ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KLİNİK PSEUDOMONAS AERUGINOSA'NIN VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN VE ANTİBİYOTİK DİRENÇ ÖRNEKLERİNİN TESPİTİ

Yusra Kadhim Ali AL-SAADI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2021

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Yusra Kadhim Ali AL-SAADI tarafından hazırlanan **"Klinik Pseudomonas aerugınosa'nın Virülans Faktörlerinin ve Antibiyotik Direnç Örneklerinin Tespiti"** adlı tez çalışması 07/07/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Suhad Saad MAHMOOD

Jüri Üyeleri :

Başkan : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Çankırı Karatekin Üniversitesi
Biyoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Mine TÜRKTAŞ ERKEN
Biyoloji Anabilim Dalı
Gazi Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ebru GÜL
Orman Mühendisliği 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 **"Klinik Pseudomonas Aerugınosa'nın Virülans Faktörlerinin ve Antibiyotik Direnç Örneklerinin 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 (07/07/2021).

Yusra Kadhim Ali AL-SAADI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KLİNİK PSEUDOMONAS AERUGINOSA'NIN VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN VE ANTİBİYOTİK DİRENÇ ÖRNEKLERİNİN TESPİTİ

Yusra Kadhim Ali AL-SAADI

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Suhad Saad MAHMOOD

Pseudomanas aeruginosa, çok çeşitli koşullarda yaşayabilen ve *Pseudomonadaceae* familyasına ait, dünya çapında bir gram negatif bakteridir. 10.8.2020 - 20.11.2020 döneminden itibaren farklı tipteki hastanelere (Yanık merkezi, Al-Kadhimiya Hastanesi, Alkarama hastanesi, Bağdat Eğitim Hastanesi, al Saader hastanesi, Medical City - Uzman Cerrahi için Gazi Hariri Hastanesi, Eğitim laboratuvarı, Al Yarmouk eğitim hastanesi ve Yarmouk hastanesinde yanık merkezi) başvuran hastalardan (iki cinsiyet ve çocuk) farklı klinik kaynaklardan yaklaşık 120 farklı numune elde edilmiştir. 120 örnekten sadece 70'i *Pseudomonas* spp için pozitif sonuç vermiş, 70 izolattan 50'si biyokimyasal testler ile teşhis sonuçlarına göre *P. aeruginosa* izolatı olarak tanımlanmıştır. Kalan 50 izolatın ise diğer patojen bakterilere ait olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar, *Pseudomonas aeruginosa* izolatları arasında Seftazidime (%90,0), Aztreonam'a (%76,0) karşı yüksek bir direnç kaydedimiştir. Ayrıca tüm izolatlar Amikasin'e %38,0 oranında direnç gösterirken, Norofloksasin'in direnç yüzdesi de 38,0'dır. Çalışma, Levofloksasin ve Imipenem'in oldukça duyarlı yüzdesinin sırasıyla %82,0 ve %80,0 olduğunu göstermiştir. Gentamisin, Tobramisin ve Siprofloksasinin hassas yüzdesi sırasıyla %72,0, %66,0 ve %56,0 olarak tespit edilmiştir. 50 izolatın tümünün ExoA ve ExoS'nin PCR tespiti, eski genin 9'unda (%18,0) ExoA ve 41'inde (%82,0) exoS bulunduğunu göstermiş. Ayrıca, bu çalışmanın sonuçları, yara izolatlarında 4 (%44,44) en yüksek ExoA geni sıklığını, ardından yanık izolatlarını 3 (%33,33) takip edilmiştir. Test edilen on antibiyotik için, Fisher kesin testi, ilaç direnci ile ExoA ve ExoS geni arasında anlamlı bir ilişki olmadığını ortaya çıkarmıştır ($P > 0,05$). Bu çalışmaya toplam 50 *P. aeruginosa* izolatından 28 (%56) ÇİD izolatı dâhil edilmektedir. MDR, *P. aeruginosa* klinik izolatları arasında iki virülans geninin prevalansı ve sırasıyla ExoS ve ExoA genlerinin sıklığı (%78,6 ve %21,4) araştırılmaktadır. Ayrı klinik bölgelerin baskın bakteri tipinin *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarına ait olduğu düşünülmektedir.

2021, 78 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: *Pseudomonas aeruginosa*, Virülans faktörler, ExoA, ExoS, Antibiyotik direnci

ABSTRACT

Master of Science Thesis

DETECTION OF VIRULENCE FACTORS AND ANTIBIOTIC RESISTANCE PATTERNS OF CLINICAL PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Yusra Kadhim Ali AL-SAADI

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

Advisor: Assoc. Prof. Melda DÖLARSLAN
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Suhad Saad MAHMOOD

Pseudomonas aeruginosa is a worldwide gram negative bacteria that can live in a wide range of conditions and belongs to the *Pseudomonadaceae* family. About 120 different samples were obtained from different clinical sources from patients (two sexes and children) admitted to different types of hospitals (Burn center, Al-Kadhimiya Hospital, Alkarama hospital, Baghdad Teaching Hospital, al Saader hospital, Medical City - Ghazi Hariri Hospital for specialized Surgery, Educational laboratory, Al Yarmouk educational hospital and burn center in Yarmouk hospital) during the period from 10.8.2020 – 20.11.2020. Of the 120 samples, only 70 gave positive results for Pseudomonas spp. 50 of the 70 isolates were identified as P. aeruginosa isolates based on diagnostic results by biochemical tests. While the remaining fifty isolates belonging to other bacteria were shown pathogenic. The results showed a high resistance noted among Pseudomonas aeruginosa isolates to Ceftazidime (90.0%), Aztreonam (76.0%). Moreover, all isolates were showed resistance to Amikacin in a percentage of 38.0%, also the resistance percentage of Norofloxacin was 38.0. While the study demonstrated that highly sensitive percentage of Levofloxacin, and Imipenem were 82.0%, and 80.0% respectively. Well as a sensitive percentage of Gentamycin, Tobramycin, and Ciprofloxacin were 72.0%, 66.0%, and 56.0% respectively. PCR detection of exoA and exoS of all 50 isolates showed the former gene to be present ExoA in 9 (18.0%) and exoS in 41 (82.0%). Furthermore, the results of this study found the highest frequency of Eox A gene in wound isolates 4 (44.44%), followed by burn isolates 3 (33.33%). For ten antibiotics tested, the Fisher exact test revealed not significant association between drug resistance and EoxA and Exo S gene (P value > 0.05). This study included 28 (56%) MDR isolates from a total of 50 *P. aeruginosa* isolates. The prevalence of two virulence genes among MDR P. aeruginosa clinical isolates was investigated, and the frequencies of EoxS, and ExoA genes (78.6%, and 21.4%) respectively. We conclude the predominant bacterial type of separate clinical sites was considered to belong to pseudomonas aeruginosa isolates. The age range for infection was 14 - 75 years and the prevalence was higher for females than for males.

2021, 78 pages

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Virulence factors, ExoA, ExoS, Antibiotic resistance

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

“Klinik *Pseudomonas Aerugınosa*'nın Virülans Faktörlerinin ve Antibiyotik Direnç Örneklerinin Tespiti” adlı bu çalışma 2019-2021 yılları arasında hazırlanarak Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne “Yüksek Lisans Tezi” olarak sunulmuştur.

İlk başta, hayatımın tüm zorlukları ve tüm koşullarıyla çalışmamı tamamlamam için bana sebat veren el-hamd lilah. Daha sonra araştırma konusunun seçiminde ve araştırmalarımın her aşamasında yoğun programına rağmen vakit ayıran, her türlü desteği sağlayan, yol gösteren ve önerileri ile beni yönlendiren değerli danışman hocalarım Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN ve Dr. Öğr. Üyesi Suhad Saad MAHMOOD'a şükranlarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, bu çalışmanın yazılmasında bana yardımcı olan herkese teşekkür ediyorum.

Yusra Kadhim Ali AL-SAADI
Çankırı, Temmuz 2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vi**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **viii**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Çalışmanın Amaçları **2**
2. KAYNAK ÖZETLERİ **3**
2.1 Tarihsel Yaklaşım **3**
2.2 *P. aeruginosa*'nın Özellikleri **5**
2.3 *P. aeruginosa*'nın Klinik Etkileri **6**
2.4 Antibiyotiklerin Sınıflandırılması **8**
2.5 *P. aeruginosa* İçin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları **9**
2.5.1 İçsel antibiyotik direnci **13**
2.5.2 Edinilmiş antibiyotik direnci **15**
2.5.3 Adaptif antibiyotik direnci **16**
2.6 *P. aeruginosa*'nın Virülans Faktörleri **17**
2.6.1 Virülans belirleyicileri **18**
2.6.2 *P. aeruginosa* patogenezinde virülans faktörlerinin rolü **19**
2.7 *P. aeruginosa* Genom Yapısı **24**
2.7.1 Genomun bileşenleri **24**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **26**
3.1 Materyal **26**
3.1.1 Aparat ve ekipmanlar **26**
3.1.2 Kimyasal ve biyolojik malzemeler **27**
3.1.3 Ortam **27**
3.1.4 Antibiyotik diskleri **28**
3.1.5 Laboratuvarlar tarafından hazır yapılan ortamlar **29**
3.1.6 Beyin kalp infüzyon suyu (BHIB) **29**
3.1.7 Beyin kalp infüzyon agar (BHIA) **29**
3.1.8 Kanlı agar ortamı **29**
3.1.9 MacConkey agar **30**
3.1.10 Setrimid agarı **30**
3.1.11 Setrimid suyu **30**
3.1.12 Mueller-hinton (MH) agar **30**
3.1.13 Reaktiflerin, solüsyonların, lekelerin, tamponların ve antiseptiklerin hazırlanması **31**

3.1.14 Çözeltiler 31
3.2 Yöntemler 32
3.2.1 Örnek toplama 32
3.2.2 Bakteriyel izolatlar ve yetiştirmeleri 32
3.2.3 Sterilizasyon yöntemleri 33
3.2.4 Bakteri izolatlarının tanımlanması 33
3.2.5 Bakteriyel izolatın korunması 35
3.2.6 Antimikrobiyal duyarlılık testi 35
3.2.7 Genetik çalışma 36
3.2.8 *P. aeruginosa*'nın moleküler tespiti 39
3.2.9 Gram negatif bakterilerden genomik DNA izolasyonu 39
3.3 İstatistiksel Analiz 40
4. BULGULAR 41
4.1 Örnek Toplama ve Bakteri Tanımlama 41
4.1.1 *P. aeruginosa'nın* cinsiyet dağılımı 44
4.1.2 *P. aeruginosa*'nın yaş dağılımı 44
4.2 *P. aeruginosa*'nın Antibiyotik Duyarlılık Testi 46
4.3 *P. aeruginosa*'nın Moleküler Tespiti 49
4.3.1 Genomik DNA izolasyonu 49
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 56
KAYNAKLAR 57
ÖZGEÇMİŞ 78

KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AK	Amikasin
ATM	Aztreonam
BHIB	Beyin Kalp İnfüzyon Suyu
CAZ	Seftazidim
CIP	Siprofloksasin
CN	Gentamisin
DW	Arıtılmış Su
EPS	Hücre Dışı Polimer Maddeler
exoS	Ekzoenzim S
IPM	Imipenem
KF	Kistik fibrozis
KLSE	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
LEV	Levofloksasin
LPS	Lipopolisakkaritler
MAC	MacConkey
MATE	Çoklu İlaç ve Toksik Bileşik Ekstrüzyon
MDR:	Çoklu ilaca dirençli
MFS	Ana Kolaylaştırıcı Süper Ailesi
NOR	Norfloksasin
OFX	Ofloksasin
PCR	Polimeraz Zincirleme Reaksiyonu
RGPs	Genom Plastisite Bölgeleri
SMR	Küçük Çoklu İlaç Direnci
T2SS	Tip II Salgılama Sistemi
TOB	Tobramisin
toxA	Ekzotoksin A
UK	Birleşik Krallık
XDR	Büyük Ölçüde İlaca Dirençli

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 KF hastalarında çeşitli enfeksiyonların prevalansını yaşlarının bir fonksiyonu olarak gösterir. Yirmili yaşların ortalarında, *P. aeruginosa* baskın bakteri haline gelir (Folkesson *et al.* 2012) 8
Şekil 2.2 Antibiyotik keşfinin zaman çizelgesi, klinik uygulamada kullanım ve antimikrobiyal direncin yükselişi (Das *et al.* 2017) 9
Şekil 2.3 Bakteriyel antibiyotik direnç yolları, mekanizmaları ve hedefleri göstermektedir (Chellat *et al.* 2016) 13
Şekil 2.4 *P. aeruginosa*'daki içsel antibiyotik direnci mekanizmalarının şematik bir gösterimi 14
Şekil 2.5 Biyofilmlerde *P. aeruginosa* gelişim döngüsü 21
Şekil 4.1 Farklı klinik kaynaklardan toplanan örneklerin yüzdeleri 42
Şekil 4.2 *P. aeruginosa* tanımlamasında kullanılan biyokimyasal test sonuçları 43
Şekil 4.3 *P. aeruginosa* izolatlarının cinsiyet dağılımı 44
Şekil 4.4 Exo S geninin PCR amplifikasyonunu gösteren jel elektroforez resmi (%2 Agarose. 90 dakika için 90 voltajda akım 200), Şerit M: DNA markörü (100-1500bp), Şerit: (1, 2, 3 , 4, 5, 6, 7 ,8 ,9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25) 50
Şekil 4.5 Exo S geninin PCR amplifikasyonunu gösteren jel elektroforez resmi (%2 Agarose. akım 200, 90 voltajda, 60 dakika), Şerit M: DNA markörü (100-1500bp), Şerit: 1 ile 18, P.aeruginosa izolatlarının (153bp) pozitif sonuçlarını temsil eder, Şerit N: Negatif k 50
Şekil 4.6 Exo A geninin PCR amplifikasyonunu gösteren jel elektroforez resmi (%2 Agarose. Akım 200, 90 voltajda, 90 dakika), Şerit M:DNA markörü (100-1500bp), Şerit: (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) *P. aeruginosa* izolatlarının (166bp) pozitif sonuçlarını temsil eder 51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Aparat ve ekipmanlar 26
Çizelge 3.2 Kimyasal ve biyolojik malzemeler 27
Çizelge 3.3 Mevcut çalışmada kullanılan kültür besiyerleri 28
Çizelge 3.4 Antibiyotik diskleri 28
Çizelge 3.5 Bu çalışmadan toplanan örnekler aşağıda gösterilmektedir 32
Çizelge 3.6 CLSI (2017)'ye göre antibiyotik diskleri ve konsantrasyonu 36
Çizelge 3.7 Her kitin bileşeni 37
Çizelge 3.8 Mevcut çalışmada kullanılan tüm primer dizileri 38
Çizelge 3.9 Bu çalışmada kullanılan PCR reaksiyon bileşenleri 38
Çizelge 3.10 Bu çalışmada kullanılan PCR programı döngü sayısı 39
Çizelge 4.1 Çalışma sırasında farklı kaynaklardan izole edilen bakteri izolatlarının sayısı 43
Çizelge 4.2 *P. aeruginosa* klinik izolatlarının yaş gruplarına göre dağılımı 45
Çizelge 4.3 *P. aeruginosa*'nın farklı antibiyotiklere duyarlılık testi kalıpları 47
Çizelge 4.4 *P. aeruginosa* için Exo A ve Exo S genleri arasındaki antibiyotik direncinin karşılaştırılması 52
Çizelge 4.5 Klinik izolelere göre genlerin (Exo A ve Exo S) frekans dağılımı 53
Çizelge 4.6 *P. aeruginosa* izolatları arasında çalışılan gen pozitifliği ile direnç tipi arasındaki ilişki 55

1. GİRİŞ

P. aeruginosa, çok çeşitli koşullarda yaşayabilen ve Pseudomonadaceae ailesine ait dünya çapında bir gram negatif bakteridir (Silby *et al.* 2011). Fırsatçı bir patojen olarak Pseudomonas aeruginosa, hastane hastalıklarıyla ilişkili en yaygın bakteri olarak kabul edilmektedir (Barbier *et al.* 2013).

Üriner sistem, solunum yolu ve cerrahi bölgelerin enfeksiyonları dâhil olmak üzere sağlık bakımıyla ilişkili enfeksiyonların en sık görülen türlerinden biridir (Fazeli *et al.* 2017, Rossolini and Mantengoli 2005). Bu fırsatçı patojen, özellikle bağışıklığı yetersiz hastalarda önemli sağlık riski olarak kabul edilir (Nanvazadeh *et al.* 2013). Ek olarak, çoklu ilaca dirençli (MDR) *P. aeruginosa* izolatının neden olduğu enfeksiyonlar daha uzun hastanede yatışlar, daha yüksek harcamalar ve daha yüksek morbidite ve mortalite oranları ile ilişkilidir (Gales *et al.* 2012).

P. aeruginosa, eksotoksin A (toxA geni kodlu), ekzoenzim S (eksoS geni kodlu), ekzoenzim U (exoU geni tarafından kodlanmış) gibi bir dizi virülans faktörüne sahiptir. ExoA, adenosin difosfat-ribosil parçasını nikotinamid-adenin dinükleotitten protein uzatma faktörü 2'ye hareket ettirerek proteinlerin sentezini engelleyen ve protein inhibisyonu ile sonuçlanan Tip II salgılama sisteminin önemli bir bileşenidir. Tip III salgılama mekanizması, son zamanlarda tanınan (T3SS) bir diğer önemli virülans faktörüdür. T3SS, P. aeruginosa'nın ciddi enfeksiyonlarının patogenezinde önemli rol oynayan, temasa bağlı protein salgılanması için bir yoldur. ExoS ve ExoU gibi efektör proteinler bu sistem tarafından salgılanır (Amirmozafari *et al.* 2016). ExoS, kolonizasyon, istila ve bakteri yayılımı için enfeksiyon sırasında ihtiyaç duyulan önemli bir sitotoksindir (Corehtash *et al.* 2015, Javadi *et al.* 2015, Yousefi-Avarvand *et al.* 2015).

ExoU, epitel hücrelerini etkileyen ve fosfolipaz aktivitesi ile akciğer enfeksiyonunu, ayrıca exoU'nun makrofajlar üzerindeki toksik etkisini indükleyen bir sitotoksindir (Magalhães *vd.* 2016, Pobiega *et al.* 2015, Amirmozafari *et al.* 2016).

Ekzoenzimler (S, Y, T ve U) sırasıyla exoS, exoY exoT ve exoU genleri tarafından kodlanır ve exoS en yaygın olanıdır (Agnello and Wong-Beringer 2012). Önceki araştırmalara göre, ExoS daha önce yanık yaralarında ve akciğer enfeksiyonlarında artan virülansla ilişkilendirilmekte ve ayrıca ExoU, Exo S'den 100 kat daha yüksek sitotoksisiteye sahiptir (de Almeida *et al.* 2017, Benie *et al.* 2017, Sawa *et al.* 2014).

Ekzotoksin A, *P. aeruginosa* %90'ından fazlası tarafından üretilir (Lesieur *et al.* 1997). Ekzotoksin A (ExoA, toxA), eylemde difteri toksinine benzer şekilde *P. aeruginosa*'nın ana virülans faktörü olarak işlev gören 66 kD A'lık bir proteindir (Bucior *et al.* 2013). *P. aeruginosa*'nın yüzde 90-95'inde Exotoxin A'yı kodlayan gen bulunurken (Matar *et al.* 2002), diğer Pseudomonas spp'de GC açısından zengin bakterinin 396-bp parçası bulunmamaktadır (Al-Daraghi and Abdullah 2013). Bununla birlikte, hızı ve esnekliği nedeniyle, bir polimeraz zincir reaksiyonu, moleküler biyolojiye dayalı olarak çeşitli bulaşıcı hastalıkların teşhisi için çok hızlı ve etkili bir yöntem haline gelmektedir (Matar *et al.* 2002).

1.1 Çalışmanın Amaçları

1- Farklı klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa'nın* virülans faktörlerinin dağılımını ve antibiyotik direnç özelliklerini araştırmak.
2- İlaç direnci ile EoxA ve Exo S geni arasındaki ilişkiyi bulmak.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Tarihsel Yaklaşım

Pseudomonadlar son derece yaygındır ve doğada birçok ortamda bulunmaktadır. Pseudomonas cinsi, mikrobiyolojik tarihin başlarında, yaygın olarak bulunmasının bir sonucu olarak ilk kez 1894 yılında Migula tarafından önerilmiştir (Palleroni 2010).

Migulla 1900'da Pseudomonas aeruginosa olarak yeniden adlandırılmıştır, aeruginosa, bir pyocynine pigmenti üretme yeteneğinden dolayı Latince'de yeşil renk anlamına gelir; floresan ve floresan olmayan türlerin en büyük grubu olduğunu bilinmektedir. *P. fluorescens, P. aeruginosa, P. putida* ve *P. syringaee* en önemli floresan ve bitki patojenik türler olarak kabul edilir (Scarpellini *et al.* 2004).

Migulas tarafından bu cinsin ilk örneği çok kısaydı ve geçmişe bakıldığında Palleroni'nin (2010) tanımladığı gibi doğru olmadığını belirtti. Açıklamasında "Motiliteye sahip kutupsal organ hücreleri" yazmaktadır. Spor oluşumu bazı türlerde görülür, ancak nadirdir. Sonunda, Pseudomonadlar spor oluşturmayan olarak doğru bir şekilde tanınmıştır ve Migula'nın orijinal olarak görselleştirilen "sporları", "kırılabilir yedek malzeme granülleri" olarak kabul edilmektedir (Palleroni 2010).

Bu bakteri, klinik veya alt klinik olarak çok sayıda inekte kısa sürede mastitis salgınlarına neden olma eğilimine sahiptir. Sığır mastitisinin akut vakalarına, görünür meme büyümesi, ateş ve anormal derecede sulu veya pul veya kanlı pıhtılaşmış süt dahil olmak üzere bir dizi belirti ve semptom eşlik eder. Toksemi gibi şiddetli semptomlar da mevcut olabilir; bununla birlikte, yoğun tedaviye rağmen, önemli bir ölüm oranı meydana gelmektedir. Ancak hayatta kalanlar, üretken kullanım için uygun olmayacaktır (Park *et al.* 2014). Irak'ta, 140 örnekten 22'si *P. aeruginosa* için pozitiftir, onlardan sekizi süt örneği ve 14'ü meme lezyonudur (Saleh *et al.* 2016, Naser 2016, Neamah 2017). *P. aeruginosa*'nın inek mastitisinin %44'ünden sorumlu olduğunu ayrı ayrı ortaya koymuşlardır.

Yirminci yüzyılın en önemli tıbbi buluşlarından biri, bakteriyel hastalıklara karşı bir silahın keşfidir. Pioneer öncüleri Paul Ehrlich ve Alexander Fleming, çağdaş "antibiyotik çağını" başlattıkları için sıklıkla itibar görürler. Bakteriyel patojeni hedefleyen bir "sihirli mermi" kavramı, Ehrlich ve meslektaşlarını, 1909'da etkili bir frengi tedavisi olduğu kanıtlanan arsenik bazlı bir bileşik olan ilk antimikrobiyal ajan "Salvarsan"ı yaratmaya yöneltilmiştir (Bosch and Rosich 2008). Gerhard Domagk 1935'te sülfonamidin öncüsü olan sentetik bir kırmızı boyanın bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde ve yönetiminde yararlı olduğunu bulunmuştur. Prontosil daha sonra keşfinin bir sonucu olarak ticarileştirilmiştir (Gaudillière 2009).

Fleming, 1928'de tesadüfen ilk doğal antibiyotik olan penisilini geliştirmiş ve 1945'te piyasaya sürülmüştür. Penisilin hem güvenlik hem de etkinlik açısından dikkate değer bir ajandı ve II. Dünya Savaşı sırasında birçok yaralı askerin hayatını kurtarmıştır (Saga and Yamaguchi 2009, Aminov 2010). Sonraki yirmi yıl, aminoglikozit, kloramfenikol, tetrasiklin, makrolid, glikopeptit ve kinolon dahil olmak üzere hem sentetik hem de doğal olarak oluşan antibiyotik keşfinin “Altın Çağı” olmuştur (Saga and Yamaguchi 2009). Antibiyotiklere karşı mikrobiyal direnç, antimikrobiyal keşifle aynı zamanda ortaya çıkmıştır, ancak mevcut antibiyotiklerde yapılan değişiklikler, bu sorunu çözmek için uygun analoglar üretebilmektedir (Lewis 2013, Gould 2016).

İlk olarak 1882'de Gessard tarafından izole edilen *P. aeruginosa*, ilk olarak 1980'de Charrin tarafından bir patojen olarak tanımlanmıştır (Bodey *et al.* 1983). Artık çeşitli konaklarda hastalığa neden olabilen yaygın bir hastane patojeni olarak kabul edilmektedir (Feinbaum *et al.* 2012) çünkü hayvan ve bitki hastalıklarında gerekli olan birkaç virülans faktörü içerir (Deep *et al.* 2011).

2016 yılına kadar 400'den fazla *Pseudomonas* suşu dizilenmiştir (Koehorst *et al.* 2016). Cins içindeki yüzlerce suşun genomlarının dizilenmesi, çok farklı türler gösterilmiş. Şu anda, birçok Pseudomonas genomu, genlerinin yalnızca %50,0 - %60,0'ını paylaşır, ör. 5350 proteinin yalnızca 2971'i (veya yaklaşık yüzde 55) *P. aeruginosa* ve *P. putida*'yı paylaşır (Koehorst *et al.* 2016).

Çeşitli *P. aeruginosa* suşlarının genomik varyasyon içerdiğini ve bu farklılıkların çeşitli koşullar altında bakteri hayatta kalması üzerinde bir etkisi olduğunu bulunmaktadır. Hastanelerde, *P. aeruginosa*'nın antimikrobiyal ilaçların sık kullanımı gibi daha sert çevresel koşullara maruz kalma olasılığı daha yüksek olabilir ve bu, ideal olmayan koşullarda yaşayabilen bakteri suşları için seçilebilir (Mathee *et al.* 2008).

Birkaç çalışma, klinik ve çevresel izolatların ortak genotipik ve fenotipik özellikler gösterdiğini göstermektedir. Bununla birlikte, direnç mekanizmalarının klinik izolatlar arasında edinimi, çevresel izolatlara göre daha sıktır (Szmolka *et al.* 2012). Çalışmaların çoğu, *P. aeruginosa*'nın farklı nişlerde geliştiği fikrine rağmen, *P. aeruginosa*'nın insan klinik suşları üzerinde yoğunlaşmıştır, ancak hayvan ve çevresel suşlar üzerinde çok daha az yoğunlaşmıştır (Argudín *et al.* 2017, Colinon *et al.* 2010).

2.2 *P. aeruginosa*'nın Özellikleri

P. aeruginosa, Pseudomonas içinde birçok türü barındıran Pseudomonadaceae familyasına aittir (Mekuto *et al.* 2016). Piyosiyanin (mavimsi-yeşil) ve floresein (sarımsı-yeşil) dâhil olmak üzere çeşitli pigmentler üretebilir ve bazı suşlar, sarı pyoverdin, koyu kırmızı pyorubin ve pyomelanin (koyu siyah) gibi diğer pigmentleri üretebilir (Shane *et al.* 2017). *P. aeruginosa'nın* antibiyotik tedavisine duyarlılığı düşüktür ve çoklu ilaca dirençlidir (Soković *et al.* 2014).

Tipik olarak, *P. aeruginosa*, bitkiler, toprak ve su alanlarından nematodlar ve hayvanlar üzerinde yaşamaya kadar çok çeşitli ortamlarda yaşayan, nispeten zararsız bir mikroorganizma olarak yaşar. *P. aeruginosa*'nın sağlıklı insan bireylerde yaşaması alışılmadık bir durum değildir; bununla birlikte, bu durumlarda, Pseudomonas popülasyonu, diğer mikrobiyal flora tarafından büyük ölçüde sayıca fazla olacaktır. Bağışıklığı baskılanmış bireyler veya bağışıklık bastırıcı ilaçlar alan hastalar durumunda, *P. aeruginosa* fırsatçı bir insan patojeni içerir ve azaltılmış bağışıklık tepkisinden yararlanır. Vücut bir enfeksiyonu temizleyemezse, hastanın ölümüne neden olacak kadar ciddileşebilir. *P. aeruginosa*, kateterler, stentler ve ventilatörler gibi tıbbi cihazlarda

gelişme kapasitesi nedeniyle klinisyenler tarafından korkulur ve hatta sabunlardan ve hidroterapi havuzlarından izole edilecektir. *P. aeruginosa*, hastalar arasındaki bu yüksek transfer riskinin bir sonucu olarak en sık görülen hastane enfektif patojenlerinden biri olma şüphesini kazanacaktır (Lister *et al.* 2009, Pereira *et al.* 2014).

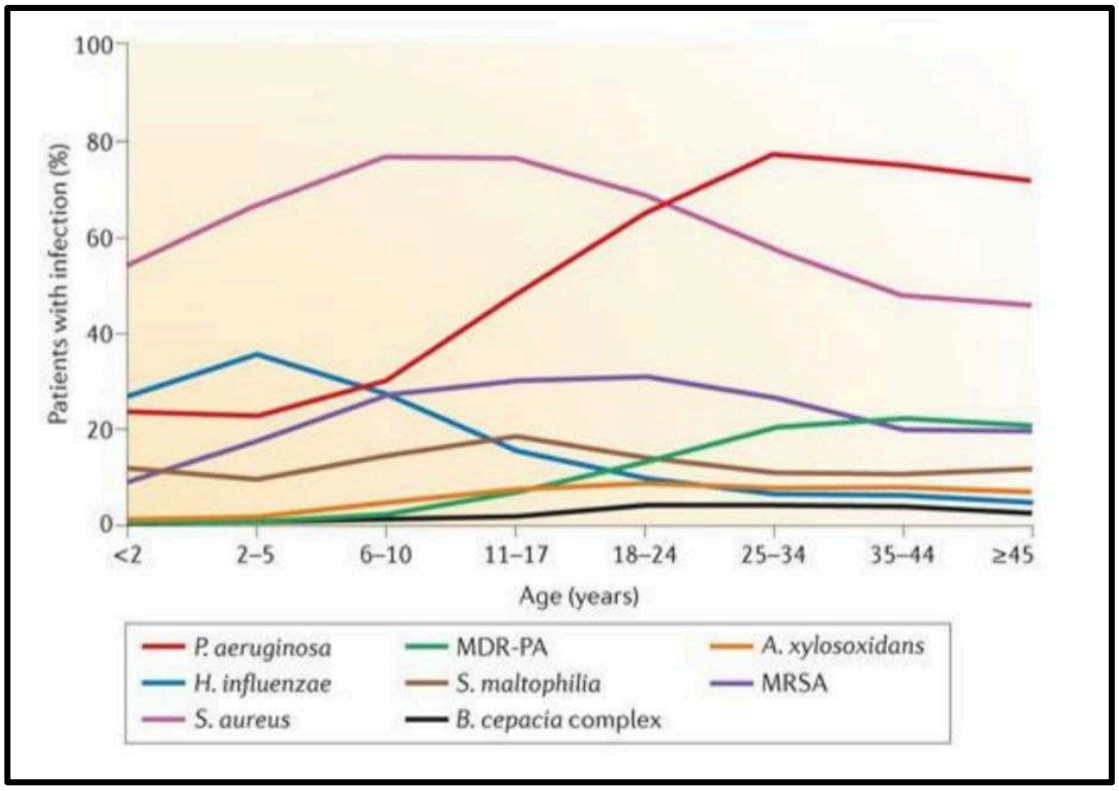
P. aeruginosa serbest yaşayan, hareketli (tek bir polar flagellum aracılığıyla) bir organizmadır. 1882'de ilk kez mavi-yeşil renk değişikliğine neden olan yaralardan izole edilmiştir. P. aeruginosa enfeksiyonlarının imzası olarak bu pigmentasyon tanınır ve laboratuvar kültürlerinde rutin olarak gözlemlenir. Rejenerasyon yerine bağlı olarak, P. aeruginosa izolatları üç koloni formu geliştirir. Örneğin klinik izolatlar, kabarık veya mukoid görünümlü pürüzsüz koloniler oluşturur. Bu aynı zamanda solunum yolu enfeksiyonu olan hastalardan elde edilen izolatların bir özelliğidir (Bjarnsholt *et al.* 2009).

2.3 *P. aeruginosa*'nın Klinik Etkileri

İki tür hastane enfeksiyonu vardır: (1) Endojen enfeksiyonlar (kendi kendine enfeksiyonlar veya otoenfeksiyonlar), hastaneye başvuru anında hastanın mukozasında ve cildinde zaten mevcut olan ancak enfeksiyon belirtisi göstermeyen mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlardır. Hastanın değişen direncinin bir sonucu olarak, hastanede kaldığı süre boyunca enfeksiyon ilerler. (2) Ekzojen enfeksiyonlar, çapraz enfeksiyonun eşlik ettiği çapraz bulaşma: hasta hastanede kalırken başka bir hastadan veya yerel ortamdan yayılan mikroorganizmalar tarafından enfekte olup daha sonra enfeksiyon oluşturan yeni enfeksiyöz ajanlarla temasa geçer (Percival *et al.* 2012).

P. aeruginosa solunum sistemine iyi adapte olmuştur, bu da bakterinin ıslak bir ortamda hayatta kalmasını mümkün kılar. Özellikle yoğun bakım ünitelerine kabul edilen kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan bağışıklığı baskılanmış bireylerde sık görülür. Ventilasyonu yapılan hastalarda, hastane kaynaklı pnömoninin de en sık nedenidir (Crnich *et al.* 2005, Ferrara 2006), ve tüm vakaların yaklaşık yüzde 30'unu oluşturur

(Supervie *et al.* 2014). *P. aeruginosa* sıklıkla bronşektazisi olan hastaların hava yollarından izole edilir (Nicotra *et al.* 1995). Kistik fibrozlu hastalarda akciğer hastalığına neden olma kapasitesi belki de en çok bilinenidir (KF) (Bjarnsholt *et al.* 2009). KF olmayan bronşektazide akciğer fonksiyonunda hızlanan bozulma, yaşam kalitesinde azalma ve artan morbidite ve mortalite, *P. seudomonas* aeruginosa'nın hava yollarındaki tutulumu ile ilişkilendirilektedir (Loebinger *et al.* 2009, Davies *et al.* 2006). *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının hem oluşumunda hem de pato-adaptasyonunda kistik fibroz (KF) kapsamlı bir şekilde çalışılmış olmasına rağmen, bu süreçlerin anlaşılması KF olmayan bronşektazide gecikmektedir (Schwarz *et al.* 2018, Chang and Bilton 2008). KF olmayan bronşektazi araştırmalarındaki kayda değer ilerlemelere rağmen, KF olmayan bronşektazilerde hava yolu enfeksiyonları hakkındaki mevcut bilgilerin çoğu KF'den tahmin edilmektedir. KF hastalarında *P. aeruginosa* enfeksiyonları ile ilgili olarak aşağıdaki gözlemler yapılmıştır (Şekil 2.1'de gösterildiği gibi): 1) Klinik durumdaki PEx gibi değişiklikler, ilk kolonize edici suşları etkileyen rahatsızlıklardan kaynaklanır ve tamamen ek enfeksiyonların edinilmesinden kaynaklanmaz (Aaron *et al.* 2004): 2) Yetişkin *P. aeruginosa*'nın hava yolu enfeksiyonları, olağandışı edinim olayları ve salgın (ePA) suşlarının potansiyel ikamesi veya birlikte enfeksiyonu dışında genellikle stabildir (Aaron *et al.* 2004, Williams *et al.* 2015, Parkins *et al.* 2014): 3) *P. aeruginosa* enfeksiyonunun bulaşması muhtemeldir ve olumsuz klinik etkilerle ilişkilendirilebilir (Lam *et al.* 2015, Somayaji *et al.* 2015, Fothergill *et al.* 2012),

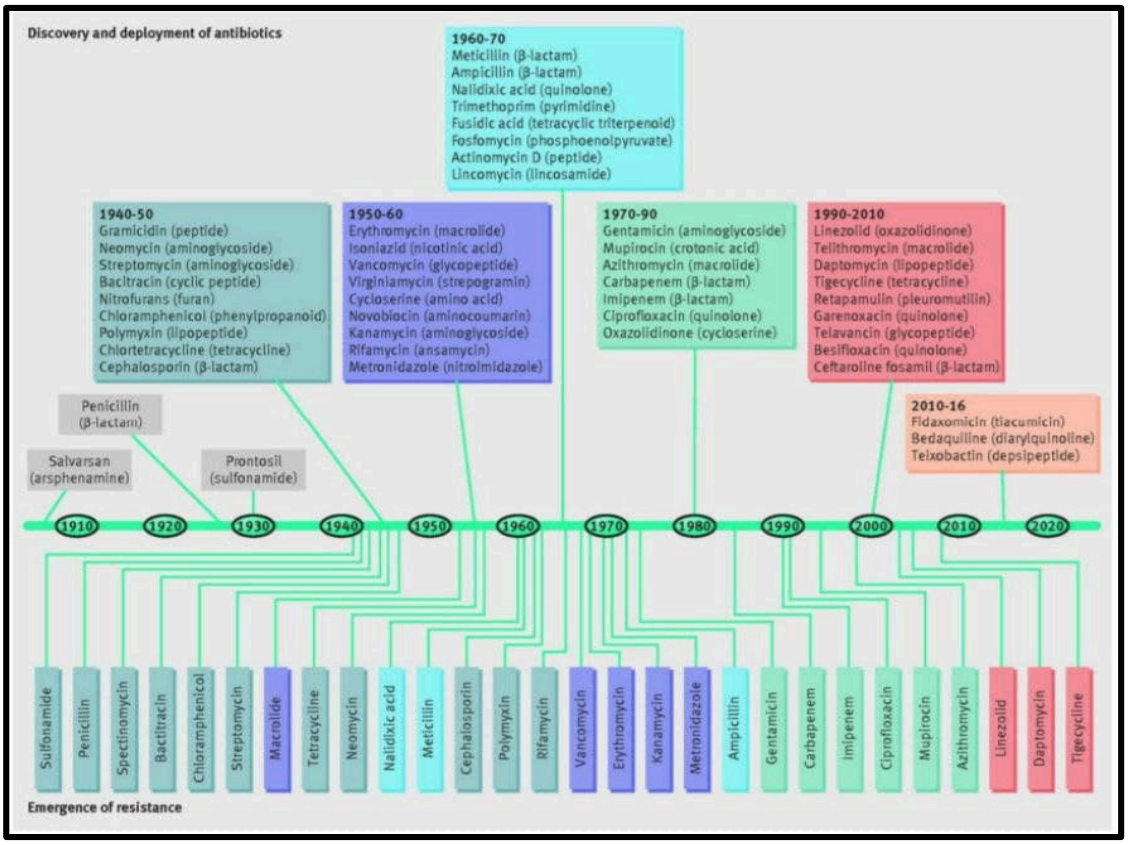


Şekil 2.1 KF hastalarında çeşitli enfeksiyonların prevalansını yaşlarının bir fonksiyonu olarak gösterir. Yirmili yaşların ortalarında, *P. aeruginosa* baskın bakteri haline gelir (Folkesson *et al.* 2012)

Az gelişmiş ülkelerde, *P. aeruginosa'nın* neden olduğu bakteriyel keratit, kornea ülserlerinin önde gelen nedenidir. Kontakt lens kullanımı gelişmiş ülkelerde bir risk faktörü iken, gelişmekte olan ülkelerde göz yüzeyi travması en yaygın risk faktörüdür (Karthikeyan *et al.* 2013). Ayrıca, *P. aeruginosa* enfeksiyonun ilk bölgesinden yayılabilir ve kan dolaşımına girerek septisemiye neden olabilir (Jombo *et al.* 2010).

2.4 Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

Antibiyotikler temel olarak hücre duvarı, protein, nükleik asit ve metabolik yol(lar)ın inhibisyonunu ve hücre zarı fonksiyonunun bozulmasını içeren ana etki tarzlarına göre sınıflandırılır (Şekil 2.2) (Tenover 2006, Džidić *et al.* 2008, Van *et al.* 2011, Fernandes *et al.* 2013, Liwa and Jaka 2015).



Şekil 2.2 Antibiyotik keşfinin zaman çizelgesi, klinik uygulamada kullanım ve antimikrobiyal direncin yükselişi (Das *et al.* 2017)

2.5 *P. aeruginosa* İçin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Antibiyotik direnci ciddi bir küresel halk sağlığı sorunudur, çünkü en yaygın bakteriyel patojenler endişe verici derecede yüksek düzeyde ilaç direnci bildirmektedir (Tommasi *et al.* 2015).

P. aeruginosa ise antibiyotik direnciyle bilinir ve bu da onu özellikle tehlikeli ve korkulan bir hastalık yapar. Yüksek ölüm oranlarına sahip ve tedavisi zor olduğu bilinen zatürre ve bakteriyemi gibi ciddi enfeksiyonların en yaygın nedenlerinden biridir. Antipsödomonal ilaçlar nadiren kullanılır (beta-laktamlar, florokinolonlar, aminoglikozitler, ve polimiksinler son çare ilaçlar arasındadır) ve *P. aeruginosa* faropenem, ritipenem,

sulopenem, tetrasiklin ve penisilinler dahil olmak üzere penem antibiyotiklerine karşı önemli bir içsel dirence sahiptir (Mansouri *et al.* 2011, Khalil *et al.* 2015).

P. aeruginosa'nın antibiyotik direnci, suşların izole edildiği bölgeye bağlı olarak (Willcox 2011), muhtemelen reçeteleme teknikleri, antibiyotiklerin varlığı ve muhtemelen hayvancılıkta kullanımları nedeniyle değişir. Epidemiyolojik araştırmalarda çeşitli hastalıklardan MDR *P. aeruginosa* tespit edilerek bu izolatlar değişen direnç özellikleri geliştirmiştir. Örneğin aminoglikozid direnci, *P. aeruginosa* kistik fibroz izolatlarında bulunmuştur (Poonsuk *et al.* 2013) ve ayrıca siprofloksasin kalıcılığı (Diver *et al.* 1991) bulunmuştur. Bu MDR suşlarından bazıları klonaldir ve yaygın küresel klinik MDR izolatları da klonal suşlardır (Guzvinec *et al.* 2014).

P. aeruginosa tedavisinde kullanılan hemen hemen tüm ilaçların etkinliği bozulduğundan, çeşitli direnç mekanizmalarının gelişimi üzerinde önemli bir klinik etki vardır (Gonzalez *et al.* 2013, Kollef 2013). Enfekte hastalar için, bu, mortalite ve hastanede kalış süresinin artmasına ek olarak, bakım masraflarının önemli olmasına neden olur (Henkin *et al.* 2009, Gonzalez *et al.* 2013). Ana direnç, stres koşulları altında β-galaktamerler olarak antimikrobiyal direnç elde etmekten sorumlu genleri kodlayan genlerin farklı ifadesinden kaynaklanmaktadır. Bu da yoğun antibiyotiğe dirençli biyofilmler oluştururken, gruptaki türler bir süre hayatta kalabildiğinden, hastaların bağışıklık sisteminin kabiliyetini azaltırken, bağışıklığın çok zorlu bir şekilde bastırılmasına neden olur (Alayande *et al.* 2018).

P. aeruginosa'nın sahip olduğu mekanizmalardan biri, çoklu antibiyotik türleri ile savaşmaktır, *P. aeruginosa*'nın açıklıkları içeren dış zarının geçirgenliğinde bir değişikliktir. OprD tipi porinler adı verilen bir protein, bu açıklıkların yerlerindeki herhangi bir değişiklik, antibiyotik direncine yol açar (Cox *et al.* 2015).

Hedef bölgedeki değişiklik, PBP'ler beta-laktam antibiyotik bağlama bölgesi olduğundan ve plazmitlerde bulunan bundan sorumlu genlerde meydana gelen herhangi bir mutasyon,

bu bölgede değişikliğe yol açtığından, *P. aeruginosa*'da beta-laktam antibiyotiklere karşı bir direnç mekanizması olarak kabul edilir (Sun *et al.* 2014a).

20. yüzyıl, tıbbi ilerleme ve antibiyotik keşfi için altın çağ olmuştur. Bununla birlikte, son 30 yılda neredeyse hiç yeni antibiyotik tanımlanmamış ve bir zamanlar kolayca tedavi edilen enfeksiyonlar, modern sağlık hizmetleri için bir kez daha ciddi bir tehdit haline gelmektedir. Tarım endüstrisinde aşırı reçete yazma ve antibiyotik kullanımı, antimikrobiyal direncin artmasına neden olmuştur. Hastanelerde, yoğun seçim baskıları ve duyarlı hastaların mevcudiyeti, antimikrobiyal dirençli "süper böceklerin" yetiştirilmesi için mükemmel ortamı sağlar. Son on yılda meydana gelen bağışıklığı baskılanmış nüfustaki büyük büyüme ile birleştiğinde, direnç giderek büyük bir sağlık ve ekonomik yük haline gelmektedir (Lister *et al.* 2009, Taylor *et al.* 2014).

Bugüne kadar, mevcut tüm antibiyotikler, bakteri hücresi içindeki temel süreçlere saldırmak için tasarlanmıştır. 1995 yılında, antibiyotik hedefleri için çıkarılabilecek genlerin genişliği, genom çapında genetik taramalar kullanarak bir bakteri türündeki kritik genleri kategorize etme yeteneğinin yanı sıra, bu temel antibiyotikleri engelleyen yeni antibiyotikleri bulmak için kimyasal taramalar kullanma yeteneği ortaya çıkarılarak ilk bakteri genomu dizilmiştir ve antibiyotik keşfini dönüştürme vaadini taşımaktadır. (Fleischmann *et al.* 1995, Poulsen *et al.* 2019).

Tartışmalı olarak, bugün görülen direnç derecesi doğal bir fenomen değildir. Antibiyotikler tarafından yönlendirilen bu seçim, zamanla doğaya bindirilmiş insan yapımı bir durumdur. Birkaç yıldır, dirençli suşların üretimi ve dağıtımı, madde kullanımının sabit seçim baskıları uyguladığı yerlerde meydana gelmektedir (Davies and Davies 2010). Bu nedenle, antibiyotik direnciyle mücadelenin küresel yolları acil bir endişe kaynağıdır. Bugüne kadar 20'den fazla antibiyotik grubu geliştirilmiştir. Ancak bunların çoğu 1940 ile 1960 arasında terapötik olarak uygulanmıştır (Davies and Davies 2010).

En önemli halk sağlığı sorunlarından biri, enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin rastgele kullanılmasından kaynaklanan antibiyotiklere karşı bakteriyel

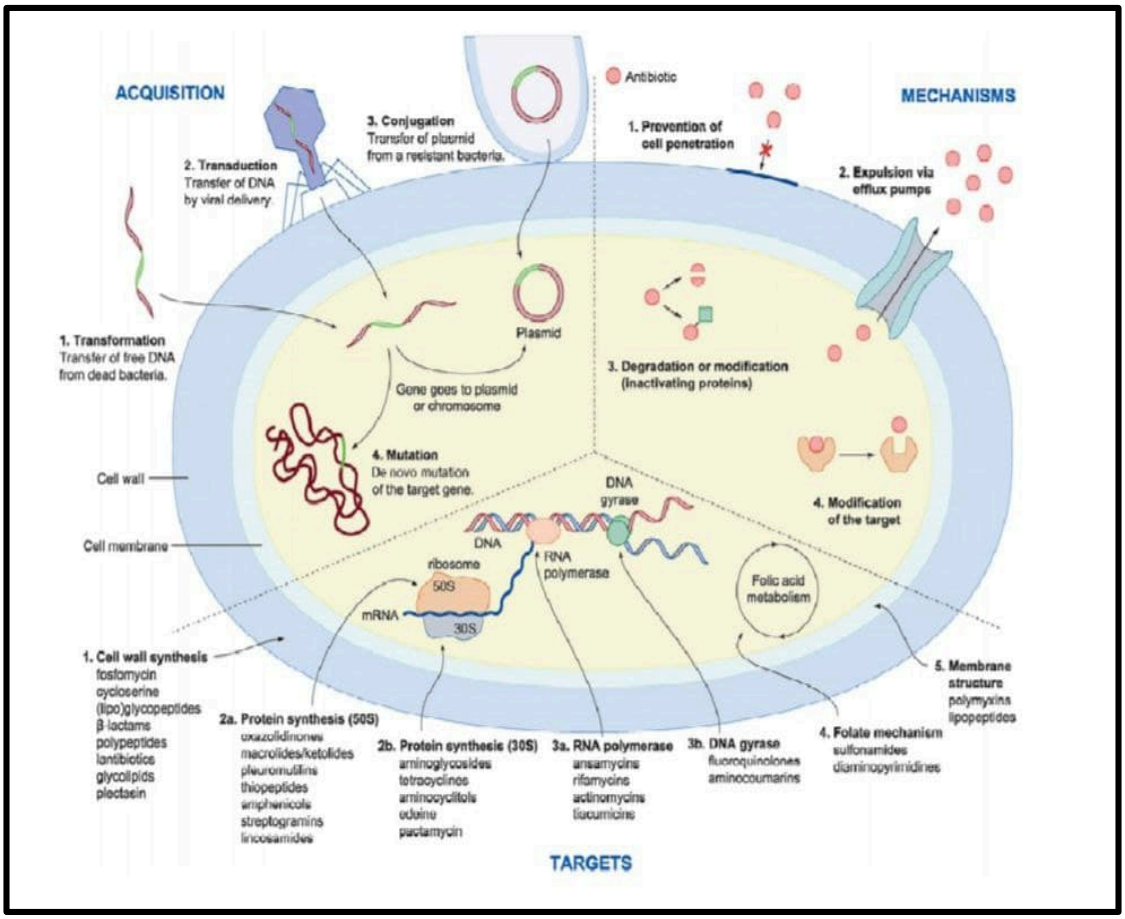
dirençtir. Çeşitli antibiyotiklere karşı çoklu dirençli suşların ortaya çıkması, özellikle hastanede yatan hastalarda temel sorunlardan biri haline gelen ve tedavi maliyetinin yüksek ve uzun sürmesi nedeniyle bakım merkezinin sağlığında ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Yusuf *et al.* 2017).

Dünya Sağlık Örgütü, *P. aeruginosa*'yı, artan sayıda antibiyotiğe dirençli bakteri arasında yalnızca karbapenem dirençli Acinetobacter baumannii tarafından sayıca fazla olan yeni antibiyotiklere acilen ihtiyaç duyulan iki numaralı öncelikli patojen olarak değerlendirmiştir (Tacconelli *et al.* 2017).

(Juhas 2015), özellikle yakın zamanda tanımlanan *P. aeruginosa*'ya ve bunların antimikrobiyallerin temel genlerinin geliştirilmesi için sömürülmesine odaklanarak, *P. aeruginosa*'nın temel genlerinin araştırılması hakkında bir güncelleme sunmaktadır.

İran, İsfahan'daki hastanelerde klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarındaki antibiyotik direnç paternleri, İsfahan'ın büyük hastanelerindeki klinik örnekler arasında MDR'li P. aeruginosa suşlarının çok yüksek insidansını ortaya çıkarmıştır. Bu önemli bir endişe kaynağıdır ve baskılarla başa çıkmayı zorlaştırır (Vaez *et al.* 2015).

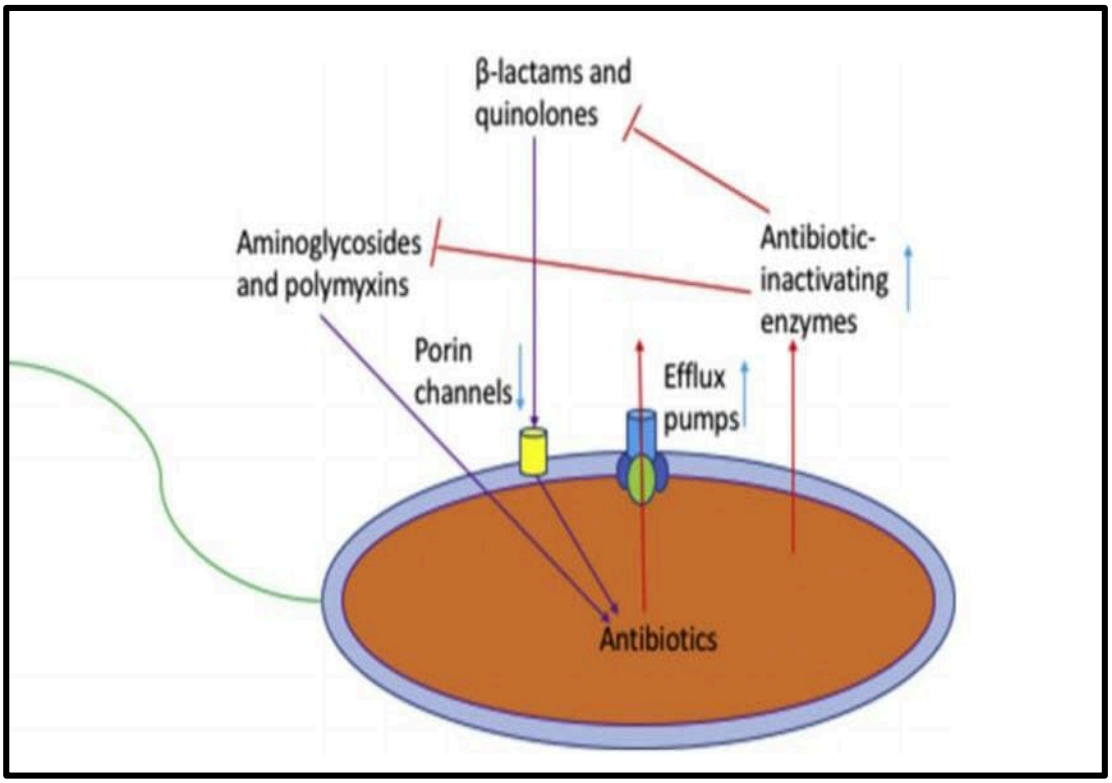
Yaşam koşullarına bağlı olarak, tek bir bakteri suşu çeşitli direnç mekanizmalarına sahip olabilir. Bakteriyel antibiyotik direncinin biyokimyasal yolları, (i) antibiyotik inaktivasyonu, (ii) hedef bölge modifikasyonları ve (iii) akış pompaları ve OM geçirgenlik değişikliklerini içermektedir (Şekil 2.3) (Chellat *et al.* 2016).



Şekil 2.3 Bakteriyel antibiyotik direnç yolları, mekanizmaları ve hedefleri göstermektedir (Chellat *et al.* 2016)

2.5.1 İçsel antibiyotik direnci

Bakteri türlerinin içsel antibiyotik direnci, doğal yapısal veya işlevsel özellikler yoluyla belirli bir antibiyotiğin etkinliğini azaltmak için doğal kapasitesini ifade eder (Blair *et al.* 2015). *P. seudomonas* aeruginosa'nın, örneğin β-laktamazlar gibi dış membran geçirgenliğini azaltarak çoğu antibiyotiğe karşı yüksek derecede içsel dirence sahip olduğu göstermektedir (Şekil 2.4) (Breidenstein *et al.* 2011).



Şekil 2.4 *P. aeruginosa*'daki içsel antibiyotik direnci mekanizmalarının şematik bir gösterimi

P. aeruginosa'nın doğuştan gelen antibiyotik direnç mekanizmaları, azaltılmış dış zar geçirgenliğini, antibiyotikleri hücrelerden dışarı pompalayan akış sistemlerini ve antibiyotik-inaktive edici enzim üretimini gerektirir. Porin kanalları, kinolonların ve -laktamların hücre zarlarından geçmesine izin verir. Aminoglikozidler ve polimiksinler, dış zarda *P. aeruginosa* LPS ile reaksiyona girerek kendi absorpsiyonlarını iyileştirir (Pang *et al.* 2019).

2.5.1.1 Dış zar geçirgenliği

P. aeruginosa enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan çoğu antibiyotik, hücre içi hedeflere ulaşmak için hücre zarı hedeflerini kırabilmelidir (Lambert 2002). Tobramisin, gentamisin ve amikasin gibi aminoglikozit ailesindeki antibiyotikler ribozomal 30S alt birimlerine bağlanır ve bakteriyel protein sentezini engeller (Mingeot *et al.* 1999). Siprofloksasin ve levofloksasin gibi kinolon antibiyotikleri, DNA replikasyonunu

önleyen DNA giraz ve topoizomeraz IV'ü inhibe ederek çalışır (Aldred *et al.* 2014). Moleküler yapılarında -laktam halkası bulunan antibiyotikler arasında penisilin, sefalosporin, karbapenem ve monobaktam bulunur. Peptidoglikan oluşumunda yer alan enzimler olan penisilin bağlayıcı proteinler, bakteri hücre duvarı üretimini baskılayan bu antibiyotik ailesi tarafından hedeflenir (Poole 2004).

2.5.1.2 Akış sistemleri

Bakteriyel akış pompalarının beş aileden oluşur, bunları: RND ailesi, Ana Kolaylaştırıcı Süper Ailesi (MFS), ATP Bağlayıcı Kaset (ABC) süper ailesi, Küçük Çoklu İlaç Direnci (SMR) ailesi ve Çoklu İlaç ve Toksik Bileşik Ekstrüzyon (MATE) ailesi (Sun *et al.* 2014b). Bunlarından, özellikle RND akış pompası ailesinden gelen proteinler, P. aeruginosa antibiyotik direncinde çok önemli bir rol oynar (Li and Nikaido 2009). Sitoplazmik zar taşıyıcıları, periplazmik bağlayıcı proteinler ve dış zar porin kanalı proteinlerinden oluşurlar (Daury *et al.* 2016).

2.5.1.3 Antibiyotik inaktive edici enzimler

Bakterilerde içsel direncin en önemli mekanizmalarından biri, ilaçları parçalayan veya değiştiren antibiyotik inaktive edici enzimlerdir. Birçok antibiyotik, -laktamazlar gibi P. aeruginosa enzimleri ve amidler ve esterler gibi aminoglikozit değiştirici enzimler tarafından hidrolize duyarlı kimyasal bağlantıları içerir (Wright 2005, Keith 2005, Wolter and Lister 2013).

2.5.2 Edinilmiş antibiyotik direnci

Mutasyon değişiklikleri veya yatay gen transferi yoluyla direnç genlerinin edinilmesi ile bakteriler antibiyotik direnci kazanabilir (Gebetsberger *et al.* 2017). *P. aeruginosa*'nın yüksek düzeydeki doğal antibiyotik direncine ek olarak, kazanılmış direnç, çoklu ilaca dirençli suşların oluşumuna önemli ölçüde katkıda bulunur, bu da eradikasyonu daha zor

hale getirir ve daha fazla tekrarlayan enfeksiyon oluşumuna katkıda bulunmaktadır (Henrichfreise *et al.* 2007).

2.5.2.1 Mutasyonlar tarafından direnç

Mutasyon değişiklikleri, antibiyotik absorpsiyonunun azalmasına, antibiyotik hedef değişikliklerine neden olabilir. Akış pompaları ve antibiyotik inaktive edici enzimler, bakterilerde aşırı eksprese edilerek, antimikrobiyal bileşiklerin varlığında hayatta kalmalarına izin verir (Gebetsberger *et al.* 2017).

2.5.2.2 Direnç genlerinin kazanılması

Plazmitler, transpozonlar, integronlar ve profajlar antibiyotik direnç genleri taşıyabilir ve bakteriler bu genleri aynı veya farklı bakteri türlerinden yatay gen transferi ile alabilir (Breidenstein *et al.* 2011). İntegronlar, mobil gen kasetlerini belirli genomik konumlara yerleştirmek için bölgeye özgü rekombinasyonu kullanan genetik elemanlardır (Hall and Collis 1995) ve *P. aeruginosa* suşları arasında antibiyotik direncinin yayılmasında önemli olduğunu gösterilmiştir (Khosravi *et al.* 2017, Nikokar *et al.* 2013, Odumosu *et al.* 2013).

2.5.3 Adaptif antibiyotik direnci

Adaptif direnç, bir çevresel uyarana yanıt olarak gen ve/veya protein ekspresyonundaki geçici değişikliklerin bir sonucu olarak bir bakterinin bir antibiyotik saldırısında hayatta kalma kapasitesini arttırır ve uyaran geri çekildiğinde tersine çevrilebilir (Sandoval and Aldana 2016). Biyofilm oluşumu ve kalıcı hücre üretimi, *P. aeruginosa*'da en iyi çalışılmış adaptif direnç mekanizmaları olup, KF hastalarında kronik enfeksiyon ve kötü prognoz ile sonuçlanır (Taylor *et al.* 2014).

2.6 *P. aeruginosa*'nın Virülans Faktörleri

Pseudomonas aeruginosa, önemli hastane enfeksiyonlarına, bağışıklığı baskılanmış kişilerde hayatı tehdit eden enfeksiyonlara ve kistik fibroz hastalarında kalıcı enfeksiyonlara neden olan bir bakteridir. Bakterilerin patojenitesi, çok sayıda hücre ile ilişkili ve dış değişkenleri etkiler. Doku kolonizasyonunda, bakteriyel hayatta kalma ve istilada virülans faktörleri önemli bir patojenik rol oynamaktadır (Moissenet and Khedher 2011).

Virülans faktörleri iki kategoriye ayrılır: (1) Yüzeyde veya *P. aeruginosa* tarafından salgılanan, akut enfeksiyona karışan faktörler. Pili, epitelin ekzoenzim S ve diğer adezinler ile epitel hücrelerine yapışmasını sağlar. Doku nekrozu için ekzotoksin A sorumludur; (2) kronik enfeksiyonda önemli olan faktörler: sideroforlar (pyoverdin ve pyochelin), bakterilerin demir iyonlarının yokluğunda büyümesine neden olur. Kistik fibroz hastalarından izole edilen suşlar, bakteriyi fagositoz, antibiyotikler ve dehidrasyondan koruyan bir aljinat psödokapsülüne sahiptir (Moissenet and Khedher 2011).

Biyofilmler, konakçı savunmasını, yani konakçı bağışıklık sistemi dezenfektanlarının ve antibiyotiklerin bakteri direncine ulaşmasını engellediği için, oldukça sert enfeksiyonlara neden olan bir bakteriyel virülans faktörü olarak kabul edilir (Venter 2019). *P. aeruginosa*'da biyofilm oluşumu QS sistemleri tarafından düzenlendiğinden, *P. aeruginosa*'nın herhangi bir müdahalesi potansiyel olarak biyofilmlerin gelişmesini engelleyebilir (Welsh 2016). Bu, çoklu ilaca dirençli (MDR) suşların antibiyotik ve farklı gen ekspresyon tepkisini, yavaş gelişmeyi, konak savunma mekanizmalarının yıkılmasını, yüksek yanal gen transfer seviyelerini ve strese karşı direnci artıracaktır (Saxena *et al.* 2019).

2.6.1 Virülans belirleyicileri

P. aeruginosa bakterilerinin çekirdek genomlarında çeşitli virülans faktörlerini düzenleyen çeşitli virülans belirleyicileri vardır (Valot *et al.* 2015, Haghi *et al.* 2017). Bakteriyel virülans, patojenik bakterilerin hayatta kalması ve bulaşıcı hastalıkların bulaşması için hayati öneme sahiptir. Virülans genleri motiliteyi, sitotoksisiteyi ve virülans faktörlerinin üretimini kontrol eder (Breidenstein *et al.* 2011). *P. aeruginosa*'daki virülans, istilaya yardımcı olmak ve yeni konakçı dokuda akut bir enfeksiyon oluşturmaya yardımcı olmak için planktonik büyüme sırasında en yüksek düzeydedir. Hücredeki birçok mekanizma, akciğer substratı boyunca yapışma ve harekette rol oynadığı düşünülen flagella ve T4P şeklindeki motilite aparatı gibi bakteriyel virülansa katkıda bulunmaktadır. Benzer şekilde, lektinler epitel hücrelerine yapışmayı arttırır ve ayrıca solunum yollarındaki siliyer fonksiyonunu azaltır (Khalifa *et al.* 2011, Grishin *et al.* 2015).

Yüksek proteolitik aktiviteye sahip, antikorların ve sitokinlerin deaktivasyonuna ve pulmoner epitelyumda bulunan elastinin degradasyonuna izin veren elastazlar gibi hücre dışı ortama çok sayıda virülans faktörü salgılanır (Kida *et al.* 2008, Khalifa *et al.* 2011). *P. aeruginosa*'nın renklenmesine katkıda bulunan mavi bir pigment olan piyosiyanin de salgılanır ve konakçı hücrelerde oksidatif strese katkıda bulunur, kalsiyum homeostazını bozar ve hücre solunumunu ve büyümesini engeller (Lau *et al.* 2004). Alkalin proteaz, T1SS tarafından salgılanır ve bağışıklık sisteminin tamamlayıcı bileşenlerinin yanı sıra sitokinler ve kemokinleri bozarak fagositozu önlenmesini sağlarken (Kida *et al.* 2008), Eksotoksin A, komşu konak hücrelerde hücre ölümünü indüklemek için protein sentezini inhibe eden T2SS tarafından salgılanan bir toksindir. Akut enfeksiyonla ilişkili diğer virülans faktörleri arasında serum kaynaklı lizise karşı korumaya yardımcı olan lipopolisakkaritler ve mukosiliyer taşımayı bozan, fagositozu engelleyen ve hareketlilik ve biyofilm oluşumunda rol oynayan hücre dışı glikoproteinler olan ramnolipidler bulunur (Khalifa *et al.* 2011).

Son olarak, T3SS, bakterilerin toksinleri doğrudan komşu konak hücrelere enjekte etmesine ve nekroz yoluyla hücre ölümünü indüklemesine izin veren önemli bir virülans faktörüdür (Khalifa *et al.* 2011).

Bakteriler yerleştiğinde, akut virülans faktörleri aşağı regüle edilir ve enfeksiyon kronik bir aşamaya ilerler. Büyümenin kronik aşaması sırasında, bakteriler bağışıklıktan kaçınma stratejileri geliştirir, antibiyotik direnç mekanizmalarının ifadesini teşvik eder ve korumalı biyofilm toplulukları oluşturur. Kronik büyüme ile ilişkili virülans belirleyicileri, demir alımı için sideroforların üretimini ve polisakkarit açısından zengin bir matrisin salgılanmasını içerir (Khalifa *et al.* 2011, Balasubramanian *et al.* 2013).

2.6.2 *P. aeruginosa* patogenezinde virülans faktörlerinin rolü

2.6.2.1 Flagella

P. aeruginosa ile enfeksiyonda ilk adım, pili, flagella ve aljinatın yüzeydeki epitele yapışmaya aracılık etmesidir (Cotar *et al.* 2010). Flagella sadece motilitede değil, aynı zamanda Toll-benzeri reseptör 5 aracılığıyla konağın inflamatuar yanıtını aktive etmede ve konakçı hücrelere bakteri bağlanmasında rol oynar. Flagellin, hedef aşı antijenleri olarak hizmet eden A ve B serotiplerine bölünebilen flagellar filamentin anahtar bir protein elementidir (Campodónico *et al.* 2010).

2.6.2.2 Pili

Flagella gibi, bağlanma gibi bakteri-konak hücre etkileşimlerinde pili de önemli roller oynar. *P. aeruginosa*'daki pili, tip IV pilidir (Mattick 2002).

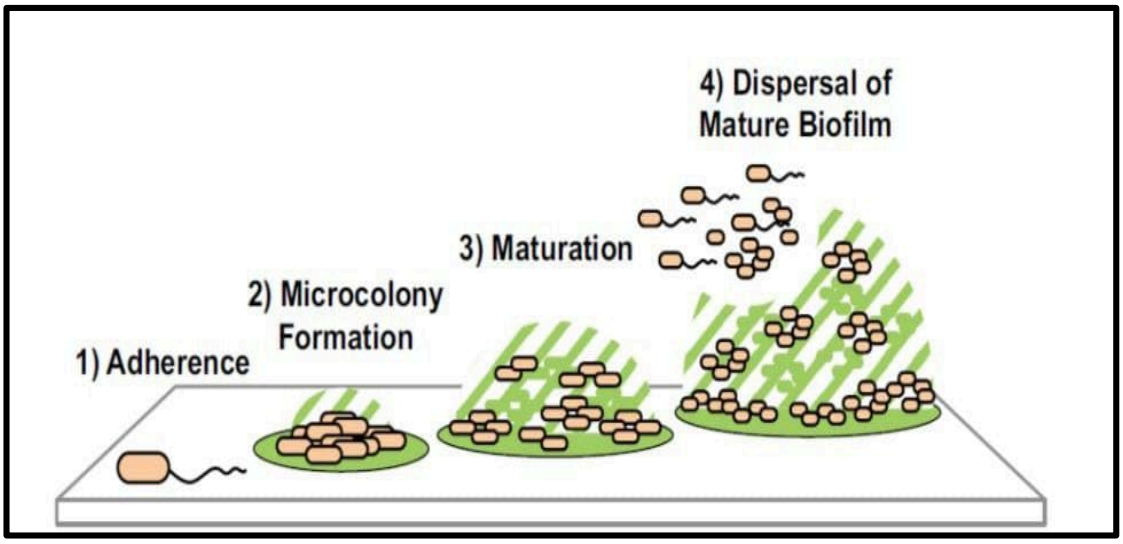
2.6.2.3 Lipopolisakkarit (LPS)

Lipopolisakkarit, polisakkarit O, çekirdek antijenler ve bir glukozamin disakkarite bağlı yağ asidi ve fosfat gruplarından oluşan lipid A'dan oluşur. Gram negatif bakterilerin dış zarlarında özel bir kimyasal yapıya sahip moleküller bulunmaktadır (Ernst *et al.* 2006).

2.6.2.4 Çekirdek algılama ve biyofilm oluşumu

Biyofilmler, hücre dışı polimer maddelerden (EPS) oluşan bir matris içine alınmış, yüksek düzeyde yapılandırılmış, yüzeye bağlı mikrobiyal topluluklardır. Polisakkaritler, proteinler ve hücre dışı DNA, EPS'de yaygın olarak bulunur (Puthanpura *et al.* 2018).

Çekirdek algılama, virulansın düzenlenmesinde merkezi bir rol oynar. Sinyal moleküllerinin kritik eşiklerine yanıt olarak gen ekspresyonunu düzenleyen yoğunluğa bağlı bir bakteriyel iletişim sistemidir (bkz Şekil 2.5). Bu sinyaller, komşu hücreler tarafından alınan ve aynı kökenli reseptörlerine bağlandıkları ve çevreye salgılandıkları küçük yayılabilir moleküllerdir. Bakteri popülasyonu genişledikçe ve geniş bir gen yelpazesinin, özellikle de virülansla ilişkili genlerin koordineli ekspresyonunu aktive ettikçe, biriken QS sinyal moleküllerinin konsantrasyonu kritik bir eşiğe ulaşır (Davenport *et al.* 2015).



Şekil 2.5 Biyofilmlerde *P. aeruginosa* gelişim döngüsü

1- Bakteriler kendilerini bir yüzeye tutunurlar.

2- Hücre bölünmesi, biyofilm genlerinin ekspresyonu ve ek hücrelerin yapışması yoluyla bir mikrokoloni oluşur.

3- Biyofilm gelişmeye devam edecek. Biyofilm içindeki çekirdek algılama ve beslenme gradyanları, alt popülasyonların oluşmasına neden olur.

4- Çekirdek algılama, dış sinyaller ve fiziksel rahatsızlık, belirli hücrelerin hareket etmesine ve dağılmasına neden olur. Döngü daha sonra yayılan bakteriler tarafından tekrarlanabilir (Taylor *et al.* 2014).

2.6.2.5 Pigmentler

1. Piyosiyanin kelimesi, *P. aeruginosa'nın* neden olduğu destekleyici enfeksiyonların bir belirtisi olan "mavi irin" anlamına gelen Latince pyocyaneus kelimesinden gelir. Pyosiyanin, *P. aeruginosa'nın* mavi-yeşil pigment metabolitidir ve gelişmiş konak yanıtı baskılanmış IL dâhil olmak üzere bir dizi patojenik sonuçla bağlantılıdır (Griffiths *et al.* 2004).

2. Pyoverdin'in ek *P. aeruginosa* virülans faktörleri, eksotoksin A ve bir uç proteaz üretimini ve ayrıca kendi salgısını kontrol ettiği gösterildiğinde, bu tutulum için bir açıklama ortaya çıkmıştır.

3. Kırmızı pigmentler belirli suşlar (pyorubin) tarafından üretilir.

4. Siyah bir pigment olan pyomelanin, az sayıda insan tarafından üretilir (Salih 2016).

2.6.2.6 Enzimler

Bir diğer önemli virülans bileşeni, *P. aeruginosa* tarafından dört farklı formda üretilen proteaz IV'tür: lasb elastaz, lasa elastaz veya stafilozin, alkalin proteaz ve proteaz IV. Bu proteazlar, *P. aeruginosa'nın* dokulara sızma ve konak savunma sistemlerine müdahale etme yeteneğini arttırdıkları için virülansla bağlantılıdır. Elastin (akciğer, vasküler, ve oküler doku) çeşitli dokulardan oluştuğundan, bu enzimlerin elektrolitik aktivitesi patogenezde oldukça önemlidir (Lyczak *et al.* 2000).

Proteaz IV, fibrinojen, elastin ve bağışıklık sistemi bileşenleri dâhil olmak üzere konakçı proteinlerin yok edilmesini indükler ve bakteriyel yapışmaya yardımcı olduğuna inanılır (Salih 2016).

2.6.2.7 Toksinler

2.6.2.7.1Ekzoenzim S (Exo S)

P. aeruginosa, patogenezde rolü olduğu gösterilen virülans faktörü Exo S'yi üretir. Exo S, birçok hücre proteininin ADP-ribosilasyonuna neden olur ve T hücrelerinin benzersiz bir mitojeni olan ve lenfosit proliferasyonu geciktirilse ve azaltılsa da yüksek oranda T hücrelerini aktive eden güçlü bir immünolojik uyarı olan T hücrelerinde apoptozu teşvik eder (Salih 2016).

2.6.2.7.2 Ekzotoksin A (ETA)

ETA, lokal dokulara zarar vermekten, bakteri istilasından ve immün baskılanmadan sorumlu olan en güçlü toksik faktördür. ETA, protein biyosentezi inhibisyonuna ve hücre ölümüne yol açan protein sentezi makinesinin ayrılmaz bir unsuru olan ADP ribozilasyonunu ve EF2 inaktivasyonunu katalize eder (Paulse *et al.* 2012).

Ekzotoksin, bakteriler tarafından üretilen bir toksindir. Proteinin N-terminal ucunda bulunan Domain I, ETA'nın reseptörleri bağlamaktan sorumlu hedef hücrelere bağlanmasında rol oynar. Domain II ise, ETA'nın protein sitozolüne translokasyonunda yer alır ve Domain III, proteinin ADP-ribosil transferaz aktivitesinde yer almaktadır (Mostafaie *et al.* 2011).

2.6.2.7.3Tip III salgı sistemi (T3SS)

Tip III bakteri salgılama sistemi (T3SS), hem bitki hem de hayvan patojenlerinin, patojen ve konakçı arasında karmaşık bir (biyokimyasal çapraz konuşma) başlatmak için etkili proteinlerini doğrudan ökaryotik konak hücrelere vermelerini sağlayan korunmuş bir enjeksiyon mekanizmasıdır. T3SS'ler, Shigella flexneri, Bordetella pertussis, Vibrio Cholerae, *Pseudomonas* aeruginosa gibi patojenler dahil olmak üzere birçok gram negatif bakteri türü için tanımlanmaktadır. *P. aeruginosa* (TTSS), bakterilerden gelen efektör proteinlerin, ökaryotik zarda bir delik oluşturan iğne benzeri bir uzantı yoluyla bakteri zarlarından geçip ökaryotların sitoplazmasına geçmesine izin veren pilus benzeri bir yapıdır. *P. aeruginosa*, konak hücrelere dört farklı toksin enjekte etmek için TTSS'yi kullanır: ExoY, ExoS, ExoT ve ExoU, ExoY, ExoS, ExoT ve ExoU'nun kısaltmalarıdır (Engel and Balachandran 2009).

2.7 *P. aeruginosa* Genom Yapısı

Pseudomonas Genom Veritabanı, DNA dizileme teknolojisindeki gelişmeler sayesinde 2000'den beri *P. aeruginosa*'nın 80'den fazla klinik ve çevresel izolatının tüm genomlarını yayınlamıştır (Winsor *et al.* 2009). Bir genomun boyutu 5,5 Mbp ile 7,5 Mbp arasında değişebilir. Kökenden bağımsız olarak (çevresel veya klinik izolatlar) *P. aeruginosa*'nın çekirdek genomu, hemen hemen tüm suşlarda bulunan genlerden oluşur ve PAO1'in toplam genomunun yaklaşık %90'ını oluşturur. *E. coli* ve diğer Pseudomonas türleri gibi diğer bakteriyel patojenlerle karşılaştırıldığında, çekirdek genom sadece %0,5 - 0,7% interklonal dizi çeşitliliği ile iyi korunur (Kung *et al.* 2010, Klockgether *et al.* 2011, Grosso *et al.* 2014). Çekirdek genom, bilinen virülans faktörlerinin büyük çoğunluğunu içerir: 18 suş üzerinde yapılan bir çalışmada, bilinen virülans faktörlerinin yaklaşık yüzde 97'sinin korunduğu bulunmuştur (Wolfgang *et al.* 2003). Ayrıca, klinik olarak izole edilmiş *P. aeruginosa* suşları, *P. aeruginosa*'nın ayrı bir alt popülasyonunu temsil ettiğini görünmemektedir ve çeşitli kaynakların çevresel izolatlarına zararlı olabilir (Grosso *et al.* 2014).

Ayrıca, bakteri genomu, diğer dizili bakterilere kıyasla nispeten büyüktür ve organik bileşiklerin metabolizması, taşınması ve dışarı akışı için gerekli olan düzenleyici enzimleri kodlar. Bu genler, büyük metabolik esneklik ve yüksek çevresel uyum için *P. aeruginosa* kapasitesini geliştirirlerdir (Pang *et al.* 2019).

2.7.1 Genomun bileşenleri

P. aeruginosa'nın yardımcı genomu hem kromozom dışı (plazmitler) hem de kromozomal bileşenleri içerir (Klockgether *et al.* 2011). Her tam dizilimli *P. aeruginosa* genomu, G+C içeriğindeki farklılıkları, kodon ve tetranükleotidlerin kullanımı, genlerle etkileşimleri/ hareket fonksiyonları ve belirli lokuslarına yerleştirilmeleri ile tanınan 30 - 50 yardımcı element içerir (Klockgether *et al.* 2011, Kung *et al.* 2010). Sıralanmış genomların mevcudiyeti, genom plastisite bölgeleri' RGP'leri olarak adlandırılan 89 lokusun tanımlanmasını mümkün kılmıştır (Mathee *et al.* 2008, Klockgether *et al.* 2011), suşlar

arasında korunan ancak benzersiz olan ve tüm suşlarda bulunmayan dört veya daha fazla ORF içeren DNA dizileri ile çevrilidir (Mathee *et al.* 2008). 10 kb'nin üzerindeyse genomik adalar veya 10 kb'nin altındaysa adacıklar genellikle RGP'lerde bulunan genetik elementler olarak adlandırılır (Kung *et al.* 2010). İntergenik alanlarda, RGP'lerin büyük çoğunluğu bulunur, 20 tanesi tRNA'ların 3'ucunda ve sadece 3'ü ORF kodlamasında bulunur (Klockgether *et al.* 2011).

Özelliklerine bağlı olarak, aksesuar bileşenleri, doğrudan veya ters tekrarların varlığı veya bunlarla ilişkili integral türü gibi çeşitli gruplara ayrılabilir. Bununla birlikte, diğerleri dejenere oldukları veya uygun şekilde karakterize edilmedikleri için belirli bir forma atanmamaktadır (Kung *et al.* 2010).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Aparat ve ekipmanlar

Aşağıdaki çizelgede Aparat ve ekipmanların, şirket ve menşei ile birlikte gösterilmektedir (bkz Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Aparat ve ekipmanlar

Aparat'ın Adı	**Şirket**	**Menşei**
Santrifüj	Gemmy	Tayvan
Otoklav	Express	Japonya
Damıtıcı	G.F.L	Almanya
Isıtıcı	Luxel	Türkiye
Bileşik ışık mikroskobu	Olympus	Japonya
Elektroforez ünitesi	Bio rad	İtalya
Agaro-Powe	Bioneer	Kore
Mikropipet	Erlab	ABD
Nano damla	NAS-99	Tayvan
PCR tüpü	Bioneer	Kore
Exispin	Bioneer	Kore
MyGenie (96/384) Gradyan Termal Blok	Bioneer	Kore
UV Transillüminatör	Witeg Labortechnik GmbH	Almanya
Fırın	LG	Kore
Sıcak tabak	Gallenkamp	İngiltere
Laminer hava akışı Davlumbaz	CHC Lab	Kore
Kuluçka makinesi	Heraeus	Almanya
Millipor Filtre Kağıdı	Millipore corp	ABD
Mikro – santrifüj	Eppendorf	Almanya
Hassas Terazi	Denver instruments	Almanya
Güç kaynağı	Labnet instrument	ABD
Buzdolabı	National	Japonya
Farklı hacimlere sahip ipuçları	Promega	ABD
Multigene Termal Döngüleyici Optimax (PCR)	Labnet International	ABD
Su banyosu	GLF	Almanya

3.1.2 Kimyasal ve biyolojik malzemeler

Çizelge 3.2'de mevcut çalışmada kullanılan tüm kimyasal ve biyolojik malzemelerin olduğunu göstermektedir.

Çizelge 3.2 Kimyasal ve biyolojik malzemeler

Malzemeler	**Şirket**	**Menşei**
Agaroz	Reagent world	ABD
Etidyum Bromür Boya	Bio-base	Kanada
Antibiyotik diski	Oxoid	Birleşik Krallık
Nükleaz içermeyen su	Promega	ABD
H_2O_2	Syrbio	Suriye
TBE 10X	Promega	ABD
Deionized D.W	Local	Irak
Tetrametil-p-fenilendiamin	Syrbio	Suriye
Nükleaz içermeyen su	Promega	ABD
Etanol %70	Himedia	Hindistan
Etanol %95	Local	Irak
Gliserol	Sigma	Birleşik Krallık

3.1.3 Ortam

Hazırlanan tüm ortamlar, otoklavlama ile sterilize edilmiş, üretilen kılavuzlarda belirtildiği gibi yapılmıştır. Mevcut çalışmada kullanılan hazır ortamlar Çizelge 3.3'te açıklanmaktadır.

Çizelge 3.3 Mevcut çalışmada kullanılan kültür besiyerleri

Öğe adı	Şirket	Menşei
Beyin kalp infüzyon agar/ et suyu	Himedia	Hindistan
Setrimid Suyu		
Agar –agar		
Setrimid agar		
Besin suyu		
Mueller Hinton suyu		
Muller Hinton Agar	Oxoid	Birleşik Krallık
MaCconky agar		
Kanlı Agar baz	Oxoid	Birleşik Krallık

3.1.4 Antibiyotik diskleri

Mevcut çalışmada kullanılan antibiyotik diskler Çizelge 3.4'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.4 Antibiyotik diskleri

Antibiyotik diskleri	Sembol	Konsantrasyonlar (µg/Disk)
Amikasin	AK	30
Gentamisin	CN	10
Aztreonam	ATM	30
Siprofloksasin	CIP	5
Tobramisin	TOB	10
Norfloksasin	NOR	10
Imipenem	IPM	10
Ofloksasin	OFX	5
Levofloksasin	LEV	5
Seftazidim	CAZ	30

3.1.5 Laboratuvarlar tarafından hazır yapılan ortamlar

Mevcut çalışmada kullanılan tüm besiyerleri Çizelge 3.5'de gösterilmektedir, üretici talimatlarına göre hazırlanarak besiyeri için 7,0 pH'a modifiye edilecek, daha sonra 121°C'de otoklavlanarak 15 dakika sterilize edilecektir.

3.1.6 Beyin kalp infüzyon suyu (BHIB)

37g BHIB'in 1 L DW'de çözülmesi ve ortamın pH'ı 7,0'a ayarlanarak hazırlanan ortam, 10 ml'lik test tüplerine dökülerek 15 dakika sterilize edildikten ardından tüm tüpler oda sıcaklığında soğutulup sterilliklerini kontrol etmek için 24 saat 37°C'de inkübe edilecektir.

3.1.7 Beyin kalp infüzyon agar (BHIA)

Ortam, malzemeleri tamamen çözmek için bir ısıtıcı kullanarak, ortam için pH'ı 7,0'a ayarlanacak ve 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavlanacak ve 45 - 50°C'e soğutulur ve sterilize ederek 52g BHIA'nın 1 litre DW'de çözülmesiyle hazırlanır. Daha sonra steril plakaya (4mm derinliğinde) dökünerek oda sıcaklığında katılaşması için bırakılacaktır.

3.1.8 Kanlı agar ortamı

39,5g kanlı agar bazının 1 litre D.W içinde çözülmesi, kanlı agar ortamı hazırlanarak ortamın pH'ı 7,0'a ayarlanacak, ardından 15 dakika otoklavlanacak. 50°C'ye kadar soğutulduktan sonra, buna eklenen tüm insan kanının (yüzde 5-7) tamamı değiştirilerek steril Petri kaplarına dağıtılacaktır.

3.1.9 MacConkey agar

MacConkey agar besiyeri hazırlama, 52g MAC agarın 1 litre D.W içinde çözülür, ardından bileşenlerin tamamen çözülmesi için bir ısıtıcı ile kaynatılacak ardından ortamın pH'ının 7,0'a değiştirilmesiyle gerçekleştirilecek. Daha sonra otoklavlanarak (20mL) steril plakaya dökülecek ve katılaşmaya bırakılacak.

3.1.10 Setrimid agarı

Ortam, 45,3g setrimid agarın 1 litre D.W içinde çözülerek ortamın pH'ının 7,0'a değiştirilecek ve ardından otoklavlanmasıyla ısıtılarak hazırlanır. Daha sonra oda sıcaklığında bırakılarak Petri kaplarına (4mm) dökülecektir.

3.1.11 Setrimid suyu

1 litre D.W içinde 25,3g setrimid suyu çözülerek hazırlanacak, tamamen yumuşaması için kaynatılacak ve ortam için pH 7,0'a ayarlanacak, ardından 15 dakika otoklavlanacak. Daha sonra düzlem içi tüp dağıtılacaktır.

3.1.12 Mueller-hinton (MH) agar

1 litre D.W.'de 38g MHA çözülerek bu ortam hazırlanacak. Isıtmadan sonra ortam için pH 7,0'a ayarlanacak ve geri kalanı 45 - 50°C'de soğuması için otoklavlanacak.

3.1.13 Reaktiflerin, solüsyonların, lekelerin, tamponların ve antiseptiklerin hazırlanması

Reaktifler

Katalaz test reaktifi: Bu test, hidrojen peroksitin %3 H_2O_2'nin peroksidaz enzimleri üretme ve bunları oksijen ve suya parçalama kapasitesini sınıflandırmak için kullanmaktadır (Elango *et al.* 2010).

Oksidaz test reaktifi: Bu çözelti hazırlanacak ve 1g tetrametil-P-fenilendiamin 100 mL D.W. içinde çözülerek karanlık bir kapta saklanacak. Daha sonra bakterilerin oksidaz enzimini üretme yeteneğini keşfetmek için kullanılacak.

3.1.14 Çözeltiler

Normal fizyolojik tuzlu su çözeltisi: Bu çözelti, 0,85g sodyum klorürün 100mL D.W. içinde çözülecek, ardından 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak oda sıcaklığında tutulmasıyla hazırlanacak (Al-Jailawi *et al.* 2013).

McFarland standart çözelti (Sharifuddin and Buandasan 2020).
Çözelti (1): 90 mL D.W içinde çözülecek 1,175g $BaCl_2$ ile hazırlanerek 100mL ile tamamlanacaktır.

Çözelti (2): (190mL) D.W'ye 1mL H_2SO_4 ilave edilir ve 100mL ile tamamlanır. Daha sonra standart tarafından hazırlanan son 10mL: 0,05mL solüsyon (1) + 9,95mL solüsyon (1) + 9,95mL solüsyon (2)'dir.

3.2 Yöntemler

3.2.1 Örnek toplama

Çizelge 3.5'de gösterildiği gibi (10/8/2020 - 20/11/2020) döneminde farklı hastane türlerine (Yanık merkezi, Al-Kadhimiya Hastanesi, Alkarama hastanesi, Bağdat Eğitim Hastanesi, al Saader hastanesi, Medical City - Ghazi Hariri Özel Cerrahi Hastanesi, Eğitim laboratuvarı, Al Yarmouk eğitim hastanesi ve Yarmouk hastanesinde yanık merkezi) başvuran hastalardan (iki cinsiyet ve çocuk) farklı klinik kaynaklardan yaklaşık 120 farklı örnek elde edilmiştir.

Çizelge 3.5 Bu çalışmadan toplanan örnekler aşağıda gösterilmektedir

Örnekler	**Toplam örnek sayısı**
Kateterler	3
Yanıklar	25
İltihap	4
Solunum	10
Eklemler	2
BOS	4
Balgam	8
Yaralar	40
İYE	12
Göz	2
Kulak	10

3.2.2 Bakteriyel izolatlar ve yetiştirmeleri

Patojenik G-ve *P. aeruginosa*, beyin kalp infüzyon besiyerinde yetiştirilecek, ardından öze, et suyundan seçici ortama (MacConkey) aşılanarak 37°C'de 24 saat inkübe edilecek.

P.aeruginosa dışındaki türlerin seçici inhibisyonu olarak kabul edilen setrimid agar üzerinde alt kültür ile fermente edilmemiş ve saflaştırılmış olarak karakterize edilecek ve daha sonra sınırlı bir süre boyunca beyin kalp infüzyon agarında yetiştirilecek ve ayırt edilmesi için biyokimyasal testler için buzdolabında saklanacaktır.

3.2.3 Sterilizasyon yöntemleri

Islak ısı ile sterilizasyon: Otoklav çeşitli solüsyonları, tamponları ve ortamları 121°C'de yaklaşık 15 dakika sterilize edilecek. Bu işlemde buhar, fırın sterilizasyonuna göre daha az ve yüksek basınç altında olup, fırınla sterilizasyona göre daha etkin sterilizasyon sağlanacak. Bu nedenle organizmalar protein ve enzim yıkımı nedeniyle öldürülecektir.

Kuru ısı ile sterilizasyon: Cam eşyalar 180°C'de 2 saat fırın ile sterilize ediecek, bu işlemde kullanılan ürünler ısıya dayanıklı ürünlerdir.

Filtre sterilizasyonu: Otoklavlama ile sterilize edilmeye duyarlı antibiyotik ve antiseptikleri sterilize etmek için kullanılan filtre kağıdı (0,22µm).

3.2.4 Bakteri izolatlarının tanımlanması

Toplanan tüm numuneler morfoloji ve biyokimya testleri ile tanımlanır.

Morfolojik özellikler: Bakteriler, özelliklerini inceleyen daha ileri bir tanımlama için pyocyanin ve pyoverdine gibi Pseudomonas pigmentlerinin gelişimini artıran setrimid agarın (Seçici *P. aeruginosa* ortamı) büyümesiyle tanımlanmaktadır (Al-Jailawi *et al.* 2013).

Mikroskobik özellikler: *P. aeruginosa* izolatlarının identifikasyonu, klinik örneklerin besiyerinde inkübasyonundan sonra mikroskobik yöntemle yapılacak. Bakteri rengi mikroskop altında kırmızı veya pembe olma eğilimindedir. Bunun nedeni, tüm gram

negatif bakterilerde, lekenin nüfuz etmesini engelleyen dış zar bakterilerinin (LPS ve protein) bulunmasıdır. Bu testin amacı, hücre duvarı yapısındaki farklılıklar temelinde iki farklı bakteri türünü ayırt etmektir (Sui *et al.* 2006, Wadekar *et al.* 2013).

MacConkey agarda (MAC) büyüme: Kültür bakteri izolatları için, MacConkey agar (MAC) kullanılarak 37°C'de 18-24 saat inkübe edilecek. MAC, öncelikle *P. aeruginosa* üyelerinin tespiti ve izolasyonu için kullanılacak. Gram-negatif organizmalar için seçicidir (safra tuzları seçici bir ajan olarak dahil edilir ve gram-pozitif organizmaları inhibe eder) ve gram-negatif laktozu fermente eden çubukları gram-negatif laktozu fermente etmeyen çubuklardan ayırt etmeye yardımcı olur. Fermentatif laktoz bakterileri, asit üretimi ortamın pH'ını düşürür. Laktoz, (*P. aeruginosa*) gibi laktoza fermente olmayan bakteriler aracılığıyla besiyerinde renksiz görünür (Collee *et al.* 1996).

Oksidaz testi: Oksidaz testi, sitokromlar (solunum zincirlerinin bir parçası) içeren organizmaların varlığını saptar. Sitokrom C varlığı, (maviden mora) dönüştürerek pozitif bir sonuç verirken, sitokrom C'nin yokluğu pozitif bir sonuçla sonuçlanır (test sınırları dahilinde renksiz).

Bu, filtre kağıdına bir damla damlatıldığında ve pozitif reaksiyonda koloninin rengini 10-30 saniye boyunca mor renge dönüştüren reaktif ile doyurulmuş filtre kağıdına tek bir bakteri kültürü kolonisi yerleştirildiğinde meydana gelirken, koloninin rengi negatif sonuç olarak aynı kalır.

Katalaz testi: Bakterilerin H_2O_2'yi suya ve O_2'ye dönüştüren peroksidaz enzimleri üretme kapasitesi tespit edilmektedir. Kültür, genç saf büyümeden (37°C'de 18-24 saatlik büyüme) bir ilmek alınarak temiz bir mikroskop lamına taşınacak. Daha sonra bir çift %3 hidrojen peroksit damlası eklenecek. Kabarcık oluşumu (Oksijen salınımı) katalaz aktivitesini gösterecektir.

Setrimide agar üzerinde büyüme: Bir setrimid agar üzerinde, bakteri izolatı kültürlenecek. 37°C'de 24 saat inkübe edilecek. Bu ortam, seçici bir ortam olarak *P.*

aeruginosa tarafından kullanılacak. Sarı-yeşil floresan pigmentin pozitif bir sonucu olarak pyoverdinin varlığını gösterecektir (Schroth *et al.* 1981).

Kan hemoliz testi: Bakterinin hemolizin üretim kapasitesini tespit etmek için kullanılır. Bakteriler bir kanlı agar plakası üzerinde şeritlenerek, daha sonra gece boyunca 37°C'de inkübe edilecek. Koloni çevresinde berrak bir bölgenin varlığı β-hemolizi gösterirken yeşil rengin varlığı alfa-hemolizi göstermektedir (Collee *et al.* 1996, Sharifuddin and Buandasan 2020).

3.2.5 Bakteriyel izolatın korunması

Gerekli tüm izolatlar göre aşağıdaki gibi korunmaktadır (Collee *et al.* 1996):

▪ **Kısa süreli depolama:** Seçici besiyerinde kültürlenerek saf bakteri kolonilerinin birkaç haftalık bir süre boyunca korunacak.

▪ **Uzun süreli depolama:** Bakteri izolatlarının yüzde 20 gliserol ile 1mL BHB içeren steril bir tüp içinde inoküle edilerek 37°C'de 24 saat inkübe edilmesiyle uzun süreli bakteri izolatlarının korunacak. Parafilm ile sıkıca sarılmış, görünür bakteri üreme tüpleri (kültür bulanıklığı) daha sonra -20°C'de saklanacaktır.

3.2.6 Antimikrobiyal duyarlılık testi

CLSI'ye göre Kirby-Bauer yöntemi kullanılarak bu test gerçekleştirilmektedir (2017). Setrimide agar üzerinde, *P. aeruginosa'nın* tanımlanan tüm izolatları (50) kültürlenerek gece boyunca 37°C'de inkübe edilecek. İnkübasyondan sonra tek bir koloni alarak bulanıklığı McFarland 0,5 seviyesine ayarlamak için normal salin içeren bir düzleme yerleştirecek. Steril sürüntü çalkalanarak normal saline daldırılacak ve ardından hazırlanan normal salinden 30 dakika boyunca Muller-Hinton agar besiyeri yüzeyinin kenarında hareket ettirilecektir (Sahu *et al.* 2018).

Plakalar, kapak kapalı olarak oda sıcaklığında birkaç dakika kurumaya bırakılacak. Daha sonra, steril forseps kullanılarak, daha önce bahsedilen seçilmiş antibiyotik diski (Çizelge 3.6) inoküle edilmiş plak üzerine yerleştirilecek (her plak 5 ile 6 diskli).

Son olarak forseps ile hafifçe bastırılacak, ardından plaklar etiketlenerek bir gece 37ºC'de inkübe edilecek, ertesi gün inhibisyon zonunun çapı ölçülecek ve Çizelge 3.6 ile karşılaştırılacaktır.

Çizelge 3.6 CLSI (2017)'ye göre antibiyotik diskleri ve konsantrasyonu

Antibiyotik Gruplar	**Antibiyotik Diskler**	**Sembol**	**Kons (µg/disk)**	**S**	**I**	**R**
Aminoglikozid	Tobramisin	TOB	10	≥15	13-14	≤12
	Gentamisin	CN	10	≥15	13-14	≤12
	Amikasin	AK	30	≥17	15-16	≤14
Florokinolonlar	Siprofloksasin	CIP	5	≥21	16-20	≤15
	Norfloksasin	NOR	10	≥17	13-16	≤12
	Ofloksasin	OFX	5	≥16	13-15	≤12
Florokinolonlar	Levofloksasin	LEV	5	≥17	13-16	≤13
Sefalosporinler	Seftazidim	CAZ	30	≥18	15-17	≤14
Monobaktamlar	Aztreonam	ATM	30	≥22	16-21	≤15
Karbapenemler	Imipenem	IPM	10	≥19	16-18	≤15

3.2.7 Genetik çalışma

Kitler: Her grubun bileşenleri, şirketleri ve menşeleri ile birlikte çizelgede gösterilmektedir (bkz Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7 Her kitin bileşeni

Kitler	Kitin bileşeni	Şirket - menşe
Go Taq®Green Master Mix	1- Taq polimeraz, dNTP (dATP, dCTP, dGTP ve dTTP), KCl, Tris-BASE (pH 9,0), $MgCl_2$. 2- deiyonize nükleaz içermeyen su	Promega-ABD
Genomik DNA Ekstraksiyonu	Her sistem yeterli reaktif numunesi içerir ve şunları içerir: 1 Hücre Lizis Solüsyonu (500mL) 2) Çekirdek Lizis Çözeltisi (250mL) 3) Protein Çökeltme Çözeltisi (125mL) 4) DNA Rehidrasyon çözeltisi (100mL) 5) RNase A Çözeltisi (1,25mL)	Geneaid
Moleküler Basamakları	Marker olarak kullanılan (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 ve 1500 bp) 10 mM Tris-HCL (pH 8,0), PCR ürünleri için 10 mM EDTA elektroforezinde 25^{o}C'de 6 ay Süreyle saklanır.	Bioland - ABD

***P. aeruginosa*'da tespit genleri için primerler:** Tüm Primer dizileri Çizelge 3.8'de sunulmaktadır.

Çizelge 3.8 Mevcut çalışmada kullanılan tüm primer dizileri

GEN	**SIRA 5——3**		**Referans**
exoA	F	GAGAAGCCCTCGAACATCAA	Bu çalışma
	R	GCTGCATCTCGTTGCTCTC	
exoS	F	AGAGAGCGAGGTCAGCAGAG	Bu çalışma
	R	ATGCCGGTGTAGAGACCAAG	

PCR reaksiyon bileşeni: PCR reaksiyonunun bileşenleri, hacimleriyle birlikte Çizelge 3.9'da listelenmektedir.

Çizelge 3.9 Bu çalışmada kullanılan PCR reaksiyon bileşenleri

Öğe	**Hacim**
Ana karışım	12,5µL
İleri Primer (10 pmol/ µL)	1µL
Ters Primer (10 pmol/ µL)	1µL
DNA	3µL
Toplam hacim	25µL

PCR programı: PCR programı, hacimleri ile birlikte Çizelge 3.10'da gösterilmektedir.

Çizelge 3.10 Bu çalışmada kullanılan PCR programı döngü sayısı

Adımlar	**Sıcaklıklar**	**Zaman**	**Döngü sayısı**
İlk denatürasyon	95°C	5 Dakika	1
Denatürasyon	95°C	30 Saniye	35
Tavlama EXO A EXO S	62 59	30 Saniye	
Uzatma	72°C	1 Dakika	
Son uzatma	72°C	5 Dakika	1

3.2.8 *P. aeruginosa*'nın moleküler tespiti

DNA ekstraksiyonuna başlamadan önce aktivasyon: Saf kültürün 5mL BHB ortamı içinde aşılanarak gece boyunca 37°C'de inkübe edilecek.

3.2.9 Gram negatif bakterilerden genomik DNA izolasyonu

1- 1,5mL'lik bir mikrosantrifüj tüpünü 1mL gecelik kültürle doldurulacak.

2- dakika boyunca 13.000–16.000 g'de santrifüjleyerek hücreleri peletleyecek. Daha sonra süpernatantı çıkararak atılacaktır.

3- Karışıma 600mL Çekirdek Lizis çözelti dökülecek. Hücreleri yeniden süspanse edilene kadar yavaşça pipetleyecek.

4- Hücreleri parçalamak için 80°C'de 5 dakika inkübe edilecek, ardından oda sıcaklığına soğutulacak.

5- Hücre lizatına 3 litre RNase Solüsyonu eklenecek. Karıştırmak için tüpü 2-5 kez ters çevrilecek.

6- 37°C'de 15-60 dakika inkübe edilecek. Numuneyi dondurucudan çıkararak oda sıcaklığına getirilecek.

7- RNaz ile muamele edilmiş hücre lizatına 200mL Protein Çökeltme Çözeltisi eklenecek, sonra yüksek bir hızda vortekslenecek.
8- Protein Çökeltme Solüsyonunu hücre lizatı ile 20 saniye karıştırılacak.
9- Numuneyi soğutmak için 5 dakika buz üzerine koyulacak.
10- 13.000–16.000 g'de 3 dakika santrifüjleyecek.
11- DNA içeren süpernatantı 600mL oda sıcaklığında izopropanol ile doldurulmuş temiz bir 1,5mL mikro santrifüj tüpüne aktarılacak.
12- İplik benzeri DNA iplikleri görünür bir yığın oluşturana kadar karışımı nazikçe ters çevirilecek.
13- 13.000–16.000 g'de 2 dakika santrifüjleyecek.
14- Süpernatantı dikkatlice tüpten çıkararak 600mL oda sıcaklığındaki temiz emici kağıt üzerine boşaltacak.
15- DNA peletini yıkamak için %70 etanol içinde ıslatarak tüpü birkaç kez nazikçe ters çevirilecek.
16- 13.000–16.000 g'de 2 dakika santrifüjleyerek etanol dikkatli bir şekilde aspire edilecek.
17- Tüpü boşaltacak ve peleti temiz emici kağıt üzerinde 10 - 15 dakika havayla kurutulacak.
18- Tüpü 100mL DNA Rehidrasyon Solüsyonu ile doldurulacak ve DNA'yı 65°C'de 1 saat rehidrate edilecek.
19- -20°C'de saklanacaktır.

3.3 İstatistiksel Analiz

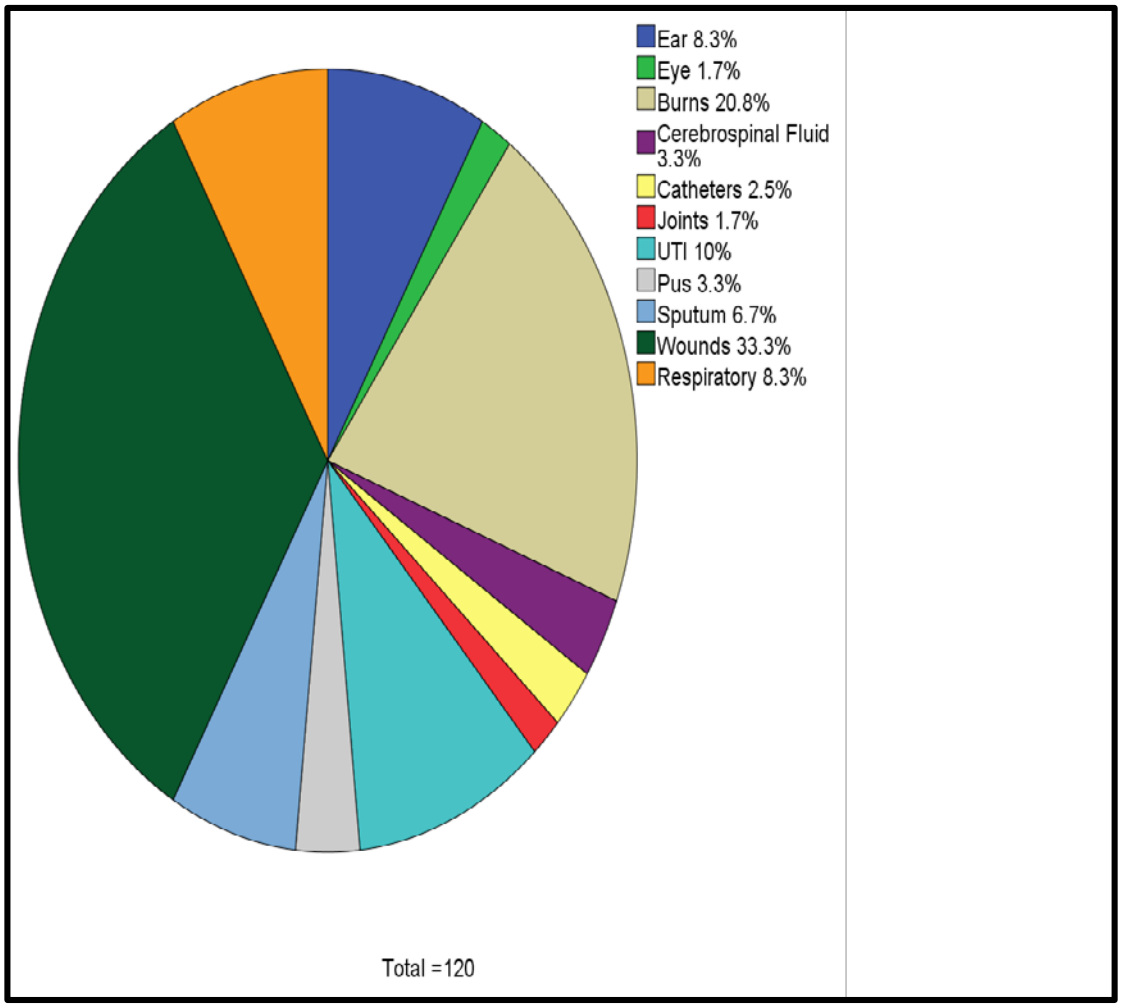
Verileri analiz etmek için mevcut istatistik paketi SPSS-25 kullanılacak (Sosyal Bilimler için İstatistiksel Paketler - sürüm 25). Verileri göstermek için basit frekans, yüzde ölçüleri kullanılacak. Yüzdeler arasındaki farklılıkların önemini belirlemek için Fisher kesinliği kullanılacak. P değeri 0,05'e eşit veya daha küçük olduğunda istatistiksel anlamlılık değerlendirilecek.

4. BULGULAR

4.1 Örnek Toplama ve Bakteri Tanımlama

Farklı klinik kaynaklardan yaklaşık 120 örnek toplandı. Bağdat hastanelerine başvuran hastalardan Şekil 4.1'deki farklı klinik kaynaklardan (yanık, yara ve göz) yaklaşık 120 örnek toplanmıştır.

(10/8/2020 - 20/11/2020) döneminde Bağdat hastanelerine (Yanık merkezi, Al-Kadhimiya Hastanesi, Alkarama hastanesi, Bağdat Eğitim Hastanesi, al Saader hastanesi, Medical City - Ghazi Hariri Özel Cerrahi Hastanesi, Eğitim laboratuvarı, Al Yarmouk eğitim hastanesi ve Yarmouk hastanesinde yanık merkezi) başvuran hastalardan Şekil 4.1'deki farklı klinik kaynaklardan (yanıklar, yaralar, solunum sistemi enfeksiyonları, göz, kulak enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, beyin omurilik sıvısı, balgam, iltihap, eklemler ve kateter) yaklaşık 120 örnek toplanmaktadır.



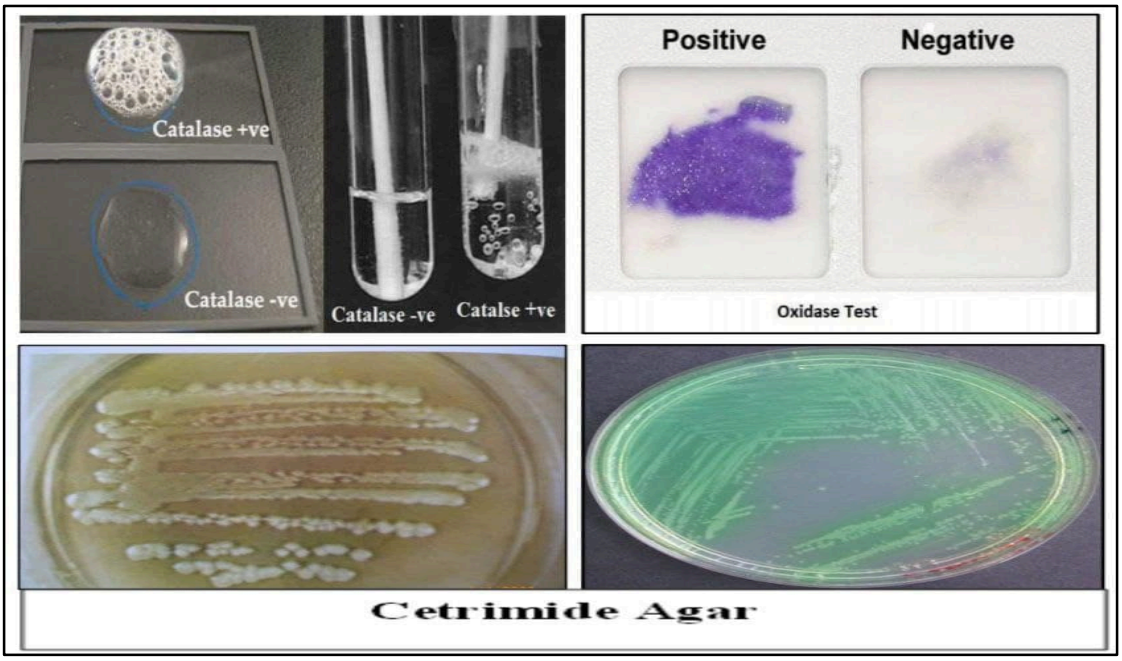
Şekil 4.1 Farklı klinik kaynaklardan toplanan örneklerin yüzdeleri

120 örnekten sadece 70'i *Pseudomonas spp* için pozitif sonuç vermiştir. 70 izolattan 50'si, biyokimyasal testler ile teşhis sonuçlarına göre *P. aeruginosa* izolatı olarak tanımlanmıştır. Diğer bakterilere ait kalan elli izolat ise Çizelge 4.1'de patojen olarak gösterilmektedir.

Çizelge 4.1 Çalışma sırasında farklı kaynaklardan izole edilen bakteri izolatlarının sayısı

Bakteri	**No**	**%**
P. aeruginosa	50	41,7
Pseudomonas spp	20	16,7
Staphylococcus spp	10	8,3
Klebsiella spp	15	12,5
E. coli	25	20,8
Toplam	120	100,0

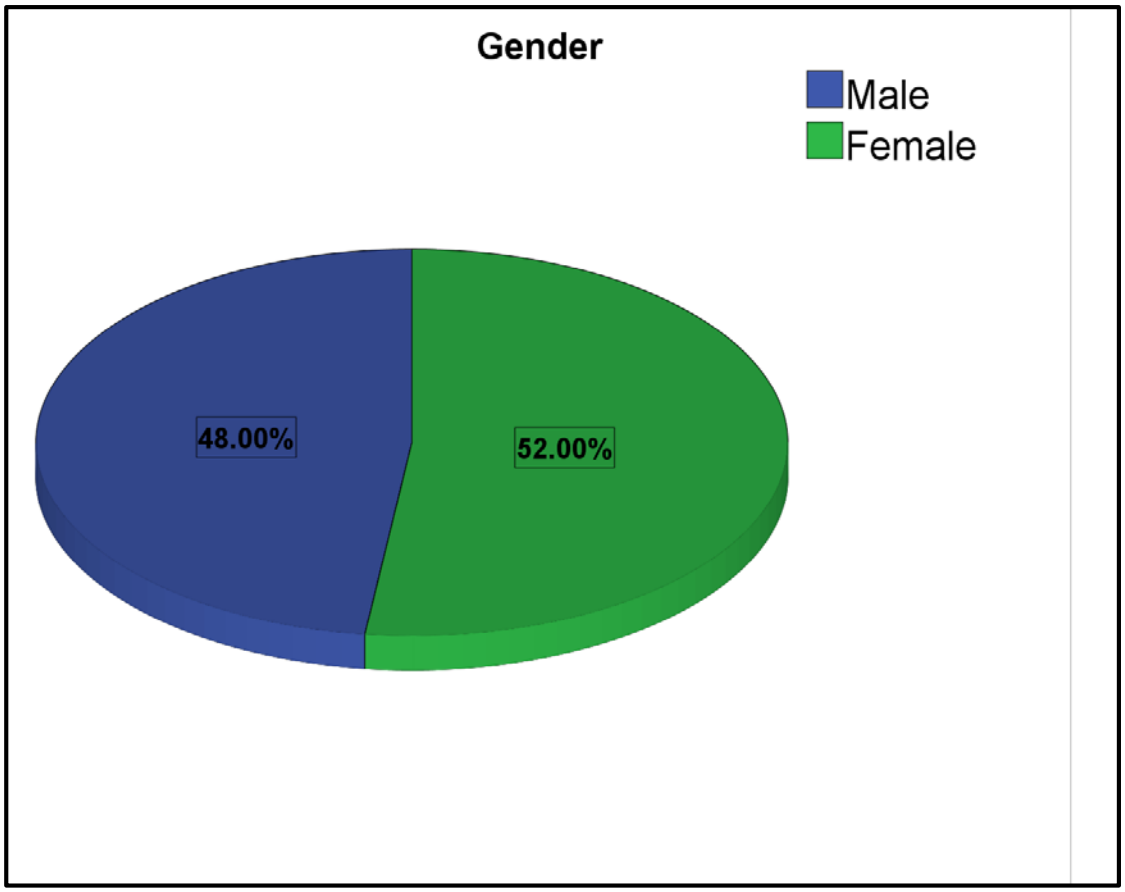
Setrimid agar, oksidaz testi vb. gibi farklı biyokimyasal testler kullanılarak bakteri tanımlama sonuçları Şekil 4.2'de gösterilmektedir.



Şekil 4.2 *P. aeruginosa* tanımlamasında kullanılan biyokimyasal test sonuçları

4.1.1 *P. aeruginosa'nın* cinsiyet dağılımı

Mevcut çalışmada, 26 kadında (%52,0) *P. aeruginosa* enfeksiyonu yüzdesi, 24 erkeğe (%48,0) göre daha yüksektir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 *P. aeruginosa* izolatlarının cinsiyet dağılımı

4.1.2 *P. aeruginosa*'nın yaş dağılımı

Mevcut çalışmanın bulgularına göre, 46 - 60 yaş grubu *P. aeruginosa'nın* en yüksek klinik izolat sayısına (%19) sahip görünmektedir. Bunu 31 - 45 yaş (%16,0) ve (%32,0) izlenmekte ve 0 - 15 yaş grubu 4 (%8,0) en düşük izolatlara sahipken, 61 - 75yaş 5 (%10,0) en çok izolatlara sahiptir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 *P. aeruginosa* klinik izolatlarının yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş grupları (yıllar)	**İzolat Sayısı**	**%**
0-15	4	8
16-30	6	12
31-45	16	32
46-60	19	38
61-75	5	10
Toplam	50	100

Mevcut çalışmanın sonuçları, İran'da yürütülen ve *P. aeruginosa* izolatlarının farklı klinik kaynaklar arasında baskın izolatlar olarak kabul edildiğini tespit eden yayınlanmış çalışma sonuçlarıyla (Bahador *et al.* 2019), aynı fikirdedir. Ayrıca Irak'ta Wasit valiliği hastanelerinden yapılan bir araştırma, çeşitli klinik kaynaklardan izole edilen 200 örnek arasında *P. aeruginosa'nın* en yaygın izolat olduğunu ortaya çıkartmaktadır (Hussein *et al.* 2018).

P. aeruginosa hastanelerdeki hastane enfeksiyonlarının önemli bir nedenidir. Ayrıca, *P. aeruginosa*, özellikle solunum, idrar, yara ve mide-bağırsak yollarında geniş spektrumlu enfeksiyonun yaygın bir nedenidir. *Pseudomonas* aeruginosa'nın patojenitesi, çeşitli virülans faktörlerinin gelişmesinden kaynaklanmaktadır. Antibiyotiklerin düşük etkinliği ve bakterinin çoklu direnç mekanizmaları nedeniyle, *Pseudomonas aeruginosa'nın* neden olduğu enfeksiyonların eradike edilmesi zordur (Tran *et al.* 2014).

Mevcut çalışma, Acinetobacter baumannii'nin (%31,0) *P. aeruginosa'dan* (%12,0) daha yaygın olduğunu bulan Bağdat'taki (Al-Huraishi 2016) çalışmayla ve *S. aureus*'un (%30,0) en yaygın etken olduğunu ve ardından *P. aeruginosa'nın* (%12,0), (%14,6) izlediğini gösteren Bağdat'taki (Al-Kadhmi *et al.* 2016) çalışmayla çelişmektedir.

Sonuçlardaki bu farklılık, numunedeki farklılıklardan ve çeşitli bakteri türlerini izole etmek ve teşhis etmek için yapılan test türünden kaynaklanmaktadır.

4.2 *P. aeruginosa*'nın Antibiyotik Duyarlılık Testi

Tespit edilen tüm izolatlar, 10 farklı antibiyotik kullanılarak antibiyotik duyarlılıkları açısından test edilir Çizelge 4.3. CLSI'ye (2018) göre bu testin bulguları Çizelge 4.3'de yorumlanmaktadır.

Sonuçlar, *Pseudomonas aeruginosa* izolatları arasında Ceftazidime %90,0, Aztreonam'a %76,0 karşı yüksek bir direnç kaydedilir. Ayrıca tüm izolatlar Amikasin'e %38,0 oranında direnç gösterirken, Norofloksasin ise %36 direnç gösterir. Çalışma, Levofloksasin ve Imipenem'in oldukça duyarlı yüzdesinin sırasıyla %82,0 ve %80,0 olduğunu göstermektedir. Gentamisin, Tobramisin, Siprofloksasinin ve Ofloksasin (OFX) hassas yüzdesi sırasıyla %72,0, %66,0 , %56,0, %48,0 'dir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi yüzdesini göstermektedir. Aztreonam (ATM), Ceftazidim (CAZ), Norofloksasin (NOR), Gentamisin (CN), İmipenem (IPM), Levofloksasin (LEV), Siprofloksasin (CIP), Tobramisin (TOB), Amikasin (AK), Ofloksasin (OFX).

Çizelge 4.3 *P. aeruginosa*'nın farklı antibiyotiklere duyarlılık testi kalıpları

	Antibiyotik duyarlılık testi Yüzdeler											
Antibiyotikler		N	OB	K	IP	EV	OR	FX	AZ	TM	PM	otal
Duyarlı	o	6	3	2	8	1	5	4			0	55
		2	6	4	6	2	0	8	,0	0,0	0,0	1,0
Orta Düzey	o				5			6				1
		2	6	8	0	,0	4	2	,0	4,0	0,0	6,2
Direnç	o			9			8	0	5	8		64
		6	8	8	4	0	6	0	0	6	0	2

Tarafından yanık hastalarında *P. aeruginosa* enfeksiyonu hakkında yapılan bir araştırma, yüksek oranda antibiyotik direnci bildirilmektedir: izolatların %73'ünde amikasine, %84'ü gentamisine, %75'i tobramisine, %71'i siprofloksasine ve %47'si levofloksasine dirençlidir. Bu sonuçlar, mevcut çalışmadaki bulgumuzdan daha yüksektir (Bhatt *et al.* 2015).

Tarafından üçüncü basamak bir yoğun bakım ünitesinde ilaca dirençli *P. aeruginosa* üzerinde yürütülen bir çalışma da çeşitli antibiyotiğe karşı çok yüksek direnç oranlarını ortaya çıkartmaktadır. Üçüncü basamak bir yoğun bakım ünitesinden ilaca dirençli *P. aeruginosa* üzerinde yapılan bir çalışma da birkaç antibiyotiğe karşı çok yüksek direnç oranlarını ortaya çıkartmaktadır. İzolatların %80'i amikasine, %78'i imipeneme, %70'i seftazidime, %96'sı siprofloksasine dirençlidir (Gill *et al.* 2016).

Tarafından Al-Nejaf Hastanelerinde yapılan ve direncin siprofloksasin için %73,4 ve Levofloksasin için %55,5 olduğunu bulan bir araştırma vardır. Bu araştırma'nın sonuçları, siprofloksasin ve Levofloksasin'in düşük direnç oranlarının sırasıyla %14,0 ve %10,0 olduğunu kaydeden mevcut çalışma bulgularından daha yüksektir, bu da bizim sonuçlarımızla aynı fikirde değildir (Al-Shara 2013).

Tarafından Bağdat hastanelerinde yapılan çalışma, *P. aeruginosa* izolatlarının seftazidime karşı yüksek direnç gösterdiğinden bahseden (%81,33) ve ayrıca (Feglo ve Opoku 2014) tarafından yapılan çalışma, *P. aeruginosa* izolatları arasında seftazidime yüksek direnç oranının (%92) olduğunu ortaya çıkartan çalışmalardır. Bu sonuçlar, mevcut çalışmadaki bulgularımızı doğrulamaktadır (Abdullah and Mehdi 2016).

ESBL, MBL ve bazen AmpC-laktamazlar gibi beta-laktamazların gelişimi, porinlerdeki mutasyonlar, belirli dış membran proteinlerinin kaybı ve çoklu ilaç akış pompasının aşırı ekspresyonu, tümü seftazidim direncine katkıda bulunmaktadır (Poole *et al.* 1993).

Bu çalışmada, *P. aeruginosa* izolatları arasında Imipenem'in direnç oranı çok düşüktür (%10,0) (Mahmood *et al.* 2016), çok yüksek bir imipenem direnç oranı (%96) bildirilmekte. Ayrıca İran'da (Sheikh *et al.* 2014), tarafından yapılan bir çalışmada Ahwaz'daki *P. aeruginosa* izolatları arasında imipenem direnç oranının bizim direnç oranımızdan daha yüksek bir direnç %58,7 olduğunu ortaya koymaktadır. Bizim sonuçlarımızla neredeyse uyumlu olan bir başka çalışma, Kürdistan'daki yanık hastalarından alınan *P. aeruginosa* örnekleri arasında imipeneme karşı %21,0'lık bir direnç oranı bulunmaktadır (Kalantar *et al.* 2012).

Tarafından Malezya hastanesinde yapılan bir çalışma (Idris *et al.* 2012), *P. aeruginosa* izolatları arasında Siprofloksasin ve Gentamisin direnç oranının (< %11) olduğunu bildirmiştir. Bu sonuçlar, mevcut çalışmadaki bulgularımızla uyumludur. Buna karşılık, başka bir çalışma, Siprofloksasin vs Gentamisin *P. aeruginosa'nın* direnç oranının (> %64) bizim sonuçlarımızdan daha yüksek olduğunu göstermektedir (Najafi *et al.* 2015).

Bu çalışmanın sonucu, *P. aeruginosa* izolatları arasında Amikasin direnç oranının %38 olduğunu gösterilir. Bu sonuç, Amikasinin *P. aeruginosa* klinik izolatlarına karşı direnç oranının %41,3 olduğunu bulan Hindistan'da yapılan (Sreeshma 2015), önceki çalışma ile uyumludur.

Tarafından bildirilen bir çalışmada (Liu *et al.* 2018), *P. aeruginosa* izolatları arasında Aztreonam direnç oranı %44,4 olarak kaydedilmektedir. Bu sonuçlar mevcut çalışmadaki bulgularımızdan daha düşüktür.

Yapılan bir çalışmada (Tellis 2018), *P. aeruginosa* izolatları arasında Tobramisine direnç oranı (%65,4) kaydedilmektedir, bu sonuç bizim mevcut çalışmadaki bulgumuzdan daha yüksektir.

Bu çalışma sırasında, *P. aeruginosa* izolatları arasında aminoglikozitlere (gentamisin ve tobramisin) karşı çok düşük direnç oranları kaydettik, tarafından bildirilen ve gentamisin aminoglikozitlerine (gentamisin ve tobramisin) karşı önemli ölçüde daha az direnç olduğunu bulan bir çalışma ile tutarlıdır (Liu *et al.* 2018).

4.3 *P. aeruginosa*'nın Moleküler Tespiti

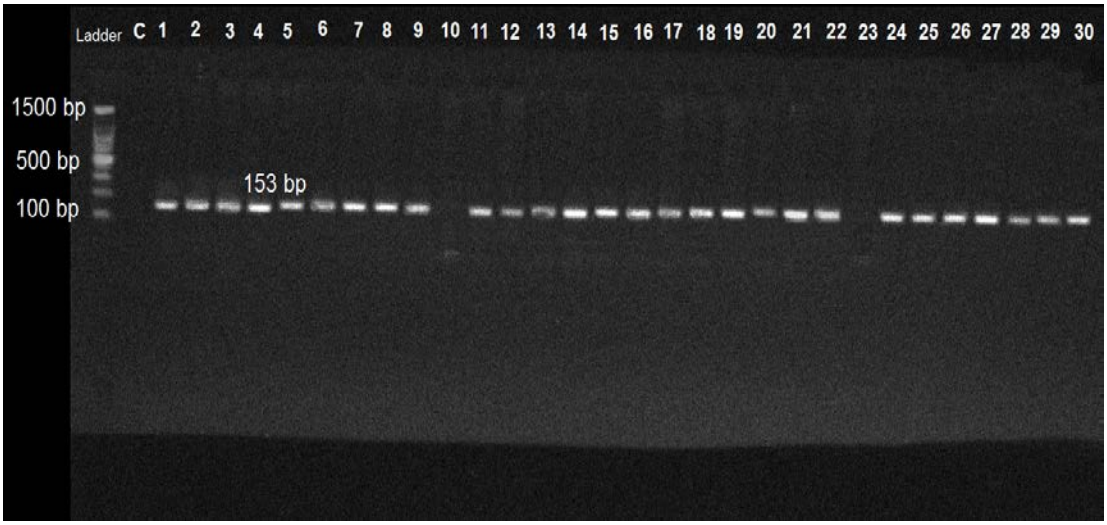
4.3.1 Genomik DNA izolasyonu

Virülans faktörlerinin moleküler bir tespitini gerçekleştirmek için toplam genomik DNA, 50 *P. aeruginosa* izolatından ekstrakte edilir.

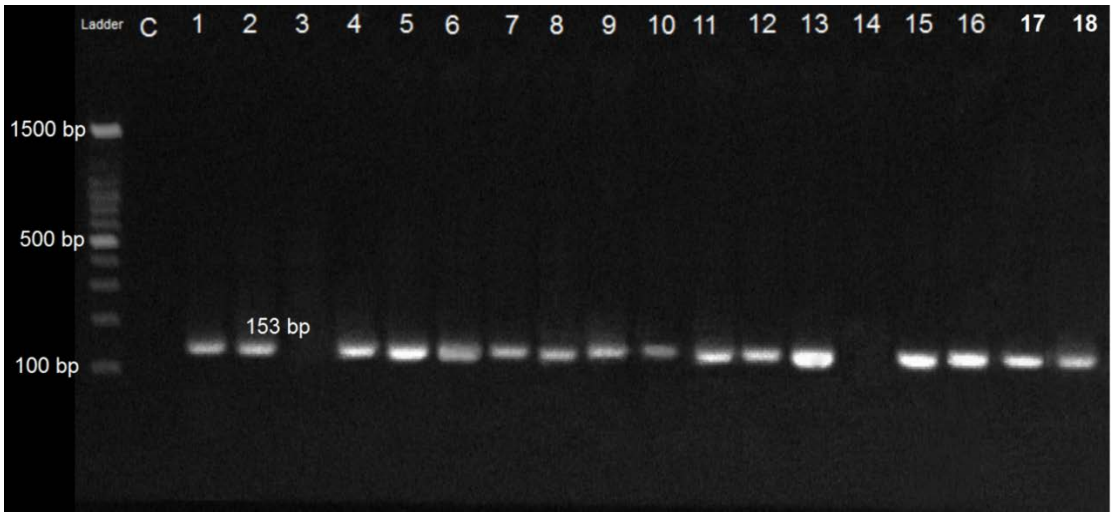
Exo S geni

Exo geninin moleküler tespiti, spesifik primer kullanılarak PCR tekniği ile yapılır, 50 izolattan 44'ü (%82,0) izolat (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5) elektroforezden sonra yüzde iki

agaroz jel üzerinde moleküler boyutu 153bp olan bir bant varlığında pozitif sonuç vermektedir.



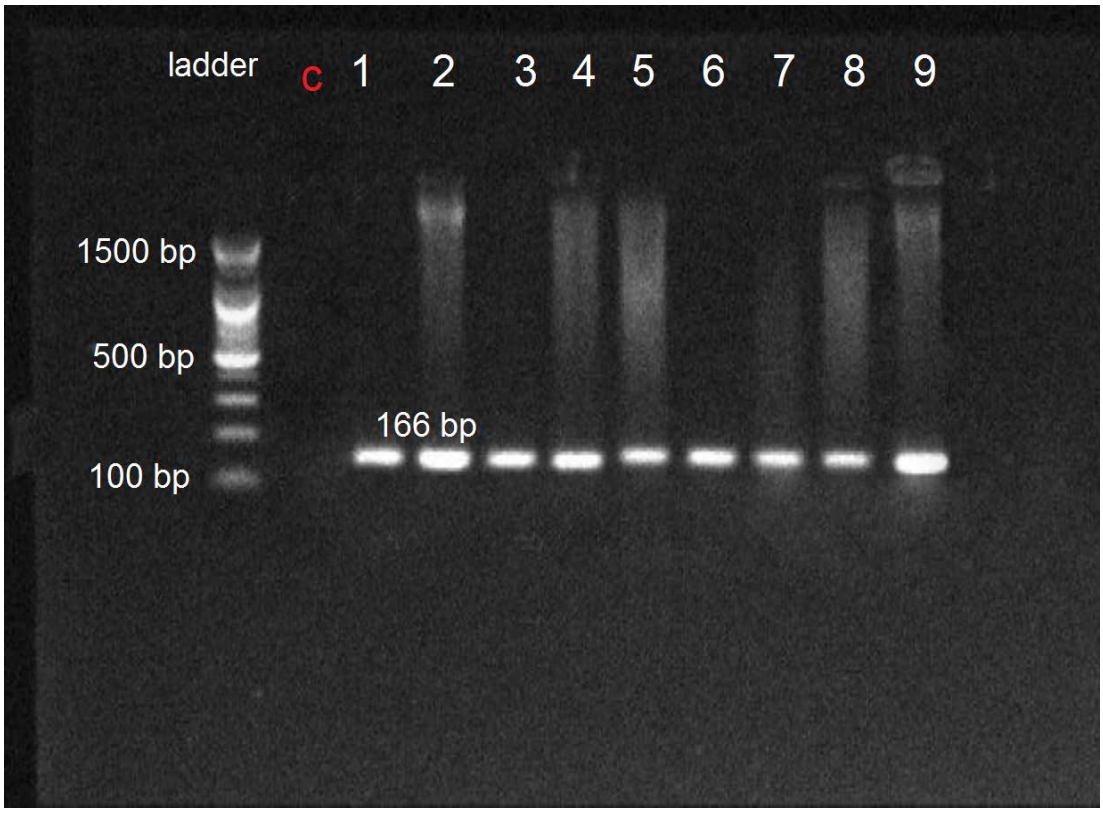
Şekil 4.4 Exo S geninin PCR amplifikasyonunu gösteren jel elektroforez resmi (%2 Agarose. 90 dakika için 90 voltajda akım 200), Şerit M: DNA markörü (100-1500bp), Şerit: (1, 2, 3 , 4, 5, 6, 7 ,8 ,9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25)



Şekil 4.5 Exo S geninin PCR amplifikasyonunu gösteren jel elektroforez resmi (%2 Agarose. akım 200, 90 voltajda, 60 dakika), Şerit M: DNA markörü (100-1500bp), Şerit: 1 ile 18, P.aeruginosa izolatlarının (153bp) pozitif sonuçlarını temsil eder, Şerit N: Negatif k

Exo A geni

Exo A geninin moleküler tespiti, spesifik primer kullanılarak yapılır. 50 *P. aeruginosa* izolatından sadece 9'u (%18,0) elektroforezden sonra moleküler boyutu 166bp olan özel bant göstermektedir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 Exo A geninin PCR amplifikasyonunu gösteren jel elektroforez resmi (%2 Agarose. Akım 200, 90 voltajda, 90 dakika), Şerit M:DNA markörü (100-1500bp), Şerit: (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) *P. aeruginosa* izolatlarının (166bp) pozitif sonuçlarını temsil eder

Çizelge 4.4 *P. aeruginosa* için Exo A ve Exo S genleri arasındaki antibiyotik direncinin karşılaştırılması

No	**Antibiyotikler**	**Direnç**	**Genler**		**P. değeri**	**OR**
		No (%)	**Exo A**	**Exo S**		
1	Gentamisin	8 (%16,0)	1 (%12,5)	7 (%87,5)	1,000	0,607
2	Tobramisin	9 (%18,0)	0 (%0,0)	9 (%100,0)	0,183	-
3	Amikasin	19 (%38,0)	6 (%31,6)	13 (%68,4)	0,067	4,308
4	Siprofloksasin	7 (%14,0)	2 (%28,6)	5 (%71,4)	0,595	2,057
5	Levofloksasin	5 (%10,0)	1 (%20,0)	4 (%80,0)	1,000	1,156
6	Norfloksasin	18 (%36,0)	4 (%22,2)	14 (%77,8)	0,705	1,543
7	Ofloksasin	10 (%20,0)	2 (%20,0)	8 (%80,0)	1,000	1,179
8	Seftazidim	45 (%90,0)	9 (%20,0)	36 (%80,0)	0,570	0,800
9	Aztreonam	38 (%76,0)	5 (%13,2)	33 (%86,8)	0,191	0,303
10	Imipenem	5 (%10,0)	1 (%20,0)	4 (%80,0)	1,000	1,156

Çizelge 4.4'da açıklandığı gibi test edilen on antibiyotik için Fisher kesin testi, ilaç direnci ile EoxA ve Exo S geni (P. değeri > 0,05) arasında anlamlı bir ilişki olmadığını (P. değeri > 0,05) ortaya çıkartmaktadır. Bu sonuç, virülans faktör genlerinin varlığı ile antibiyotik duyarlılık modelleri arasında anlamlı bir ilişki keşfeden (Elmouaden *et al.* 2019), tarafından yapılan çalışma bulguları ile uyumludur.

Çizelge 4.5 Klinik izolelere göre genlerin (Exo A ve Exo S) frekans dağılımı

Virülans genleri		**Yara**	**İltihap**	**Balgam**	**Solunum**	**Eklemler**	**İYE**	**Yanıklar**	**Göz**	**Kulak**	**Toplam**
Exo A	No	4	0	0	0	0	1	3	0	1	9
	%	44,44	0,00	0,00	0,00	0,00	11,11	33,33	0,00	11,11	18,0
Exo S	No	13	2	1	2	1	8	15	0	2	41
	%	31,7	4,87	2,43	4,87	2,43	19,5	29,26	0,00	4,87	82,0

Çizelge 4.5, izole edilen kliniklere göre genlerin (Exo A ve Exo S) frekans dağılımını gösterir. 50 izolatın tümünün exoA ve exoS'nin PCR tespiti, eski genin 9'unda (%18,0) Exo ve 41'inde (%82,0) exoS bulunduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar (Bahador *et al.* 2019) tarafından yapılan ve exoS genlerinin sıklığının %55,7 olarak tespit edildiğini bulan çalışma bulguları ile uyumludur. Ayrıca mevcut çalışmanın sonuçları, (Hassuna *et al.* 2020) tarafından yapılan ve izolatların %20,5'inin ExoA olduğunu bulan çalışma ile aynı fikirdeydi.

Bu çalışmanın sonuçları, yara izolatlarında 4 (%44,44) en yüksek Eox A geni sıklığını, ardından yanık izolatlarını 3 (%33,33) takip etmektedir. Bu sonuçlar, aynı sonuçları bulan (Amirmozafari *et al.* 2016) tarafından yapılan çalışma bulgularıyla tutarlıdır.

Üriner enfeksiyon izolatlarında Exo A geninin sıklığını %11 olarak bildirmektedir. Bu sonuç, mevcut çalışma bulgularımız ile uyumludur (Sharma *et al.* 2004).

Mevcut sonuçlar, yara enfeksiyonu izolatlarında EoxA geninin sıklığını sırasıyla %89, %90, %100, ve %80 olarak bildiren (Badr 2008, Nikbin *et al.* 2012, Cotar *et al.* 2013) ile uyumludur.

Tarafından yapılan ve ExoS'nin (%98,7) *P. aeruginosa* suşlarında en yaygın virülans genleri olduğunu bulan bir çalışma. Bu bulgular bizimkilerle hemen hemen aynıdır (Elmouaden *et al.* 2019).

Irak'ta tarafından yürütülen çalışma, *P. aeruginosa'nın* klinik izolatlarında Exo-genlerin farklı dağılım gösterilmiştir (AL-Mayyahi *et al.* 2018).

Bazı suşlarda bazı virülans faktörü genlerinin bulunmaması, bu bakteri ile enfeksiyonun, bakterinin konakta hayatta kalma kabiliyetini artırabilen genom azalmasına neden olabileceği gerçeğinden kaynaklanbilmektedir (Lee *et al.* 2006).

Çizelge 4.6 *P. aeruginosa* izolatları arasında çalışılan gen pozitifliği ile direnç tipi arasındaki ilişki

Genler		**Direnç türleri**		**Toplam**	**P. değeri**
		MDR	**XDR**		
ExoS	No	22	19	41	0,713
	%	%78,6	%86,4	%82,0	
ExoA	No	6	3	9	
	%	%21,4	%13,6	%18,0	

Çizelge 4.6 İzole örneklerde sırasıyla 3'ten fazla grup, 2 grup antibiyotik ve 3'ten az grup için XDR direnci gösteren MDR yüzdesini temsil etmektedir. Bu çalışmaya toplam 50 *P. aeruginosa* izolatından 28 (%56) MDR izolatı dâhil edilmiştir. MDR *P. aeruginosa* klinik izolatları arasında iki virülans geninin prevalansı ve sırasıyla EoxS ve ExoA genlerinin sıklığı (%78,6 ve %21,4) araştırılmaktadır.

Bu sonuçlar, MDR izolatlarının %51,3'ünde exoS'nin ve %23,0'sinde exoA'nın bulunduğunu tespit eden (Hassuna *et al.* 2020) çalışma bulgularıyla neredeyse aynı fikirdeydi. Ayrıca, MDR mikroorganizma enfeksiyonlarının epidemiyolojisi, coğrafi bölgelerin yanı sıra hastaneler, koğuşlar ve bölümler arasında yıldan yıla değişmektedir (Horcajada *et al.* 2019).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ayrı klinik bölgelerin baskın bakteri tipinin pseudomonas aeruginosa izolatlarına ait olduğu kabul edilir. Enfeksiyon için yaş aralığı 14-75 yıldır ve kadınlarda prevalans erkeklere göre daha yüksektir. Disk difüzyon yöntemi ile on antibiyotiğin duyarlılığı ölçülürken, tüm p aeruginosa izolatları farklı profil göstermektedir. Seftazidime'e karşı daha yüksek direnç (%90,0) ve imipeneme karşı daha düşük direnç (%10,0) gösterilir. Virülans genleri ile ilgili olarak, sonuçlar Exo S geninin yüzde (%82,0) olarak, Exo A'nın yüzde (%18,0) gösterdiğinden daha baskın olduğunu göstermektedir.

Tüm bu sonuçlar eşliğinde çalışmanın daha ayrıntılı ele alınması için *P. aeruginosa* suşları içinde bulunan diğer eksotoksin türlerinin varlığının incelenmesi ve moleküler tespit yöntemlerinin yanı sıra, şüpheli hastalarda bu toksinlerin varlığını tespit etmek için immünolojik bir yöntem uygulanması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Aaron, S.D., Ramotar, K., Ferris, W., Vandemheen, K., Saginur, R., Tullis, E., Haase, D., Kottachchi, D., Denis, M. & Chan, F. 2004. Adult cystic fibrosis exacerbations and new strains of Pseudomonas aeruginosa. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 169, 811–815.

Abdullah, R.M., & Mehdi, A.F. 2016. Identification of Pseudomonas aeruginosa From Clinical Specimen by Using 16S rDNA Gene. Jornal of Biotechnology Research Center, 10, 45–49.

Agnello, M., & Wong-Beringer, A. 2012. Differentiation in quinolone resistance by virulence genotype in Pseudomonas aeruginosa. PloS One, 7, e42973.

Alayande, A.B., Aung, M.M., & Kim, I. S. 2018. Correlation between quorum sensing signal molecules and Pseudomonas aeruginosa's biofilm development and virulency. Current Microbiology, 75, 787–793.

Al-Daraghi, W.A., & Abdullah, Z.H. 2013. Detection of Exotoxin A gene in Pseudomonas aeruginosa from Clinical and Environmental samples. Al-Nahrain Journal of Science, 16, 167–172.

Aldred, K.J., Kerns, R.J., ve Osheroff, N. 2014. Mechanism of quinolone action and resistance. Biochemistry, 53, 1565–1574.

Al-Huraishi, M.A. 2016. Molecular detection of multidrug resistance Acinetobacter baumannii from different clinical samples, Doctoral dissertation, MSc Thesis. College of Medicine, Al-Nahrain University, Iraq.

Al-Jailawi, M. H., Ameen, R. S., & Al-Jeboori, M. R. 2013. Effect of disinfectants on antibiotics susceptibility of Pseudomonas aeruginosa. J Appl Biotechnol, 1, 54-63.

Al-Kadhmi, N.A., Al-Thwaini, A.N., Al-Turk, W.A., ve AL-Taif, K.I. 2016. Studies on the multidrug resistance to Pseudomonas aeruginosa isolated from infected wounds. Int J Curr Microbiol App Sci, 5, 963–970.

AL-Mayyahi, A.W., AL-Hashimy, A.B., & AL-Awady, K.R. 2018. Molecular detection of exoU and exoS among Pseudomonas aeruginosa isolates from Baghdad and Wasit, Iraq. Iraqi Journal of Biotechnology, 17, 1–8.

Al-Shara, J. M. 2013. Phenotypic and molecular detecting of carbapenem resistant Pseudomonas aeruginosa in Najaf Hospitals, Doctoral dissertation, PhD Thesis. Faculty of Science. University of Kufa. Iraq.

Aminov, R.I. 2010. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. Frontiers in Microbiology, 1, 134.

Amirmozafari, N., Fallah, M.J., & Habibi, A. 2016. Association of the exotoxin A and exoenzyme S with antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa strains. 19, 353–358.

Argudín, M.A., Deplano, A., Meghraoui, A., Dodémont, M., Heinrichs, A., Denis, O., Nonhoff, C., Roisin, S. 2017. Bacteria from animals as a pool of antimicrobial resistance genes. Antibiotics, 6, 12.

Badr, R. I. Magda, E.N., Amr, E.S, Ahmed, B.E. 2008.Pseudomonas aeruginosa exotoxin a as a virulence factor in burn wound infections, Egypt. Country: Egypt, 17, 125-133.

Bahador, N., Shoja, S., Faridi, F., Dozandeh-Mobarrez, B., Qeshmi, F. I., Javadpour, S., & Mokhtary, S. 2019. Molecular detection of virulence factors and biofilm formation in Pseudomonas aeruginosa obtained from different clinical specimens in Bandar Abbas. Iranian Journal of Microbiology, 11, 25-30.

Balasubramanian, D., Schneper, L., Kumari, H., & Mathee, K. 2013. A dynamic and intricate regulatory network determines Pseudomonas aeruginosa virulence. Nucleic Acids Research, 41, 1–20.

Barbier, F., Andremont, A., Wolff, M., & Bouadma, L. 2013. Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: recent advances in epidemiology and management. Current Opinion in Pulmonary Medicine, 19, 216–228.

Benie, C.K.D., Dadié, A., Guessennd, N., N'gbesso-Kouadio, N.A., Kouame, N.D., N'golo, D.C., Aka, S., Dako, E., Dje, K.M. & Dosso, M. 2017. Characterization of virulence potential of Pseudomonas aeruginosa isolated from bovine meat, fresh fish, and smoked fish. European Journal of Microbiology and Immunology, 7, 55–64.

Bhatt, P., Rathi, K.R., Hazra, S., Sharma, A., & Shete, V. 2015. Prevalence of multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa infection in burn patients at a tertiary care centre. Indian Journal of Burns, 23, 56–59.

Bjarnsholt, T., Jensen, P.Ø., Fiandaca, M.J., Pedersen, J., Hansen, C.R., Andersen, C.B., Pressler, T., Givskov, M. ve Høiby, N. 2009. Pseudomonas aeruginosa biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. Pediatric Pulmonology, 44, 547–558.

Blair, J.M.A., Webber, M.A., Baylay, A.J., Ogbolu, D.O., & Piddock, L.J.V. 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nature Reviews Microbiology, 13, 42–51.

Bodey, G.P., Bolivar, R., Fainstein, V., & Jadeja, L. 1983. Infections caused by Pseudomonas aeruginosa. Reviews of Infectious Diseases, 5, 279–313.

Bosch, F., & Rosich, L. 2008. The contributions of Paul Ehrlich to pharmacology: a tribute on the occasion of the centenary of his Nobel Prize. Pharmacology, 82, 171–179.

Breidenstein, E.B., de la Fuente-Núñez, C., & Hancock, R.E. 2011. Pseudomonas aeruginosa: all roads lead to resistance. Trends in Microbiology, 19, 419–426.

Bucior, I., Abbott, J., Song, Y., Matthay, M. A., & Engel, J. N. 2013. Sugar administration is an effective adjunctive therapy in the treatment of Pseudomonas aeruginosa

pneumonia. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 305, L352-L363.

Campodónico, V.L., Llosa, N.J., Grout, M., Döring, G., Maira-Litrán, T., & Pier, G.B. 2010. Evaluation of flagella and flagellin of Pseudomonas aeruginosa as vaccines. Infection and Immunity, 78, 746–755.

Chang, A. B., & Bilton, D. 2008. Exacerbations in cystic fibrosis. Non-cystic fibrosis bronchiectasis. Thorax, 63, 269-276.

Chellat, M.F., Raguž, L., & Riedl, R. 2016. Targeting antibiotic resistance. Angewandte Chemie International Edition, 55, 6600–6626.

Colinon, C., Jocktane, D., Brothier, E., Rossolini, G.M., Cournoyer, B., & Nazaret, S. 2010. Genetic analyses of Pseudomonas aeruginosa isolated from healthy captive snakes: evidence of high inter-and intrasite dissemination and occurrence of antibiotic resistance genes. Environmental Microbiology, 12, 716–729.

Collee, J. G., Miles, R. S., & Watt, B. 1996. Tests for identification of bacteria. Mackie and McCartney practical medical microbiology, 14, 131-49.

Corehtash, Z.G., Ahmad Khorshidi, F.F., Akbari, H., & Aznaveh, A.M. 2015. Biofilm formation and virulence factors among Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients. Jundishapur Journal of Microbiology, 8(10).

Cotar, A.I., Chifiriuc, M.C., Dinu, S., Bucur, M., Iordache, C., Banu, O., Dinu, S., Dracea, O., Larion, C., Lazar, V. 2010. Screening of molecular virulence markers in Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa strains isolated from clinical infections. International Journal of Molecular Sciences, 11, 5273–5291.

Cotar, A.I., Chifiriuc, M.C., Banu, O., & Lazar, V. 2013. Molecular characterization of virulence patterns in Pseudomonas aeruginosa strains isolated from respiratory and wound samples. Biointerface Research in Applied Chemistry, 3, 551–558.

Cox, G., Stogios, P.J., Savchenko, A., ve Wright, G.D. 2015. Structural and molecular basis for resistance to aminoglycoside antibiotics by the adenylyltransferase ANT (2 ″)-Ia. MBio, 6, e02180-14.

Crnich, C.J., Safdar, N., & Maki, D.G. 2005. The role of the intensive care unit environment in the pathogenesis and prevention of ventilator-associated pneumonia. Respiratory Care, 50, 813–838.

Das, B., Chaudhuri, S., Srivastava, R., Nair, G.B., & Ramamurthy, T. 2017. Fostering research into antimicrobial resistance in India. Bmj, 358, 3535.

Daury, L., Orange, F., Taveau, J.C., Verchère, A., Monlezun, L., Gounou, C., Marreddy, R.K.R., Picard, M., Broutin, I., Lambert, O. & Pos, K.M. 2016. Tripartite assembly of RND multidrug efflux pumps. Nature Communications, 7, 1–8.

Davenport, P.W., Griffin, J.L., & Welch, M. 2015. Quorum sensing is accompanied by global metabolic changes in the opportunistic human pathogen Pseudomonas aeruginosa. Journal of Bacteriology, 197, 2072–2082.

Davies, G., Wells, A.U., Doffman, S., Watanabe, S., & Wilson, R. 2006. The effect of Pseudomonas aeruginosa on pulmonary function in patients with bronchiectasis. European Respiratory Journal, 28, 974–979.

Davies, J., & Davies, D. 2010. Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 74, 417–433.

de Almeida, K. de C.F., Calomino, M.A., Deutsch, G., de Castilho, S.R., de Paula, G.R., Esper, L.M.R., & Teixeira, L.A. 2017. Molecular characterization of multidrug-resistant (MDR) Pseudomonas aeruginosa isolated in a burn center. Burns, 43, 137–143.

Deep, A., Chaudhary, U., & Gupta, V. 2011. Quorum sensing and bacterial pathogenicity: from molecules to disease. Journal of Laboratory Physicians, 3, 4.

Diver, J.M., Schollaardt, T., Rabin, H.R., Thorson, C., & Bryan, L.E. 1991. Persistence mechanisms in Pseudomonas aeruginosa from cystic fibrosis patients

undergoing ciprofloxacin therapy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 35, 1538–1546.

Džidić, S., Šušković, J., & Kos, B. 2008. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. Food Technology & Biotechnology, 46, 11–21.

Elango, A., Jayalalitha, V., Pugazhenthi, T. R., & Dhanalakshmi, B. 2010. Prevalence of psychrotrophic bacteria in kulfi sold in Chennai market. Journal of Dairying, Foods and Home Sciences, 29, 97-101.

Elmouaden, C., Laglaoui, A., Ennanei, L., Bakkali, M., ve Abid, M. 2019. Virulence genes and antibiotic resistance of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients in the Northwestern of Morocco. The Journal of Infection in Developing Countries, 13, 892–898.

Engel, J., ve Balachandran, P. 2009. Role of Pseudomonas aeruginosa type III effectors in disease. Current Opinion in Microbiology, 12, 61–66.

Ernst, R.K., Adams, K.N., Moskowitz, S.M., Kraig, G.M., Kawasaki, K., Stead, C.M., Trent, M.S. & Miller, S.I. 2006. The Pseudomonas aeruginosa lipid A deacylase: selection for expression and loss within the cystic fibrosis airway. Journal of Bacteriology, 188, 191–201.

Fazeli, H., Nasr, E. B., Sattarzadeh, M., & Mohammadi, B. H. 2017. Antibiotyping and genotyping of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from Mottahari Hospital in Tehran, Iran by ERIC-PCR. Infection Epidemiology and Microbiology, 3, 41-45.

Feglo, P., ve Opoku, S. 2014. AmpC beta-lactamase production among Pseudomonas aeruginosa and Proteus mirabilis isolates at the Komfo Anokye Teaching Hospital, Kumasi, Ghana. Journal of Microbiology and Antimicrobials, 6, 13–20.

Feinbaum, R.L., Urbach, J.M., Liberati, N.T., Djonovic, S., Adonizio, A., Carvunis, A.R., ve Ausubel, F.M. 2012. Genome-wide identification of Pseudomonas aeruginosa

virulence-related genes using a Caenorhabditis elegans infection model. PLoS Pathog, 8, e1002813.

Fernandes, R., Amador, P., & Prudêncio, C. 2013. β-Lactams: chemical structure, mode of action and mechanisms of resistance. Reviews in Medical Microbiology, 24, 7–17.

Ferrara, A.M. 2006. Potentially multidrug-resistant non-fermentative Gram-negative pathogens causing nosocomial pneumonia. International Journal of Antimicrobial Agents, 27, 183–195.

Fleischmann, R.D., Adams, M.D., White, O., Clayton, R.A., Kirkness, E.F., Kerlavage, A.R., Bult, C.J., Tomb, J.F., Dougherty, B.A. & Merrick, J.M. 1995. Whole-genome random sequencing and assembly of Haemophilus influenzae Rd. Science, 269, 496–512.

Folkesson, A., Jelsbak, L., Yang, L., Johansen, H.K., Ciofu, O., Høiby, N., & Molin, S. 2012. Adaptation of Pseudomonas aeruginosa to the cystic fibrosis airway: an evolutionary perspective. Nature Reviews Microbiology, 10, 841–851.

Fothergill, J.L., Walshaw, M.J., & Winstanley, C. 2012. Transmissible strains of Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis lung infections. European Respiratory Journal, 40, 227–238.

Gales, A.C., Castanheira, M., Jones, R.N., & Sader, H.S. 2012. Antimicrobial resistance among gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008–2010). Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 73, 354–360.

Gaudillière, J.P. 2009. The first miracle drugs: how the sulfa drugs transformed medicine. Bulletin of the History of Medicine, 83, 218–220.

Gebetsberger, J., Wyss, L., Mleczko, A. M., Reuther, J., & Polacek, N. 2017. A tRNA-derived fragment competes with mRNA for ribosome binding and regulates translation during stress. RNA biology, 14, 1364-1373.

Gill, J.S., Arora, S., Khanna, S.P., ve Kumar, K.V.S.H. 2016. Prevalence of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and pandrug-resistant Pseudomonas aeruginosa from a tertiary level intensive care unit. Journal of Global Infectious Diseases, 8, 155–159.

Gonzalez, L., Cravoisy, A., Barraud, D., Conrad, M., Nace, L., Lemarié, J., Bollaert, P. & Gibot, S. 2013. Factors influencing the implementation of antibiotic de-escalation and impact of this strategy in critically ill patients. Critical Care, 17, 1–8.

Gould, K. 2016. Antibiotics: from prehistory to the present day. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 71, 572–575.

Griffiths, A. L., Armstrong, D., Carzino, R., & Robinson, P. 2004. Cystic fibrosis patients and families support cross-infection measures. European respiratory journal, 24, 449-452.

Grishin, A.V., Krivozubov, M.S., Karyagina, A.S., & Gintsburg, A.L. 2015. Pseudomonas aeruginosa lectins as targets for novel antibacterials. Acta Naturae, 7, 29–41.

Grosso-Becerra, M.V., Santos-Medellín, C., González-Valdez, A., Méndez, J.L., Delgado, G., Morales-Espinosa, R., Servin Gonzalez, L., Alcaraz Peraza, L.D., Soberón-Chávez, G. 2014. Pseudomonas aeruginosa clinical and environmental isolates constitute a single population with high phenotypic diversity. BMC Genomics, 15, 1–14.

Guzvinec, M., Izdebski, R., Butic, I., Jelic, M., Abram, M., Koşcak, I., Baranjak, A., Hryniewicz, W., Gniadkowski, M. & Andrasevic, A. T. 2014. Sequence types 235, 111, and 132 predominate among multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa clinical isolates in Croatia. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 58, 6277–6283.

Haghi, F., Keramati, N., Hemmati, F., ve Zeighami, H. 2017. Distribution of integrons and gene cassettes among metallo-β-lactamase producing Pseudomonas

aeruginosa clinical isolates. Infection Epidemiology and Microbiology, 3, 36–40.

Hall, R.M., & Collis, C.M. 1995. Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. Molecular Microbiology, 15, 593–600.

Hassuna, N.A., Mandour, S.A., ve Mohamed, E.S. 2020. Virulence Constitution of Multi-Drug-Resistant Pseudomonas aeruginosa in Upper Egypt. Infection and Drug Resistance, 13, 587.

Henkin, C.S., Coelho, J.C., Paganella, M.C., de Siqueira, R.M., & Dias, F. S. 2009. Sepse: uma visão atual. Scientia Medica, 19, 134–145.

Henrichfreise, B., Wiegand, I., Pfister, W., & Wiedemann, B. 2007. Resistance mechanisms of multiresistant Pseudomonas aeruginosa strains from Germany and correlation with hypermutation. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 51, 4062–4070.

Horcajada, J.P., Montero, M., Oliver, A., Sorlí, L., Luque, S., Gómez-Zorrilla, S., Benito, N. ve Grau, S. 2019. Epidemiology and treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant Pseudomonas aeruginosa infections. Clinical Microbiology Reviews, 32(4).

Hussein, Z.K., Kadhim, H.S., ve Hassan, J.S. 2018. Detection of New Delhi metallo-beta-lactamase-1 (blaNDM-1) in carbapenem-resistant pseudomonas aeruginosa isolated from clinical samples in Wasit hospitals. Iraqi JMS, 16, 239–246.

Idris, S.N., Desa, M.N.M., Aziz, M.N., ve Taib, N.M. 2012. Antimicrobial susceptibility pattern and distribution of exoU and exoS in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa at a Malaysian hospital. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health, 43, 116–123.

Javadi, A., Sharifi, Y., Khodadadian, R., Fakharian, F., ve Abbas, M. 2015. Comparison the presence of exotoxin A, T, S isolated from clinical and environmental sample of Pseudomonas aeruginosa in hospitals of Qom city. Res J Fisheries Hydrobiol, 10, 709–713.

Jombo, G.T., Akpan, S., Epoke, J., Denen, A.P., & Odey, F. 2010. Multidrug resistant Psudomonas aeruginosa infections complicating surgical wounds and the potential challenges in managing post–operative wound infections: University of Calabar Teaching Hospital experience. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 3, 479–482.

Juhas, M. 2015. Pseudomonas aeruginosa essentials: an update on investigation of essential genes. Microbiology, 161, 2053–2060.

Kalantar, E., Torabi, V., Salimizand, H., Soheili, F., ve Ramezanzadeh, R. 2012. Incidence and susceptibility pattern of metallo-beta-lactamase producers among Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients at Kurdistan Province. Jundishapur J Microbiol, 5, 507–510.

Karthikeyan, R.S., Priya, J.L., Leal Jr, S.M., Toska, J., Rietsch, A., Prajna, V., Pearlman, E. & Lalitha, P. 2013. Host response and bacterial virulence factor expression in Pseudomonas aeruginosa and Streptococcus pneumoniae corneal ulcers. PloS One, 8, e64867.

Khalifa, A.B.H., Moissenet, D., Thien, H.V., & Khedher, M. 2011. Les facteurs de virulence de Pseudomonas aeruginosa: mécanismes et modes de régulations. Annales de Biologie Clinique, 69, 393–403.

Khalil, M. A., Sonbol, F. I., Badr, A., & Ali, S. S. 2015. Comparative study of virulence factors among ESβL-producing and nonproducing Pseudomonas aeruginosa clinical isolates. Turkish Journal of Medical Sciences, 45, 60-69.

Khosravi, A.D., Motahar, M., & Abbasi Montazeri, E. 2017. The frequency of class1 and 2 integrons in Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn patients in a burn center of Ahvaz, Iran. PloS One, 12, e0183061.

Kida, Y., Higashimoto, Y., Inoue, H., Shimizu, T., & Kuwano, K. 2008. A novel secreted protease from Pseudomonas aeruginosa activates NF-κB through protease-activated receptors. Cellular Microbiology, 10, 1491–1504.

Klockgether, J., Cramer, N., Wiehlmann, L., Davenport, C.F., ve Tümmler, B. 2011. Pseudomonas aeruginosa genomic structure and diversity. Frontiers in Microbiology, 2, 150.

Koehorst, J.J., Van Dam, J.C., Van Heck, R.G.A., Saccenti, E., Dos Santos, V.A., Suarez-Diez, M., and Schaap, P.J. 2016. Comparison of 432 Pseudomonas strains through integration of genomic, functional, metabolic and expression data. Scientific Reports, 6, 1–13.

Kollef, M.H. 2013. Antibiotics for the critically ill: more than just selecting appropriate initial therapy. Critical Care, 17, 1–3.

Kung, V.L., Ozer, E.A., & Hauser, A.R. 2010. The accessory genome of Pseudomonas aeruginosa. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 74, 621–641.

Lam, J.C., Somayaji, R., Surette, M.G., Rabin, H. R., & Parkins, M.D. 2015. Reduction in Pseudomonas aeruginosa sputum density during a cystic fibrosis pulmonary exacerbation does not predict clinical response. BMC Infectious Diseases, 15, 1–12.

Lambert, P.A. 2002. Mechanisms of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa. Journal of the Royal Society of Medicine, 95, 22–26.

Lau, G.W., Hassett, D.J., Ran, H., & Kong, F. 2004. The role of pyocyanin in Pseudomonas aeruginosa infection. Trends in Molecular Medicine, 10, 599–606.

Lee, D.G., Urbach, J.M., Wu, G., Liberati, N.T., Feinbaum, R.L., Miyata, S., Diggins, L. T., He, J., Saucier, M., Friedman, L., Li, L., Grills, G., Montgomery, K., Kucherlapati, R., Déziel, E. 2006. Genomic analysis reveals that Pseudomonas aeruginosa virulence is combinatorial. Genome Biology, 7, 1–14.

Lesieur, C., Vécsey-Semjén, B., Abrami, L., Fivaz, M., & Gisou Van Der Goot, F. 1997. Membrane insertion: the strategies of toxins. Molecular Membrane Biology, 14, 45–64.

Lewis, K. 2013. Platforms for antibiotic discovery. Nature Reviews Drug Discovery, 12, 371–387.

Li, X.Z., & Nikaido, H. 2009. Efflux-mediated drug resistance in bacteria. Drugs, 69, 1555–1623.

Lister, P.D., Wolter, D.J., & Hanson, N.D. 2009. Antibacterial-resistant Pseudomonas aeruginosa: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clinical Microbiology Reviews, 22, 582–610.

Liu, H., Kong, W., Yang, W., Chen, G., Liang, H., & Zhang, Y. 2018. Multilocus sequence typing and variations in the oprD gene of Pseudomonas aeruginosa isolated from a hospital in China. Infection and Drug Resistance, 11, 45.

Liwa, A.C., & Jaka, H. 2015. Antimicrobial resistance: Mechanisms of action of antimicrobial agents. The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs, 5, 876–885.

Loebinger, M.R., Wells, A.U., Hansell, D.M., Chinyanganya, N., Devaraj, A., Meister, M., & Wilson, R. 2009. Mortality in bronchiectasis: a long-term study assessing the factors influencing survival. European Respiratory Journal, 34, 843–849.

Lyczak, J.B., Cannon, C.L., & Pier, G.B. 2000. Establishment of Pseudomonas aeruginosa infection: lessons from a versatile opportunist. Microbes and Infection, 2, 1051–1060.

Magalhães, M.J., Pontes, G., Serra, P.T., Balieiro, A., Castro, D., Pieri, F.A., Crainley, J.L., Nogueira, P.A. ve Orlandi, P.P. 2016. Multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa survey in a stream receiving effluents from ineffective wastewater hospital plants. BMC Microbiology, 16, 1–8.

Mahmood, S., Farzaneh, F. P., Mohammad, Z., Mohammad. 2016. Evaluation of metallo-β-lactamase-production and carriage of bla-vim genes in Pseudomonas aeruginosa isolated from burn wound infections in Isfahan. Archives of Trauma Research, 5, e34343.

Mansouri, S., Norouzi, F., Moradi, M., & Nakhaee, N. 2011. Comparison of virulence factors among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa producing and non-producing extended spectrum beta-lactamases. Current Research in Bacteriology, 4, 85–93.

Matar, G.M., Ramlawi, F., Hijazi, N., Khneisser, I., & Abdelnoor, A. M. 2002. Transcription levels of pseudomonas aeruginosa exotoxin A gene and severity of symptoms in patients with otitis externa. Current Microbiology, 45, 350–354.

Mathee, K., Narasimhan, G., Valdes, C., Qiu, X., Matewish, J.M., Koehrsen, M., Rokas, A., Yandava, C.N., Engels, R., Olavarietta, R., Doud, M., Smith, R. S., Montgomery, P., White, J.R., Godfrey, P.A., Kodira, C., Birren, B., Galagan, J. E. & Zeng, E. 2008. Dynamics of Pseudomonas aeruginosa genome evolution. Proceedings of the National Academy of Sciences, 105, 3100–3105.

Mattick, J.S. 2002. Type IV pili and twitching motility. Annual Reviews in Microbiology, 56, 289–314.

Mekuto, L., Ntwampe, S.K.O., Kena, M., Golela, M.T., & Amodu, O.S. 2016. Free cyanide and thiocyanate biodegradation by Pseudomonas aeruginosa STK 03 capable of heterotrophic nitrification under alkaline conditions. 3 Biotech, 6, 1–6.

Mingeot-Leclercq, M.P., Glupczynski, Y., & Tulkens, P.M. 1999. Aminoglycosides: activity and resistance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 43, 727–737.

Moissenet, D., and Khedher, M. 2011. Virulence factors in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and modes of regulation. Annales de Biologie Clinique, 69, 393–403.

Mostafaie, A., Yari, K., & Kiani, S. 2011. A comparative evaluation of rehydration and cuploading sample application for modified twodimensional gel electrophoresis of human serum proteins using immobilized pH gradient. African journal of biotechnology, 10, 11711-11715.

Najafi, K., Kafil, H.S., Shokrian, S., Azimi, S., Asgharzadeh, M., Yousefi, M., ve Aghazadeh, M. 2015. Virulence genes and antibiotic resistance profile of Pseudomonas aeruginosa isolates in Northwest of Iran. Journal of Pure and Applied Microbiology, 9, 383–389.

Nanvazadeh, F., Khosravi, A.D., Zolfaghari, M. R., ve Parhizgari, N. 2013. Genotyping of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn patients by RAPD-PCR. Burns, 39, 1409–1413.

Naser, H.H. 2016. Detection of some aminoglycosides antimicrobial resistance genes in Pseudomonas aeruginosa cultured from mastitic milk cows. Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences, 7(2).

Neamah, A.A. 2017. Molecular Detection of virulence factor genes in Pseudomonas aeruginosa isolated from human and animals in Diwaniya province. Kufa J. Vet. Med. Sic, 8, 218–230.

Nicotra, M.B., Rivera, M., Dale, A.M., Shepherd, R., & Carter, R. 1995. Clinical, pathophysiologic, and microbiologic characterization of bronchiectasis in an aging cohort. Chest, 108, 955–961.

Nikbin, V.S., Aslani, M.M., Sharafi, Z., Hashemipour, M., Shahcheraghi, F., ve Ebrahimipour, G.H. 2012. Molecular identification and detection of virulence genes among Pseudomonas aeruginosa isolated from different infectious origins. Iranian Journal of Microbiology, 4, 118–123.

Nikokar, I., Tishayar, A., Flakiyan, Z., Alijani, K., Rehana-Banisaeed, S., Hossinpour, M., Hossinpour, M., Amir-Alvaei, S., & Araghian, A. 2013. Antibiotic resistance and frequency of class 1 integrons among Pseudomonas aeruginosa, isolated from burn patients in Guilan, Iran. Iranian Journal of Microbiology, 5, 36–41.

Odumosu, B.T., Adeniyi, B.A., ve Chandra, R. 2013. Analysis of integrons and associated gene cassettes in clinical isolates of multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa

from Southwest Nigeria. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 12, 1–7.

Palleroni, N.J. 2010. The pseudomonas story. Environmental Microbiology, 12, 1377–1383.

Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z. 2019. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and alternative therapeutic strategies. Biotechnology advances, 37, 177-192.

Park, H., Hong, M., Hwang, S., Park, Y., Kwon, K., Yoon, J.W, Shin S., Kim, J. and Park, Y. 2014. Characterisation of Pseudomonas aeruginosa related to bovine mastitis. Acta Veterinaria Hungarica, 62, 1–12.

Parkins, M.D., Glezerson, B.A., Sibley, C.D., Sibley, K.A., Duong, J., Purighalla, S., Mody, C.H., Workentine, M.L., Storey, D.G., Surette, M.G. & Rabin, H.R. 2014. Twenty-five-year outbreak of Pseudomonas aeruginosa infecting individuals with cystic fibrosis: identification of the prairie epidemic strain. Journal of Clinical Microbiology, 52, 1127–1135.

Paulse, A. N., Jackson, V. A., Khan, S., & Khan, W. 2012. Isolation and identification of bacterial pollutants from the Berg and Plankenburg Rivers in the Western Cape, South Africa. Water SA, 38, 819-824.

Percival, S.L., Emanuel, C., Cutting, K.F., ve Williams, D.W. 2012. Microbiology of the skin and the role of biofilms in infection. International Wound Journal, 9, 14–32.

Pereira, S.G., Rosa, A.C., Ferreira, A.S., Moreira, L.M., Proença, D.N., Morais, P.V, & Cardoso, O. 2014. Virulence factors and infection ability of P seudomonas aeruginosa isolates from a hydropathic facility and respiratory infections. Journal of Applied Microbiology, 116, 1359–1368.

Pobiega, M., Maciąg, J., Chmielarczyk, A., Romaniszyn, D., Pomorska-Wesolowska, M., Ziolkowski, G., Heczko, P.B., Bulanda, M. ve Wojkowska-Mach, J. 2015. Molecular characterization of carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa

strains isolated from patients with urinary tract infections in Southern Poland. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 83, 295–297.

Poole, K. 2004. Resistance to β-lactam antibiotics. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS, 61, 2200–2223.

Poole, K., Krebes, K., McNally, C., ve Neshat, S. 1993. Multiple antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa. evidence for involvement of an efflux operon. Journal of Bacteriology, 175, 7363–7372.

Poonsuk, K., Tribuddharat, C., & Chuanchuen, R. 2013. Aminoglycoside resistance mechanisms in Pseudomonas aeruginosa isolates from non-cystic fibrosis patients in Thailand. Canadian Journal of Microbiology, 59, 51–56.

Poulsen, B.E., Yang, R., Clatworthy, A.E., White, T., Osmulski, S.J., Li, L., Penaranda, C., Lander, E.S., Shoresh, N. ve Hung, D.T. 2019. Defining the core essential genome of Pseudomonas aeruginosa. Proceedings of the National Academy of Sciences, 116, 10072–10080.

Puthanpura, M. H. P., Balakrishnan, S. M. P., Santhakumari, R. D., Jose, B. P., & Moorkoth, A. P. 2018. Detection of AMPC BETA lactamases in Cefoxıtın-resistant GRAM-negative clinical isolates using Phenylboronıc acid. Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences, 7, 310-315.

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

Saga, T., & Yamaguchi, K. 2009. History of antimicrobial agents and resistant bacteria. Jmaj, 52, 103–108.

Sahu, C., Jain, V., Mishra, P., & Prasad, K. N. 2018. Clinical and laboratory standards institute versus European committee for antimicrobial susceptibility testing guidelines for interpretation of carbapenem antimicrobial susceptibility results for Escherichia coli in urinary tract infection (UTI). Journal of laboratory physicians, 10, 289-293.

Saleh, Z.F., Mohamed, B.J., & Jawad, M.S. 2016. Isolation of Pseudomonas aeruginosa and molecular detection of bla-OXA gene of the bacteria from milk of mastitis cattle and from the wounds of the udder. Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences, 15, 29–33.

Salih, A.H. 2016. Genetic and Phenotypic characterization of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Inpatients in Baghdad hospitals. M. Sc. Thesis, College of Medicine, University of Al-Qadissiyah.

Sandoval-Motta, S., & Aldana, M. 2016. Adaptive resistance to antibiotics in bacteria: a systems biology perspective. Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine, 8, 253–267.

Sawa, T., Shimizu, M., Moriyama, K., & Wiener-Kronish, J.P. 2014. Association between Pseudomonas aeruginosa type III secretion, antibiotic resistance, and clinical outcome: a review. Critical Care, 18, 1–12.

Saxena, P., Joshi, Y., Rawat, K., & Bisht, R. 2019. Biofilms: architecture, resistance, quorum sensing and control mechanisms. Indian Journal of Microbiology, 59, 3–12.

Scarpellini, M., Franzetti, L., ve Galli, A. 2004. Development of PCR assay to identify Pseudomonas fluorescens and its biotype. FEMS Microbiology Letters, 236, 257–260.

Schroth, M. N., Cho, J. J., Green, S. K., & Kominos, S. D. 2018. Epidemiology of Pseudomonas aeruginosa in agricultural areas. Journal of medical microbiology, 67, 1191-1201.

Schwarz, C., Spinola, M., Flume, P.A., & Elborn, J.S. 2018. P080 Potential taste disturbance is largely mild and diminishes with continuing treatment in cystic fibrosis patients treated with levofloxacin inhaled solution. Journal of Cystic Fibrosis, 17, S81-S82.

Shane, A. L., Mody, R. K., Crump, J. A., Tarr, P. I., Steiner, T. S., Kotloff, K., & Pickering, L. K. 2017. Infectious Diseases Society of America clinical practice

guidelines for the diagnosis and management of infectious diarrhea. Clinical Infectious Diseases, 65, e45-e80.

Sharifuddin, A.A., & Buandasan, K. 2020. A case of panophthalmitis with orbital cellulitis related to Erysipelothrix rhusiopathiae infection. Malaysian Journal of Ophthalmology, 2, 48-54.

Sharma, S., Kaur, R., Yadav, V., Harjai, K., ve Joshi, K. 2004. Contribution of exotoxin A of Pseudomonas aeruginosa in acute and chronic experimental renal infection. Japanese Journal of Infectious Diseases, 57, 119–120.

Sheikh, A.F., Rostami, S., Jolodar, A., Tabatabaiefar, M. A., Khorvash, F., Saki, A., Shoja, S. ve Sheikhi, R. 2014. Detection of metallo-beta lactamases among carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa. Jundishapur Journal of Microbiology, 7, 12289.

Silby, M.W., Winstanley, C., Godfrey, S.A.C., Levy, S.B., ve Jackson, R.W. 2011. Pseudomonas genomes: diverse and adaptable. FEMS Microbiology Reviews, 35, 652–680.

Soković, M., Ćirić, A., Glamočlija, J., Nikolić, M., ve Van Griensven, L.J.L.D. 2014. Agaricus blazei hot water extract shows anti quorum sensing activity in the nosocomial human pathogen Pseudomonas aeruginosa. Molecules, 19, 4189–4199.

Somayaji, R., Waddell, B., Workentine, M.L., Surette, M.G., Brager, N.P., Rabin, H.R., ve Parkins, M.D. 2015. Infection control knowledge, beliefs and behaviours amongst cystic fibrosis patients with epidemic Pseudomonas aeruginosa. BMC Pulmonary Medicine, 15, 1–8.

Sreeshma, P. 2015. Study of virulence factors and antimicrobial susceptibility with an insight into biofilm in pseudomonas aeruginosa. Yenepoya Üniversitesi, Doktora Tezi.

Sui, Z. M., Chen, X., Wang, L. Y., Xu, L. M., Zhuang, W. C., Chai, Y. C., & Yang, C. J. 2006. Capping effect of CTAB on positively charged Ag nanoparticles. Physica E: Low-dimensional systems and nanostructures, 33, 308-314.

Sun, J., Deng, Z., ve Yan, A. 2014a. Bacterial multidrug efflux pumps: mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. Biochemical and Biophysical Research Communications, 453, 254–267.

Sun, S., Selmer, M., ve Andersson, D.I. 2014b. Resistance to β-lactam antibiotics conferred by point mutations in penicillin-binding proteins PBP3, PBP4 and PBP6 in Salmonella enterica. PLoS One, 9, e97202.

Supervie, V., Ndawinz, J. D., Lodi, S., & Costagliola, D. 2014. The undiagnosed HIV epidemic in France and its implications for HIV screening strategies. AIDS (london, England), 28, 1797.

Szmolka, A., Cramer, N., ve Nagy, B. 2012. Comparative genomic analysis of bovine, environmental, and human strains of Pseudomonas aeruginosa. FEMS Microbiology Letters, 335, 113–122.

Tacconelli, E., Magrini, N., Kahlmeter, G., & Singh, N. 2017. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. World Health Organization, 27, 318–327.

Taylor, P.K., Yeung, A.T., & Hancock, R.E. 2014. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa biofilms: towards the development of novel anti-biofilm therapies. Journal of Biotechnology, 191, 121–130.

Tellis, R.C. 2018. Comparison of virulence factors among antibiotic sensitive and multidrug resistant clinical isolates of pseudomonas aeruginosa an in vitro study. (Thesis) Yenepoya University (Mangalore).

Tenover, F.C. 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. The American Journal of Medicine, 119, S3–S10.

Tommasi, R., Brown, D.G., Walkup, G.K., Manchester, J.I., ve Miller, A.A. 2015. ESKAPEing the labyrinth of antibacterial discovery. Nature Reviews Drug Discovery, 14, 529–542.

Tran, C.S., Rangel, S.M., Almblad, H., Kierbel, A., Givskov, M., Tolker-Nielsen, T., Hauser, A.R., Engel, J.N. 2014. The Pseudomonas aeruginosa type III translocon is required for biofilm formation at the epithelial barrier. PLoS Pathog, 10, e1004479.

Vaez, H., Faghri, J., Esfahani, B.N., Moghim, S., Fazeli, H., Sedighi, M., ve Safaei, H.G. 2015. Antibiotic resistance patterns and genetic diversity in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients of a referral hospital, Isfahan, Iran. Jundishapur Journal of Microbiology, 8(8).

Valot, B., Guyeux, C., Rolland, J. Y., Mazouzi, K., Bertrand, X., & Hocquet, D. 2015. What it takes to be a Pseudomonas aeruginosa? The core genome of the opportunistic pathogen updated. PloS One, 10, e0126468.

Van Hoek, A.H.A.M., Mevius, D., Guerra, B., Mullany, P., Roberts, A.P., & Aarts, H.J.M. 2011. Acquired antibiotic resistance genes: an overview. Frontiers in Microbiology, 2, 203.

Venter, H. 2019. Reversing resistance to counter antimicrobial resistance in the World Health Organisation's critical priority of most dangerous pathogens. Bioscience Reports, 39(4).

Wadekar, M. D., Anuradha, K., & Venkatesha, D. 2013. Phenotypic detection of ESBL and MBL in clinical isolates of Enterobacteriaceae. Int J Curr Res Aca Rev, 1, 89-95.

Welsh, M.A. 2016. The Application of Chemical Tools to Study Bacterial Quorum Sensing: New Insights into Virulence Pathway Regulation and Its Attenuation in Human Pathogens. Wisconsin-Madison Üniversitesi Doktora Tezi,

Williams, D., Evans, B., Haldenby, S., Walshaw, M.J., Brockhurst, M.A., Winstanley, C., ve Paterson, S. 2015. Divergent, coexisting Pseudomonas aeruginosa

lineages in chronic cystic fibrosis lung infections. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 191, 775–785.

Winsor, G. L., Van Rossum, T., Lo, R., Khaira, B., Whiteside, M. D., Hancock, R.E.W., & Brinkman, F.S.L. 2009. Pseudomonas Genome Database: facilitating user-friendly, comprehensive comparisons of microbial genomes. Nucleic Acids Research, 37, D483–D488.

Wolfgang, M.C., Kulasekara, B. R., Liang, X., Boyd, D., Wu, K., Yang, Q., Miyada, C. G., Lory, S. 2003. Conservation of genome content and virulence determinants among clinical and environmental isolates of Pseudomonas aeruginosa. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100, 8484–8489.

Wolter, D., ve Lister, P. 2013. Mechanisms of β-lactam resistance among Pseudomonas aeruginosa. Current Pharmaceutical Design, 19, 209–222.

Wright, G.D. 2005. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. Advanced Drug Delivery Reviews, 57, 1451–1470.

Yousefi-Avarvand, A., Khashei, R., Ebrahim-Saraie, H. S., Emami, A., Zomorodian, K., & Motamedifar, M. 2015. The frequency of exotoxin A and exoenzymes S and U genes among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa in Shiraz, Iran. International Journal of Molecular and Cellular Medicine, 4, 167–173.

Yusuf, E., Van Herendael, B., Verbrugghe, W., Ieven, M., Goovaerts, E., Bergs, K., Wouters, K., Jorens, P.G. & Goossens, H. 2017. Emergence of antimicrobial resistance to Pseudomonas aeruginosa in the intensive care unit: association with the duration of antibiotic exposure and mode of administration. Annals of Intensive Care, 7, 1–7.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Yusra Kadhim Ali AL-SAADİ

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2021-Halen
Lisans	Bağdat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü	2010-2014

İş Deneyimi

Yıl	**Kurum**	**Görev**
2015-Halen	ÇAKÜ, Kimya Müh. Böl.	Arş. Görevlisi

Akademik Aktiviteler