**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ**
**FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

# THI-QAR İLİNDEKİ BAZI BÖLGELERDEN İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*'YA DİRENÇLİ ANTİBİYOTİKLERİN MOLEKÜLER VE SEROLOJİK TESPİTİ

**Huda Hayder ABBAS**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÇANKIRI**
**2022**

**Her hakkı saklıdır**

**TEZ ONAYI**

Huda Hayder ABBAS tarafından hazırlanan **"Thi-Qar İlindeki Bazı Bölgelerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa*'ya Dirençli Antibiyotiklerin Moleküler ve Serolojik Tespiti**" adlı tez çalışması 00/00/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Dr. Öğr. Üyesi Mehmet SEZGİN

**Eş Danışman** : Dr. Murtada Hafedh HUSSIAN

**Jüri Üyeleri** :

**Başkan** : Dr. Öğr. Üyesi
Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

**Üye** : Doç. Dr.
Anabilim Dalı
Üniversitesi

**Üye** : Dr. Öğr. Üyesi
Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ**

**Enstitü Müdürü**

## ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Thi-Qar İlindeki Bazı Bölgelerden İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa*'ya Dirençli Antibiyotiklerin Moleküler ve Serolojik Tespiti**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (.../.../2022).

**Huda Hayder ABBAS**

# ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

THI-QAR İLİNDEKİ BAZI BÖLGELERDEN İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*'YA DİRENÇLİ ANTİBİYOTİKLERİN MOLEKÜLER VE SEROLOJİK TESPİTİ

Huda Hayder ABBAS

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet SEZGİN
Eş Danışman: Dr. Murtada Hafedh HUSSIAN

*Pseudomonas aeruginosa*, hastane kaynaklı enfeksiyonlarının en yaygın olanlarındandır. Geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı azalan duyarlılık oranları, *P. aeruginosa'*nın antibiyotiklere direncini ve dirence neden olan genlerin araştırılması, dünya çapında klinisyenler için zorunlu bir hale gelmiştir. Yüz adet örnek üzerinde yürütülen tanımlayıcı çalışma da örnekler, Thi-Qar şehrindeki Al-Hussein Eğitim Hastanesi'ndeki ameliyathanelerden ve bu hastanenin yanık ünitesinden toplanmıştır. İzolatlar, MacConkey agar, CHROM agar üzerinde kültür edilmiş ve ardından teşhisleri yapılmıştır. İzolatlara katalaz testi ve oksidaz testi içeren biyokimyasal testler yapılmıştır. Yapılan çalışmada izole edilen *P. aeruginosa*'nın, Muller Hinton agar besiyerinde disk difüzyon yöntemi kullanılarak 6 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılığı belirlenmiştir. Sonuçlar, *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin 20'şerli izolatlarından 16'sı piperasiline, 18'i seftazidime, 16'sı tobramisin ve siprofloksasine, 19'u amikasine ve 20'si seftriakson direncine işaret etmiştir. *P. aeruginosa* 20 izolatının tümü, ticari antiserumlarla slayt aglütinasyon testi ile serotiplendirilmiştir. $O_1$ 2 (%10), $O_2$ 2(%10), $O_3$ 1(%5), $O_4$ 2(%10), $O_6$ 3(%15), $O_8$ olmak üzere örneklerde 8 serotipte belirlenmiştir. Çalışmada, $O_1$ 2(%10), $O_9$ 2(%10), $O_{11}$ 6 (%30), $O_{11}$ 6 (%30) bildirilen en yaygın serotipler olmuştur. AlgD geninin dizileme sonucu, *P. aeruginosa* için sadece bir varyasyon göstermektedir. (Geçiş)A>G kodu ACT/GCT. lasB geninin dizileme sonucu, T>C kodu TGA/CGA olan *P. aeruginosa* için de bir varyasyon, lasB geninin dizileme sonucu, bir varyasyon T>C kodu TGG/CGG olan *P. aeruginosa* için göstermektedir. Filogenetik ağacın algD geni (313bp) ve lasB geni (284bp) analiz edildiğinde, bu filogenetik ağacın yalnızca bir tür *P. aeruginosa* bakterisinden oluştuğu ortaya çıkmıştır.

**2022, 51 sayfa**

**ANAHTAR KELİMELER:** *Pseudomonas aeruginosa*, Antibiyotik direnci, Seroloji**,** LasB, AlgD

## ABSTRACT

Master of Science Thesis

MOLECULAR AND SEROLOGICAL DETECTION OF ANTIBIOTICS RESISTANT TO *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ISOLATED FROM SOME LOCI IN THI-QAR PROVENCE

Huda Hayder ABBAS

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr. Mehmet SEZGİN
Co-Advisor: Dr. Murtada Hafedh HUSSIAN

*Pseudomonas aeruginosa,* a common cause of hospital-acquired infections, has become challenging for clinicians worldwide because of its decreasing rates of susceptibility to broad-spectrum antibiotics to determine *P. aeruginosa* resistance to antibiotics and the genes that cause this resistance. The descriptive study conducted on one hundred samples were gathered from the operating rooms and burn ward at Al-Hussein Teaching Hospital in Thi-Qar. The isolates were identified by culturing on MacConkey agar, CHROM agar, performing biochemical tests were done which include catalase test and oxidase test. The sensitivity of *P. aeruginosa* isolated in the present study to 6 antibiotics, using the diffusion method on the Muller Hinton agar media. The results showed Out of 20 *P. aeruginosa bacteria,* 16 of the bacteria resistance to piperacillin, 18 resistance to ceftazidime, 16 resistance to tobramycin & ciprofloxacin, 19 resistance to amikacin, & 20 resistance to ceftriaxone. All of 20 *P. aeruginosa* isolates serotyped by slide agglutination test with commercial antisera. 8 serotypes were recognized in specimens as followed $O_1$ was 2 (10%), $O_2$ was 2(10%), $O_3$ was 1(5%), $O_4$ was 2(10%), $O_6$ was 3(15%), $O_8$ was 2(10%), $O_9$ was 2(10%), $O_{11}$ was 6 (30%), and $O_{11}$ is often the most prevalent serotypes reported in the presented study was 6 (30%). The sequencing result of *algD* gene shows for *P. aeruginosa* having one variation (Transition) A>G code ACT/GCT. The sequencing result of *lasB* gene shows for *P. aeruginosa* having one variation T>C code TGA/CGA. The sequencing result of *lasB* gene shows for *P. aeruginosa* having one variation T > C code TGG/CGG. The phylogenetic tree was analyzed the *algD* gene (313bp) and the *lasB* gene (284bp), it was found that this Phylogenetic tree consisted of only one type of *P. aeruginosa* bacteria.



**2022, 51 pages**

**Keywords**: *Pseudomonas aeruginosa,* Antibiotics resistance, Serological lasB, AlgD

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet SEZGİN'ne ve Dr. Murtada Hafedh HUSSIAN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Huda Hayder ABBAS**

**Çankırı, Ocak 2022**

# İÇİNDEKİLER

**ÖZET** ..... **i**
**ABSTRACT** ..... **ii**
**ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR** ..... **iii**
**İÇİNDEKİLER** ..... **iv**
**SİMGELER DİZİNİ** ..... **vi**
**KISALTMALAR DİZİNİ** ..... **vii**
**ŞEKİLLER DİZİNİ** ..... **viii**
**ÇİZELGELER DİZİNİ** ..... **ix**
**1. GİRİŞ** ..... **1**
**2. LİTERATÜR ÖZETİ** ..... **3**
**2.1 *Pseudomonas aeruginosa* İle İlgili Genel Özellikler** ..... **3**
**2.2 *P. aeruginosa*'nın Laboratuvar Ortamında Teşhisi** ..... **4**
**2.3 Virülans Faktörü** ..... **5**
**2.4 Biyofilm** ..... **5**
**2.5 *Pseudomonas aeruginosa* İle Enfeksiyon** ..... **6**
**3. MATERYAL VE YÖNTEM** ..... **10**
**3.1 Materyal** ..... **10**
**3.2 Yöntem** ..... **10**
**3.2.1 Biyokimyasal testler** ..... **10**
**3.2.2 Analitik profil dizini (API–20E sistemi)** ..... **14**
**3.2.3 Antibiyotik duyarlılık testleri** ..... **15**
**3.2.4 *P. aeruginosa* izolatlarının serotiplendirilmesi** ..... **16**
**3.2.5 *Pseudomonas aeruginosa*'nın moleküler tespiti** ..... **16**
**3.2.6 Virülans genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tespiti** ..... **18**
**3.2.7 PCR sonrası agaroz jel elektroforezi** ..... **19**
**4. BULGULAR** ..... **21**
**4.1 *P. aeruginosa* İzolasyonu** ..... **21**
**4.2 *P. aeruginosa* İzolatlarının Antibiyotiklere Karşı Direnci** ..... **24**
**4.3 *P. aeruginosa*'nın Serotiplendirilmesi** ..... **25**
**4.4 *P. aeruginosa*'nın Moleküler Tanımlanması** ..... **26**

**4.5 Filogenetik Soy Ağacı Analizi ..... 30**
**5. TARTIŞMA VE SONUÇ ..... 32**
**KAYNAKLAR ..... 37**
**EKLER ..... 46**
**ÖZGEÇMİŞ ..... 51**

## SİMGELER DİZİNİ

| | |
|---|---|
| % | Yüzde |
| ± | Artı eksi |
| °C | Santigrat derece |
| DNA | Deoksiribonükleik asit |
| g | Gram |
| mg | Miligram |
| mL | Mililitre |
| ng | Nanogram |
| nm | Nanometre |
| $O_2$ | Oksijen |
| µg | Mikrogram |
| µL | Mikrolitre |
| µm | Mikrometre |

## KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|---|---|
| algD | Aljinat |
| API 20E | Analitik profil endeksi 20 enterobacteriaceae |
| bp | Baz çifti |
| CLSI | Klinik ve laboratuvar standartları enstitüsü |
| COPD | Kronik obstrüktif pulmoner hastalığı |
| DNA | Deoksiribonükleik asit |
| EDTA | Etilendiamintetraasetik asit |
| GNB | Gram negatif bakteri |
| ICU | Yoğun bakım ünitesi |
| lasB | Elastaz |
| LPS | Lipopolisakkarit |
| Mbp | Mega baz çift |
| MDR | Çoklu ilaç dirençli |
| MHA | Mueller-hinton agar |
| MR | Metil kırmızısı |
| NCBI | Ulusal biyoteknoloji bilgi merkezi |
| NSU | Nöroşirurji ünitesi |
| *P. aeruginosa* | *Pseudomonas aeruginosa* |
| PCR | Polimeraz zincir reaksiyonu |
| TBE | Tris borat EDTA tamponu |
| TBSA | Yanmış vücut yüzeyi |
| UV Light | Ultraviyole ışığı |
| Vp | Voges proskauer testi |
| β –Lactamase | Beta-laktamaz |

# ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Biyofilm oluşumu (Costerton *et al.* 1999) ..... 6
Şekil 3.1 Oksidaz testi (pozitif) ..... 11
Şekil 3.2 Katalaz testi (pozitif) ..... 12
Şekil 3.3 Kanlı agar üzerinde *P. Aeruginosa* ..... 12
Şekil 3.4 Metil kırmızısı testi (negatif) ..... 13
Şekil 3.5 İndol testi (negatif) ..... 14
Şekil 3.6 *P. aeruginos*'un tanımlanması için API-20E sistem testi ..... 14
Şekil 3.7 Antibiyotik duyarlılık testleri ..... 15
Şekil 4.1 Cinsiyete göre yanık prevalansı ..... 23
Şekil 4.2 Yerleşim yerine göre yanık yaygınlığı ..... 23
Şekil 4.3 Yayma bölgesine göre yanık prevalansı ..... 24
Şekil 4.4 Antibiyotiklere karşı *P. aeruginosa* direncinin dağılımı ..... 25
Şekil 4.5 *P. aeruginosa* serotiplendirmesinin dağılımı ..... 26
Şekil 4.6 PCR elektroforezi görüntüsü. M:DNA ladder (1-9), lasB ve algD geni içeren *P. aeruginosa* ..... 27
Şekil 4.7 *P. aeruginosa*'nın algD geninin hizalama analizi Sorgu, numuneyi temsil eder; Konu, Ulusal Merkez Biyoteknoloji Bilgilerinin bir veritabanını temsil eder ..... 27
Şekil 4.8 *P. aeruginosa*'nın lasB geninin hizalama analizi Sorgu, numuneyi temsil eder; Konu, Ulusal Merkez Biyoteknoloji Bilgilerinin bir veritabanını temsil eder ..... 28
Şekil 4.9 *P. aeruginosa*'nın lasB geninin hizalama analizi Sorgu, numuneyi temsil eder; Konu, Ulusal Merkez Biyoteknoloji Bilgilerinin bir veritabanını temsil eder ..... 29
Şekil 4.10 *Pseudomonas aeruginosa*'da alg D (313bp) geni varyasyonları için Filogenetik soy ağacı analizi ..... 30
Şekil 4.11 *Pseudomonas aeruginosa*'da lasB (284bp) geni varyasyonları için Filogenetik soy ağacı analizi ..... 31

# ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Bu çalışmada kullanılan ileri ve geri primerlerin dizisi ..... 18
Çizelge 3.2 PCR karışımı ..... 19
Çizelge 3.3 PCR Programı ..... 19
Çizelge 4.1 Araştırma örnekleminin demografik özelliklerine göre dağılımı ..... 22
Çizelge 4.2 Bakterilerin antibiyotiklere direncinin dağılımı ..... 24
Çizelge 4.3 *P. aeruginosa* serotipinin dağılımı ..... 25

# 1. GİRİŞ

Yanıklar üzerinde yapılan çalışmalarda, tedavilerdeki değişikliklerin ortaya çıkması ile beraber, 20 yüzyılın ikinci yarısında yanıklı hastaların hayatta kalma, enerjisine geri kavuşma, enfeksiyon yönetimi ve yara kapanması gibi acil yanık tedavisindeki koşullar büyük ölçüde iyileştirilmiştir (Mokkink *et al.* 2010, Prinsen *et al.* 2014). Fakat yanık vakasının bir sonucu olarak, daha fazla hasta, genellikle aşırı ve yayılmış yanmanın neden olduğu kalıcı sakatlıklar ve şekil bozuklukları ile karşı karşıya kalmaktadır (De Vet *et al.* 2006). Hayatta kalma ve hastanede kalış süresi tarihsel olarak başarının belirteçleri olmuştur. Ancak bu durum artık skar kalitesi ve yaşam kalitesine ilişkin önlemlerin genişletilmesiyle sağlanmıştır (De Vet *et al.* 2006).

Gelişmiş ülkelerde yanık tedavisinde amaç, yanıkların uzun vadeli psikolojik ve fiziksel sekellerine giderek daha fazla odaklanarak bu kalite ölçütlerini güçlendirmektir (Bland and Altman 1986, Monstrey *et al.* 2008). Yanık yaralanmasının hemen ardından oluşan yanıkların uzun vadeli sekelleri tedavi edilebilmiştir. Yaralanan kişinin aktif ve sistemik tedavisine ek olarak bir diğer kritik faktör de yanık yarasının değerlendirilmesidir. Geçerli ve doğru yanık yarası değerlendirmesi ve çeşitli tedavilerin etkinliğinin değerlendirilmesi için çok önemlidir. Yanık yarasının ciddiyeti, hasta özellikleri ve yanmış vücut yüzeyinin oranı ile birlikte hayatta kalma oranı, deri grefti için gereken ihtiyaç ve süre ve iyileşen yaranın durumu hakkında veri sağlar (Boykin *et al.* 1980, Elamin *et al.* 2015).

Yanık şiddetinin azaltılması, patolojik skar oluşumu riskinin artmasıyla bağlantılı olarak, iyileşme süresinin uzamasına neden olabilir (Zawacki 1974, Monstrey *et al.* 2011). Bu alandaki araştırmalarla gerçekleştirilebilecek ve daha da geliştirilebilecek yanık vakalarının geçerli ve güvenilir bir değerlendirmesi esastır. Sorunlardan biri, yanık yaraları için sınıflandırma ve tutarlı terimlerin kullanımında standardizasyonun sağlanmamasıdır. Hastanın enfeksiyonları tedavi etmek için göreceli olarak antibiyotik eksikliği olduğu göz önüne alındığında, Gram negatif bakteriler (GNB), hastanın yaşamını olumsuz yönde etkileyen iltihaplanmaya neden olur ve kişinin hastanedeyken

ilaca dirençli bakterilere karşı daha duyarlı hale gelmesini sağlamaktadır (Dalton *et al.* 2020).

*Pseudomonas aeruginosa* sularda, toprakta ve ıslak koşullarda farklı çevre koşullarına uyum sağladığı için yanık yaralarında bulunan patojenik bakterilerden biridir (Singh *et al.* 2010). *P. aeruginosa* fırsatçı bir patojenik yapıya sahip olup, bu nedenle bağışıklığı baskılanmış hastalarda bulunabilir. Hastaneler ve özel tedavi salonları en yaygın olanlarıdır. Ciddi hastalıklı ve kronik ve akut enfeksiyonlara neden olan hasarlı dokularda hızla yayılma yetenekleri nedeniyle baskın bir yanmış yara kolonisi olarak kabul edilir. Aynı zamanda, idrar yolu enfeksiyonları, cilt hastalıkları ve zatürree gibi en yaygın hastane enfeksiyonlarından biridir (Markou and Apidianakis 2014).

Yapılan Yüksek Lisans Tez çalışmasında; Ameliyathane ve yanık hastaları bölümünden izole edilen bakterilerde, antibiyotikprofilinin ve bazı virülans geninin varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bunun için:

1. Irak-Thi-Qar kentinde Al-Hussein Eğitim hastanesindeki ameliyathanelerden ve yanık servisinden alınan *P. aeruginosa* klinik izolatlarının yaygın serotiplerinin araştırılması.
2. İzole serotipler ile antibiyotik direnç fenotipleri arasındaki ilişkilerin saptanması.
3. *P. aeruginosa*'yı (elastaz ve aljinat) kodlayan bazı virülans genlerinin evrimi yoluyla belirlenmesidir.

# 2. LİTERATÜR ÖZETİ

## 2.1 *Pseudomonas aeruginosa* İle İlgili Genel Özellikler

(Govan and Deretic 1996)'da *Pseudomonas aeruginosa*, çubuk şeklinde, gram negatif bir bakteri olduğu belirtilmiştir. *P. aeruginosa* hücreleri boyu 0,5 ile 1,0 µm arasında ve enide 3 ile 4 µm arasındadır. Hücrelerin çoğunluğu tek bir polar flagellum içerdiğini ve *P. aeruginosa,* pigmentlerde küçük-orta ya da enfeksiyonlarda yeşilimsi mavi bir görünüme sahip olduğunu belirtmiştir.

Organizma, tarihsel olarak katı bir aerob olarak bilinen ve terminal elektron alıcısı olarak oksijen gereksinimleri nedeniyle anaerobik koşullarda biyokimyasal yollarla genişleyemeyen katal as-pozitif ve oksidaz-pozitiftir. Ancak anaerobik *P. aeruginosa*'nın gelişimi, organizma tarafından son elektron alıcıları olarak da kullanılabilen nitrat ve arginin varlığında görüldüğü (Rossolini and Mantengoli 2005) tarafından belirtilmiştir.

*P. aeruginosa*, oda sıcaklığında 37°C'de bile artan büyüme sıcaklığı ile büyüyebilir. 4°C'de ise çok az büyüme sağlanır (Baron 2001, Tavanaii *et al.* 2007). *P. aeruginosa*'nın 42ºC büyüme potansiyeli ile diğer *Pseudomonas* türlerinden farklıdır (Baron 2001, Rossolini and Mantengoli 2005).

(Krieg *et al*. 2010) yılında yaptıkları çalışmada, *P. aeruginosa'*nın, çok sayıda çözünür pigment formu ürettiğini, bunlardan en yaygın olanları piyosiyanin ve piyoverdin olduğunu vurgulamıştır. Bu, düşük demirli ortamlarda yaygın olarak üretildiğini ve bakterilerin demirinin metabolizmasında çalışır halde olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte yazarlar, Piyosiyanin, *P. aeruginosa'*nın süpüratif enfeksiyonlarını gösteren "mavi irin" olarak adlandırmışlardır. Kapsorubin (kırmızı), feomelanin (kahverengi) ve pyoverdin (sarı/ yeşil) bu üründe yapılan diğer pigmentler olarak belirtmişlerdir.

## 2.2 *P. aeruginosa'*nın Laboratuvar Ortamında Teşhisi

En yaygın olarak izole edilen ve kullanılanlar, geleneksel kültür yöntemleri ve *P. aeruginosas* ile çeşitli numune türleri arasında ayrım yapan mikroskopi yöntemleridir. Besleyici agar, kanlı agar, McConkey agar ve et suyu gibi *P. aeruginosa'nın* çeşitli seçici olmayan agarlarda yetiştirilmesi kolaydır. Bakterilerdeki aerobik koşullar tipik olarak 37°C'de inkübe edilirken, *P. aeruginosa* 4°C ila 45°C'de büyütülebilir (Burns and Rolein 2014). Ancak yanlış bakteri tanımlaması nedeniyle ciddi sonuçlar ortaya çıkabileceğinden daha steril izolatların tanımlanması gerekmektedir (Baron 2001). (Anthony *et al.* 2002) yılında yaptıkları çalışmada, bazı *P. aeruginosa* izolatlarının, Avustralya'daki çoğu laboratuvarda en az bir test daha ile sınıflandırıldığını belirtmişlerdir. Ayrıca, 42°C'de yeterli tanımlama, morfoloji, pigment ve gelişme kapasitesi özellikleri göz önünde bulundurulması gerektiğini ve C390 emdirilmiş tanı disklerinin, diğer *Pseudomonas* spp.'yi izole etmek için verimli bir şekilde kullanılabilir olacağını ifade etmişlerdir.

*P. aeruginosa* API 20NE (bioMérieux) ve VITEK®2 (bioMérieux) dahil olmak üzere belirli ticari kimlik sistemlerinde ve tanı laboratuvarlarında kullanılmaktadır. Son birkaç yılda MALDI-TOF ile otomatik bir mikrobiyolojik tanıma cihazı (ALDI-Matrix IoD) tanı laboratuvarları bakteriyel patojenik ajanları hızlı, ucuz ve güvenilir bir şekilde sınıflandırabilmiştir (Burns and Rolain 2014). Bu tanımlama platformunun güvenilirliği çoğu çalışmada kabul edilir, ancak bazı raporlar çoğu test numunesi için yanlış tanımlamaya veya tanımlamada başarısızlığa yol açabilecek veritabanı sınırlamaları önermektedir (Alby *et al.* 2013, AbdulWahab *et al.* 2015).

Habitat çeşitliliği, su ve toprak dahil olmak üzere çeşitli habitatların (Damkiær *et al.* 2013) yanı sıra bitki ve hayvanlarda pseudomonadlar mevcuttur. Diğer *Pseudomonas* üyelerinin çoğunun aksine, *P. aeruginosa* en çok araştırılan, ancak fırsatçı bir doğaya sahip insan ve diğer memeli patojenlerindendir.

Yılında Fernstrom ve Goldblatt yaptığı çalışmada, çoğu antibiyotiğe dirençli suşların ortaya çıkması, *P. aeruginosa* için çok ilaca dirençli, aminoglikozit, sefalosporin,

florokinolon ve karbapenem için ciddi bir endişe kaynağı olduğunu vugulamıştır. Hastanelerde ağırlıklı olarak sabun, dezenfektanlar, havalandırma sistemleri, boyalar, endoskoplar, su ve aspirasyon sistemlerinde görülen bir organizmadır (Tavanaii *et al.* 2007). Bu nedenle, genel ortamın *P. aeruginosa*'dan arındırılması söz konusu değildir. Hastane izolatları genellikle antimikrobiyallere karşı çevresel numunelere göre daha dirençli olur ve bazen hastaların fırsatçı enfeksiyon yakalanmasına imkan verir (Talon *et al.* 1996, Brisse *et al.* 2000).

## 2.3 Virülans Faktörü

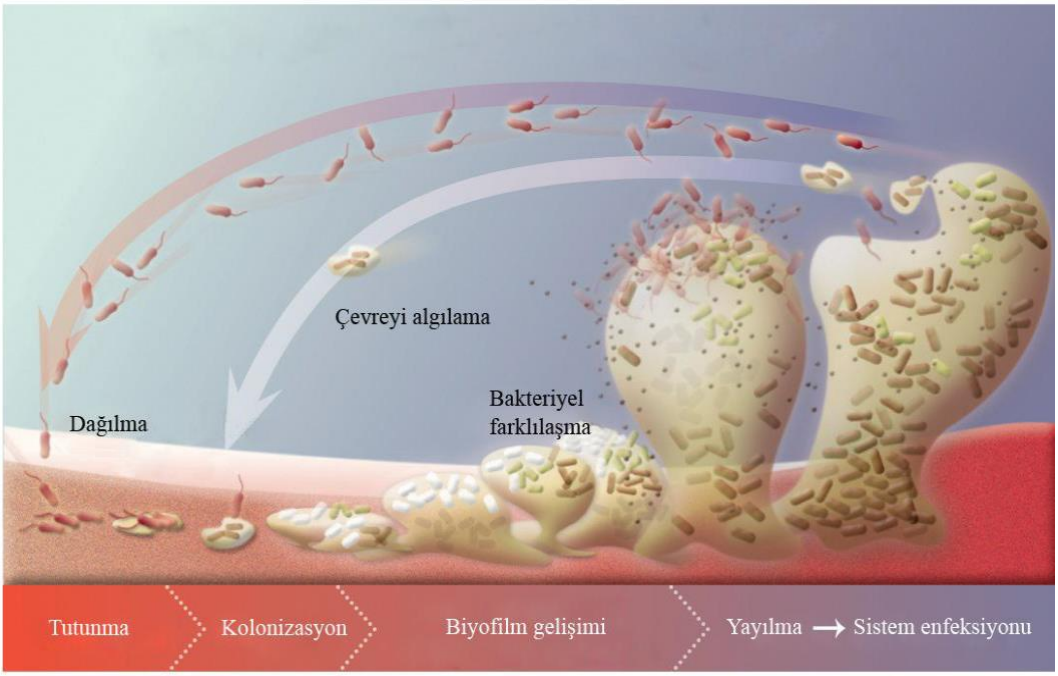
(Schaber *et al.* 2004) yılındaki çalışmalarında, *P. aeruginosa*'daki birçok virülent faktör, sistemik veya daha lokal olarak yerleşik kronik kolonizasyon için insan bağışıklık sistemine ve konakçı hücrelerin zehirlenmesine ve insan adaptif bağışıklık düzenleme sistemlerine sızdığını belirtmişlerdir. *P. aeruginosa*, bir konağın virülansını kolonize etmeye yardımcı olan bir dizi faktör geliştirdiğini ve her ikisinin de, ekzo-pil eksotoksinler (A), lipopolisakkaritler, lipaz, hemolizinler, histaminler, ekzo-enzimler (S) ve lökosit proteaz enzimleri olduğunu ortaya koymuşlardır.

(Wilson and Dowling 1998)'e göre, *P. aeruginosa* bağışıklık tepkilerine zarar vererek bakterilerin kendilerine bağlanmasına ve konakçılarına ulaşmak için antibiyotik bariyerlerine izin verirler. Tek başına hiçbir virülans faktörü güçlü değildir, ancak *P. aeruginosa*'nın patojenitesi bir dizi faktörden etkilenmektedir.

## 2.4 Biyofilm

*Pseudomonas aeruginosa* farklı koşullar altında bir biyofilm oluşturabilir (Costerton *et al.* 1999, Yoon *et al.* 2002). Biyofilmlerin, konakçı bağışıklık sistemleri ve antibiyotik tedavisi dahil olmak üzere farklı popülasyon gruplarından oluşan karmaşık bir yapıya sahip olduğu ve agresif çevresel etkilere karşı toleransı arttırdığı bilinmektedir (Mah *et al.* 2003). Kanıtlar akciğerleri. *P. aeruginosa*'daki biyofilmin, laboratuarlar sırasında oluşan aerobik bir biyofilmin aksine anaerobik bir ortamda oluştuğunu göstermektedir (Singh *et al.* 2000).

*P. aeruginosa*'nın yaşam tarzı, biyofilmlerde sunulmaktadır. Aljinat, adezyon ve antibiyotik direnci gibi biyofilmlerle ilişkili işlevlerde rol oynayabilir, biyofilm oluşumu Şekil 2.1'de gösterilmiştir. Aljinatın aşırı üretimi, iyi bilinen kronik mukoid enfeksiyon fenotipinde en yaygın özelliktir (Govan *et al.* 1996).




**Şekil 2.1** Biyofilm oluşumu (Costerton *et al.* 1999)

## 2.5 *Pseudomonas aeruginosa* İle Enfeksiyon

### a) Hastane enfeksiyonları

*P. aeruginosa*, vakaların %10 ila %20'sinde hastane enfeksiyonlarından kaynaklanan bir patojendir (Dinesh *et al.* 2003, Matar *et al.* 2005). *P. aeruginosa* ayrıca hastalığın hastane kaynaklı pnömoni ölüm oranının en önemli ve en yüksek ikinci nedenidir (Dinesh *et al.* 2003). Yanık yaralar, sepsis, menenjit ve hastane enfeksiyonları da *P. aeruginosa* ile yakından ilişkilidir (Dinesh *et al.* 2003, Stryjewski and Sexton 2003). Önemli sayıda aşırı hastalıklı ve bağışıklığı baskılanmış hasta, çevrelerinde antimikrobiyal ve dezenfektan maddeler kullanmaktadır. Hastaneye kaldırılan hastanın pozitif bir *P. aeruginosa* koleksiyonuna sahip olması şaşırtıcı değildir. ICU enfeksiyonlarının %29'u *P.*

*aeruginous'*a atfedilebilir olduğundan ve bu ortamda gram negatif enfeksiyonların en yaygın nedeni olduğundan, bu yatkınlaştırıcı faktörler özellikle ICU için geçerlidir (Deplano *et al.* 2005). *P. aeruginosa* enfeksiyonu, idrar yolu, sepsis, pnömoni, endokardit, farenjit ve diğer birçok enfeksiyona neden olabilir. Akciğerlere yerleşir ve böbrek fibrozisi (KF) olan hastalarda KF'de ölüm prevalansı ile ilerleyici bir kronik akciğer hastalığına kadar ilerleyebilir. KF ve bronşektazi, *P. aeruginosa'*nın balgamdan ilk izolasyonundan kaynaklanabilse de, kronik bir enfeksiyon oluşturulduktan sonra yoğun antibiyotik tedavisi ile eradikasyonu neredeyse imkansızdır (Rayner *et al.* 1994).

**b) Moleküler epidemiyoloji**

*P. aeruginosa'*nın genel olarak bir su kütlesi olduğu kabul edilir. Toplumla ilgili enfeksiyonların büyük çoğunluğunun çevresel baskısından kaynaklanır. Sağlıklı insanların %7'si boğazlarında *P. aeruginosa* taşır. Deri (özellikle sıcak ve nemli alanlar, örneğin koltuk altı) ve gastrointestinal sistem, diğer enfeksiyon kaynakları ekzojendir ve ayrıca kulak ve girdap foliküliti dahil kireçli implantasyon veya temas kolonizasyonu vakalarında görülür (Tavanaii *et al.* 2007). Dar spektrumlu antibiyotik kullanımı hastanın kolonizasyon oranını önemli ölçüde artırır ve dirençli suşlar için seçilir (Speert 2002). Hastaneye yatırılan hastalarda antibiyotik kullanımı büyük oranda artmaktadır. *P. aeruginosa*, hastane salgınları gibi belirli durumlarda genotip kaynaklı suşlarla ilişkilidir (MDR suş raporları) (Sekiguchi *et al.* 2005). Ayrıca hastaneler ve hastaneler arasında yayılmak üzere yoğun bakım ünitesi veya NSU aracılığıyla da hızla yayılmaktadır (Brisse *et al.* 2000).

**c) Yanıklar**

Vücut bir ısı kaynağına maruz kaldığında yanıklar meydana gelir (Tolles 2018). Yanıklara neden olabilecek çeşitli nedenler vardır ve en yaygın olanları yangın, sıcak yüzeyle temas, kimyasal maddeler ve elektriktir (Toussaint and Singer 2014). Yanık hastalarında yaralar yanık derecesine göre farklılık gösterir ve yanık bölgesi ne kadar genişse hasta o kadar fazla morbidite ve ölüme açık hale gelir (Vivó *et al.*

2016). Küçük yanıklar insan hayatını tehdit etmez ve büyük yanıklardan daha sık görülür; fakat doğru şekilde tedavi edilmezse hastanın hayatını ciddi şekilde tehlikeye atabilir ve deri, keloidler ve kramplar gibi deformasyon belirtileri bırakarak çok ağrılı olabilir (Rockwell *et al.* 1989). Bu nedenle yanıklar son derece özel bir hasar türüdür ve özellikle büyük ve derin lezyonlar için çok özel bakım gerektirir (Hermans 2019). Yanık yoğunluğu, maruz kalınan yere, sıcaklığa ve süreye bağlı olarak artar ve doğrudan hastaların maruz kalma süresi ve süresi ile ilgilidir (Evers *et al.* 2010).

**d) *P. aeruginosa*'nin antibiyotik direnci**

*P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotiklerin gelişigüzel ve yaygın kullanımı, çoklu ilaç direncine sahip suşların ortaya çıkmasına neden olduğundan dolayı, antibiyotiklere karşı direnç, önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Tedavi maliyetinin yüksek olması ve uzun sürmesi nedeniyle özellikle hastanelerde, sağlık kuruluşlarındaciddi maddi kayıplara yol açmıştır (Alnuimi and Alsaffawi 2021).

Beta-laktam antagonistleri olarak bilinen, penisilinleri, sefalosporinleri ve ayrıca Monobaktam grubunu içeren bir antibiyotik sınıfı, *P. aeruginosa* büyümesini veya ölümünü inhibe etmek için çeşitli işlevlere sahiptir. Bu gruplar penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP'ler) bağlanarak bakteri hücre duvarlarının oluşumunu peptidoglikan tabakasına peptit köprülerinin oluşumunda rol oynayan enzimin etkisini engeller.

Diğer bir direnç mekanizması, penisilinler ve sefalosporinler gibi enzimler tarafından üretilen β-laktamaz sentezidir. Bu enzimler, antibiyotiğin bileşimindeki beta-laktam halkasını parçalayarak onu işe yaramaz hale getirir. Bu antibiyotiklerin yaygın ve gelişigüzel kullanımı, Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların yaratılması da dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla bu bakterilere karşı direncin artmasına sebep olmuştur (Ullah *et al.* 2017).

**e) *Pseudomonas aeruginosa*'nın moleküler tanımlaması**

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) dahil olmak üzere moleküler tanımlama teknikleri ve *P. aeruginosa'*ya özgü genleri hedefleyen deneyler, *P. aeruginosa* fenotipik ve biyokimyasal olarak tanımlamak ve sorunları çözmek için oluşturulmuştur (Anuj *et al.* 2009, da Silva Filho *et al.* 1999, De Vos *et al.* 1997, Qin *et al.* 2003). *P. aeruginosa*'da PCR'nun artan duyarlılığı ve özellikleri ile iki farklı amaç için eş zamanlı olarak gerçekleştirilebileceğini ifade etmişlerdir

**f) *P. aeruginosa*'daki virülans gen tipleri**

*P. aeruginosa'*nın patojenitesi, hücre ile ilişkili ve hücre dışı virülans faktörlerinin çoklu üretim süreçlerine bağlıdır. Virülansın unsurları kolonizasyon, bakteriyel hayatta kalma ve doku istilasında önemli patojenik rol oynar.

**g) AlgD geni**

AlgD geninin ekspresyonu, karbon, nitrojen, fosfat, oksijen ve yavaş büyüme oranları gibi çevresel koşullara bağlıdır (Bayer *et al*. 1990). Metabolik ve kromozomal düzende algD uzaktan ilişkilidir (Stover *et al.* 2000). Aljinat tabakası, biyofilm oluşumunun önemli bir bileşenidir ve bu nedenle antibiyotiklere maruz kaldığında koruma sağlar (Lamppa and Griswold 2013).

**h) lasB geni**

Bir çinko metalloproteaz olan *LasB* elastazını kodlayan bu gen, akciğer dokularında elastik aktiviteye sahip güçlü bir T2SS salgılanan proteolitik enzimdir. Bu enzim, elastin, kollajen, fibronektin ve bağ dokularının lamina bileşenleri dahil olmak üzere çeşitli substratlara sahiptir (Khattab *et al.* 2015).

# 3. MATERYAL VE YÖNTEM

## 3.1 Materyal

Thi-Qar şehri Al-Hussein Eğitim hastanesindeki Yanık ünitesindeki hastalardan 100 örnek toplanmıştır. Bu örneklerin alımında Sağlık Bakanlığı ve Thi-Qar İlinin Al-Hussein Eğitim hastanesinden gerekli etik kurul izinleri alınmıştır. Kadınlarda varlığının erkeklere göre daha yüksek olduğu 20 adet *P. aeruginosa* bakterisi izolatı elde edilmiştir.

## 3.2 Yöntem

### Örneklerin alınması

Yanık sürüntüleri yanık derinliğinden veya lezyondan alınmış, kuru bir sürüntü önce az miktarda Brain-Heart Infusion Broth (Collee *et al.* 1996) ile nemlendirilmiş, ardından tüm swablar ve numuneler hemen laboratuvara nakledilmiştir. Numuneler McConkey agar, kanlı agar ve Nutrient agar üzerinde kültüre alınmış ve daha sonra inkübatörde aerobik koşullar altında 37°C'de gece boyunca inkübe edilmiştir. *P. aeruginosa* izolatlarının teşhisinde biyokimyasal testler ve API 20 E sistemi kullanılmış ve ardından 6 tip antibiyotik kullanılmıştır. Bu antibiyotikler Amikasin, Tobramisin, Siprofloksasin, Seftriakson, Piperasilin, Seftazidim'dir. *P. aeruginosa* bakterileri ekilmiş bir Mueller Hinton agar üzerine yerleştirilerek ve bir inkübatörde aerobik koşullar altında 37°C'de gece boyunca inkübe edilerek kullanılmıştır. *P. aeruginosa* izolatlarının serotiplenmesi 8 tip O-Antijen kullanılarak yapılmış ve ardından geleneksel PCR tekniği kullanılarak *P. aeruginosa*'nın moleküler tespiti yapılmıştır.

### 3.2.1 Biyokimyasal testler

Biyokimyasal testler, bakteri tanımlama boyaması için kullanılır, ardından çeşitli biyokimyasal reaktifler kullanılır. Gram pozitif ve negatif bakterilerin tanımlanması için farklı biyokimyasal testler kullanılmaktadır.

**a) Oksidaz testi**

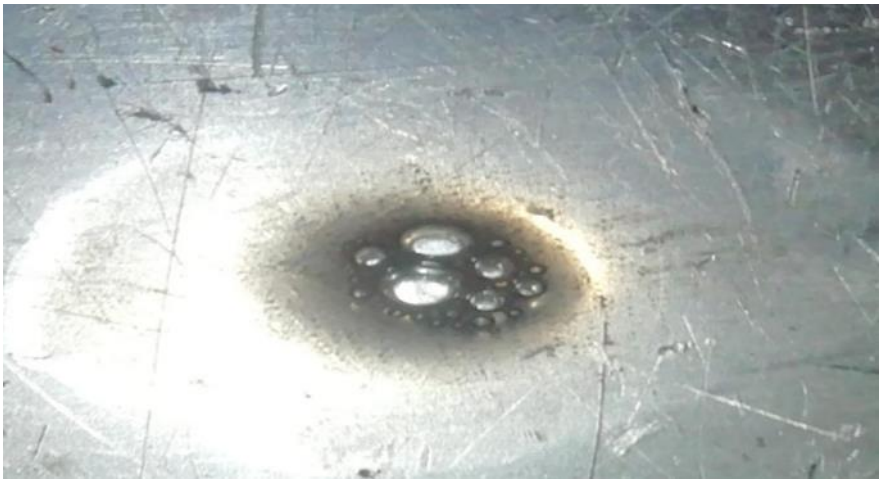
Bir filtre kağıdı, birkaç damla taze hazırlanmış %1 oksidaz reaktanı ile nemlendirilmiştir ve test kolonisinin küçük bir kısmı toplanarak nemli filtre kağıdına sürtülmüş, 30 saniye içinde rengi mavi veya mora dönüşmüştür (MacFaddin 2000). Oksidaz testi (pozitif) Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



**Şekil 3.1** Oksidaz testi (pozitif)

**b) Katalaz testi**

Saf bir koloninin temiz ve kuru lamlarına birkaç damla %3 $H_2O_2$ konulmuştur. Gaz kabarcıklarının evrimi pozitif bir test işaret etmektedir (MacFaddin 2000). Katalaz testi (pozitif) Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



**Şekil 3.2** Katalaz testi (pozitif)

### c) Kan testi

Kanlı agar besiyeri saf koloni bakterileri ile şeritlenerek 24-48 saat boyunca 37°C'de inkübe edilmiştir. Kolonin etrafındaki açık alanın görünümü ß-hemolitik olduğunu gösterirken α-hemoliz yeşil renkli bir varlığı gösterir (Baron *et al.* 1994). Kanlı agar üzerinde *P. aeruginosa* testi Şekil 3.3'de gösterilmiştir.



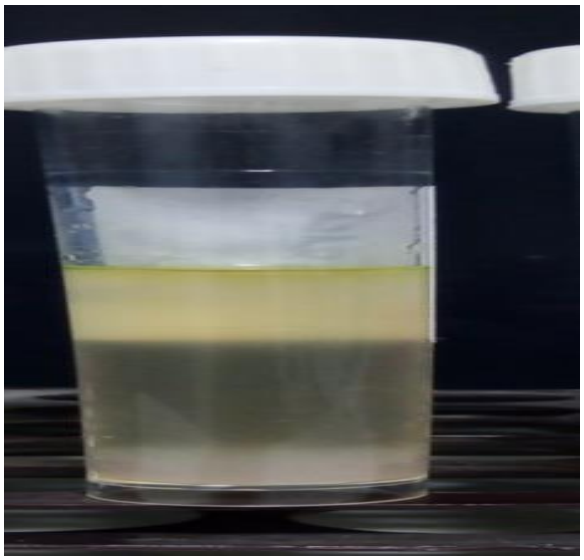
**Şekil 3.3** Kanlı agar üzerinde *P. aeruginosa*

**d) Sıcakta *P. aeruginosa*'nın büyümesi (42°C)**

Tüm bakteri izolatları, bir besleyici agar ortamı üzerinde bir çizim yöntemiyle kültür edilmiş ve 42°C ve 4°C'de 24 ila 48 saat süreyle inkübe edilmiştir. Üremenin meydana gelmesi, *P. aeruginosa*'nın varlığının pozitif varlığının kanıtıdır (Forbes *et al.* 2007).

**e) Metil kırmızı testi**

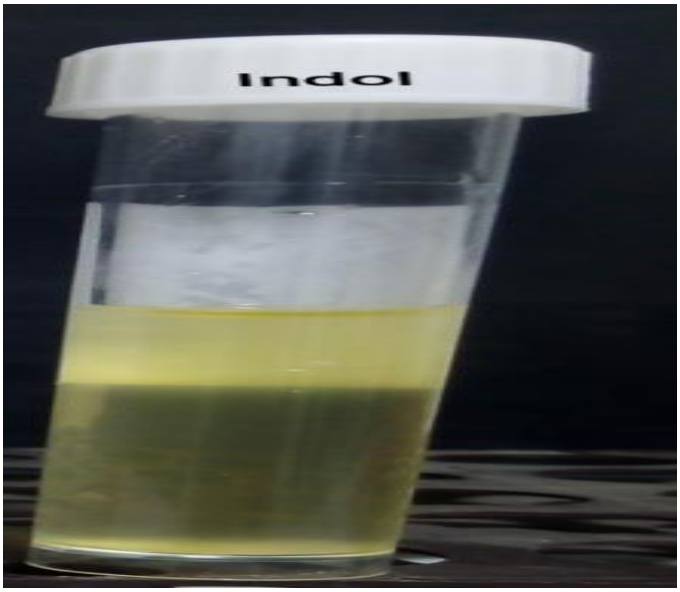
MR–VP besiyeri içeren tüpler, kontrol edilen bakteri kolonisi ile inoküle edildikten sonra48 saat süre ile 37°C'de inkübe edildi. Test tüplerine 0,5 mL metil kırmızısı eklenmiş ve kırmızı rengin varlığı gözlenmiştir. Rengin kırmızı olması sonucun pozitif olduğunun bir göstergesidir. Metil kırmızısı testi Şekil 3.4'te gösterilmiştir.



**Şekil 3.4** Metil kırmızısı testi (negatif)

**f) İndol testi**

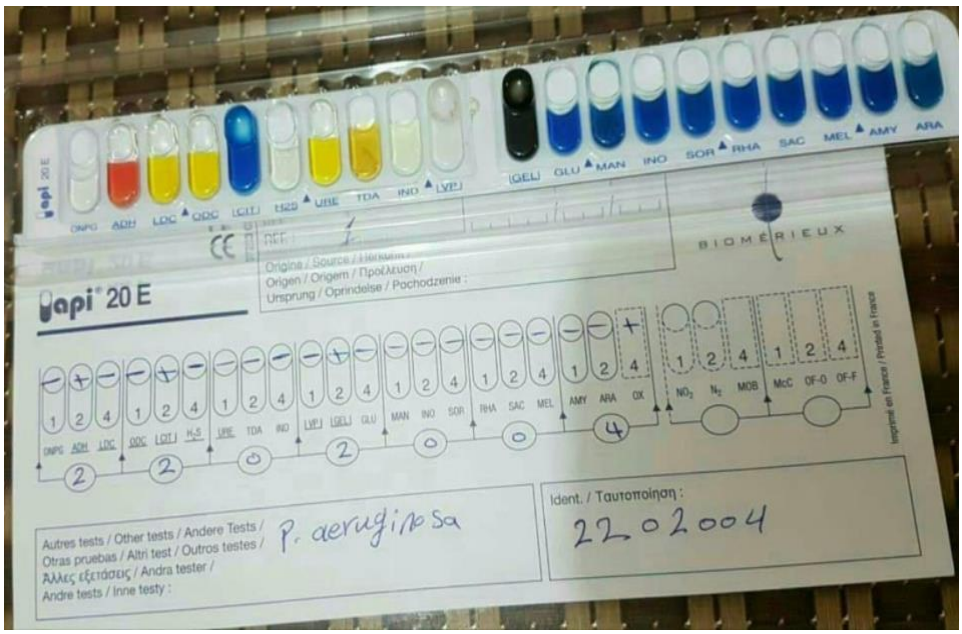
Peptonlu su bir koloni ile 24-48 saat boyunca 37°C'de aşılanmıştır. Bir Kovac reaktifi, besiyerinin üstündeki kırmızı halkanın sonucun pozitif olduğunu gösterir. Besi yerine 6-8 damla uygulanır, meydana gelen sarı halka, olumsuz bir sonuç anlamına gelmektedir (McFaddin 2000). İndol testi Şekil 3.5'te gösterilmiştir.




**Şekil 3.5** İndol testi (negatif)

### 3.2.2 Analitik profil dizini (API–20E sistemi)

API-20E sistem testi, *P. aeruginosa'*nın teşhisini doğrulamak için kullanılmıştır. Bu sistem, üretici firmanın kullanım talimatları ile gerçekleştirilmiştir. *P. aeruginos*'un için API-20E sistem testi Şekil 3.6'da gösterilmiştir.




**Şekil 3.6** *P. aeruginos*'un tanımlanması için API-20E sistem testi

### 3.2.3 Antibiyotik duyarlılık testleri

*P. aeruginosa* izolatlarının duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiş, standartlaştırılmış tek disk yöntemi kullanılarak (Knabl and Lass-Flörl 2020) aşağıdaki gibi yapılmıştır:

1. Bu test için kullanılan inokulum, McFarland standart tüpüne (1,5 x $10^8$cl/mL) kıyasla bir besleyici agar plakası üzerinde 5 mL steril normal salin içinde büyütülen (3-5) izole kolonilerin eklenmesiyle hazırlanmıştır.
2. Bakteri süspansiyonlarından inokulum, steril bir sürüntü ile elde edilir. Bu aşılar, Mueller-Hinton agar (MHA) plakasının üzerine sürme yöntemiyle sürülmüştür ve kuru olarak bırakılmıştır.
3. Antibiyotik diskler alev geciktirici forseps veya disk uygulaması ile besiyerinin yüzeyine eşit aralıklarla yerleştirildi ve 24 saat 37°C'de inkübe edildi. Antibiyotik duyarlılık testleri Şekil 3.7'de gösterilmiştir.
4. İnhibisyon bölgeleri, klinik laboratuvar standartları enstitüsü tarafından tanımlanan inhibisyon alanlarıyla karşılaştırıldığında organizmanın her antibiyotiğe duyarlılığını ve toleransını değerlendirmek için bir cetvel veya kumpas kullanılarak hesaplanmıştır.




**Şekil 3.7** Antibiyotik duyarlılık testleri

### 3.2.4 *P. aeruginosa* izolatlarının serotiplendirilmesi

*P. aeruginosa* izolatları (Sanofi Diagnostic Pasteur, Fransa) kit kullanılarak Serotiplendirmeye tabi tutulmuştur. Sınıflandırmada; 1'den 16'ya kadar numaralandırılmış 16 O-antijen grubu vardır, Spesifiklik daha sonra çapraz doygunluk ile elde edilir.

Yöntem, kümes hayvanından alınan bir anti-O serumu ile canlı bir bakteri süspansiyonunun aglütinasyonuna dayanmaktadır:

1. Bakteriler, 37°C'de 16 ila 24 saat büyütülen oldukça kuru bir Muller-Hinton agar ortamının yüzeyinden elde edilmiştir.
2. Bakteriler bir slayt üzerinde her serum karışımının damlasında süspanse edildi, ilk olarak dört serum karışımındaki aglütinasyon test edildi ve daha sonra açık aglutinasyon vererek karışıma karşılık gelen dört spesifik serumda test edildi.
3. Platin halkalı serumu yavaş yavaş ekleyerek ve tek bir tahta aplikatör çubuğu ile homojen bir süspansiyon oluşturacak şekilde iyice karıştırarak çok homojen bir süspansiyon oluşturuldu.
4. Slide 1 dk boyunca nazikçe sallandı ve ardından dolaylı ışık altında incelendi, reaksiyon antijenin en az %25 aglütine oldu.
5. Her bakteri kültürü için bir damla salin ile karıştırılarak test kontrolü hazırlanmıştır.

### 3.2.5 *Pseudomonas aeruginosa*'nın moleküler tespiti

**Genomik DNA ekstraksiyonu:**

1. Bakteriyel hücre (1 X $10^{8'}$e kadar, 16 saatten fazla kültüre alınmış hücre) 1,5 mL'lik bir mikrotüp içine dağıtılmıştır.
2. Hücreler, kültür ortamı (500 µL) 6000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek toplanmıştır edilmiştir.
3. Süpernatant uzaklaştırıldı ve peletler 350 µL vorteks (1 dk) ile karıştırılmıştır.

4. 8 µL proteinaz K eklenir ve karışım 65ºC'de 10 dk inkübe edilmiştir.
5. 13.000 rpm'de 5 dk santrifüj yapılmıştır.
6. Süpernatant yeni 1,5 mL tüpe alınarak.
7. Karışım vortekslendi (1dk).
8. Santrifüjleme 13.000 rpm'de 5 dk süreyle gerçekleştirildi.
9. Döndürme kolonuna 2 mL'lik bir tüp ve bir süper bağlayıcı solüsyon konur. Döndürme sütununa eklenir.
10. Santrifüjleme 12.000 rpm'de 30 sn boyunca gerçekleştirildi.
11. Akış yoluyla atılır ve döndürme kolonu 2 mL'lik toplama tüpüne yeniden yerleştirilir.
12. Döndürme kolonuna 7 adımdaki numune harmanı eklendi ve 12.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
13. Tüpleri toplayın ve döndürme kolonu ile 2 mL'lik yeni bir toplama tüpü takın.
14. Spin kolona yıkama teklifi (500 µL, %80 etanol) eklendi ve 12.000 rpm'de 30 sn santrifüj edildi.
15. Akışlı atılır ve döndürme kolonu 2 mL'lik toplama tüpüne yeniden yerleştirilir.
16. Tekrarlanan yıkama ve santrifüjlü spin-kolon işlemleri 2 dk 13.000 rpm'de çıkarılır.
17. Toplama tüpü atılır ve spin-kolon yeni bir 1,5 mL'lik mikrotüp ile değiştirilir, buna DNA Hidrasyon solüsyonu (50 µL) eklenir.
18. Karışım 1 dk oda sıcaklığında inkübe edilir ve dönüşler 2 dk 13.000 rpm'de düşürülür.
19. Spin kolon atılır ve DNA konsantrasyonu Nanodrop aparatı ile kontrol edilir.
20. DNA, 4°C'de saklanmıştır.

**Agaroz hazırlama**

100 mL 1X TBE tamponunda 1g agaroz kaynatılmış ve 50°C'ye kadar soğutulmuştur. Daha sonra 0,5 µL etidyum bromür (10mg/mL) ilave edilerek hazırlanan tepsiye dökülür ve agaroz sertleştikten sonra çıkarılmıştır (Birch-Hirschfeldd *et al.* 2005).

**Numune hazırlama**

Yaklaşık 7 µL DNA numunesi, 2 µL promofenol mavisi (yükleme boyası 6x) ile birleştirildi. Güç kaynağı, mavi boya jelin sonuna yaklaşana kadar 70V/60 dk'da açıldı. DNA bantları tespit edildi ve bir UV transillüminatör altında incelenmiştir.

**PCR öncesi agaroz elektroforezi**

Elektroforez tankına daldırılmış agaroz ile TBE (1X) tamponu eklendi, her kuyu 5 - 9µL DNA numunesi ile dolduruldu, elektroforez 45 dk 80 V/cm çalıştırılmıştır, ardından UV transillum inatörlü bir jel görüntülenmiştir (Birch-Hirschfeldd *et al*. 2005).

### 3.2.6 Virülans genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tespiti

GDP mannoz 6-dehidrojenaz aljinat (*algD*), elastazı (*lasB*) kodlayan virülans genlerinin prevalansını değerlendirmek için PCR kullanıldı. Çizelge 3.1'de belirtilen spesifik primerler, virülans genleri için amplifiye edilmiştir (Primer seçimine göre) (Wolska and Szweda 2009).

**Çizelge 3.1** Bu çalışmada kullanılan ileri ve geri primerlerin dizisi

| **Astar tipi** | **Primer dizisi** | **Ürün / boyutu** |
|---|---|---|
| İleri algD-F | 5-CGTCTGCCGCGAGATCGGCT-3 | 313bp |
| Ters algD-R | 5- GACCTCGACGGTCTTGCGGA-3 | |
| İleri lasB-F | 5-GGAATGAACGAAGCGTTCTCCGAC-3 | 284 bp |
| Ters lasB-R | 5- TTGGCGTCGACGAACACCTCG-3 | |

**PCR Karışımı**

Polimeraz zincir reaksiyonu karışımı, PCR bileşenlerini içeren kit ile donatılmış tüplerde (PCR), diğer bileşenlerin reaksiyon karışımına Çizelge 3.2'deki gibi eklenmesiyle hazırlanmıştır.

**Çizelge 3.2** PCR karışımı

| Karışım çözeltisi | Yoğunluk | Konsantrasyon |
|---|---|---|
| Hedef DNA | 5 µL | 20 ng/ µL |
| Nükleaz içermeyen su | 5 | - |
| İleri astar | Her primerden 1,25µL | 0,5 µM |
| Ters primerler | Her primerden 1,25µL | 0,5 µM |
| Ana karışım | 12,5 µL | 1X |
| Toplam yoğunluk | 25 µL | 3 ng/ µL |

**PCR Programı**

PCR amplifikasyonu aşağıdaki koşullar altında gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.3).

**Çizelge 3.3** PCR Programı

| Adımlar | Hava sıcaklığı | Zaman | Döngü sayısı |
|---|---|---|---|
| İlk denatürasyon | 94ºC | 3 dk | 1 Döngü |
| Denatürasyon | 94ºC | 30 Saniye | 30 Döngü |
| Tavlama | 55ºC | 1 dk | |
| Uzama | 72º C | 1 dk | |
| Son uzama | 72º C | 5 dk | 1 Döngü |

### 3.2.7 PCR sonrası agaroz jel elektroforezi

Agaroz jel için 1,5 g agaroz, 100 mL TBE Tamponunda (1X) (pH 8) fırın kullanılarak eritilmiş ve ardından 50ºC'ye (0,5 µL) soğutularak içerisine 10 mg/mL Ethidium Bromide uygulanmıştır. Kabarcık oluşumunu önlemek için iyice karıştırılmıştır. Agaroz, ayrılarak oda sıcaklığında katılaşması için agaroz çıkış kuyuları

sertleştikten sonra tarak çıkarılmış ve elektroforez haznesi TBE tamponu (1X) ile doldurulmuştur. Kuyulara DNA örneği (9 µL, 4 ng/µL) izolat yüklenmiş ve bir kuyucukların tamamı DNA ladder (7 µL) ile doldurulmuştur. Elektroforez 80 V/cm'de 45 dk çalıştırılmış, DNA bandının görselleştirilmesi için UV-trans illüminatör kullanılmıştır. Jel dijital kamera kullanılarak fotoğraflanmıştır (Birch-Hirschfeldd *et al*. 2005).

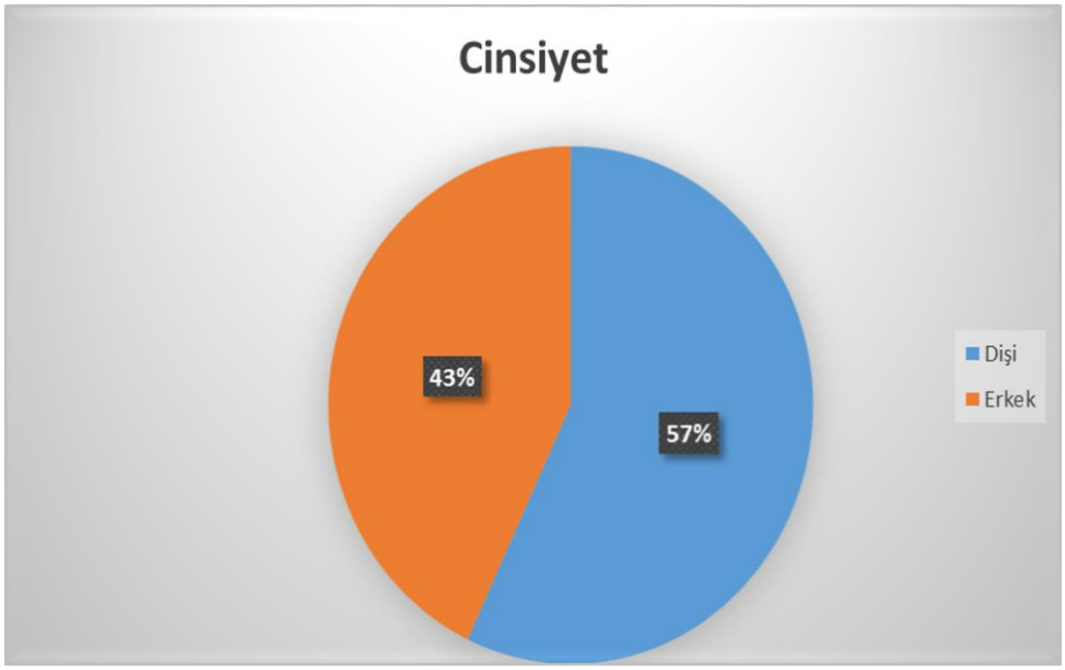
# 4. BULGULAR

## 4.1 *P. aeruginosa* İzolasyonu

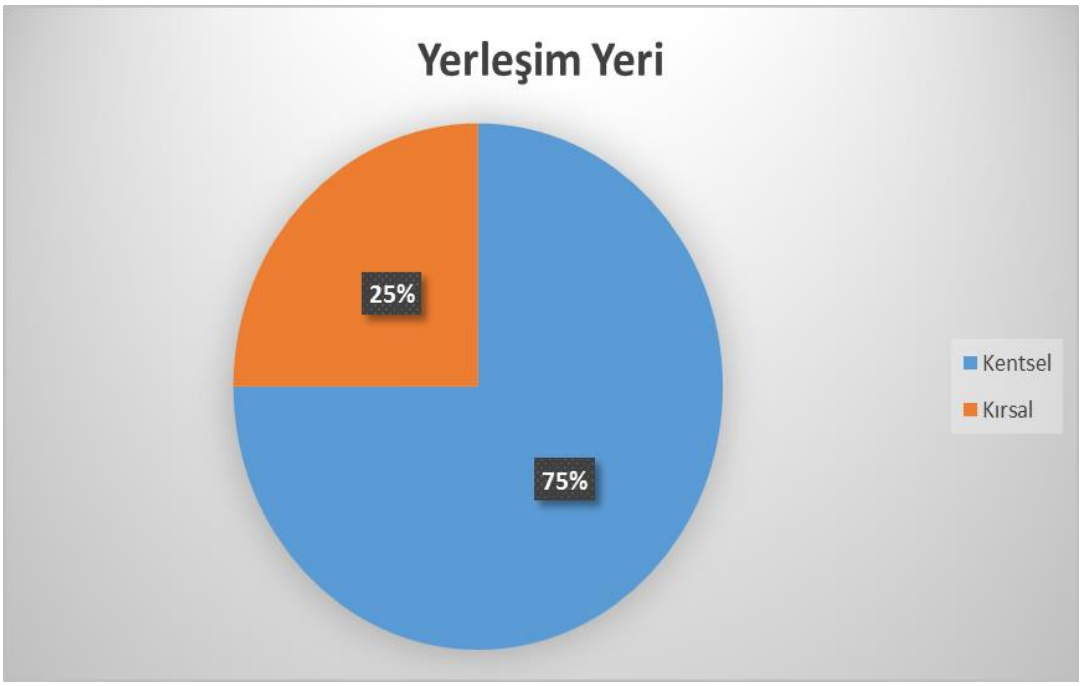
Yanık enfeksiyonlarından alınan örneklerin cinsiyete göre dağılımını ve sayılarını Çizelge 4.1'de ve Şekil 4.1'de gösterilmektedir. Sonuçlar, kadınların enfeksiyon oranının sırasıyla 57 (%57) ve 43 (%43) oranında erkeklerden daha yüksek olduğunu göstermiştir. Yaş gruplarına göre ise en yüksek enfeksiyon oranısırasıyla (1-10) yaş grubunda 32 (%32), ardından yaş grubunda (11 - 20) 25 (%25), sonra yaş grupları (21 - 30), (31 - 40), (41 - 50) ve (51 - 60) sayı ve yüzde olarak 17(%17), 13(%13), 7(7) ve 6 (%6) meydana gelmiştir. Sadece yerleşim yerine gelince, kent sakinleri, sırasıyla 75 (%75) ve (%25) oranlarda ve yüzdelerde kırsalda yaşayanlara göre daha fazla yanıka maruz kalmışlardır (Şekil 4.2). Yaralanma bölgesine ise yüzde, yüzde 25(%25), 26(%26), 27(%27) olmak üzere yüz, üst ekstremite, alt kireç, sırt, göğüs ve karın olmak üzere farklı bölgelerden örnekler alınmıştır (Şekil 4.3).

**Çizelge 4.1** Araştırma örnekleminin demografik özelliklerine göre dağılımı

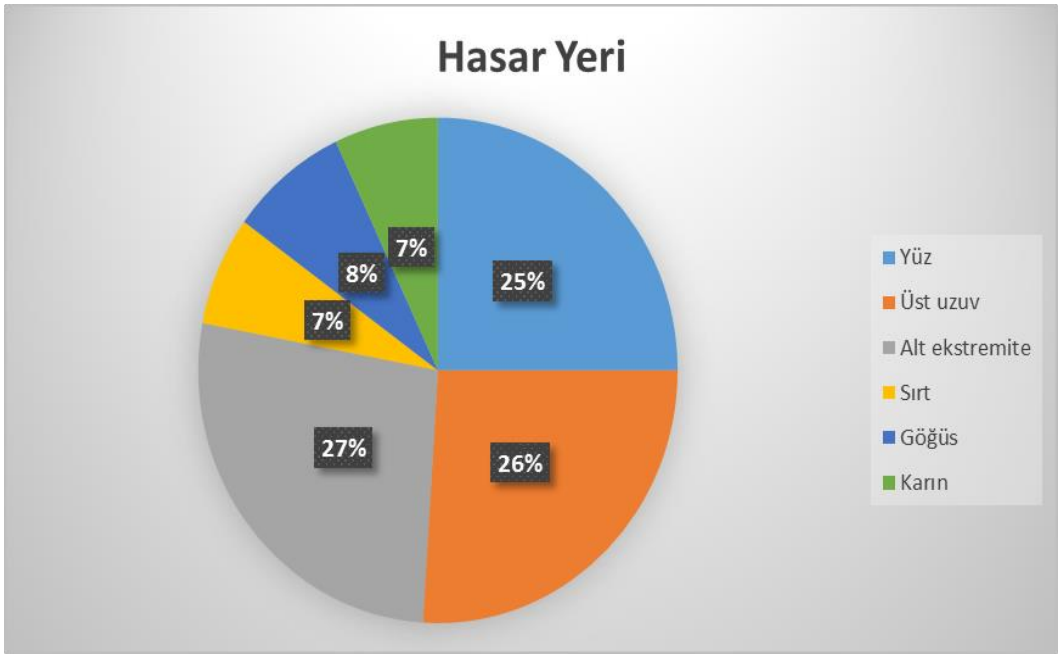
| **Değişkenler** | | **Sıklık** | **Yüzde (%)** | ***Pseudomonas aeruginosa*** | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | **NUMARA** | **%** |
| Cinsiyet | Dişi | 57 | 57 | 17 | % 85 |
| | Erkek | 43 | 43 | 3 | %15 |
| | Toplam | 100 | %100 | 20 | %100 |
| | | * Ki-Kare =3,920 P-Değeri = 0,048 | | ** Ki-Kare = 19,600 P-Değeri = 0,0007 | |
| Yaş | 1-10 | 32 | 32 | 2 | %10 |
| | 11-20 | 25 | 25 | 3 | %15 |
| | 21-30 | 17 | 17 | 7 | %35 |
| | 31-40 | 13 | 13 | 5 | %25 |
| | 41-50 | 7 | 7 | 3 | %15 |
| | 51-60 | 6 | 6 | 0 | %0 |
| | Toplam | 100 | %100 | 20 | %100 |
| | | ** Ki-Kare =37,82 P-Değeri = 0,0009 | | * Ki-Kare = 10,560 P-Değeri = 0,051 | |
| Yerleşim Yeri | Kentsel | 75 | 75 | 5 | %25 |
| | Kırsal | 25 | 25 | 15 | %75 |
| | Toplam | 100 | %100 | 20 | %100 |
| | | ** Ki-Kare =50,00 P-Değeri = 0,0009 | | ** Ki-Kare = 10,000 P-Değeri = 0,002 | |
| Hasar Yeri | Yüz | 25 | 25 | 8 | %40 |
| | Üst uzuv | 26 | 26 | 0 | %0 |
| | Alt ekstremite | 27 | 27 | 0 | %0 |
| | Sırt | 7 | 7 | 4 | %20 |
| | Göğüs | 8 | 8 | 5 | %25 |
| | Karın | 7 | 7 | 3 | %15 |
| | Toplam | 100 | %100 | 20 | %100 |
| | | ** Ki-Kare =37,82 P-Değeri = 0,0008 | | ** Ki-Kare = 17,040 P-Değeri = 0,004 | |




**Şekil 4.1** Cinsiyete göre yanık prevalansı




**Şekil 4.2** Yerleşim yerine göre yanık yaygınlığı




**Şekil 4.3** Yayma bölgesine göre yanık prevalansı

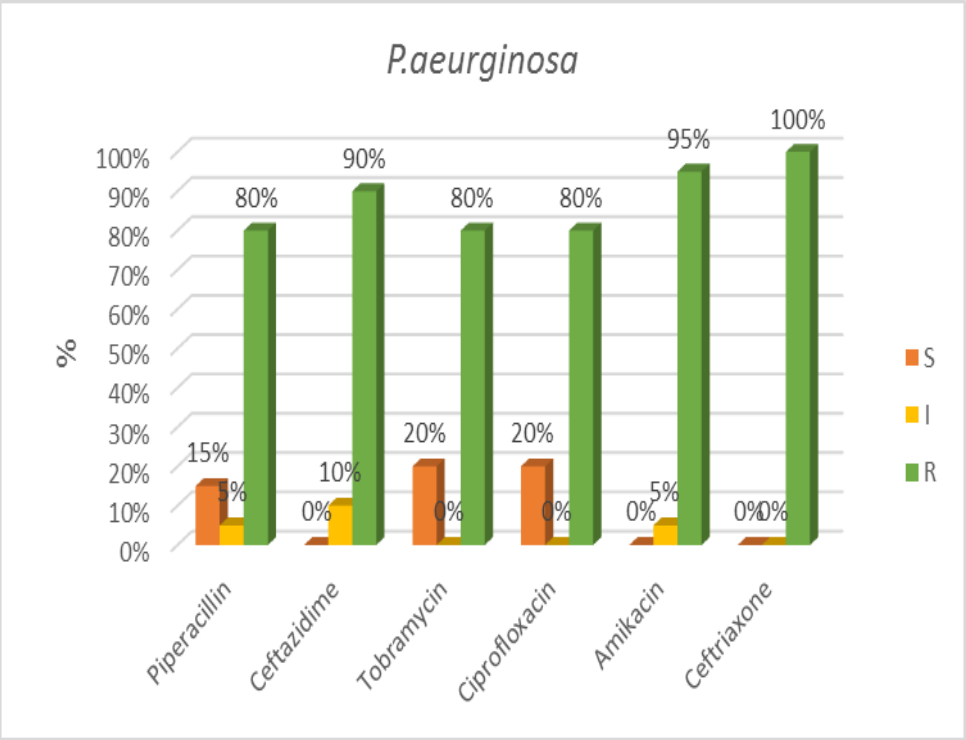
## 4.2 *P. aeruginosa* İzolatlarının Antibiyotiklere Karşı Direnci

*Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antibiyotik direnci Çizelge 4.2'de ifade edilmiştir 6 farklı çeşit antibiyotik kullanımının etkileri şu şekilde olmuştur. Piperasilin, tobramisin ve siprofloksasin %80, seftazidim %90, amikasin, %95 ve seftriakson %100 oranında meydana gelmiştir (Şekil 4.4).

**Çizelge 4.2** Bakterilerin antibiyotiklere direncinin dağılımı

| **Antibiyotikler** | **İçerik (µg)** | ***P. aeurginosa*** | | |
|---|---|---|---|---|
| | | **S* (%)** | **I* (%)** | **R*(%)** |
| Piperasilin | 100 | 15 | 5 | 80 |
| Seftazidim | 30 | 0 | 10 | 90 |
| Tobramisin | 10 | 20 | 0 | 80 |
| Siprofloksasin | 5 | 20 | 0 | 80 |
| Amikasin | 30 | 0 | 5 | 95 |
| Seftriakson | 30 | 0 | 0 | 100 |

*S=duyarlı, I=orta, R=direnç



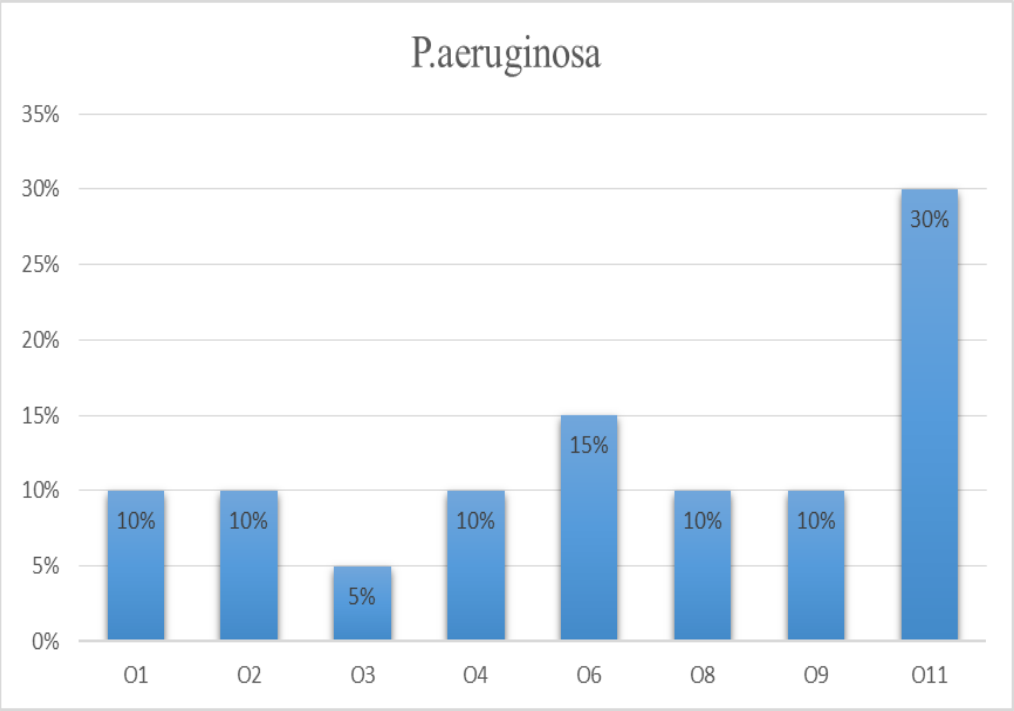

**Şekil 4.4** Antibiyotiklere karşı *P. aeruginosa* direncinin dağılımı

### 4.3 *P. aeruginosa*'nın Serotiplendirilmesi

Enfekte olan hastalardan alınan 20 adet *P. aeruginosa* izolat örneğinde, 8 tane serotip teşhisi yapılmıştır (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.5). O antijen gruplarının dağılımı şu şekildedir: $O_1$ 2 (%10), $O_2$ 2 (%10), $O_3$ 1(5), $O_4$ 2(%10), $O_6$ 3(%15), $O_8$ 2(%10), $O_9$ 2(%10), $O_{11}$ 6 (%30) şeklinde olmuştur.

**Çizelge 4.3** *P. aeruginosa* serotipinin dağılımı

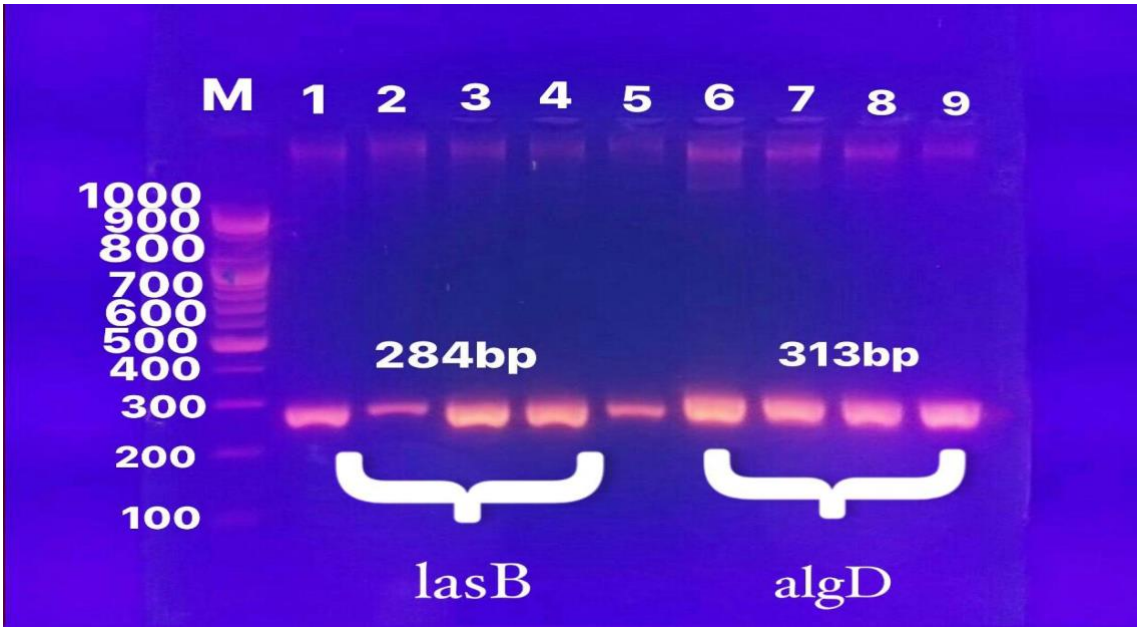
| Serotip | Sayı | Yüzde % |
|---|---|---|
| $O_1$ | 2 | %10 |
| $O_2$ | 2 | %10 |
| $O_3$ | 1 | %5 |
| $O_4$ | 2 | %10 |
| $O_6$ | 3 | %15 |
| $O_8$ | 2 | %10 |
| $O_9$ | 2 | %10 |
| $O_{11}$ | 6 | %30 |




**Şekil 4.5** *P. aeruginosa* serotiplendirmesinin dağılımı

### 4.4 *P. aeruginosa*'nın Moleküler Tanımlanması

Standart PCR ile algD geni amplifiye edilmiştir ve algD geninin (Geçiş) A>G kodu ACT\GCT hizalama sonucu *P. aeruginosa* için bir varyasyona sahiptir (Şekil 4.6). Gen Bankasından, algD dizisinin *Pseudomonas aeruginosa* suşu PA0750 kromozomunun öznesi ile %99 uyumluluğa sahip olduğunu, NCBI'de tam genom Dizi Kimliği: CP034908.2, erişim numarasının Şekil 4.7'da görüldüğü gibi LC646540 olduğunu bulunmuştur.




**Şekil 4.6** PCR elektroforezi görüntüsü. M:DNA ladder (1-9), lasB ve algD geni içeren *P. aeruginosa*

```
Alignments:
>Pseudomonas aeruginosa strain PA0750 chromosome, complete genome
Sequence ID: CP034908.2 Length: 6241875
Range 1: 3948825 to 3949045

Score:403 bits(218), Expect:3e-108,
Identities:220/221(99%),  Gaps:0/221(0%), Strand: Plus/Plus

Query  1        GCGCAGCACCGTGCTGCCGGGCACCGTCAACAACGTGGTGATCCCGCTGATCGAGGACTG  60
Sbjct  3948825  ...........A.....................................................  3948884

Query  61       CTCGGGCAAGAAGGCCGGGGTCGACTTCGGCGTCGGCACCAACCCCGAATTCCTCCGCGA  120
Sbjct  3948885  ...........................................................  3948944

Query  121      GAGCACCGCGATCAAGGACTACGACTTCCCGCCGATGACCGTGATCGGCGAACTGGACAA  180
Sbjct  3948945  ...........................................................  3949004

Query  181      GCAGACCGGCGACCTTCTCGAGGAAATCTACCGCGAGCTGG  221
Sbjct  3949005  ........................................  3949045
```

**Şekil 4.7** *P. aeruginosa*'nın algD geninin hizalama analizi Sorgu, numuneyi temsil eder; Konu, Ulusal Merkez Biyoteknoloji Bilgilerinin bir veritabanını temsil eder

lasB geni, bir varyasyon T>C kodu TGA\CGA'ya sahip *P. aeruginosa* için lasB geninin geleneksel hizalama sonucunun PCR ileçoğaltılmıştır. Gen Bankasından, lasB dizisinin *P. aeruginosa* suşu PAC6 kromozomunun öznesi ile %99 uyumluluğa sahip olduğunu, NCBI'de tam genom Dizi Kimliği: CP053705.1, erişim numarasının LC646541 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.8). Sonuçlar, incelenen 5 adet *Pseudomonas aeruginosa* izolatının lasB ve algD genlerine sahip olduğunu göstermiştir. Amplifiye edilmiş (çoğaltılmış) bantlar, DNA merdiveninin hacim bant indeksi ile karşılaştırıldığında, elde edilen lasB bantlarının 284 baz çifti moleküler ağırlığa ve algD'nin 313baz çifti sahip oldukları bulunmuştur (Şekil 4.6).

```
>Pseudomonas aeruginosa strain PAC6 chromosome, complete genome
Sequence ID: CP053705.1 Length: 6543892
Range 1: 1391327 to 1391532

Score:375 bits(203), Expect:5e-100,
Identities:205/206(99%),  Gaps:0/206(0%), Strand: Plus/Plus

Query  1        AACGACTTCCTGATCGGCTACGACATCAAGAAGGGCAGCGGTGCGTTGCGCTACATGGAC  60
Sbjct  1391327  ............................................................  1391386

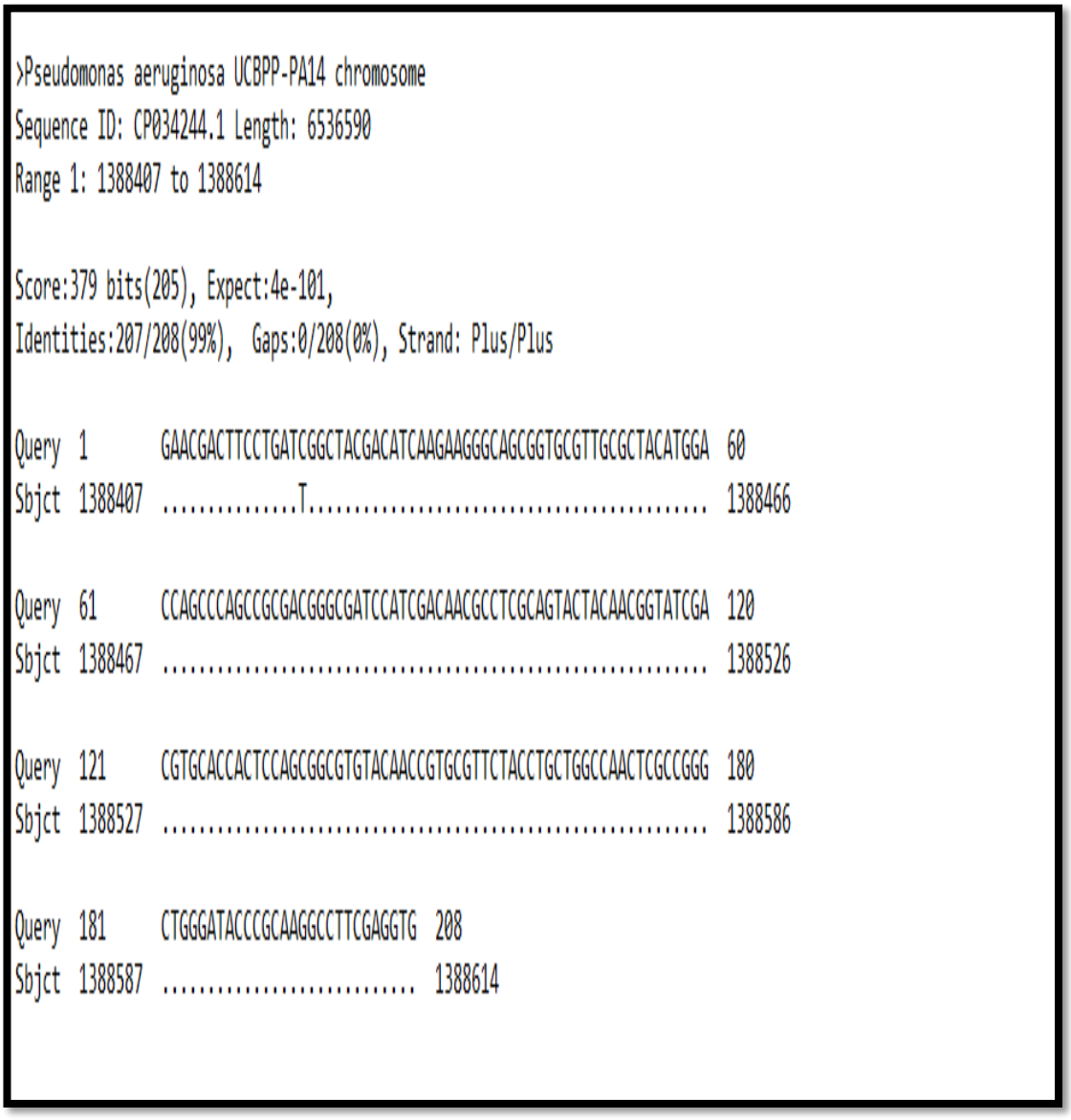
Query  61       CAGCCCAGCCGCGACGGGCGATCCATCGACAACGCCTCGCAGTACTACAACGGTATCGAC  120
Sbjct  1391387  ...........T................................................  1391446

Query  121      GTGCACCACTCCAGCGGCGTGTACAACCGTGCGTTCTACCTGCTGGCCAACTCGCCGGGC  180
Sbjct  1391447  ............................................................  1391506

Query  181      TGGGATACCCGCAAGGCCTTCGAGGT  206
Sbjct  1391507  .........................  1391532
```

**Şekil 4.8** *P. aeruginosa*'nın lasB geninin hizalama analizi Sorgu, numuneyi temsil eder; Konu, Ulusal Merkez Biyoteknoloji Bilgilerinin bir veritabanını temsil eder

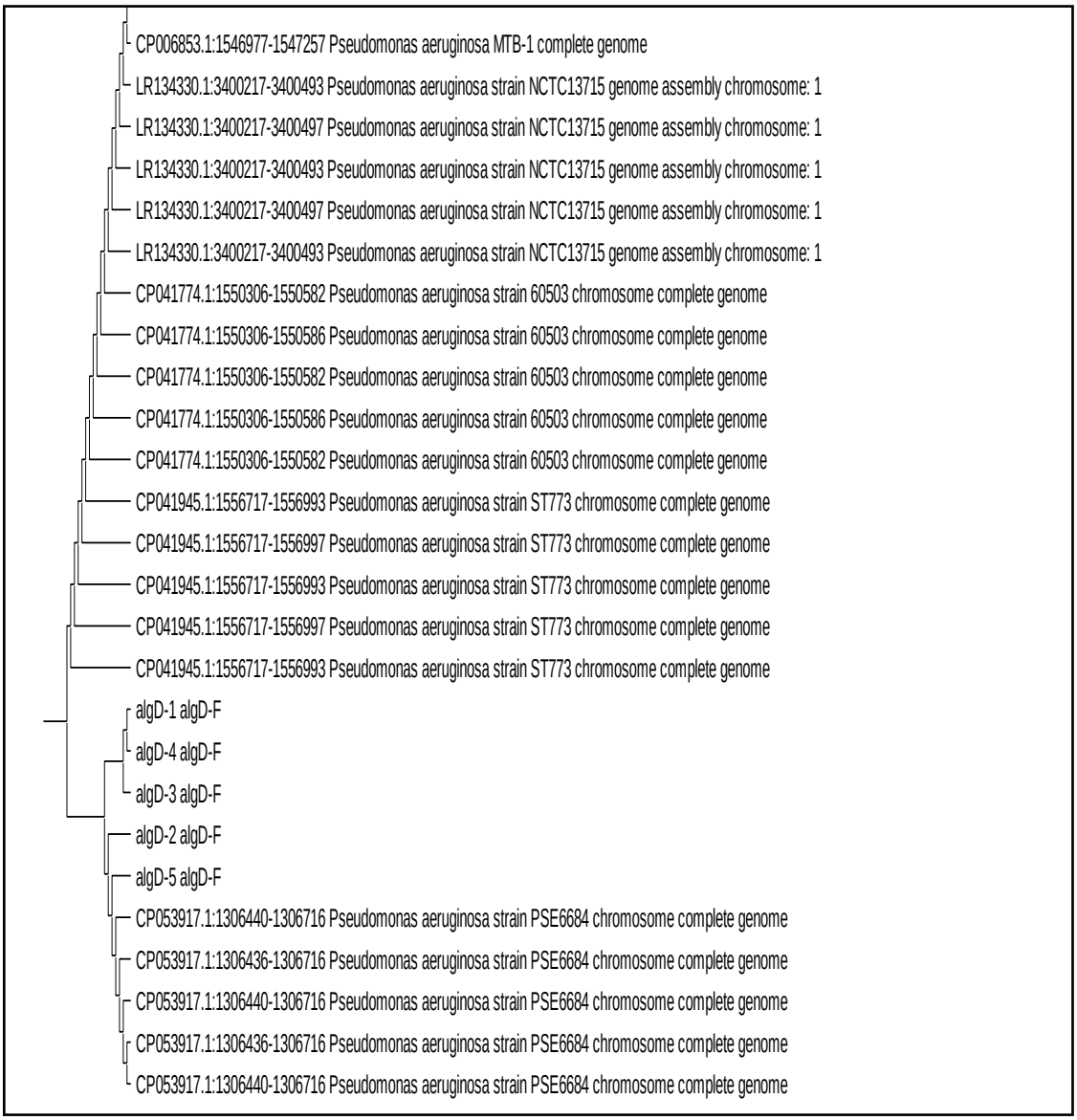
lasB geni, bir varyasyon T>C kodu TGG\CGG'ye sahip *P. aeruginosa* için lasB geninin geleneksel hizalama sonucunun PCR ileçoğaltılmıştır. Gen Bankasından, lasB dizisinin *P. aeruginosa* suşu UCBPP-PA14 kromozomu öznesi ile %99 uyumluluğa sahip olduğunu NCBI'de tam genom Dizi Kimliği: CP034244.1, erişim numarasının LC646542 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.9).




**Şekil 4.9** *P. aeruginosa*'nın lasB geninin hizalama analizi Sorgu, numuneyi temsil eder; Konu, Ulusal Merkez Biyoteknoloji Bilgilerinin bir veritabanını temsil eder

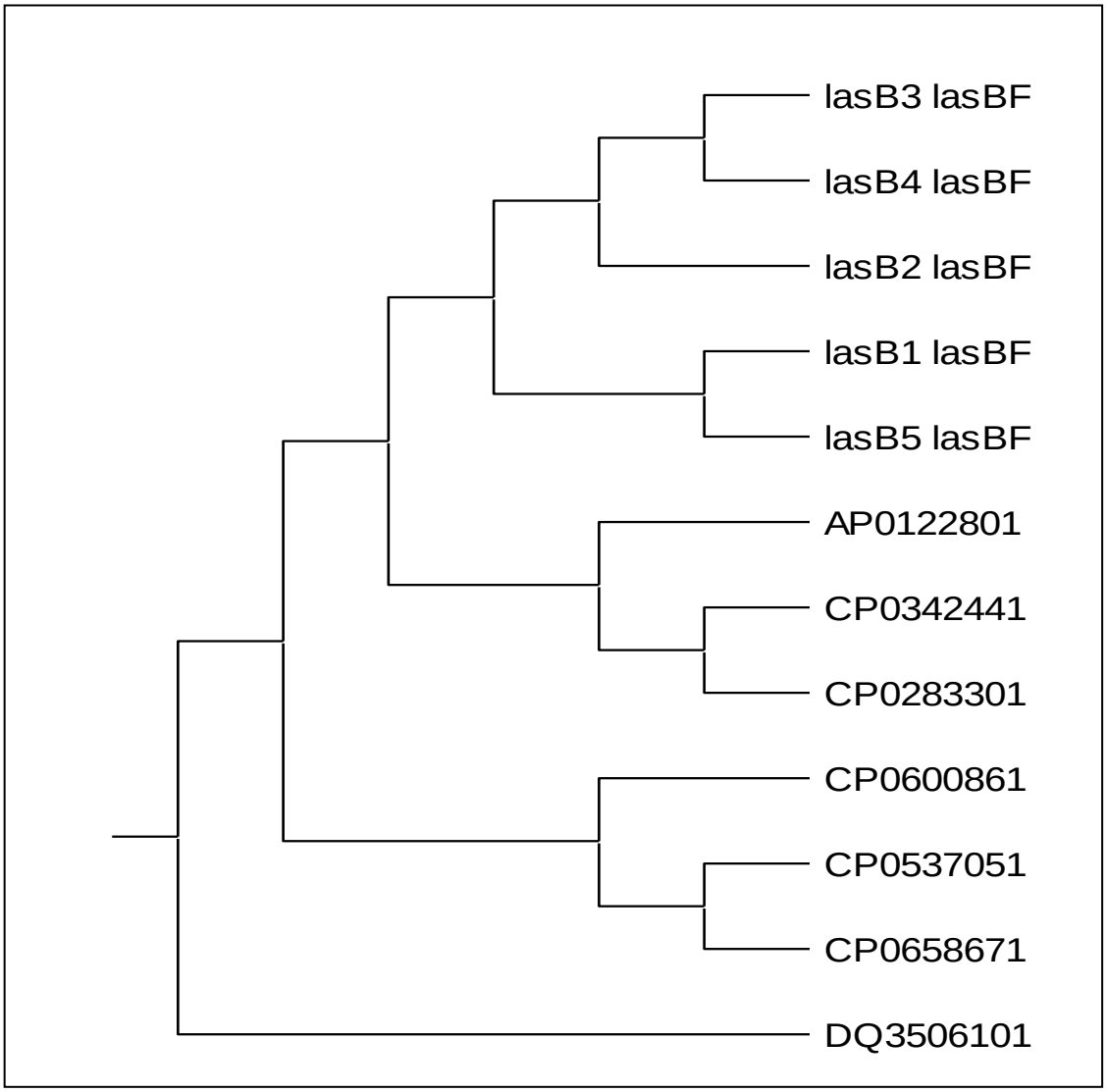
## 4.5 Filogenetik Soy Ağacı Analizi

Filogenetik soy ağacı, algD geni (313bp) için çıkarılmıştır. Sonuçlar birleştirilerek, karşılaştırma için *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin global izolatları NCBI web sitesinden alınan 21 sekans ile uygulanmıştır. Bu genetik ağacın, Şekil 4.10'da da görüldüğü gibi sadece bir tür *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinden oluştuğu bulunmuştur.




**Şekil 4.10** *Pseudomonas aeruginosa*'da algD (313bp) geni varyasyonları için Filogenetik soy ağacı analizi

Filogenetik soy ağacı lasB geni (284bp) için de çıkarılmıştır. Sonuçlar birleştirilerek, karşılaştırma amacıyla *P. aeruginosa* bakterisinin global izolatları için NCBI web sitesindeki 7 adet sekans kullanılmıştır. Bu genetik ağacın, Şekil 4.11'de de görüldüğü gibi yalnızca bir tür *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinden oluştuğu bulunmuştur.




**Şekil 4.11** *Pseudomonas aeruginosa*'da lasB (284bp) geni varyasyonları için Filogenetik soy ağacı analizi

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

*P. aeruginosa*, yayılımı ve şiddetli patogenezi nedeniyle Pseudomonas cinsinin en önemli türlerinden biridir. Fırsatçı bir patojen olup, yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) özellikle yanık enfeksiyonun ana nedenidir (Patil *et al.* 2015). Çalışmalar, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, ölümlerin %26'sının Sepsis septisemisi ile ilgili yanık yaralanmaları ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Al-Aali 2016). Sonuçlar, yanık enfeksiyonlarının izolasyon oranının %23,6 olduğu (Salem 2014)'ün sonuçlarına benzerliği ile dikkat çekicidir.

(Al-Azzawi and Abdullah 2018)'nin yılındaki çalışmalarında, Bağdat hastanelerinde izolasyon oranının yaklaşık olarak %76 olması, *P. aeruginosa'*nın yanık yaralanmalarından izole edilen en yaygın bakteri türü olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, araştırmacı (Pruitt *et al.* 2001)'de belirtilenlere yakındır. Amerika Birleşik Devletleri'nde %51,2'lik bir yüzde ile meydana gelen ve izolasyon oranlarındaki farklılık sebeplerinden bazılarının örnek kaynağı, örnek sayısı, yanıkların yeri ve yöntemi ile sterilizasyon uygulamaları yanı sıra antibiyotiklerin yaygın ve gelişigüzel kullanılması bu bakteriye karşı direncin ortaya çıkmasında büyük rol oynamıştır (Al-Musafir 2007).

Erkeklerde %15'e kıyasla, kadınlarda %85 gibi daha yüksek bir *P. aeruginosa* enfeksiyon oranı kaydedilmiştir (Çizelge 4.1). Çalışmanın sonuçları, Nasiriye şehrinde (Abdul-Wahid and Almohana 2014) yılında yapılan çalışma ile aynı sonuçları göstermemiştir. (Al-Salihi and Hameed 2014) tarafından yapılan çalışmada, kadınlarda enfeksiyon oranı %61, erkeklerde %41 meydana gelmiştir. Kerkük şehrinde, kadınlarda enfeksiyon oranının %52,98 olurken erkeklerde ise %47,12 olduğunu ortaya koymuşlardır. (Bibi *et al.* 2015)'te de Pakistan'da, kadınlarda enfeksiyon oranı daha yüksek olarak bulunmuştur. (Anil and Shahid 2013)'te Nepal'de de enfeksiyon oranı kadınlarda %55,17, erkeklerde %44.83 bulurken, (Khan *et al.* 2008) Erbil'de yaptığı çalışmada çalışma sonuçları bu oranı desteklemeyip, kadınlarda enfeksiyon oranının %38,2, erkeklerde ise %61,8 olduğunu ifade etmiştir. Çalışmada, en yüksek enfeksiyon oranını %35 ile (21-30) yaş grubunda ve bunu %25 ile (31-40) yaş grubunda kaydetmiştir. Bunun nedeni, bu grupların çalışan kesimleri temsil etmesidir. Birçok tehlikeye maruz kalabilen, patojenik

faktörlerin büyümesini ve evrimini teşvik eden yaş grupları, (Prakash *et al.* 2012) tarafından yapılan çalışmada elde edilen verilere göre en yüksek enfeksiyon oranı (21-40) yaş grubunda %43,42 oranında meydana gelirken (Abdul-Wahid and Almohana 2014)'te bu oran %47,7 olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada, yüzdeki *P. aeruginosa* enfeksiyon oranı %40 olarak meydana gelirken, bunu sırasıyla %25, %20 ve %15 ile göğüs, sırt ve karın bölgeleri takip etmiştir.

Bu sonuçlar (Noore and Shareef 2005)'in tüm izolatların seftazidime (%81), piperasilin (%76), Siprofloksasin ve tobramisine (%74), amikasine (%70) direnç gösterdiğini bulduğu çalışma sonucuna yakındır.

Çalışmamızda Tobramisine dirençlilik yüzdesi %80 olarak meydana gelmiştir. (AL-Khazali 2009)'da da benzer bir bulguya rastlamış ve onların çalışmasında, Bağdat'ta direnç yüzdesinin %80.7 olduğunu belirtilmiştir. Hindistan'da ise bu direncin %75 olarak ortaya çıkmıştır (Bhatt *et al.* 2018).

Siprofloksasine dirençlilik yüzdesi çalışmamızda %80 olarak meydana gelmiştir. Elde ettiğimiz sonuç (Abdulammer 2018)'in Bağdat'ta %58,13, (Al Doory 2012) %20,6 ve (Al-Mayyahi 2018) %26,98 olarak elde ettikleri sonuçlardan farklı olarak meydanagelmiştir.

(Al-Arnaouti 2018)'nin yılındaki çalışmasında, Seftazidime karşı direncin %81.3 olduğunu *P. aeruginosa*'nın 75 izolatında göstermiştir. Mısır'da 250 örnekte *P. aeruginosa* bakteri izolatı üzerinde, bu antibiyotiğe direncin %86 olduğunuda (Hassuna *et al.* 2015)'te belirtmiştir.

*P. aeruginosa*'nın Tobramisine %79,3 ve Amikasine %70 direnci olduğuda (Morita *et al.* 2012)'de tarafından gösterilmiştir.

(Khorsheed and Zain Al Abdeen 2017), *P. aeruginosa'*nın 28 tane izolasyonu üzerine yaptıkları çalışmada, % 64 anti-amikasin direncine sahip olduğu tespit edilmiştir. Lokal izolatlardan aminoglikozit grubu, Aminoglikozit'e direnç göstermiştir. Aminoglikozitlere karşı direnç *P. aeruginosa* bakterisinin üretilmesinden kaynaklanmaktadır. Fosfotransferaz ve N-asetil transferaz gibi enzimlerin transdüksiyonundan sorumludur. Direnç oluşumuna ek olarak, membran geçirgenliğindeki bir değişiklik ve kromozomal mutasyonların ortaya çıkması nedeniyle de (Ochoa *et al.* 2013), bu enzimlerin genleri plazmid veya kromozom üzerinde taşınmaktadır (Vaez *et al.* 2017).

Çalışmamızda *P. aeruginosa* izolatları, Ciprofloxacin içeren kinolon antimikrobiyallerine direnç gösterirken, (Al-Azzawi and Abdullah 2018)'in 23 izolat üzerinde yaptığı çalışmada ulaştığı sonuçlar, Ciprofloxacin'e direnci belirleyen *P. aeruginosa* bakterisi için %74,72 olmuştur. (Alnuimi and Alsaffawi 2021) yılında 187 bakteri izolatı üzerinde yaptıkları çalışmada ise *P. aeruginosa* bakterisinin Ciprofloxacin'e %71,1 dirençli olduğu belirlenmiştir.

*P. aeruginosa*'nın 20 izolatı, Çizelge 4.3'te de gösterildiği gibi, enfekte hastalardan alınan örneklerde 8 tane serotip tanınmıştır ki bunlar; 1(5%), $O_4$ 2(%10), $O_6$ 3(%15), $O_8$ 2(%10), $O_9$ 2(%10), $O_{11}$ 6 (%30) olarak ortay çıkmıştır. *P. aeruginosa'*nın tüm serotipleri, herhangi bir klinik veya hastane örneği ile spesifik olarak sınırlı değildir. Tam aksine tüm örneklerde yaygın olarak belirlenmişti. Oysa *P. aeruginosa* serotipinin prevalansı bir hastaneden diğerine ve bir ülkeden diğerine değişiklik gösterebilmektedir.

Başka bir çalışmada, (Jaafar *et al.* 2014) en iyi serotip yüzdesinin O16 (%28,6) ve $O_{11}$ (%20) olduğunu, en düşük serotip yüzdesinin ise $O_4$ (%5,7) olduğunu kaydetmiştir. Bizim çalışmamızda ise $O_3$ serotiplerinin en düşük yüzdesi (%5) olarak meydana gelmişti. Bu oran (Hamze and Sarkis 1998)'in Fransa'da yaptığı en yaygın iki serotipin $O_6$ ve $O_{11}$ serotipleri olduğunu gösteren çalışma ile uyumludur. *P. aeruginosa* klinik izolatlarının serotiplenmesi, herhangi bir hastanede, hastane enfeksiyonlarının epidemiyolojisinin anlaşılmasına yardımcı olabilir (Hamze *et al.* 2012). Bu bulgu önceki raporlarla uyumludur (Lomholt and Schlotterer 2001).

Bu çalışmada, *P. aeruginosa*'nın 20 adet izolatında tespit için *lasB* ve *algD* genleri kullanılmıştır. *P. aeruginosa'*nın sahip olduğu iki gen (*lasB* ve *algD*), Thermocycler koşullarına göre DNA amplifikasyonu ile PCR ile belirlenmiştir. Bu iki geni saptamak için özel primerler kullanılarak tüm bakteri izolatlarında PCR uygulanmıştır. Sonuçta, incelenen *P. aeruginosa* izolatlarından 5 tanesinin *lasB* ve *algD* genlerine sahip olduğu ortaya konulmuştur. Elde edilen bantlara göre *lasB* bir molekül ağırlığına (284 baz çift) olmasına karşın ve *algD* bir molekül ağırlığına (313 baz çifti) karşılık gelmiştir.

(Pournajaf *et al.* 2018) çalışmasında, *P. aeruginosa'*nın çalışılan tüm izolatlarında lasB geninin prevalansını bulmuştur. Bu sonuç *P. aeruginosa* bakterilerinin, lasB genine sahip olduğunun bulunmasıyla (Shi *et al.* 2012) uyumludur. (Sabharwal *et al.* 2014) ise *P. aeruginosa'*nın lasB genine sahip olduğunu ifade etmişlerdir.

Tüm klinik izolatlarda lasB geninin yaygınlığı, çeşitli ortamlarda *P. aeruginosa*'nın hayatta kalması için LasB faktörünün önemine işaret eder.

LasB, elastaz enziminin üretimini kodladığı için, *P. aeruginosa* bakterilerinin protein elastini parçalamasına yardımcı olan önemli bir virülans faktörüdür ve bu enzim, enfeksiyon aşamasında bakterilerinin virülansının belirlenmesinde önemli bir role sahiptir (Bai *et al.* 2011).

Sonuçlar, *P. aeruginosa* izolatlarının %65 oranında algD genine sahip olduğunu göstermiştir ve bu sonuç, (Wolska and Szweda 2009)'un sonuçları ile tutarlı bulunurken (Al-Shwaikh *et al.* 2015) bu sonucu %63 olarak bulmuştur.

*AlgD* eksopolisakarid ve tabaka, yüksek viskoziteye sahip aljinat tabakasının üretimi için gen kodlamaktadır (Tan *et al.* 2014).

Son söz olarak; Yanık hastalarından toplanan 100 adet numunede 20 tane *Pseudomonas aeruginosa* örneği teşhis edilmiştir. *P. aeruginosa* bakterisi piperasilin, seftazidim, tobramisin ve siprofloksasin, amikasin ve seftriakson antibiyotiklerine karşı dirençlidir.

Çalışmada serotiplendirme, *P. aeruginosa* klinik izolatları, her hastanede hastane enfeksiyonlarının epidemiyolojisinin anlaşılmasına yardımcı olabilir. Ayrıca; salgın suşları ayırt etmenin en etkili yöntemidir. *P. aeruginosa* bakterilerinin serotiplendirilmesi sonucunda en yüksek serotip yüzdesi $O_{11}$(%30) ve en düşük serotip yüzdesi $O_3$(%5) olarak bulunmuştur. algD geninin dizileme sonucu, bir varyasyon olan (Geçiş)A>G *P. aeruginosa* için, lasB geninin dizileme sonucu, bir varyasyon olan T>C *P. aeruginosa* için gösterir. Filogenetik ağaç, algD geni (313bp) ve lasB geni (284bp) analiz edildiğinde, bu Filogenetik ağacın yalnızca bir tür *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinden oluştuğu bulunmuştur.

## KAYNAKLAR


Abdulammer, H. H. 2018. Detection of quinolones chromosomal resistance in Pseudomonas aeruginosa isolated from wounds infection. MSc. Thesis, University of Baghdad. 118 sayfa, Baghdad

AbdulWahab, A., Taj-Aldeen, S. J., Ibrahim, E. B., Talaq, E., Abu-Madi, M. and Fotedar, R. 2015. Discrepancy in MALDI-TOF MS identification of uncommon Gram-negative bacteria from lower respiratory secretions in patients with cystic fibrosis. Infection and Drug Resistance, 8: 83.

Abdul-Wahid, A. A. and Almohana, A. M. 2014. Dissemination of aminoglycosides resistance in pseudomonas aeruginosa ısolates in al-nasseryia hospitals pseudomonas aeruginosa. Kufa Journal for Nursing Sciences, 5: 1-11.

Al Doory, I. A. 2012. A diagnostic study of Pseudomonas aeruginosa Isolated from contaminated burns and wounds using cultural and molecular methods. MSc. thesis. Baghdad University. 98 page, Baghdad.

Al-Aali, K. Y. 2016. Microbial profie of burn wound ınfectins in burn patiants. Microbiol., 7: 1-9.

Al-Arnaouti, A. F. 2018. Study of genotyping and some virulence factors of Pseudomonas aeruginosa. MSc. Thesis, Baghdad University, 123 page, Baghdad.

Al-Azzawi, S. N. and Abdullah, R. M. 2018. Study of the resistance of P. aeruginosa isolated from wounds and burns for some disinfects and antiseptic from some baghdad hospitals. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 10: 1481-1484.

Alby, K., Gilligan, P. H. and Miller, M. B. 2013. Comparison of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (maldi-tof) mass spectrometry platforms for the identification of Gram-negative rods from patients with cystic fibrosis. Journal of Clinical Microbiology, 51: 3852 - 3854.

Ali Khan, J., Zafari, I., Saeed, U. and Kalsoom, F. 2008. Prevalence and pattern of Pseudomonas aeruginosa against various antibiotics. Pak. J. Pharm. Sci., 21: 311-315.

AL-Khazali, K. A. 2009. Resistance of Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureusisolated from burns and wounds infections to antibiotics and some disinfectants. MSC. Thesis, AL- Mustansriyia University, 114 page, Baghdad.

AL-Mayyahi, A. W. 2018. Detection of (exoT, exoY, exo SandexoU) Genes in Pseudomonas aeruginosa ısolate from different clinical sources. MSc. Thesis, University of Baghdad, 113 page, Baghdad.

Al-Musafir, H. 2007. Effect of Acinetobacterbaumannii adhesion agents onliving and nonliving surfaces. MSc. Thesis, Al-Mustansiriya University, 108 Page, Baghdad.

Alnuimi, A. A. and Alsaffawi, N. T. 2021. Evaluation of inhibitory and plasmid curing activity of citrus aurantium L fruit extracts against some bacteria isolated from urinary tract infections. Journal of Education and Science, 30: 236-251.

Al-Salihi, S. S. and Hameed, B. H. 2014. Antibiosis resistant of Pseudomonas aeruginosa isolated from different clinical specimens. Kirkuk University Journal, 9: 15-28.

Al-Shwaikh, R. M. and Alornaaouti, A. F. 2015. Detection of tox A gene in Pseudomonas aeruginosa that isolates from different clinical cases by using PCR. Ibn AL-Haitham Journal for Pure and Applied Science, 9: 26-30.

Anil, C. and Shahid, R. M. 2013. Antimicrobial susceptibility patterns of Pseudomonas aeruginosa clinical isolates at a tertiary care hospital in Kathmandu, Nepal. Asian J. Pharm. Clin. Res., 6: 235-8.

Anthony, M., Rose, B., Pegler, M. B., Elkins, M., Service, H., Thamotharampillai, K., Watson, J., Robinson, M., Bye, P. and Merlino, J. 2002. Genetic analysis of Pseudomonas aeruginosa isolates from the sputa of Australian adult cystic fibrosis patients. Journal of Clinical Microbiology, 40: 2772–2778.

Anuj, S. N., Whiley, D. M., Kidd, T. J., Bell, S. C., Wainwright, C. E., Nissen, M. D. and Sloots, T. P. 2009. Identification of Pseudomonas aeruginosa by a duplex real-time polymerase chain reaction assay targeting the ecfX and the gyrB genes. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 63: 127–131.

Bai, F., Xu, H., Zhang, Q., Qi, X., Mou, R., Bai, G. and Qiao, M. 2011. Functional characterization of pfm in protein secretion and lung infection of Pseudomonas aeruginosa. Canadian Journal of Microbiology, 57: 829-837.

Baron, E. J. 2001. Rapid identification of bacteria and yeast: summary of a national committee for clinical laboratory standards proposed guideline. Clinical Infectious Diseases, 33: 220-225.

Baron, E. J., Peterson, L. R. and Finegold, S. M. 1994. Bailey and Scott's diagnostic microbiology, pp. 364-371. Mosby.

Bayer, A. S., Eftekhar, F., Tu, J., Nast, C. C., and Speert, D. P. 1990. Oxygen-dependent up-regulation of mucoid exopolysaccharide (alginate) production in Pseudomonas aeruginosa. Infection and Immunity, 58: 1344-1349.

Bhatt, P., Rathi, K. R., Hazra, S., Sharma , A. and Shete, V. 2018. Prevalence of multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa infection in burn patients at a tertiary care centre. Indian Journal of Burns, 23: 56-59.

Bibi, K., Khattak, M., Ahmad, N., Ishaq, M. S. and Muhammad, A. 2015. Isolation, identification and antimicrobial analysis of Pseudomonas aeruginosa from different clinical samples and to study the interactions of target and resistant proteins with cefepime and imipenem through docking. KJMS, 8: 30-37.

Birch-Hirschfeldd, E., Line, S. B., Lina, W. C., Fritzscheb, H. and Kana, L. S. 2005. Studies on the Ex ten sion of Se quence-independence and the En hance ment of DNA Tri plex For ma tion. Journal of the Chinese Chemical Society, 52: 375-381.

Bland, J. M. and Altman, D. 1986. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. The Lancet, 327: 307-310.

Boykin, J. V., Eriksson, E. and Pittman, R. N. 1980. In vivo microcirculation of a scald burn and the progression of postburn dermal ischemia. Plastic and Reconstructive Surgery, 66: 191-198.

Brisse, S., Milatovic, D., Fluit, A. C., Kusters, K., Toelstra, A., Verhoef, J. and Schmitz, F. J. 2000. Molecular surveillance of European quinolone-resistant clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter spp. using automated ribotyping. Journal of Clinical Microbiology, 38: 3636-3645.

Burns, J. L. and Rolain, J. M. 2014. Culture-based diagnostic microbiology in cystic fibrosis. Journal of Cystic Fibrosis, 13: 1-9.

Collee, J. G., Miles, R. S. and Watt, B. 1996. Tests for identification of bacteria. Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology, 14: 131-49.

Costerton, J. W., Stewart, P. S. and Greenberg, E. P. 1999. Bacterial biofilms. Science, 284: 1318-1322.

da Silva Filho, L. V., Levi, C. N., Oda Bento, S. R., da Silva Ramos, V. and Rozov, T. 1999. PCR identification of Pseudomonas aeruginosa and direct detection in clinical samples from cystic fibrosis patients. J. Med. Microbio., 48: 357-361.

Dalton, K. R., Rock, C., Carroll, K. C. and Davis, M. F. 2020. One Health in hospitals. Antimicrobial Resistance and Infection Control, 9: 1-17.

Damkiær, S., Yang, L., Molin, S. and Jelsbak, L. 2013. Evolutionary remodeling of global regulatory networks during long-term bacterial adaptation to human hosts. Proceedings of the National Academy of Sciences, 110: 7766–7771.

De Vet, H. C., Terwee, C. B., Knol, D. L. and Bouter, L. M. 2006. When to use agreement versus reliability measures. Journal of Clinical Epidemiology, 59: 1033-1039.

De Vos, D., Lim Jr., J. P., Pirnay, M., Struelens, C. V. Andenvelde, L. Duinslaeger, A. Vanderkelen, A. and Cornelis, P. 1997. Direct detection and identification of Pseudomonas aeruginosa in clinical samples such as skin biopsy specimens and expectorations by multiplex PCR based on two outer membrane lipoprotein genes, oprI and oprL. J. Clin. Microbio., 35: 1295-1299.

Deplano, A., Denis, O., Poirel, L., Hocquet, D., Nonhoff, C., Byl, B., Nordmann, P., Vincent, J. L. and Struelens, M. J. 2005. Molecular characterization of an epidemic clone of panantibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa. Journal of Clinical Microbiology, 43: 1198–1204.

Dinesh, S. D., Grundmann, H., Pitt, T. L. and Römling, U. 2003. European-wide distribution of Pseudomonas aeruginosa clone C. Clinical Microbiology and Infection, 9: 1228-1233.

Elamin, S. E., Dickson, J. K. and Mackie, I. P. 2015. Is laser doppler imaging (LDI) a measure of burn depth. Journal of the International Society for Burn Injuries, 41: 413-413.

Evers, L. H., Bhavsar, D. and Mailänder, P. 2010. The biology of burn injury. Experimental Dermatology, 19: 777-783.

Forbes, B. A., Daniel, F. S. and Alice, S. W. 2007. Diagnostic Microbiology. Mosby Elsevier Company, 62: 465.

Govan, J. R. And Deretic, V. 1996. Microbial pathogenesis ın cystic fibrosis. Microbiological Review, 60: 539-574.

Hamze, M. and Sarkis, D. 1998. Etude bicentrique de la sensibilité des sérotypes de Pseudomonas aeruginosa aux antibiotiques au liban. Médecine et Maladies Infectieuses, 28: 668- 672.

Hamze, M., Mallat, H., Dabboussi, F. and Achkar, M. 2012. Antibiotic susceptibility and serotyping of clinical Pseudomonas aeruginosa isolates in northern Lebanon. The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents, 2: 1-6.

Hassuna, N. A., Ibrahim, A. H., AboEleuoon, S. M. and Rizk, H. A. 2015. High prevalence of multidrug resistant pseudomonas aeruginosa recovered from ınfected burn wounds in children. Med. Pub., 6: 1-7.

Hermans, M. H. 2019. An introduction to burn care. Advances in Skin and Wound Care, 32: 9-18.

Jaafar, Z. M., Dhahi, M. A., Abd, A. K. and Jaafar, S. M. 2014. Molecular identification and antibiotics resistance genes profile of Pseudomonas aeruginosa isolated from Iraqi patients. African Journal of Microbiology Research, 8: 2183-2192.

Khattab, M. A., Nour, M. S. and ElSheshtawy, N. M. 2015. Genetic identification of Pseudomonas aeruginosa virulence genes among different isolates. J. Microb. Biochem. Technol., 7: 274-7.

Khorsheed, M. B. and Zain Al Abdeen, S. S. 2017. The frequency of Pseudomonas aeruginosa bacteria with some pathogenic bacteria in burns injuries and study their resistance to antibiotics. Kujss, 12: 123-140.

Krieg, N. R., Ludwig, W., Euzéby, J., & Whitman, W. B. 2010. Phylum XIV. Bacteroidetes phyl. nov. In Bergey's manual of systematic bacteriology (pp. 25-469). Springer, New York, NY.

Knabl, L. and Lass-Flörl, C. 2020. Antifungal susceptibility testing in Candida species. Expert Review of Anti-Infective Therapy, 18: 779-787.

Lamppa, J. W. and Griswold, K. E. 2013. Alginate lyase exhibits catalysis-independent biofilm dispersion and antibiotic synergy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 57: 137–145.

Lomholt, M. and Schlotterer, C. 2001. Fitness effects of Proceedings of advantageous mutation in evolving escherichia coli pulations. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 98: 1112-1128.

Mac Faddin , J. F. (2000) . Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria , 3rd – Ed . William and Wilkins Co. London . Macrolides. Chem Rev 105:499-528.

Mah, T. F., Pitts, B., Pellock, B., Walker, G. C., Stewart, P. S. and O'Toole, G. A. 2003. A genetic basis for Pseudomonas aeruginosa biofilm antibiotic resistance. Nature, 426: 306-310.

Markou, P. and Apidianakis, Y., 2014. Pathogenesis of intestinal Pseudomonas aeruginosa infection in patients with cancer. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 3: 115.

Matar, G. M., Chaar, M. H., Araj, G. F., Srour, Z., Jamaleddine, G. and Hadi, U. 2005. Detection of a highly prevalent and potentially virulent strain of Pseudomonas aeruginosa from nosocomial infections in a medical center. BMC Microbiology, 5: 1-7.

Mokkink, L. B., Terwee, C. B., Patrick, D. L., Alonso, J., Stratford, P. W., Knol, D. L., Bouter, L. M. and De Vet, H. C. W. 2010. The cosmin checklist for assessing the methodological quality of studies on measurement properties of health status measurement instruments. Quality of Life Research, 19: 539–549.

Monstrey, S. M., Hoeksema, H. E., Baker, R. D., Jeng, J., Spence, R. S., Wilson, D. and Pape, S. A. 2011. Burn wound healing time assessed by laser Doppler imaging. Burns, 37: 249-256.

Monstrey, S., Hoeksema, H., Verbelen, J., Pirayesh, A. and Blondeel, P. 2008. Assessment of burn depth and burn wound healing potential. Burns, 34: 761-769.

Noore, H.S. and Shareef, A.Y. 2005. Effect the mixture of Salvon on bacteria resistance of antibiotics. Rafidain Journal of Science, 17: 49-61.

Ochoa, S. A., Lopez-Montiel, F., Escalona, G., Cruz-Cordova, A., Davila, L. B., Lopez-Martinez, B. and Hernandez-Castro, R. 2013. Xicohtencati-Cortes, J. Pathgenic characteristics of Pseudomonas aeruginosa strians resistance to carbapenems associated with biofilm formation. J. Bol. Med. Hosp. Infant., 70: 133-144.

Patil, P. Joshi, S. and Bharadwaj, R. 2015. Aerobic bacterial infections in aburns unit of sasson general hospital, pune. International J. Healthcare Biomed. Res., 3: 106-112.

Pournajaf, A., Razavi, S., Irajian, G., Ardebili, A., Erfani, Y., Solgi, S., Yaghoubi, S., Rasaeian, A., Yahyapour, Y. and Kafshgari, R. 2018. Integron types, antimicrobial resistance genes, virulence gene profile, alginate production and biofilm formation in Iranian cystic fibrosis Pseudomonas aeruginosa isolates. Infez. Med., 26: 226–236.

Prakash, H. R., Belodu, R., Karangate, N., Sonth, S., Anitha, M. R. and Vijayanath,V. 2012. Antimicrobial susceptibility pattern of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from clinical sources. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences, 14: 2230 – 7885.

Prinsen, C. A., Vohra, S., Rose, M. R., King-Jones, S., Ishaque, S., Bhaloo, Z., Adams, D. and Terwee, C. B. 2014. Core outcome measures in effectiveness trials (COMET) initiative. Trials, 15: 1–7.

Pruitt, J. B., Lindberg, R. B., McManus, W. F. and Mason Jr, A. D. 2001. Current approach to prevention and treatment of pseudomonas aeruginosa ınfections. Burned Patients J. Clin. Infect. Dis., 5: 889-8.

Qin, X., Emerson, J., Stapp, J., Stapp, L., Abe, P. and Burns, J. L. 2003. Use of real-time PCR with multiple targets to identify Pseudomonas aeruginosa and other nonfermenting gram-negative bacilli from patients with cystic fibrosis. Journal of Clinical Microbiology, 41: 4312-4317.

Rayner, C. F., Cole, P. J. and Wilson R. 1994. The management of chronic bronchial sepsis due to bronchiectasis. Clin. Pulm. Med., 1: 348-355.

Rockwell, W. B., Cohen, I. K. and Ehrlich, H. P., 1989. Keloids and hypertrophic scars. Plastic and Reconstructive Surgery, 84: 827-837.

Rossolini, G. M. Mantengoli, E. 2005. Treatment and control of severe infections caused by multiresistant Pseudomonas aeruginosa. Clinical Microbiology and Infection, 11: 17-32.

Sabharwal, N., Dhall, S., Chhibber, S. and Harjai, K. 2014. Molecular detection of virulence genes as markers in Pseudomonas aeruginosa isolated from urinary tract infections. Int. J. Mol. Epidemiol Genet, 5: 125-134.

Salem, R. M. 2014. Prevalence of OXA beta-lactamases among Pseudomonas aeruginosa isolated from Al-Diwaniyah Governorate hospitals. MSc. Thesis, Al-Qadisiyah University, 86 page, Al-Qadisiyah.

Schaber, J. A., Carty, N. L., MacDonald, N. A., Graham, E. D., Cheluvappa, R., Griswold, J. A. and Hamood, A. N. 2004. Analysis of quorum sensing-dificient isolates of Pseudomonas aeruginosa. J. Med. Microbiol., 53: 841-853.

Sekiguchi, J., Asagi, T., Miyoshi-Akiyama, T., Fujino, T., Kobayashi, I., Morita, K., Kikuchi, Y., Kuratsuji, T. and Kirikae, T. 2005. Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa strain that caused an outbreak in a neurosurgery ward and its aac (6′)-Iae gene cassette encoding a novel aminoglycoside acetyltransferase. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 49: 3734–3742.

Shi, H., Trinh, Q., Xu, W., Zhai, B., Luo, Y. and Huang, K. 2012. A universal primer multiplex PCR method for typing of toxinogenic Pseudomonas aeruginosa. J. Applied Microbiology, 95: 1579-1587 .

Singh, G., Wu, B., Baek, M. S., Camargo, A., Nguyen, A., Slusher, N. A. and Lynch, S. V., 2010. Secretion of Pseudomonas aeruginosa type III cytotoxins is dependent on Pseudomonas quinolone signal concentration. Microbial Pathogenesis, 49: 196-203.

Singh, P. K., Schaefer, A. L., Parsek, M. R., Moninger, T. O., Welsh, M. J. and Greenberg, E. P. 2000. Quorum-sensing signals indicate that cystic fibrosis lungs are infected with bacterial biofilms. Nature, 407: 762-764.

Speert, D. P. 2002. Molecular epidemiology of Pseudomonas aeruginosa. Front Bioscience, 7: 354-361.

Stover, C. K., Pham, X. Q., Erwin, A. L., Mizoguchi, S. D., Warrener, P., Hickey, M. J. and Brinkman, F. S. 2000. Complete genome sequence of Pseudomonas aeruginosa PA01, an opportunistic pathogen. Nature, 406: 959–964.

Stryjewski, M. E. and Sexton, D. J. 2003. Pseudomonas aeruginosa infections in specific types of patients and clinical settings. In Severe İnfections Caused by Pseudomonas Aeruginosa, pp. 1-15, Boston.

Talon, D., Cailleaux, V., Thouverez, M. and Michel-Briand, Y. 1996. Discriminatory power and usefulness of pulsed-field gel electrophoresis in epidemiological studies of Pseudomonas aeruginosa. Journal of Hospital Infection, 32: 135-145.

Tan, J., Rouse, S. L., Li, D., Pye, V. E., Vogeley, L., Brinth, A. R., El Arnaout, T., Whitney, J. C., Howell, P. L. and Sansom, M. S. 2014. A conformational landscape

for alginate secretion across the outer membrane of Pseudomonas aeruginosa. Biological Crystallography, 70: 2054–2068.

Tavanaii, A., Bojdi, A. M., Rastegari, S. A. and Keramati, M. R. 2007. Neuroborreliosis during relapsing fever and a case report. Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences, 50: 235-240.

Tolles, J. 2018. Emergency department management of patients with thermal burns. Emergency Medicine Practice, 20: 1-24.

Toussaint, J. and Singer, A. J. 2014. The evaluation and management of thermal injuries: 2014 update. Clinical and Experimental Emergency Medicine, 1: 8.

Ullah, W., Qasim, M., Rahman, H., Jie, Y. and Muhammad, N. 2017. Beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa. Journal of the Chinese Medical Association, 80: 173-177.

Vaez, H., Safei, H. G. and Faghri, J. 2017. The emergence of multidrug-resistant clone ST664 Pseudomonas aeruginosain a referral burn hospital, Isfahan, Iran. Burns and Truma, 5: 27.

Vivó, C., Galeiras, R. and del Caz, M. D. 2016. Initial evaluation and management of the critical burn patient. Medicina Intensiva (English Edition), 40: 49-59.

Wilson, R. and Dowling, R. B. 1998. Lung infections. 3. Pseudomonas aeruginosa and other related species. Thorax, 53: 213-219.

Wolska, K. and Szweda, P. 2009. Genetic features of clinical Pseudomonas aeruginosa strains. Polish Journal of Microbiology, 58: 255-260.

Yoon, S. S., Hennigan, R. F., Hilliard, G. M., Ochsner, U. A., Parvatiyar, K., Kamani, M. C., Allen, H. L., DeKievit, T. R., Gardner, P. R. and Schwab, U. 2002. Pseudomonas aeruginosa anaerobic respiration in biofilms. Developmental Cell, 3: 593–603.

Zawacki, B. E. 1974. Reversal of capillary stasis and prevention of necrosis in burns. Annals of Surgery, 180: 98.

**EKLER**

**EK 1. Çözeltiler**

**EK 2. Agaroz  jel elektroforez**

**EK 3. Reaktifler**

**EK 4. Kültür ve teşhis ortamının hazırlanması**

## EK 1. Çözeltiler

| **1. Fizyolojik tuzlu su çözeltisi** | |
|---|---|
| Distile su | 900 mL |
| NaCl | 0,5 g |
| Steril etmek için | 121°C'de 15 dk |
| **2. Üre çözeltisi** | |
| Distile su | 100 mL |
| Üre | 20 g |
| Steril etmek için | 121°C'de 15 dk |
| **3. Kristal menekşe çözeltisi** | |
| Distile su | 100 mL |
| Kristal viyole | 1 g |
| Steril etmek için | 121°C'de 15 dk |

## EK 2. Agaroz  jel elektroforez

| **1. Tris-EDTA Tamponu (TE)** | |
|---|---|
| Tris-baz | 245 g |
| Borik asit | 55 g |
| EDTA (0,02 M, pH 8,0) | 800 mL |
| Distile su | 1000 mL |
| **2. Etidyum Bromür (%0,5)** | |
| Etidyum bromür | 0,05 g |
| Distile su | 10 mL |

## EK 3. Reaktifler

| | |
|---|---|
| **1. Metil kırmızı reaktif** | |
| Metil kırmızısı | 0,1 g |
| Etil alkol (95%) | 300 mL |
| Distile su | 500 mL |
| **2. Oksidaz Reaktifi** | |
| Tetrametil p -fenil diamin-dihidroklorürün | 0,1 g |
| Distile su | 10 mL |
| **3. Kovacs Reaktifi** | |
| Amyle alkol | 5 g |
| HCl | 25 mL |
| Distile su | 75 mL |

## EK 4. Kültür ve teşhis ortamının hazırlanması

| | |
|---|---|
| **1. Nütrient agar** | |
| Nütrient agar | 28 g |
| Distile su | 1000 mL |
| **2. MacConkey agar** | |
| MacConkey agar | 51,5 g |
| Distile su | 1000 mL |
| **3. Müller-Hinton agar** | |
| Müller-Hinton agar | 38 g |
| Distile su | 1000 mL |
| **4. MR-VP besiyeri** | |
| Metil kırmızısı -Voges Proskauer besiyeri | 57,5 g |
| Distile su | 1000 mL |
| **5. Simmon's Citrate besiyeri** | |
| Simmon's Citrate besiyeri | 22,8 g |
| Distile su | 1000 mL |
| **6. Pepton su besiyeri** | |
| Pepton su besiyeri | 8 g |
| Distile su | 1000 mL |

# ÖZGEÇMİŞ

## Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Huda Hayder ABBAS

## Eğitim

| | | |
|---|---|---|
| Yüksek Lisans | Çankırı Karatekin Üniversitesi<br>Fen Bilimleri Enstitüsü<br>Biyoloji Anabilim Dalı | 2019-2022 |
| Lisans | Thi Qar Üniversitesi<br>Bilim Koleji<br>Biyoloji Bölümü | 2014-2018 |