

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**EPİNEFRİN VE NOREPİNEFRİNİN ESCHERICHIA COLI
VE STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARININ
ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI ÜZERİNE
OLASI ETKİLERİ**

DENİZ SERTEL

**DANIŞMAN
PROF. DR. MİNE ANÇ KÜÇÜKER**

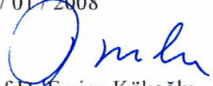
**MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI/
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2008

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

29 / 01 / 2008

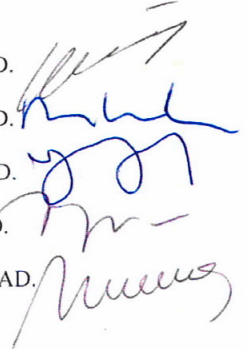

Prof. Dr. Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Mikrobiyoloji
Programın seviyesi : Yüksek Lisans ☒ Doktora ☐
Anabilim Dalı : Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD
Tez Sahibi : Deniz Sertel
Tez Başlığı : Epinefrin ve Norepinefrinin Escherichia coli ve Staphylococcus aureus
Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları Üzerine Olası Etkileri
Sınav Yeri : Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD.
Sınav Tarihi : 24 / 01 / 2008

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1. Prof. Dr. Bülent Gürler	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD.
2. Prof. Dr. Mine Anğ Küçüker (danışman)	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD.
3. Prof. Dr. Yıldız Yeğenoğlu	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD.
4. Prof. Dr. Meltem Uzun	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD.
5. Prof. Dr. Müzzeyyen Mamal Torun	Cerrahpaşa Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD.



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Deniz SERTEL (İmza)

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Bülent Gürler'e ilgi ve yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

Her konuda ilgi ve desteğini gördüğüm, yakınlığı ve içtenliği ile her zaman yanımda olan, eşsiz bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, öğrencisi olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum çok değerli danışmanım Prof. Dr. Mine Anğ Küçüker'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Şengül Derbentli, Prof. Dr. Emel Bozkaya, Prof. Dr. O. Şadi Yenen, Prof. Dr. Meltem Uzun ve Doç. Dr. Özden Büyükbaba-Boral'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Değerli yardımlarından dolayı Prof. Dr. Zayre Erturan, Prof. Dr. M. Derya Aydın, Prof. Dr. Serap Kuruca ve Doç. Dr. Halim İşsever'e teşekkür ederim.

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda gördüğüm eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Rahmiye Berkiten, Prof. Dr. Ergene Büget, Prof. Dr. Selim Badur, Prof. Dr. Nezahat Gürler, Prof. Dr. Yıldız Yeğenoğlu, Prof. Dr. Gülden Yılmaz, Prof. Dr. Salih Türkoğlu, Prof. Dr. Ali Ağaçfıdan, Prof. Dr. Çiğdem Bal Kayacan, Prof. Dr. Betigül Öngen ve Prof. Dr. Y. Ali Öner'e teşekkür ederim.

Laboratuar bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Uzm. Dr. Yaşar Nakipoğlu'na, yardım ve desteklerini gördüğüm Mikoloji Bilim Dalı çalışanlarından Dr. Dilek Şatana ve Dr. Serdar Susever'e çok teşekkür ederim. Tez deneylerim sırasında çok büyük yardımlarını gördüğüm değerli arkadaşım MSc. Defne Gümüş'e ve değerli arkadaşlarım Biyo. Sevan Gürün, Araş. Gör. Gonca erköse Genç, MSc. Seyda İğnak, Biyo. Fatma Bıyık, Biyo. Mehmet İlkaç, Biyo. Feriha Başoğlu'na çok teşekkür ederim. Ayrıca laborant Zübeyde Hamza ve laborant Mukaddes Ünsal'a tüm yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-28/15122006

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	Vİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	İX
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Escherichia coli.....	4
2.1.1. Genel bilgiler	4
2.1.2. Antibiyotiklere duyarlılık özellikleri	8
2.2. Staphylococcus aureus	10
2.2.1. Genel bilgiler	10
2.2.2. Antibiyotiklere duyarlılık özellikleri	13
2.3. Bakteriler ve hormonlar	15
2.3.1. Katekolaminler.....	16
2.3.1.1. Katekolaminler ve bakteriler arasındaki ilişkiler	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1. Suşlar.....	22
3.2. Hormonlar	23
3.3. Antibiyotikler	23
3.4. Antibiyotiklere duyarlılık deneyleri.....	24
3.4.1. Mikrodilüsyon deneyi için inokulum hazırlanması	24
3.4.2. Mikrodilüsyon deneyi	24
3.5. İstatistiksel analiz.....	25
4. BULGULAR.....	26

4.1. Epinefrin ve norepinefrinin <i>E. coli</i> suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine etkileri	26
4.2. Epinefrin ve norepinefrinin <i>S. aureus</i> suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine etkileri.....	30
5. TARTIŞMA	34
KAYNAKLAR	38
ETİK KURUL KARARI	49
ÖZGEÇMİŞ	50

TABLÖLAR LİSTESİ

4-1:Epinefrin ve norepinefrin varlığında *E. coli* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıklarında meydana gelen değişiklikler

4-2: *E. coli* suşlarında amikasin, sefotaksim, siprofloksasin ve tetrasiklin için MİK dağılımları, MİK aralıkları, MİK₉₀ değerleri

4-3: *E. coli* suşlarında amipisilin/sulbaktam için MİK dağılımları, MİK aralıkları, MİK₉₀ değerleri

4-4: *E. coli* suşlarında ko-trimoksazol için MİK dağılımları, MİK aralıkları, MİK₉₀ değerleri

4-5: Epinefrin ve norepinefrin varlığında *S. aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıklarında meydana gelen değişiklikler

4-6: *S. aureus* suşlarında amikasin, siprofloksasin, tetrasiklin ve vankomisin için MİK dağılımları, MİK aralıkları, MİK₉₀ değerleri

4-7: *S. aureus* suşlarında ko-trimoksazol için MİK dağılımları, MİK aralıkları, MİK₉₀ değerleri

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

6-OHDA	: 6-hidroksi dopamin
AAF	: Agregatif adhezyon fimbriya
A/E	: Attaching / Effacing
AI-3	: Otoindükleyici -3
AMK	: Amikasin
ATCC	: American Type Culture Collection
Bap	: Biyofilm ilişkili protein
BFP	: Bundle-forming pilus
Bbp	: Kemik siyaloproteinini bağlayan protein
CF	: Kümeştirici faktör
CFA	: Kolonizasyon fatör antijeni
CFU	: Koloni oluşturan birim
CIP	: Sipprofloksasin
CLSI	: Clinical laboratory Standarts Institute
CNA	: Columbia-kolistin-nalidiksik asit
CRF	: Koagülaz ile reaksiyona giren faktör
CSAs	: Coli yüzey antijenleri
CTX	: Sefotaksim
DAEC	: Diffüz adheran <i>Escherichia coli</i>
DHEA	: Dihidroepiandosteron
EAEC	: Enteroagregatif <i>Escherichia coli</i>
EAF	: Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i> adherans faktör
EAST-1	: Enteroagregatif <i>Escherichia coli</i> stabil toksin-1
EFG	: Elongasyon faktör G

EHEC	: Enterohemorajik <i>Escherichia coli</i>
EIEC	: Enteroinvazif <i>Escherichia coli</i>
EPEC	: Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
Epi	: Epinefrin
ETEC	: Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
ExPEC	: Ekstraintestinal patojenik <i>Escherichia coli</i>
FnBP	: Fibronektin bağlayan protein
GSBL	: Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
hVISA	: Vankomisine orta seviyede heterojen direnç gösteren <i>S. aureus</i>
IPEC	: İntestinal patojenik <i>Escherichia coli</i>
KÜKENS:	Mikroorganizma ve Kültür Koleksiyonları Araştırma ve Uygulama Merkezi
LEE	: Locus of enterocyte effacement
LT	: Labil toksin
LPS	: Lipopolisakkarit
MAEC	: Meninjit ilişkili <i>Escherichia coli</i>
MHB	: Mueller Hinton buyyon
MİK	: Minimum inhibisyon konsantrasyon
MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	: Metisiline duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
NE	: Norepinefrin
PNL	: Polimorf nüveli lökosit
QS	: Quorum sensing
SAM	: Ampisilin/sulbaktam
SpA	: Stafilokok protein A
STEC	: Shiga benzeri toksin üreten <i>Escherichia coli</i>

- SXT : Ko-trimoksazol
- TET : Tetrasiklin
- TSA : Triptik soya agar
- TŞST-1 : Toksik şok sendromu toksini-1
- TTSS : Tip III salgılama sistemi
- VAN : Vankomisin
- VISA : Vankomisine orta dirençli *Staphylococcus aureus*
- VRSA : Vankomisine dirençli *Staphylococcus aureus*
- VTEC : Vero toksin üreten *Escherichia coli*
- UPEC : Üropatojen *Escherichia coli*

ÖZET

Sertel D. (2008). Epinefrin ve Norepinefrinin *Escherichia coli* ve *Staphyococcus aureus* Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları Üzerine Olası Etkileri. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Stres durumlarının konağın patojen mikroorganizmalara duyarlılığını etkilediği bilinmektedir. Memelilerde stres durumuna nörofizyolojik yanıt olarak salınan katekolaminlerin bakterilerin üremesini stimüle ettiği, virulans faktörlerinin ekspresyonunu ve otoindükleyiciler gibi maddelerin üretimini arttırdığı gösterilmiştir. Çalışmamızda epinefrin ve norepinefrinin beşi genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten 10 *E.coli* suşunun ampisilin / sulbaktam , sefotaksim, amikasin, siprofloksasin , tetrasiklin , ko-trimoksazole ve beşi metisiline dirençli olan 10 *Staphylococcus aureus* suşunun amikasin, siprofloksasin, tetrasiklin, ko-trimoksazol ve vankomisine duyarlılıkları üzerine etkisi CLSI kriterlerine göre mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır.

E.coli suşlarında amikasinin MİK90 'ının 50 ve 100 mikromolarepinefrin varlığında iki kat ve ampisilin/sulbaktam MİK90 'ının ise 50 mikromolarepinefrin varlığında iki kat arttığı; yanı sıra 100 mikromolar epinefrin varlığında amikasinin MİK aralığının 0,5-16'dan 1-16'ya, siprofloksasinin MİK aralığının 5, 50 ve 100 mikromolar norepinefrin varlığında 0,008-128'den 0,008-256'ya ; ampisilin/sulbaktamın MİK aralığının 5, 50 ve 100 mikromolar epinefrin varlığında 4/2-1024/512'den 8/4-1024/512'ye değiştiği belirlenmiştir.

S.aureus suşlarında amikasin MİK aralığının 5, 50 ve 100 mikromolar epinefrin varlığında 1-128'den 1-64'e değiştiği ; ayrıca MİK90 'ının 50 ve 100 mikromolar epinefrin varlığında iki kat azaldığı (64'den 32'ye düştüğü) bulunmuştur. Siprofloksasin MİK90'ının 50 ve 100 mikromolar norepinefrin varlığında iki kat arttığı (64'ten 128'e) belirlenmiştir. Bu suşlarda ko-trimoksazol MİK aralığı ise 5, 50 ve 100 mikromolar epinefrin varlığında 0,06/1,14-0,25/2,28'den 0,03/0,57'ye değişmiştir .

Çalışmamızda belirlenen farklılıklar, Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi yöntemine göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Anahtar Kelimeler : Epinefrin, norepinefrin, *E. coli*, *S. aureus*, antibiyotiklere duyarlılık

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-28/15122006.

ABSTRACT

Sertel D. (2008). The Possible Influence of Epinephrine and Norepinephrine on the Antibiotic Susceptibilities of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Strains. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Microbiology and Clinical Microbiology. Yüksek Lisans Tezi. Istanbul.

Various forms of host stresses are thought to influence susceptibility to pathogenic microorganisms. In mammals, catecholamines are released in response to stressful conditions and it has been shown that catecholamines can directly stimulate bacterial growth, induce expression of virulence factors and production of autoinducers. In this study the influence of epinephrine and norepinephrine on susceptibilities of 10 *Escherichia coli* strains five of which were ESBL producers to ampicillin/sulbactam, cefotaxime, amikacin, ciprofloxacin, tetracycline and co-trimoxazole and 10 *Staphylococcus aureus* strains five of which were resistant to methicillin, to amikacin, ciprofloxacin, tetracycline, co-trimoxazole and vancomycin was assessed by microdilution method according to the guidelines of CLSI.

In *E. coli* strains two fold increase was determined for MIC₉₀ of amikacin in the presence of 50 and 100 micromolar epinephrine; and for ampicillin/sulbactam in the presence of 50 micromolar epinephrine. It was also found that the MIC range for amikacin, ciprofloxacin and ampicillin/sulbactam changed from 0,5-16 to 1-16 in the presence of 100 micromolar epinephrine, from 0.008-128 to 0.008-256 in the presence of 5, 50 and 100 micromolar norepinephrine and from 4/2-1024/512 to 8/4-1024/512 in the presence of 5, 50 and 100 micromolar epinephrine respectively.

In *S. aureus* strains two fold decrease was determined for MIC₉₀ of amikacin in the presence of 50 and 100 micromolar epinephrine and two fold increase was determined for MIC₉₀ of ciprofloxacin in the presence of 50, 100 micromolar norepinephrine. It was also found that MIC range for amikacin and co-trimoxazole changed in the presence of 5, 50 and 100 micromolar epinephrine from 1-128 to 1-64 and from 0.06/1.14-0.25/2.28 to 0.03/0.57 respectively

The differences determined in this study found to be not significant according to the results of the analysis by Kruskal-Wallis one way variance analysis .

Key Words: Epinephrine, norepinephrine, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, antibiotic susceptibility

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. T-28/15122006

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bakterilerin, üremesi ve virulansını da içeren pek çok biyolojik özelliklerinin sıcaklık, pH, ozmolarite gibi çevresel koşullardan etkilendiği uzun zamandır bilinmektedir. Konak hormonlarının bakteriler üzerindeki etkisi de son yıllarda üzerinde çalışmaların arttığı bir konu olmuştur ve mikroorganizmaların infeksiyon sürecinde konak hormonlarını üremek ve patojenik süreci başlatmak için çevresel işaretler olarak kullandıkları öne sürülmüştür (1). Yaklaşık 80 yıl önce ilk kez bir hormonun, epinefrinin, saflaştırılması ile endokrinolojide yeni bir çağ başlamıştır. 1920'lerin sonlarında epinefrinin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaya başlanmasının hemen ardından epinefrin kullanımıyla ilişkili sepsis vakaları bildirilmiştir. Bu konuyu araştıran çalışmalarda sepsis gelişimi , epinefrin uygulaması sırasında kullanılan cam enjektörlerin kontaminasyonuna bağlanmıştır; ancak infeksiyon etkeninin infeksiyöz dozunun epinefrin tedavisi uygulanan hastalarda daha düşük olması bu durumun basit bir kontaminasyonla açıklanamayacağını göstermiş ve epinefrin gibi nöroendokrin hormonların infeksiyon hastalıklarıyla ilişkisini inceleyen çalışmalar artarak devam etmiştir (2).

Bakteri infeksiyonlarına eşlik eden nörofizyolojik değişiklikler ile ilgili bir çok çalışma yayımlanmıştır (3,4,5,6). Bu çalışmalardaki en çarpıcı gözlem infeksiyon şiddetinin ilerlemesiyle paralel olarak plazma ve doku katekolamin (özellikle de norepinefrin) düzeylerinin artması olmuştur (7). Nöroendokrin hormonlarının düzeylerinin artmasının infeksiyon sürecinde bir sonuç mu yoksa nedenlerden biri mi olduğu açıklığa kavuşturulamamıştır (7).

1990'lı yılların başlarında infeksiyon hastalığı patogenezi sırasında nöroendokrin hormonlar ile bakteriler arasında direkt etkileşim olduğuna ilişkin bir teori ortaya atılmıştır (8,9). Bu teori birçok memeli hormonun ve ilgili reseptörlerin mikroorganizmalarda var olduğunu bildiren çok sayıda çalışmayı temel almıştır (10). Memeli hücrelerinde biyolojik aktivitesi olduğu gösterilen birçok hormonun varlığı mikroorganizmalarda saptanmıştır; 1981'de LeRoith ve arkadaşları (11) *E. coli*'de insulin, 1982'de LeRoith ve arkadaşları (12) *Tetrahymena pyriformis*'de kortikotropin , 1985'de Le Roith ve arkadaşları (13) *Bacillus subtilis*'de ve 1987'de Pan ve arkadaşları

(14) *Plasmodium falciparum* 'da somatostatin ve 1986'da Schar ve arkadaşları (15) *Trychophyton mentagrophytes*' de progesteron varlığını göstermişlerdir (11,12,13,14,15).

Katekolamin stres hormonlarının infeksiyon hastalığı sürecindeki rolü ilk kez 1930'ların başlarında gösterilmiş (2), fakat Lyte ve Ernst (16) tarafından ilk kez 1992 yılında katekolaminlerin bakterilerin üremesi üzerine direkt etkisi olduğunun gösterilmesine ve infeksiyon hastalığı patogeneğinde bakterilerin katekolaminlerle direkt ilişkiye girmesinin rolü olabileceği teorisi (8,9) ortaya atılana kadar net olarak açıklanamamıştır (17).

Bakterilerin nöroendokrin hormonlara yanıt verdiği fikrinden yola çıkan deneylerde norepinefrinle muamele edilmiş Gram negatif bakterilerin üremelerinin arttığı gösterilmiştir (16,18,19). Ayrıca , enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) suşlarının adhezinleri ve enterohemorajik *E. coli* (EHEC) suşlarının toksinleri gibi virulans faktörlerinin ekspresyonunun norepinefrinle stimüle edilmiş bakterilerde arttığı saptanmıştır (2). 1996 yılında Lyte ve arkadaşlarının (20) yaptığı çalışmada *E. coli* O157:H7 suşlarında Shiga benzeri toksin üretiminin, 2000 yılında Rahman ve arkadaşlarının (21) yaptığı çalışmada ise *Salmonella typhimurium* suşlarında enterotoksin üretiminin norepinefrin stimülasyonu ile arttığı gösterilmiştir. İlk kez 1997 yılında Lyte ve Nguyen (7) tarafından yapılan bir çalışmada norepinefrinin patojen bir bakteride (*E. coli* O157:H7) genetik değişimleri indüklemeye yeteneğinde olduğu gösterilmiştir; elde edilen sonuçlar ışığında konak nöroendokrin hormonlarının infeksiyon etkeni bakterilerde genetik rearajmanlara ve olasılıkla patojenitede değişikliklere yol açan çevresel sinyaller olabileceği öne sürülmüştür (7).

Mikrobiyal endokrinoloji alanının temel öğretisi mikroorganizmaların, konak hormonlarını çevresel sinyaller olarak algılanmaları ve kullanmalarıdır (17). Mikroorganizmalarda hormonların ve ilgili reseptörlerin bulunması, bu mikroorganizmaların memeli hormonlarını tanımasının kanıtı olarak kabul edilmektedir ve bu tanımanın infeksiyonu başlattığı öne sürülmektedir (9). Mikrobiyal endokrinoloji alanında araştırmaların çoğu, katekolaminlerin infeksiyon hastalığı sürecindeki rolüne odaklanmış (17) olsa da katekolaminler dışında birçok diğer hormonun da mikroorganizmalar üzerindeki etkisi araştırılmıştır. 2000 yılında Plotkin ve arkadaşlarının (22) yaptığı çalışmada insülinin, ortamdaki hormon ve glikoz konsantrasyonuna bağlı olarak mikroorganizmaların üreme kinetiklerini etkilediği

saptanmıştır. Plotkin ve arkadaşlarının (23) 2003 yılında yaptığı çalışmada androjen ve glukokortikoidlerin bakterilerin üremesi ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine etkisi araştırılmış, üreme hızının ve antibiyotiklere duyarlılığın (suşa, hormon konsantrasyonu ve antibiyotiğe bağlı olarak) hormonlar varlığında değiştiği saptanmıştır. Katekolaminlerin, mikroorganizmalar üzerine direk etkisi ile ilgili birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen antibiyotik duyarlılığına etkisi üzerine yapılmış bir araştırmaya tarafımızdan rastlanmamıştır.

Bu bilgiler çıkış noktası olarak alınarak ,çalışmamızda epinefrin ve norepinefrinin birçok infeksiyon hastalığının etkeni olabilen *E. coli* ve *S. aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine olası etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Escherichia coli*

2.1.1. Genel bilgiler

Escherichia coli ilk kez 1885 yılında Dr. Theodore Escherich tarafından tanımlanmış ve o zamandan beri üzerinde en çok çalışılmış bakteridir. Moleküler ve hücresel düzeyde bakterilere ilişkin bilgilerin çoğu *E. coli* suşları (özellikle de 1922 yılında difterili bir hastadan izole edilen K12 suşu) kullanılarak yapılan araştırmalardan elde edilmiştir (24,25,26).

İnsan ve diğer sıcakkanlı hayvanların barsak florasının bir üyesi olan *E. coli*, gastrointestinal sistemin aeroi Gram negatif bakteri popülasyonunun en büyük kısmını oluşturur (24,25,27,28,29,30). Bu bakteri, fekal kontaminasyon sonucunda su, toprak ve besinlerde de bulunabilir (24,25,31).

E. coli Gram negatif, çomak şeklinde, oksidaz negatif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerop bir bakteridir ve suşların çoğu peritrih kirpikleri sayesinde hareketlidir. Bir çok karbonhidratı hem asit hem de gaz oluşturarak fermente etme yeteneğinde olsalar da anaerojenik biyotipleri de bulunmaktadır. Hızlı laktoz fermentasyonu birçok *E. coli* suşu için tipiktir, enteroinvazif *E. coli* (EIEC) ve bazı *E. coli* (metabolik olarak inaktif) suşlarının çoğu laktozu yavaş fermente eder veya hiç edemez (24,31). Nitratları nitritlere indirgerler, indol üretir, hidrojen sülfid üretmezler. Üreyi hidrolize edemez, sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanamazlar (25,29). *E. coli* suşları yuvarlak, konveks, S tipi koloni oluştururlar. Bazı suşlar kanlı agar besiyerinde hemoliz oluştururlar (25).

Bugüne kadar 173 değişik serogrup ve 56 dan fazla serotip tanımlanmıştır. Serogrup ve virulans arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Örneğin , O86 genellikle kolon florasında bulunur ve bu serogrubun üyeleri çok nadiren hastalık etkeni olurlarken, grup O55 hemen hemen her zaman hastalık etkeni olarak izole edilir . Bazı serogruplar özellikle idrar yolu infeksiyonlarında önem taşıyan adhezyon faktörlerine, diğer bazı serogruplar da gastroenterite yol açması için gerekli olan kolonizasyon faktörleri ve toksinlere sahiptirler (29,32).

Klinik açıdan iki patojen *E. coli* grubu tanımlanmıştır. Ekstraintestinal patojenik *E. coli* (ExPEC) olarak tanımlanan grup yeni doğan meninjit, sepsis ve idrar yolu infeksiyonlarına yol açan *E. coli* suşlarını kapsar. İkinci grup barsak patojeni (intestinal patojenik) *E. coli* (IPEC) olarak adlandırılır ve çeşitli barsak hastalıklarına neden olan *E. coli* suşlarını kapsar (24).

ExPEC suşlarının etken olduğu infeksiyonların kaynağı barsak infeksiyonlarının aksine, barsak dışı hastalıkların kaynağı genellikle kişinin kendi florasıdır (24,27,29,31). ExPEC suşları barsaklarda normal flora üyesi olarak bulunurken hastalık oluşturmazlar, fakat kan, serebrospinal sıvı veya idrar yoluna ulaştıklarında hastalık etkeni olurlar (24,27). Spesifik serotiplere ait belirli suşlar üropatojen *E. coli* (UPEC) veya meninjit ile ilişkili *E. coli* (MAEC) olarak sınıflandırılırlar (24).

UPEC suşları kommensal *E. coli* suşlarından farklıdır. Genellikle adhezinler, sideroforlar (örn:aerobaktin), kapsül ve idrar yolu infeksiyonu patogeneğinde rolü olan toksinler gibi birçok virulans faktörlerini kodlayan genleri barındırırlar. Bu genler kromozomda yer alan ve patojenite adası adı verilen özel DNA bölgelerinde yer alırlar (24,28).

Bakteriyemi ve meninjit ile ilişkili *E. coli* suşları insanlarda Gram negatif bakterilerin etken olduğu bakteriyemi ve yeni doğan meninjitinin en sık rastlanılan etkenlerindendir (24,26,33). Kan dolaşımını infekte eden *E. coli* suşları sıklıkla konağın immün cevabından kaçmasını sağlayacak virulans faktörlerine sahiptir. Bunların arasında birçok adhezin (P,S ve M), siderofor (aerobaktin), kapsül ve hemolizin yer alır. Diğer Gram negatif bakterilerde olduğu gibi, *E. coli* suşlarının da lipopolisakkaridi (LPS) septik şoka neden olabilen önemli bir patojenite faktörüdür (24,26).

Belirli serotiplerden ve özellikle K1 kapsül antijenine sahip *E. coli* suşları sepsis (sepsisemi etkeni *E.coli* suşlarının %40'ı K1 kapsül antijenine sahiptir) ve yenidoğan meninjitine (meninjit etkeni olarak izole edilen *E.coli* suşlarının %75'i K1 antijenine sahiptir) neden olurlar ve hastalığın ağırlığı K1 antijenin varlığı ve miktarı ile direkt ilişkilidir (25,29,33). Yenidoğan meninjit etkeni olarak izole edilen suşların hem diğer patojen *E. coli* suşlarında bulunan hem de bu gruba özgü olduğu düşünülen S fimbriya, kapsül, aerobaktin gibi birçok virulans faktörüne sahip olduğu gösterilmiştir (24,26).

Barsak patojeni *E. coli* suşları kapsamında altı farklı patogrup tanımlanmıştır: enteroinvazif *E. coli* (EIEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enteroaggregatif *E. coli* (EAEC), ve diffüz adheran *E. coli* (DAEC) (24,26,34). Her ne kadar bu gruplar birbirlerinden oldukça farklı olsalar da patogeneze ile ilgili olarak virulans özelliklerinin plazmitlerde kodlanması, barsak mukozasıyla karakteristik etkileşimlerinin olması ve enterotoksin veya sitotoksin üretmek gibi bazı ortak temel özellikleri bulunmaktadır (29).

EIEC suşları, biyokimyasal, genetik ve patojenite açısından *Shigella* cinsi bakterilere çok benzerlik göstermektedirler (24,33,34). EIEC infeksiyonunda görülen semptomlar *Shigella* infeksiyonlarında görülenlerden farksızdır ve her ikisinde de infeksiyon bölgesi genellikle kolondur. EIEC suşlarında invazyon için gerekli genler plazmitte (pINV) taşınır. Bu genler patojenite için gereklidir ve konak hücre içine salgılanan invazyon plazmit antijenleri adı verilen proteinleri kodlarlar (24,26). Kontamine olmuş gıdalar ve su infeksiyonun ana kaynağıdır ve bulaşma fekal oral yolla gerçekleşir, fakat insandan insana bulaşma da görülebilir (24).

ETEC suşları gezgin diyarelerinin (gelişmekte olan ülkelerde) etkenidir (26,27,29,34). ETEC patogrubuna ait suşlar bir veya daha fazla enterotoksin üretmeleri ile karakterizedir: sıcaklığa duyarlı toksinler (LTI, LTII) ve sıcaklığa dayanıklı toksinler (STa, STb) (24,26,31,33). ETEC suşlarının bir diğer tipik özelliği, kolonizasyon faktörleri, kolonizasyon faktör antijenleri (CFA), coli yüzey antijenleri (CSAs) de denilen fimbriya ile barsak epitel yüzeyine tutunmalarıdır (24,26). İnsanlardan izole edilen ETEC suşlarında 20'den fazla farklı antijenik yapıya sahip kolonizasyon faktörü tanımlanmıştır (26). Enterotoksinleri kodlayan genler plazmitte yer alırlar ve bu plazmit aynı zamanda adhezinleri (CFAI, CFAlI, CFAlII) kodlayan genleri de barındırabilir (24,25,33). Bakteri birçok kolonizasyon faktör antijeninin yardımıyla ince barsağın proksimal kısmına tutunur. Bulaşma fekal-oral yolla gerçekleşir (24).

EAEC suşları LT veya ST enterotoksin üretmeyen ve Hep-2 hücrelerine agregatif adherans denilen farklı bir şekilde yapışan suşlar olarak tanımlanırlar (24). Hemen hemen her EAEC suşu agregatif adheranstan sorumlu genler [agregatif adhezyon fimbriya I (AAF/I) ve II (AAF/II)] ve aynı zamanda EAEC sıcaklığa dayanıklı enterotoksin 1 (EAST-1)'i kodlayan geni barındıran 60MDa bir plazmit taşır (24,29,34). EAEC suşları mukus salgısını arttırarak barsak epiteline tutunmuş

bakterilerin mukus içeren bir biyofilm içerisinde tutulmalarını sağlayabilir (26,33). Bazı EAEC suşarı kromozomda kodlanan ve musinaz aktivitesinde, serum direncinde ve hemaglutinasyonda rol oynadığı düşünülen Pic (barsak kolonizasyonda rol oynayan protein) denilen bir protein üretir ve salgılar (26). EAEC sulu ve sıklıkla mukuslu diyareye neden olur ve gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda kronik diyareye neden olduğu bildirilmiştir (25,26,29,33).

EPEC suşları süt çocuğu diyaresinin en sık rastlanılan etkenlerindendir ve küçük çocuklarda kronik diyareye yol açabileceği bildirilmiştir (26,29). EPEC patogenezinin ilk basamağı plazmitte (EPEC adherans faktör (EAF) plazmidi) kodlanan bundle-forming pilus (BFP) aracılığı ile barsak epiteline tutunmasıdır (24,26).EPEC suşları barsak mukozasına tutunur ve mikrovillusların yıkımına ve karakteristik lezyonların oluşmasına neden olur (27,29). Bu lezyonların oluşmasında rolü olduğu düşünülen birçok gen LEE (locus of enterocyte effacement) denilen bir patojenite adasında kodlanır (24,26); tip III salgılama sistemi (TTSS), bu salgı sisteminde salgılanan efektör proteinler (Esp vb) adhezin intimin, intimin reseptörü olarak iş gören Tir (transloke edilen intimin reseptörü) adı verilen protein olmak üzere EPEC patogenezinde rol oynayan dört farklı unsuru kodlar (24,26).

EHEC suşları hemorajik kolit ve hemolitik üremi sendromunun etkenidir (25,29,31,35). *E. coli* O157:H7 hemorajik kolit ve hemolitik üremi sendromunun en sık rastlanılan serotiptir., bununla birlikte O26, O111, O145 ve diğer bazı O serogruplarının da etken olarak izole edildiği hatta bazı ülkelerde O111:NM ve O26:H11 gibi O157 dışı *E. coli* serotiplerinin etken olarak O157 serotipinden daha sık izole edildiği bildirilmiştir (29,35,36). Profajca kodlanan toksin (shiga benzeri toksin = verotoksin) üreten EHEC suşları , verotoksin üreten *E. coli* (VTEC) veya Shiga benzeri toksin üreten *E. coli* (STEC) denilen daha büyük bir grubun alt grubu olarak sayılabilir, EPEClerle benzer şekilde epitel hücrelerinde A/E (Attaching/effacing) lezyonları oluşturmaları ve patogenezinde rolü olan diğer virulans faktörlerini (hemolizin, serin proteaz) taşıyan 60 MDa plazmit taşımaları ile karakterize edilirler (24,26,36). Bu bakteriler birçok evcil ve yabani hayvanın barsaklarında bulunur, fakat özellikle koyun ve sığırlar bu patojenlerin başlıca rezervuarlarıdır. Aynı zamanda kuşlar, atlar, köpek ve kediler gibi geviş getirmeyen hayvanlardan da izole edilmişlerdir (24). İyi pişirilmemiş et, pastörize edilmemiş süt ve peynirlerin tüketilmesinin yanı sıra kontamine suların içilmesi, infekte

hayvanlar ve dışkılarıyla temasla bulaşır; insandan insana da bulaşabildiği bilinmektedir. (24,27)

Diffüz adheran *E. coli* (DAEC) yeni tanımlanan bir patogruptur ve üç özelliği ile karakterize edilmektedir: HEp-2 hücrelerine diffüz şekilde tutunması, Afa/Dr ailesine ait veya diffüz adheransta rol oynayan adhezinlerin varlığı ve diğer *E. coli* patogruplarında görülen virulans genlerinden yoksun olması (24,35). Diffüz adheransda dört farklı adhezinin rol oynadığı belirtilmiştir (26). DAEC suşlarının etken olduğu infeksiyonların klinik özellikleri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır, bununla birlikte sulu diyareye neden olabildikleri bilinmektedir (24,35).

2.1.2. Antibiyotiklere duyarlılık özellikleri

Villa ve arkadaşlarının (37) çalışmasında beş yaş altı çocuklarda diyare etkeni olarak izole edilen ETEC, EAEC ve EPEC suşlarının %38'inin çoğul antibiyotik direnci gösterdiği saptanmıştır. Her üç patogruptan *E. coli* suşlarının ampisilin, tetrasiklin ve kloramfenikole yüksek düzeyde direnç gösterdiği fakat kinolonlara duyarlı oldukları belirtilmiştir (37). Sang ve arkadaşlarının (38) yaptığı çalışmada beş yaş altı çocuklarda diyare etkeni olarak izole edilen EAEC suşlarının ampisilin, tetrasiklin, eritromisin, ko-trimoksazol ve amoksisilin/klavulanik asite dirençli ve kloramfenikol, nalidiksik asit, azitromisin ve sefuroksime duyarlı oldukları gösterilmiştir (38). Diyareli çocuk hastalardan izole edilen EAEC suşlarının incelendiği bir başka çalışmada izole edilen 55 EAEC suşunun yaklaşık %30'unun ampisilin ve piperasiline direnç gösterdiği ve bu 55 suştan üçünün genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) ürettiği belirtilmiştir (39). Chomvarin ve arkadaşlarının (40) yaptığı çalışmada hazır gıda ürünlerinden izole edilen IPEC suşlarının yaklaşık %50'sinin en azından bir antibiyotiğe dirençli olup ve ampisilin (%76), tetrasiklin (%70), ko-trimoksazol (%69) ve nalidiksik asite (%44) yüksek oranda dirençli oldukları saptanmıştır (40).

ECO.SENS projesi kapsamında 17 ülkede toplumdan edinilmiş komplike olmayan üriner sistem infeksiyonu etkeni olarak izole edilen *E. coli* suşlarının %42'sinin denenen 12 antimikrobiyal maddeden bir veya daha fazlasına dirençli olduğu bildirilmiş; ampisilin (%29,8) ve sulfametoksazole (%24) direncin yaygın olduğu belirtilmiştir. Trimetoprim ve ko-trimoksazolün, sırasıyla %14.8 ve %14.1 olarak bulunan direnç oranlarıyla bu iki antibiyotiği takip ettiği bildirilmiş; ko-amoksilav,

nitrofurantoin, fosfomisin, gentamisin, siprofloksasine direnç oranlarının %3'ün altında olduğu belirtilmiştir (41).

Herhangi bir infeksiyon şikayeti bulunmayan sağlıklı kişilerin dışkı örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotiklere direncinin araştırıldığı çalışmalarda ampisilin direncinin %13-100 oranında görüldüğü bildirilmiştir. *E. coli* infeksiyonu geçiren hastaların idrar ve kan örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırıldığı çalışmalarda ise ampisilin direncinin %36-60 oranında görüldüğü bildirilmiştir (42).

Rusya'da Stratchounski ve arkadaşları (43) tarafından 2006 yılında yapılan bir çalışmada 1998 ile 2001 yılları arasında komplike olmayan üriner sistem infeksiyonlu hastalardan etken olarak izole edilen *E. coli* suşlarının %90'dan fazlasının nitrofurantoin (%95,7), sefuroksim (%96,4) ve siprofloksasine (%95,5) duyarlı olduğu, suşlarının %37,1'inin ampisiline, %22,9'unun trimetoprim, %21'inin ko-trimoksazole direnç gösterdiği saptanmıştır (43).

Akram ve arkadaşlarının (44) 2007 yılında yaptığı çalışmada semptomatik idrar yolu infeksiyonu etkeni *E. coli* suşlarının %34,4'ünün GSBL ürettiği saptanmıştır. Ayrıca *E. coli* suşlarının yarısından fazlasının (%55-85) ikinci (sefoksitin), üçüncü ve dördüncü (sefepim) kuşak sefalosporinlere, %51-73'ünün aminoglikozidlere, %69'unun norfloksasine ve siprofloksasine, %80'inin nitrofurantoin ve %76'sının da ko-trimoksazole dirençli olduğu bulunmuştur (44).

İran'da Mehrgan ve Rahbar tarafından (45) 2007 yılında yapılan çalışmada hastanede yatan hastalardan toplanan çeşitli klinik örneklerden izole edilen *E. coli* suşlarının %67,2'sinin GSBL ürettiği saptanmıştır (45). İspanya'da Romero ve arkadaşlarının (46) 2007 yılında yaptığı çalışmada ise 2001 ve 2004 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 11.272 *E. coli* suşunun 113'ünün (%1) GSBL ürettiği saptanmıştır (46). Ocak 1998 ve aralık 1999 tarihleri arasında yapılan SENTRY Antimikrobiyal Sürveyans Programı kapsamında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 1.377 *E. coli* suşundan 100'ünün GSBL ürettiği bildirilmiştir (47).

2.2. Staphylococcus aureus

2.2.1. Genel bilgiler

Stafilokoklar ilk kez Pasteur ve Koch tarafından gözlenmiş ve kültürleri yapılmıştır; fakat stafilokoklarla ilgili ilk detaylı çalışmalar 1881 yılında Ogston ve 1884 yılında stafilokokların ilk taksonomik sınıflandırmasını sağlayan Rosenbach tarafından yapılmıştır (48,49).

İnsanlarda ön burun boşlukları ve perine, stafilokokların en virulan türü olan *Staphylococcus aureus*'un başlıca habitatlarından (48,50,51,52). Bazı kaynaklara göre sağlıklı kişilerin %20-40'ı hayatlarının herhangi bir zamanında *S. aureus* taşıyıcısı olmaktadır (51). Diğer bazı kaynaklar ise sağlıklı yetişkin popülasyonun yaklaşık %20'sinin kronik taşıyıcı, %60'ının geçici taşıyıcı ve geri kalan yaklaşık %20'lik bir popülasyonun ise hayatlarının hiç bir döneminde *S. aureus* taşıyıcısı olmadığını belirtmişlerdir (48).

Stafilokoklar, Gram pozitif, 0,5-1,5 µm çapında kok şeklinde bakterilerdir ve hücre bölünmesi birden fazla düzlemde gerçekleştiği için preparatlarda üzüm salkımı şeklinde kümeler oluşturmuş halde görülmektedirler (48,50,51,52). Spor oluşturmazlar, hareketsizdirler ve katalaz negatif anaerob alt tür *S.aureus* subsp. *anaerobius* hariç katalaz enzimi üretirler ve fakültatif anaeroblar (48,49,50,51,52). Hemen hemen her *S.aureus* suşu sitratlı plazmayı pıhtılaştıran koagülaz enzimi üretmektedir (50,51,52). Basit besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilirler; yaygın olarak kullanılan seçici besiyerleri arasında mannitol tuz agar, lipaz tuz mannitol agar, Columbia-kolistin-nalidiksik asit (CNA) agar yer almaktadır (48,52).

S. aureus suşları organizmadan ilk izole edildiğinde kapsüllüdür fakat laboratuvar (in vitro ortamda) pasajlar sırasında kapsüllerini hızla kaybederler (49). Bu kapsül, serotiplerin tanımlanmasında kullanılabilir (49). *S. aureus* türünde kapsül antijenlerine göre 11 serotip tanımlanmıştır (53). İnsanlardan izole edilen *S. aureus* suşları genellikle mikrokapsüllüdür ve infeksiyon etkeni olarak en sık serotip 5 ve 8 izole edilmektedir (48,49,53). Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarının çoğu da bu serotiplere dahildir (49). Kapsülün fagositozu engelleyerek *S. aureus* 'un invazif özelliğine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (49,53).

S. aureus monosakkaritler, proteinler ve küçük peptitlerden oluşan gevşek ve suda çözülebilen biyofilm adı verilen ekstrasellüler bir madde (slime) üretmektedir

(48,53). Bu ekstraselüler madde bakterinin dokulara ve katater, prostetik kapak ve eklemler gibi yabancı cisimlerin yüzeylerine tutunmasını sağlamaktadır (48,53). Biyofilm üretimi ayrıca bakteriyi antibiyotiklerin etkisine karşı daha dirençli kılmakta ve immün yanıtın elemanlarının bakteriyi ulaşmasını engellemektedir (48).

Bu bakterilerin hücre duvarı yapısında bulunan teikoik asitler hücre duvarı kuru ağırlığının %30-50'sini oluşturmakta ve fibronektine bağlanarak stafilokokların mukoza yüzeyine tutunmasını sağlamaktadır (48,53).

S. aureus suşlarının yüzeyinde bulunan hücre duvarı ile ilişkili diğer adhezinler arasında fibronektin bağlayıcı proteinler FnBPA, FnBPB, kollajen bağlayan protein Cna ve fibrinojen bağlayan proteinler kümeleştirici faktör A ve B yer almaktadır (48). *S. aureus* hücreleri, kemik sialoproteinini bağlayan protein Bbp, biyofilm ilişkili protein Bap, elastin bağlayan protein EbpS gibi adhezinlere de sahiptir (48).

S. aureus suşlarınca sentezlenen protein A (SpA) koagülaz negatif stafilokoklarda bulunmamaktadır ve IgG₃ hariç tüm IgG ve IgA₂ ile bazı IgM moleküllerinin Fc kısmını bağlama özelliğine sahiptir (49,51,53,54,55). Bu özellik sayesinde *S. aureus* hücreleri konağın antikor aracılı immün yanıtından korunmaktadır (49,51,53).

S. aureus suşlarında bağlı (kümeleştirici faktör :CF) ve serbest olmak üzere iki tip koagülaz bulunmaktadır (53,55). Serbest koagülaz, plazmada bulunan koagülazla reaksiyona giren faktör (CRF) ile etkileşerek trombine benzer bir faktör olan stafilotrombini oluşturmaktadır (49,53,55). Bu faktör, fibrinojenin fibrine dönüşmesini sağlayarak pıhtılaşmaya neden olmaktadır (53,55). Kümeleştirici faktör ise CRF'e gereksinim duymadan doğrudan fibrinojene bağlanarak fibrinojeni çözülmeven fibrine dönüştürmektedir (53). Her ne kadar koagülazın bir virulans faktörü olduğuna ilişkin doğrudan bir kanıt olmasa da lokalize pıhtılaşmaya neden olarak plazma pıhtısı içinde kalan bakterilerin fagositozdan korunmasını sağladığı düşünülmektedir (49,53).

Tüm stafilokoklar hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştüren katalaz enzimini üretmektedirler (49,53,54). Hidrojen peroksit toksiktir ve bakteri metabolizması sırasında veya fagositozun ardından açığa çıkmaktadır (53). Katalaz enziminin bakterinin polimorf nüveli lökositler (PNL)'in öldürücü etkisinden korunmasını sağlayarak virulansa katkıda bulunduğu düşünülmektedir (49).

S. aureus suşlarının %90'dan fazlası hiyaluronidaz enzimini üretmektedir (53,55). Bu enzim bağ dokusunun asellüler matriksinde bulunan hiyaluronik asitler ve asidik mukopolisakkaritleri parçalayarak bakterinin dokularda yayılmasını kolaylaştırmaktadır (53,54,55)

Stafilokinaz da denilen fibrinolizin hemen hemen her *S. aureus* suşu tarafından üretilmektedir (49,53). Stafilokinazın plazminojen ile oluşturduğu kompleks plazmin benzeri proteolitik aktiviteye sahiptir ve fibrini eriterek bakterinin dokular arasında yayılmasını sağlamaktadır (48,49,53,54).

Tüm *S. aureus* suşları birçok farklı lipazlar üretmektedirler (53). Lipidleri hidrolize eden lipazlar stafilokokların vücudun yağlı bölgelerinde hayatta kalmaları için gerekmektedir (53,55). Bu enzimlerin stafilokokların kutanöz ve subkutanöz dokulara yerleşmesi için ve yüzeysel deri infeksiyonları (örn. frunkül, karbunkül) oluşturmaları için gerekli oldukları düşünülmektedir (53).

S. aureus suşlarının koagülaz negatif stafilokoklardan ayırt edilmesinde kullanılan bir diğer özelliği ısıya dirençli nükleaz üretmeleridir (53,55). *S. aureus* hariç diğer bazı stafilokok türleri tarafından da üretilen bu enzimin infeksiyon patogenezindeki rolü bilinmemektedir (53).

S. aureus suşları beş sitolitik veya hücre membranına hasar veren toksin (alfa, beta, delta, gamma ve Panton-Valentine [P-V] lökosidin), haşlanmış deri sendromu etkeni olarak izole edilen suşlar iki eksfoliatif toksin (A ve B), besin zehirlenmesi etkeni suşlar sekiz enterotoksin (A-E, G-I), ve toksik şok sendromu etkeni suşlar toksik şok sendromu toksin-1 (TŞST-1) üretiler (53).

2.2.2. Antibiyotiklere duyarlılık özellikleri

1940'lı yılların başlarında penisilin *S. aureus* infeksiyonlarının tedavisinde başarı ile kullanılmıştır ancak penisilinlere direnç çok hızlı bir şekilde ortaya çıkmış ve penisiline dirençli suşlar yaygınlaşmıştır (48,55). Günümüzde penisiline duyarlı suşlar %10'dan daha az oranda izole edilmektedir (53,54). Penisiline direnç, penisilin beta-laktam halkasını parçalayarak antibiyotiği inaktive eden penisilnaz (beta-laktamaz) denilen bir enzimin üretilmesiyle ortaya çıkmaktadır ve bu enzim *S. aureus* suşlarının %90'ı tarafından üretilmektedir (53,54). Bu enzimi kodlayan genler plazmitte taşınmakta ve böylelikle direnç stafilokok suşları arasında kolaylıkla ve hızlıca yaygınlaşmaktadır (53). Penisiline dirençli suşların bu kadar hızlı ortaya çıkması ve yaygınlaşması nedeniyle penisilinaze dirençli metisilin gibi yarı sentetik penisilinler üretilmeye başlanmıştır (56). Fakat, 1961 yılında metisilin tedavisi amaçlı kullanılmaya başlanmasıyla birlikte aynı yıl metisiline dirençli *S. aureus* suşlarının etken olduğu infeksiyonlar bildirilmiştir ve *S. aureus* suşlarında metisiline ve beta-laktamazlara dirençli diğer yarı sentetik penisilinlere direnç yaygınlaşmıştır (48,56,57,58). 1980'li yıllarda metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları hastanelerde problemlere yol açmıştır ve günümüzde de tüm hastanelerde MRSA suşları ciddi problem oluşturmaktadır (50). Kim ve arkadaşlarının (59) çalışmasında haziran 1999 ile ocak 2001 tarihleri arasında klinik örneklerden izole edilen toplam 682 *S. aureus* suşunun %64'ünün metisiline dirençli olduğu ve metisiline dirençli suşlarının çoğunun birden fazla antibiyotiğe direnç gösterdiği bildirilmiştir. Hem metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) hem de metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları arasında penisiline direnç yüksek oranda (sırasıyla %90,1 ve %100) belirlenmiştir. MSSA suşlarının diğer beta laktam antibiyotiklere (sefazolin, sefuroksim, sefotaksim) genellikle duyarlı (direnç oranları sırasıyla %0, %2,1, %2,9), MRSA suşlarının ise yüksek oranda dirençli (direnç oranları sırasıyla % 97,8, %99,6, %99,5) olduğu saptanan bu çalışmada incelen tüm *S. aureus* suşları vankomisin, teikoplanin ve linezolidde duyarlı bulunmuşlardır (59).

Beşyüzaltısı toplumdan edinilmiş infeksiyonlardan, 68'i nozokomiyal infeksiyonlardan toplam 574 *S. aureus* suşunun antimikrobiyal maddelere duyarlılıklarının araştırıldığı bir çalışmada suşların %6,27'sinin metisiline dirençli olduğu ve metisilin direnci bakımından toplumdan edinilmiş infeksiyonlardan izole edilen suşlar (%6,5) ile nozokomiyal infeksiyonlardan izole edilen suşlar (%4,4) arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Birçok MRSA suşunun çoğul

antibiyotik direnci gösterdiği belirtilmiştir. Tetrasiklin (MRSA suşlarında %75, MSSA suşlarında %54,6), ko-trimoksazol (MRSA suşlarında 38,9, MSSA suşlarında %14,9) ve eritromisin (MRSA suşlarında %33,3, MSSA suşlarında %12,8) direncinin yaygın olduğu ve izole edilen suşlarda glikopeptid direncine rastlanmadığı bildirilmiştir (60).

Asya-Pasifik bölgesinde sekiz ülkede 2003-2004 yılları arasında SENTRY Antimikrobiyal Sürveyans Programı kapsamında izole edilen 1257 *S. aureus* suşunun %38,2'sinin oksasiline dirençli olduğu saptanmıştır. Oksasiline duyarlı *S. aureus* suşları denenen antibiyotiklere genellikle duyarlı bulunmuş, en yüksek direnç oranı %13,2 ile eritromisin için saptanmıştır. Oksasiline dirençli suşlarda en yüksek direnç oranı %92,7 ile eritromisinde saptanmış ve %83,9 ile levofloksasin, %64,6 ile tetrasiklin, %64,4 ile klindamisin ve %33,7 ile ko-trimoksazol direnç oranları bakımından eritromisini takip etmiştir. Daptomisin MRSA ve vankomisinw orta seviyede heterojen direnç gösteren *S. aureus* (hVISA) suşları dahil olmak üzere *S. aureus* suşlarına karşı çok etkili olduğu saptanmıştır (61).

Glikopeptid antibiyotikler vankomisin ve teikoplanin hücre duvarı sentezinin transglikolizasyon ve transpeptidasyon basamaklarını engellemektedirler (48). Vankomisin MRSA suşlarının etken olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (48,57). *S. aureus* suşları vankomisin direnci bakımından üç kategori altında toplanmıştır (48) :Vankomisine orta seviyede direnç gösteren *S. aureus* (VISA) suşları, vankomisine orta seviyede heterojen direnç gösteren *S. aureus* (hVISA) suşları ve vankomisine dirençli *S. aureus* (VRSA) suşları (48).

İlk kez 1996 yılında Japonya'da vankomisine orta seviyede direnç gösteren bir *S. aureus* suşu izole edilmiştir (48,57). 2003-2004 yılları arasında İsrail'de Maor ve arkadaşları (62) tarafından 264 hastanın kan kültürlerinden izole edilen MRSA suşlarının %6'sını hVISA olarak tanımlamışlardır (62). Sancak ve arkadaşlarının (63) çalışmasında 1998-2001 yılları arasında klinik örneklerden izole edilen 256 MRSA suşunun 46'sının hVISA olduğu saptanmış ve hVISA prevalansının 1998'de %1,6'dan 2001 yılında %36'ya yükseldiği belirtilmiştir (63). İlk VRSA suşu 2002 temmuzunda Michigan'dan bildirilmiştir (48,64). 2002 yılından bugüne ABD'de yedi VRSA suşu bildirilmiştir (64). Vankomisin beta laktam antibiyotiklerle karşılaştırıldığında stafilokoklara karşı daha az etkili bir antibiyotiktir (57). Endokardit olgularında tedavide

başarısızlık oranı vankomisin için %10-20 iken beta laktamlarda bu oran %5-10'dur (57).

Florokinolonlara direncin çok hızlı gelişmesi ciddi *S. aureus* infeksiyonlarında bu ilaçların tek başlarına kullanılmalarını sınırlamaktadır (57).

Gentamisin, netilmisin ve tobramisin stafilokoklara karşı en etkili aminoglikozitlerdendir. Direnç sorunu nedeniyle tedavide tek başlarına kullanılmamaktadırlar. Metisiline dirençli bir çok *S. aureus* suşu aminoglikozidleri modifiye eden enzimler üretmektedirler ve böylelikle aminoglikozidlere de direnç göstermektedirler (57,65,66).

2.3. Bakteriler ve hormonlar

Yaklaşık 80 yıl önce ilk kez epinefrinin saflaştırılması ile endokrinolojide yeni bir çağ başlamıştır. 1920'lerin sonlarında epinefrinin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaya başlanmasının hemen ardından epinefrin kullanımıyla ilişkili sepsis vakaları bildirilmiştir. Bu konuyu araştıran çalışmalarda sepsis gelişimi, epinefrin uygulaması sırasında kullanılan cam enjektörlerin kontaminasyonuna bağlanmıştır; ancak, infeksiyon etkeninin infeksiyöz dozunun epinefrin tedavisi uygulanan hastalarda daha düşük olması bu durumun basit bir kontaminasyonla açıklanamayacağını göstermiştir. Bu gibi araştırmalar ve deneysel çalışmaların sonuçları hormonların infeksiyon sürecini etkileyebildiğini göstermiş, fakat uzun zaman bu etkinin sadece hormonların immün sistemi baskılamalarından kaynaklandığı düşünülmüştür (2).

Bakteri infeksiyonlarına eşlik eden nörofizyolojik değişikliklerle ilgili bir çok çalışmada elde edilen en çarpıcı gözlem plazma ve doku katekolaminlerinin (özellikle de norepinefrin) seviyelerinin infeksiyon şiddetinin ilerlemesine paralel olarak artması olmuştur (3,4,5,6).

1981'de LeRoith ve arkadaşları (11) *E. coli*'de insulin, 1982'de LeRoith ve arkadaşları (12) *Tetrahymena pyriformis*'de kortikotropin, 1985'de Le Roith ve arkadaşları (13) *Bacillus subtilis*'de ve 1987'de Pan ve arkadaşları (14) *Plasmodium falciparum* 'da somatostatin ve 1986'da Schar ve arkadaşları (15) *Trychophyton mentagrophytes*'de progesteron varlığını göstermişlerdir. Birçok diğer hormon ve ilgili reseptörleri de çeşitli mikroorganizmalarda gösterilmiştir (10); bakterilerin hem hormon

sentezlediğinin hem de hormonlara ait reseptörleri barındırdığının gösterilmesiyle mikrobiyal endokrinoloji kavramı ortaya atılmış ve çalışmalar hızlanmıştır.

Bir zamanlar sadece omurgalılarda varoldukları düşünülen hormonların doğada çok yaygın olduğu (bitki, böcek ve balıklar) bildirilmiştir Bu yaygın dağılım , evrim sürecinde mikroorganizmaların bu hormonlarla karşılaşmaları ve onları tanıma ve sentezleme mekanizmaları geliştirmeleri için çok zamanları olmuş olduğunu göstermektedir (2).

Mikroorganizmaların da hormon sentezleyebilmeleri ve bu hormonlara ait reseptörlere sahip olmaları, mikroorganizmaların konak hormonlardan yararlanabildiklerini ve hormonların, mikroorganizmaların çevrelerini tanımlarında, çevrelerine yanıt oluşturmalarında ve mikroorganizmalar arası haberleşmede rol oynayarak virulans faktörlerinin ekspresyonunda, mikroorganizmaların üreme kinetiklerinde ve ekolojik ilişkilerinde etkili oldukları düşünülmektedir (2).

2.3.1. Katekolaminler

Katekolaminler adrenal medullanın kromaffin hücreleri başta olmak üzere kalp, karaciğer, böbrek, gonad, postganglionik sempatik sinir sisteminin adrenerjik nöronları ve merkezi sinir sisteminde sentezlenmektedir (67). Adrenal medullada sentezlenen katekolaminlerin %80'ini epinefrin, %16'sını norepinefrin ve %4'ünü dopamin oluşturmaktadır (67,68,69). Epinefrin, adrenal medulla dışındaki dokularda sentezlenmezken, norepinefrinin çoğu (%80'i) post ganglionik sinir uçlarında sentezlenir (67).

Katekolaminler (dopamin, norepinefrin, epinefrin) tirozin aminoasidinden türevlenen bileşiklerdir ve organizmanın anormal durumlara karşı uyum sağlamasında etkilidirler (67,68,70). Stres durumlarında sempatik sinir sistemi ve adrenal medulladan oluşan sempatoadrenal sistem adı verilen bir sistem devreye girmektedir (68). Fiziksel aktivite, aşırı soğuk, hipoglisemi, korku ve heyecan gibi duygusal uyarılar bu sistemi uyaran etkenler arasında sayılabilir (68). Vücudun bu gibi stres koşullarına uyum sağlamasında, salınımı uyarılarak etkileri çok hızlı başlayan ancak birkaç dakika gibi, çok kısa bir süre devam eden katekolaminler önemli rol oynamaktadır (68).

2.3.1.1. Katekolaminler ve bakteriler arasındaki ilişkiler

Memelilerde stres durumuna nörofizyolojik yanıt olarak epinefrin (esas olarak böbrek üstü bezinden) ve norepinefrin (başlıca parasempatik sinir sisteminden) salgılanmaktadır (2). İlk kez 1930' yılların başlarında katekolamin stres hormonlarının infeksiyon sürecinde rol oynadıkları öne sürülmüştür (2,71). Stresin, infeksiyon üzerine etkisi yüz yılı aşkın bir süredir bilinmektedir, ancak infeksiyona karşı duyarlılığı hangi mekanizmalarla nasıl değiştirdiği hala tam olarak anlaşılamamıştır (2,72). 1992 yılında katekolaminler gibi stres ile ilişkili nöroendokrin hormonların bakterilerin üremesi üzerine direkt etkisinin ele alındığı ilk çalışmada Gram negatif bakterilerin üreme hızlarının katekolaminlerin varlığında arttığı bildirilmiştir. (16). İlerleyen yıllarda bakterilerin nöroendokrin hormonlara yanıt verdiği fikrinden yola çıkan deneylerle norepinefrinle muamele edilmiş Gram negatif bakterilerin üreme hızlarının ve virulans faktörlerinin ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (2,16,18,19).

1992 yılında ilk kez Lyte ve Ernst (16) tarafından katekolaminlerin bakterilerin üremesi üzerine direkt etkisinin gösterilmesiyle katekolaminlerle bakteriler arasındaki etkileşimin infeksiyon patogenezi direkt etkileyebileceği teorisi ortaya atılmıştır (8,9,71). İlerleyen yıllarda yapılan çalışmalarda katekolaminlerin *Aeromonas hydrophila* (73), *K. pneumoniae* (74) *P. aeruginosa* (74,75), *Y. enterocolitica* (16,71), *S. enterica* (76), *Campylobacter jejuni* (77) *Listeria spp.* (78), *Bordetella* (79) ve *Staphylococcus spp.* (80) dahil olmak üzere birçok Gram pozitif ve Gram negatif bakterinin üremesini stimüle ettiği gösterilmiştir.

Nakano ve arkadaşlarının (81) yaptığı çalışmada serum eklenmiş minimal tuz besiyerinde (SAPI) besiyerinde norepinefrinin *V.parahaemolyticus*, *V.mimicus* türlerinin üremesini teşvik ettiği ve olasılıkla virulansın düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir.

Norepinefrin, epinefrin ve dopaminin bakterilerin üremesini stimüle etmesinin yanı sıra virulans ile ilişki faktörlerin ekspresyonunu ve otoindükleyiciler gibi maddelerin üretimini arttırdığını belirten çalışmalar katekolaminlerin infeksiyon patogeneziinde önemli rol oynayabilecekleri düşündürmüştür (71,73,75,82,83,84,85,86). Cogan ve arkadaşları (77) demirce fakir ortamda norepinefrinin *C.jejuni* suşlarının üreme hızlarını, hareketliliklerini ve Caco-2 hücrelerini invazyonunu arttırdığını göstermişlerdir (77).

2007 yılında Bansal ve arkadaşları (87) tarafından yapılan bir çalışmada epinefrin ve norepinefrinin EHEC suşlarının hareketliliğini, biyofilm oluşturmalarını ve epitel hücrelere adhezyonunu arttırdığı gösterilmiştir.

2001 yılında Neal ve arkadaşlarının (80) yaptıkları bir çalışmada yoğun bakım ünitelerinde sıklıkla kullanılan ilaçların serum içeren minimal besiyerinde (serum-SAPI) *S. epidermidis* suşlarının üremesini etkileyebilme yetenekleri araştırılmış; yoğun bakım ünitelerinde rutin olarak intravenöz infüzyon ile verilen inotropik katekolaminler (epinefrin, dobutamin, dopamin, isoprenalin, norepinefrin) ve katekolamin olmayan diğer bazı ajanların (hidroksikortizon vs) koagülaz negatif stafilokokların üremesini çarpıcı şekilde teşvik ettiği gösterilmiştir (80). 2003 yılında Lyte ve arkadaşlarının (86) çalışmasında da vücuda intravenöz kateterler yoluyla inotropik katekolaminlerin verilmesinin *S. epidermidis* suşlarının üremesini ve biyofilm oluşturmalarını stimüle ettiği bildirilmiştir (86).

1997 yılında Lyte ve Nguyen (7) tarafından yapılan bir çalışmada ilk kez norepinefrinin patojen bir bakteride (*E. coli* O157:H7) genetik değişimleri indüklediği gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında konağın nöroendokrin ortamının infeksiyon etkeninde genetik değişikliklere ve olasılıkla patojenitedeki değişikliklere yol açan çevresel sinyaller olarak rol oynadığı öne sürülmüştür (7).

Norepinefrinin *E. coli* O157:H7 suşlarının virulans ile ilişkili genlerinin ekspresyonuna etkisinin microarray yöntemiyle araştırıldığı bir çalışmada norepinefrinin *stx1*, *stx2*, *eae*, *marB*, LEE ilişkili ve demir metabolizmasında görev alan genlerin ekspresyonunu arttırdığı; bunların yanı sıra norepinefrin muamelesinden sonra demir alımı ile ilişkili transkriptlerinin ekspresyonunun azaldığı ve asit direncinin indüklendiği gösterilmiştir (88).

Katekolaminlerin bakteriler üzerindeki etkileri sadece in vitro ortamda değil aynı zamanda in vivo ortamda ve ex vivo doku sistemleri kullanılarak da incelenmiştir. Deneysel hayvan modelinde kısmi hepatektomi ile stres oluşturulan hayvanlarda, stres oluşumunu izleyerek barsak lümeninde norepinefrin seviyelerinin arttığı ve bu artışla birlikte eş zamanlı olarak deneysel infeksiyon etkeni

P. aeruginosa'nın mukozaya adhezyonunun arttığı gözlenmiştir (89).

Bakterilerin barsak içindeki etkileşimlerini inceleyebilmek için ex vivo doku sistemi kullanılarak yapılan bir çalışmada stres durumunu taklit etmek için enterik sinirlerin norepinefrin veya dopaminle uyarılmasının *E. coli* O157:H7'nin çekum epiteline adheransını arttırdığı ve bu durumun önceden adrenerjik reseptör antagonisti verilmesiyle önlenebileceği gösterilmiş ve katekolaminlerin in vivo etkilerinin araştırıldığı tüm bu çalışmalar konak hormonlarının sadece immun sistemi düzenleyerek değil aynı zamanda direkt infeksiyon sürecini etkileyerek de bu süreçte rol oynadıklarını belirtmiştir (90).

İnsanlarda gastrointestinal sistemde bulunan toplam mikroorganizma popülasyonunun memeli hücrelerinin toplam sayısından fazla olduğu tahmin edilmektedir (91). Enterik sinir sisteminin 100 milyondan fazla nöron içerdiği ve bu nöronlarda yüksek miktarda norepinefrin gibi nöroendokrin hormonların sentezlenip salgılandığı (2) düşünüldüğünde, barsakta yaşayan çok sayı ve çeşitlilikteki mikroorganizmanın normal ekolojilerinin enterik sinir sistemindeki nöronal aktiviteden etkilenip etkilenmediği sorusu akla gelmektedir.

Selektif nörotoksin 6-hidroksi dopaminle (6-OHDA) yapılan bir çalışmada konağın nörofizyolojik durumunun barsak mikroorganizma popülasyonunu ciddi bir şekilde etkilediği gösterilmiştir. Bu nörotoksin norepinefrin içeren adrenerjik sinirlerin yıkımına neden olmaktadır. 6-OHDA uygulamasından 24 saat sonra toplam bakteri sayısının artmasıyla beraber hem çekum hem de mukoza duvarında çoğu *E. coli* olmak üzere Gram negatif bakteri popülasyonunda birkaç kat artış gözlenmiştir. İlk defa bu çalışmada gastrointestinal sistemin nöroendokrin ortamındaki değişikliklerin (nörotoksin uygulamasıyla noradrenalin düzeyinin artması) bakteri florasının normal sayısını ve dağılımını bozduğu in vivo deneylerle gösterilmiştir (92).

Katekolaminlerin in vitro ve in vivo ortamda kommensal ve patojen bakteriler üzerindeki bu etkilerine ek olarak bakteriler arasındaki iletişimin sağlandığı quorum sensing (QS) sistemleri aralığıyla da gen ekspresyonunu düzenledikleri gösterilmiştir. EHEC suşlarında LEE genlerinin, kirpik regulonunun ve toksin (Stx) kodlayan genlerin transkripsyonu QS sistemi aracılığıyla aktive edildiği belirtilmiştir (93,94). QS sistemi *luxS* geninin varlığına bağımlıdır ve yapılan çalışmalarda EHEC suşlarında tüm bu virulans faktörlerinin AI-3 denilen ve sentezi LuxS enzimine bağımlı olan bir otoindükleyici tarafından aktive edildiği gösterilmiştir (93,94). Bu AI-3 QS sisteminin

aynı zamanda memeli hormonları epinefrin/norepinefrin ile alemler arası haberleşmede rol oynadığı belirtilmiştir (95,96). Sperandio ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda bir memeli hormonu olan epinefrinin AI-3'ün yerine geçerek LEE genlerinin transkripsiyonunu, tip III salgılama sistemi (TTSS)'ni aktive ettiği ve HeLa hücrelerinde A/E lezyonlarının oluşmasını sağladığı gösterilmiştir (94,97). QS tarafından kontrol edilen genlerden kirpik genlerinin ekspresyonunun da epinefrin ile indüklediği gösterilmiştir (94). Sperandio ve arkadaşları tarafından yapılan bu çalışmada (94) memeli hormonlarından hem epinefrin hem de norepinefrinin bakterilerin QS sistemi ile etkileşime girerek EHEC suşlarında virulans genlerinin ekspresyonunu düzenledikleri öne sürülmüştür (94,97).

luxS sisteminin bakteriler arasındaki yaygın dağılımı, *luxS* QS sisteminin mikrobiyotik ile konak arasındaki iletişimi sağlamak amacıyla evrimleştiğini, fakat EHEC suşları tarafından virulans genlerinin aktivasyonunda kullanıldığını düşündürmektedir (94). Böylelikle *luxS* sistemi, EHEC suşlarını *luxS* QS sistemine sahip çok sayıda kommensal *E. coli*, *Enterococcus*, *Clostridium* ve *Bacterioides* suşlarının bulunduğu kalın barsağa ulaştığında uyarmaktadır (94). Bu çalışmada elde edilen bulgular, hem AI-3 hem de epinefrinin aynı reseptör tarafından tanındığını göstermektedir (94). Sonrasında yapılan çalışmalarda bu reseptörün bir sensör kinaz olan QseC olduğu ve hem barsak florasının ürettiği AI-3 hem de konağın epinefrin/norepinefrin hormonlarını algıladığı, aynı zamanda α -adrenerjik antagonistlerin bu sinyal moleküllerine QseC yanıtını spesifik olarak engelleyebildikleri gösterilmiştir (95). 2007 yılında Sperandio ve Kendall (96) tarafından yapılan çalışmada EHEC suşlarında LEE ve kirpik ile ilgili genlerin QS mekanizmasıyla düzenlendiği ve bu regülasyonda kommensal barsak florası tarafından üretilen AI-3 ve /veya konak tarafından üretilen epinefrin ve norepinefrin hormonlarının görev aldıkları gösterilmiştir.

Katekolaminlerin böylesi direkt etkileri enfeksiyon sürecine stresin etkisini açıklamakta ve enfeksiyon hastalıklarının patogeneğinde mikrobiyal endokrinolojinin rolünü göstermektedir.

Başka hormonların bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıklarını değiştirdiğini gösteren çalışmaların varlığına karşın, mikroorganizmalar üzerine direkt etkisi ile ilgili birçok çalışma yapılmış olan katekolaminlerin bakterilerin antibiyotiklere

duyarlılıkları özelliklerine etkisi üzerine yapılmış bir araştırmaya tarafımızdan rastlanmamıştır.

Bu bilgiler çıkış noktası olarak alınarak , epinefrin ve norepinefrinin birçok infeksiyon hastalığından etken olarak izole edilen *E. coli* ve *S. aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine olası etkilerinin araştırılması amaçlanmış olan çalışmamızda elde edilecek bulguların e hormonların etkisine ait bilgilere özgün bir katkı sağlanması beklenmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Suşlar

Çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş beş metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) ve beş metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) ve beşi genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üreten on *E. coli* suşu incelenmiştir. Suşlar – 70 °C’de saklanmakta olup deney aşamasında triptik soya agardaki (TSA) 24 saatlik kültürlerinden yararlanılmıştır.

E. coli suşlarının identifikasyonları , deneylerden önce , Gram boyama (Gram negatif çomak) , glikoz, laktoz ve sukroz fermentasyonu (pozitif) , indol üretimi (pozitif), Voges-Proskauer deneyi (negatif) , lizin dekarboksilaz enzimi varlığı (pozitif), üre hidrolizi (negatif), tek karbon kaynağı olarak sitrat kullanımı (negatif) ve hareket (pozitif) özellikleri açısından incelenerek doğrulanmıştır. (98).

E. coli suşlarında GSBL üretimi seftazidim (30 µg), seftazidim/klavulanikasit (30/10 µg) ve sefotaksim (30 µg), sefotaksim/klavulanik asit (30/10 µg) diskleri kullanılarak çift disk sinerji yöntemi ile araştırılmıştır. İlacın zon çapının klavulanik asit ile test edildiğinde tek başına test edilmesine göre beş mm veya daha fazla arttığı suşlarda GSBL üretimi doğrulanmıştır. GSBL üretmediği bilinen *E.coli* ATCC 25922 suşu negatif kontrol olarak kullanılmıştır (99).

S. aureus suşlarının identifikasyonları , Gram boyama (Gram pozitif kok) katalaz enzimi varlığı (pozitif) , sıcaklığa dayanıklı nükleaz enzimi varlığı (pozitif) glikoz veya piruvattan asetoin üretme yetenekleri (pozitif) incelenerek doğrulanmıştır (50,100).

S. aureus suşlarında metisilin direnci 30 µg’lık sefoksitin diskleri kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır ve bu yöntemle inhibisyon zon çapı 19 mm veya daha altında bulunan suşların metisiline dirençli oldukları, 20 mm veya daha geniş inhibisyon zon çapı oluşan suşların ise metisiline duyarlı oldukları doğrulanmıştır. Metisiline duyarlı oldukları bilinen *S. aureus* ATCC 29213 ve *S.aureus* ATCC 25923 suşları negatif kontrol olarak kullanılmıştır (99).

Kontrol suşlar *E.coli* ATCC 25922 (KUEN 108), *S. aureus* ATCC 29213 (KUEN 1516) ve *S.aureus* ATCC 25923 (KUEN 705) İstanbul Tıp Fakültesi

Mikroorganizma ve Kùltür Koleksiyonları Araştırma ve Uygulama Merkezi (KÜKENS)’inden temin edilmiştir.

3.2. Hormonlar

Norepinefrin (Sigma, Almanya) ve epinefrin (Sigma, Almanya) solüsyonları deneylerden 30 dakika önce distile su içerisinde hazırlanmıştır. Deneylerde kullanılmak üzere her hormon için üç farklı konsantrasyonda (0,1 mM, 1mM, 2mM) solüsyonlar hazırlanmıştır.

2 mM’lık epinefrin solüsyonu için 13,332 mg epinefrin 20 ml distile su içerisinde çözöndürölmüştür. Hazırlanan bu solüsyon 0,2 µm por çapı şırınga tipi filtre aracılığıyla steril edilmiştir. 1 mM’lık epinefrin solüsyonu steril distile su ile 2 mM’lık steril epinefrin solüsyonunun 1:1 oranında sulandırılmasıyla elde edilmiştir. 0,1 mM’lık epinefrin solüsyonu ise 1 mM’lık epinefrin solüsyonunun steril distile su ile 10 kat sulandırılmasıyla elde edilmiştir.

2 mM’lık norepinefrin solüsyonu için 13,348 mg norepinefrin 20 ml distile su içerisinde çözöndürölmüştür. Hazırlanan bu solüsyon 0,2 µm por çapı şırınga tipi filtre aracılığıyla steril edildikten sonra yukarıda anlatıldığı gibi sulandırılarak 1 ve 0,1 mM’lık norepinefrin solüsyonları elde edilmiştir.

3.3. Antibiyotikler

Çalışmamızda amikasin (Eczacıbaşı ilaç sanayi, Türkiye), ampisilin/sulbaktam (Fako ilaçları, Türkiye), ko-trimoksazol (Roche, Türkiye), sefotaksim (Eczacıbaşı ilaç sanayi, Türkiye), siprofloksasin (Eczacıbaşı ilaç sanayi, Türkiye), tetrasiklin (Eczacıbaşı ilaç sanayi, Türkiye) ve vankomisin (Sigma, Almanya) kullanılmıştır.

Antimikrobik ilaç stok çözeltileri en az 1000 µg/ml’lik konsantrasyonda veya test edilen konsantrasyonun on katı konsantrasyonda ilaç üreticisinin önerileri dikkate alınarak hazırlanmıştır. Steril stok özeltiiler küçük hacimler halinde eppendorf tüplere paylaştırılarak -70 C’de saklanmıştır. özeltiiler gereksinim olduğunda eritilip aynı gün kullanılmıştır (99).

Her antimikrobik ilaç için denenecek konsantrasyonları Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) tarafından belirtilen sınır değerlere göre belirlenmiştir.

3.4. Antibiyotiklere duyarlılık deneyleri

Suşların hormon varlığında ve yokluğunda antibiyotiklere duyarlılık deneyleri CLSI önerileri doğrultusunda yapılmıştır (99).

3.4.1. Mikrodilüsyon deneyi için inokulum hazırlanması

İnokulum hazırlanmasında doğrudan koloni süspansiyon yöntemi kullanılmıştır. Triptik soya agar besiyerine saf kültürden ekim yapıp 18-24 saatlik inkübasyondan sonra tek düşmüş kolonilerden doğrudan serum fizyolojik içinde süspansiyon yapılmıştır (99).

Süspansiyon yeterli ışıkla üzerinde siyah çizgiler bulunan beyaz bir kart önünde 0,5 Mc Farland tüpü ile karşılaştırılarak 0,5 Mc Farland bulanıklığına eş değer bulanıklığa ayarlanmıştır (99).

3.4.2. Mikrodilüsyon deneyi

Mikroplağın kuyucuklarına 90'ar µl katyonu ayarlanmış Muellen-Hinton sıvı besiyeri dağıtıldıktan sonra ilk kuyucuklara 90'ar µl antimikrobik çözelti ilave edilmiş ve seri dilüsyon yapılmıştır. Pozitif kontrol hariç her kuyucuk 90 µl sıvı besiyeri-antimikrobik çözelti içermiştir, pozitif kontrol kuyucuklarında ise sadece 90 µl sıvı besiyeri koyulmuştur (99).

İnokülasyondan sonra her kuyucukta yaklaşık 5×10^5 CFU/ml olacak şekilde inokulum elde etmek için ayarlanmış inokulum süspansiyonu 15 dakika içinde 1:10 oranında serum fizyolojik içinde sulandırılmıştır. Kontrol minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri bu süspansiyondan 90 µl sıvı besiyeri-antimikrobik çözelti içeren kuyucuklara 5 µl koyularak ve böylece bakterinin son test konsantrasyonu yaklaşık 5×10^4 CFU/kuyucuk olması sağlanarak belirlenmiştir.

Hormon varlığında MİK değerlerinin belirlenmesi için ise serum fizyolojik içinde 1:10 oranında sulandırılmış inokulum süspansiyonu daha önce hazırlanmış olan hormon solüsyonları ile 1:1 oranında karıştırılmıştır. Bu hormon ve bakteri içeren karışımdan 10 µl alınıp 90 µl sıvı besiyeri-antimikrobik çözelti içeren kuyucuklara ilave edilmiştir ve böylece bakterinin son test konsantrasyonunun yine yaklaşık 5×10^4 CFU/kuyucuk olması sağlanmıştır. İnokulum süspansiyonları negatif kontroller hariç her kuyucuğa inoküle edilmiştir (99).

İnoküle edilmiş mikrodilüsyon plakları 35 °C'de 16-20 saat süre ile aerop koşullarda etüvde inkübe edilmiştir. Tüm kültürde aynı inkübasyon sıcaklığının sağlanması için, mikrodilüsyon plakları üst üste dörtten fazla dizilmemiştir (99).

Üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon MİK olarak belirlenmiş ve CLSI'da verilen kriterlere göre duyarlı/ortaduyarlı/dirençli olarak yorumlanmıştır (99).

Her suş için denenen her antibiyotiğin hormonsuz ortamda elde edilen MİK değerleri ile farklı konsantrasyonlarda hormon varlığında elde edilen MİK değerleri karşılaştırılarak hormon varlığının uygulanan bu yöntemle suşların antibiyotiklere duyarlılıklarında herhangi bir değişikliğe neden olup olmadığı değerlendirilmiştir.

3.5. İstatistiksel analiz

Sonuçların istatistiksel değerlendirmeleri Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi yöntemi uyarınca gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Epinefrin ve norepinefrinin *E. coli* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine etkileri

Epinefrin ve norepinefrinin antibiyotiklerin *E. coli* suşları üzerindeki MİK'unda suşa, hormona, hormon konsantrasyonuna ve antibiyotiğe bağlı olarak ya iki kat değişikliğe neden olduğu ya da hiçbir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir (Tablo 4.1). Suşlara ait çeşitli antibiyotiklerin MİK dağılımları, MİK aralıkları ve MİK₉₀ 'ları Tablo 4.2 ve 4.3 'de gösterilmektedir.

Amikasinin MİK₉₀ 'ının 50 µM ve 100 µM epinefrin varlığında iki kat arttığı ve 100 µM epinefrin varlığında amikasinin MİK aralığının 0,5-16'dan 1-16'ya değiştiği saptanmıştır.

Siprofloksasinin MİK aralığının 5 µM, 50 µM ve 100 µM norepinefrin varlığında 0,008-128'den 0,008-256'ya değiştiği belirlenmiştir.

Ampisilin/sulbaktamın MİK aralığının 5 µM, 50 µM ve 100 µM epinefrin varlığında 4/2-1024/512'den 8/4-1024/512'ye değiştiği ; ayrıca MİK₉₀ 'ının 50 µM epinefrin varlığında iki kat arttığı (256/128'den 512/256'ya) bulunmuştur (Tablo 4.3).

Ancak , Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi ile yapılan değerlendirme sonucunda, belirlenen tüm bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (p >0,05).

Tablo 4-1: Epinefrin ve norepinefrin varlığında *E. coli* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıklarında meydana gelen değişiklikler

Suş no	Antibiyotik	Kontrol	Norepinefrin			Epinefrin		
			5 µM	50 µM	100 µM	5 µM	50 µM	100 µM
EC-3	AMK	2	2	2	2	2	4	2
	SAM	4/2	4/2	4/2	4/2	8/4	8/4	8/4
EC-4	AMK	2	2	4	4	2	4	4
EC-6	AMK	1	1	1	1	1	1	2
EC-8	AMK	1	2	2	2	2	2	2
	SAM	32/16	64/32	64/32	64/32	32/16	64/32	32/16
ECG-1	AMK	8	8	8	8	8	16	16
ECG-3	SAM	256/128	256/128	256/128	256/128	256/128	512/256	256/128
	CTX	128	256	256	256	128	256	256
ECG-4	CIP	32	32	64	64	64	64	64
ECG-7	SAM	64/32	64/32	128/64	128/64	64/32	64/32	64/32
ECG-12	CIP	128	256	256	256	128	128	128
EC 25922	AMK	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1
	SXT	0,12/2,28	0,25/4,75	0,25/4,75	0,25/4,75	0,12/2,28	0,12/2,28	0,12/2,28

AMK: Amikasin, SAM: Ampisilin/Sulbaktam, CTX: Sefotaksim, CIP: Siprofloksasin, TET: Tetrasiklin, SXT: Ko-trimoksazol EC: GSBL üretmeyen *E. coli* suşu, ECG: GSBL üreten *E. coli* suşu, EC 25922: *E. coli* ATCC 25922.

Tablo 4-2: *E. coli* suşlarında amikasin, sefotaksim, siprofloksasin ve tetrasiklin için MİK dağılımları, MİK aralıkları ve MİK₉₀ değerleri

Antibiyotik	Ortam	0,008	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	MİK Aralığı	MİK ₉₀
AMK	MHB							1	3	4	2	1							0,5-16	8
	5 µM NE							1	2	5	2	1							0,5-16	8
	50 µM NE							1	2	4	1	2	1						0,5-16	8
	100µM NE							1	2	4	1	2	1						0,5-16	8
	5 µM Epi							1	2	5	2	1							0,5-16	8
	50 µM Epi							1	2	3	2	1	2						0,5-16	16
CTX	100 µM Epi								2	5	1	1	2						1-16	16
	MHB				1						1				4	2	1	2	0,06-512	512
	5 µM NE				1						1				4	1	2	2	0,06-512	512
	50 µM NE				1						1				4	1	2	2	0,06-512	512
	100µM NE				1						1				4	1	2	2	0,06-512	512
	5 µM Epi				1						1				4	2	1	2	0,06-512	512
CIP	50 µM Epi				1						1				4	1	2	2	0,06-512	512
	100 µM Epi				1						1				4	1	2	2	0,06-512	512
	MHB	1						1				1	3	1	1	3			0,008-128	128
	5 µM NE	1						1				1	3	1	1	2	1		0,008-256	128
	50 µM NE	1						1				1	3		2	2	1		0,008-256	128
	100µM NE	1						1				1	3		2	2	1		0,008-256	128
TET	5 µM Epi	1						1				1	3		2	3			0,008-128	128
	50 µM Epi	1						1				1	3		2	3			0,008-128	128
	100 µM Epi	1						1				1	3		2	3			0,008-128	128
	MHB							1				1				4	4	1	0,5-512	256
	5 µM NE							1				1				4	4	1	0,5-512	256
	50 µM NE							1				1				4	4	1	0,5-512	256
TET	100µM NE							1				1				4	4	1	0,5-512	256
	5 µM Epi							1				1				4	4	1	0,5-512	256
	50 µM Epi							1				1				4	4	1	0,5-512	256
	100 µM Epi							1				1				4	4	1	0,5-512	256

AMK: Amikasin, CTX: Sefotaksim, CIP: Siprofloksasin, TET: Tetrasiklin, MHB: Mueller-Hinton buyyon, Epi: epinefrin NE: norepinefrin,

Tablo 4-3: *E. coli* suşlarında amipisilin/sulbaktam için MİK dağılımları, MİK aralıkları ve MİK₉₀ değerleri

Antibiyotik	Ortam	4/2	8/4	16/8	32/16	64/32	128/64	256/128	512/256	1024/512	MİK Aralığı	MİK ₉₀
Ampisilin/Sulbaktam	MHB	1	3		2	2	1	2		1	4/2-1024/512	256/128
	5 µM NE	1	2	1	1	3	1	2		1	4/2-1024/512	256/128
	50 µMNE	1	2	1	1	2	2	2		1	4/2-1024/512	256/128
	100µMNE	1	2	1	1	2	2	2		1	4/2-1024/512	256/128
	5 µM Epi		4		2	2	1	2		1	8/4-1024/512	256/128
	50 µM Epi		4		1	3	1	1	1	1	8/4-1024/512	512/256
	100µMEpi		4		2	2	1	2		1	8/4-1024/512	256/128

MHB: Mueller-Hinton buyyon, Epi: Epinefrin, NE: Norepinefrin

Tablo 4-4: *E. coli* suşlarında ko-trimoksazol için MİK dağılımları, MİK aralıkları ve MİK₉₀ değerleri

Ortam	0,015/0,28	0,03/0,57	0,06/1,14	0,12/2,28	0,25/4,75	0,5/9,5	1/19	2/38	4/76	8/152	16/304	32/608	64/1216	128/2432	256/4864	>256/4864	MİK Aralığı	MİK ₉₀
MHB	1		2	1											3	4	0,015/0,28- >256/4864	>256/4864
5 µM NE	1		2		1										3	4	0,015/0,28- >256/4864	>256/4864
50 µM NE	1		2		1										3	4	0,015/0,28- >256/4864	>256/4864
100µMNE	1		2		1										3	4	0,015/0,28- >256/4864	>256/4864
5 µM Epi	1		2	1											3	4	0,015/0,28- >256/4864	>256/4864
50 µM Epi	1		2	1											3	4	0,015/0,28- >256/4864	>256/4864
100µMEpi	1		2	1											3	4	0,015/0,28- >256/4864	>256/4864

MHB: Mueller-Hinton buyyon, Epi: Epinefrin, NE: Norepinefrin

4.2. Epinefrin ve norepinefrinin *S. aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine etkileri

Epinefrin ve norepinefrinin antibiyotiklerin *S. aureus* suşları için MİK'larında suşa, hormona, hormon konsantrasyonuna ve antibiyotiğe bağlı olarak ya iki kat değişikliğe neden olduğu ya da hiçbir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir (Tablo 4.5).

Amikasin MİK aralığının 5 µM, 50 µM ve 100 µM epinefrin varlığında 1-128'den 1-64'e değiştiği saptanmıştır. Ayrıca MİK₉₀ 'ının 50 µM ve 100 µM epinefrin varlığında iki kat azaldığı (64'den 32'ye düştüğü) bulunmuştur. Siprofloksasin MİK₉₀'ının 50 µM ve 100 µM norepinefrin varlığında 2 kat arttığı (64'ten 128'e) belirlenmiştir (Tablo 4.6)

Ko-trimoksazol MİK aralığı 5 µM, 50 µM ve 100 µM epinefrin varlığında 0,06/1,14-0,25/2,28'den 0,03/0,57'ye değişmiştir (Tablo 4.7).

Ancak , Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi ile yapılan değerlendirme sonucunda belirlenen tüm bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p > 0,05$).

Tablo 4-2: Epinefrin ve norepinefrin varlığında *S. aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıklarında meydana gelen değişiklikler

Suş no	Norepinefrin					Epinefrin		
	Antibiyotik	Kontrol	5 µM	50 µM	100 µM	5 µM	50 µM	100 µM
S-3	AMK	4	4	8	4	4	4	2
	SXT	0,06/1,14	0,06/1,14	0,06/1,14	0,06/1,14	0,03/0,57	0,03/0,57	0,03/0,57
	VAN	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5
S-4	SXT	0,06/1,14	0,06/1,14	0,12/2,28	0,12/2,28	0,06/1,14	0,06/1,14	0,06/1,14
S-7	AMK	2	2	2	1	2	2	2
S-10	VAN	1	0,5	1	0,5	0,5	1	0,5
R-2	CIP	16	16	16	16	16	8	8
	TET	64	64	64	32	64	64	32
R-3	CIP	64	64	64	64	64	32	32
	TET	64	64	128	128	64	64	32
	VAN	1	1	1	1	1	1	0,5
R-4	AMK	64	64	64	64	64	32	32
	SXT	0,12/2,28	0,12/2,28	0,12/2,28	0,12/2,28	0,12/2,28	0,25/4,75	0,25/4,75
	VAN	1	1	1	1	1	0,5	0,5
R-8	AMK	32	32	32	32	32	32	16
R-9	AMK	128	128	128	128	64	64	64
	CIP	64	64	128	128	64	64	64

AMK: Amikasin, CIP: Siprofloksasin, TET: Tetrasiklin, SXT: Ko-trimoksazol VAN: Vankomisin S: MSSA , R: MRSA.

Tablo 4-6: *S. aureus* suşlarında amikasin, siprofloksasin, tetrasiklin, vankomisin için MİK dağılımları, MİK aralıkları ve MİK₉₀ değerleri

Antibiyotik	Ortam	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	MİK Aralığı	MİK ₉₀
AMK	MHB				1	4	1			3	1	1			1-128	64
	5 µM NE				1	4	1			3	1	1			1-128	64
	50 µM NE				1	4	1	1		3	1	1			1-128	64
	100µM NE				2	3	1			3	1	1			1-128	64
	5 µM Epi				1	4	1			3	2				1-64	64
	50 µM Epi				1	4	1			4	1				1-64	32
CIP	100 µM Epi				1	5			1	3	1				1-64	32
	MHB		5	1					1	1	2	1			0,25-128	64
	5 µM NE		5	1					1	1	2	1			0,25-128	64
	50 µM NE		5	1					1	1	1	2			0,25-128	128
	100µM NE		5	1					1	1	1	2			0,25-128	128
	5 µM Epi		5	1					1	1	2	1			0,25-128	64
TET	50 µM Epi		5	1			1			2	1	1			0,25-128	64
	100 µM Epi		5	1			1			2	1	1			0,25-128	64
	MHB	1	4	1							3	2			0,12-128	128
	5 µM NE	1	4	1							3	2			0,12-128	128
	50 µM NE	1	4	1							2	3			0,12-128	128
	100µM NE	1	4	1						1	1	3			0,12-128	128
VAN	5 µM Epi	2	3	1							3	2			0,12-128	128
	50 µM Epi	3	2	1							3	2			0,12-128	128
	100 µM Epi	3	2	1						2	1	2			0,12-128	128
	MHB			6	5										0,5-1	1
	5 µM NE			7	4										0,5-1	1
	50 µM NE			4	7										0,5-1	1
VAN	100µM NE			7	4										0,5-1	1
	5 µM Epi			7	4										0,5-1	1
	50 µM Epi			7	4										0,5-1	1
	100 µM Epi			9	2										0,5-1	1

AMK: Amikasin, CIP: Siprofloksasin, TET: Tetrasiklin, SXT: Ko-trimoksazol VAN: Vankomisin, MHB: Mueller Hinton buyyon, Epi: Epinefrin NE: Norepinefrin.

Tablo 4-7: *S. aureus* suşlarında ko-trimoksazol için MİK dağılımları, MİK aralıkları, MİK₉₀ değerleri

Ortam	0,03/0,57	0,06/1,14	0,12/2,28	0,25/4,75	0,5/9,5	1/19	2/38	MİK Aralığı	MİK ₉₀
MHB		6	1	4				0,06/1,14-0,25/2,28	0,25/2,28
5 µMNE		6	1	4				0,06/1,14-0,25/2,28	0,25/2,28
50 µM NE		5	2	4				0,06/1,14-0,25/2,28	0,25/2,28
100µMNE		5	2	4				0,06/1,14-0,25/2,28	0,25/2,28
5 µM Epi	1	5	1	4				0,03/0,57-0,25/2,28	0,25/2,28
50 µMEpi	1	5		5				0,03/0,57-0,25/2,28	0,25/2,28
100µMEpi	1	5		5				0,03/0,57-0,25/2,28	0,25/2,28

MHB: Mueller Hinton buyyon, Epi: Epinefrin, NE: Norepinefrin

5. TARTIŞMA

Stres (fizyolojik ve/veya psikolojik) durumlarının konağın patojen mikroorganizmalara duyarlılığını etkilediği bilinmektedir (88). Memelilerde stres durumuna nörofizyolojik yanıt olarak salınan epinefrinin ve norepinefrinin bakteriler üzerine direkt etki ederek infeksiyon patogenezi etkileyebilecekleri öne sürülmüştür (2,71).

Katekolaminlerin bakteriler üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalarda katekolaminlerin bakterilerin üremesini stimüle etmesinin yanı sıra norepinefrinin ETEC suşlarının adhezinleri, EHEC suşlarının toksinleri, *S. Typhimurium* suşlarının enterotoksin üretmesi gibi virulans faktörlerinin ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (16,21,73,75,80,84,86,101).

Katekolaminlerin sadece patojen mikroorganizmaları değil normal flora üyelerinin biyolojilerini de etkileyebildikleri gösterilmiştir (92). Selektif nörotoksin 6-hidroksi dopaminle (6-OHDA) yapılan bir çalışmada konağın nörofizyolojik durumunun barsak mikroorganizma popülasyonunun üreme kinetiğini etkilediği gösterilmiştir. Bu nörotoksin norepinefrin içeren adrenerjik sinirlerin yıkımına neden olmaktadır. 6-OHDA uygulamasından 24 saat sonra toplam bakteri sayısının artmasıyla beraber hem çekum hem de mukoza duvarında çoğu *E. coli* olmak üzere Gram negatif bakteri popülasyonunda birkaç kat artış gözlenmiştir (92). İlk defa bu çalışmada gastrointestinal sistemin nöroendokrin ortamındaki değişikliklerin (nörotoksin uygulamasıyla noradrenalin düzeyinin artması) bakteri florasının normal sayısını ve dağılımını bozduğu in vivo deneylerle gösterilmiştir (92).

Katekolaminlerin in vitro ve in vivo ortamda kommensal ve patojen bakteriler üzerindeki bu etkilerine ek olarak bakteriler arasındaki iletişimde anahtar rol oynayan quorum sensing (QS) mekanizmaları aracılığıyla gen ekspresyonunu düzenledikleri gösterilmiştir (93,94,95).

EHEC suşlarında LEE genlerinin, kirpik regülasyonunun ve toksin (Stx) kodlayan genlerin transkripsiyonunun QS sistemi aracılığıyla AI-3 denilen bir otoindükleyici tarafından aktive edildiği ve bir memeli hormonu olan epinefrinin, AI-3'ün yerine geçerek LEE genlerinin transkripsiyonunu başlattığı, tip III salgı sistemini aktive ettiği ve HeLa hücrelerinde A/E lezyonlarının oluşmasını sağladığı gösterilmiştir (94,95).

Sperandio ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptığı çalışmada memeli hormonlarından hem epinefrin hem de norepinefrinin bakterilerin QS sistemi ile etkileşime girerek EHEC suşlarında virulans genlerinin ekspresyonunu düzenledikleri öne sürülmüştür (94).

İnfeksiyon hastalıklarının tedavi sürecinin başarısının temel belirleyicisi mikroorganizmaların antimikrobiyal maddelere duyarlılıklarıdır. Fakat mikroorganizmaların antimikrobiyallere duyarlılıklarının konağın hormonal ortamı da dahil olmak üzere pek çok biyolojik özelliğinin dikkate alınmaksızın belirlenmesi bu in vitro deneylerin en önemli dezavantajıdır. Hormonların bakterilerin üreme kinetiklerini, virulans faktörlerinin ekspresyonunu ve ekolojik ilişkileri etkileyebildiğinin gösterilmesi, hormonların antibiyotiklere duyarlılık özelliklerini de etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Bu düşünceden yola çıkarak yapılmış ulaşabildiğimiz ilk çalışma da Plotkin ve arkadaşlarına aittir. Plotkin ve arkadaşları (23) gerçekleştirilen çalışmaların birinde androjen ve glukokortikoidlerin bakterilerin (*E. faecalis*, *E. coli*, *P. aureginosa*, *S. aureus*) üremesi ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine etkisi araştırılmış, üreme hızının ve antibiyotiklere duyarlılığın suşa, hormona, hormon konsantrasyonu ve antibiyotiğe bağlı olarak hormonlar varlığında değiştiği saptanmıştır; suşların antibiyotiklere duyarlılıklarında meydana gelen değişikliklerin androjen ve glukokortikoidlerin üreme kinetikleri üzerine gösterdikleri etkilerden bağımsız olduğu belirtilmiştir (23).

Plotkin ve arkadaşlarının (102) 2005 yılındaki çalışmasında ise bir androjen olan dihidroepiandrosteronun (DHEA) *S. aureus* suşlarının vankomisine duyarlılıkları üzerine etkisi araştırılmıştır. DHEA'un denenen MSSA suşlarının %42'sinin, MRSA suşlarının %21'inin vankomisin MİK lerinde en az dört kat artışa neden olduğu gösterilmiştir.

Hormonların mikroorganizmaların biyolojik özellikleri üzerine etkisi birçok çalışma ile gösterilmiştir. Fakat bu etkilerin mekanizmaları tam açıklanamıştır. Katekolaminlerin bakterilerin üremelerini stimüle etmesinde katekolaminlerin (özellikle de norepinefrin) serumda transferrine bağlı şekilde bulunan demirin bakteri hücresi içine alınmasına katkıda bulunmasının rolü olduğu belirtilmiştir (1,74,82). Fakat farklı bakteri türlerinin katekolaminlere yanıtlarındaki farklılıklar mekanizmanın tam olarak

anlaşılmasını güçleştirmektedir. Sperandio ve arkadaşları yaptıkları çalışmalar sonucunda bir sensör kinaz olan QseC'nin bakterilerin adrenerjik reseptörü olduğunu ve konak hormonları epinefrin ve norepinefrinin bu reseptör ile etkileşime girerek EHEC suşlarında gen ekspresyonunu düzenledikleri öne sürülmüştür (95). Bununla birlikte Cogan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada norepinefrinin *C. jejuni* suşları üzerindeki etkilerinin hem α - hem de β - adrenerjik reseptör antagonistleriyle engellenememesi *Campylobacter* suşlarında ökaryotik hücrelere benzer bir norepinefrin reseptörü bulunmadığını ortaya koymuştur (77).

Katekolaminlerin bakterilerin birçok özelliği üzerine etkisinin araştırıldığı çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen, antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya tarafımızdan rastlanılmamıştır.

Katekolaminlerden epinefrin ve norepinefrinin *E. coli* ve *S. aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmamızda bu hormonların denen antibiyotiklerin MİK'larında en fazla iki kat değişikliğe neden olduğu saptanmıştır. Bu değişikliklerin istatistiki açıdan anlamlı olmadığı bulunmuştur.

Katekolaminlerin bakterilerin biyolojik özellikleri üzerine yukarıda özetlenen etkilerinin araştırıldığı pek çok çalışmada ,bakterilerin üremesi için gerekli birçok besin maddesi ve serbest demir iyonları bakımından fakir bir besiyeri olan serum temelli minimal besiyeri (serum-SAPI: serum-Standart American Petroleum Institute) kullanılmış olup ayrıca bu çalışmalarda kullanılan inokulum yoğunluğu çok düşüktür (10-100 CFU/ml). Çalışmamızda ise antibiyotiklere duyarlılık deneylerinin standartlarına uygun olarak CLSI tarafından önerilen zengin bir besiyeri olan katyonu ayarlanmış Mueller Hinton buyyon (MHB) kullanılmıştır ve inokulum yoğunluğu da CLSI kriterlerine göre (5×10^5 CFU/ml) belirlenmiştir.

O'Donnell ve arkadaşlarının (74) yaptığı çalışmada katekolaminlerin bakteriler üzerindeki etkisinin gözlenebilmesinde inokulum yoğunluğunun önemli olduğu belirtilmiş ve daha önce yüksek inokulum yoğunluğu kullanılarak yapılan çalışmalarda gözlenemeyen etkilerin düşük inokulum yoğunluğu kullanılarak yapılan deneylerde gözlenebildiği belirtilmiştir.

Bu bağlamda, bu araştırmanın devamı niteliğinde olacak biçimde yeni bir araştırmanın planlanarak MHB kullanılarak önemli değişikliklerin saptanamadığı bu deneylerin katekolaminlerin etkilerinin gösterildiği serum-SAPI besiyerinde yeniden araştırılmasının uygun olacağını; ayrıca in vitro ortamda standart koşullarda yapılan bu deneylerin epinefrin ve norepinefrinin *E. coli* ve *S. aureus* suşlarının etken olduğu infeksiyonların tedavi sürecini etkileyip etkilemediklerinin saptanması için in vivo çalışmalar ile desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Freestone PP, Lyte M, Neal CP, Maggs AF, Haigh RD and Williams PH. The mamalian neuroendocrine hormone norepinephrine supplies iron for bacterial growth in the presence of transferrin or lactoferrin. *J Bacteriol* 2000;**21**:6091-6098.
2. Lyte M. Microbial endocrinology and infectious disease in the 21st century. *Trends Microbiol* 2004;**1**:14-19
3. Groves AC, Griffiths J, Leung F, Meek RN. Plasma catecholamines in patients with serious postoperative infection. *Ann Surg* 1973;**178**: 102-107.
4. Benedict CR, Grahame-Smith DG. Plasma noradrenalin and adrenalin concentrations and dopamine-beta-hydroxylase activity in patients with shock due to septicemia, trauma and haemorrhage. *Q J Med* 1978; **47**: 1-20.
5. Kovarik MF, Jones SB, Romano FD. Plasma catecholamines following cecal ligation and puncture in rat. *Circ. Shock* 1987;**22**:281-90.
6. Jones SB, Westfall MV, Sayeed M. Plasma catecholamines during *E.coli* bacteremia in conscious rats. *Am J Physiol* 1988; **254**: R470-R477.
7. Lyte M, Nguyen KT. Alteration of *Escherichia coli* O157:H7 growth and molecular fingerprint by the neuroendocrine hormone noradrenaline. *Microbios* 1997; **89**:197-213.
8. Lyte M. Role of catecholamines in Gram-negative sepsis. *Med Hypotheses* 1992;**37**:255-8.
9. Lyte M. The role of microbial endocrinology in infectious disease. *J Endocrinol* 1993; **137**: 343-5.
10. Lenard J. Mamalian hormones in microbial cells. *Trends Biochem Sci* 1992; **17**: 147-150.
11. LeRoith D, Shiloach J, Roth J, Lesniak MA. Insulin or a closely related molecule is native to *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 1981; **256**:6533-6536.

12. LeRoith D, Liotta AS, Roth J, Shiloach J, Lewis ME, Pert CB and Krieger D. Corticotropin and β -endorphine-like materials are native to unicellular organisms. *PNAS* 1982; **79**: 2086-2090.
13. LeRoith D, Pickens W, Vinik AI and Shiloach J. *Bacillus subtilis* contains multiple forms of somatostatin-like material. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; **127**: 713-719.
14. Pan JX, Mikkelsen RB, Wallach DF, Asher CR. Synthesis of a somatostatin-like peptide by *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol* 1987; **25**: 107-111.
15. Schar G, Stover EP, Clemons KV, Feldman D, Stevens DA. Progesteron binding and inhibition of growth in *Trichophyton mentagrophytes*. *Infect Immun* 1986;**52**: 763-767.
16. Lyte M, Ernst S. Catecholamine induced growth of Gram negative bacteria. *Life Sci* 1992; **50**:203-212.
17. Frestone PPE, Haigh RD, Lyte M. Specificity of catecholamine-induced growth an *Escherichia coli* O157:H7, Salmonella enterica and Yersinia enterocolitica. *FEMS Microbiol Lett* 2007;**269**:221-8.
18. Lyte M, Ernst S. Alpha and beta adrenergic receptor involvement in catecholamine-induced growth of Gram-negative bacteria. *Biochem Biophys Rs Commun* 1993;**190**:447-452.
19. Lyte M, Frank CD, Green BT. Production of an autoinducer of growth by norepinephrine cultured *E.coli* O157:H7. *FEMS Microbiol Lett* 1996; **139**:155-159.
20. Lyte M, Arulanandam BP, Frank CD. Production of Shiga-like toxins by *Escherichia coli* O157:H7 can be influenced by the neuroendocrine hormone norepinephrine. *J Lab Clin Med* 1996;**128** :392-398
21. Rahman H, Reissbrodt R, Tschape H. Effect of norepinephrine on growth of *Salmonella* and its enterotoxin production. *Indian J Exp Biol* 2000; **38**: 285–286.
22. Plotkin BJ, Viselli SM. Effect of insulin on microbial growth. *Curr Microbiol* 2000; **41**: 60-64.

23. Plotkin BJ, Roose RJ, Erickson Q, Viselli SM. Effect of androgens and glucocorticoids on microbial growth and antimicrobial susceptibility. *Curr Microbiol* 2003; **47**: 514-520.
24. Baylis CL, Penn CW, Thielman NM, Guerrant RL, Jenkins C, Gillespie SH. *Escherichia coli* and *Shigella spp.* İçinde Gillespie SH, Hawkey PM editörler. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*. 2nd Ed West Sussex, England:Wiley; 2006. pp 347-367.
25. Enteric Gram-Negative Rods (*Enterobacteriaceae*). İçinde Brooks GF, Butel JS, Morse SA, editörler. *Medical Microbiology*. 22nd ed USA: McGraw-Hill;2001. pp 217-228.
26. Puente JL, Brettfinlay B. Pathogenic *E.coli*. İçinde Groisman EA, editör. *Principles of Bacterial Pathogenesis*. California: Academic Press; 2001. pp 388-428.
27. Enterik Gram negatif çomaklar. İçinde Harvey RA, Champe PA editörler. *Mikrobiyoloji*. Çev. editör Anđ Ö. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2006. pp 175-190.
28. Hacker J, Blum-Oehler G, Janke B, Nagy G, Goebel W. Pathogenicity Islands of Extraintestinal *Escherichia coli*. İçinde Kaper JB, Hacker J, editörler. *Pathogenicity Islands and Other Mobile Virulence Elements*. Washington DC: ASM Press; 1999. pp 59-76.
29. Rozenberg-Arska M, Visser MR. *Enterobacteriaceae*. İçinde Armstrong D, Cohen J, editörler. *Infectious Disease*. Mosby: Barcelona; 1999. pp 8/17.1-8/17.11.
30. Johnson J. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev* 1991; **4**: 80-128.
31. Kayser FH. *Escherichia coli*. İçinde Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM, editörler. *Medical Microbiology*. Newyork: Thieme; 2005. pp 292-295.
32. Orskov F, Orskov I. *Escherichia coli*, serotyping and disease in man and animals. *Can J Microbiol* 1992; **38**: 669-704.

33. *Enterobacteriaceae*. İçinde Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, editörler. *Medical Microbiology* 5th ed Pennsylvania: Elsevier Mosby; 2005. pp 323-338.
34. Kaper JB, Mellies JL, Nataro JP. Pathogenicity Islands and Other Mobile Genetic Elements of Diarrheagenic *Escherichia coli*. İçinde Kaper JB, Hacker J, editörler. *Pathogenicity Islands and Other Mobile Virulence Elements*. Washington DC: ASM Press; 1999. pp 33-58.
35. Bopp CA, Brenner FW, Fields PI, Wells JG, Stockbine NA. *Escherichia, Shigella, and Salmonella*. İçinde : Murray PR, Baron EJ. Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover MC, editörler. *Manual of Clinical Microbiology* 8th Ed. Vol. 2. Washington DC: ASM Press; 2003 pp.654-671.
36. Kayser FH. *Enterobacteriaceae*. İçinde Kayser FH, Bienz JE, Lindenmann J, editörler. *Tıbbi Mikrobiyoloji. Çevirenler Anđ-Küçüker A, Tümbay E, Anđ Ö*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1997. pp 197-216.
37. Vila J, Vargas M, Casals C, Urassa H, Mshinda H, Schellemborg D, Gascon J. Antimicrobial resistance of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from children under the age of 5 years from Ifakara, Tanzania. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; **43**:3022-4.
38. Sang WK, Oundo JO, Mwituria JK, Waiyaki PG, Yoh M, Iida T, Honda T. Multidrug-resistant enteroaggregative *Escherichia coli* associated with persistent diarrhea in Kenyan children. *Emerg Infect Dis* 1997;**3**:373-4
39. Sobieszczańska B, Kowalska-Krochmal B, Mowszet K, Pytrus T. Susceptibility to antimicrobial agents of enteroaggregative *Escherichia coli* strains isolated from children with diarrhea. *Przegl Epidemiol* 2003;**57**:499-503.
40. Chomvarin C, Ratchtrachenchai OA, Chantarasuk Y, Srigulbutr S, Chaicumpar K, Namwat W, Kotimanusvanij D. Characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from food in Khon Kaen, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005 Jul;**36**:931-9.
41. Kahlmeter G; ECO.SENS. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project. *J Antimicrob Chemother* 2003; **51**:69-76

42. Erb A, Stürmer T, Marre R, Brenner H. Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli*: overview of geographical, temporal, and methodological variations. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007;**26**:83-90
43. Stratchounski LS, Rafalski VV. Antimicrobial susceptibility of pathogens isolated from adult patients with uncomplicated community-acquired urinary tract infections in the Russian Federation: two multicentre studies, UTIAP-1 and UTIAP-2. *Int J Antimicrob Agents* 2006;**28** Suppl 1:S4-9.
44. Akram M, Shahid M, Khan AU. Etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in J N M C Hospital Aligarh, India. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2007: **23**;6:4.
45. Mehrgan H, Rahbar M. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in a tertiary care hospital in Tehran, Iran *Int J Antimicrob Agents* 2007 doi:10.1016/j.ijantimicag.2007.09.008
46. Romero ED, Padilla TP, Hernández AH, Grande RP, Vázquez MF, García IG, García-Rodríguez JA, Muñoz Bellido JL. Prevalence of clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* producing multiple extended-spectrum beta-lactamases. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007 ;**59**:433-7
47. Bell JM, Turnidge JD, Gales AC, Pfaller MA, Jones RN; Sentry APAC Study Group. Prevalence of extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region and South Africa: regional results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998-99). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;**42**:193-8
48. Peacock S. *Staphylococcus aureus*. İçinde Gillespie SH, Hawkey PM, editörler. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*. 2nd Ed West Sussex, England:Wiley; 2006. pp 73-99.
49. Verhoef J, Schmitz FJ. *Staphylococci and Other Micrococcaceae*. İçinde Armstrong D, Cohen J, editörler. *Infectious Disease*. Barcelona: Mosby; 1999.pp 8/13.1-8/13.11

50. Bannerman TL. *Staphylococcus, Micrococcus* and other catalase postive cocci that grow aerobically İçinde : Murray PR, Baron EJ. Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, editörler. *Manual of Clinical Microbiology* 8th Ed. Vol.2. Washington DC: ASM Press; 2003 pp.384-403.
51. Stafilokokklar. İçinde Harvey RA, Champe PA editörler. *Mikrobiyoloji*. Çev. editör Anđ Ö. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2006. pp 137-144.
52. Kayser FH. *Staphylococcus*. İçinde Kayser FH, Bienz JE, Lindenmann J, editörler. *Tıbbi Mikrobiyoloji*. Çevirenler Anđ-Küçüker A, Tümbay E, Anđ Ö. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1997. pp 152-157.
53. *Staphylococcus* and Related Organisms. İçinde Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, editörler. *Medical Microbiology* 5th ed Pennsylvania: Elsevier Mosby; 2005. pp 323-338.
54. The Staphylococci. İçinde Brooks GF, Butel JS, Morse SA, editörler. *Medical Microbiology*. USA: McGraw-Hill; 2001. pp. 197-202.
55. Cengiz TA. *Staphylococcus*. İçinde Ustaçelebi Ş, editör. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. pp 339-348.
56. Felten A, Grandry B, Lagrange PH, Casin I. Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 system, and the MRSA-screen latex agglutination test. *J Clin Microbiol* 2002;**40**: 2766-71.
57. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 1997;**10**:781-91.
58. Cohen PR. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections: a review of epidemiology, clinical features, management, and prevention. *Int J Dermatol* 2007 ;**46**:1-11
59. Kim HB, Jang HC, Nam HJ, Lee YS, Kim BS, Park WB ve ark. In vitro activities of 28 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolates from tertiary-care hospitals in Korea: a nationwide survey. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;**48**:1124-7.

60. Randrianirina F, Soares JL, Ratsima E, Carod JF, Combe P, Grosjean P, Richard V, Talarmin A. In vitro activities of 18 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolates from the Institut Pasteur of Madagascar. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2007 23;6:5
61. Biedenbach DJ, Bell JM, Sader HS, Fritsche TR, Jones RN, Turnidge JD. Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacterial isolates from the Asia-Pacific region and an in vitro evaluation of the bactericidal activity of daptomycin, vancomycin, and teicoplanin: a SENTRY Program Report (2003-2004). *Int J Antimicrob Agents* 2007 ;30:143-9.
62. Maor Y, Rahav G, Belausov N, Ben-David D, Smollan G, Keller N. Prevalence and characteristics of heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* bacteremia in a tertiary care center. *J Clin Microbiol* 2007;45:1511-4.
63. Sancak B, Ercis S, Menemenlioglu D, Colakoglu S, Haşcelik G. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin in a Turkish university hospital. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:519-23.
64. Appelbaum pc. Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents* 2007;30:398-408
65. Pantosti A, Sanchini A, Monaco M. Mechanisms of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Future Microbiol* 2007 ;2:323-34.
66. Barada K, Hanaki H, Ikeda S, Yamaguchi Y, Akama H, Nakae T, Inamatsu T, Sunakawa K. Trends in the gentamicin and arbekacin susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and the genes encoding aminoglycoside-modifying enzymes. *J Infect Chemother* 2007 ;13:74-8.
67. Ömer B. Protein Yapılı ve Aminoasit Türevi Hormonlar. İçinde Gürdol F, Ademoğlu E editörler. *Biyokimya*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2006
68. Ersöz B. Adrenal Hormonlar. İçinde Onat T, Emerk K, Sözmen EY. *İnsan Biyokimyası*. Ankara: Palme yayıncılık;2002. pp. 478-481.

69. Montgomery R, Conway TW, Spector AA. Moleküler endokrinoloji: Hücre yzeyinde etki gösteren hormonlar. İçinde Montgomery R, Conway TW, Spector AA editörler. Altan N, çevriri editör. *Biyokimya Olgu Sunumlu Yaklaşım* 6ncı baskıdan çeviri. Ankara: Palme yayıncılık; 2000. pp 574-577.
70. Freestone PP, Haigh RD, Lyte M. Blockade of catecholamine-induced growth by adrenergic and dopaminergic receptor antagonists in *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica*. *BMC Microbiol* 2007;**7**:8.
71. Freestone PP, Haigh RD, Lyte M. Specificity of catecholamine-induced growth in *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica*. *FEMS Microbiol Lett* 2007;**269**:221-8.
72. Peterson PK, Chao CC, Molitor T, Murtaugh M, Strgar F, Sharp BM. Stress and pathogenesis of infectious disease. *Rev Infect Dis* 1991;**13**:710-20.
73. Kinney KS, Austin CE, Morton DS, Sonnenfeld G. Catecholamine enhancement of *Aeromonas hydrophila* growth. *Microb Pathog* 1999;**26**:85-91.
74. O'Donnell PM, Aviles H, Lyte M, Sonnenfeld G. Enhancement of in vitro growth of pathogenic bacteria by norepinephrine: importance of inoculum density and role of transferrin. *Appl Environ Microbiol* 2006;**72**:5097-9.
75. Belay T, Sonnenfeld G. Differential effects of catecholamines on in vitro growth of pathogenic bacteria. *Life Sci* 2002 14;**71**:447-56.
76. Bailey MT, Karaszewski JW, Lubach GR, Coe CL, Lyte M. In vivo adaptation of attenuated *Salmonella typhimurium* results in increased growth upon exposure to norepinephrine. *Physiol Behav* 1999;**67**:359-64.
77. Cogan TA, Thomas AO, Rees LE, Taylor AH, Jepson MA, Williams PH, Ketley J, Humphrey TJ. Norepinephrine increases the pathogenic potential of *Campylobacter jejuni*. *Gut* 2007;**56**:1060-5.
78. Coulanges V, Andre P, Vidon DJ. Effect of siderophores, catecholamines, and catechol compounds on *Listeria spp.* Growth in iron-complexed medium. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;**249**:526-30.

79. Anderson MT, Armstrong SK. The *Bordetella bfe* system: growth and transcriptional response to siderophores, catechols, and neuroendocrine catecholamines. *J Bacteriol* 2006;**188**:5731-40.
80. Neal CP, Freestone PP, Maggs AF, Haigh RD, Williams PH, Lyte M. Catecholamine inotropes as growth factors for *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative staphylococci. *FEMS Microbiol Lett* 2001;**194**:163-9.
81. Nakano M, Takahashi A, Sakai Y, Kawano M, Harada N, Mawatari K, Nakaya Y. Catecholamine-induced stimulation of growth in *Vibrio* species. *Lett Appl Microbiol* 2007;**44**:649-53
82. Freestone PP, Haigh RD, Williams PH, Lyte M. Stimulation of bacterial growth by heat-stable, norepinephrine-induced autoinducers. *FEMS Microbiol Lett* 1999;**172**:53-60.
83. Freestone PP, Williams PH, Haigh RD, Maggs AF, Neal CP, Lyte M. Growth stimulation of intestinal commensal *Escherichia coli* by catecholamines: a possible contributory factor in trauma-induced sepsis. *Shock* 2002;**18**:465-70.
84. Kinney KS, Austin CE, Morton DS, Sonnenfeld G. Norepinephrine as a growth stimulating factor in bacteria-mechanistic studies. *Life Sci* 2000;**67**:3075-85.
85. Reissbrodt R, Rienaeker I, Romanova JM, Freestone PP, Haigh RD, Lyte M, Tschäpe H, Williams PH. Resuscitation of *Salmonella enterica* serovar typhimurium and enterohemorrhagic *Escherichia coli* from the viable but nonculturable state by heat-stable enterobacterial autoinducer. *Appl Environ Microbiol* 2002;**68**:4788-94.
86. Lyte M, Freestone PP, Neal CP, Olson BA, Haigh RD, Bayston R, Williams PH. Stimulation of *Staphylococcus epidermidis* growth and biofilm formation by catecholamine inotropes. *Lancet* 2003;**361**:130-5.
87. Bansal T, Englert D, Lee J, Hegde M, Wood TK, Jayaraman A. Differential effects of epinephrine, norepinephrine, and indole on *Escherichia coli* O157:H7 chemotaxis, colonization, and gene expression. *Infect Immun* 2007;**75**:4597-607.

88. Dowd SE. *Escherichia coli* O157:H7 gene expression in the presence of catecholamine norepinephrine. *FEMS Microbiol Lett* 2007;**273**:214-23.
89. Alverdy J, Holbrook C, Rocha F, Seiden L, Wu RL, Musch M, Chang E, Ohman D, Suh S. Gut-derived sepsis occurs when the right pathogen with the right virulence genes meets the right host: evidence for in vivo virulence expression in *Pseudomonas aeruginosa*. *Ann Surg* 2000;**232**:480-9.
90. Chen C, Brown DR, Xie Y, Green BT, Lyte M. Catecholamines modulate *Escherichia coli* O157:H7 adherence to murine cecal mucosa. *Shock* 2003;**20**:183-8.
91. Berg RD. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol* 1996;**4**:430-5.
92. Lyte M, Bailey MT. Neuroendocrine-bacterial interactions in a neurotoxin-induced model of trauma. *J Surg Res* 1997;**70**:195-201.
93. Clarke MB, Sperandio V. Transcriptional autoregulation by quorum sensing *Escherichia coli* regulators B and C (QseBC) in enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC). *Mol Microbiol* 2005;**58**:441-55.
94. Sperandio V, Torres AG, Jarvis B, Nataro JP, Kaper JB. Bacteria-host communication: the language of hormones. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;**100**:8951-6
95. Clarke MB, Hughes DT, Zhu C, Boedeker EC, Sperandio V. The QseC sensor kinase: a bacterial adrenergic receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;**103**:10420-5.
96. Kendall MM, Sperandio V. Quorum sensing by enteric pathogens. *Curr Opin Gastroenterol* 2007 ;**23**:10-5.
97. Walters M, Sperandio V. Autoinducer 3 and epinephrine signaling in the kinetics of locus of enterocyte effacement gene expression in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 2006;**74**:5445-55.

98. Farmer JJ. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. İçinde : Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, editörler. *Manual of Clinical Microbiology* 8th Ed. Vol. 2. Washington DC: ASM Press; 2003 pp.639-653.
99. Clinical and Laboratory Standards Institute. Antimikrobik duyarlılık testleri için uygulama standartları; Onbeşinci bilgi eki. CLSI M100-S15 [ISBN 975-6986-95-6].Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi ;2005.
100. Roberson JR, Fox LK, Hancock DD, Besser TE. Evaluation of methods for differentiation of coagulase-positive staphylococci. *J Clin Microbiol*1992;**30**:3217-9.
101. Lyte M, Arulanandam B, Nguyen K, Frank C, Erickson A, Francis D. Norepinephrine induced growth and expression of virulence associated factors in enterotoxigenic and enterohemorrhagic strains of *Escherichia coli*. *Adv Exp Med Biol* 1997;**412**:331-9.
102. Plotkin BJ, Morejon A, Laddaga RA, Viselli SM, Tjhio J, Schreckenberger P. Dehydroepiandrosterone induction of increased resistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* clinical isolates (MSSA, MRSA). *Lett Appl Microbiol* 2005;**40**:249-54.

ETİK KURUL KARARI

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Deniz	Soyadı	SERTEL
Doğ.Yeri	Ankara	Doğ.Tar.	07.03.1985
Uyruğu	TC	TC Kim No	19177550904
Email	dnzsertel@yahoo.com	Tel	0212 672 9893

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2005
Lise	Antalya Anadolu Lisesi	2001

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	İyi	İyi	96.25	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	62.623	64.008	65.393
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS office	Çok iyi
Adobe Acrobat Reader	İyi

Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Sinema, Tiyatro