daptomisin Direnci:

Lizilfosfotidilgliserol (*mprF*) ve histidin kinaz (*yycG*), *rpoB* ve *rpoC* genlerindeki mutasyonların *Staphylococci*'de daptomisine karşı direnç sağladıkları belirlenmiştir ayrıca daptomisine dirençli bazı *S. aureus* suşlarının ilaca karşı geçirgenliklerinin azaldığı bilinmektedir. Ayrıca membran akışkanlığının değiştirilmesi, yüzeyin net pozitif yükünün artırılması, daptomisin hücre zarına bağlanmasının azaltılmasında daptomisin direncinde önemli rol oynadığı görülmektedir (Nannini vd. 2010; Kosmidis ve Levine 2010). Daptomisine dirençli *S. aureus* suşlarında direncin ortaya çıkmasında stafilkokal membran proteini MprF önemli rol üstlenmektedir. MprF fosfatidilgliserole (PG) lizin takan ve aynı zamanda lizinenen PG (L-PG)'yi hücre zarının dış tarafına yerleştirme rolü olan iki işlevli bir proteindir. MprF proteinindeki mutasyonların hücre zarında fazla miktarda lizinenmiş-PG birikimine neden olarak hücre zarını pozitif yükle yüklediği ve bu nedenle pozitif yüklü daptomisin dirençli hücrelerin zarlarına etkin bir şekilde bağlanamadığı tahmin edilmektedir (Peleg vd. 2012).

1.5.4.2. Polimiksin Direnci

Polimiksin grubuna üye olan kolistin ve Polimiksin B gibi antibiyotikler *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* gibi pek çok aerobik Gram (-) bakteri üzerinde etkilidir, Gram (+) ve anaerob bakteriler üzerinde ise etkili değildir. Kolistine karşı direnç olasılıkla az kullanımı nedeniyle fazla rapor edilmemektedir. Bununla beraber bazı *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* suşlarında yüksek seviyede kolistin direnci rapor edilmiştir. Direncin ana nedeninin lipopolisakkarit tabakanın modifikasyonu olduğu düşünülmektedir. Eflüks pompalarının ve membrandaki diğer değişikliklerin de kolistin direncine neden olduğuna inanılmaktadır (Yahav vd. 2011).

1.5.5 Protein Sentezini Engelleyen Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç

Ribozom inhibitörleri 30 S ve 50 S inhibitörleri olarak ikiye ayrılabilir (Kohanski vd. 2010). 50S inhibitörleri makrolitler (eritromisin), linkozamidler ve streptograminlerdir (dalfopristin). Bu grubun hepsine birden MLS_B adı verilmektedir bu grubun bir diğer üyesi ise oksalidionlardır (Woodford 2005; Kohanski vd. 2010). 30 S inhibitörleri grubuna ise tetrasiklinler, aminoglikozitler ve aminosislitoller (spektinomisin, streptomisin, gentamisin) girmektedir (Kohanski vd. 2010).

Aminoglikozit direnci çeşitli yollarla oluşur. Bu yollar arasında 16S rRNA geninde veya ribozomal proteinleri kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonlar, 16S rRNA metilasyonu, dış por azalması, aktif eflüks gibi yöntemler sayılabilir. Aminoglikozit modifiye edici enzimler antibiyotiği çeşitli yollarla modifiye ederler ve sonuçta aminoglikozitlerin etkisiz kalmalarına neden olurlar. Bu enzimler Fosforil transferaz (APH), asetil transferaz (AAC) ve nükleotidil transferazdır (ANT). Aminoglikozit modifiye edici enzimler hareketli DNA elementleri yardımıyla türler arasında taşınabilirler (Ramirez ve Tolmasky 2010).

Tetrasiklin direnci Gram (+) koklarda iyi çalışılmıştır. eflüks pompaları ve ribozomal koruma sistemleri tetrasiklin direncinin oluşmasında etkilidir. Eflüks pompalarına örnek

olarak TetK ve TetL, ribozomal koruma sistemlerine örnek olarak ise TetM ve TetO verilebilir. TetM *Tn916* üzerinde hareketli halde bulunabilmektedir (Woodford 2005). Makrolitler ribozomların 50S alt birimlerindeki 23S rRNA'ların peptidil transferaz merkezi (PTC) bölgesine bağlanarak protein sentezini engelleyen moleküllerdir. Eritromisin gibi makrolitler translokasyon sırasında peptidil tRNA ların ribozomlardan erken ayrılmasına neden olurlar. Böylece protein sentezi önlenmiş olur. Bu nedenle de PTC'yi kodlayan genlerdeki mutasyonlar makrolit direncinde önemli rol oynamaktadır. Kanıtlar eritromisinin 23S rRNA'nın 2058. ve 2059. pozisyonundaki adenin bazına bağlandığını dolaylı olarak göstermektedir (Bozdoğan ve Applebaum 2004; McCusker ve Fujimori 2012).

Makrolit direncinde enzimatik ya da mutasyonel yollarla ribozomal hedefin modifikasyonu, anahtar ribozomal proteinlerin mutasyonu ve efluks gibi olaylar etkili olmaktadır. 23S rRNA'nın 2058. pozisyonundaki adenin bazının mono veya di metilasyonu en sık karşılaşılan makrolit direnç mekanizmasıdır. Söz konusu bölge PTC'yi içermektedir. 23S rRNA metilasyonunun makrolitlerin ribozoma bağlanmasını engellediği düşünülmektedir. Bu metilasyon *erm* genleri tarafından kodlanmaktadır (Bozdoğan ve Applebaum 2004; McCusker ve Fujimori 2012).

23S rRNA'nın II ve V numaralı domainlerinde ya da L4 ve L22 gibi ribozomal proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonların yüksek seviyede makrolit direncine neden olduğu saptanmıştır. 23S rRNA'nın V no'lu domaini translokasyon sırasında peptidlerin transferinde rol oynar. 23S rRNA'yı kodlayan *rrnB* operonlarının sayısı makrolit direnci ile doğrudan ilişkilidir. *Helicobacter pylori* gibi tek *rrnB* operonu içeren canlılarda makrolit direnci kolayca gelişirken *Escherichia coli* gibi bu operondan sekiz kopya taşıyan bakterilerde direnç daha yavaş gelişir (Bozdoğan ve Applebaum 2004).

S. pyogenes ve *S. pneumoniae* gibi Gram (+) bakterilerde edinilmiş/kazanılmış *mefA* ve *mefE* gibi genlerin efluks pompalarının kodlanmasında rol aldıkları dolayısıyla da bu bakterilerde efluks pompalarının makrolit direncinde etkili olduğu belirtilmiştir (Bozdoğan ve Applebaum 2004). Oksazolidinonların (Örn: Linezolid) etki

mekanizmaları hakkındaki erken çalışmalar bu antibiyotiklerin ribozomların 50S alt birimlerine bağlanarak protein sentezinin önlediklerini göstermiştir. İleriki çalışmalarda ise oksazolidinonların PTC'nin A bölgesine bağlanarak aminoasıl tRNA'ların bu bölgeye girişini engelledikleri kanıtlanmıştır. PTC'deki çeşitli mutasyonlar oksazolidinon direncine neden olmaktadır. 23S rRNA daki G2447T, T2500A, A2503G, T2504C, G2505A, G2576T mutasyonlarının oksazolidinon direncine neden oldukları bildirilmiştir (Shaw ve Barbachyn 2011). Plazmid kökenli *cfr* (chloramphenicol florfenicol resistance) genlerinin rRNA'da metilasyonlar meydana getirerek oksazolidinon direncinde rol oynadıkları gösterilmiştir. Bu genin ürünü olan enzim 23S rRNA'nın 2503. pozisyonundaki adenin bazının 8. pozisyonundaki karbon atomuna tek bir metil grubu takmaktadır. Metilasyon sonucu oksazolidinon direncinin yanı sıra linkozamidlere, streptogramin A'ya ve pleromutilinlere direnç gelişmektedir (McCusker ve Fujimori 2012). Ribozomal L3 isimli protein 50 S alt birimin yüzeyinde bulunmaktadır fakat L3'ün küçük bir kısmı PTC ile ilişkilidir. L3 proteininde mutasyonlar içeren *E. coli* suşlarının oksazolidinonlara karşı dirençli hale geldikleri bildirilmiştir (Long ve Vester 2011).

Streptogramin direncinde efluks proteinleri, hedef mutasyonları ve enzimatik inaktivasyon olayları göze çarpmaktadır. ATP Kaset Bağlanma Ailesi (ABC) efluks proteinleri ailesinin streptograminlerin dışarı atılmasında etkili oldukları bilinmektedir. Altı tekrarlı hegzapeptid ailesine üye streptogramin asetil transferaz enzimleri (Örn: *E. faecalis*'te *vatD*) streptogramin direncinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. *vat* genleri *Staphylococci* ve *Enterococci*'de saptanan genlerdir. 23S rRNA'nın erm enzimleriyle modifiye edilmesinin makrolit direnciyle beraber streptogramin ve linkozamitlere çapraz direnç sağladığı bilinmektedir. 23S rRNA mutasyonlarının streptogramin direncine neden olduğu ayrıca bildirilmiştir (Wright 2003; Woodford 2005; Roberts 2008).

1.5.6 Biyokimyasal Yolakları Engelleyen Antibiyotiklere Karşı Gelişen Direnç

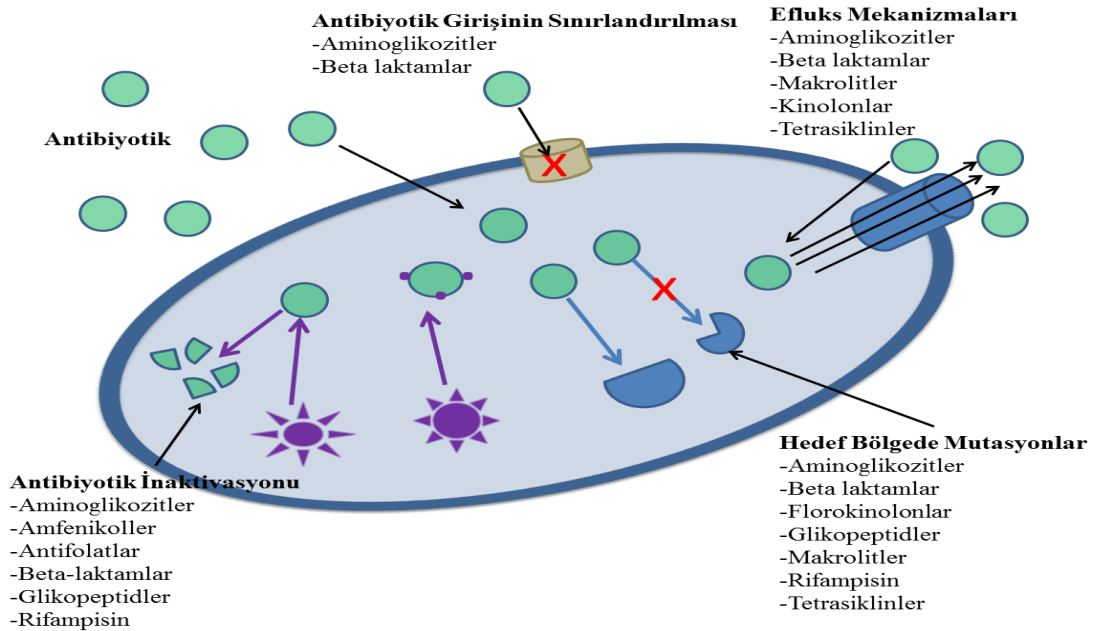
Trimethoprimlere karşı gelişen dirençte kromozomal veya plazmid kökenli genler rol oynamaktadır. *dfr* geni dihidrofolat redüktaz (DHFR) adlı enzimi kodlamaktadır. Kromozomal olarak kodlanan *dfr* geninde meydana gelen mutasyonların *Pnömokok* ve *Enterokoklarda* trimethoprimlere karşı direnç gelişmesine neden olduğu bildirilmiştir. Plazmid kodlu direnç ise *S2* denilen ve *dfrA* ve *dfrD* isimli iki adet gen tarafından kodlanır (Woodford 2005). Kromozomal kökenli trimetoprim direncinde *E. Coli*'de intrinsik *dfr* geninde mutasyonlar rapor edilmiştir. Bunlardan bir tanesi promotörün -35 bölgesinde meydana gelmiş bir diğeri ise promotörün -35 ila -10 bölgesi arasına bir nükleotid insersiyonu yapmıştır. Bu mutasyonlar kromozomal DHFR nin birkaç yüz kez daha fazla üretilmesine sebep olmuştur ve dolayısıyla mikroorganizmaya direnç sağlamıştır. Yine kromozomal *dfr* genindeki bir mutasyonla DHFR'nin otuzuncu pozisyonundaki glisinin triptofana dönüşmesi sonucu trimetoprime karşı direnç ortaya çıkmıştır. Benzer durumlar *Haemophilus influenza* ve *Streptococcus pneumoniae* 'de de görülmüştür (Sköld 2001).

sul1 ve *sul2* genleri *Tn* 'ler ile ilişkili olup plazmid üzerinde taşınmaktadırlar. Bu genler sülfonamidlere yüksek miktarda dirençli olan dihidropteroat sentetaz enzimini üretirler. Kromozomal sülfonamid direnci kromozomal *folP* (dihidropteroat sentetaz geni) geninde meydana gelen mutasyonlarla da sağlanabilir. Örneğin *Escherichia coli folP* genindeki spontan bir mutasyon sülfonamid direncine neden olmuştur. Benzer şekilde kromozomal *folP* genindeki spontan mutasyonlarla meydana gelen sülfonamid direnci *Streptococcus pneumoniae*, *Campylobacter jejuni*, *Haemophilus influenza* 'da görülmüştür. *Neisseria meningitidis* tedavisinde eski zamanlarda sülfonamidler yüksek oranda tedavi amacıyla kullanılmıştır. Dolayısıyla patojenik *Neisseria meningitidis* suşları arasında sülfonamid direnci yaygın olarak görülmektedir. Yapılan çalışmalardan bir tanesinde sülfonamid dirençli *N. meningitidis* kromozomal *folP* geninin sülfonamid duyarlı suşların kromozomal *folP* geninden %10 kadar farklılık gösterdiği ortaya konmuştur (Sköld 2001).

1.6 Diğer Direnç Mekanizmaları

1.6.1 OprD Porları Aracılıklı Direnç

Gram (-) bakterilerin dış zarlarında antibiyotik girişine olanak tanıyan porlar bulunmaktadır. Bu porlar bakterinin büyümesi ve üremesi için gereken maddeleri içeri alırken aynı zamanda beta-laktam, aminoglikozit, tetrasiklin gibi antibiyotikler de porlar aracılığıyla dış membrandan geçebilirler (Lister vd. 2009). OprD proteini de bakterilerin dış ortamdan bazı aminoasit ve peptidleri almak için sıklıkla kullandığı bir proteindir. Bu protein aynı zamanda bu moleküllerin yanı sıra karbapenem tipi beta-laktam antibiyotiklerinin de bakteriye giriş yoludur. Dolayısıyla OprD proteininin ifadesinin azaldığı bakteriler karbapenemlere özellikle de imipenemlere direnç geliştirirler. OprD proteinlerinin loop1, loop5, loop6, loop7, loop8 bölgelerini kodlayan genlerde meydana gelen delesyonların aynı zamanda beta-laktam, kinolon, kloramfenikol ve tetrasiklin direncine yol açtığı da gözlenmiştir (Li vd. 2012). Yapılan çalışmalarda OprD ifadesini azaltan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının karbapenemlere duyarlılıklarının 4 ila 32 kat arasında artış gösterdiğini bildirilmiştir (Sakyo vd. 2006).



Şekil 1.26 Bakterilerdeki antibiyotik direnç mekanizmalarının genel şekli. direnç mekanizmalarından etkilenen antibiyotik sınıfları ayrıca belirtilmiştir (Schmieder ve Edwards 2012'den uyarlanarak çizilmiştir)

OprD proteininin ifadesinin azalması *oprD* promotorunun bozulması ve *oprD* geninin üst bölgesindeki delesyon veya insersiyonlarla meydana gelebilir. Bu bozulmalara İnsersiyon Sekansı 1394 (*IS* 1394) ve *ISpa-16* benzeri insersiyon sekansları da neden olabilirler. Sonuçta OprD ifadesi delesyon, insersiyon gibi mutasyonlarla, çerçeve kayması sonucu stop kodonunun normalden erken gelmesiyle ve *oprD* yapısal geninin *IS*'ler aracılığıyla bozulması sonucu meydana gelebilmektedir (Lister vd. 2009).

1.6.2 Efluks Aracılıklı Direnç

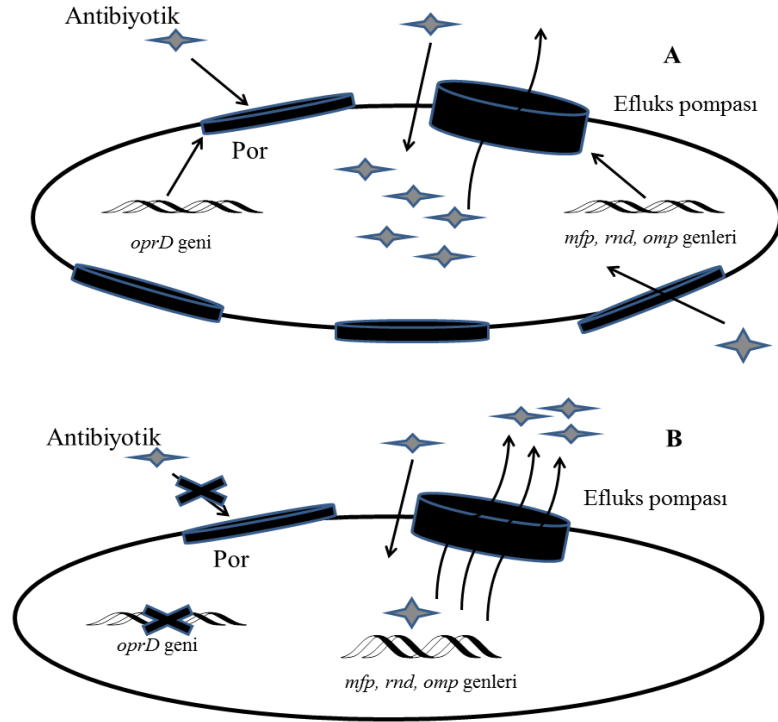
İlaç efluks pompaları hücre içine giren ilaçları değiştirmeksizin hücre dışına pompalamakla görevlidirler (Kumar ve Schweizer 2005). Özellikle Gram (-) bakteriler bu yolla pek çok antibiyotiğe dirençli hale gelirler (Slama 2008, Hirsch ve Tam 2010). Bakteri efluks pompaları 5 aileye ayrılmaktadır. A) Major Faciliator Süperailisi (MFS), B) ATP-binding Cassette (ABC) Süperailisi C) Küçük Çoklu-İlaç Direnç (SMR) Ailesi 4) Direnç Nodülasyon-Hücre Bölünmesi (RND) Süperailisi 5) Çoklu İlaç ve Toksik Bileşik Atım Ailesi (MATE) (Kumar ve Schweizer 2005).

Efluks pompaları tek veya çok bileşenli olarak tanımlanabilirler. Tek bileşenli olanlar substratlarını sitoplazmik membran boyunca taşırlar. Gram (-) bakterilerde oldukça sık gözlenen çok bileşenli efluks pompaları ise periplazmik membran füzyon proteini (MFP) ve dış membran proteini (OMP) gibi bileşenleri ile substratlarını tüm hücre duvarı boyunca taşıyıp dışarı atabilirler (Kumar ve Schweizer 2005).

1.7 Direncin Neden Olduğu Sorunlar ve Direncin Ekonomik Boyutları

Antibiyotikler ilk kullanıldıkları günden bu yana insan sağlığına büyük katkılar yapmışlardır (Yoneyama ve Katsumata 2006). Tüm bu gelişmelere rağmen enfektif-bulaşıcı hastalıklar hala en önemli halk sağlığı sorunlarından birini oluşturmaktadır (Jagutskyn-Krynicka ve Wyszynska 2008). Bu sorunun temelinde de antibiyotiklere karşı gelişen direnç bulunmaktadır (Giedraitienė vd. 2011). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün raporlarına göre her yıl yarısı çocuk olmak üzere on beş milyon insan enfektif hastalıklardan ölmektedir. Bu rakam her saat başı 1500 kişinin öldüğü anlamına

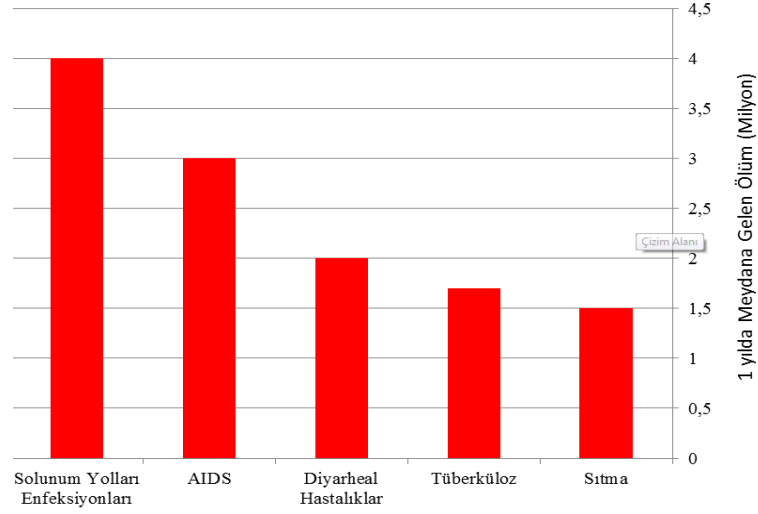
gelmektedir. (Jagustkyn-Krynicka ve Wyszynska 2008). Gelişen direnç nedeniyle antibiyotikler patojen mikroorganizmalara karşı etkisiz kalmakta, hastaların ölüm oranları artmakta (Cars ve Nordberg 2004), hastanede kalma süreleri uzamakta ve sağlık harcamaları artmaktadır (Sipahi 2008; 13-Livermore 2009). Bu sayılan nedenler dolayısıyla da yeni antibiyotiklere acilen ihtiyaç vardır (Coates vd. 2011).



Şekil 1.27 A: Dış zarda bulunan porlardan bazı besin maddelerinin yanı sıra karbapenem gibi antibiyotiklerde girebilir. Eflüks pompaları da içeri giren antibiyotikleri pompalamada yetersiz kalabilir. **B:** Porları kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonlar ya da por geninin promotor bölgesinin hareketli genetik elemanlarıyla bozulması sonucu por ifadesi azalabilir. Hücreye ilacı içeri alan porların sayısının azalması ya da pompalar aracılığıyla ilacın dışarı atılması sonucu hücre içine antibiyotik girişi sınırlanır ve direnç gelişebilir. (Yoneyama ve Katsumata 2006; Lister vd. 2009'dan uyarlanmıştır).

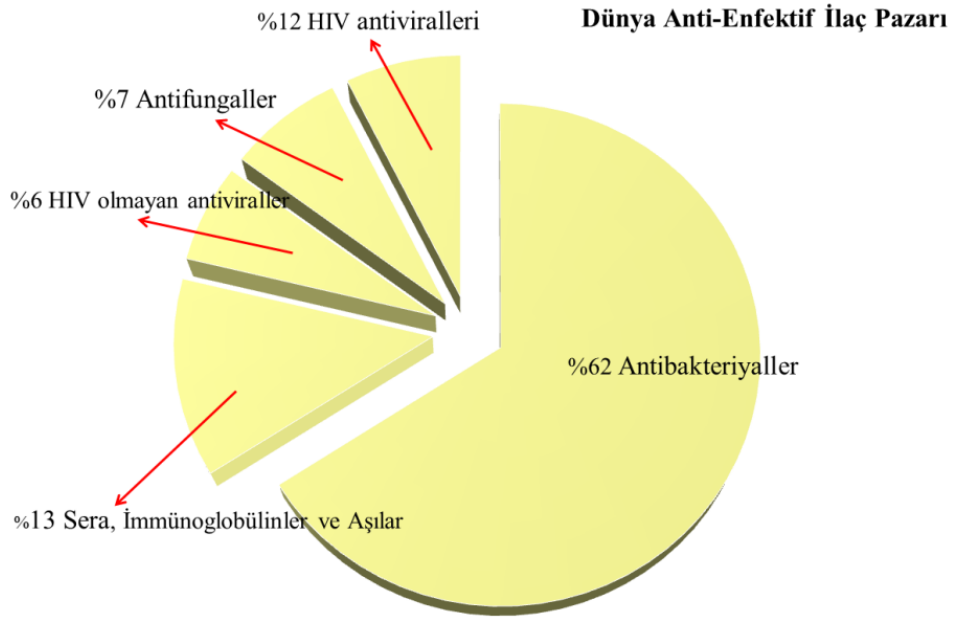
Antibiyotikler ilk kullanıldıkları günden bu yana pek çok yaşam kurtarmıştır. Penisilin başarısının ardından ilaç şirketleri daha güçlü ve geniş etkili antibiyotikler bulmak adına adeta birbirleriyle yarışmışlardır. Bu rekabetin sonucu olarak sonraki birkaç on yılda streptomisin, tetrasiklin, aminoglikozit, glikopeptid, sefalosporin, karbapenem, beta-laktamaz inhibitörleri, monobaktamlar gibi pek çok farklı antibiyotik keşfedilmiştir (Bush 2004). Günümüzde her yıl 500 metrik tondan fazla antibiyotik üretildiği tahmin edilmektedir (Madigan ve Martinko 2010).

Dünyada Enfektif Hastalıkların Neden olduğu Yıllık Ölüm Oranları
(12-Cars ve Nordberg 2004).



Şekil 1.28 Enfektif hastalıkların dünyada neden oldukları yıllık ölüm oranları (Cars ve Nordberg 2004)

2002’de dünyadaki anti-enfektif ilaç pazarının 45 milyar dolar olduğu hesaplanmıştır. Bu payın %62’ sinin yani 28 milyar dolarının antibakteriyel ilaçlara ait olduğu tahmin edilmiştir (Bush 2004). 1996 yılında Türkiye’nin sağlık harcamalarının % 26,3 ü antibiyotik alımına, bu payın da % 22,4’ünü antibiyotiklere harcanmıştır. Bu miktar yaklaşık olarak 400 milyon dolara eşittir (Sipahi 2008).



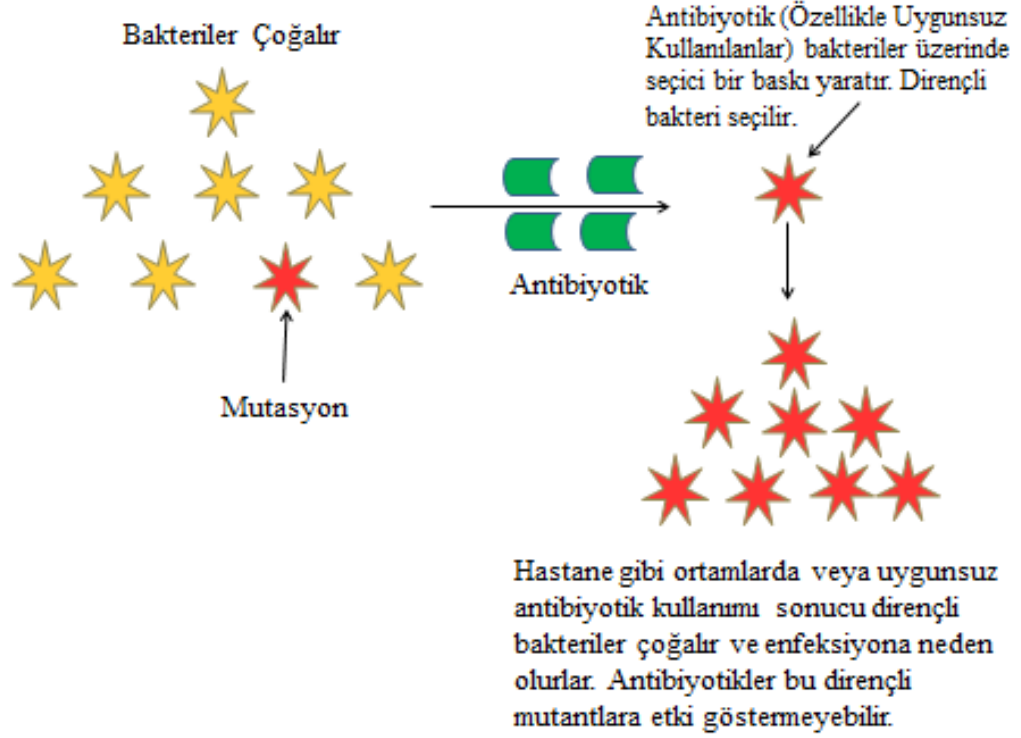
Şekil 1.29 Dünya anti-enfektif ilaç pazarı ve ilaçların yıllık pazar oranları (Bush 2004)

Antibiyotiklere dirençli canlıların toplum içerisindeki sıklıkları giderek artmaktadır ve bu durum küresel bir sorun haline almaya başlamıştır (Cars ve Nordberg 2004; Fischbach ve Walsh 2009; Schmeider ve Edwards 2012). Her ne kadar enfektif hastalıkların tedavisi ve organ nakilleri gibi durumlarda antibiyotikler hayati öneme sahip olsalar da antibiyotiklere karşı gelişen direnç antibiyotikleri etkisiz kıldığı için klinik ve finansal anlamda çok büyük sorunlar oluşmaktadır.

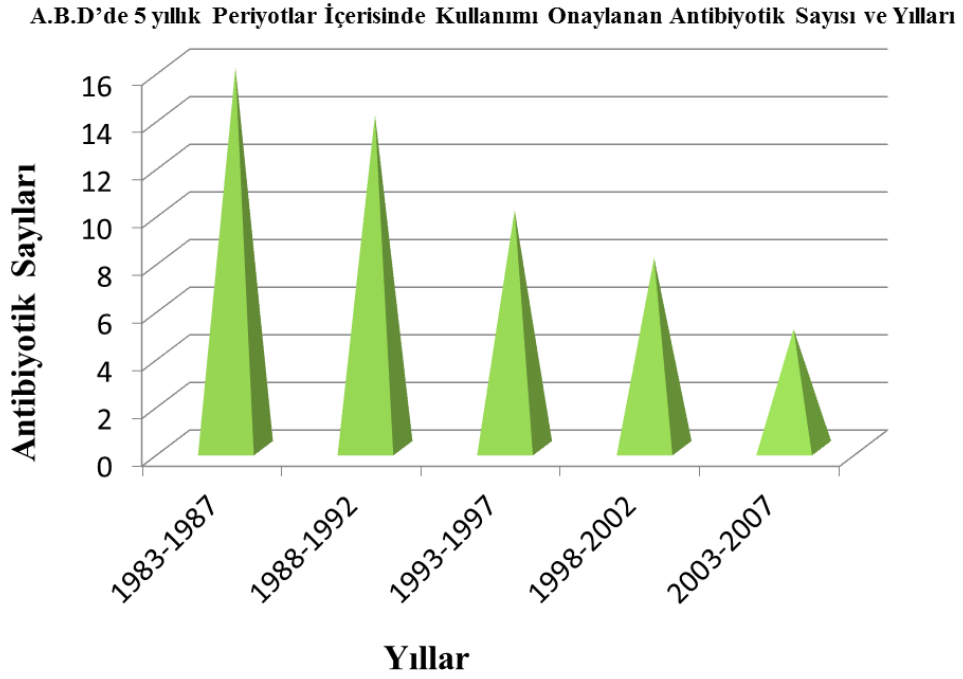
Enfeksiyona neden olan hastalıkların dünyadaki ölümlerin beşte birinden sorumlu olduğu (Cars ve Nordberg 2004) Amerika Birleşik Devletlerinde hastane kaynaklı enfeksiyonların 100.000 kişiden fazla insanı öldürdüğü ve 25 milyar dolarlık gidere neden olduğu, Avrupa'da ise her yıl 25.000 insanın hayatına mal olup sağlık sistemine 1,5 milyar avruluk ek yük getirdiği tahmin edilmektedir (Norrby vd. 2009; Schmeider ve Edwards 2012).

Dirençli suşlar ile direnç genlerinin yayılımı farklı etkenlere bağlı olsa dahi direnç gelişiminin esas nedeni antibiyotiklerin uygunsuz kullanımudur. Hastane kökenli patojenler veya insan normal florasının birer parçası olan bakteriler antibiyotiklere maruz kaldıkları zaman antibiyotiklerin seçici baskılarından dolayı ilaca dirençli hale gelebilmektedirler (Jernberg vd. 2010; Schmeider ve Edwards 2012).

Geçmişte dirençli patojenlere karşı yeterli miktarda ilaç üretilmesine karşın günümüzde bu durum tam tersine dönmüştür. Üstelik sadece ABD'de hastane kökenli enfeksiyonlara neden olan bakterilerin yüzde on beşinden fazlası çoklu ilaç direnci (MDR) bulunan patojenlerdir. Bu durum sonucunda ise hastaların hastanede kalma süreleri uzamakta ve sağlık giderleri artmaktadır (Theuretbacher 2012). Son on yılda neredeyse her tip bakteri antibiyotiklere daha dirençli hale gelmiştir (Savjani vd. 2009). Direnç problemi nedeniyle hastaların ölüm oranları artmakta (Cars ve Nordberg 2004), hastanede kalma süreleri uzamakta ve sağlık harcamaları artmaktadır (Sipahi 2008, Livermore 2009). Dirençlilikteki artışla beraber yeni antibiyotik sayısındaki azalma ve antibiyotiklerin etkisiz kalması bu sorunun büyümesini körüklemektedir (Bradley vd. 2007; Högberg vd. 2010).



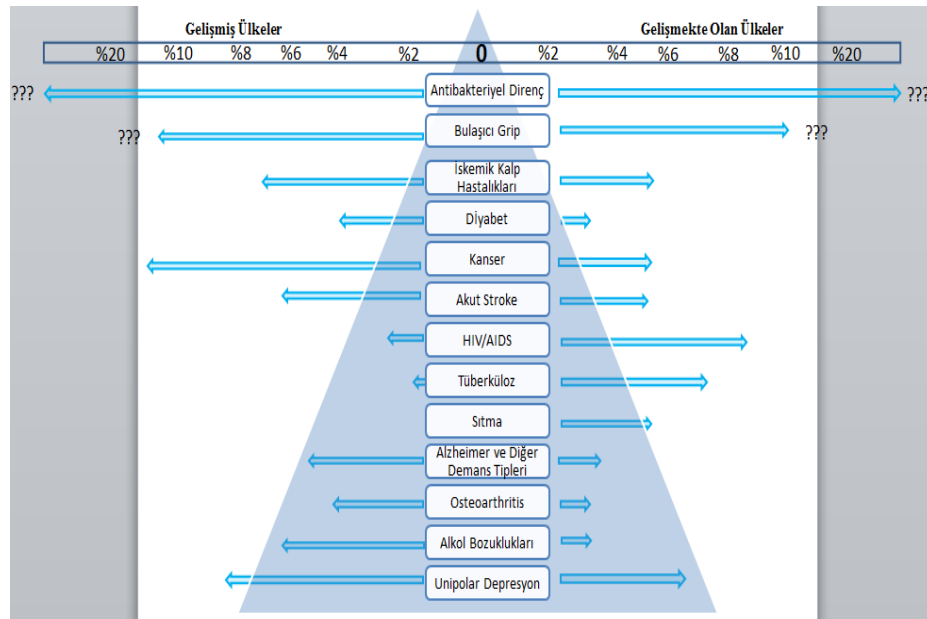
Şekil 1.30 Bakteriler üzerinde seçici baskı oluşumunu özetleyen şekil (Coates ve Hu 2007'den uyarlanarak çizilmiştir)



Şekil 1.31 Kullanıma giren yeni antibiyotik sayısındaki azalma (Boucher vd. 2009'den uyarlanmıştır)

1.8 Yeni Antibiyotiklerin Geliştirilmesi Gereklidir

İlaçlara dirençli patojenlerin oluşturduğu enfeksiyonların tedavisi günümüzde zor hatta olanaksız hale gelebilmektedir. Bu nedenle dirençli patojenlere karşı etkili yeni bileşiklerin üretilmesi yeni ilaçların kullanıma girmesi açısından oldukça önemlidir (Coates ve Hu 2007; Branski vd. 2009; Boucher vd 2009; Morell ve Balkin 2010). Dirençli mikroorganizmalar nedeniyle büyük ilaç şirketleri antibiyotik üretim alanından çekilmektedir. 1999'dan bu yana en büyük on beş ilaç şirketinden on tanesi antibiyotik araştırma-geliştirme çalışmalarını ya azaltmış ya da tamamen durdurmuştur (Coates ve Hu 2007). 2002 yılında 22 ilaç şirketinin geliştirmekte olduğu 506 molekülün sadece 6 tanesinin antibiyotik adayı olduğu belirtilmiştir (Bradley vd. 2007). Bu olumsuzluklara rağmen Dünya Sağlık Örgütü (DSO)'ne göre en acil ilaç ihtiyacı olan hastalık ne kanser ne AIDS ne de diğer hastalıklardır. Birinci sırada hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkeler için antibiyotiklere dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar yer almaktadır (Kaplan ve Laing 2004). Bu nedenle toplum sağlığı için sorun oluşturan patojenlerle etkili ve zamanında mücadele edebilmek için yeni bileşiklerin taranarak ve içlerinde öncü olabilecek moleküllerin seçilmesi gerekmektedir (Coates ve Hu 2007; Morell ve Balkin 2010; Rahman vd. 2010).



Şekil 1.32 Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre toplumu ilgilendiren önemli hastalıklar (WHO-Kaplan ve Laing 2004'ten uyarlanmıştır)

1.9 Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar ve Özellikleri

Çizelge 1.15 Çalışmada kullanılan mikroorganizmaları özetleyen tablo

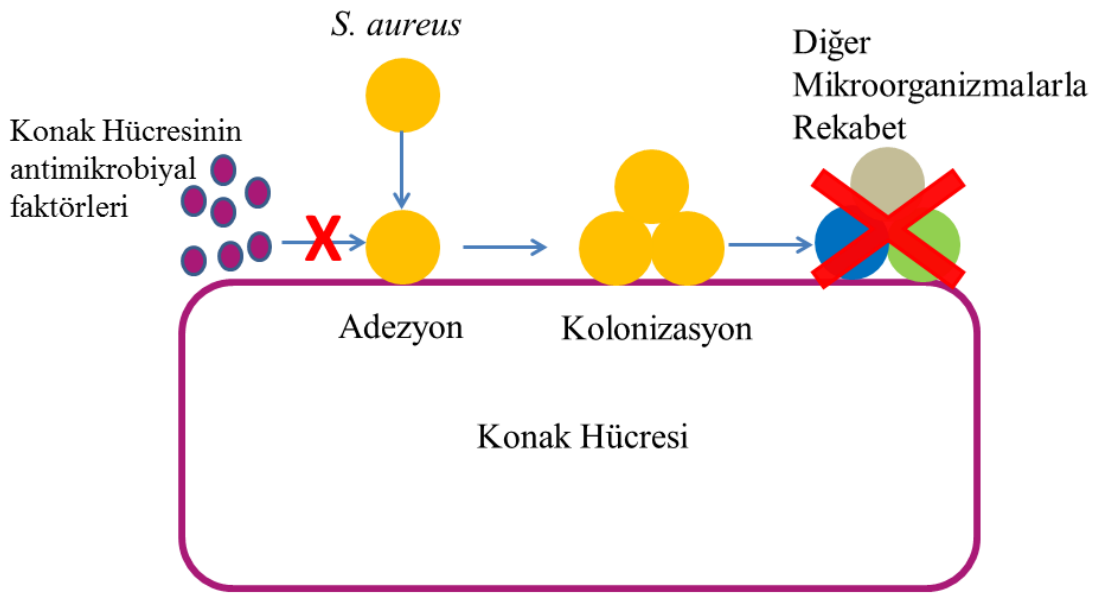
Tür adı	Açıklama
<i>Staphylococcus aureus</i> ve Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA).	Hastanelerde ve Toplum içerisinde sık rastlanan ciddi enfeksiyonlara yol açan bir bakteridir. Antibiyotiklere dirençli olması nedeniyle acilen ilaç gereksinimi bulunmaktadır (Bryne ve Wilcox 2011).
<i>Enterococcus faecalis</i> ve Vankomisine Dirençli <i>Enterokoklar</i>	Problematik enfeksiyonlara neden olmaları, vankomisine dirençli suşlarının bulunması nedeniyle tedavi olanakları kısıtlamaları ve direnç geliştirmeye olanak sağlayan genetik yapılarıyla sorun oluştururlar (Fisher ve Philips 2009).
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Pek çok ilaca dirençli bir patojendir. Dolayısıyla tedavi seçenekleri kısıtlıdır (Podschn ve Ullmann-1998; Keynan ve Rubinstein 2007).
<i>Escherichia coli</i>	Biyolojide model olarak kullanılan ve İdrar yolları enfeksiyonlarının en yaygın nedeni olan mikroorganizmadır. İlaçlara dirençli olması nedeniyle sıkıntı yaratmaktadır (Alteri ve Mobley 2012; Chadhuri ve Henderson 2012).
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Çoklu ilaç direnci bulunan Gram (-) bir patojendir. Hastane kökenli ciddi enfeksiyonlara neden olur (Zhao ve Hu 2012).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kullanımda olan bütün antibiyotiklere direnç geliştirebilen, oldukça sorunlu bir bakteridir. Ülkemizde de PER ve OXA tipi GSBL enzimlerinin yayılmasından sorumludur (Hirsch ve Tam 2010).
<i>Candida albicans</i>	Normal şartlarda zararsız bir mantar olan fakat AIDS, kanser, diyabet vb.gibi olağanüstü koşullarda en sık rastlanan mantar patojenidir (Abi-Said vd 1997).

1.9.1 *Staphylococcus aureus* ve MRSA

Staphylococcus aureus insan normal florasının parçası olan Gram (+) bir bakteridir. *Staphylococcus aureus* insanların burun, boğaz boşluğu gibi bölgelerinde komensal olarak yaşamaktadır. Fakat bu mikroorganizma aynı zamanda yaralarda veya kalıcı tıbbi aygıtların üzerinde kolonize olarak ciddi enfeksiyonlara da yol açmaktadır. Bu canlı deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının en yaygın nedenidir (Edwards vd. 2012). Başlıca *Staphylococcus aureus*-MRSA enfeksiyonları arasında deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, endokarditidis, toksik şok sendromu, kan dolaşımı enfeksiyonları, bakteremi, septik artiritidis, deri apseleri vb. enfeksiyonlar sayılabilir (Morell ve Balkin 2010; Bryne ve Wilcox 2011; Fitzgerald 2012).

S. aureus' un enfeksiyon bölgesinde kolonize olabilmesi için konağa tutunması, immün sistemden kaçınması veya immün sistemin baskılamaya çalışması ve diğer komensal mikroorganizmalarla rekabete girmesi gerekmektedir. Kolonizasyon aşamasında

yukarıda sayılanları gerçekleştirmek için *S. aureus* çeşitli proteinler üretmektedir. Konağa tutunmada görev alan proteinlerden fibronektin bağlanma proteini A ve B (Fnbp A ve B) fibronektin ve fibrinojenlere bağlanmada, fibrinojen bağlanma proteinleri (Clf A ve B) ve iron regulated surface determinant A (IsdA) fibrinojenlere bağlanmada; wall teikoik asit (WTA) ise fibronektinlere bağlanmada görev alır. Bu proteinler bakımından herhangi bir eksiklik gösteren suşların konağa tutunmada başarısız oldukları gözlenmiştir (Edwards vd. 2012; Krishna ve Miller 2012).



Şekil 1.33 *S. aureus*'un kolonizasyonu, konak hücre, konak hücrenin bağışıklık faktörleri ve diğer mikroorganizmalarla etkileşimleri içeren çok etkenli bir süreçtir (Edwards vd. 2011'den uyarlanmıştır)

S. aureus immün sistemi baskılamak için de çeşitli virulent faktörler kullanır. Bunlar arasında alfa toksinler, fenolde çözünebilir modulinler (PSM) ve Panton– Valentine lökositinler (PVL) bulunur. Bu toksinler konak hücrelerinin lize olmasında görev alırlar. *Staphylococci* kemotaksi engelleyici protein (CHIPS) ve ekstraselüler aderens protein (Eap) gibi proteinlerle nötrofillerin işlevlerini bozarlar. Altın karotenoid pigmenti ve süperoksit dismutaz enzimleriyle reaktif oksijen türevlerini (ROS) yok edebilirler. Böylelikle nötrofillerin ROS aracılıklı etkileri engellenmiş olur (Edwards vd. 2011; Krishna ve Miller 2012).

S. aureus' un metisiline dirençli suşları Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) olarak adlandırılmaktadır. MRSA'ların hastanelerden toplum içine hızla yayılan suşları ise toplumla-ilişkili MRSA (CA-MRSA) olarakta anılmaktadırlar (Krishna ve Miller 2012). MRSA'lar ilk kez 1961 yılında rapor edilmişlerdir. Bu patojenler antibiyotiklere dirençli oldukları için toplum sağlığı açısından çok büyük sorunlara yol açmaktadırlar. Günümüzde genel popülasyonun % 30'unun MRSA'yı sessiz bir şekilde taşıdığı tahmin edilmektedir (Byrne ve Wilcox 2011). 2004 yılında İngiltere'deki *S. aureus* kökenli bakterimilerin %41'inin, 2008 de ise % 23'ünün MRSA kaynaklı olduğu görülmüştür (Byrne ve Wilcox 2011). 1974 yılında yoğun bakım ünitelerindeki hastane enfeksiyonlarında MRSA sıklığı %2 iken bu rakam 2004 yılında %64 e yükselmiştir (Morell ve Balkin 2010). MRSA'nın her yıl ABD' de 19.000 kişinin ölümüne neden olduğu sanılmaktadır. Bu sayı AIDS, tüberküloz, ve kronik hepatit gibi hastalıkların neden olduğu ölüm sayılarının toplamına yakındır (Boucher 2010). MRSA ile ilişkili enfeksiyonların sağlık sistemine 3-4 milyar dolar ek gider getirdiği sanılmaktadır (Fischbach ve Walsh 2009). Bu gibi nedenlerle MRSA'lara karşı etkili yeni ilaçlara ihtiyaç vardır (Boucher vd. 2009).

Vankomisin MRSA suşların tedavisinde sıkça kullanılan en önemli antibiyotiktir. Fakat bu ilacın aşırı kullanımı da Vankomisin Intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) ve Vankomisine Dirençli *Staphylococcus aureus* (VRSA) suşların ortaya çıkışına neden olmuştur. VRSA suşlar vankomisine de dirençli olduklarından tedavi seçeneklerini ciddi biçimde kısıtlayarak büyük tehlike yaratırlar. *S. aureus*'un pek çok suşunun vankomisin için Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değeri 0,5-2 mg/L'dir. Eğer bir *S. aureus* suşunun MİK değeri 8-16 mg/L arasında ise VISA, MİK değeri $x \geq 32$ mg/L ise VRSA olarak sınıflandırılır (Applebaum 2006). 2005 yılında Sancak vd.'nin bildirdiğine göre Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde çoğunluğu kan enfeksiyonları kökenli olmak üzere VISA sıklığı %18 (46/256) olarak bulunmuştur (Sancak vd. 2005). Bu gibi çalışmalar VISA ve VRSA sıklığının artabileceği yönünde bir algılamının oluşmasına neden olmaktadır (Applebaum 2006). Bununla beraber ülkemizin yedi farklı coğrafi bölgesini temsilen yedi bölgeden toplanan 260 MRSA suşunda vankomisin direnci sıklığı araştırılmış umut verici bir sonuç olarak MRSA'larda vankomisin direncine rastlanılmamıştır (Cesur vd. 2012).

Çizelge 1.16 Ülkemizde *Staphylococcus aureus* 'un neden olduğu enfeksiyonlar ve *S. aureus* sıklığı ile ilgili bazı bilgiler

Mikroorganizma	Açıklama
<i>S. aureus</i> (MRSA)	Ülkemizde 2001-2002 yılında hastane kökenli <i>S. aureus</i> izolatlarının %44'ünün metisiline dirençli oldukları, 2003 ve 2004 yıllarında ise bu rakamın %41'e gerilediği belirtilmiştir (Altunsoy vd. 2011).
<i>S. aureus</i> (VISA)	2005 yılında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde çoğunluğu kan enfeksiyonları kökenli olmak üzere VISA sıklığı %18 (46/256) olarak saptanmıştır (Sancak vd. 2005).
<i>S. aureus</i> (VRSA)	Ülkemizin yedi farklı coğrafi bölgesini temsilen yedi bölgeden toplanan 260 MRSA suşunda vankomisin direnci sıklığı araştırılmış umut verici bir sonuç olarak MRSA'larda vankomisin direncine rastlanılmamıştır (Cesur vd. 2012).

1.9.2 *Enterococcus faecalis* ve VRE

Enterokoklar Gram pozitif spor oluşturmeyen bakterilerdir. Bu bakteriler ilk kez 1899 yılında tanımlanmışlardır ve 1937 yılında Sherman tarafından *Streptococci* genusuna dahil edilmişlerdir (Sherman 1937). 1984 yılında DNA hibridizasyonu ve 16S rRNA sekanslama çalışmaları sonucunda ise *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus faecium* türlerinin diğer *Streptokok* türlerinden farklı olduğunun görülmesi ile beraber *Enterococcus* genusu tanımlanmıştır. İlk tanımlandığı zaman 9 tür *Enterococcus* genusuna dahil edilmiştir 2006 yılına gelindiğinde ise *Enterococcus* genusunda 28 tür tanımlanmıştır (Fisher ve Philips 2009). *Enterococcus* insan fekal florasının doğal bir parçasıdır fakat idrar yollarında, ağız boşluğunda, ürogenital yollarda, deride de az da olsa bulunabilirler. Özellikle 1990'lerden sonra *Enterokoklar* neden oldukları hastane kökenli enfeksiyonlar nedeniyle önem kazanmışlardır. Bu enfeksiyonlar hayati tehlike yaratacak kadar önemli olabilmektedir (Sood vd. 2008). *Enterokoklar* yara ve idrar yolları enfeksiyonlarının en yaygın ikinci, bakteriminin ise en yaygın üçüncü nedenidir. ABD'de hastane kökenli enfeksiyonların %12'si *Enterokoklar* tarafından oluşturulur. Hastalık yapan en az 12 adet *Enterokok* türü tanımlanmış olsa da bu enfeksiyonların pek çoğu iki tür tarafından meydana getirilir. Tüm *Enterokok* enfeksiyonlarının % 80-90'ından *Enterococcus faecalis* sorumlu iken %5-10'undan ise *Enterococcus faecium* sorumludur (Fisher ve Philips 2009; Sood vd 2008).

Enterokoklar pek çok antibiyotiğe karşı dirençli olabilirler. Özellikle Vankomisine Dirençli *Enterokok* (VRE) suşları klinikte oldukça büyük sorunlar çıkartmaktadırlar. *Enterokoklarda* vankomisin direncini *van* genleri sağlamaktadır (Fisher ve Philips

2009). VRE sıklığının dünyada artış içinde olduğu ve hastaların tedavi olasılıklarını kısıtladıkları bilinen bir gerçektir. 1989-1993 yılları arasında VRE ile enfekte hastaların ölüm oranlarının %27 den %52 ye çıktığı belirtilmiştir (Fisher ve Philips 2009). Enterokokların bu denli sorunlu mikroorganizmalar olmalarının altında yatan sebep pek çok antibiyotiğe karşı dirençli olmalarının yanı sıra yatay gen transferine olanak sağlayan genetik yapılarıdır (Sood vd 2008). Plazmidler ve transpozonlar gibi hareketli genetik elemanlar *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin antibiyotiklere direnç kazanıp bu direnci yaymalarında önemli görev üstlenirler (Hegstad vd. 2010). Tüm *Enterokok* genomunun % 25 i hareketli veya dışarıdan alınmış genetik elemanlardan oluşmaktadır (Tendolkar vd. 2003).

Çizelge 1.17 Ülkemizdeki VRE'ler ile ilgili bazı verileri özetleyen tablo

Mikroorganizma	Direnç	Açıklama
<i>E. faecium</i>	Vankomisin	Türkiye'de rapor edilen ikinci VRE vakasıdır. <i>vanA</i> operonunun <i>Tn1546</i> benzeri transpozonla plazmid üzerinde taşıdığı belirlenmiştir (Çolak vd. 2002).
<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. gallinarum</i>	Klinik izolatların %47'sinde çoklu antibiyotik direnci, . Vankomisine dirençlilik %34.8.	Ülkemizden rapor edilen üçüncü VRE vakasıdır (Coleri vd. 2003).
<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	Doğal fermente ürünlerden izole edilen <i>Enterococcus</i> suşlarında orta düzey vankomisin direnci <i>E. faecium</i> için %3 ve <i>E. faecalis</i> için %9 olarak bulunmuştur.	Peynirden izole edilen bir <i>Enterococcus faecalis</i> suşunda <i>vanA</i> operonu saptanmıştır. Ayrıca <i>Enterococcus faecalis</i> suşlarının %11'inde çoklu antibiyotik direnci gözlenmiştir (Toğay vd. 2010).
<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>Enterococcus spp.</i>	Gaziantep Çocuk Hastanesinde 123 hastanın 18'inde (%14,6) VRE tespit edilmiştir.	VRE izolatlarında <i>vanA</i> tipi direnç olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda enfeksiyon kontrol mekanizmaları uygulanmış ve VRE sıklığında belirgin bir azalma sağlanmıştır (Yiş vd. 2011).

Yoğun bakımda yatan hastalar, kanser hastaları, kronik böbrek hastaları, uzun süre hastanede yatan kişiler veya daha önce VRE enfeksiyonu geçirmiş kişilerin VRE ile enfekte olma riskleri yüksektir. VRE'ye karşı korunma için vankomisinin akılcı kullanımı, hastane personelinin doğru eğitimi, el hijyenine dikkat edilmesi, VRE'ye karşı çabuk ve doğru tanı konulması önem taşımaktadır (Sood vd. 2008).

1.9.3 *Klebsiella pneumoniae*

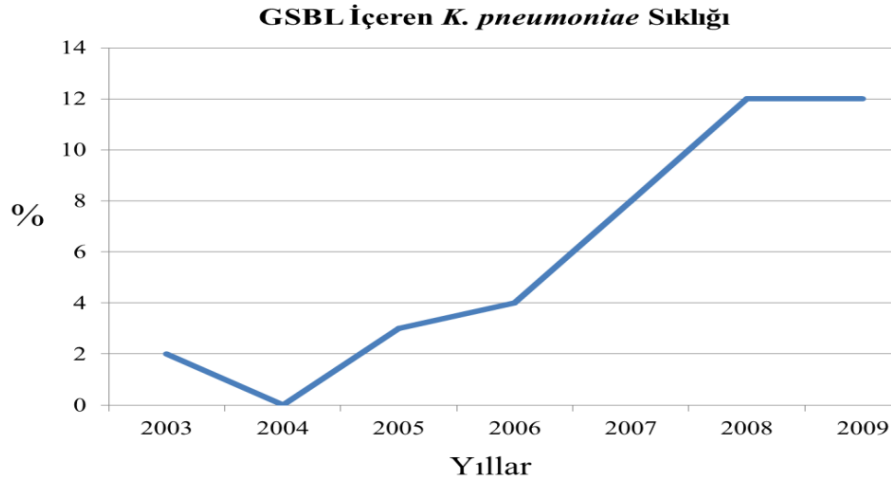
Klebsiella pneumoniae *Enterobacteriaceae* ailesine üye olan Gram (-) bir bakteridir (Keynan ve Rubinstein 2007). *K. pneumoniae*'nin doğal olarak yaşadığı iki ortam bulunmaktadır. Bu ortamlardan ilki atık suları, yüzeyde bulunan sular ile toprak ve bitkilerdir. İkinci olarak *K. pneumoniae* insan, at ve domuz gibi memelilerin mukozal yüzeylerinde kolonize olur (Podschun ve Ullmann 1998). Bu patojenler hem hastane kökenli enfeksiyonlara neden olmalarıyla hem de pek çok antibiyotiğe direnç geliştirmeleri nedeniyle dünya çapında sorun yaratmaktadırlar. *K. pneumoniae* idrar yolları, kan dolaşımı, intra-abdominal enfeksiyonlara ve pnömoniye neden olabilir.

Klebsiella pneumoniae'nin ABD ve İngiltere'deki tüm hastane kökenli enfeksiyonların %8'inden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca bu patojen idrar yolları enfeksiyonlarının *Escherichia coli*'den sonra en yaygın ikinci nedenidir. Bu mikroorganizma ürettiği Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz enzimleri (GSBL) sayesinde sefalosporinlere, penisilinlere ve monobaktamlara dirençlidir. GSBL'ler sıklıkla plazmidler üzerinde başka direnç genleriyle beraber aktarıldığı için *K. pneumoniae* aminoglikozit, sülfonamid ve florokinolon gibi antibiyotiklere de direnç göstermektedir. GSBL enzimleri karbapenemleri hidroliz edemezler fakat *K. pneumoniae* geliştirmiş olduğu üç mekanizma ile bu antibiyotikleri etkisiz hale getirebilir. 1) Antibiyotikleri içeri alan porların sayısının azaltılmasıyla beraber ilaçlara geçirgenlik azaltılabilir ya da efluks pompalarıyla ilaç dışarı pompalanabilir. 2) Karbapenemaz üretimiyle karbapenemler hidroliz edilebilir 3) PBP'nin mutasyonlarla yapısının değiştirilmesi sonucu karbapenemlerin PBP'ye olan ilgisi düşürülebilir (Podschun ve Ullmann 1998; Keynan ve Rubinstein 2007). *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz (KPC) enzimi karbapenemleri hidroliz edebilir. İlk KPC üreten *K. pneumoniae* suşu 2001 yılında ABD'den rapor edilmiştir (Yigit vd. 2001). KPC üreten *K. pneumoniae* sayısı sürekli bir artış içindedir. *K. pneumoniae*'nin bazı suşları KPC enzimlerinin yanı sıra TEM, SHV, CTX-M gibi GSBL enzimlerini de üretmektedirler. Bu canlılar pek çok antibiyotiğe dirençli oldukları için tedavi seçenekleri de sınırlı hale gelmektedir (Arnold vd. 2011; Daikos ve Markogiannakis 2011).

Çizelge 1. 18 Türkiye’den bazı merkezlerdeki *K. pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnç durumlarını gösteren tablo

Açıklama
a) 2000 yılında Türkiye’den sekiz büyük hastanenin katılımıyla yapılan çalışmada yoğun bakım ünitelerinden izole edilen <i>K. pneumoniae</i> suşlarının Amoksisilin-klavulanat, seftriakson, anikasin, gentamisin, piperasilin-tazobaktam gibi antibiyotiklere dirençli oldukları saptanmıştır (Aksaray vd. 2000).
b) 2000-2003 yılları arasında ülkemizin dokuz merkezinden toplanan <i>K. pneumoniae</i> suşlarında GSBL üretim oranı %48,7, tobramisin, siproflaksasin ve piperasilin-tazobaktam direnci ise sırasıyla %75,7, %40,3 ve %48,3 olarak bildirilmiştir (Korten vd. 2007).
c) Muhtaseb ve Kaygusuz’un bildirdiğine göre Türkiye’de <i>K. pneumoniae</i> suşlarının %33’ü Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz (GSBL) üretmektedir (Muhtaseb ve Kaygusuz 2008).

Yaşlı hastalar, daha önce antibiyotik tedavisi görmüş kişiler, organ nakli olanlar, mekanik havalandırmaya maruz kalanlar ve hastanede uzun süre yatan kişiler *K. pneumoniae* enfeksiyonu için risk altındadırlar (Arnold vd. 2011).



Şekil 1.34 Japonya-Fukuoka’da Hara-Sanshin Hastanesinde GSBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının yüzdesinin yıllar içindeki artışı (Chong vd. 2011’den uyarlanmıştır)

1.9.4 *Escherichia coli*

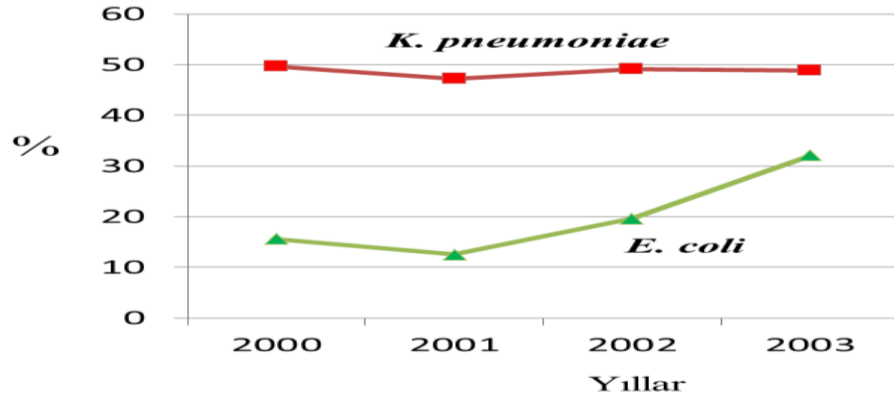
Escherichia coli biyoloji laboratuvarlarında kullanılan en önemli model organizmalardan bir tanesidir ve Theodor Escherich tarafından 1885 yılında keşfedilmiştir. *Enterobacteriaceae* ailesine üye olan bu Gram (-) mikroorganizma memeli bağırsaklarında komensal olarak yaşamaktadır. Her ne kadar *E. coli* komensal bir bakteri olsa da bazı *E. coli* suşları oldukça ciddi enfeksiyonlara yol açabilmektedir

(Alteri ve Mobley 2012; Chadhuri ve Henderson 2012). *E. coli*'nin patojenik suşları bağırsak ve bağırsak dışı patojenler olarak ikiye ayrılabilir. Özellikle ikinci grup geniş çapta enfeksiyonlara neden olmaktadır. *E. coli* dünyada idrar yolları enfeksiyonlarının en yaygın nedenidir. *E. coli*'nin neden olduğu idrar yolları enfeksiyonları yüzünden sadece ABD'de yılda 7 milyon hasta hastaneleri ziyaret etmektedir. İdrar yolları enfeksiyonlarından başka *E. coli* her 1000 doğumun 0.25'inde gözlenen yenidoğan menenjitinden (gelişmekte olan ülkelerde 2.66/1000), intra abdominal enfeksiyonlardan, solunum yolu enfeksiyonlarından, yara ve cerrahi enfeksiyonlardan da sorumludur. Koli-septisemi ise *E. coli*'nin idrar yolları enfeksiyonlarından sonra en sık sorumlu olduğu ikinci enfeksiyon tipidir (Ron 2010).

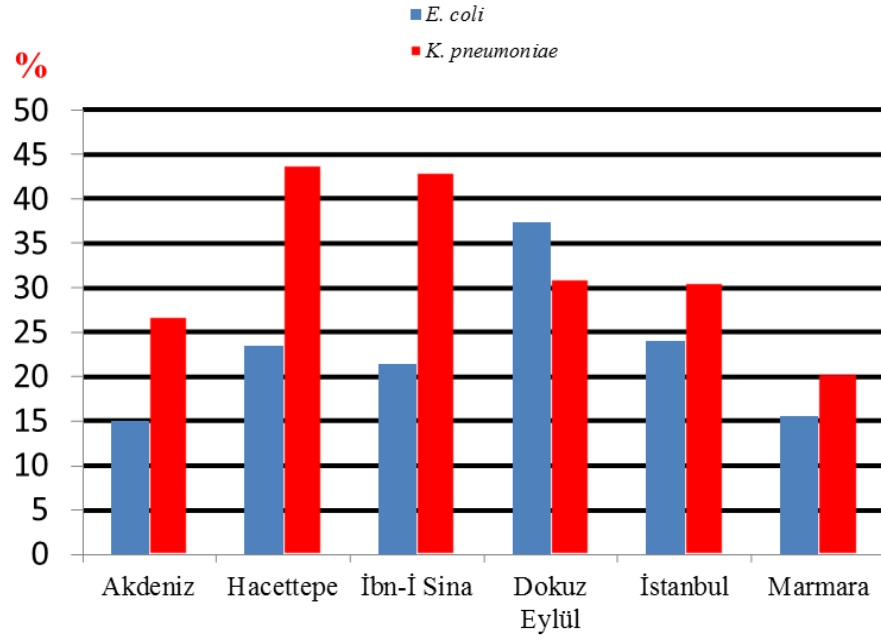
E. coli patojenleri uzun bir süre enfektif ajanlar olarak fazla dikkate alınmamışlardır. Fakat yirminci yüzyılda antibiyotiklerin kullanılmaya başlanması ve dirençli patojenlerin ortaya çıkışıyla bu durum tersine dönmüştür (Ron 2010). Çünkü *E. coli* pek çok antibiyotik sınıfına direnç geliştirerek tedavisi zor enfeksiyonlara neden olmaktadır. Amerikan Enfektif Hastalıklar Topluluğuna göre *E. coli* ürettiği TEM, SHV, CTX-M tipi GSBL enzimleriyle acilen yeni ilaç ihtiyacı olan 6 mikroorganizmadan bir tanesidir. *E. coli* ürettiği karbapenemaz enzimleriyle (Örn: KPC-1) hastaların hastanede yatış sürelerini uzatmakta, sağlık giderlerinin artmasına neden olmakta ve ölüm sayılarının artmasına neden olmaktadır (Boucher vd. 2009; Bush 2010).

Çizelge 1.19 Ülkemizdeki *E.coli* sıklığı ve antibiyotik dirençlilik oranları hakkındaki bazı çalışmalar ile ilgili bilgiler

Açıklama
a) Türkiye'deki <i>E. coli</i> suşlarının %25'inin GSBL ürettiği bildirilmiştir (Muhtaseb ve Kaygusuz 2008; Oteo vd. 2010).
b) 2008 yılında Gülmez vd. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinden 2004 yılında izole edilen <i>E. coli</i> suşunda hem OXA-48 benzeri karbapenemaz hem de CTX-M tipi GSBL rapor etmişlerdir. Aynı suşta dış membran porlarında kayıp olduğu da belirlenmiştir (Gülmez vd. 2008).
c) Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2003-2007 yılları arasında kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olan klinik <i>E. coli</i> izolatlarının GSBL sıklığının %39,4 olduğu belirtilmiştir (Serefhanoglu vd. 2009).
d) Ankara Etlik Lokman Hekim Hastanesi'nde 2008 yılında klinik örneklerden toplanan <i>E. coli</i> 'lerde GSBL sıklığı ise %18,42 olarak saptanmıştır (Eryılmaz vd. 2010).
e) 2009 yılında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde <i>Escherichia coli</i> 'de GSBL oranının %39 olduğu görülmüştür. GSBL üreten suşların ertapenem, meropenem ve imipeneme duyarlı oldukları belirtilmiştir (Sağlam vd. 2011).



Şekil 1.35 Türkiye’de 2000-2003 arasında GSBL üreten *E.coli* ve *K. pneumoniae* sıklığı (Korten vd. 2007’den uyarlanmıştır)



Şekil 1.36 Hitit çalışması kapsamında 2004-2005 yılları arasında ülkemizdeki altı merkezdeki *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarındaki GSBL sıklığını gösteren grafik (Gür vd. 2008’den uyarlanmıştır)

1.9.5 *Enterobacter aerogenes*

Enterobacter aerogenes; *Enterobacteriaceae* familyasının *Enterobacter* cinsine üye olan Gram (-) bir bakteridir (Arpin vd. 1996). Karbapemene dirençli bazı *E. aerogenes* izolatlarının neden olduğu tedavisi zor enfeksiyonlar küresel anlamda sorun olabilmektedir (Yiğit vd. 2002). Diğer *Enterobacteriaceae* üyeleri gibi *Enterobacter*

aerogenes'te bağırsak florasının normal bir parçasıdır ve sistis, septisemi, pnömoni, peritonitis, menenjitin yanı sıra tıbbi cihaz kaynaklı enfeksiyonlara da neden olabilmektedir (Nordmann vd. 2012). Bu mikroorganizma hastane kökenli enfeksiyonlara yol açar ve *K. pneumoniae* ile birlikte hastane kökenli pnömonilerin *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'dan sonra en sık izole edilen üçüncü nedenidir (Regli vd. 1996; Thiolas vd. 2005).

Enterobacter aerogenes özellikle sağlık personelinin elleriyle, damar içi kateterler gibi tıbbi cihazlarla veya kontamine su ya da gıdalarla bulaşmaktadır. Bu bakterinin önemli bir patojen olarak sayılmasının nedenleri arasında plazmid veya transpozonlarla yatay gen transferi yapabilmesi ve geniş spektrumlu antibiyotiklere dirençli olması yatmaktadır. *E. aerogenes*'in dirençli olduğu antibiyotikler arasında beta-laktamlar, kinolonlar, tetrasiklinler, kloramfenikoller bulunabilmektedir (Yiğit vd. 2002; Thiolas vd. 2005; Nordmann vd. 2012). *E. aerogenes* antibiyotiklere çeşitli enzimlerle direnç geliştirebilir. Bu enzimler arasında GSBL'ler ve karbapenemazlar sayılabilir. Bu gibi tehlike yaratan enzimlerin üretimi de *E. aerogenes*'e karşı etkili yeni ilaçların kullanılmasını zorunlu kılmaktadır (Yiğit vd. 2002; Thiolas vd. 2005).

Çizelge 1. 20 *Enterobacter aerogenes* ile ilgili Türkiye'de yapılan bazı çalışmalar

- | |
|---|
| <p>a) Kasap ve çalışma arkadaşları Nijerya'da bir hastaneden elde ettikleri <i>E. aerogenes</i> suşunda GSBL enzimine (SHV-12) rastlamışlardır. Ülkemizde gerçekleştirilen bu çalışma Nijerya'da SHV-12 varlığını gösteren ilk çalışmadır (Kasap vd. 2010).</p> <p>b) İstanbul Üniversitesi'nde cerrahi ve koroner yoğun bakım birimlerinde yatan hastalardan soyutlanan 35 <i>E.aerogenes</i> suşunun %20'sinde uyarılabilir beta-laktamaz enzimi saptanmıştır (Küçükateş vd. 2007).</p> |
|---|

1.9.6 *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii *Moraxellaceae* ailesine üye Gram (-) aerobik bir bakteridir. *Acinetobacter* cinsi son yıllarda dünya çapında halk sağlığını tehdit eden patojenler olarak tanımlanmaktadır (Zhao ve Hu 2012). *Acinetobacter* cinsi içinde yer alan *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter radioresistens* ve *Acinetobacter parvus* gibi türler klinik örneklerden izole edilebilirler fakat bu cins içinde insanlarda neden olduğu enfeksiyonlardan dolayı en büyük öneme

sahip olan tür *Acinetobacter baumannii*'dir (Aşık 2011). Özellikle çoklu ilaç direnci (MDR) bulunan *Acinetobacter baumannii* türleri en büyük sorunları yaratan hastane kökenli patojenlerdendir. Bu mikroorganizmalar çeşitli yüzeylerde ve hastane ortamında canlı kalabilir; doğal ve edinilmiş direnç mekanizmalarıyla pek çok antibiyotiği etkisiz bırakabilirler. *Acinetobacter* türleri toprak, su, sebzeler, hayvan ve insanlardan izole edilebilmektedirler (Zhao ve Hu 2012).

A. baumannii'nin neden olduğu hastane kökenli enfeksiyonlar arasında havalandırmalarla ilişkili pnomoniler, idrar yolları enfeksiyonları, septisemi ve yara/yanık enfeksiyonları yer almakta ve hastaların ölüm oranları %30-50 arasında değişebilmektedir (Aşık 2011). *A. baumannii* pek çok antibiyotiğe doğal olarak dirençlidir. Direnç mekanizmalarının arasında dış membran proteinleri (OMP) gibi porinlerin azalması veya kaybı sonucu hücre içine ilaç alımının sınırlandırılması, çoklu ilaç direncine neden olan efluks pompalarının varlığı ve bu pompaların aşırı çalışması, AmpC sefalosporinaz gibi beta-laktam enzimlerinin doğal olarak bulunması, PER, TEM, SHV, CTX-M gibi GSBL enzimlerinin üretilmesi veya VIM gibi karbapenem antibiyotiklerini hidroliz edebilen MBL enzimlerinin bulunması sayılabilir (Lee vd. 2011).

A. baumannii pek çok ilaca dirençli olup ciddi enfeksiyonlara yol açması nedeniyle hastaların tedavi olanakları kısıtlanmakta ve ölüm oranları artmaktadır. Bu nedenle *A. baumannii*'ye karşı etkili yeni ilaçların acilen geliştirilmesi gerekmektedir (b) Slama 2008; Sipahi 2008; Aşık 2011; Coates vd. 2011).

Çizelge 1.21 Ülkemizdeki *A. baumannii* sıklığı ve antibiyotik dirençlilik oranları hakkındaki bazı çalışmalarla ilgili bilgiler

- | |
|--|
| <p>a) Ülkemizde MYSTIC programı çerçevesinde 2000-2003 yılları arasında 9 merkezden toplanan <i>Acinetobacter baumannii</i> suşlarının aminoglikozit direnci %28,2, karbapenem direnci %31, kinolon direnci %29,6, seftazidim direnci %31,3, piperasilin direnci ise %32,4 olarak bulunmuştur (Korten vd. 2007).</p> <p>b) Ankara'da 2010-2011 arasında bir hastanede yeni doğan yoğun bakım ünitelerinden <i>A. baumannii</i> suşları izole edilmiştir. Suşların %95'inde çoklu ilaç direnci bulunmuş, <i>A. baumannii</i> ile enfekte 21 hastanın 12 tanesi kaybedilmiştir (Çelik vd. 2011).</p> |
|--|

1.9.7 *Pseudomonas aeruginosa*

Gram (-) bir bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa* bitkilerden hayvanlara kadar geniş bir konak spektrumuna sahiptir ve hastane kökenli enfeksiyonların en önemli nedenlerinden biridir (Breidenstein vd. 2011). *Pseudomonas aeruginosa*'nın 1975-2003 yılları arasında neden olduğu pnömoni sıklığı neredeyse iki katına çıkmıştır (%9,6- %18,1) (Fujitani vd. 2011). *Pseudomonas aeruginosa* nozokomiyal pnömoniye, idrar yolları, yara bölgesi, boğaz ve kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olabilmektedir ve pediatri yoğun bakım birimlerinde pnömoninin en yaygın nedenidir (Lister vd. 2009). Yine bu patojenin 1998-2003 yılları arasında imipeneme karşı direnci %15, kinolonlara karşı direnci %9 ve sefalosporinlere karşı direnci %20 artmıştır. *Pseudomonas aeruginosa* pek çok antibiyotiğe dirençli bir patojen olduğu için hastaların tedavi olanaklarının kısıtlanmasına; aynı zamanda uygun tedavi görmeyen hastaların hastanede kalma sürelerinin ve ölüm oranlarının artmasına neden olmaktadır (Hirsch ve Tam 2010).

Çizelge 1.22 Türkiye'deki *P. aeruginosa* sıklığı ve antibiyotik dirençlilik oranları hakkındaki bazı çalışmalar ile ilgili bilgiler

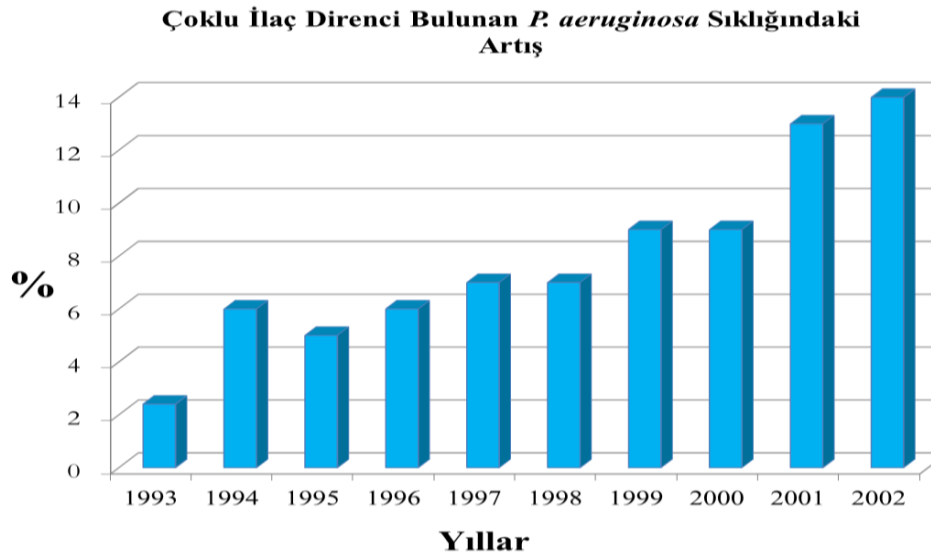
- | |
|--|
| <p>a) Türkiye'de Korten ve arkadaşlarının MYSTIC programı çerçevesinde yaptıkları çalışmada 2000-2003 yılları arasında <i>P. aeruginosa</i>'nın meropenem direncinin %45, sefotaksim direncinin %84, sefepim direncinin %58, siproflaksasin direncinin ise %54 olduğu görülmüştür (Korten vd. 2007).</p> <p>b) COMPACT çalışması kapsamında 2008 yılında Türkiye'de on merkezden toplanan klinik izolatların %49,8'inin <i>Pseudomonas</i> türleri olduğu ve bu türlerin doripenemin 2 mg/L'lik konsantrasyonuna direnç oranlarının %64 olduğu tespit edilmiştir (Korten vd. 2011).</p> <p>c) Düzce Üniversitesi'nde 2010 yılında yapılan bir çalışmada hastane kökenli 100 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> suşunda sefepime % 60, seftazidime % 45, gentamisine % 23, imipeneme % 18, siprofloksasine % 13, piperasiline % 11, piperasilin-tazobaktam % 8 ve amikasine % 7 oranında direnç gözlenmiştir. İmipeneme karşı dirençli suşların %28'inde Metallo beta-laktamaz enzimi (MBL) bulunmuştur (Öztürk vd. 2011).</p> |
|--|

P. aeruginosa'ya karşı etkinlik gösteren ilaçlara antipseudomonal ilaçlar da denilmektedir. Sefalosporinler (Örn: Sefepim), piperasilin-tazobaktam gibi beta-laktam-beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları, seftazidim gibi beta-laktamlar ya da siproflaksasin ve levoflaksasin gibi kinolonlar *P. aeruginosa* tedavisinde kullanılmaktadır (Yahav vd. 2010; Sun vd. 2011). GSBL üreten suşlar pek çok antibiyotiğe dirençlidir. Karbapenem tipi beta-laktamlara direnç görülmeyle beraber bu

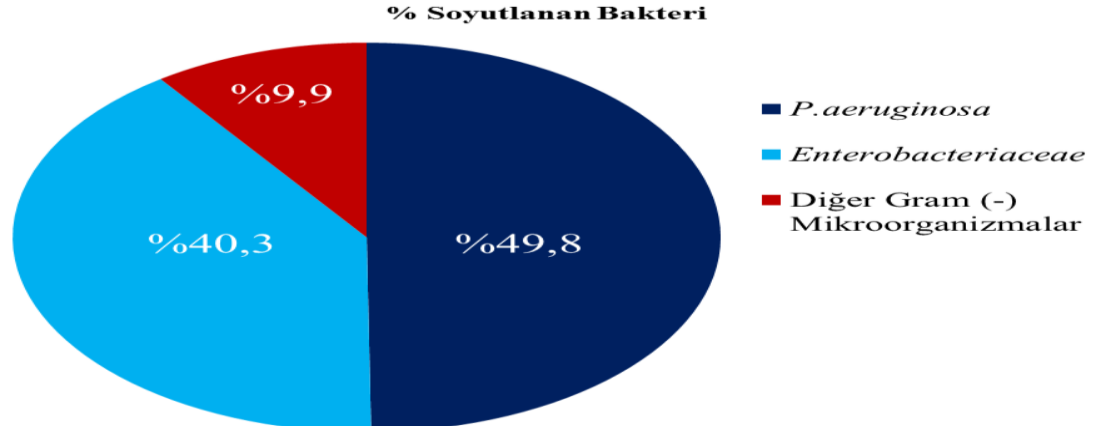
ilaçlar GSBL pozitif *P. aeruginosa* tedavisinde etkin bir şekilde kullanılmaktadırlar (a) Slama 2008).

P. aeruginosa'nın antibiyotiklere karşı ortaya koyduğu direnç hareketli genetik elemanlar aracılığıyla elde edilen kazanılmış direnç olabileceği gibi doğal direnç şeklinde de olabilir. Örneğin, *P. aeruginosa*'da kinolon direnci kromozomdan kodlanan *gyrA* ve *parC* genlerindeki mutasyonlarla meydana gelirken beta-laktamlara ve aminoglikozitlere karşı gelişen direnç dışarıdan kazanılmış olabilir. Kromozomal AmpC üretimi, porlardan olan OprD proteininin ifadesinin azalması veya antibiyotikleri hücre dışına pompalayan efluks sistemlerinin varlığı *P. aeruginosa*'daki doğal direnç mekanizmalarına örnektir (Lister vd. 2009). Plazmidler, transpozonlar, integronlar, profajlar gibi elemanlar konjugasyon, transformasyon ve transdüksiyon yoluyla *P. aeruginosa* genomuna katılır ve ifade edilirler. Aminoglikozit modifiye edici enzimlerin ve GSBL, metallo beta-laktamaz gibi beta-laktamaz enzimlerinin kazanımı bu şekilde gerçekleşmektedir (Lister vd. 2009; Breidenstein vd. 2011).

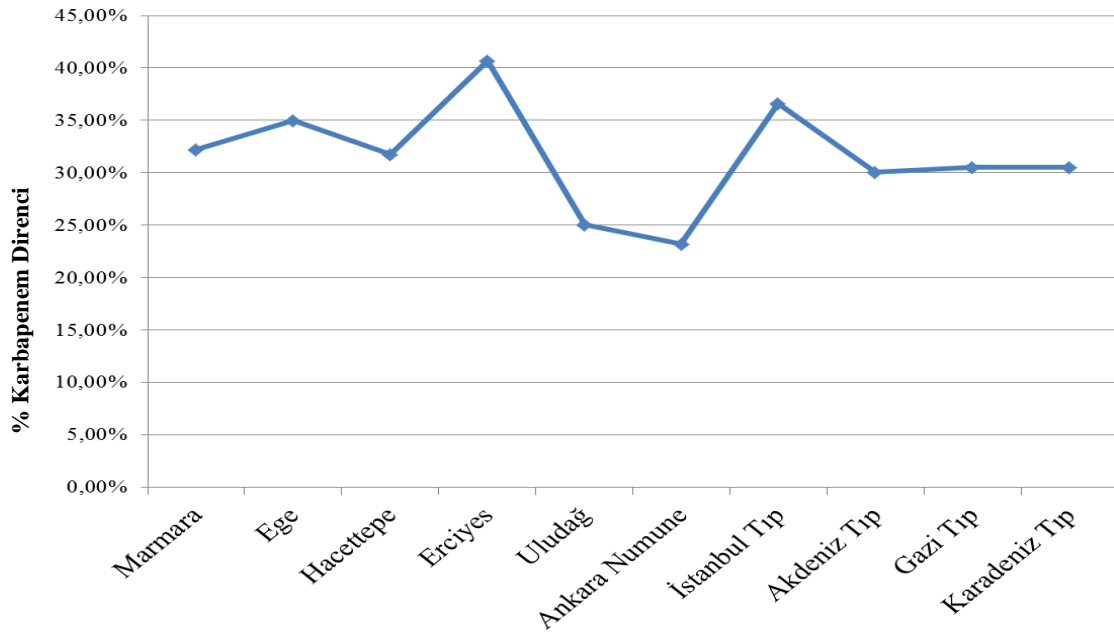
P. aeruginosa ilaçlara direnci devamlı artan bir bakteridir. Bu canlı tedavisi zor enfeksiyonlara yol açmaktadır. Bu nedenle bu sorunlu patojene karşı kullanılmak üzere de acilen yeni ilaçların üretilmesi gerekmektedir (Breidenstein vd. 2011).



Şekil 1.37 1993-2002 yılları arasında ABD'den toplanan *P. aeruginosa* izolatlarının çoklu ilaç direnç sıklığı (Lister vd. 2009'dan uyarlanmıştır)



Dirençli İzolat



Şekil 1.38 Compact çalışması kapsamında 2008 yılında ülkemizde on merkezden toplanan Gram (-) mikroorganizmaların dağılımı ve karbapenemlere direnç durumu (Korten vd. 2011'den uyarlanmıştır)

Çizelge 1.23 *A. baumannii* ve *P. aeruginosa*'da direnç (Bonomo ve Szabo 2006'dan uyarlanmıştır)

Mekanizma	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Beta-laktamazlar (Penisilinaz, GSBL, karbapenemaz vb.)	+	+
Por Kayıpları	+	+
Aminoglikozit Modifiye Edici Enzimler	+	+
Efluks Pompaları	+	+
Topoizomeraz Mutasyonları	+	+
Hareketli Genetik Elamanlar	+	+
Membran değişiklikleri ve Polimiksin direnci	-	+

1.9.8 *Candida albicans*

Bir maya olan *C. albicans* insan florasının bir parçasıdır. Bu maya normal koşullarda zararsızdır. Fakat olağanüstü koşullarda en sık rastlanan insan maya patojeni haline gelmektedir. *Candida* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar özellikle son yirmi yıldır artış halindedir (Abi-Said vd. 1997).

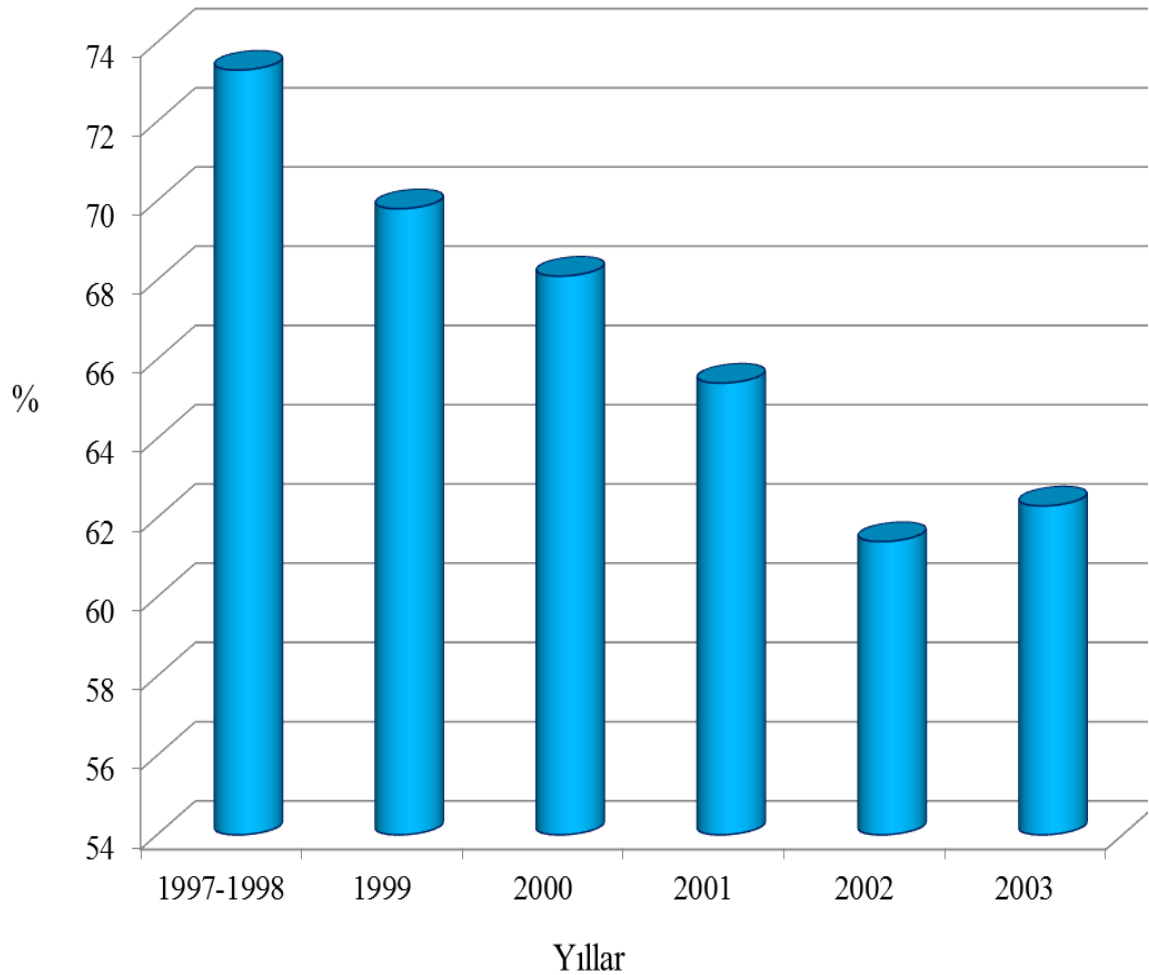
C. albicans immün sistemi baskılanmış kişilerde fırsatçı enfeksiyonlara neden olur. Kadınlarda vajinitise, AIDS hastalarında ağız-boğaz enfeksiyonlarına neden olurlar. Bazı durumlarda hayati tehlike oluşturan kan dolaşımı enfeksiyonlarına (BSI) neden olabilmektedirler (Kim ve Sudbery 2011). *Candida albicans* pek çok yetişkinin mide-bağırsak yolunda oral ve vajinal mukozasında komensal olarak yaşar ve normal koşullarda en fazla pamukçuğa neden olur. *Candida* türlerinin neden olduğu hastalıklar kandidemi olarak bilinmektedir (Roll D., S., Baron, S. Medical Microbiology 4 th edition, chapter 17).

Candidalar insanlarda nötrofiller tarafından etkisiz hale getirilir. Fakat kanser veya AIDS hastalarında bağışıklık sistemi zarar gördüğü için nötrofiller bu işlemi gerçekleştiremez. Bu gibi durumlarda son derece ciddi enfeksiyonlar meydana gelir ve ölüm oranları %30-50'leri bulabilir. Orofarenjal kandidazis AIDS hastalarında sık rastlanan bir enfeksiyondur. Bu nedenle bu hastalık HIV-AIDS için marker görevi gören enfeksiyonlardan biridir. Hormon kullananlar, antibiyotik tedavisi gören kişiler, diyabet, kanser ve AIDS hastaları *Candida albicans* enfeksiyonu geliştirme riski olan kişilerdir. (Roll D., S., Baron, S. Medical Microbiology 4 th edition, chapter 17).

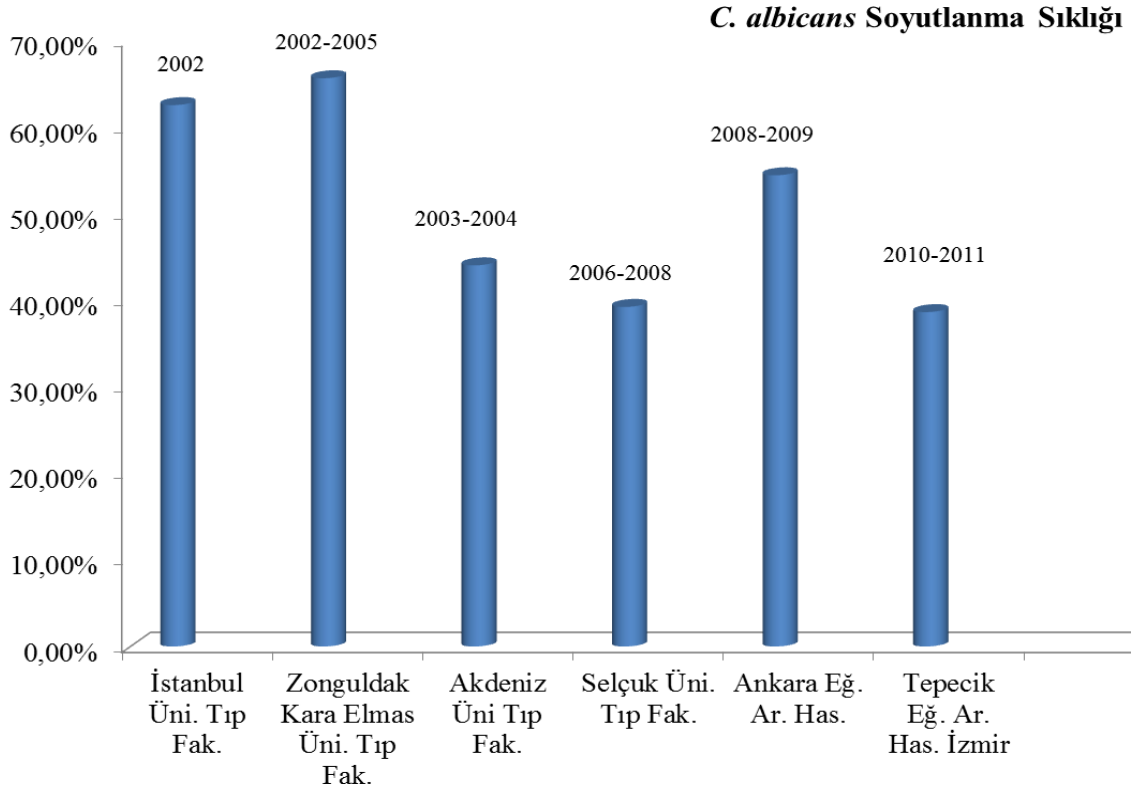
Azoller uzun süredir *C. albicans* tedavisinde kullanılan antifungal ilaçlardır. Bu ilaçların uzun süreli kullanımına bağlı olarak direnç ortaya çıkabilmektedir. Örneğin hücre zarı sentezinde rol oynayan ERG11 gibi proteinleri kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonların azol direncine neden olabileceği belirtilmiştir (Morio vd. 2010). 2001-2007 yılları arasında 133 merkezden toplanan 128,625 *C. albicans* suşunun flukonazol direnci %1,4, Voriconazol direnci ise %1,2 şeklinde belirlenmiştir (Rodloff ve Schaumann 2011).

Çizelge 1.24 *C.albicans*'ın ülkemizdeki sıklığına ve antifungal ilaçlara dirençliliğini gösteren bazı çalışma özetleri

- a) Haydarpaşa Numune Hastanesinde 2004-2007 yılları arasında elli hastane kökenli Candidemi vakası görülmüştür. Bu vakaların 15 tanesinin (%30) *Candida albicans* kökenli olduğu belirlenmiş ve hastaların %54'ünün kaybedildiği belirtilmiştir (Erdem vd. 2009).
- b) Manisa'da otomikoz etkenlerinin belirlenmeye çalışıldığı bir araştırmada 1995-2011 yılları arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde otomikoz tanısı konulan 2279 olgunun %34'ünün maya, mayaların da %99'unun *Candida* türlerine ait olduğu rapor edilmiştir. *Candida albicans* 39 vakayla en çok izole edilen ikinci mikroorganizma olmuştur (Değerli vd. 2011).
- c) Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2003-2004 yılları arasında hastane kökenli kandidemi hastalarından toplanan idrar örneklerinde *C. albicans* sıklığı %44 olarak bulunmuştur. Suşların %6'sının amfoterasin B'ye karşı dirençli olduğu gözlenmiş ve Vorikonazol'un de *C. albicans*'a karşı MİK değeri $x \leq 0,5 \mu\text{g/mL}$ yani duyarlı olarak belirlenmiştir (Ozhak-Baysan 2012).



Şekil 1.39 Artemis disc sürveyans programı kapsamında 1997-2003 arasındaki invazif candidemi vakalarındaki *C. albicans* sıklığı (Rodloff ve Schaumann 2011)



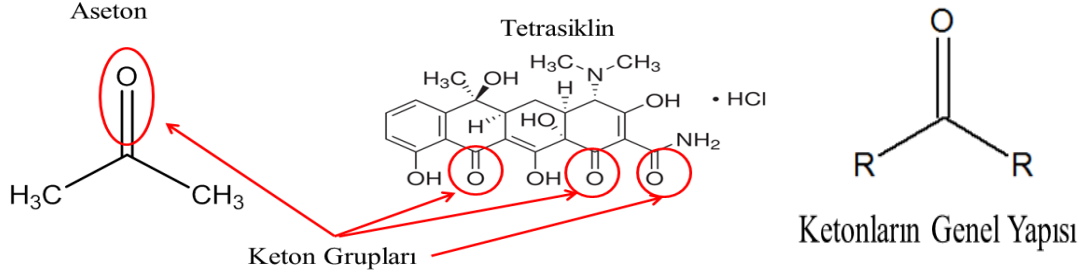
Şekil 1.40 Ülkemizde çeşitli merkezlerdeki fungal enfeksiyonlardaki *C. albicans* izolasyon sıklığını gösteren grafik (Cömert vd. 2006; Yüksekaya vd. 2010; Ece vd. 2012, Özhak-Baysan 2012; Erdem vd. 2012'den uyarlanmıştır)

1.10 Çalışmada kullanılacak bileşikler ve Özellikleri

Bu çalışmada benzofuran, naftofuran ya da siklobütan halkası içeren keton ve ketoksim türevleri kullanılmıştır. Bu bileşiklerdeki grupların özellikleri aşağıda tartışılmıştır.

1.10.1 Keton

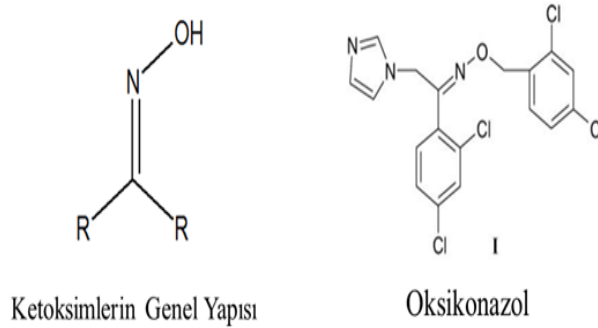
Keton merkezde bulunan karbon atomuna çift bağ ile bağlanmış oksijen ve aynı merkez atomuna bağlanmış iki radikal gruptan oluşan organik bileşiklere denilmektedir. En basit keton aseton'dur ve yaygın bir çözücü olarak kullanılmaktadır. Oksaloasetat gibi ketonlar şekerlerin metabolizmasında görev almakta, tetrasiklin gibi ketonlar ise antibiyotik olarak kullanılmaktadır. (Solomon organik Kimya).



Şekil 1.41 Keton içeren bazı önemli bileşikler ve ketonların genel yapısı (<http://www.sigmaaldrich.com>)

1.10.2 Ketoksim

Yapılarında karbon–azot çifte bağı taşıyan bileşiklere oksim denilmektedir. Oksimler aldehit ve ketonların hidroksilaminle reaksiyonları sonunda oluşurlar. Oksimler aldehitlerden elde edilmişlerse aldoksim ketondan elde edilmişlerse ketoksim adını almaktadır (Kurtoğlu ve Serin 2006). Oksikonazol gibi ketoksim türevlerinin etkili antifungal aktiviteleri olduğu bilinmektedir (Gündoğdu-Karaburun vd. 2006).

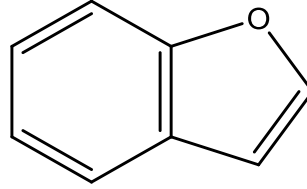


Şekil 1.42 Ketoksimlerin genel yapısı ve biyolojik etkinliği bulunan ketoksim örneği (Gündoğdu-Karaburun vd. 2006)

1.10.3 Benzofuran İçeren Bileşikler

Benzofuranlar benzen ve furan halkasının birleşmesinden oluşan heterosiklik bileşiklerdir. Çok daha karmaşık yapıdaki pek çok bileşiğin temelini benzofuranlar oluşturmaktadırlar. Benzofuranlar doğada pek çok bileşiğin yapısında bulunabilirler. Amiodaron, angelisin ksanthotoksin, bergapten, nodekenetin ve üsnik asit gibi bileşikler

veya griseofulvin gibi antifungal ilaçlar biyolojik anlamda önemli benzofuranlara örnek teşkil etmektedir. Amiodaron, üsnik asit, griseofulvin benzofuran halkası içeren keton türevleridir (Emirdağ 2008).



Şekil 1.43 Benzofuranların genel yapısı

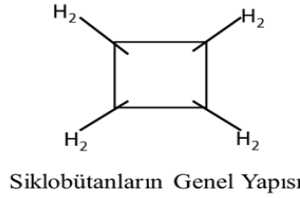
Çizelge 1.25 Biyolojik açıdan önemli bazı benzofuranlar halkası içeren bileşikler

Molekül Adı	Molekül Şekli	Kullanım Alanı
Amiodaron		Oldukça kuvvetli bir antiaritmik ajandır. Kalp yetmezliği çeken hastaların tedavilerinde kullanılmaktadır (Koca vd. 2005).
Üsnik Asit		Bir Liken metabolitidir. Çok güçlü Gram (+) antibakteriyel etki göstermektedir (Kırmış vd. 2008).
Griseofulvin		Dermatomikoz vakalarında sıklıkla kullanılan ve ticari olarak satılan bir antifungal ilaçtır (Omolo vd. 2011).
Ailanthoidol		Antiviral, antifungal ve antioksidant aktivitesi olduğu bilinen neolignan türevidir (Abd-El-Wahab vd. 2009).

1.10.4 Siklobütan

Siklobütanlar kapalı formülleri $(CH_2)_4$ olan renksiz organik bileşiklerdir. Tek başlarına ticari veya biyolojik önemi olmayan siklobütanların daha kompleks türevlerinin biyoloji ve biyoteknoloji alanlarında oldukça büyük önemleri bulunmaktadır (Solomon organik

Kimya). Siklobütan yapıları bileşiklere bakteri, mantar, bitki ve deniz omurgasızlarında sıkça rastlanılmaktadır. Olası ilaç araştırmalarında öncü olabilecek veya enzim mekanizmaları çalışmalarında yeni fikirlere ışık tutabilecek pek çok siklobütan içerikli bileşik bulunmaktadır. Günümüze kadar doğal kaynaklardan izole edilen 210 kadar siklobütanlı bileşiğin biyolojik aktiviteleri olduğu doğrulanmıştır (Dembitsky 2008). Bu bileşiklerden bir tanesi süngerlerden elde edilen siklobütan halkasına sahip bir bileşik olan skeptrindir. Skeptrinin antibakteriyel ve antifungal özellikler sergilediği gözlenmiştir. Bu bileşiklerden bazıları aşağıdaki tabloda verilmiştir. Tabloda verilen bileşikler siklobütan halkası içeren keton türevleridir (Sergeiko vd. 2008; Cıpres vd. 2010).



Şekil 1.44 Siklobütanların genel yapısı

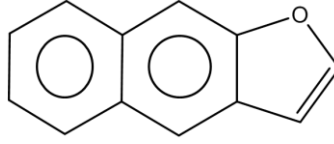
Çizelge 1.26 Biyolojik açıdan önemli bazı siklobütan türevleri

İsim	Şekil	Açıklama
7-Siklomegisitin (Grahamin)		<i>Schizanthus grahamii</i> 'den izole edilen bir tropan alkaloitidir (Sergeiko vd. 2008).
Sceptrin		Antifungal ve antibakteriyel özelliğe sahip bir sünger metabolitidir (Cıpres vd. 2009).

1.10.5 Naftofuran

Naftofuran halkasına sahip bileşiklerin antibakteriyel, antitümör, antihelmintik gibi biyolojik aktiviteler sergiledikleri ve bu tip bileşiklerin farmakolojik bakımdan aktif pek

çok molekülün sentezinde aracı rol üstlendikleri bilinmektedir (Shruthi vd. 2012). Bu bileşiklerden üç tanesi aşağıdaki tabloda verilmiştir. Bu bileşiklerden furonaftokinon ve heritol naftofuran halkası içeren keton türevleridir.



Şekil 1.45 Naftofuranların genel yapısı

Çizelge 1.27 Biyolojik açıdan aktif bazı naftofuran örnekleri

İsim	Şekil	Kullanım Alanı
Furonaftokinon		Kuvvetli antibakteriyel ve antifungal özellikler sergileyen bir bileşiktir. (Nagata vd. 1998).
Heritol		Farmakolojik açıdan öneme sahip bir naftoduran türevi (Kırılmış vd. 2009).
Levigatin		Biyolojik önemi olan bir bileşiktir (Kırılmış vd. 2009).

1.11 Benzofuran, Naftofuran ve Siklobütan Halkası İçeren Keton ve ketoksim Türevlerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları

1.11.1 Keton ve Ketoksim İçeren Benzofuranlar

Benzofuranlar pek çok doğal üründe bulunup önemli biyolojik aktiviteler göstermeleri nedeniyle ilgi çekmektedirler. Benzofuran halkası içeren bileşiklerin kuvvetli antimikrobiyal, antiviral, antioksidant, antifungal ve antitümör aktiviteleri olduğu bilinmektedir (Jiang vd. 2011). *Ammi majus L*'nin tohumlarından elde edilen Psoralen ve metoksalen gibi benzofuran türevleri dermal hastalıklarda, amiodaron gibi benzofuranlar ise antianjinal ajan olarak kullanılmaktadırlar. Bir liken metaboliti olan üsnik asitin kuvvetli Gram (+) antibakteriyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Koca vd. 2005, Kirilmis vd. 2008). Sayılanların yanında bazı yapay benzofuran türevlerinin *C. Albicans*'ın N-Miristoil-Transferaz (NMT) enzimini inhibe ettikleri rapor edilmiştir (Masubuchi vd. 2003).

Demirayak ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada bazı aril(benzofuran-2-il)ketoksimlerin dikkate değer antifungal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Demirayak vd. 2002). Benkli vd. nin gösterdiği üzere ise (3-metil-benzofuran-2-il) ketoksimler ise orta derecede antifungal aktiviteye sahiptirler (Benkli vd. 2003). Karaburun ve çalışma arkadaşları [3-(imidazol-1-yl)triazol-1-ylmetil] benzofuran-2-il] ketoksimlerin *C. albicans*'a karşı MİK değerlerini 12,5-50 µg/mL olarak rapor etmişlerdir (Gündoğdu-Karaburun vd. 2006).

Koca ve çalışma arkadaşlarının (benzofuran-2-il)(3-fenil-3-metilsiklobütil) ketoksim türevlerinin antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini araştırdıkları çalışmada *S. aureus*'a karşı bir bileşiğin MİK değeri 0,039 mg/mL, *C. albicans*'a karşı ise altı bileşiğin MİK değerleri 0,625-2,5 mg/mL arasında bulunmuştur (Koca vd. 2005).

1-(1-benzofuran-2-il)-2-mesitilethanon türevlerinden (E)-1-(1-benzofuran-2-il)-2-mesitilethanon-O-benzoiloksim'in *S. aureus*' a karşı Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değeri 4 µg/mL, *E. coli*'ye karşı ise 32 µg/mL bulunmuştur (Kirilmis vd. 2008).

Benzofuranlı keton türevlerinden ksantonların antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterdikleri bilinmektedir. *Vismia laurentii* bitkisinin köklerinden elde edilen laurentiksanton A bileşiğinin *Candida glabrata*'ya karşı MİK değerinin 2,44 µg/mL olduğu bildirilmiştir (Nguemeving vd. 2006). Spirobenzofuran içeren ksanton türevlerinden bazılarının antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterdikleri de ayrıca ortaya çıkarılmıştır (Omolo vd. 2011).

Bazı yeni benzofuran türevlerinin biyolojik aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada (4-Hidroksifenil)(2-(4-metoksfenil)-5-metilbenzofuran-3-il) methanon ve (3-Hidroksi-5-metoksyfenil)(2-(4-metoksyfenil)-5-metilbenzofuran-3-il) methanon gibi benzofuran halkasına sahip keton türevlerinin *S. aureus*'a karşı MİK değerlerinin 0,39 µg/mL den küçük olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada (4-Hidroksi-3-iyodofenil)(2-(4-metoksfenil)-5-metilbenzofuran-3-il)methanon bileşiğinin *Bacillus subtilis*'e karşı MİK değeri ise 1,56 µg/mL olarak verilmiştir (Jiang vd. 2011).

Benzofuran neolignanlar ve norneolignanlar *Styrax japonicum*, *Styrax formosanus* gibi *Styracaceae* familyası üyeleri başta olmak üzere pek çok bitkide yaygın olarak bulunan moleküllerdir. Bu moleküllerin insektisidal, fungisidal, antimikrobiyal ve antioksidant gibi özelliklerinin olduğu bilinmektedir. Egonol doğal bir 2-arilbenzofurandır. Egonol ve türevleri antibakteriyel ve antifungal özelliklerinden ötürü dikkat çekicidir. Bu nedenle Öztürk ve çalışma arkadaşları 18 adet egonol türevinin çeşitli bakteri ve mayalarda antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmada 5-[2-(1,3-Benzodioksol-5-il)-7-metoksi-1-benzofuran-5-il]-2-{{2-(1,3-benzodioksol-5-il)-7-metoksi-1-benzofuran-5-il}metil}pent-2-enal'ın *S. aureus*'a karşı MİK değeri 25 µg/mL olarak bulunmuştur. [2-(1,3-Benzodioksol-5-il)-7-metoksi-1-benzofuran-5-il]-2-{{2-(1,3-benzodioksol-5-il)-7-metoksi-1-benzofuran-5-il}metil}pent-2-enal ve 3-[2-(1,3-Benzodioksol-5-il)-7-metoksi-1-benzofuran-5-il] propanal O-(2-chloroasetil)oksim gibi egonol türevlerinin ise *C. albicans*'a karşı MİK değerleri 25 µg/mL ise olarak bulunmuştur (Öztürk vd. 2011).

Tüberküloz (TB) ana nedeni *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) bakterisi olan ve küresel çapta sorun yaratan enfektif bir hastalıktır. Amidoalkil dibenzofuranoller ve 1H-

benzo-[2,3]benzofuro[4,5-e][1,3]okzasin-3(2H)-on gibi bileşiklerin anti-mikobakteriyel etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada benzofuranlı keton türevlerinin *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı MİK değerlerinin 1,56-12,5 µg/mL arasında değiştiği görülmüştür (Kantevari vd. 2011).

Aboul-Fadl vd. indolin-2-3 dionların *Mycobacterium tuberculosis*'in DNA giraz enziminin aktif bölgesine isatin kısımlarıyla ve yan zincirleriyle güçlü bir şekilde bağlandıklarını söylemiştir. Bileşikleri DNA giraz için %50 engelleyici konsantrasyonları 50-157 mM olarak belirlenmiştir (Aboul-Fadl vd. 2012).

Ashok ve arkadaşları benzodifuranların antibakteriyel ve antifungal özellikler sergilediğini belirtmiş ve E-(1)-(6-benzoil-3,5-dimetilfuro[3',2':4,5]benzo[b]furan-2-il)-3-(aril)-2-propen-1-onların antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. E-(1)-(6-benzoil-3,5-dimetilfuro[3,2:4,5]benzo[b]furan-2-il)-3-(aril)-2-propen-1-on gibi keton türevlerinin *Bacillus subtilis*'e karşı zon çaplarının 9-17 mm. arasında değiştiği ortaya konulmuştur (Abdel-Wahab vd. 2011).

Benzofuranların C-2 ve C-3 pozisyonlarındaki süstitisyonlar antimikrobiyal etkinlik gibi özellikler sergiledikleri için araştırmalara konu olurlar. 3-metanon-6 süstütiye benzofuran türevlerinin biyolojik aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada Liu ve arkadaşları 5a, 5b, 5c numaralı benzofuran türevlerinin *S. aureus*, MRSA, *P. aeruginosa* ve *E. coli*'ye karşı MİK değerlerini 0,78-6,25 µg/mL arasında bulmuşlardır. Yapı aktivite ilişkilendirmesi (SAR) çalışmaları sonucunda ise antibakteriyel aktivitenin 6 numaralı karbon atomundaki hidroksil grubundan, antibakteriyel seçiciliğin ise C-3 atomundaki değişimlerden ileri geldiği belirtilmiştir (Liu vd. 2012).

Usnea cinsinden sık olarak izole edilen benzofuran halkasına sahip keton türevi üsnik asidin antimikrobiyal aktivitesi olduğu bilinmektedir. Segatore ve arkadaşları bu nedenle çeşitli antibiyotikler ile üsnik asidin kombinasyonlarını nozokomiyal MRSA suşları üzerinde denemişlerdir. Üsnik asidin tek başına MİK değeri 4-8 µg/mL olarak ölçülürken gentamisin ile sinerjistik, levofloksasin ile de antagonistik etkiye rastlanılmıştır (Segatore vd. 2012). Yine Usneaceae'nin biyolojik aktivitelerinin

araştırıldığı başka bir çalışmada menegazziaic asit'in *E. coli*'ye karşı MİK'i 31 µg/mL şeklinde bulunmuştur (Sultana ve Afolayan 2011).

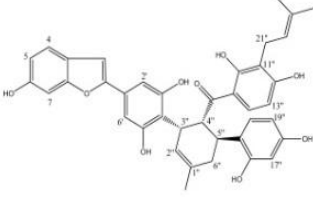
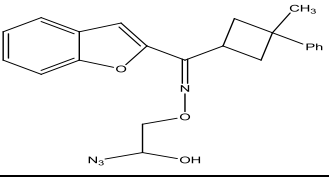
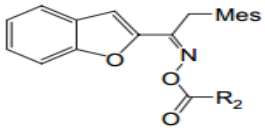
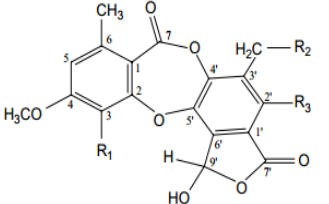
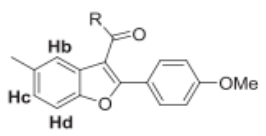
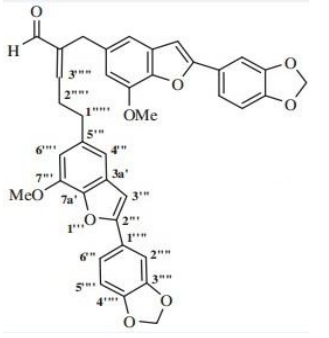
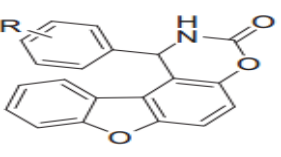
Memeli ve bakterilerde yağ asidi sentezindeki farklılıklar bakteriyel yağ asidi sentezini ilgi çeken bir antimikrobiyal hedef haline getirmiştir. *Morus alba*'dan izole edilen chalcomorasin (benzofuranlı keton türevi) 'in MRSA CCARM3167'ye karşı MİK değeri 2 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bakteriyel –enoil ACP redüktaz enzimi (FabI) bakteriyel yağ asidi sentezinin (FASII) son adımını katalizleyen ve bakteriyel gelişim için elzem olan bir enzimdir. Chalcomorasin'in FabI için IC₅₀ değeri 5,5 µM olarak saptanmıştır (Kim vd. 2012).

2-(sübsitiyefenil/benzil)-5-[2-benzofuril]karboksamido]benzoksazol türevi bileşiklerin in vitro Gram (+) ve Gram (-) antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) kriterleri uyarınca araştırılmıştır. Çalışmada bu bileşiklerin MİK değerlerinin 15,625-500 µg/mL arasında olduğu saptanmıştır (Alper Hayta vd. 2008).

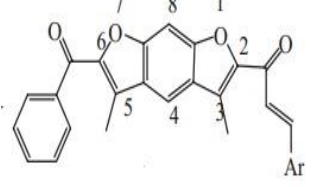
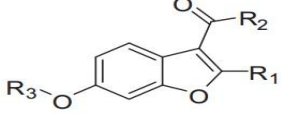
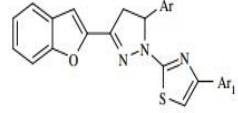
Abdel-Wahab ve arkadaşları 1-(benzofuran-2-il)-4-nitro-3-arilbütan-1-onlar ve 3-(benzofuran-2-il)-4,5-dihidro-5-aril-1-[4-(aril)-1,3-tiyazol-2-il]-1H-pirazollerin antibakteriyel ve antifungal etkilerini agar disk difüzyon yöntemiyle araştırmışlardır. Çalışma sonucunda 3-(Benzofuran-2-il)-4,5-dihidro-5-fenil-1-(4-fenil-tiazol-2-il)-1H-pirazol'ün *E.coli*'ye karşı zon çapının 25 mm. olduğu belirtilmiştir (Abdel-Wahab vd. 2009).

3,4-dihidro-3-N-alkil/aril-2-metiltiy-4-oksobenzofuro[3,2-d] pirimidinin *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı neredeyse streptomisine eşdeğer antibakteriyel aktivite gösterdiği; tetrazolo[1,5-a]-3-N-alkil/aril-4-oksopirimido [5,4-b] benzofuranların ise *S. aureus*'a karşı standart antibiyotikler kadar etkili oldukları fakat *E. coli*'ye karşı aktivite göstermedikleri belirlenmiştir (Basavaraj vd. 2006; Kamal vd. 2011'den alınarak).

Çizelge 1.28 Literatürde biyolojik etkinliği gösterilmiş olan bazı benzofuran türevleri

Bileşik	Aktivite Saptanan Mikroorganizma	Örnek Şekil
Kalkmorasin (Kim vd. 2012).	MRSA	
(benzofuran-2-il)(3-fenil-3-metilsiklobütil) ketoksim türevleri (Koca vd. 2005).	<i>C. albicans</i> ve <i>S. aureus</i>	
(E)-1-(1-benzofuran-2-il)-2-mesitilethanon-O-benzoiloksim (Kirilmis vd. 2008).	<i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i>	
Menegazziak Asit (Sultana ve Afolayan 2011).	<i>E. coli</i>	
(3-Hidroksi-5-metoksyfenil)(2-(4-metoksyfenil)-5-metilbenzofuran-3-il) methanon (Jiang vd. 2011).	<i>S. aureus</i>	
Egonol Türevleri (Öztürk vd. 2011).	<i>S. aureus</i>	
1H-benzo-[2,3]benzofuro[4,5-e][1,3]okzasin-3(2H)-on türevleri (113-Kantevari vd. 2011).	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	

Çizelge 1.28 Literatürde biyolojik etkinliği gösterilmiş olan bazı benzofuran türevleri (devamı)

Bileşik	Aktivite Saptanan Mikroorganizma	Örnek Şekil
E-(1)-(6-benzoil-3,5-dimetilfuro[3',2':4,5]benzo[b]furan-2-il)-3-(aril)-2-propen-1-onlar (114-Abdel-Wahab vd. 2011).	<i>B. subtilis</i>	
3-metanon-6-sübstitüye-benzofuran türevleri-5a, 5b, 5c numaralı bileşikler (248-Liu vd. 2012).	<i>P. aeruginosa</i> MRSA, <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i>	
3-(Benzofuran-2-il)-4,5-dihidro-5-fenil-1-(4-fenil-tiazol-2-il)-1H-pirazol (118-Abd-El Wahab vd. 2009).	<i>E.coli</i>	

1.11.2 Keton ve Ketoksim İçeren Naftofuranların Biyolojik Etkinlikleri

Doğal ve sentetik ürünlerde bulunan oksijen ve azot içeren polisiklik bileşikler biyolojik aktiviteleri nedeniyle ilgi çekmektedirler. Örneğin *Fusarium oxysporum* ve *Gossypium barbedense* gibi doğal kaynaklardan elde edilen naftofuran analoglarının antitümör, antifertility, mutajenik, büyüme engelleyici ve oestrogenic aktiviteleri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle Kırılmış ve çalışma arkadaşları. Dinaphtho[2,1-b]furan-2-il-methanonlar ve oksim türevlerinin antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Antimikrobiyal etkinlik deneyleri CLSI kıstasları doğrultusunda Broth Dilüsyon yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda naftofuran türevlerinin MİK değerleri Gram (+ ve -) bakteriler ve mayalara karşı 128 ve 512 µg/mL arasında bulunmuştur (Kırılmış vd. 2009).

Güney Amerika trompet ağacı (*Tecoma İpe Mart*)'ndan izole edilen Naphtho[2,3-b]furan-4,9-dion (Furonaftokuinon-FNQ) bileşiğinin antitümör aktivitesi olduğu bilinmektedir. Bu bileşiğin türevlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması sonucu FNQ13'ün MİK değerleri Gram (+) bakterilere karşı 1,56-25 µg/mL bulunmuştur. FNQ13 bilhassa MRSA'ya karşı aktif bir bileşik olarak değerlendirilmiş

ve MİK değerleri çeşitli MRSA suşlarında 1,56-6,25 µg/mL arasında bulunmuştur fakat Gram (-) bakterilere karşı bir etkinlik gözlenmemiştir. Çalışmada MİK değerleri agar dilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir (Nagata vd. 1998).

Abdel-Wahab vd. pirazol çekirdeği taşıyan naphtho[2,1-b]furan türevlerinin antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini çalışmışlardır. 2-[(3-naphtho[2,1-b]furan-2-yl)-1-phenyl-1H-pirazol-4-yl]metilen-hidrazonotiyazolidin-4-on bileşiğinin inhibisyon çapı 12-15 mm. arasında ve 2-(1-fenilhidrazonoetil)nafto[2,1-b]furan'ın inhibisyon zonu çapı ise 8-12 mm. arasında bulunmuştur, diğer bileşiklerde ise aktivite gözlenmemiştir (Abdel-Wahab vd. 2011).

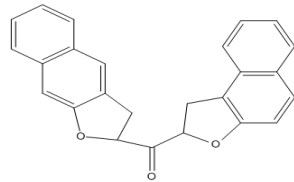
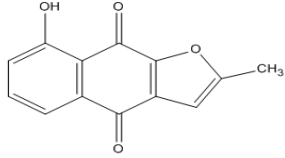
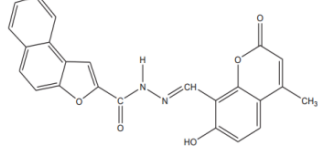
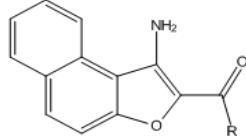
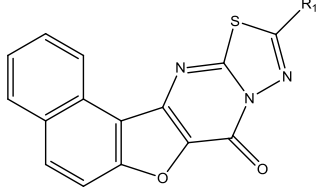
Sisletanin gibi furopridin türevleri antihipertensif ilaçlarda damarrelaksant ve diüretik özellikler sergilemektedirler. Dahası furopridin türevlerinin deri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanıldıkları bilinmektedir. Nafto[2,1-b]furo[3,2-b]piridinlerin yeni türevlerinin sentezlenerek cup-plate metoduyla antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada 4a numaralı bileşiğin *S. aureus*'a karşı zon çapı 17 mm. ve *C. albicans* için zon çapı 19 mm. olarak saptanmıştır (Ramesh vd.2008).

Ravindra vd. nafto[2,1-b]furo-5H-[3,2-d][1,3,4]thiadiazolo[3,2-a]pirimidin-5-onların yeni türevlerini sentezleyip antimikrobiyal aktivitelerine baktıkları çalışmada 2-(4-Nitrofenil)nafto[2,1-b]furo-5H-[3,2-d][1,3,4]tiyadiazolo[3,2-]pirimidin-5-on bileşiğinin tüm bakterilerde aktivite gösterdiğini, 2-[(4-Nitrofenil)amino]nafto[2,1-b]furo-5H-[3,2-d][1,3,4]tiyadiazolo[3,2-a]pirimidin-5-onun ise standart kontrol ilacına eşdeğer antifungal etkinlik gösterdiğini belirtmişlerdir. Antibakteriyel kontrol ilacı olarak kloramfenikol, antifungal kontrol ilacı olarak ise flukonazol kullanılmıştır (Ravindra vd. 2008).

Bazı aril nafto[2,1-b]furan-2-yl ketoksimler ile eter ve esterlerinin sentezlenmesi sonucu bileşiklerin *Candida albicans* (iki suş), *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* ve *Candida parapsilosis* üzerindeki MİK değerlerinin 7,8-625 µg/mL arasında değiştiği gözlenmiştir. Çalışmada MİK değerleri belirlerken Broth Mikrodilüsyon tekniğinden faydalanılmıştır (Karaburun vd. 2011).

Halli ve arkadaşları naftofuran-2-karbonhidrazitli 8-formil-7-hidroksi-4 metil kumarinli bileşiklerin ve bu bileşiklerin metallere yaptıkları komplekslerin bakteri ve mayalardaki biyolojik aktivitelerini araştırmışlardır. $C_{24}H_{16}O_5N_2$ 'nin *E. coli*, *S.aureus*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa*'ya karşı inhibisyon zonu çapı 50-75 mm. olarak belirlenirken aynı bileşiğin *C. albicans*'a karşı zon çapı 50 mm. ölçülmüştür (Halli vd. 2012).

Çizelge 1.29 Literatürdeki bazı naftofuran türevleri ve biyolojik etkinliklerini özetleri

Bileşik	Aktivite Saptanan Mikroorganizma	Örnek Şekil
Dinaphtho[2,1-b]furan-2-yl-methanonlar ve oksim türevleri (Kırılmış vd. 2009).	<i>E.coli</i>	
Naphtho[2,3-b]furan-4,9-dion- (Furonaftokuinon-FNQ) (Nagata vd. 1998).	MRSA N133 MRSA OF4	
Naftofuran-2-karbohidrazitli 8-formil-7-hidroksi-4-metil kumarin (Halli vd. 2012).	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i>	
Nafto[2,1-b]furo[3,2-b]piridin türevleri (Ramesh vd. 2008).	<i>S. aureus</i> <i>C. albicans</i>	
Nafto[2,1-b]furo-5H-[3,2-d][1,3,4]thiadiazolo[3,2-a]pirimidin-5-on türevleri (Ravidra vd. 2008).	<i>E.coli</i> <i>S.aureus</i>	
Aril nafto[2,1-b]furan-2-il ketoksimler (Karaburun vd. 2011).	<i>C. albicans</i> , <i>C. Parapsilosis</i> , <i>C. Glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i>	

1.11.3 Keton ve Ketoksim İçeren Siklobütanlar, Antimikrobiyal Aktiviteleri, Genel Yapıları Formülleri, Özellikleri

3-sübstitüye siklobütan karboksilik asit türevlerinin antinflamatuar ve antidepresan aktivite sergiledikleri bilinmektedir. Ahmedzade ve arkadaşlarının yapmış oldukları deneyde yeni sentezlenen 1-fenil-1-metil-3-(2-sükkinimido-1-oksoetil) siklobütan ve 4-(1-fenil-1-metilsiklobütan-3-il)-2-(kloroasetimido) tiyazol bileşiklerinden 6 numaralı bileşiğin *Enterococcus faecalis*'e karşı inhibisyon zonu çapı 16 mm. *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı ise 12 mm. olarak ölçülmüştür (Ahmedzade vd. 2003).

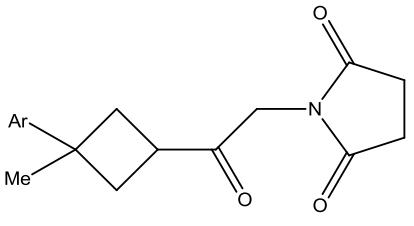
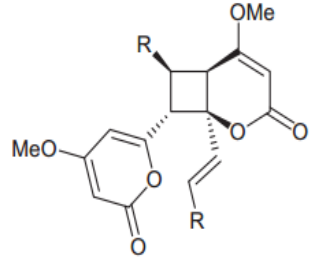
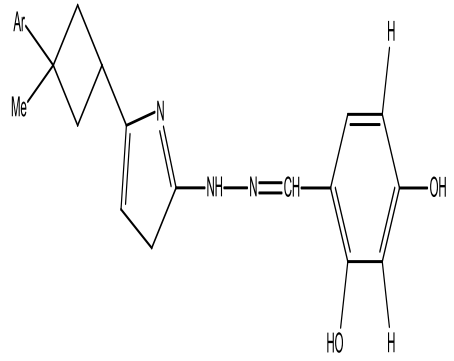
Cukurovali ve arkadaşları yeni 3-sübstitüye siklobütan halkası içeren tiyazolilhidrazon türevlerini sentezleyerek bu bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini araştırmışlardır. 2,4-Dihidroksibenzaldehit [4-(3-metil-3-fenilsiklobütül)-1,3-tiyazol-2-il]hidrazonun *C. tropicalis* ve *B. subtilis*'e karşı MİK değeri 16 µg/mL, Bromo-2-hidroksibenzaldehit [4-(3-metil-3-fenilsiklobütül)-1,3-tiyazol-2-il]hidrazonun ise sadece *B. subtilis*'e karşı MİK değeri 16 µg/mL olarak belirlenmiştir. Çalışma Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi (NCCLS) kriterleri doğrultusunda agar dilüsyon metodu yardımıyla yapılmıştır (Cukurovali vd. 2006).

Aminofosfinik asitleri içeren yeni siklobütan ve 1,3-tiazollerin sentezlendiği deneyde mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak ([4-(3-Metil-3-Fenilsiklobütül)-1,3-Tiyazol-2-yl]Amino}(4-Nitrofenil)Metil]Fosfinik asidin *S. aureus*'a karşı güçlü aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada, [(4-Methoksifenil)([4-(3-Metil-3-Fenilsiklobütül)-1,3-Tiyazol-2-il]Amino))Metil]Fosfinik asidin *Mycobacterium fortuitum*'a karşı MİK değerinin 32 µg/mL olduğu belirtilmiştir (Koparir vd. 2011).

Erol tarafından yapılan çalışmada benzofuran ve siklobütan yan zincirleri içeren metakrilat polimerlerinin ve monomerlerinin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri incelenmiştir. Bileşikler mikroorganizmalar üzerinde 50 µg ve 100 µg'lık konsantrasyonlar olmak üzere iki durumda denenmiştir. Bileşiklerin bu konsantrasyonlarda standart ilaçlara nazaran iyi biyolojik aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (Erol 2008).

4-metoksi-6-stiril-piran-2-on türevlerinin *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı MİK değerleri 4-32 µg/mL arasında bulunmuştur. Bu nedenle McCracker ve arkadaşları bu bileşiklerin siklobütanlı türevlerini sentezleyerek antitüberkular aktivitelerini gözlemlemişlerdir. Çalışma sonucunda 35 numaralı bileşiğin *Mycobacterium tuberculosis*'teki MİK değeri >130 µM olarak saptanmıştır (McCracken vd. 2012).

Çizelge 1.30 Literatürdeki bazı siklobütan türevleri ve biyolojik aktivitelerinin özeti

Bileşik	Aktivite Saptanan Mikroorganizma	Örnek Şekil
1-fenil-1-metil-3-(2-sükkinimido-1-oksoetil) siklobütan ve 4-(1-fenil-1-metilsiklobütan-3-il)-2-(kloroasetimido) tiyazoller (Ahmedzade vd. 2003).	<i>E. faecalis</i> <i>P. aeruginosa</i>	
4-metoksi-6-stiril-2H-piran-2-on'ların siklobütanlı türevlerinden 35 no'lu bileşik (McCracken vd. 2012).	<i>M. tuberculosis</i>	
(([4-(3-Metil-3-Fenilsiklobütül)-1,3-Tiyazol-2-yl]Amino}(4-Nitrofenil)Metil]Fosfinik asit (130-Cukurovali vd. 2006). 2,4-Dihydroxybenzaldehyde [4-(3-methyl-3-phenylcyclobutyl)-1,3-thiazol-2-yl]hydrazone (Cukurovali vd. 2006)	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 <i>B. subtilis</i> <i>C. tropicalis</i>	
Poli-(Benzofuran-2-yl)(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)-O-methacrylketoxime (Poli-BMOMA) (Erol 2008).	<i>P. aeruginosa</i> <i>C. albicans</i> <i>S. aureus</i>	-

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kimyasal maddeler

Tez çalışmasında kullanılan ve dışarıdan satın alınan kimyasal maddeler ve hazır besiyerleri çizelge 2.1 de verilmiştir. Hazır besiyerleri ihtiyaç duyuldukça satın alınarak kullanım arasında buzdolabında saklanmıştır. Antibiyotikler üreticinin önerdiği şekilde kullanıma kadar muhafaza edilmişlerdir.

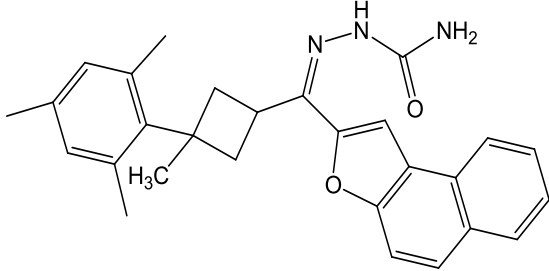
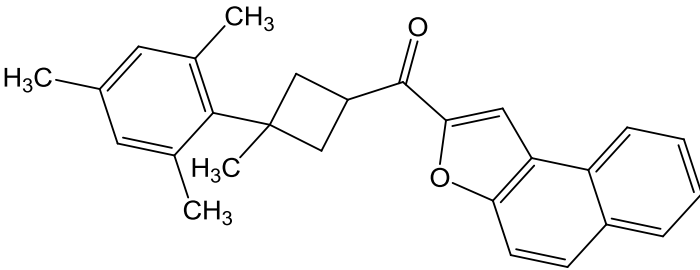
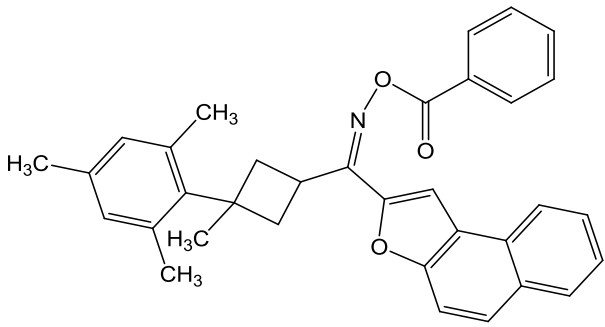
Çizelge 2.1 Tezde kullanılan kimyasal madde ve hazır besiyerleri

No	Kimyasal veya Hazır besiyeri	Marka
1	Mueller Hinton Agar (MHA)	Merck
2	Triptik Soy Agar	Merck
3	Kanlı Agar	Besimik
4	Cetremid Agar	Besimik
5	Mannitol Salt Agar	Besimik
6	Eozin Y Metilen Blue Levine Agar	Besimik
7	Bile Aesculin Agar	Besimik
8	Katyon Eklenmiş Mueller Hinton Broth (KEMHB)	Merck
9	Potato Dekstroz Agar	Besimik
10	Sabouraud dextrose agar	Besimik
11	RPMI 1640	Sigma
12	DMSO	Sigma
13	MOPs	Sigma
14	Kloroform	Sigma
15	Potasyum dihidrojen fosfat	Merck
16	Potasyum Hidrojen Fosfat	Merck
17	Steril Saline	Merck
18	Gliserol	Tekim
19	Vankomisin	Sigma
20	Metisilin	Sigma
21	Penisilin	Sigma
22	Tetrasiklin 30 mcg/disk	HI Media
23	Amikasin 10 mcg-disk	HI Media
24	Sefepim 30 mcg/disk	HI Media
25	Amfoterasin B	Fluka
26	Flukonazol	Fluka

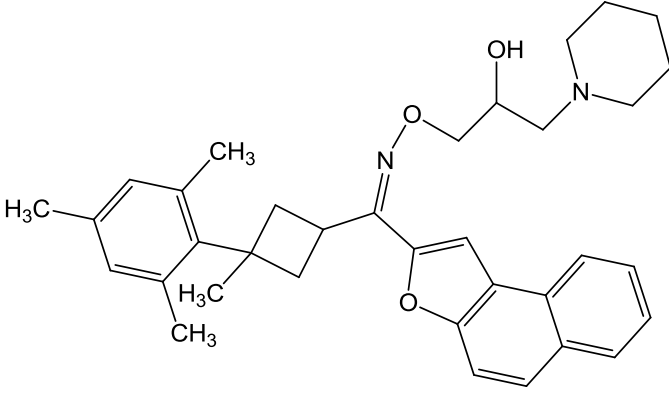
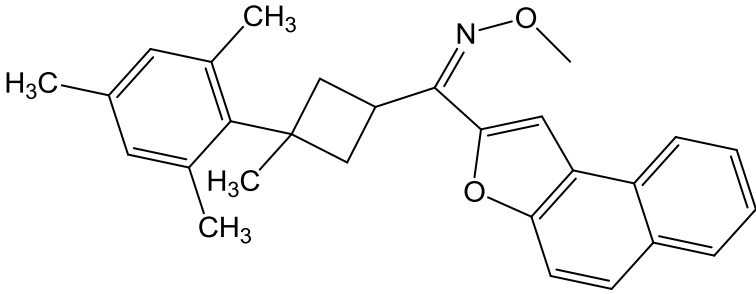
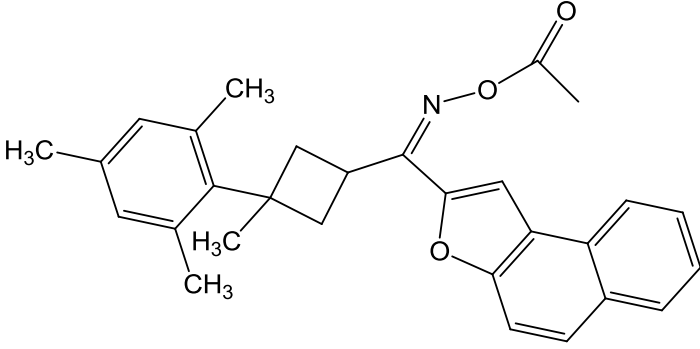
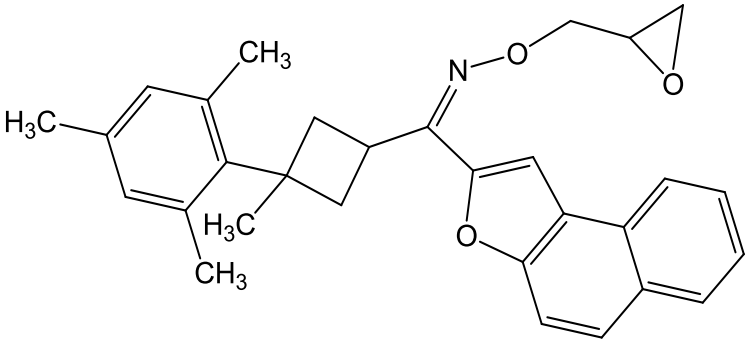
2.2. Tezde Kullanılan Bileşikler

Projede kullanılan bileşikler üniversitemizin kimya bölümü öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Murat KOCA tarafından sağlanmıştır. Bu Bileşiklerin sentezi, kimyasal karakterizasyonu ve NMR analizleri Prof. Dr. Murat Koca ve ekibi tarafından önceden tamamlanmış olup, sadece antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin incelenmesi bu tez kapsamına alınmıştır. Bu bileşiklerin molekül yapılarını, kimyasal isimlendirmelerini ve bu tez çalışmasında kolaylık sağlaması açısından bileşiklere verilen numaralar çizelge 2.2 de gösterilmiştir. Bileşikler oda ısısında desikant üzerinde amber şişelerde kullanıma kadar saklanmıştır.

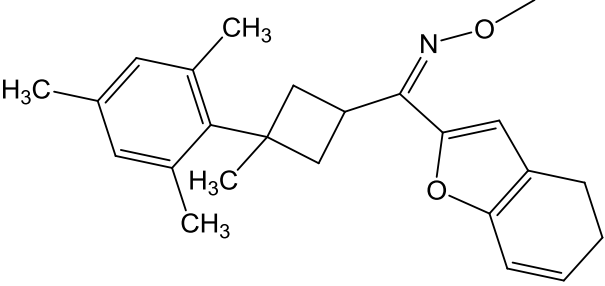
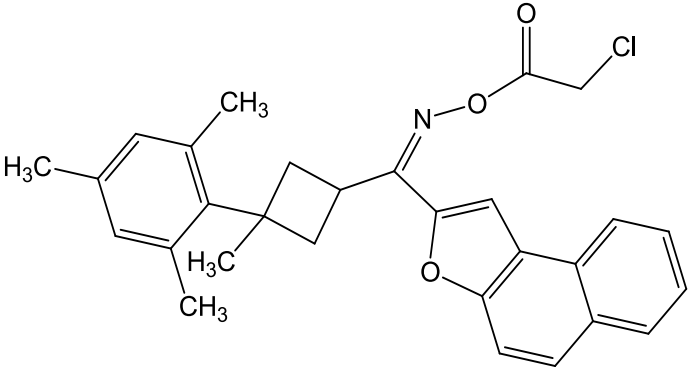
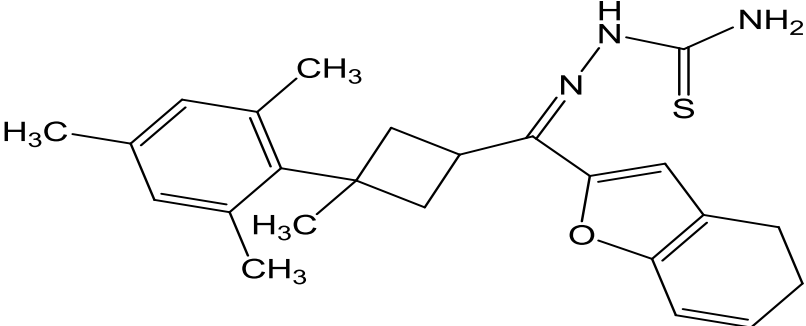
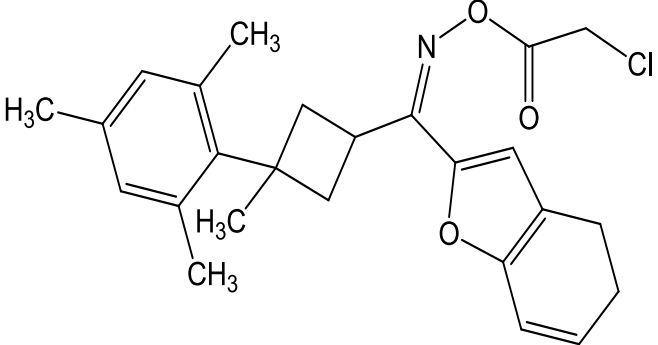
Çizelge 2.2 Tez çalışmasında kullanılan bileşikler

No	Molekül yapısı ve kimyasal adı
1	 <p>2-((3-mesityl-3-methylcyclobutyl)(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methylene)hydrazinecarboxamide</p>
2	 <p>3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone</p>
3	 <p>3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-benzoyl oxime</p>

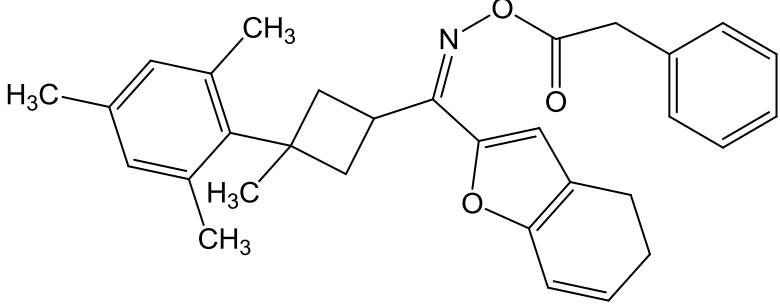
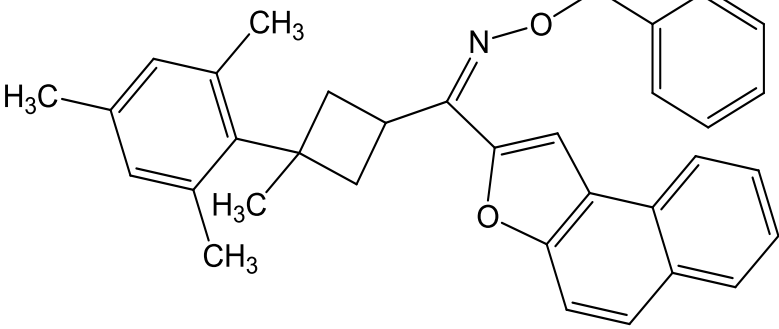
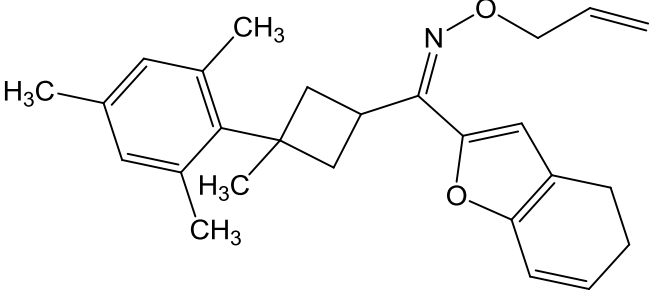
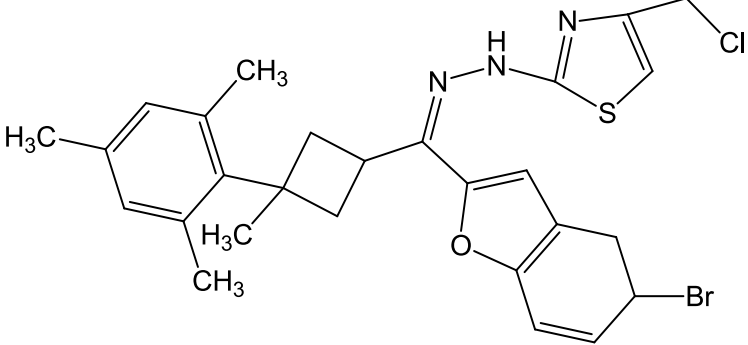
Çizelge 2.2 Tez çalışmasında kullanılan bileşikler (devam)

No	Molekül yapısı ve kimyasal adı
4	 <p data-bbox="383 757 1236 813">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-(2-hydroxy-3-(piperidin-1-yl)propyl) oxime</p>
5	 <p data-bbox="383 1131 1236 1164">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-methyl oxime</p>
6	 <p data-bbox="383 1541 1173 1574">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-acetyl oxime</p>
7	 <p data-bbox="383 1944 1340 1977">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-oxiran-2-ylmethyl oxime</p>

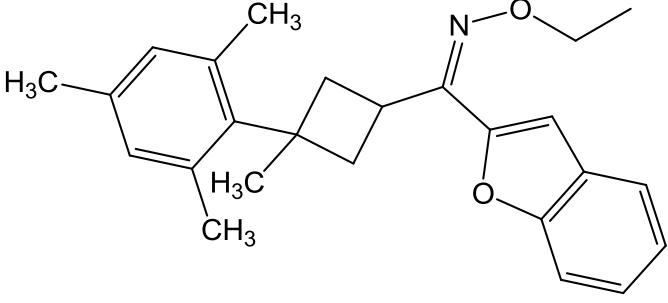
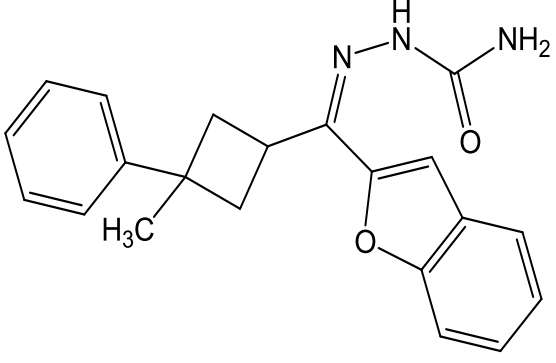
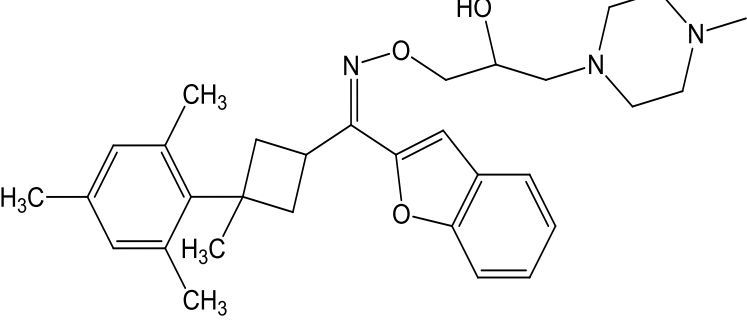
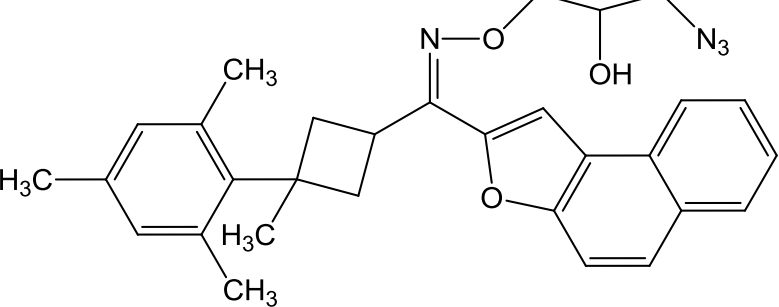
Çizelge 2.2 Tez çalışmasında kullanılan bileşikler (devam)

No	Molekül yapısı ve kimyasal adı
8	 <p data-bbox="379 658 1203 685">4,5-dihydrobenzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-methyl oxime</p>
9	 <p data-bbox="379 1084 1248 1111">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-<i>b</i>]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-(2-chloroacetyl) oxime</p>
10	 <p data-bbox="448 1480 1088 1536">2-(((4,5-dihydrobenzofuran-2-yl)(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methylene)hydrazinecarbothioamide</p>
11	 <p data-bbox="379 1921 1311 1948">4,5-dihydrobenzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-(2-chloroacetyl) oxime</p>

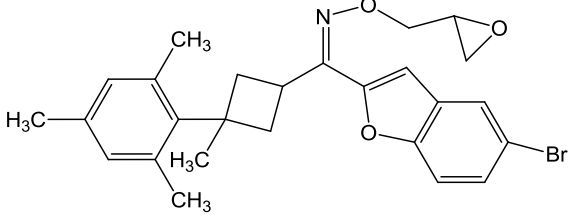
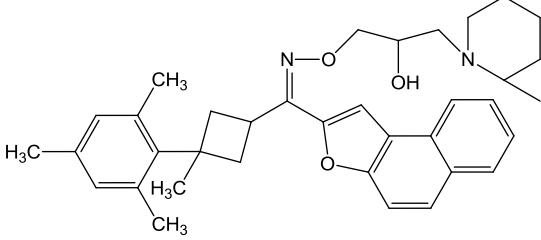
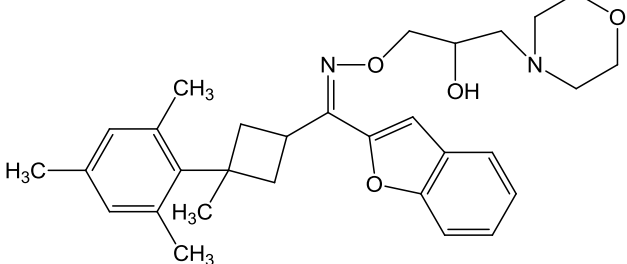
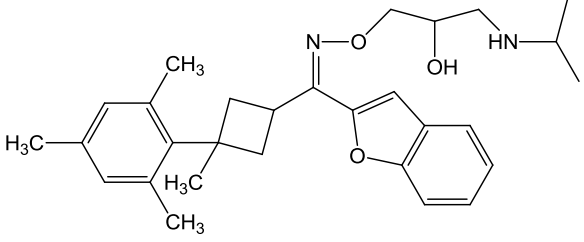
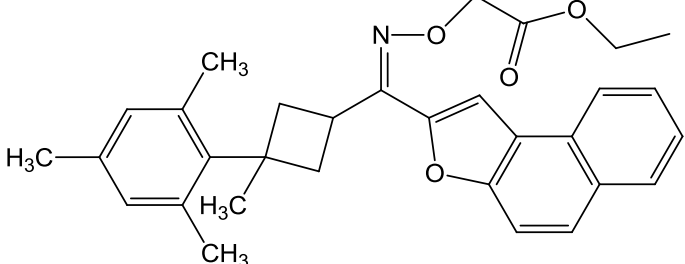
Çizelge 2.2 Tez çalışmasında kullanılan bileşikler (devam)

No	Molekül yapısı ve kimyasal adı
12	 <p data-bbox="376 730 1350 763">4,5-dihydrobenzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-(2-phenylacetyl) oxime</p>
13	 <p data-bbox="376 1137 1262 1171">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-<i>b</i>]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-benzyl oxime</p>
14	 <p data-bbox="376 1503 1214 1536">4,5-dihydrobenzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-allyl oxime</p>
15	 <p data-bbox="376 1910 1374 1973">2-(2-((5-bromo-4,5-dihydrobenzofuran-2-yl)(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methylene)hydrazinyl)-4-(chloromethyl)thiazole</p>

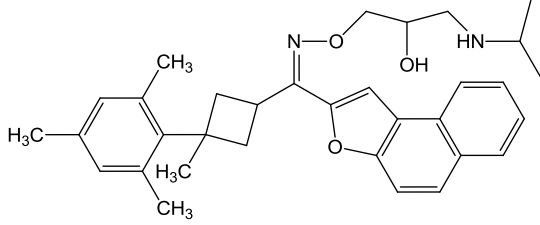
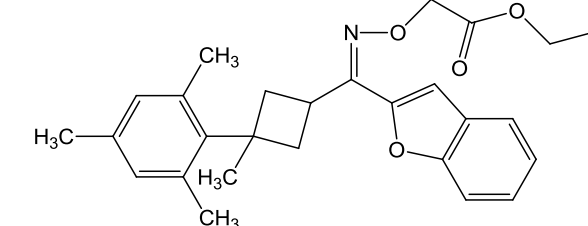
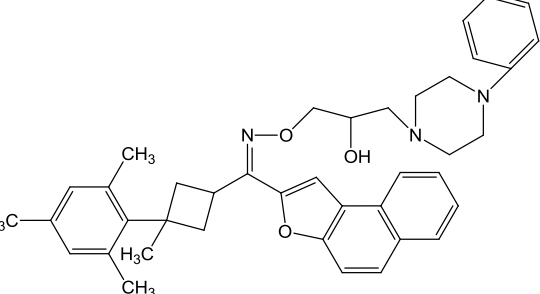
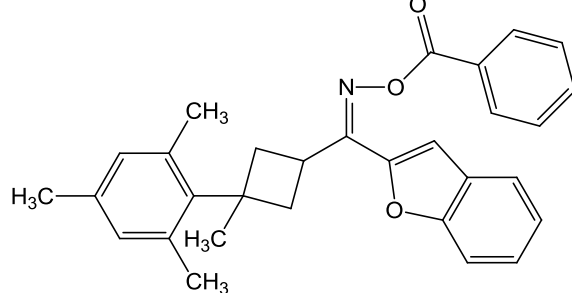
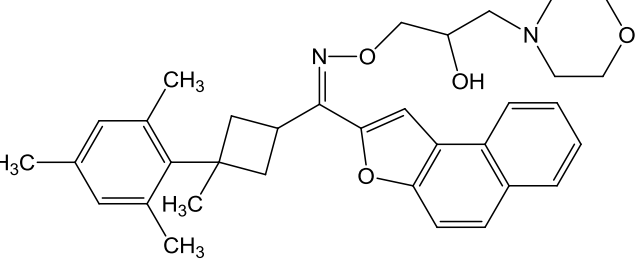
Çizelge 2.2 Tez çalışmasında kullanılan bileşikler (devam)

No	Molekül yapısı ve kimyasal adı
16	 <p data-bbox="379 678 1145 712">Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-ethyl oxime</p>
17	 <p data-bbox="379 1104 1217 1137">2-(benzofuran-2-yl(3-methyl-3-phenylcyclobutyl)methylene)hydrazinecarboxamide</p>
18	 <p data-bbox="379 1496 1209 1552">Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-(2-hydroxy-3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl) oxime</p>
19	 <p data-bbox="379 1910 1233 1966">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-<i>b</i>]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-(3-azido-2-hydroxypropyl) oxime</p>

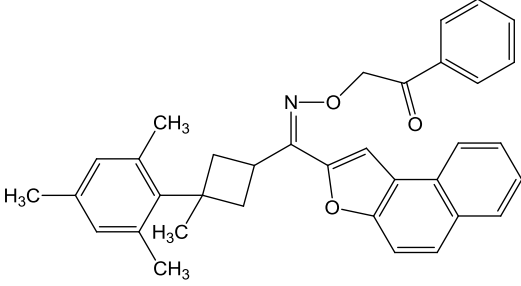
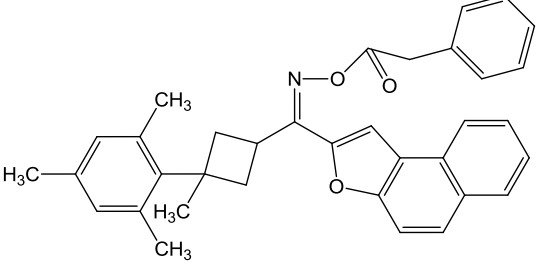
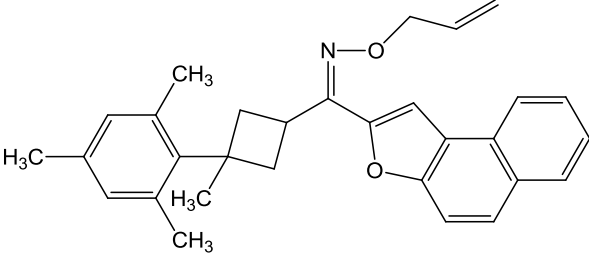
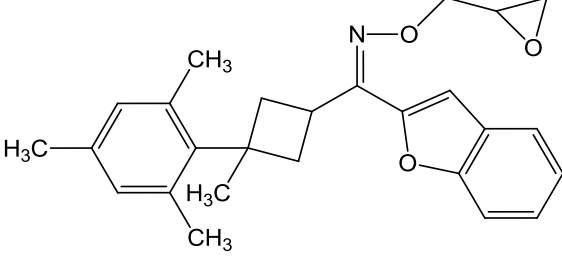
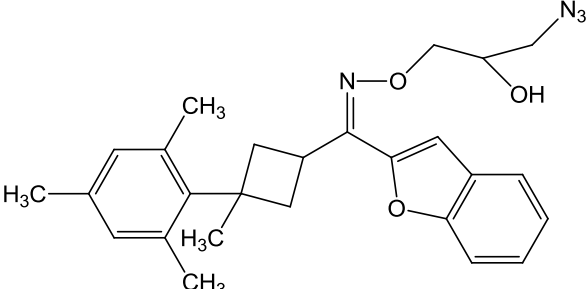
Çizelge 2.2 Tez çalışmasında kullanılan bileşikler (devam)

No	Molekül yapısı ve kimyasal adı
20	 <p data-bbox="379 629 1109 651">5-bromobenzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-oxiran-2-ylmethyl oxime</p>
21	 <p data-bbox="379 920 981 965">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-<i>b</i>]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-(2-hydroxy-3-(2-methylpiperidin-1-yl)propyl) oxime</p>
22	 <p data-bbox="379 1256 1114 1301">Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-(2-hydroxy-3-morpholinopropyl) oxime</p>
23	 <p data-bbox="387 1579 954 1624">Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-(2-hydroxy-3-(isopropylamino)propyl) oxime</p>
24	 <p data-bbox="427 1915 1018 1982">Ethyl 2-(((3-mesityl-3-methylcyclobutyl)(naphtho[2,1-<i>b</i>]furan-2-yl)methylene)amino)oxy)acetate</p>

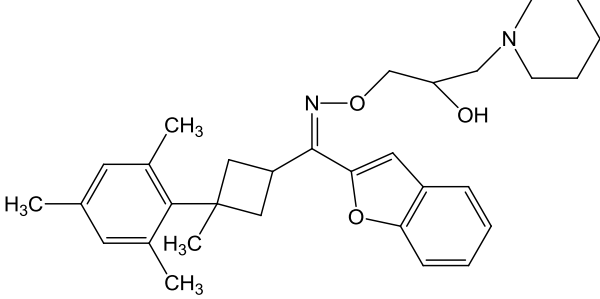
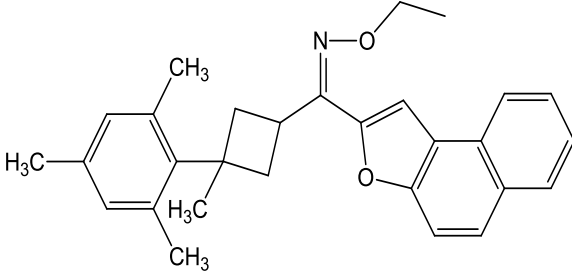
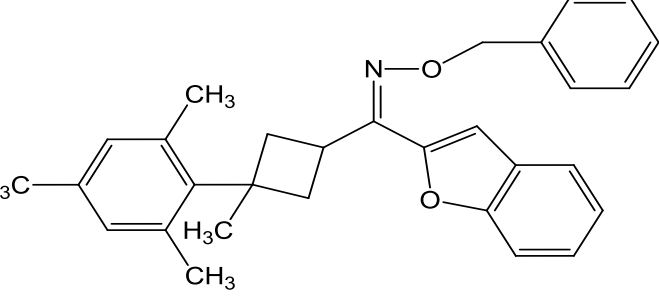
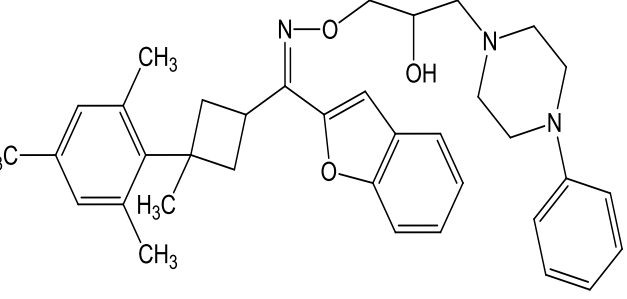
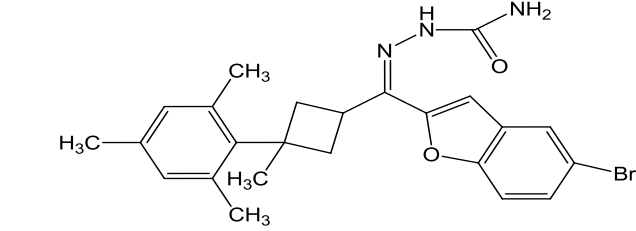
Çizelge 2.2 Tez çalışmasında kullanılan bileşikler (devam)

No	Molekül yapısı ve kimyasal adı
25	 <p>3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-(2-hydroxy-3-(isopropylamino)propyl) oxime</p>
26	 <p>Ethyl 2-((benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methylene)amino)oxy)acetate</p>
28	 <p>3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-(2-hydroxy-3-(4-phenylpiperazin-1-yl)propyl) oxime</p>
29	 <p>Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-benzoyl oxime</p>
30	 <p>3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-(2-hydroxy-3-morpholinopropyl) oxime</p>

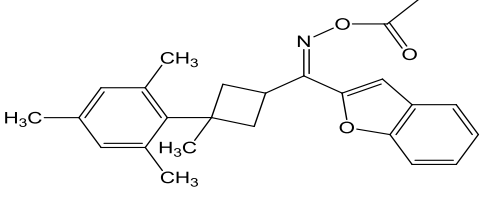
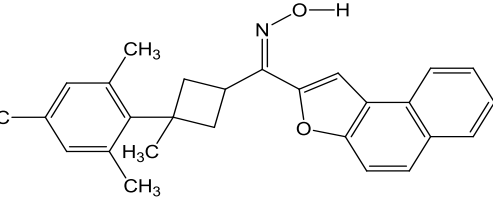
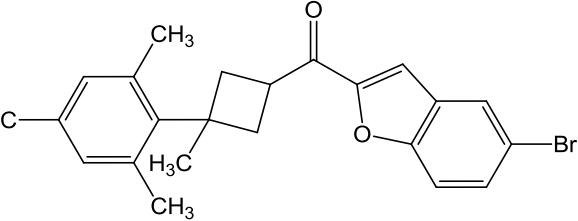
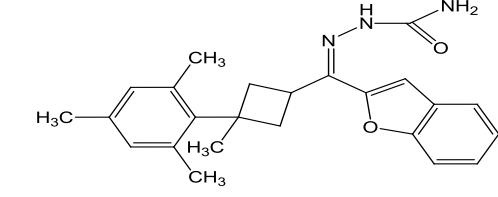
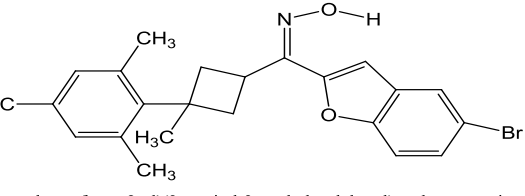
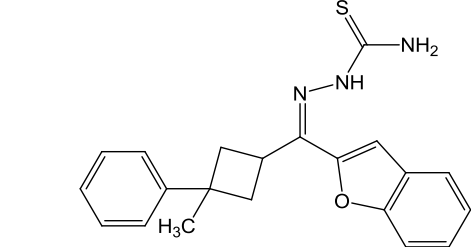
Çizelge 2.2 Tez çalışmasında kullanılan bileşikler (devam)

No	Molekül yapısı ve kimyasal adı
31	 <p data-bbox="379 651 1093 674">2-(((3-mesityl-3-methylcyclobutyl)(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methylene)amino)oxy)-1-phenylethanone</p>
32	 <p data-bbox="379 965 1040 987">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-(2-phenylacetyl) oxime</p>
33	 <p data-bbox="379 1276 1024 1299">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-allyl oxime</p>
34	 <p data-bbox="379 1588 1117 1610">Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-oxiran-2-ylmethyl oxime</p>
35	 <p data-bbox="379 1944 1168 1966">Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-(3-azido-2-hydroxypropyl) oxime</p>

Çizelge 2.2 Tez çalışmasında kullanılan bileşikler (devam)

No	Molekül yapısı ve kimyasal adı
36	 <p data-bbox="379 667 1034 712">Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-(2-hydroxy-3-(piperidin-1-yl)propyl) oxime</p>
37	 <p data-bbox="379 1012 1007 1048">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-ethyl oxime</p>
38	 <p data-bbox="379 1361 948 1384">Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-benzyl oxime</p>
39	 <p data-bbox="379 1697 1246 1720">Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-(2-hydroxy-3-(4-phenylpiperazin-1-yl)propyl) oxime</p>
40	 <p data-bbox="379 1971 1123 1993">2-((5-bromobenzofuran-2-yl)(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methylene)hydrazinecarboxamide</p>

Çizelge 2.2 Tez çalışmasında kullanılan bileşikler (devam)

No	Molekül yapısı ve kimyasal adı
41	 <p>Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-acetyl oxime</p>
42	 <p>3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-<i>b</i>]furan-2-yl)methanone oxime</p>
43	 <p>5-bromobenzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone</p>
44	 <p>2-(benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methylene)hydrazinecarboxamide</p>
45	 <p>5-bromobenzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone oxime</p>
46	 <p>2-(benzofuran-2-yl(3-methyl-3-phenylcyclobutyl)methylene)hydrazinecarbothioamide</p>

2.3. Tezde Kullanılan Cihazlar ve Gereçler

Tez çalışmalarında kullanılan cihazlar çizelge 2.3 de verilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan aletler (otoklav ve mikropilaka okuyucu hariç), Adıyaman Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı 7 ve 8 de bulunup çalışmalar bu laboratuvarlarda yürütülmüştür. Otoklav ve mikropilaka okuyucu ise Biyoloji Bölüm laboratuvarlarında kullanılmıştır.

Çizelge 2.3 Tez çalışmasında kullanılan cihazlar

No	Cihaz	Marka
1	Steril Kabin	Esco Class II BSC
2	Otoklav	Wisd
3	Vorteks	Heidolph
4	Mikropipetler ve pipetler	Brand/Rainin
5	Su Banyosu	Wisd
6	Çalkalamalı Su Banyosu	Wisd
7	Su Banyosu (Ultrasonik)	Wisd
8	Hassas Terazı	Scout pro SPU 6001
9	Dansitometre (Mc Farland Ayarı İçin)	biosan
10	Saf Su Cihazı	Milipor
11	Etüv	Venticell
12	pH Metre	Thermo Scientific
13	Manyetik Karıştırıcı	Velp Scientifica
14	Buzdolabı	Vestel
15	-80 C Dondurucu	New Brunswick
16	Santrifüj/ Ünıveral 320 R, Rotanta 460 R,	Rotanta
17	Mikropilaka okuyucu	Eon

Tez çalışmasında kullanılan gereçlerin listesi çizelge 2.4 de verilmiştir. Gereçlerin temininde Polar firmasından sayın Fatma PEKAVCILAR ve Yunus UÇMAK'a katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Çizelge 2.4 Tez çalışmasında kullanılan gereçler

No	Gereç	Marka
1	Steril petri kabı	İsolab
2	Pipet ucu	İsolab, Rainin, Axygen
3	Steril L çubuğu	İsolab

Çizelge 2.4 Tez çalışmasında kullanılan gereçler (devam)

No	Gereç	Marka
5	96 kuyucuklu steril plaka, kapaklı	Axygen
6	Steril tek kullanımlık rezervor	VWR
7	Steril tek kullanımlık pipet	İsolab
8	1.5 mL ependorf tüpleri	İsolab
9	10 mL amber şise	İsolab
10	10 mL steril kültür tüpü	İsolab
11	10 mL cam kapaklı tüp	İsolab
12	Kesici biyolojik atık kutusu	İsolab
13	Biyolojik atık torbası	İsolab
14	Steril boş antibiyotik diskleri	OXOID
15	Lam	İsolab
16	Falkon tüpleri (50 ve 15 mL)	İsolab
17	Otoklavlanabilir çelik tüplük	İsolab
18	Steril Nitril eldiven	VWR
19	0.2 µM syringe filtresi	VWR
20	10, 20, 50 mL syringe	VWR

2.4. Tezde Kullanılan Mikroorganizmalar

Tez çalışmasında kullanılan bakteri ve maya suşları çizelge 2.4 de verilmiştir. Suşların çalışmamızda kullanılmasına izin veren ve bize gönderen tüm hocalarımıza sonsuz saygı ve teşekkürlerimizi sunarız.

Çizelge 2.5 Tez çalışmasında kullanılan mikrororganizmalar

No	Tür adı	Özelliği	Kullanım Amacı	Kaynak
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	Metisilin duyarlı <i>S. aureus</i> (MSSA), CLSI kontrol	Adıyaman Devlet Hastanesi
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	CLSI kontrol	Adıyaman Devlet Hastanesi
3	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	CLSI kontrol	Adıyaman Devlet Hastanesi
4	<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048	Tür kontrol	Adıyaman Devlet Hastanesi
5	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	Vankomisin duyarlı <i>Enterococcus</i> (VSE), CLSI kontrol	Adıyaman Devlet Hastanesi
6	Metisilin Dirençli <i>S. aureus</i>	MRSA	Metisilin Dirençli <i>S. aureus</i> (MRSA)	Dokuz Eylül Üniversitesi
7	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 35218	TEM-1 üreten <i>E.coli</i> , GSBL değil	Dokuz Eylül Üniversitesi

Çizelge 2.5 Tez çalışmasında kullanılan mikroroganizmalar (devam)

No	Tür adı	Özelliği	Kullanım Amacı	Kaynak
8	<i>Escherichia coli</i> -CTX-M-15	GSBL	CTX-M-15 üreten <i>E.coli</i> , GSBL	Dokuz Eylül Üniversitesi
9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	duyarlı	duyarlı <i>K. pneumoniae</i> izolatu	Dokuz Eylül Üniversitesi
10	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	SHV-18 üreten <i>K. pneumoniae</i> izolatu, GSBL	Dokuz Eylül Üniversitesi
11	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR	dirençli	Çok antibiyotiğe dirençli <i>P. aeruginosa</i> izolatu	Dokuz Eylül Üniversitesi
12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PER	PER (+)	PER üreten <i>P. aeruginosa</i> izolatu, GSBL	Dokuz Eylül Üniversitesi
13	<i>Acinetobacter baumannii</i> MDR	dirençli	Çok antibiyotiğe dirençli <i>A. baumannii</i> izolatu	Dokuz Eylül Üniversitesi
14	<i>Candida krusei</i>	ATCC 6258	CLSI kontrol	Çukurova Üniversitesi
15	<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 22019	CLSI kontrol	Çukurova Üniversitesi
16	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	Kontrol	Çukurova Üniversitesi
17	<i>Candida glabrata</i>	ATCC 90030	Kontrol	Çukurova Üniversitesi
18	<i>Enterococcus faecalis</i> VRE	VRE	Vankomisin dirençli <i>Enterococcus</i> (VRE),	Adıyaman Devlet Hastanesi

2.5. Bileşiklerin Antibakteriyel ve Antifungal Aktivitelerinin Mikrodilüsyon ve Disk Difüzyon Yöntemiyle İncelenmesi

Tez çalışmasında taranacak olan yeni bileşiklerin antibakteriyel veya antifungal aktivitelerinin olup olmadığı standart Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü'nün (CLSI M27-A2; M100-S17; M7-A7) kriterleri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

MİK deneyleri DMSO da çözünen bileşikler için yapılmıştır. Kontrol bileşikleri doğrultusunda her bileşik için büyüme tamamen inhibe eden minimum konsantrasyonlar gözle okunarak belirlendikten sonra, her plakadaki bakteri/maya büyümesi türbidite değeri olarak (O.D 630) mikropilaka okuyucuda okunarak ve bileşiklerin türbidite (büyüme) üzerindeki etkileri, büyüme kontrolleri ve kontrol bileşiklere kıyaslanarak ayrıca hesaplanmıştır. Az miktarda da olsa bakterilerin veya mayaların büyümesini engelleyen bileşikler bu yolla tesbit edilebilmiştir.

Aktivitesi taranacak olan bileşiklerin stok solüsyonları DMSO da hazırlanarak MİK deneylerinde kullanılmıştır. Taranacak bileşiklerin, MİK deneyindeki final konsantrasyon aralıkları 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2 ve 1 µg/ml olarak ayarlanmıştır. Bunun nedeni DMSO da çözünen bileşiklerin 12.8 mg/mL üzerinde çözünmemeleridir.

Yapılan ön çalışmalarda MİK deneylerine eklenebilecek en yüksek DMSO konsantrasyonunun %1 olabileceği belirlenmiştir. Deneydeki final DMSO konsantrasyonu %1 olarak hesaplanmış ve kıyaslama amacı ile kullanılacak olan büyüme kontrollerine de %1 DMSO eklenmiştir (DMSO kaynaklı büyüme azalmasını dengelemek için). Kontrol amacı ile kullanılacak olan antibiyotikler ve bunların kıyaslanacağı büyüme kontrolleri ise CLSI standartlarına göre yapılmıştır (CLSI M27-A; M100-S17; M7-A7).

Kontrol suşları ve antibiyotikleri CLSI tarafından belirtilen şekilde kullanılmıştır (CLSI M27-A2; M100-S17; M7-A7). Bu çalışmada kullanılacak olan bakteri ve maya suşları çizelge 2.4 de verilmiştir. Bu çalışmada kullanılacak olan kontrol antibiyotikler vankomisin, metisilin, penisilin, sipropfloksasin, tetrasiklin ve amfisilin olacaktır. Kullanılacak kontrol antifungaller ise Anfoterasin B ve funakazoldür (M27-A2; M100-S17; M7-A7).

DMSO da çözünmeyen bileşikler kloroformda çözünerek antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri ise (CLSI M2-A9; M100-S17; M44-A) kriterleri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

Disk difüzyon deneylerinde kontrol antibiyotik diski olarak izolatın dirençlilik durumuna göre sefepim (30 mcg/disk), Amikasin (10 mcg/disk) veya tetrasiklin (30 mcg/disk) kullanılmıştır. Kontrol antifungal diski olarak flukonazol kullanılmıştır. Bileşiklerin disklere yüklendiği hacimlere eş miktarda kloroform kontrol diskleri hazırlanarak kullanılmıştır. Bileşik ve kontrol diskleri biyogüvenlik kabini steril petri içersinde steril oxoid diskleri kullanılarak hazırlanmıştır. Yüklenen kloroformların tamamen uçması için diskler steril koşullarda 2 saat bekletilmişlerdir. Ayrıca eş zamanlı yüklenen kloroform diskleri kullanılarak, kloroformun tamamen uçtuğu teyit edilmiştir.

2.6. Antibakteriyel Aktivite Gösteren Bileşiklerin Zamana Bağlı Öldürme Eğrilerinin (Kinetik Öldürme Eğrilerinin) Tayini.

Antibakteriyel veya antifungal aktivite gösteren bileşikler için zamana bağlı öldürme eğrileri CLSI M26-A da tarif edilen şekillerde belirlenmiştir. Bu sonuçlarla bileşiklerin bu mikroorganizmalara karşı bakteriyosidal mi yoksa bakteriyostatik mi oldukları araştırılmıştır.

2.7. Antibakteriyel veya Antifungal Aktivite Gösteren Bileşiklerin Minimum Bakteriosidal Konsantrasyonlarının (MBC) Tayini.

Antibakteriyel veya antifungal aktivite gösteren bileşikler için MBC değerleri CLSI M26-A da tarif edilen şekillerde belirlenmiştir. Bu değerler aktivite gösteren bileşiklerin bu mikroorganizmalara karşı etki mekanizmaları hakkında bilgi vermiştir: üremeyi durdurucu (bakteriyostatik) ya da öldürücü (bakteriyosidal) (CLSI M26-A).

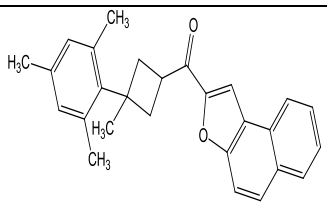
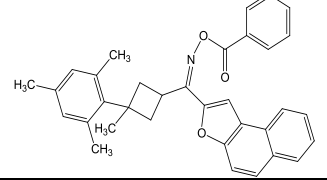
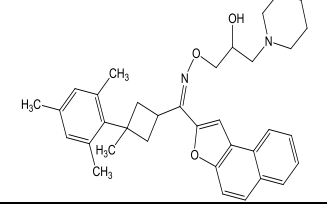
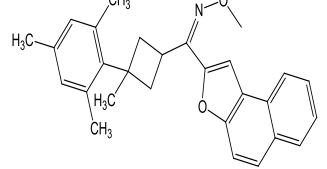
3. BULGULAR VE SONUÇ

3.1. DMSO da Çözünen Bileşiklerin Belirlenmesi

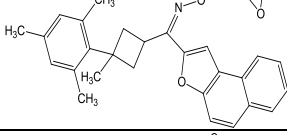
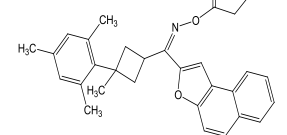
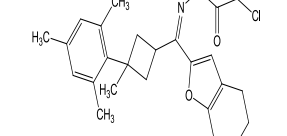
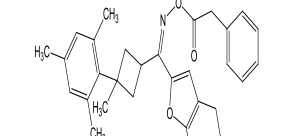
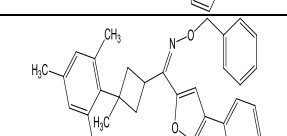
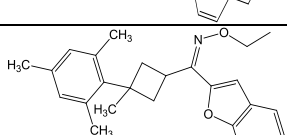
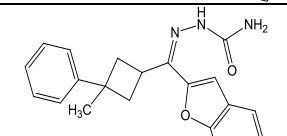
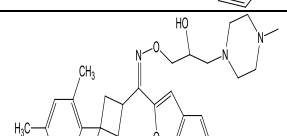
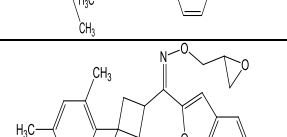
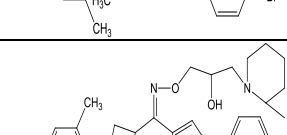
CLSI kriterlerine uygun olarak bakteri ve mayalara karşı bileşiklerin aktivitelerinin belirlenebilmesinde kullanılacak olan en etkili ve ekonomik yöntem mikrobrot dilüsyon yöntemidir (CLSI M7-A7; M27-A2). Bileşiklerin bu yöntemle denenebilmesi için DMSO veya suda çözünür olması idealdir. Bileşiklerin sentezini yapan sayın hocamız Prof. Dr. Murat KOCA'nın tavsiyesi ile bileşikleri çözmek için ilk etapta DMSO kullanılmıştır.

DMSO da çözünen bileşiklerin numaraları, molekül formülleri ve kimyasal adlandırmaları çizelge 3.1 de verilmiştir. Bu bileşiklerin stok konsantrasyonları 12,8 mg/mL olarak ayarlanmıştır. DMSO stokları oda ısısında desikant üzerinde saklanmıştır.

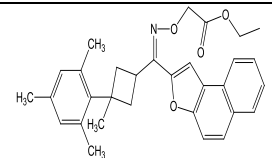
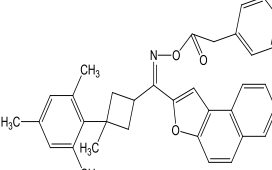
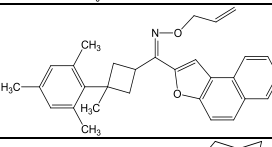
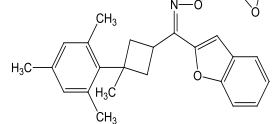
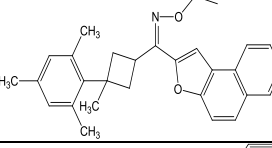
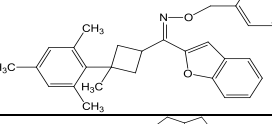
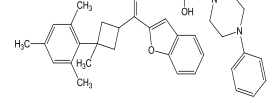
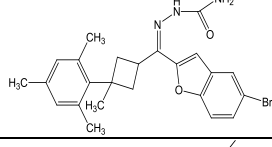
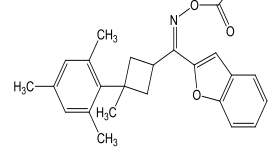
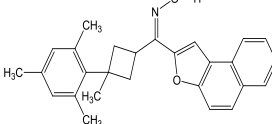
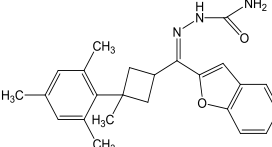
Çizelge 3.1 DMSO içerisinde (12,8 mg/mL) çözünen bileşikler

Bileşik No	Bileşik Formülü	Bileşik Adı
2		3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone
3		3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-benzoyl oxime
4		3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-(2-hydroxy-3-(piperidin-1-yl)propyl) oxime
5		3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-methyl oxime

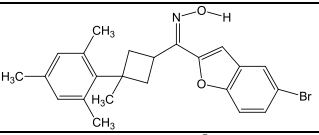
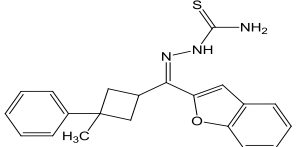
Çizelge 3.1 DMSO içerisinde (12,8 mg/mL) çözünen bileşikler (devam)

Bileşik No	Bileşik Formülü	Bileşik Adı
7		3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-oxiran-2-ylmethyl oxime
9		3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-(2-chloroacetyl) oxime
11		4,5-dihydrobenzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-(2-chloroacetyl) oxime
12		4,5-dihydrobenzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-(2-phenylacetyl) oxime
13		3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-benzyl oxime
16		Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-ethyl oxime
17		Benzofuran-2-yl(3-methyl-3-phenylcyclobutyl)methylenehydrazinecarboxamide
18		Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-(2-hydroxy-3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl) oxime
20		5-bromobenzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-oxiran-2-ylmethyl oxime
21		3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-(2-hydroxy-3-(2-methylpiperidin-1-yl)propyl) oxime

Çizelge 3.1 DMSO içerisinde (12,8 mg/mL) çözünen bileşikler (devam)

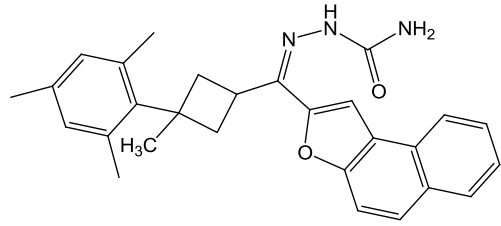
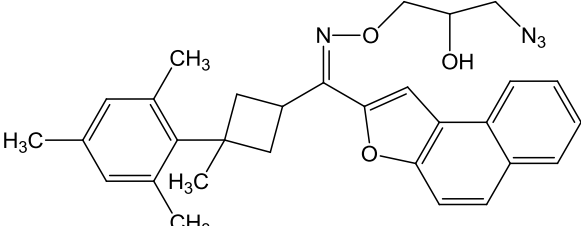
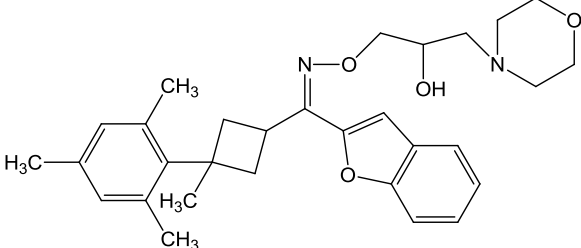
Bileşik No	Bileşik Formülü	Bileşik Adı
24		Ethyl 2-(((3-mesityl-3-methylcyclobutyl)(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methylene)amino)oxy)acetate
32		3-mesityl-3-methylcyclobutyl)(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-(2-phenylacetyl) oxime
33		3-mesityl-3-methylcyclobutyl)(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-allyl oxime
34		Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-oxiran-2-ylmethyl oxime
37		3-mesityl-3-methylcyclobutyl)(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-ethyl oxime
38		Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-benzyl oxime
39		Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-(2-hydroxy-3-(4-phenylpiperazin-1-yl)propyl) oxime
40		2-((5-bromobenzofuran-2-yl)(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methylene)hydrazinecarboxamide
41		Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-acetyl oxime
42		3-mesityl-3-methylcyclobutyl)(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone oxime
44		2-(benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methylene)hydrazinecarboxamide

Çizelge 3.1 DMSO içerisinde (12,8 mg/mL) çözünen bileşikler (devam)

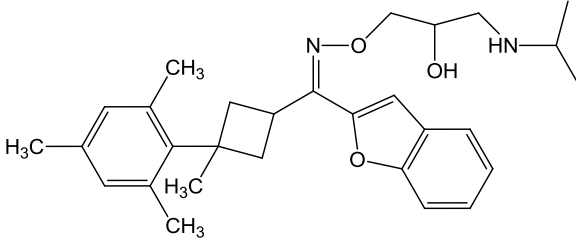
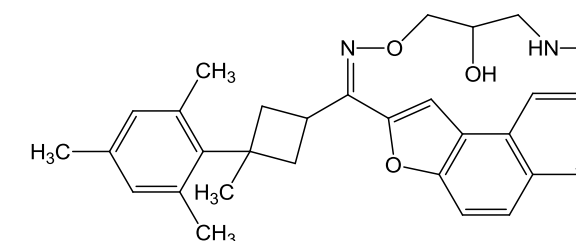
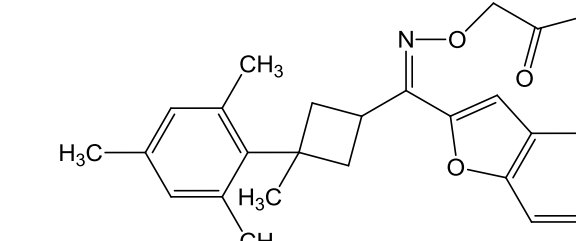
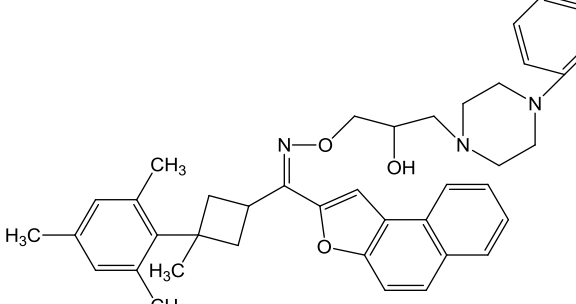
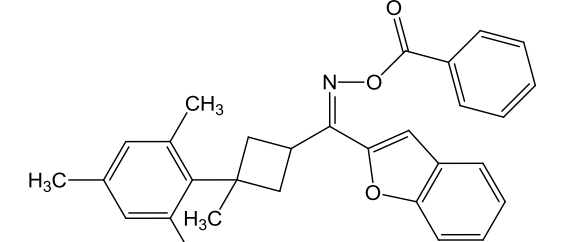
Bileşik No	Bileşik Formülü	Bileşik Adı
45		5-bromobenzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone oxime
46		2-(benzofuran-2-yl(3-methyl-3-phenylcyclobutyl)methylene)hydrazinecarbothioamide

Çizelge 3.1 de görüldüğü üzere bileşiklerden bazıları DMSO da 3.2 mg/mL konsantrasyona kadar inildiği halde çözünmemişlerdir. Bu bileşikler 1, 19, 22, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 35, 36 ve 43 nolu bileşiklerdir. DMSO da çözünmeyen bu bileşiklerin molekül formülleri ve kimyasal adlandırılmaları çizelge 3.2 de verilmiştir.

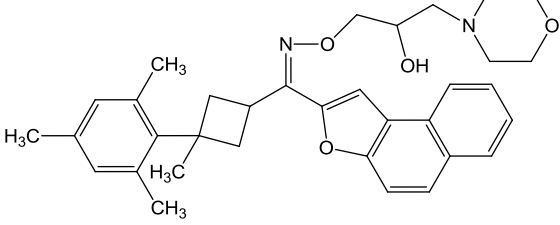
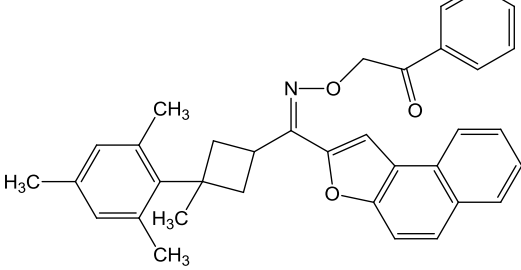
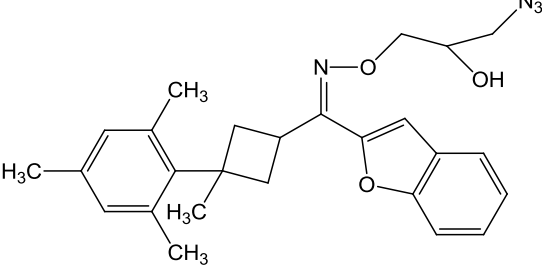
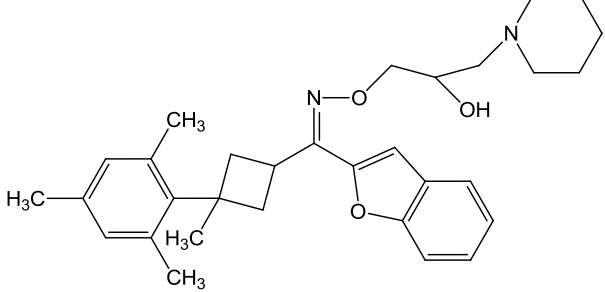
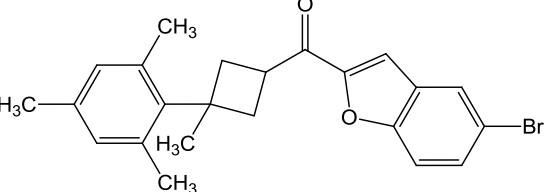
Çizelge 3.2 DMSO içerisinde çözünmeyen bileşikler

No	Molekül yapısı ve kimyasal adı v
1	 3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methylenehydrazinecarboxamide
19	 3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-(3-azido-2-hydroxypropyl) oxime
22	 Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-(2-hydroxy-3-morpholinopropyl) oxime

Çizelge 3.2 DMSO içerisinde çözünmeyen bileşikler (devam)

No	Molekül yapısı, kimyasal adı ve kodu
23	 <p data-bbox="379 600 957 651">Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-(2-hydroxy-3-(isopropylamino)propyl) oxime</p>
25	 <p data-bbox="379 909 957 969">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-<i>b</i>]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-(2-hydroxy-3-(isopropylamino)propyl) oxime</p>
26	 <p data-bbox="379 1227 957 1288">Ethyl 2-(((benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methylene)amino)oxy)acetate</p>
28	 <p data-bbox="379 1608 957 1675">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-<i>b</i>]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-(2-hydroxy-3-(4-phenylpiperazin-1-yl)propyl) oxime</p>
29	 <p data-bbox="379 1933 957 1991">Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-benzoyl oxime</p>

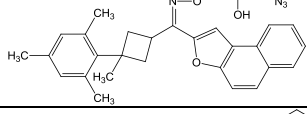
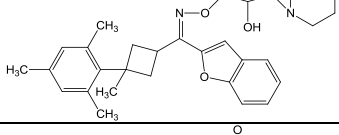
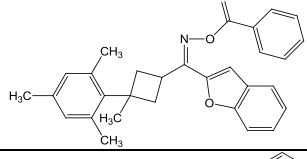
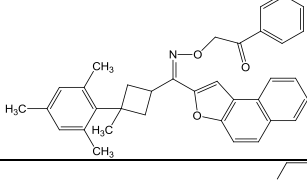
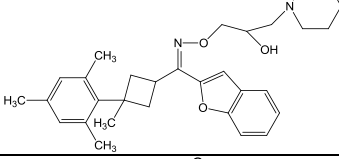
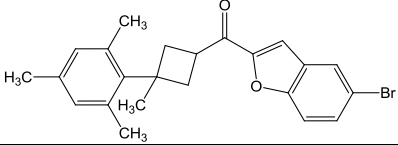
Çizelge 3.2 DMSO içerisinde çözünmeyen bileşikler (devam)

No	Molekül yapısı, kimyasal adı ve kodu
30	 <p data-bbox="379 600 1117 645">3-mesityl-3-methylcyclobutyl(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone <i>O</i>-(2-hydroxy-3-morpholinopropyl) oxime</p>
31	 <p data-bbox="379 947 1117 969">2-(((3-mesityl-3-methylcyclobutyl)(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methylene)amino)oxy)-1-phenylethanone</p>
35	 <p data-bbox="379 1272 1117 1294">Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-(3-azido-2-hydroxypropyl) oxime</p>
36	 <p data-bbox="379 1619 1117 1664">Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone <i>O</i>-(2-hydroxy-3-(piperidin-1-yl)propyl) oxime</p>
43	 <p data-bbox="379 1888 1117 1919">5-bromobenzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone</p>

3.2. DMSO’da Çözünmeyen Bileşiklerden Kloroformda Çözünenlerin Belirlenmesi

DMSO’da çözünmeyen bileşikler Prof. Dr. Murat Koca’nın tavsiyesi ile kloform içerisinde çözündürülmeye çalışılmıştır. Bunun nedeni kloformda çözünen bileşiklerin aktivitelerinin CLSI disk diffüzyon yöntemi ile rahatlıkla denenilecek olmasıdır (M44-A, M2-A9; M100-S17). Çizelge 3.3 DMSO da çözünmeyip kloformda 6.4 mg/mL olarak çözünen bileşiklerin molekül yapılarını ve kimyasal isimlerini göstermektedir. Çizelge 3.2 ile çizelge 3.3 karşılaştırıldığında ise 1, 23, 25, 26, 28 ve 35 nolu bileşiklerin kloroformda da çözünmediği (1,1 mg/mL ye kadar denendi) görülmüştür.

Çizelge 3.3 DMSO’da çözünmeyip kloroformda çözünen bileşikler

Bileşik No	Bileşik Formülü	Bileşik Adı
19		(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-(3-azido-2-hydroxypropyl) oxime
22		Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-(2-hydroxy-3-morpholinopropyl) oxime
29		Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-benzoyl oxime
31		2-(((3-mesityl-3-methylcyclobutyl)(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methylene)amino)oxy)-1-phenylethanone
36		Benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-(2-hydroxy-3-(piperidin-1-yl)propyl) oxime
43		5-bromobenzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone

DMSO da çözünerek MİK deneylerinde kullanılan 18, 37, 38 ve 45 numaralı bileşikler aynı zamanda kloroformda da çözünerek (6,4 mg/mL) disk difüzyon deneylerinde de kullanılmışlardır.

3.3. DMSO da Çözünen Bileşiklerin Gram (-) Antibakteriyel Aktivitelerinin Mikrodilüsyon Yöntemiyle Belirlenmesi

DMSO da çözünen bileşiklerin antibakteriyel aktiviteleri CLSI yöntemlerinden mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu bileşiklerden hiç birinde gözle yapılan son nokta okumalarında Gram (-) antibakteriyel aktivite görülmemiştir.

Tez çalışmalarının bu kısmında kullanılan Gram (-) bakteriler çizelge 3.4 de verilmiştir. Sonuçlar kontrol antibiyotiklerinin kalite kontrol izolatları üzerinde verdikleri MİK değerlerinin CLSI kriterine uyması durumunda kabul edilmiş ve ikili tekrarlar şeklinde en az iki kez tekrarlanmıştır. Bu bakteriler üzerinde denenen 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 32, 33, 34, 37, 38, 39, 42, 41, 42, 44, 45 ve 46 nolu bileşikler için MİK değerleri >128 µg/mL olarak bulunmuştur.

Çizelge 3.4 DMSO’da çözünen bileşiklerin üzerinde denendiği Gram (-) bakteriler

Tür adı	Özelliği	Kullanım Amacı
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	CLSI kontrol
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	CLSI kontrol
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048	Tür kontrol
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 35218	TEM-1 üreten <i>E.coli</i> , GSBL değil
<i>Escherichia coli</i> -CTX-M-15	GSBL	CTX-M-15 üreten <i>E.coli</i> , GSBL
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	duyarlı	duyarlı <i>K. pneumoniae</i> izolatu
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	SHV-18 üreten <i>K. pneumoniae</i> izolatu, GSBL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR	dirençli	Çok antibiyotiğe dirençli <i>P. aeruginosa</i> izolatu
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PER	PER (+)	PER üreten <i>P. aeruginosa</i> izolatu, GSBL
<i>Acinetobacter baumannii</i> MDR	dirençli	Çok antibiyotiğe dirençli <i>A. baumannii</i> izolatu

Bu bileşiklerden bazılarında bazı mikroorganizmalar için en yüksek konsantrasyonlar olan 128 ve 64 µg/mL de büyüme gözlenmiş ve bu nedenle MİK değerleri >128 µg/mL olarak belirlenmiştir. Ancak bu mikroplakaların türbitileri mikroplokaokuyucu ile okunmuş (O.D. 630), DMSO ve sterilite kontroller kullanılarak % canlılık oranları

hesaplanmıştır. Bu incelemede *Acinetobacter baumannii* MDR'nin 41 nolu bileşiğın 64 µg/mL konsantrasyonunda % 81±10 ve 37 nolu bileşiğın 64 µg/mL konsantrasyonunda ise % 73±5 canlılık gösterdiği tesbit edilmiştir. *E. coli* ATCC 25922'nin 4, 18, 41 ve 45 nolu bileşiklerin 64 µg/mL konsantrasyonunda sırası ile % 72±2, % 69±5, % 47±4 ve % 42±4 canlılık gösterdiği belirlenmiştir. Aynı özellik *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 ve *Pseudomonas aeruginosa* MDR ile görülmemiştir. Bu sonuçlar bahsi geçen bileşiklerin ilgili bakteriler üzerinde (bir alt popülasyonlarına da olsa) kısmen aktivite gösterdiklerini önermektedir.

3.4. DMSO'da Çözünen Bileşiklerin Gram (+) Antibakteriyel Aktivitelerinin Mikrodilüsyon Yöntemiyle Belirlenmesi

DMSO da çözünen bileşiklerin Gram (+) antibakteriyel aktiviteleri CLSI yöntemlerinden mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (CLSI M7-A7; M100-S17). Tez çalışmalarının bu kısmında kullanılan Gram (+) bakteriler çizelge 3.5 de verilmiştir. Sonuçlar kontrol antibiyotiklerinin kalite kontrol izolatları üzerinde verdikleri MİK değerlerinin CLSI kriterine uyması durumunda kabul edilmiş ve ikili tekrarlar şeklinde en az iki kez tekrarlanmıştır. Bu bileşiklerden bazılarında gözle yapılan son nokta okumalarında Gram (+) antibakteriyel aktivite görülmüştür. Gram (+) aktivite gösteren bileşikler 4, 18, 21 ve 45 nolu bileşiklerdir. Bu sonuçlar çizelge 3.6 de özetlenmiştir. Bileşiklerin MİK değerlerinde ilk DMSO da çözündükleri günlük değerlere göre bir yükselme gözlenmiştir. Bu bileşiklerin oda ısısında DMSO daki stabiliteleri ile alakalı olup ilerideki projelerde zamana bağlı kimyasal stabilite çalışmaları gerektirebilir. Kimyasal stabilite bu tezin konu ve kapsamı içerisine alınmamıştır.

Gram (+) aktivite gösteren 4, 18, 21 ve 45 nolu bileşiklerin MBC değerleri MİK değerlerine eşit olarak belirlenmiştir. Bu bulgular bu bileşiklerin bakteriosidal olduğunu önermektedir. MİK ve MBC değerleri 48 saat bileşik ile inkübasyon sonucunda belirlenmiştir. Özellikle VRE ve MRSA suşlarının yavaş büyümelerinden dolayı 48 saat inkübasyondan sonra yapılan değerlendirmelerin net ve tekrarlanabilir olduğu tesbit edilmiştir.

Bu bakteriler üzerinde denenen 2, 3, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 16, 17, 20, 24, 32, 33, 34, 37, 38, 39, 42, 41, 42, 44 ve 46 nolu bileşikler için MİK değerleri >128 µg/mL olarak bulunmuştur.

Çizelge 3.5 DMSO’da çözünen bileşiklerin üzerinde denendiği Gram (+) bakteriler

Tür adı	Özelliği	Kullanım Amacı
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	Metisilin duyarlı <i>S. aureus</i> (MSSA), CLSI kontrol
Metisilin Dirençli <i>S. aureus</i>	MRSA	Metisilin Dirençli <i>S. aureus</i> (MRSA)
<i>Enterococcus faecalis</i> VRE	VRE	Vankomisin dirençli <i>Enterococcus</i> (VRE),
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	Vankomisin duyarlı <i>Enterococcus</i> (VSE), CLSI kontrol

Çizelge 3.6 Gram (+) bakteriler için MİK deneylerinin sonuçları (48 saat sonunda okunan sonuçlardır)

Bileşik No	MİK Değeri (µg/mL)			
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	MRSA	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	VRE
4	32-64	>128	128-64	32-64
18	32-64	16-32	32-64	16-32
21	>128	>128	32-64	32-64
45	>128	>128	>128	16-32
Tetrasiklin	0,125-1	32-64	4-8	1
Metisilin	1	>128	-	-
Vankomisin	-	-	2	64, >64

Bu bileşiklerden bazılarında bazı mikroorganizmalar için en yüksek konsantrasyonlar olan 128 ve 64 µg/mL de büyüme gözlenmiş ve bu nedenle MİK değerleri >128 µg/mL olarak belirlenmiştir. Ancak bu mikroplakaların türbititeleri mikropkaya okuyucu ile okunmuş (O.D. 630), DMSO ve sterilite kontroller kullanılarak % canlılık oranları belirlenmiştir. Bu değerlendirmeler de 48 saat inkübasyondan sonra yapılmıştır. Bu incelemede MRSA’nın 41, 45 ve 4 nolu bileşiklerin 128 µg/mL ve 21 nolu bileşiğin 64 µg/mL konsantrasyonunda sırasıyla % 61±3, % 35±6, % 50±2 ve % 80±4 canlılık gösterdiği kaydedilmiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213’ün 41 nolu bileşiğin 64 µg/mL konsantrasyonunda % 65±4 canlılık gösterdiği bulunmuştur. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212’in 41, 32, 33 ve 38 nolu bileşiklerin 64 µg/mL konsantrasyonunda sırasıyla % 70±10, % 52±10, % 50±15 ve % 75±10 canlılık

gösterdiği saptamıştır. VRE'nin 41 nolu bileşiğin 64 µg/mL konsantrasyonunda % 68±10 canlılık gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar bahsi geçen bileşiklerin ilgili bakteriler üzerinde (bir alt popülasyonlarına da olsa) kısmen aktivite gösterdiklerini düşündürmüştür.

3.5. DMSO'da Çözünen Bileşiklerin Antifungal Aktivitelerinin Mikrodilüsyon Yöntemiyle Belirlenmesi

DMSO da çözünen bileşiklerin antifungal aktiviteleri CLSI yöntemlerinden mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (M27-A). Tez çalışmalarının bu kısmında kullanılan *Candida* türleri çizelge 3.7 de verilmiştir. Sonuçlar kontrol antifungal amfoterisin B'nin kalite kontrol izolatları üzerinde verdikleri MİK değerlerinin CLSI kriterine uyması durumunda kabul edilmiş ve ikili tekrarlar şeklinde en az iki kez tekrarlanmıştır. 18 nolu bileşik gözle yapılan son nokta okumalarında antifungal aktivite göstermiştir (çizelge 3.7). 18 nolu bileşiğin MİK değerleri MBC değerleri ile aynı bulunmuştur ve burada belirtilen değerler 48 saat inkübasyon sonunda elde edilen değerlerdir (MİK okumalarında 24 ve 48 saat inkübasyondan sonra elde edilen değerler aynıdır, MBC için ekimler 48 saat inkübasyon sonunda MİK değerleri belirlendikten sonra yapılmıştır (CLSI M26-A; M27-A).

Çizelge 3.7 Antifungal aktivite: 18 nolu bileşik ve amfoterisin B için MİK (µg/mL) değerleri

Tür adı	Özelliği	Kullanım Amacı	18 nolu bileşik	Aamfoterisin B
<i>Candida krusei</i>	ATCC 6258	CLSI kontrol	32	1
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 22019	CLSI kontrol	128	1
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	Kontrol	64	1
<i>Candida glabrata</i>	ATCC 90030	Kontrol	128	0,5

Candida türleri üzerinde denenen 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 16, 17, 20, 21, 24, 32, 33, 34, 37, 38, 39, 42, 41, 42, 44, 45 ve 46 nolu bileşiklerin MİK değerleri >128 µg/mL olarak bulunmuştur (çizelge 3.7).

3.6. DMSO'da Çözünmeyip Kloroformda Çözünen Bileşiklerin Antibakteriyel ve Antifungal Aktivitelerinin Araştırılması

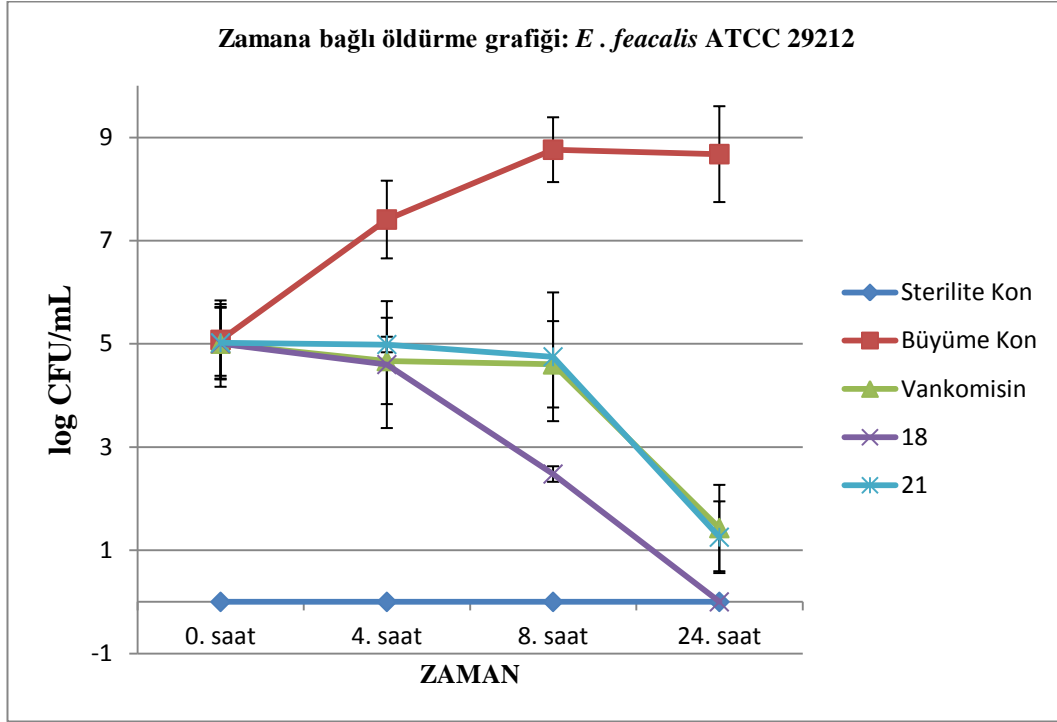
Kloroformda 6,4 mg/mL olarak çözünen 19, 22, 29, 31 ve 36 nolu bileşikler ile DMSO da çözünerek MİK deneyinde kullanılmış olan 37 nolu bileşik kloroformda da çözünerek antifungal aktiviteleri (CLSI M44-A) kriterlerine göre incelenmiştir. Bileşik diskleri 16 µg olarak hazırlanırken flukanazol diski 25 µg olarak hazırlanmıştır. Bu bileşikler disk difüzyon yöntemi ile bu konsantrasyonda antifungal aktivite göstermemiştir. *Candida parapsilosis* ATCC 22019 için flukanazol zonu 25 mm olarak bulunmuş olup CLSI kriterindedir.

Kloroformda 6,4 mg/mL olarak çözünen 19, 22, 29, 31, 36 ve 43 nolu bileşikler ile DMSO da çözünerek MİK deneyinde kullanılmış olan 18, 37, 38 ve 45 nolu bileşikler kloroformda da çözünerek antibakteriyel aktiviteleri (CLSI M2-A9) kriterlerine göre incelenmiştir. Bileşik diskleri 128 µg olarak hazırlanırken Amikasin (10 mcg/disk), sefepim (30 mcg/disk) veya tetrasiklin (30 mcg/disk) kontrol antibiyotikleri olarak kullanılmışlardır. Bunlardan 19, 22, 29, 31, 36, 43, 37, 38 ve 45 nolu bileşikler *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218, *E. coli* CTX-M-15, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, VRE, MRSA ve *S. aureus* ATCC 29213 disk difüzyon yöntemi ile bu konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivite göstermemiştir. 18 nolu bileşik ise sadece Gram (+) bakteriler olan *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, VRE, MRSA ve *S. aureus* ATCC 29213 üzerinde denenmiş ve sırası ile 10, 12, 11 ve 9 mm zone ortaya koyarak, antibakteriyel aktivite varlığını teyit etmiştir.

3.7. Antibakteriyel Aktivite Gösteren Bileşiklerin Zamana Bağlı Öldürme Eğrilerinin (Kinetik Öldürme Eğrilerinin) Tayini.

Antibakteriyel aktivite gösteren bileşikler için zamana bağlı öldürme eğrileri CLSI M26-A da tarif edilen şekillerde belirlenmiştir. Bu sonuçlarla bileşiklerin bu mikroorganizmalara karşı bakteriyosidal mi yoksa bakteriyostatik mi oldukları araştırılmıştır. Şekil 3.1 *E. faecalis* ATCC 29212 için zamana bağlı öldürme eğrisini göstermektedir. Buradaki sonuçlar MİK ve MBC sonuçları ile uyumlu olup 18 ve 21

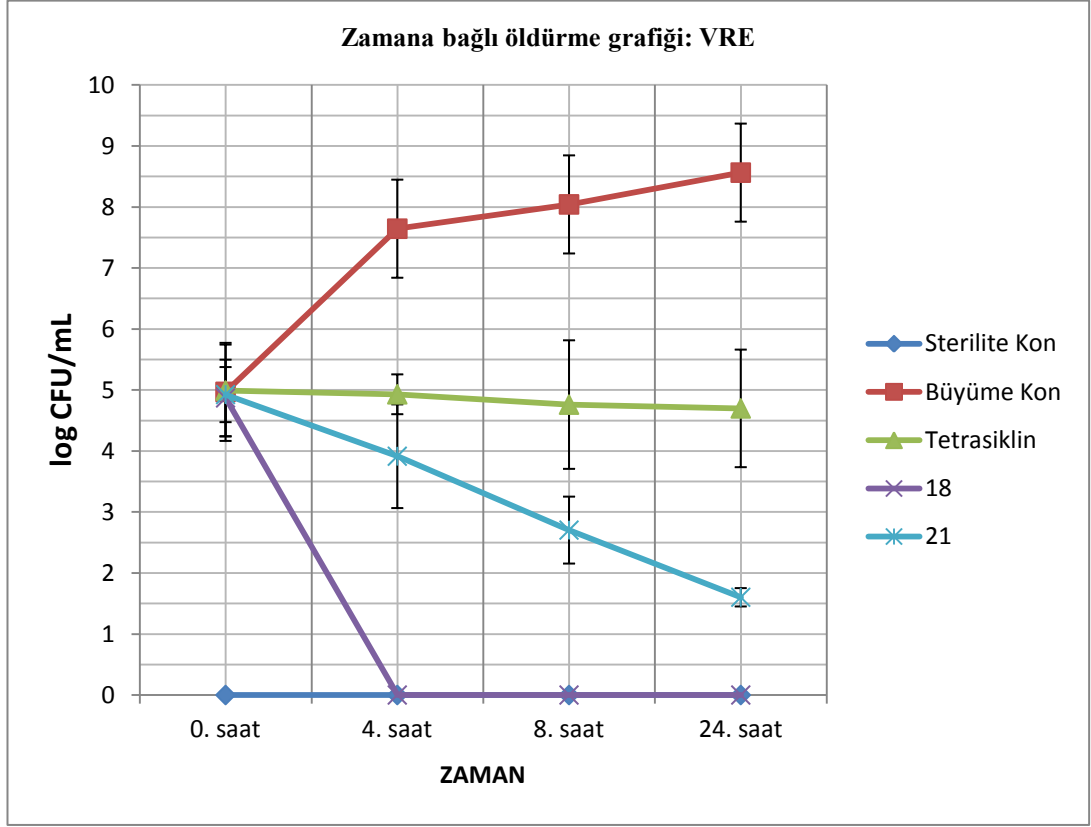
nolu bileşiklerin bakteriosidal olduklarını ve etkilerini 8 saatte gösterdiklerini ortaya koymaktadır. Kontrol antibiyotiği olarak kullanılan vankomisin bilinen bir bakteriosidal antibiyotiktir.



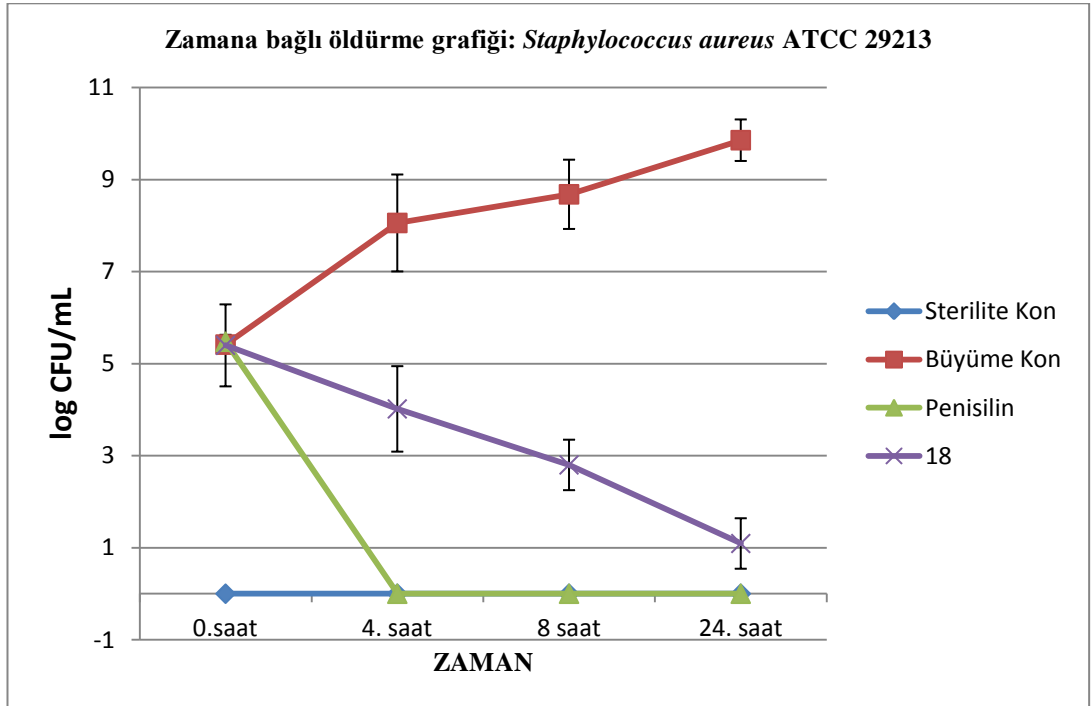
Şekil 3.1. Zamana bağlı öldürme grafiği: *E. feacalis* ATCC 29212 (kon: control)

Şekil 3.2 VRE için yapılan zamana bağlı öldürme grafiklerini göstermektedir. Burada kullanılan VRE hem metisiline hem de vankomisine dirençli olduğundan kontrol antibiyotiği olarak bakteriyostatik olduğu bilinen tetrasiklin kullanılmıştır. 18 ve 21 nolu bileşikler bakteriosidal olarak karşımıza çıkmakta ve 18 nolu bileşik için 4 saatlik inkübasyon yeterli gözükmemektedir. 21 nolu bileşik için ise 8 saatlik inkübasyon yeterli görülmektedir. Buradan alınan sonuçlar MİK ve MBC değerleri ile uyumlu görülmektedir.

Şekil 3.3 *Staphylococcus aureus* ATCC 29213'ün zamana bağlı öldürme eğrilerini göstermektedir. Burada kontrol antibiyotiği bakteriyosidal olduğu bilinen penisilindir. 18 nolu bileşik bakteriosidal görüntü vermekte ve 8 saatlik inkübasyon bu etki için yeterli gözükmemektedir. Bu sonuçlar MİK ve MBC sonuçlarıyla uyumlu görülmüştür.

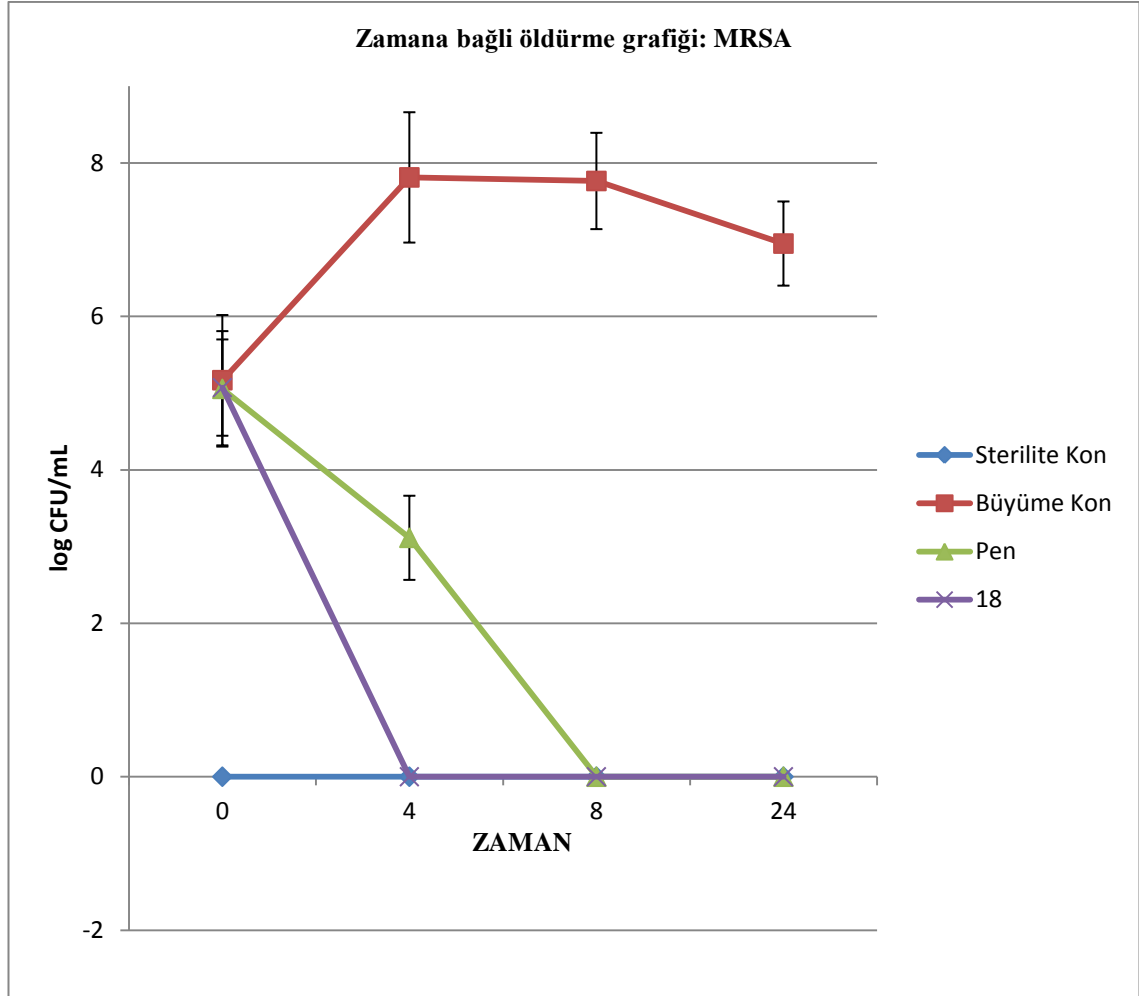


Şekil 3.2. Zamana bağlı öldürme grafiği: *E. feacalis* VRE (kon: control)



Şekil 3.3. Zamana bağlı öldürme grafiği: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (kon: control)

Şekil 3.4 *Staphylococcus aureus* MRSA'nın zamana bağlı öldürme eğrilerini göstermektedir. Burada kontrol antibiyotiği yine bakteriyosidal olduğu bilinen penisilindir. 18 nolu bileşik bakteriosidal görüntü vermekte ve 4 saatlik inkübasyon bu etki için yeterli gözükmemektedir. Bu sonuçlar MİK ve MBC sonuçlarıyla uyumlu görülmüştür.



Şekil 3.4 *Staphylococcus aureus* MRSA'nın zamana bağlı öldürme eğrileri (Kon: kontrol, pen: penisilin)

4. TARTIŞMA

18 nolu, (Z)-benzofuran-2-yl(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)methanone O-(2-hydroxy-3-(4-methylpiperazin-1-yl)propyl) oxime, bileşik hem Gram (+) (çizelge 3.6, şekil 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4), hem kısmen Gram (-) *E. coli* ATCC 25922 (64 µg/mL de %69±5 canlılık) hem de anti-Candida (çizelge 3.7) aktivite göstermiştir. Diğer Gram (-) bakteriler üzerinde aktivite saptanmamıştır. Bu sonuç Gram (+) bakteriler ve *Candida* türlerinde gözlenen aktivitenin spesifik olduğunu ve sitotoksiteden kaynaklanmadığını önermektedir.

Bu 18 nolu bileşimin ve diğer aktivite gösteren bileşiklerin en yüksek DMSO çözünürlülüğü 12.8 mg/mL olduğundan (deneyde en yüksek 128 µg/mL olacaktır) ve bunun gözlenen MİK değerleri doğrultusunda manalı bir TI (tedavi indeksi ki bu en az 10 olmalıdır) vermesi mümkün değildir. TI= sitotoksosite/MİK dir. Bu TI değerinin en az 10 ya da daha büyük olması gerekmektedir. Dolayısıyla sitotoksosite çalışmaları bu tez kapsamına alınmamıştır. Ancak bu bileşiklerle yapılacak yeni çalışmalardan önce, bunların aktivite gösterdikleri konsantrasyonlardaki sitotoksiteleri belirlenmelidir.

Direnç gelişimi ve sıklığı aktif bileşiklerin çözünürlülüklerinin yetersiz kalması nedeni ile bu tez kapsamına alınamamıştır (yine en az 10 kat fark verecek şekilde olmalıdır). İleride yapılacak yeni projelerde MİK değeri daha küçük, çözünürlülüğü daha yüksek olan ve sitotoksik olmayan bileşiklerle direnç geliştirme çalışmaları da yapılmalıdır.

18 nolu bileşik özellikle MRSA ve VRE üzerinde daha aktif olması ve zamana bağlı öldürme deneyleri sonucunda bakteriosidal olması ile dikkat çekmektedir. MRSA ve VRE dünya genelinde sorun patojenler olduklarından bu seri bileşiklerin incelenmeye devam edilmesi ve etki mekanizmasının yeni projeler ve tezlerle çalışılması önem teşkil etmektedir. Bu bileşik anti-candida aktivitesinin flukonazole dirençli olan *Candida krusei* ATCC 6258 'yi de kapsaması, bu seri bileşiklerden muhtemel anti-Candida aktivitesi olan bileşiklerin geliştirilebileceğini önermektedir. Bu çalışmaların da yeni proje ve tezlerle devam ettirilmesi elzemdir.

21 nolu bileşik, (Z)-(3-mesityl-3-methylcyclobutyl)(naphtho[2,1-b]furan-2-yl)methanone O-(2-hydroxy-3-(2-methylpiperidin-1-yl)propyl) oxime, Gram (+) bakterilerden *E. faecalis* ATCC 29212 ve VRE üzerinde aktivite göstermiştir. Bu bileşik te MBC ve zamana bağlı öldürme eğrilerinin sonuçlarına göre bakteriosidaldir. Prof. Dr. Mura KOCA ile yapılacak aktivite yapı analizleri ile daha aktif ve çözünürlüğü yüksek bileşiklerin benzer çalışmaları yapılarak patentleri de alınmalıdır. Bu tez kapsamında taranan diğer bileşikler arasında 4 ve 45 kısmen Gram (+) ve muhtemel *E. coli* aktivitesi göstermiştir ve ilerideki çalışmalarda yapı ve aktivite yönünden değerlendirilmelidirler.

4 numaralı bileşik *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve VRE üzerinde aktivite göstermiş ve MİK (MBC) değerleri vermiştir. VRE aktivitesinin olması önemlidir. 4 nolu bileşik MRSA ve *E. coli* ATCC 25922 üzerinde % canlılığı azaltıcı etki göstermiştir (sırası ile % 50±2 ve % 72±2).

45 numaralı bileşik ise VRE üzerinde aktivite göstermiştir. VRE üzerinde aktivite gösteren diğer bir bileşik olması önemlidir. Bu bileşik MRSA ve *E. coli* ATCC 25922 üzerinde % canlılığı azaltıcı etki göstermiştir (sırası ile % 35±6 ve % 42±4).

Sonuç olarak bu tez amacına ulaşmış, hem anti-bakteriyel hem de anti-candida aktivitesi olan bileşikler belirlenmiştir.

KAYNAKÇA

- Abd El-Wahab, A. H. F., Al-Fifi, Z. I. A., Bedair, A. H., Ali, F. M., Halawa, A. H. A., El-Agrody, A. M. 2011. Synthesis, Reactions and Biological Evaluation of Some New Naphtho[2,1-b]furan Derivatives Bearing a Pyrazole Nucleus, *Molecules*, 16, 307-318.
- Abdel-Wahab, B., F., Abdel-Aziz, H., A., Ahmed, E., M. 2009. Synthesis and antimicrobial evaluation of 1-(benzofuran-2-yl)-4-nitro-3-arylbutan-1-ones and 3-(benzofuran-2-yl)-4,5-dihydro-5-aryl-1-[4-(aryl)-1,3-thiazol-2-yl]-1H-pyrazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 44, 2632-2635.
- Abi-Said, D., Anaissie, E., Uzun, O., Raad, I., Pinzcowski, H., Vartivarian, S. 1997. The Epidemiology of Hematogenous Candidiasis Caused by Different Candida Species. *Clinical Infectious Diseases*. 24, 1122-1128.
- Aboul-Fadl, T., Abdel-Aziz, H., A., Abdel-Hamid, M., K., Elsaman, T., Thanassi, J., Pucci, M., J. 2011. Schiff Bases of Indoline-2,3-dione: Potential Novel Inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) DNA Gyrase. *Molecules*. 16, 9, 7864-7879.
- Afşar, İ., Güngör, S., Şener, G., A., Demirci, M. 2011. Daptomisin Kan Kültürlerinden İzole Edilen Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* Suşlarına İn Vitro Etkinliği. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 45, 4, 755-757.
- Ahmed, A., Daneshtalab, M. 2012. Nonclassical Biological Activities of Quinolone Derivatives. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 15, 1, 52-72.
- Ahmedzade, M., Cukurovalı, A., Koparır, M. 2003. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New 1,1,3-Trisubstituted Cyclobutane Containing Thiazoles, Succinimide and Phtalimide Derivatives. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*. 25, 1, 51-55.
- Aksaray, S., Dokuzoğuz, B., Güvener, E., Yücesoy, M., Yuluğ, N., Kocagöz, S., Ünal, S., Çetin, S., Çalangu, S., Günaydın, M., Leblebicioğlu, H., Esen, Ş., Bayar, B., Wllke, A., Fındık, D., Tuncer, İ., Baysal, B., Günseren, B., Mamıkoğlu, L. 2000. Surveillance of Antimicrobial Resistance Among Gram Negative Isolates from Intensive Care Unit in Eight Hospitals in Turkey. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 45, 695-699.
- Aktas, Z., Poirel, L., Şalcıoğlu, M., Ozcan, P., E., Midilli, K., Bal, Ç., Anğ, Ö., Nordmann, P. 2005. PER-1- and OXA-10-like-lactamases in ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from intensive care unit patients in Istanbul, Turkey. *Clinical Microbiology Infections*. 11, 193-198.
- Akyar, I. 2008. Özel Bir Hastanede İdrar Yolu Enfeksiyonlarından İzole Edilen Geniş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Escherichia Coli* ve *Klebsiella spp.* Suşlarının Antibiyotik Direnç Oranları. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 42, 713-715.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Roberts, K., Walter, P. 2008. Hücrenin Moleküler Biyolojisi (çeviri: tüba). 4.basım., 1463 s., Ankara
- Alekshun, M., N., Levy, S., B. 2007. Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell*, 128, 1037-1050.
- Alper-Hayta, S., A., Arisoy, M., Temiz-Arpaci, Ö., Yıldız, İ., Aki, E., Özkan, S., Kaynak, F. 2008. Synthesis, antimicrobial activity, pharmacophore analysis of some new 2-(substitutedphenyl/benzyl)-5- [(2-

- benzofuryl)carboxamido]benzoxazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 43, 2568-2578.
- Alteri, C., J., Mobley, H., L., T. 2012. *Escherichia coli* physiology and metabolism dictates adaptation to diverse host microenvironments. *Current Opinion in Microbiology*. 15, 3-9.
- Altunsoy, A., Aypak, C., Azap, A., Ergönül, Ö., Balık, İ. 2011. The Impact of a Nationwide Antibiotic Restriction Program on Antibiotic Usage and Resistance against Nosocomial Pathogens in Turkey. *International Journal of Medical Sciences*. 8(4), 339-344.
- Appelbaum, P., C. 2006. The emergence of vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection*. 12 (1), 16-23.
- Aristoff, P., A., Garcia, G., A., Kirchhoff, P., D., Showalter, H., H., D. 2010. Rifamycins- Obstacles and opportunities. *Tuberculosis*. 90, 94-118.
- Arnold, R., S., Kerri, A., Thom, A., K., Sharma, S., Phillips, M., Johnson, K., J., Morgan, J., D. 2011. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)-Producing Bacteria. *Southern Medical Journal*. 104, 1, 40-45.
- Arpın, C., Çöze, C., Rogues, A., M., Gachie, İ., P., Bebear, C., Quentin, C. 1996. Epidemiological Study of an Outbreak Due to Multidrug-Resistant *Enterobacter aerogenes* in a Medical Intensive Care Unit *Journal of Clinical Microbiology*. 34, 9, 2163-2169.
- Ashok, D., Sudershan, K., Khalilullah, M. 2011. Solvent-free microwave-assisted synthesis of E-(1)-(6-benzoyl-3,5-dimethylfuro[3,2':4,5]benzo[b]furan-2-yl)-3-(aryl)-2-propen-1-ones and their antibacterial activity. 2012. *Green Chemistry Letters and Reviews*. 5, 2, 121-125.
- Aşık, G. *Acinetobacter baumannii* Virülansının Açıklanmasında Güncel Yaklaşımlar. 2011. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 45, 2, 371-380.
- Ay, S., Latife., İşeri, L., A., Duman, B. 2003. İdrar Örneklerinden İzole Edilen Gram Olumsuz Mikroorganizmaların Antibiyotiklere Duyarlılıkları. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 10 (2), 59-62.
- Aydemir, H., Celebi, G., Piskin, N., Oztoprak, N., Keskin, A., S., Aktas E., Sumbuloglu V., Akduman, D. 2012. Mortality Attributable to Carbapenem-Resistant Nosocomial *Acinetobacter baumannii* Infections in a Turkish University Hospital. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 65, 66-71.
- Aydın, F., Kaklıkkaya, N., Bayramoğlu, G., Özkul, G., Buruk, K., Dinç, U., Köse, T., Dede R. 2011. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis* Kompleks Suşlarının Antibiyotiklere Direnç Oranları. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 45 (1), 36-42.
- Baron, S. 1996. *Medical Microbiology*. 4th edition. Galveston, Texas, Amerika Birleşik Devletleri.
- Baş, A., Y., Demirel, N., Zenciroğlu, A., Göl, N., Tanır, G. 2010. Nosocomial Blood Stream Infections in a Neonatal Intensive Care Unit in Ankara, Turkey. *The Turkish Journal of Pediatrics*. 52, 464-470.
- Baylan,, O. 2010. Fosfomisin: Dünü, Bugünü ve Geleceği. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 44, 311-321.
- Benkli, K., Gündoğdu-Karaburun, N., Karaburun, A., Ç., Uçucu, Ü, Demirayak, Ş., Kiraz N. 2003. Synthesis and antifungal activities of some aryl (3-methyl-benzofuran-2-yl) ketoximes. *Archives of Pharmacal Research*. 26, 3, 202-206.

- Bilgin, S., Unsal, M., Hamzacebi, H., Akgunes, A. 2010. Resistance for Anti-Tuberculosis Drugs in Central Black Sea Region of Turkey. *Polish Journal of Microbiology*. 59 (2), 125-128.
- Bonnet, R. 2004. Growing Group of Extended-Spectrum β -Lactamases: the CTX-M Enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48, 1, 1-14.
- Bonomo, R., A., Szabo, D. 2006. Mechanisms of Multidrug Resistance in *Acinetobacter* Species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Infectious Diseases*. 43, 2, 49-56.
- Boucher, H. W., Talbot, G. H., Bradley, J. S., Edwards, J. E., Gilbert, D. Jr., Rice, L. B., Scheld, M., Spellberg, B., Bartlett, J. 2009. Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America, *Clinical Infectious Diseases*. 48, 1-12.
- Boucher, H., W. 2010. Challenges in Anti-Infective Development in the Era of Bad Bugs, No Drugs: A Regulatory Perspective Using the Example of Bloodstream Infection as an Indication. *Clinical Infectious Diseases*. 50, 4-9.
- Bozdogan, B., Appelbaum, P., C. 2004. Macrolide resistance in *Streptococci* and *Haemophilus influenzae*. *Clinics in Laboratory Medicine*. 24, 455-475.
- Bradford, P., A. 2001. Extended-Spectrum-Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. *Clinical Microbiology Reviews*. 14, 4, 933-951.
- Bradley, J., S., Guidos, R., Baragona, S., Bartlett, G., J., Rubinstein, E., Zhanel, G., G., Michael, D., T., Pompliano, D., L., Tally, F., Tipirneni, P., Tillotson, G., S., Powers, J., H., Tillotson, G., S. 2007. Anti-infective research and development problems, challenges, and solutions. *The Lancet Infectious Diseases*. 7, 1, 68-78.
- Branski, L., K., Al-Mousawi, A., Rivero, H., Jeschke, G., M., Arthur, P. Sanford, A., P., Herndon, D., N. 2009. Emerging Infections in Burns. *Surgical Infections*. 10, 5, 389-397.
- Breidenstein, E., B., M., Fuente-Nunez, C., Hancock, E., W., R. . 2011. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends in Microbiology*. 19, 8, 419-426.
- Bush, K. 1989. Characterization of beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 33, 3, 259-263.
- Bush, K. 2004. Why it is important to continue antibacterial drug discovery. *American Society for Microbiology*, 70, 6, 282-287.
- Bush, K. 2010. Alarming β -lactamase mediated resistance in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Current Opinion in Microbiology*, 13, 558-564.
- Bush, K., Jacoby, G., A. 2010. Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 54, 3, 969-976.
- Bush, K., Jacoby, G., A., Mederios, A., A. 1995. A Functional Classification Scheme for b-Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 39, 6, 1211- 1233.
- Bush, K., Macielag, M., J. 2010. New β -lactam antibiotics and β -lactamase inhibitors. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 20, 10, 1277-1293.
- Byrne, F., M., Wilcox, M., H. 2011. MRSA prevention strategies and current guidelines. *International Journal of the Care of the Injured*. 42, 5, 3-6.

- Cars, O., Nordberg, P. 2004. Antibiotic Resistance- The faceless threat. A multidisciplinary meeting at the Dag Hammarskjöld foundation Uppsala, Sweden, backround document, 1-6.
- Cesur, S., Irmak, H., Şimşek, H., Çöplü, N., Kılıç, H., Arslan, U., Bayramoğlu, G., Baysan, B.,Ö., Gülay, Z., Hoşoğlu, S., Berktaş, M., Gencer, S., Demiröz, A., P., Esen, B., Karabiber, N., Aydın, F., Yalçın, A., N. 2012. Türkiye’de Yedi İldeki Hastanelerin Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen MRSA Suşlarında VISA-VRSA Araştırılması ve Antibiyotik Duyarlılık Durumlarının Saptanması. Mikrobiyoloji Bülteni. 46, 3, 352-358.
- Chambers, H., F., DeLeo, F., R. 2009. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. Nature Reviews Microbiology, 7, 9, 629-641.
- Chaudhuri, R., R., Henderson, I., R. 2012. The evolution of the *Escherichia coli* phylogeny. Infection, Genetics and Evolution.12, 214-226.
- Chong, Y., Ito, Y., Kamimura, T. 2011. Genetic evolution and clinical impact in extended-spectrum b-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Infection, Genetics and Evolution. 11, 1499-1504.
- Cipres, A., O’Malley, D.,P., Li K., Finlay, D., Baran, P., S., Vuori, K. 2010. Scepterin, a Marine Natural Compound, Inhibits Cell Motility in a Variety of Cancer Lines. ACS Chemical Biology. 5, 2,195-202.
- Coates, A., Hu Y. 2007. Novel approaches to developing new antibiotics for bacterial infections. British Journal of Pharmacology. 152, 1147-1154.
- Clinical Laboratory Standarts Institute. 2007. Performance Standarts for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement. M100-S17, 26 (3).
- Clinical Laboratory Standarts Institute. 2006. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standart- Seventh Edition. M7-A7, 26 (2).
- Clinical Laboratory Standarts Institute. 2006. Performance Standarts for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standart-Ninth Edition. M2-A9, 26 (1).
- Clinical Laboratory Standarts Institute. 2002. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standart-Second Edition. M27-A2, 17 (9).
- Clinical Laboratory Standarts Institute. 2004. Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeast; Approved Guideline. M44-A, 24 (15).
- Clinical Laboratory Standarts Institute. 1999. Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents; Approved Guideline. M26-A, 19 (18).
- Coates, A., R., M., Halls, G., Hu,Y. 2011. Novel classes of antibiotics or more of the same? British Journal of Pharmacology. 163, 184-194.
- Coculescu, B., I. 2009. Antimicrobial resistance induced by genetic changes. Journal of Medicine and Life, 2, 2, 114-123.
- Colak, D., Naas, T., Gunseren, F., Fortineau, N., Ogunc, D., Gultekin, M., Nordmann, P. 2002. First outbreak of vancomycin-resistant *Enterococci* in a tertiary hospital in Turkey. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 50, 397-401.
- Coleri, A., Cokmus, C., Ozcan, B., Akcelik, M., Tukul, C. 2004. Determination of antibiotic resistance and resistance plasmids of clinical *Enterococcus* species. The Journal of General and Applied Microbiology. 50, 213-219.

- Collin, F., Karkare, S., Maxwell, A. 2011. Exploiting bacterial DNA gyrase as a drug target: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 92, 479-492.
- Cornaglia, G., Giamarellou, H., Rossolini, G., M. 2011. Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? *Lancet Infectious Diseases*, 11, 381-393.
- Courvalin, P. 2006. Vancomycin Resistance in Gram-Positive Cocci. *Clinical Infectious Diseases*, 42, 25-34.
- Cömert, F., Kulah C., Aktas E., Eroglu O., Ozlu N. 2006. Identification of *Candida* species isolated from patients in intensive care unit and in vitro susceptibility to fluconazole for a 3-year period. *Mycoses*. 50, 52-57.
- Cukurovali, A., Yilmaz, İ., Gur, S., Kazaz, C. 2006. Synthesis, antibacterial and antifungal activity of some new thiazolylhydrazone derivatives containing 3-substituted cyclobutane ring. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 41, 201-207.
- Çağdaş, U., Otağ, F., Tezcan, S., Sezgin, O., Aslan, G., Emekdaş, G. 2012. Mide Biyopsi Örneklerinden *Helicobacter pylori*'nin Tanımlanması ve Antimikrobiyal Direncinin Araştırılması.
- Çelik, İ., Demirel, G., Tatar Aksoy, H., Saygan, S., Canpolat, F., E., Uras, N., Oğuz, S., Ş., Erdeve, Ö., Dilmen, U. 2011. *Acinetobacter baumannii*: Yenidoğanlarda Çoklu İlaç Direncine Sahip Önemli Bir Patojen. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 45 (4), 716-722.
- Çelikkilek, N., Özdem, B., Gürelik, F., Ç., Güvenman, S., H., Güner, R., Açıkgöz, Z., C. 2011. Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* İzolatlarının Vankomisin, Teikoplanin, Linezolid ve Daptomisine İn Vitro Duyarlılıkları. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 45 (3), 512-518.
- Daikos, G., L. and Markogiannakis, A. 2011. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: (when) might we stil consider treating with carbapenems? *Clinical Microbiology and Infections*, 17, 1135-1141.
- Değerli, K., Ecemiş, T., Günhan, K., Başkesen, T., Kal, E. 2012. Manisa Bölgesinde Otomikoz Etkenleri, 1995-2011. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 46 (1), 79-84.
- Dembitsky, V., M., 2008. Bioactive Cyclobutane Containing Alkoloids. *Journal of Natural Medicine*. 62, 1-33.
- Demir, N. 2006. Gram Negatif Bakterilerde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBI) Üretimine Katkıda Bulunan Çeşitli Risk Faktörlerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği .İstanbul.
- Demirayak, Ş., Uçucu Ü., Benkli, K., Gündoğdu-Karaburun, N., Karaburun, A., Ç., Akar D., Karabacak M., Kiraz N.2002. Synthesis and antifungalactivities of some aryl(benzofuran-2-yl)ketoximes. *Il Farmaco*, 57, 7, 609-612.
- Doğan, M, Baysal, B. 2010. Identification of anaerobic bacteria isolated from various clinical specimens and determination of antibiotic susceptibilities. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 44, 2, 211-219.
- Drawz, S., M., Bonomo, R., A. 2010. Three Decades of β -Lactamase Inhibitors. *Clinical Microbiology Reviews*, 23, 1, 160-201.
- Ece, G., Samlioglu, P., Akkoçlu, G., Atalay, S., Kose, S. 2012. The Evaluation of the Distribution of Yeast like Fungi '*Candida* Species' at a Tertiary Care

- Center in Western Turkey. International Journal of Medical Sciences. 9, 7, 617-620.
- Edwards, A., M., Massey, R., C., Clarke, S., R. 2011. Molecular mechanisms of *Staphylococcus aureus* nasopharyngeal colonization. molecular oral microbiology. 27, 1-10.
- Eksi, F., Gayyurhan, E., D., Bayram, A., Karsligil, T. 2011. Determination of antimicrobial susceptibility patterns and inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* strains recovered from southeastern Turkey. 44, 57-62.
- Emirdağ, S. (2008). Synthesis of Some Benzofurans and Their Activities. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, Sayfa 1 ve 3., İzmir.
- Emirdağ-Öztürk, S., Karayildirim, T., Anil, H. 2011. Synthesis of egonol derivatives and their antimicrobial activities. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 19, 1179-1188.
- Erdem, F., Ertem, T., G., Oral, B., Karakoç, E., Demiröz, A., P., Tülek, N. 2012. *Candida* Türlerine Bağlı Nozokomiyal Enfeksiyonların Epidemiyolojik ve Mikrobiyolojik Açıdan Değerlendirilmesi. Mikrobiyoloji Bülteni. 46, 4, 637-648.
- Erdem, H. 2008. An update on invasive Pneumococcal antibiotic resistance in Turkey, 2008. Journal of Chemotherapy. 20(6), 697-701.
- Erdem, I., Oguzoglu, N., Engin, D., O., Ozgultekin, A., Inan, S., A., Ceran, N., Kaya, F., Genc, I., Goktas, P. 2009. Incidence, Etiology and Risk Factors Associated with Mortality of Nosocomial Candidemia in a Tertiary Care Hospital in Istanbul, Turkey. Medical Principles and Practice. 19, 463-467.
- Erol, I. 2008. Synthesis and Characterization of a New Methacrylate Polymer with Side Chain Benzofurane and Cyclobutane Ring: Thermal Properties and Antimicrobial Activity. High Performance Polymers. 21, 411-423.
- Eryılmaz, M., Bozkurt, M., E., Yıldız, M., M., Akın, A. 2010. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığının araştırılması. Marmara Eczacılık Dergisi, 14, 10-12.
- Falagas, M., E., Karageorgopoulos, D., E. 2009. Extended-spectrum b-lactamase-producing organisms. Journal of Hospital Infection. 73, 345-354.
- Fischbach, M., Walsh, C., T. 2009. Antibiotics for Emerging pathogens. Science, 325, 5944, 1089-1093.
- Fisher, K., Phillips, C. 2009. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. Microbiology. 155, 1749-1757.
- Fitzgerald, J., R. 2012. Livestock-associated *Staphylococcus aureus*: origin, evolution and public health threat. Trends in Microbiology. 20, 4, 192-198.
- Françoise, V., B., Laethem, V., Y., Courvalin, P., Paul, M., T. 2004. Glycopeptide Antibiotics: from Conventional Molecules to New Derivatives.
- Fujitani, S., Hsin-Yun, S., Yu, L., V., Weingarten, J., A. 2011. Pneumonia Due to *Pseudomonas aeruginosa* Part I: Epidemiology, Clinical Diagnosis, and Source. Recent Advances in Chest Medicine, 139, 4, 909-919.
- Giedraitienė, A., Vitkauskienė, A., Naginienė, R., Pavilionis, A. 2011. Antibiotic Resistance Mechanisms of Clinically Important Bacteria. Medicina (Kaunas), 47, 3, 137-146.
- Gönlügür U., Bakıcı, M., Z., Gönlügür, T., E., Hasbek, M. 2007. Kısa bildiri: Sivas ilinde antitüberküloz ilaçlara direnç oranları. Mikrobiyoloji Bülteni. 41, 459-463.

- Green, D., M. 2002. The Bacterial cell Wall as a source of antibacterial targets. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 6, 1, 1-19.
- Güneşel, O., Onur, O., Erdede, M., Denizbasi, A. 2009. Trimethoprim/Sulfamethoxazole Resistance in Urinary Tract Infections. *The Journal of Emergency Medicine*. 36 (4), 338-341.
- Gür, D., Korten, V., Unal, S., Deshpande, L., M., Castanheira, M. 2008. Increasing carbapenem resistance due to the clonal dissemination of oxacillinase (OXA-23 and OXA-58)-producing *Acinetobacter baumannii*: report from the Turkish SENTRY Program sites. *Journal of Medical Microbiology*. 57, 1529-1532.
- Gülmez, D., Woodford, N., Palepou, M., F., Mushtaq, S., Metan, G., Yakupogullari, Y., Kocagoz, S., Uzun, O., Hascelik, G., Livermore, D., M. 2008. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 31, 523-526.
- Gündoğdu-Karaburun, N., Benkli, K., Tunali, Y., Uçucu, Ü., Demirayak, Ş. 2006. Synthesis and antifungal activities of some aryl [3-(imidazol-1-yl)triazol-1-ylmethyl] benzofuran-2-yl] ketoximes. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 41, 651-656.
- Gür, D., Gülay, Z., Arıkan Akan, Ö., Aktaş, Z., Kayacan, Ç., B., Çakıcı, Ö., Eraç, B., Gültekin, M., Ögünç, D., Söyletir, G., Ünal, N., Uysal, S. 2008. Türkiye’de Hastane İzolatı Gram-Negatif Bakterilerde Yeni Beta-Laktam Antibiyotiklere Direnç Ve Gsbl Tipleri: Çok Merkezli Hitit Sürveyansının Sonuçları. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 42, 537-544.
- Gür, D., Kocagöz, S., Ünal, S., Akalın, E. 1998. Comparative in vitro activity of trovafloxacin against Gram-negative and Gram-positive pathogens. *Clinical Microbiology and Infection*. 4, 9, 530-532.
- Hall, B., G., Barlow, M. 2005. Revised Ambler classification of b-lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1050-1051.
- Halli, M., B., Sumathi, R., B., Kinni, M. 2012. Synthesis, Spectroscopic Characterization and Biological Evaluation Studies of Schiff’s Base Derived from naphthofuran-2-carbohydrazide with 8-formyl-7-hydroxy-4-methyl coumarin and Its Metal Complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 99, 46-56.
- Harvey, R., Champe, P., C., Howland, R., D., Mycek, M., J. 2006. *Lipincott’ Illustrated Reviews-Farmakoloji 3. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.*
- Hawkey, P., M. 2008. The growing burden of antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62, 1, suppl 1, 1-9.
- Hawkey, P., M. and Jones, A., M. 2009. The changing epidemiology of resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 64, 1, suppl 1, 3-10.
- Hegstad, K., Mikalsen, T., Coque, T., M., Werner, G., Sundsfjord, A. 2010. Mobile genetic elements and their contribution to the emergence of antimicrobial resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *Clinical Microbiology and Infection*. 16, 6, 541-554.
- Helfand, M., S., Bethel, C., R., Hujer, A., M., Hujer, K., M., Anderson, V., E., Bonomo, R., A. 2003. Understanding Resistance to-Lactams and-Lactamase Inhibitors in the SHV-Lactamase. *The Journal of Biological Chemistry*. 278, 52, 52724 –52729.

- Hirsch, E., B. Tam, V., H. 2010. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* on patient outcomes. *Expert Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research*. 10, 4, 441-451.
- Högberg, L., D., Hedding, A., Cars O. 2010. The global need for effective antibiotics: Challenges and recent advances. *Trends in Pharmacological Sciences*, 31, 11, 509-515.
- Hu, L., F., Li, J., B., Ye, Y. and Li, X. 2007. Mutations in the GyrA Subunit of DNA Gyrase and the ParC Subunit of Topoisomerase IV in Clinical Strains of Fluoroquinolone-Resistant *Shigella* in Anhui, China. *The Journal of Microbiology*. 45, 2, 168-170.
- Jacobs, C., Frere, J., M., Normark, S. 1997. Cytosolic Intermediates for Cell Wall Biosynthesis and Degradation Control Inducible β -Lactam Resistance in Gram-Negative Bacteria. *Cell*. 88, 823-832.
- Jagusztyn-Krynicka, E., K., Wyszynska, A. 2008. The Decline of Antibiotic Era – New Approaches for Antibacterial Drug Discovery. *Polish Journal of Microbiology*. 57, 2, 91-98.
- Jernberg, C., Sonja Lofmark, S., Edlund, C., Jansson, J., K. 2010. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology*. 156, 3216-3223.
- Jiang, X., Liu, W., Zhang, W., Jiang, F., Gao, Z., Zhuang, H., Fu, L. 2011. Synthesis and antimicrobial evaluation of new benzofuran derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 46, 3526-3530.
- Jovetic, S., Zhu, Y., Marcone, L., G., Marinelli, F., Tramper, J. 2010. β -Lactam and glycopeptide antibiotics: first and last line of defense? *Trends in Biotechnology*. 28, 12, 596-604.
- Kamal, M., Shakya, A., K., Jawaid, T. 2011. BENZOFURANS: A NEW PROFILE OF BIOLOGICAL ACTIVITIES. *International Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences*. 1, 3, 1-15.
- Kantevari, S. Thirumal Yempala, T., Yogeewari, P., Sriram, D., Sridhar, B. 2011. Synthesis and antitubercular evaluation of amidoalkyl dibenzofuranols and 1H-benzo[2,3]benzofuro[4,5-e][1,3]oxazin-3(2H)-ones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 21, 4316-4319.
- Kaplan, W., Laing, R. 2004. Priority Medicines for Europe and the World. World Health Organization Department of Essential Drugs and Medicines Policy.
- Karaburun, A., Ç., Gundogdu-Karaburun, N., Ucucu, U., Demirayak, S. 2011. Synthesis and Antifungal Activities of Some Aryl Naphthofuran Ketoximes. *Letters in Drug Design & Discovery*. 8, 8, 758-762(5).
- Karaca, Y., Coplu, N., Gozalan, A., Oncul, O., Cital, B., E., Esen, B. 2005. Co-trimoxazole and quinolone resistance in *Escherichia coli* isolate from urinary tract infections over the last 10 years. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26, 75-77.
- Kasap, M., Fashae, K., Torol, S., Kolayli, F., Budak, F., Vahaboglu, H. 2010. Characterization of ESBL (SHV-12) producing clinical isolate of *Enterobacter aerogenes* from tertiary care hospital in Nigeria. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 9,1, 1-5.
- Keynan, Y., Rubinstein, E. 2007. The changing face of *Klebsiella pneumoniae* infections in the community. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 30, 385-389.

- Kırılmış, C., Koca, M., Servi, S., Gür, S. 2009. Synthesis and Antimicrobial Activity of Dinaphtho[2,1-b]furan-2-yl-methanone and Their Oxime Derivatives. Turkish Journal of Chemistry. 33, 375-384.
- Kim, Y., J., Sohn, M., J., Kim, W., G. 2012. Chalcomoracin and Moracin C, New Inhibitors of *Staphylococcus aureus* Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase from *Morus alba*. Biological Pharmacology Bulletin.35, 5, 791-795.
- Kim, J., Sudbery, P. 2011. *Candida albicans*, a Major Human Fungal Pathogen. The Journal of Microbiology. 49, 2, 171-177.
- Kirilmis, C., Ahmedzade, M., Servi, S., Koca, M., Kizirgil, A., Kazaz, C. 2008. Synthesis and antimicrobial activity of some novel derivatives of benzofuran: Part 2. The synthesis and antimicrobial activity of some novel 1-(1-benzofuran-2-yl)-2-mesitylethanone derivatives. European Journal of Medicinal Chemistry. 43, 300-308.
- Kizilca, O., Siraneci, R., Yilmaz, A., Hatipoglu, N., Ozturk, E., Kiyak, A., Ozkok, D. 2012. Risk Factors for Community-Acquired Urinary Tract Infection with ESBL-Producing Bacteria in Children. Pediatrics International. doi: 10.1111/j.1442-200X.2012.03709.x.
- Kisa, O., Tarhan, G., Gunal, S., Albay, A., Durmaz, R., Saribas, Z., Zozio, T., Alp, A., Ceyhan, I., Tombak, A., Rastog, N. Distribution of Spoligotyping Defined Genotypic Lineages among Drug-Resistant Mycobacterium Tuberculosis Complex Clinical Isolates in Ankara, Turkey. 2012. PlosOne. 7, 1, 1-7.
- Koca, M., Servi, S., Kirilmis, C., Ahmedzade, M., Kazaz, C., Özbek, B., Ötük, G. 2005. Synthesis and antimicrobial activity of some novel derivatives of benzofuran: part 1. Synthesis and antimicrobial activity of (benzofuran-2-yl)(3-phenyl-3-methylcyclobutyl) ketoxime derivatives. European Journal of Medicinal Chemistry. 40, 1351-1358.
- Kohanski, M., A., Dwyer, D., J., Collins, J., J. 2010. How antibiotics kill bacteria: from targets to Networks. Nature Reviews-Microbiology. 8, 423-435.
- Köksal, F., Oguzkurt, N., Samasti, M., Altas, K. 2007. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Aeromonas* strains isolated from drinking water samples in İstanbul, Turkey. Chemotherapy. 53 (1), 30-35.
- Koparı, P., Karaarslan, M., Orek, C., Koparı, M. Synthesis and In-Vitro Antimicrobial Activity of Novel Aminophosphinic Acids Containing Cyclobutane and 1,3-Thiazole. 2011. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements. 186, 2368-2376.
- Korten, V., Söyletir, G., Yalçın, A., N., Ögünç, D., Dokuzoğuz, B., Esener, H., Ulusoy, S., Tünger, A., Aygen, B., Sümerkan, B., Arman, D., Dizbay, M., Akova, M., Haşcelik, G., Eraksoy, H., Başaran, S., Köksal, İ., Bayramoğlu, G., Akalın, H., Sınırtaş, M. 2011. Karbapenemlerin Gram-Negatif Patojenlere Karşı İn Vitro Aktivitelerinin Karşılaştırmalı Değerlendirmesi: COMPACT Çalışması Türkiye Verisi. Mikrobiyoloji Bülteni. 45 (2), 197-209.
- Korten, V., Ulusoy, S., Zarakolu, P., Mete, B., Turkish MYSTIC Study Group. 2007. Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000–2003) in Turkey: results of the MYSTIC Program. 59, 453-457.
- Korzheva, N., Davies, T., A., Goldschmidt, R. 2005. Novel Ser79Leu and Ser81Ile Substitutions in the Quinolone Resistance-Determining Regions of ParC Topoisomerase IV and GyrA DNA Gyrase Subunits from Recent

- Fluoroquinolone-Resistant *Streptococcus Pneumoniae* Clinical Isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 49, 6, 2479-2486.
- Kosmidis, C., Levine, D., P. 2010. Daptomycin: pharmacology and clinical use. *Expert Opinion in Pharmacotherapy*. 11, 4, 615-625.
- Köksal, F., Sirekbasan, S., Ak K., Küçükbasmacı, Ö., Samastı, M. 2009. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz Oluşturan *Escherichia Coli* ve *Klebsiella Pneumoniae* Kökenlerinin Prevalansı ve Antimikrobiyal Direnç Patternleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*. 39 (1-2), 31-35.
- Krishna, S., Miller, S., L. 2012. Host-pathogen interactions between the skin and *Staphylococcus aureus*. *Current Opinion in Microbiology*. 15, 28-35.
- Kucukates, E., 2005. Antimicrobial Resistance among Gram-Negative Bacteria Isolated from Intensive Care Unit in Cardiology Institute in Istanbul, Turkey. *Japan Journal of Infectious Diseases*. 58, 228-231.
- Kumar, A., Schweizer, H., P. 2005. Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 57, 1486-1513.
- Kurtoğlu, M., Serin, S. 2006. Oksimler; Sentezi, Reaksiyonları ve Metal Kompleksleri. *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*. 9 (2), 25-32.
- Küçükateş, E., Kansız, E., Gültekin, N. 2007. Yoğun bakım ünitelerindeki hastalardan izole edilen Gram negatif çomaklarda indüklenebilir beta-laktamazların araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*. 37, 3, 138-141.
- Leblebicioğlu, H., Cakir, N., Celen, M., Kurt, H., Barisand, H., Laeuffer, J., Turkish COMPACT Study Group. 2012. Comparative activity of carbapenem testing (the COMPACT study) in Turkey. *BMC Infectious Diseases*. 12 (42), 1-8.
- Lee, K., Yong, D., Jeong, H., S., Chong, Y. 2011. Multidrug-Resistant *Acinetobacter* spp.: Increasingly Problematic Nosocomial Pathogens. *Yonsei Medical Journal*. 52, 6, 879-891.
- Li, H., Luoa, Y., F., Williams, B., J., Blackwell, T., S., Xiea, C., M. 2012. Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: From antibiotic resistance to novel therapies. *International Journal of Medical Microbiology*. 302. 63-68.
- Liao, G., Shi, T., Xie, J. 2012. Regulation Mechanisms Underlying the Biosynthesis of Daptomycin and Related Lipopeptides. *Journal of Cellular Biochemistry*. 113, 735-741.
- Lim, D., Strynadka, N., C. 2002. Structural basis for the beta lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Structural Biology*. 9, 11, 870-876.
- Lister, P., D., Wolter, D., J., Hanson, N., D. 2009. Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 582-610.
- Liu, J., Jiang, F., Jiang, X., Zhang W., Liu, J., Liu, W., Fu, L. 2012. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of 3-methanone-6-substituted-benzofuran Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 54, 879-886.
- Livermore, D., M. 2009. Has the era of untreatable infections arrived?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 64, 1, suppl 1, 29-36.
- Llarena, P., Bou, G., F., J. 2009. Beta-lactamase inhibitors: the story so far. *Current Medicinal Chemistry*. 16, 28, 3740-3765.

- Long, K., S., Vester, B. 2011. Resistance to Linezolid Caused by Modifications at Its Binding Site on the Ribosome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 603-612.
- Lowy, F., D. 2003. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *Science in Medicine*. 111, 9, 1265-1273.
- Löfmark, S., Edlund, C., Nord, E., C. 2010. Metronidazole Is Still the Drug of Choice for Treatment of Anaerobic Infections. *Clinical Infectious Diseases*. 50, 1, 16-23.
- Madigan, M., T., Martinko, J., M. Brock *Mikroorganizmaların Biyolojisi*. Palme Yayıncılık, 11. Baskı, sayfa 684, paragraf 2.
- Malachowa, N., DeLeo, F., R. 2010. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67, 3057–3071.
- Martínez-Martínez, L., Pascual, A., Jacoby, G., A. 1998. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet*. 351, 9105, 797-799.
- Masubuchi, M., Ebiike, H., Kawasaki, K., Sogabe, S., Morikami, K., Shiratori, Y., Tsujii, S., Fujii, T., Sakata, K., Hayase, M., Shindoh, H., Aoki, Y., Ohtsuka, T., Shimma, N. 2003. Synthesis and Biological Activities of Benzofuran Antifungal Agents Targeting Fungal N-Myristoyltransferase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 11, 4463-4478.
- McCalla, D., R., Christel Kaiser, C., Green, H., L. 1978. Genetics of Nitrofurazone Resistance in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*. 133, 1, 10-16.
- McCoy, L., S., Xie, Y., Tor, Y. 2011. Antibiotics that target protein Synthesis. *WIREs RNA*, 2, 209-232.
- McCracken, S., T., Kaiser, M., Boshoff, H., I., Boyd, P., D., W., Copp, B., R. 2012. Synthesis and Antimalarial and Antituberculosis Activities of a Series of Natural and Unnatural 4-methoxy-6-styryl-pyran-2-ones, dihydro Analogues and Photo-Dimers. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 20, 1482-1493.,
- McCusker, K., P., Fujimori, G., D. 2011. The Chemistry of Peptidyltransferase Center-Targeted Antibiotics: Enzymatic Resistance and Approaches to Countering Resistance. *ACS Chemical Biology*. 7, 64-72.
- Morell, E., A., Balkin, D., M. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus*: A Pervasive Pathogen Highlights the need for new Antimicrobial development. *Yale Journal of Biology and Medicine*. 83, 223-233.
- Morio, F., Loge C., Besse, B., Hennequin, C., Le Pape, P. 2010. Screening for amino acid substitutions in the *Candida albicans* Erg11 protein of azole-susceptible and azole-resistant clinical isolates: new substitutions and a review of the literature. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 66, 373-384.
- Muhtaseb, M., Kaygusuz, A. 2008. Kan kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı. *Ankem Dergisi*. 22(4), 175-182.
- Nagata, K., Hirai, K., Koyama, J., Wada, Y., Tamura, T. 1998. Antimicrobial Activity of Novel Furanonaphthoquinone Analogs, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42, 3 700-702.
- Nannini, E., Murray, B., E., Arias, C., A. 2010. Resistance or decreased susceptibility to glycopeptides, daptomycin, and linezolid in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Current Opinion in Pharmacology*. 10, 516-521.

- Nazic, H., Poirel, L., Nordmann, P. 2005. Further Identification of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinant in *Enterobacteriaceae* in Turkey. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. 49 (5), 2146-2147.
- Newell, K., V., Thomas, D., P., Brekasis, D., Paget, M., S., B. 2006. The RNA polymerase-binding protein RbpA confers basal levels of rifampicin resistance on *Streptomyces coelicolor*. *Molecular Microbiology*. 60 (3), 687-696.
- Nguemeving, J., R., Azebaze, A., G., B., Kuete, V., Carly, N., N., E., Beng, P., V., Meyer, M., Blond, A. Bodo, B., Nkengfack, E., A. 2006. Laurentixanthonones A and B, antimicrobial xanthonones from *Vismia laurentii*. *Phytochemistry*. 67, 1341-1346.
- Nicolaou, K., C., Boddy, C., N., C., Bräse, S., Winssinger, N. 1999. *Chemistry, Biology, and Medicine of the Glycopeptide Antibiotics*. WILEY-VCH Verlag GmbH. 57 Sayfa. Weinheim.
- Nordmann, P., Poirel, L. 2005. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in *Enterobacteriaceae*. 56, 463-469.
- Nordmann, P., Naas, T. and Poirel, L. 2011. Global Spread of Carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*. *Emerging Infectious Diseases*, 17, 10, 1791-1798.
- Nordmann, P., Dortet, L., Poirel, L. 2012. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm! *Trends in Molecular Medicine*. 18, 5, 263-272.
- Norrby, R., Powell, M., Aronsson, B., Monnet, D., L., Lutsar, I., Bocsan, S., I., Cars, O., Giamarellou, H., Gyssens, I., C. 2009. The bacterial challenge: time to react. ECDC/EMA Joint Technical Report.
- Omolo, J., J., Myron, M. Johnson, M., M., Sandy, F., Van Vuuren, S., F., Koning, C., B. 2011. The synthesis of xanthonones, xanthenediones, and spirobenzofurans: Their antibacterial and antifungal activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 21, 7085-7088.
- Oteo, J., Perez-Vazquez, M., Campos, J. 2010. Extended-spectrum b-lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 23, 320-326.
- Öktem, M., A., İ., Gülay, Z., Biçmen, M., Gür, D ve HITIT Project Study Group. 2008. *qnrA* Prevalance in Extended Spectrum beta lactamase positive *Enterobacteriaceae* Isolates from Turkey. *Japan Journal of Infectious Disease*. 61, 13-17.
- Özdem, B., Gürelik, F., Ç., Çelikbilek, N., Balıkcı, H., Açıkgöz, Z., C. 2011. Çeşitli Klinik Örneklerden 2007-2010 Yıllarında İzole Edilen *Acinetobacter* Türlerinin Antibiyotik Direnç Profilleri. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 45(3), 526-534.
- Özhak-Baysan, B., Ögunc, D., Çolak, D., Ongut, G., Donmez, L., Vural, T., Gunseren, F. 2012. Distribution and antifungal susceptibility of *Candida* species causing nosocomial candiduria. *Medical Mycology*. 50, 529-532.
- Öztürk, C., E., Çalışkan, E., Şahin, İ., 2011. *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Antibiyotik Direnci ve Metallo-Beta-laktamaz Sıklığı. *Ankem Dergisi*. 25 (1), 42-27.
- Öztürk, R. 2008. Akılcı antibiyotik kullanımı ve ülkemizde antimikrobik maddelere direnç sorunu. İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlara Pratik Yaklaşımlar Sempozyum dizisi, 61, 1-16.

- Paksu, S., M., Paksu, S., Karadag, A., Sensoy, G., Asilioglu, N., Yildizdas, D., Akyildiz, B., N., Kendirli, T., Demirkol, D., Akgun, M., Alp, E., Ciftci, E., Guney, A., K., Murat, N. 2012. Old agent, new experience: colistin use in the paediatric Intensive Care Unit—a multicentre study. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 40, 140-144.
- Peleg, A., Y., Miyakis, S., Ward, D., V., Earl, A., M., Rubio, A., Cameron, D., R., Pillai, S., Moellering, R., C., Eliopoulos, G., M. 2012. *Plosone*. 7, 1, 1-8.
- Pelitli, T., S., Cesur, S., Kımıklı, S., Irmak, H., Demiröz, A., P., Karakoç, E. 2011. Hastane Kaynaklı Metisiline Dirençli *Stafilokok* Suşlarında Vankomisin, Teikoplanin, Linezolid ve Tigesiklin Duyarlılığının E-Test Yöntemiyle Değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 45 (4), 758-761.
- Perez, F., Endimiani, A., Hujer, K., M., Bonomo, R., A. 2007. The continuing challenge of ESBLs. *Current Opinion in Pharmacology*, 7, 459-469.
- Perichon, B., Courvalin, P. 2009. VanA-Type Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 53 (11), 4580-4587.
- Pillai, D., R., McGeer, A., Low, D., E. 2011. New Delhi metallo-β-lactamase-1 in Enterobacteriaceae: emerging resistance *Canadian Medical Association Journal*. 183, 1, 59-64.
- Plata, K., Adriana, Rosato, E., A., Węgrzyn, G. 2009. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. 56,4, 597-612.
- Podschun, R., Ullmann, U. 1998. *Klebsiella spp.* as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *Clinical Microbiology Reviews*. 11, 4, 589-603.
- Pullukçu, H., Aydemir, Ş., Taşbakan, I., M., Sipahi, O., R., Çilli, F., Ulusoy, S. 2007. Nitrofurantoinin İdrar Kültürlerinden Soyutlanan *Escherichia coli* Suşlarına İn Vitro Etkinliği. *İnfeksiyon Dergisi*. 21(4), 197-200.
- Rahman, H., Austin, B., Mitchell, W., J., Morris, P., C., Jamieson, D., J., Adams, D., R. 2010. Novel Anti-infective Compounds from Marine Bacteria, *Marine Drugs*, 8, 498-518.
- Ramesh, D., Chandrashekhar, C., Vaidya, V., P. 2008. Synthesis of novel naphtho[2,1-b]furo[3,2-b]pyridine derivatives as potential antimicrobial agents. *Indian Journal of Chemistry*. 47, 753-758.
- Ramirez, S., M., Tolmasky, E., M. 2010. Aminoglycoside Modifying Enzymes. *Drug Resistance Updates*. 13, 6, 151-171.
- Ravindra, K., C., Vagdevi, H., M., Vaidya, P., V. 2008. Synthesis and antimicrobial activity of novel naphtho[2,1-b]furo-5H-[3,2-d][1,3,4]thiadiazolo[3,2-a]pyrimidin-5-ones. *ARKIVOC*. xi, 1-10.
- Regli, A., D., Monnet, D., Saux, P., Bosı, C., Charrel, R., Alain, B., Bollet, C. 1996. Molecular Epidemiology of Enterobacter aerogenes Acquisition: One-Year Prospective Study in Two Intensive Care Units. *Journal of Clinical Microbiology*. 34, 6, 1474-1480.
- Roberts ,M., C. 2008. Update on macrolide, lincosamide, streptogramin, ketolide, and oxazolidinone resistance genes. *FEMS Microbiology Letters*. 282, 147-159.
- Rodloff, A., C., Koch, D., Schaumann, R. 2011. Epidemiology and Antifungal Resistance in Invasive Candidiasis. *European Journal of Medical Research*. 16, 187-195.

- Roldan, D., M., Perez-Reinado, E., Castillo, F., Vivian, C., M. 2007. Reduction of polynitroaromatic compounds: the bacterial nitroreductases. *FEMS Microbiol Reviews*. 32, 474-500.
- Ron, E., Z. 2010. Distribution and evolution of virulence factors in septicemic *Escherichia coli*. *International Journal of Medical Microbiology*. 300, 367-370.
- Sağlam, D., Durmaz, S., Kiliç, H., Atalay, M., A., Erçal, B., D., Şarli, Ş., Perçin, D. 2011. Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Sıklığı ve Antibiyotik Direnç Paternleri. *Ankem Dergisi*. 25 (4). 250-255.
- Sakyo, S., Tomita, H., Tanimoto, K., Fujimoto, S., Ike, Y. 2006. Potency of Carbapenems for the Prevention of Carbapenem-Resistant Mutants of *Pseudomonas aeruginosa*, *The Journal of Antibiotics*, 59, 4, 220–228.
- Sancak, B., Ercis, S., Menemenlioglu, D., Colakoglu, S., Hasçelik, G. 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin in a Turkish university hospital. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 56, 519-523.
- Sangurdekar, P., D., Zhang, Z, Khodursky, B., A. 2011. The association of DNA damage response and nucleotide level modulation with the antibacterial mechanism of the anti-folate drug Trimethoprim. *BMC Genomics*, 12, 583, 1-14.
- Savjani, J., K., Gajjar, A., K., Savjani, K., T. 2009. Mechanisms of resistance: useful tool to design antibacterial agents for drug - resistant bacteria. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 9, 2, 194-205.
- Schmieder, R., Edwards, R. 2012. Insights into antibiotic resistance through metagenomic approaches. *Future Microbiology*. 7, 1, 73-89.
- Segatore, B., Bellio, P., Setacci, D., Brisdelli, F., Piovano, M., Garbarinob, J., A., Nicolettic, M., Amicosante, G., Perilli, M., Celenza, G. 2012. In vitro Interaction of Usnic Acid in Combination with Antimicrobial Agents Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates Determined by FICI and E model methods. *Phytomedicine*. 19, 341-347.
- Serefhanoglu, K., Turan, H., Timurkaynak, F., E., Arslan, H. 2009. Bloodstream Infections Caused by ESBL-Producing *E. coli* and *K. pneumoniae*: Risk Factors for Multidrug-Resistance. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 13 (6), 403-407.
- Sergeiko, A., Poroikov, V., V., Hanu, O., L., Dembitsky, V., M. 2008. Cyclobutane-Containing Alkaloids: Origin, Synthesis, and Biological Activities. *The Open Medicinal Chemistry Journal*. 2, 26-37.
- Sezgin, F., M., Yilmaz, A., Gunaydin, C., M. 2012. Investigation of biofilm formation in *Acinetobacter baumannii* isolates and their colistin susceptibilities in biofilm. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 3959, 1-2.
- Shahid, M., Sobia, F., Singh, A., Malik, A., Khan, H., M., Jonas, D., Hawkey, P., M. 2009. Beta-lactams and Beta-lactamase-inhibitors in current- or potential-clinical practice: A comprehensive update. *Critical Reviews in Microbiology*, 35, 2, 81-108.
- Shaw, K., J., Barbachyn M., R. 2011. The oxazolidinones: past, present, and future. *Annals of The New York Academy of Sciences*. 1241, 48-70.
- Sherman, J., M. 1937. The Streptococci. *Dergi ve Sayı Belirtilmemiş*.

- Shruthi, E., Kumar, S., M., Kusuma, K., Manjunath, H., R., Vaidya, V., P., Sridhar, M., A., Lokanath, N., K. 2012. Synthesis and Structural Studies of Ethylnaphtho[2,1-b]furan-2-carboxylate. X-ray Structure Analysis. 28, 23-24.
- Sipahi, O., R. 2008. Economics of antibiotic resistance. Expert Review of Anti-Infective Therapy. 6, 4, 523-539.
- Sköld, O. 2001. Resistance to trimethoprim and sulfonamides. Veterinary Research. 32, 261-273.
- Slama, T., G. 2008. Gram-negative antibiotic resistance: there is a price to pay. Critical Care, 12, 4, 1-7.
- Slama, T., G. 2008.. Clinical review: Balancing the therapeutic, safety, and economic issues underlying effective antipseudomonal carbapenem use. Critical Care. 12 (5), 1-10.
- Solomon, G., Fryhle C. 2002. Organik Kimya. 7. Baskıdan Çeviri. Literatür Yayınları.
- Sood, S., Malhotra, M., Das, B., K., Kapil, A. 2008. Enterococcal infections & antimicrobial resistance. Indian Journal of Medical Research. 128, 111-121.
- Strateva, T., Yordanov, D. 2009. *Pseudomonas aeruginosa* – a phenomenon of bacterial resistance. Journal of Medical Microbiology. 58, 1133-1148.
- Sultana, N., Afolayan, J., A. 2011. A New Depsidone and Antibacterial Activities of Compounds from *Usnea undulata* Stirton. Journal of Asian Natural Products Research. 13, 12, 1158-1164.
- Sun, H., Y., Fujitani, S., Quintiliani, R., Yu, V., L. 2011. Pneumonia Due to *Pseudomonas aeruginosa* Part II: Antimicrobial Resistance, Pharmacodynamic Concepts, and Antibiotic Therapy. Recent Advances in Chest Medicine. 139 (5), 1172-1185.
- Telli, M., Eyigör, M., Gültekin, B., Aydın, N. 2011. Evaluation of resistance mechanisms and serotype and genotype distributions of macrolide-resistant strains in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* [corrected] in Aydın, Turkey. Journal of Infection and Chemotherapy. 17, 5, 658-664.
- Tendolkar, P., M., Baghdayan, A., S., Shankar, N. 2003. Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century. Cellular and Molecular Life Sciences. 60, 2622-2636.
- Theuretzbacher, U. 2012. Accelerating resistance, inadequate antibacterial drug pipelines and international responses. International Journal of Antimicrobial Agents. 39, 295-299.
- Thiolas, A., Bollet, C., Scola, B., Raoult, D., Page `s J., M. 2005. Successive Emergence of *Enterobacter aerogenes* Strains Resistant to Imipenem and Colistin in a Patient. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 49, 4, 1354-1358.
- Toğay, S., Ö., Keskin, A., Ç., Açık, L., Temiz, A. 2010. Virulence genes, antibiotic resistance and plasmid profiles of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from naturally fermented Turkish foods. Journal of Applied Microbiology. 109, 1084-1092.
- Tran, J., H., Jacoby, G., A. 2002. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. PNAS, 99, 8, 5638-5642.
- Tupin, A., Gualtieri, M., Roquet-Banèresa, F., Morichauda, Z., Brodolina, K., Leonetti, J., P. 2010. Resistance to rifampicin: at the crossroads between ecological, genomic and medical concerns. International Journal of Antimicrobial Agents. 35, 519-523.

- Tünger, A., Aydemir, S., Uluer, S., Cilli, F. 2004. In vitro activity of linezolid & quinupristin/dalfopristin against Gram-positive cocci. *Indian Journal of Medical Research*. 120, 546-552.
- Uncu, H., Çolokoğlu, Ş., Turunç, T., Demiroğlu, Y., Z., Arslan, H. 2007. Kısa Bildiri: Streptococcus Pneumoniae ve Haemophilus influenzae Klinik İzolatlarının Tedavide Kullanılan Antibiyotiklere Karşı İn Vitro Direnç Oranları. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 41, 441-446.
- Uyanık, M., H., Hancı, H., Yazgı, H. 2009. Üriner Sistem İnfeksiyonlarından Soyutlanan Toplum Kökenli *Escherichia coli* Suşlarına Fosfomisin Trometamolün ve Bazı Antibiyotiklerin İn-Vitro Etkinliği. *Ankem Dergisi*. 23 (4), 172-176.
- Wagenlehner, F., M., E., Wullt, B., Perletti, G. 2011. Antimicrobials in urogenital infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 38S, 3-10.
- Wong, A., Kassen, R. 2011. Parallel evolution and local differentiation in quinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*. 157, 937-944.
- Woodford, N. 2005. Biological counterstrike: Antibiotic resistance mechanisms of Gram-positive cocci. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 11, 3, 2-21.
- Wright, G., D. 2003. Mechanisms of resistance to antibiotics. *Current Opinion in Chemical Biology*. 7, 563-569.
- Wu, G., Abraham, T., Rapp, J., Vastey, F., Saad, N., Balmir, E. 2011. Daptomycin: evaluation of a high-dose treatment strategy. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 38, 192-196.
- Yahav, D., Farbman, L., Leibovici, L., Paul, M. 2011. Colistin: new lessons on an old antibiotic. *Clinical Microbiology and Infection*. 18, 18-29.
- Yigit H., Anderson, G., J., Biddle, J., W., Steward, C., D., Rasheed, K., J., Valera, L., L., McGowan, J., E., Tenover, C., F. 2002. Carbapenem Resistance in a Clinical Isolate of *Enterobacter aerogenes* Is Associated with Decreased Expression of OmpF and OmpC Porin Analogs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 46, 12, 3817-3822.
- Yigit H., Quenaan, A., M., Anderson, G., J., Domenech-Sanchez, A., Biddle, J., W., Steward, C., D., Alberti, S., Bush, K., Tenover, F., C. 2001. Novel Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 45, 4, 1151-1161.
- Yiş, R., Aslan, S., Çıtak, Ç., Değirmenci, S. 2011. Gaziantep Çocuk Hastanesinde Vankomisine Dirençli *Enterokok* Kolonizasyonunun Değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 45 (4), 646-654.
- Yoneyama, H., Katsumata, R. 2006. Antibiotic Resistance in Bacteria and Its Future for Novel Antibiotic Development. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 70, 5, 1060-1075.
- Yüksekkaya, Ş., Fındık, D., Arslan, U. 2010. Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastaların İdrarlarından İzole Edilen *Candida* Türlerinin Moleküler Epidemiyolojisi ve Antifungal Duyarlılıkları. *Mikrobiyoloji Bülteni*.
- Zhao, W., H., Hu, Z., Q. 2012. *Acinetobacter*: A potential reservoir and dispenser for β -lactamases. *Critical Reviews in Microbiology*. 38, 1, 30-51.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Ekin Demiray

Doğum Yeri: Ankara

Doğum Tarihi: 29 03 1987

Medeni Hali: Bekar

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise: Ankara Kocatepe Mimar Kemal Anadolu Lisesi (2001-2005)

Lisans: Ankara Üniversitesi (2005-2009)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü (2010-2011)

Adıyaman Üniversitesi (2011-2013)

Çalıştığı Kurum: Adıyaman Üniversitesi (2011-2013)