



T.C

KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER TIP ANA BİLİM DALI

**BAZI *ACTINOBACTERIA* TÜRLERİNİN
ENFEKSİYON ETKENİ *PSEUDOMONAS* SPP.,
STAPHYLOCOCCUS SPP. VE *PROTEUS* SPP.
İZOLATLARI ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL
ETKİLERİNİN DENEYSEL VE TÜM GENOM
TABANLI ARAŞTIRILMASI**

Muhammet Fatih TORU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ

Dr. Öğr. Üyesi Salih SARICAOĞLU (2.Danışman)

KIRŞEHİR / 2022



T.C

KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER TIP ANA BİLİM DALI

**BAZI *ACTINOBACTERIA* TÜRLERİNİN
ENFEKSİYON ETKENİ *PSEUDOMONAS* SPP.,
STAPHYLOCOCCUS SPP. VE *PROTEUS* SPP.
İZOLATLARI ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL
ETKİLERİNİN DENEYSEL VE TÜM GENOM
TABANLI ARAŞTIRILMASI**

Muhammet Fatih TORU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ

Dr. Öğr. Üyesi Salih SARICAOĞLU (2.Danışman)

KIRŞEHİR / 2022

KABUL VE ONAY

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Yüksek Lisans 191212004 numaralı öğrencisimiz Muhammet Fatih TORU tarafından hazırlanan '**Bazı *Actinobacteria* türlerinin enfeksiyon etkeni *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp. ve *Proteus* spp. izolatları üzerine antimikrobiyal etkilerinin deneysel ve tüm genom tabanlı araştırılması**' adlı tez çalışması 08.03.2022 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jüri üyelerimiz tarafından oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Kamil IŞIK

Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Fen Edebiyat Fakültesi

(Başkan)

Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ

Samsun Üniversitesi

Tıp Fakültesi

(Danışman)

Prof. Dr. Yusuf Kenan DAĞLIOĞLU

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Tıp Fakültesi

(Üye)

Prof. Dr. Belgin ERDEM

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu

(Üye)

Dr. Öğr. Üyesi Salih SARICAOĞLU

Çankırı Karatekin Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

(2. Danışman)

TEZ BİLDİRİM

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Bu çalışma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri biriminin TIP.A4.20.004 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Muhammet Fatih TORU



ÖNSÖZ

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasındaki her aşamasında varlığını daima yanımda hissettiğim, bana yol gösteren, tezimin her safhasında maddi ve manevi bütün bilgi birikiminden faydalandığım değerli danışman hocam Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ'a en içten saygı ve sevgimle teşekkürlerimi sunarım.

Lisans eğitimim ve ardından Yüksek Lisans eğitimim sırasında birlikte yorulduğumuz, çok rahatsız ettiğim ama her seferinde beni sabırla dinleyen, bana bu konuda bütün birikimini sunan değerli hocam aynı zamanda 2. danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Salih SARICAOĞLU'na teşekkürü bir borç bilir ve en içten şükranlarımı sunarım.

Bana ben olmayı öğreten ve bu çalışmaya başlarken maddi ve manevi her türlü şekilde yanımda olan aileme, çalışma sırasında bana eşlik eden, sevgisini, cömertliğini, maddi ve manevi bütün desteğini benden esirgemeyen sevgili Eşim'e çok teşekkür ederim.

Bu çalışma sırasında bana kültür koleksiyonunu açan Prof. Dr. Kamil IŞIK ve ekibine çok teşekkür ederim.

Bursa Ali Osman Sönmez Onkoloji Hastanesinde çalışmalarım sırasında beni çok destekleyen Sayın Nazım BAŞ ve Sayın Müttalip KARCI'ya çok teşekkür ederim.

Bu çalışmaya TIP.A4.20.004 proje numarası ile destek olan Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederim.

Nisan,2022

Muhammet Fatih TORU

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ.....	xi
KISALTMA LİSTESİ.....	xii
ÖZET	xiii
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Hastane Enfeksiyonları.....	3
2.2. <i>Pseudomonas</i> Cinsi Bakteriler.....	3
2.2.2. <i>Pseudomonas</i> spp. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları.....	5
2.2.3. <i>Pseudomonas</i> spp. Enfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotikler	6
2.3. <i>Staphylococcus</i> Cinsi Bakteriler.....	6
2.3.1. <i>Staphylococcus</i> spp. Enfeksiyonları	6
2.3.2. <i>Staphylococcus</i> spp. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları	7
2.3.3. <i>Staphylococcus</i> spp. Enfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotikler.....	7
2.4. <i>Proteus</i> Cinsi Bakteriler.....	8
2.4.2. <i>Proteus</i> spp. Enfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotikler	9
2.5.Antibiyotik Direnç Mekanizmaları ve Direnç Genleri	9
Antibiyotiğin kullanıma başlaması ile o antibiyotiğe karşı direnç gelişimi zamanla yayılarak artmaktadır. Kalıtsal olamayan bir direnç mekanizması olan doğal direnç, organizmanın özelliğinden gelen dirençliliklerdir. Direnç; antibiyotiğin yaygın olarak kullanımını takiben mikroorganizma ile temasıyla başlamakta, mikroorganizmada oluşan mutasyonlarla gelişmektedir (52). Antibiyotiklere karşı gelişen direnç mekanizmaları;	9
2.6. <i>Actinobacteria</i> Cinsleri	11
2.6.1. <i>Actinomadura</i> cinsi	11
<i>Actinomadura</i> cinsi, <i>Thermomonosporaceae</i> ailesi içerisinde mevcut Gram-pozitif <i>Actinocorallina</i> , <i>Spirillospora</i> ve <i>Thermomonospora</i> cinsleriyle birlikte dallanma gösteren hareketli olmayan türlerdir. <i>Actinomadura</i> cins üyeleri kimyasal, fizyolojik ve morfolojik özellikleriyle birlikte kullanılmasıyla birbirlerinden ayrılmakta ve 16S rRNA gen dizisine bağlı ayrı filetik yol oluşturmaktadır (69).	11
2.6.2. <i>Nonomuraea</i> cinsi	11
2.6.3. <i>Streptomyces</i> cinsi	12
2.6.4. <i>Rhodococcus</i> cinsi	12
2.6.5. <i>Actinobacteria</i> 'ların Antimikrobiyal Potansiyelleri.....	12
2.6.6.Tüm Genom Çalışmaları	14
2.5.Enfeksiyonlarda Kullanılan Antibiyotikler	15

3.GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1.Materyal	17
3.1.1.Kullanılan Klinik İzolatlar	17
3.1.2.İzolatların Toplanması.....	17
3.1.3.İzolatların Tanımlanması	17
3.2.Mikrobiyolojik Yöntemler.....	18
3.2.1.Disk Difüzyon.....	18
3.2.2.Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri.....	19
3.2.3.<i>Actinobacteria</i> Antimikrobiyal Aktivite Testleri.....	19
3.3.1.Tüm Genom Verilerinin Analizi	21
4.BULGULAR	22
4.1.Toplanacak Numunelerin Belirlenmesi.....	22
4.2.İzolatların Tanımlanması	22
4.3.Disk Difüzyon Sonuçları	22
4.4.İzolatların Direnç Profilleri.....	23
4.5.<i>Actinobacteria</i> İzolatlarında Antimikrobiyal Aktivite Testleri Sonuçları.....	30
4.6 <i>Actinobacteria</i> Suşlarının Tüm Genom Analizleri.....	37
5.TARTIŞMA VE SONUÇ	42
5.1. Tartışma ve Sonuç.....	42
5.2.Öneriler	45
KAYNAKLAR.....	46
EKLER	59
ÖZGEÇMİŞ	61

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Bakteri hücrelerinde antibiyotik direnç mekanizmaları

Şekil 2: Genom bazlı sınıflamanın tür düzeyinde iş akışı

Şekil 3: Örneklerin Stoklanması

Şekil 4: *Actinobacteria* 'lar için hazırlanmış etüv (Nüve-EN 400)

Şekil 5: *Pseudomonas* disk difüzyon zon çapları

Şekil 6: *Pseudomonas* spp. için *Actinobacteria* antimikrobiyal aktivite testi örneği

Şekil 7: *Staphylococcus* spp. için *Actinobacteria* antimikrobiyal aktivite testi örneği

Şekil 8: antiSMASH bacterial version uygulamasında *Actinomadura geliboluensis* suşuna ait biyoaktif gen kümelerinin görünümü

Şekil-9 antiSMASH bacterial version uygulamasında *Nonomuraea zae* suşuna ait biyoaktif gen kümelerinin görünümü

TABLO LİSTESİ

Tablo-1: *Pseudomonas*'ların fenotip sınıflandırılması

Tablo-2: *Staphylococcus aureus* 'ların sebep olduğu bazı önemli enfeksiyonlar

Tablo-3: *Proteus* türleri arasındaki bazı farklar

Tablo-4: *Actinobacteria* üyeleri tarafından üretilen biyoaktif moleküllerin örnekleri ve etkinlikleri

Tablo-5: Disk Difüzyon Sınır Değerleri (EUCAST)

Tablo-6: *Pseudomonas* spp disk difüzyon ölçüm sonuçları

Tablo-7: *Staphylococcus* spp disk difüzyon ölçüm sonuçları

Tablo-8: *Proteus* spp disk difüzyon ölçüm sonuçları

Tablo-9: *Pseudomonas* spp. için direnç olan izolatların oranı (%)

Tablo-10: *Staphylococcus* spp. için direnç olan izolatların oranı (%)

Tablo-11: *Proteus* spp. için direnç olan izolatların oranı (%)

Tablo-12: *Pseudomonas* spp, *Actinobacteria* antimikrobiyal aktivite testleri

Tablo-13: *Staphylococcus* spp, *Actinobacteria* antimikrobiyal aktivite testleri

Tablo-14: *Proteus* spp, *Actinobacteria* antimikrobiyal aktivite testleri

Tablo-15: Hastane enfeksiyonlarının neden olduğu ek yatış süreleri *Pediatrik Hasta Grubu

KISALTMA LİSTESİ

Kısaltmalar Açıklama

SENIC : The Study of the Efficacy of Nosocomial Infection Control and Prevention

IYE : İdrar Yolu Enfeksiyonları

MRSA : Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

RNA : Ribonükleik Asit

rRNA : Ribozomal Ribonükleik asit

SPP. : Subspecies = alt tür

MHA : Mueller Hinton Agar

NCBI :National Center For Biotechnology Information

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI *Actinobacteria* TÜRLERİNİN ENFEKSİYON ETKENİ *Pseudomonas* spp.,
Staphylococcus spp. VE *Proteus* spp. İZOLATLARI ÜZERİNE
ANTİMİKROBİYAELETKİLERİNİN DENEYSEL VE TÜM GENOM TABANLI
ARAŞTIRILMASI

Muhammet Fatih TORU

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ

Bu tez çalışmasında T.C. Sağlık Bakanlığı Bursa Ali Osman Sönmez Onkoloji Hastanesi'nde Ocak 2021-Haziran 2021 tarihleri arasında en önemli hastane enfeksiyonlarına yol açan, çeşitli servislerde yatan hastalardan elde edilmiş klinik izolatlar olan *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp. ve *Staphylococcus* spp. kullanılmıştır. Çalışmada 57 adet *Pseudomonas aeruginosa*, 50 Adet *Staphylococcus aureus* ve 5 adet *Proteus mirabilis* kullanıldı. Elde edilmiş klinik izolatların %75'i idrar kültüründen, %16.6'sı trakeal aspirat kültürü, %8,4'ü kan kültüründen izole edilmiştir. *Pseudomonas* spp. izolatları Vitek-2 cihazında, *Staphylococcus* spp. ve *Proteus* spp. izolatları ise API 10S kullanılarak tanımlanmıştır. Tanımlanan izolatların Gentamisin, Tigesiklin, Ampisilin, Ertapenem, Sefepim, Meronem, Cefazolin, Linezolid, Seftazidim, Teikoplanin, Tetrasiklin, Vankomisin, Amoksisilin klavulanik asit antibiyotiklerine karşı antibiyotik direnç profilleri belirlenmiştir.

Actinobacteria cinsleri antibiyotik üretimi başta olmak üzere, enzimler, immünosüpresif ajanlar ve antitümör ajanlar gibi çeşitli metabolitler üretme potansiyeline sahip bakterilerdir. Günümüzde patojenlerin antibiyotik dirençleri ve tedavide oluşan yetersizlikler sebebiyle yeni antibiyotiklerin keşfi kaçınılmaz olmuştur. Belirtilen tarihler arasında izole edilen suşlar 6 farklı *Actinobacteria* suşu seçilerek antimikrobiyal aktive testine tabi tutulmuştur. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında *Actinomadura soli* 14C53^T %56,6 oranında, *Staphylococcus aureus* suşlarında *Nonomuraea zae* DSM 100528^T %50 oranında zon çapı ölçülmüştür. *Proteus mirabilis* suşlarında zon çapı ölçülmemiştir. Sonuç olarak, *Actinobacteria* üyesi türlerin antimikrobiyal aktive test sonuçlarında bazı patojenler üzerinde olumlu sonuç verdiği gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Proteus*. *Actinobacteria*, Antimikrobiyal aktivite

SUMMARY

M.Sc. THESIS

EXPERIMENTAL AND WHOLE GENOME-BASED RESEARCH OF
ANTIMICROBIAL EFFECTS OF SOME *Actinobacteria* SPECIES ON INFECTION
AGENT ISOLATES OF *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp and *Proteus* spp.

Muhammet Fatih TORU

Kirşehir Ahi Evran University Institute of Health Sciences

Molecular Medicine Department

Supervisor: Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ

In this thesis, T.C. in the Ministry of Health Bursa Ali Osman Sönmez Oncology Hospital *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp. and *Staphylococcus* spp. Used. 57 *Pseudomonas aeruginosa*, 50 *Staphylococcus aureus* and 5 *Proteus mirabilis* were used in the study. Of the clinical isolates obtained, 75% were isolated from urine culture, 16.6% from tracheal aspirate culture and 8.4% from blood culture. *Pseudomonas* spp. *Staphylococcus* spp isolates. and *Proteus* spp. The isolates were identified using the API. Antibiotic resistance profiles of the detected isolates against Gentamicin, Tigecycline, Ampicillin, Ertapenem, Cefepim, Meronem, Cefazolin, Linezolid, Ceftazidime, Teicoplanin, Tetracycline, Vancomycin, Amoxicillin and clavulanic acid antibiotics were determined.

Actinobacteria are bacteria that have the potential to produce various metabolites such as antibiotics, enzymes, immunosuppressive agents and antitumor agents. Today, the discovery of new antibiotics has become inevitable due to antibiotic resistance of pathogens and inadequacies in treatment. The strains isolated between the specified dates were selected from 6 different *Actinobacteria* strains and subjected to antimicrobial activity testing. In *Pseudomonas aeruginosa* strains, of *Actinomadura soli* 14C53^T Zone diameter was measured at 56.6% in *Staphylococcus aureus* strains and 50% of *Nonomuraea zeae* DSM 100528T. Zone diameter was not measured in *Proteus mirabilis* strains. As a result, it was

observed that the member species of *Actinobacteria* gave positive results on some pathogens in the antimicrobial activation test results.

Keywords: *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Actinobacteria*, Antimicrobial activity



1.GİRİŞ

Tıp bilimindeki gelişmeler hastane enfeksiyonları insanlığın önemli sorunlarından biri olduğunu göstermiştir (1,2). Bu enfeksiyonlar, sağlık maliyetlerini 5 kat ve hastanede kalış sürelerini de 20 kat artırırken, ölüm oranlarının artışında da bir o kadar önemli rol oynamaktadır. Araştırmalar hastane enfeksiyonlarının en az üçte birini önlenabilir olduğunu göstermektedir. Bu sebeptir ki; her hastane kendi içinde enfeksiyon kontrol programı oluşturmak zorundadır. Mortalite, yükselen tedavi masrafları ve artan morbidite bu zorunluluğu etkileyen en önemli sebeplerdir. Prematüre, yenidoğan, kanser hastaları, bebekler, AIDS hastaları ve yaşlı hastalar gibi bağışıklık sistemi zayıf hastalarda bu enfeksiyonlar ölümle sonuçlanabilmektedir. Birden fazla ülkede hastaneye yatışı yapılan hastalar üzerinde gerçekleştirilen araştırmalarda kişilerin %3.1-%14.1'inde hastane enfeksiyonu olduğu belirtilmiştir (3). Bu sebeple engellenebilir enfeksiyonlardan olan hastane enfeksiyonları gitgide önem kazanmaktadır (4,5). 'The Study of the Efficacy of Nosocomial Infection Control and Prevention' (SENIC) hastane enfeksiyonları denetiminde sürveyansın etki çalışmalarını yapmış ve bu projede elde ettiği verilerle kuvvetli önemler alındığı takdirde, hastane enfeksiyonlarının üçte birinin önlenabilir olduğunu göstermiştir (6,7).

Her yıl dünya genelinde 150 milyon bireyi etkileyen en yaygın enfeksiyon türü idrar yolu enfeksiyonlarıdır (İYE) (8). İYE'lerin ekonomik yükü halk sağlığı açısından önemli olduğu gibi tekrarlayan enfeksiyonlar da hastaların yaşam kalitesini etkilemektedir (9). Dünya genelinde İYE'ler ayaktan hasta ziyaretlerinin %0,7'sini oluşturmaktadır (10,11). %12,9 prevalansa sahip İYE'lerin üçte ikisi kataterle ilişkili olup hastane kaynaklı enfeksiyonlar arasında dördüncü sırada yer almaktadır (12).

Gram negatif patojenlerden biri olan *P. aeruginosa* zor şartlarda hayatta kalma potansiyeline sahip olması sebebiyle hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olmaktadır ve sağlık bakım ünitelerinde meydana gelen en önemli enfeksiyolardandır. Gastrointestinal enfeksiyonlar, pnömoni ve bakteriyemi gibi hastalıkların yanı sıra özellikle kanser hastaları, yanık ünitelerinde bulunan hastalar gibi bağışıklık sistemi zayıflamış hastalarda fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilmektedir (13,14).

Staphylococcus'lar hastane kaynaklı enfeksiyonların en önemli etkenlerindendir. *S.aureus* *Staphylococcus* cinsi içerisinde insanda enfeksiyon etkeni olan patojendir (15). Metisiline duyarlı *S.aureus* MRSA olarak adlandırılmıştır ve *Staphylococcus*'lar, sefalosporinler de dahil tüm beta-laktam antibiyotiklere dirençlidir (16). Hastane kökenli enfeksiyonlar içinde yer alan MRSA'lar, günümüzde önemli insan kaynaklı enfeksiyon olarak, giderek artan mortalite ve morbiditeye neden olmakta ve ekonomik olarak da yük oluşturmaktadır (17).

Bu çalışmada:

*T.C. Sağlık Bakanlığı Bursa Ali Osman Sönmez Onkoloji Hastanesi'ne Ocak 2021-Haziran 2021 tarihleri arasında çeşitli servislerden gelen numuneler merkez laboratuvarca saptanmış *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp. ve *Proteus* spp. kullanılarak;

*Tespit edilen izolatların antibiyotik duyarlılıkları saptanmak için *Pseudomonas aeruginosa* için Gentamisin, Tigesiklin, Amoksisilin klavulanik asit, Ampisilin, Ertapenem, Sefepim, Meronem, Seftazidim, *Staphylococcus aureus* için Amoksisilin klavulanik asit, Ampisilin, Cefazolin, Gentamisin, Linezolid, Teikoplanin, Tetrasiklin, Vankomisin ve *Proteus mirabilis* için Amikasin, Amoksisilin klavulanik asit, Ampisilin, Sefazolin, Gentamisin, Siprofloksasin etken maddelerinin direnç profillerinin saptanması,

*Direnç profilleri saptanan izolatlara *Nonomuraea zae* DSM 100528^T, *Streptomyces boluensis* YC537^T, *Rhodococcus sp* 14C212, *Actinomadura geliboluensis* A8036^T, *Rhodococcus aetherivorans* 10bc312^T ve *Actinomadura soli* 14C53^T türlerinin antimikrobiyal aktivelerinin saptanması,

*Antimikrobiyal etkinliği saptanan *Actinobacteria* üyelerinin tüm genom verilerinden sekonder metabolit üretim potansiyellerinin saptanarak alternatif biyoaktif moleköl kaynaklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Hastane Enfeksiyonları

Hastane enfeksiyonları dünya genelinde hizmet kalitesini kötü yönde etkileyen en önemli tıbbi sorunlardan birisidir. Gelişen teknoloji sonrasında kompleks tedavi ve tanı yöntemleri ile hastaların ömrü uzatılırken, önlenebilir hasta kayıpları ve maddi zayıtlar yaşanmaktadır (18,19). Hastane enfeksiyonları ABD’de ölüm nedenleri arasında dördüncü sıradadır. Hastane enfeksiyonları her yıl iki milyon kişide görülür ve 103.000’inin hayatını kaybettiği bildirilmektedir (20,21). ABD’de bu sayı meme kanseri, trafik kazası, AIDS geçirip hayatını kaybedenlerin sayısına eşittir (21).

DSÖ’nün sunduğu verilere göre hastane enfeksiyonu hastaneye yatışı gerçekleştirilen her on hastanın birinde gelişmektedir. ABD’de 1980’li yıllarında yatan hastaların %5-%6’sında ortaya çıkmıştır ve bununla birlikte hastane enfeksiyonlarının toplamı yılda 2,1 milyondur. Yılda yaklaşık hastane enfeksiyonlarının sebep olduğu ölümlerin sayısı 90.000 civarındadır. Her yıl İngiltere’de ortalama hastane enfeksiyonu görülme sayısı 100.000 vaka olmakla beraber %1 oranında (yaklaşık 5.000 kişi) ölümlerinin doğrudan, %3 oranında ise dolaylı olarak hastane enfeksiyonları ile ilişkilidir. Ülkemizde de hastane enfeksiyonu önemli bir şekilde karşımıza çıkmaktadır. Türkiye’de hastane enfeksiyonu oranının %5 ile %15 arasında olduğu kabul edilmekle beraber verilere ulaşım aşamasında belli başlı sıkıntılar yaşanmaktadır (22).

2.2.*Pseudomonas* Cinsi Bakteriler

Pseudomonas’lar fırsatçı patojenler olup, çevre koşullarına kolayca adapte olmalarıyla, değişik virulans faktörleri içermesi ve antimikrobiyallere karşı hızlı direnç geliştirmesi nedeniyle önemli bir yere sahiptirler. Hastane enfeksiyonları en sık görülen üçüncü patojen olma özelliğine sahiptirler. Nonfermentatif bakteriler içerisinde en sık izole edilebilen bakterilerdir. Yoğun bakım ünitelerinde ve nütropenik hastaların bulunduğu yerlerde genellikle hastane enfeksiyonlarında *Pseudomonas*’lar ön plana çıkmaktadır (23).

Pseudomonas cinsi üyeleri; doğada, suda ve toprakta yaygın olarak tespit edilmekle birlikte bu cins, *Pseudomonadaceae* familyasında bulunan Gram negatif, basil morfolojisinde bakterileri kapsamaktadır (24). Önemli rol oynadığı diğer bir alan ise azot döngüsüdür. *Pseudomonas*’lar oksidaz ve katalaz pozitif, oksidasyon yoluyla şekerleri parçalayabilen fakat fermentasyon yapmayan bu nedenle nonfermentatif gram negatif basiller arasında yer alırlar (25).

Pseudomonas cinsi, kompleks ve büyük gram negatif bakteri taksonu olup çevresel ve klinik açıdan önemsenmesi gereken birçok türü içinde barındırır. Midula tarafından ilk kez 1894’te *Pseudomonas* cinsi tanımlanmıştır fakat tanımlama metodları geliştikçe çok kez revizyona uğramıştır. 1970 yıllarının başında sistematik çalışmalar neticesinde bağımsız beş gruptan oluştuğu tanımlanmıştır. *Pseudomonas* cinsinin günümüzde 160 türü bulunur ve bu türler içerisinde 12 tür klinik öneme sahiptir (26).

Pseudomonas türlerinin klinik hastalıklarla ilişkili çoğu belirgin bir heterojenite göstermektedirler. Biyovar veya genomvarlara bölünmüşler. Genomvarlar tür düzeyinde tanımlanma gerektiren fakat fenotipik tanımlayıcı özellikleri bulunmayan genetik olarak farklı gruplar olup, DNA-DNA hibridizasyon deneyleriyle ve 16S rRNA gen sekansı ile birlikte kemotaksonomik total yağ asidi analizi ve total protein patern analiziyle tanımlanmaktadırlar (26).

***Pseudomonas*'ların Fenotip Sınıflandırması**

RNA Grup I Fluorescent Grup <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas putida</i> Stutzeri grup <i>Pseudomonas stutzeri</i> <i>Pseudomonas mendocina</i> CDC grup Vb-3 Alkaligenes grup <i>Pseudomonas alkaligenes</i> <i>Pseudomonas pseudoalkaligenes</i> <i>Pseudomonas cinsi</i> grup 1	rRNA Grup II Pseudomallei Grup (kolistin dirençli grup) <i>Burkholderia mallei</i> <i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>Burkholderia cepacia</i> kompleks <i>Burkholderia gladioli</i> <i>Pandoraea cinsi</i> <i>Ralstonia cinsi</i> <i>Cupriavidus cinsi</i>	rRNA Grup III Zayıf oksidaz pozitif grup <i>Comomonas acidovorans</i> <i>Comomonas terrigena</i> <i>Comomonas testosteroni</i> <i>Acidovorax delafieldi</i> <i>Acidovorax facilis</i> <i>Acidovorax temperans</i> <i>Lautropia mirabilis</i> CDC WO-1
rRNA Grup IV Diminuta grup <i>Brevindumonas diminuta</i> <i>Brevindumonas vesicularis</i>	rRNA Group V <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Sarı Pigmentli Grup <i>Pseudomonas luteola</i> <i>Pseudomonas oryzihabitans</i> <i>Spingomonas paucimobilis</i>
H₂S Pozitif Grup <i>Shewanella putrefaciens</i> <i>Shewanella algae</i>		

Tablo 1: *Pseudomonas*'ların fenotipik sınıflandırılması (27)

2.2.1. *Pseudomonas* spp. Enfeksiyonları

Pseudomonas cinsi, nozokomiyal fırsatçı patojenlerdendir ve insanlarda birden fazla enfeksiyona neden olmaktadır. Son dönemde hastane içerisinde bu enfeksiyonlarda artış olmuştur. Bu bakterilerin hastane ortamına kolay uyum sağlaması nedeniyle direnç karakterlerinde artış gözlenmektedir (28).

Pseudomonas'ların neden olduğu enfeksiyonlar; bakteriyemi, üriner enfeksiyonlar, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, kulak enfeksiyonları, solunum sistemi enfeksiyonları, göz enfeksiyonları, endokardit, kemik ve eklem enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ve gastrointestinal enfeksiyonlardır. *Pseudomonas* bakteriyemisinde ölüm oranı kanser teşhisi konulmuş hastalarda %33-%38 arasındadır. Kan damarları ve çevresi, üriner sistem, alt solunum yolu, yumuşak doku ve deri primer enfeksiyon bölgelerindendir (29).

2.2.2. *Pseudomonas* spp. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Pseudomonas cinsi bakteriler insanlarda solunum sistemi enfeksiyonları, gastrointestinal sistem enfeksiyonları, endokardit, bakteremi, üriner sistem enfeksiyonları kulak ve göz enfeksiyonları, kemik-eklem enfeksiyonları, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olmaktadır. *Pseudomonas* cinsi bakterilerin oluşturduğu enfeksiyonların tedavisi zordur. Çünkü enfeksiyonlar genel olarak hastane ortamında meydana gelir ve etken kökeni olanlar birçok antibiyotiğe direnç kazanmışlardır. Bu sebeple kullanılacak ilaç kesinlikle antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göz önüne alınarak belirlenmelidir. *Pseudomonas* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılacak etkili beta-laktam antibiyotikler piperasilin, seftazidim, sefepim, sefpirom, imipenem, meropenem ve aztreonamdır. Aminoglikozidler içinde gentamisine direnç en yüksek, amikasin ise en düşük orandadır ve tobramisin daha iyi intrensek aktivitesinin var olduğu bilinmektedir. Florokinolonlar arasında en etkili olanı siprofloksasindir (30).

P. aeruginosa'nın çoğu antibiyotiğe karşı doğal direnci var olduğu bilinmektedir. Bu çoklu dirençten sorumlu en mühim mekanizması aktif pompa sistemi ile antibiyotiğin dışarı atılması ve antibiyotiğe karşı bakteriyel dış membranda geçirgenlik azalması olarak belirtilmektedir. *P. aeruginosa*'da indüklenebilir kromozomal AmpC tipi beta-laktamaz enzimin varlığı bilinmektedir. Bu beta-laktamazlar penisilin ve sefalosporinlere karşı dirençte mühim bir rol oynamaktadır. MexABOprN pompa sisteminin aktivasyonu; florokinolonlar, penisilinler, sefalosporinler ve meropeneme direnç gelişmesine sebep olabilmektedir. MexCD-OprJ ve MexEF-OprM aktivasyonu ise aminoglikozitlere karşı direnç gelişimine sebep olabilmektedir. Florokinolon ve beta-laktamlara direnç gelişiminde permeabilite mutasyonları da mühim rol oynamaktadır. Mutasyona bağlı olarak permeabilite azalma, karbapenemlere direnç gelişiminde önemlidir. Burada OprD porin kaybı olmaktadır. OprD porini, karbapenemleri içeri alan fakat başka beta-laktamları içeri almayan bir özelliğe sahip olduğu bilinmektedir. OprD kaybı imipenem direncine ve meropeneme duyarlılık azalmasına yol açabilmektedir. MexEF-OprN aktivasyonu OprD porin kaybına sebep olur ve florokinolonlar bu pompa sistemini aktive edebilmektedir (31,32,33).

2.2.3. *Pseudomonas* spp. Enfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotikler

Pseudomonas spp. antistafilokokal penisilinler, sulbaktam-ampisilin, amoksisilin-klavulanat, I. ve II. kuşak sefalosporinlerin tamamı ile bazı III. kuşak sefalosporinlere (sefotaksim, seftriakson), trimetoprim-sulfametaksazol ve nalidiksik aside doğal olarak dirençlidir. Ayrıca izolatların çoğunda tetrasiklin, makrolidler, rifampin, kloramfenikol, sefiksim ve sefpodoksime karşı yüksek oranda direnç gelişimi gözlenir (34,35).

Pseudomonas spp. enfeksiyonlarında kullanılan antibiyotikler şunlardır: Piperasillin/Tazobaktam (100/10 µg), Sefaperazon/Sulbaktam (75/10µg), Kloramfenikol (30 µg), Tobramisin (10 µg), Trimetoprim / Sulfametaksazol (5/250 µg), Klindamisin (2 µg), Seftazidim (30 µg), Aztreonom (30 µg), Piperasillin (100 µg), Seftriakson (30 µg), Tetrasiklin (30 µg), Gentamisin (120 µg), Sefaperazon/Sulbaktam (75/10µg), Amikasin (30 µg), Netilmisin (30 µg), İmipenem (10 µg).

2.3. *Staphylococcus* Cinsi Bakteriler

Staphylococcus cinsi bakteriler *Micrococcaceae* familyasına ait olup çok önemli bir enfeksiyon etkenidir. *Micrococcaceae* familyası toplamda 4 cins içerir: *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Planococcus*, *Stomatococcus*. *Staphylococcus* cinsi bu ailenin klinik düzeyde en önemli enfeksiyon etmenidir. Enfeksiyon etkeni olarak insanlarda en çok görülebilen *Staphylococcus*'lar: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus saprophyticus*'dur. *Staphylococcus aureus* bu türlerin içerisinde günümüzde kullanılan antibiyotiklere karşı hızlı bir şekilde direnç kazanması ve bu nedenle geçmişe oranla meydana getirdiği enfeksiyonlara sık rastlanması nedeniyle insan enfeksiyonlarında öncelikli patojenler arasında yer alır (36,37).

2.3.1. *Staphylococcus* spp. Enfeksiyonları

Staphylococcus enfeksiyonları, sepsis, basit deri ve yumuşak deri enfeksiyonları gibi sert tablolara kadar gidebilen çok geniş bir spektruma sahiptirler. *Staphylococcus* cinsi içerisinde *Staphylococcus aureus* diğerlerinden daha önemli bir etkindir (38,39). *Staphylococcus aureus* sebep olduğu enfeksiyonlar Tablo 2'de gösterilmiştir.

Hastalık	Klinik görünüm
Yara enfeksiyonu	Travmatik ya da cerrahi kesilerin enfekte olmasıyla oluşur.
Septik artrit	Eklem bölgesinde pürülan materyal toplanması sonucunda oluşan ağrılı ve eritemli eklem enfeksiyonudur.
Osteomyelit	Uzun kemiklerin metafizinde kemik harabiyetiyle seyreden enfeksiyondur.
Pnömoni ve ampiyem	Akciğerlerde konsolidasyon ve abse oluşumuyla karakterizedir.
Bakteriyemi ve endokardit	Bakterinin enfeksiyon odağından kana yayılımı ile oluşur. Endokardit kalbin endotel tabakasının hasarıyla karakterizedir.
Haşlanmış deri sendromu	Eksfoliyatif toksin tarafından oluşturulur. Yenidoğanlarda yaygın epitelyum deskuamasyonu vardır. Deri döküntüleri lökosit ve mikroorganizma içermez.

Tablo 2: *Staphylococcus aureus*'un sebep olduğu bazı önemli enfeksiyonlar (40,41)

2.3.2. *Staphylococcus* spp. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Günümüzde *S. aureus*'larda metisilin, aminoglikozidler, makrolidler, florokinolonlar gibi bir çok sayıda antimikrobiyale karşı kazanılmış direnç görülebildiği için duyarlılık testlerinin yapılması önemli bir yer almakta ve gerekli olmaktadır. (42)

Penisilinin keşfi sonrasında ki yıllarda *S. aureus* izolatları penisiline duyarlıyken geçen süre içerisinde penisilin grubu antibiyotiklerin beta-laktam halkasını parçalayan enzim geni plazmid ile aktarıldığı için hızla yayılan beta-laktamaz (penisilinaz) üretimi sebebiyle *S. aureus* izolatlarının büyük bir çoğunluğu bugün penisiline dirençli olmaktadır. Diğer bir seçenek antimikrobiyal ajanlara karşı dirençli izolatların çoğalması bütün dünyada endişeye sebep olmaktadır.(42)

2.3.3. *Staphylococcus* spp. Enfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotikler

Antibiyotiklerin klinik kullanıma girmesinden önceki dönemde *Staphylococcus* spp. ölümcül enfeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir. Penisilinin klinik kullanıma girmesi ile bu enfeksiyonlar başarılı bir şekilde tedavi edilmeye başlanmışsa da penisilinaz üretimi sonucu penisilinler tedavide etkisiz hale gelmiştir. 1960'lı yıllarda klinik kullanıma giren oksasilin, naftilin, metisilin gibi penisilinaza dirençli penisilinler ile penisilinaz sorunu çözümlenmiş ise de kısa süre sonra metisiline dirençli kökenler ortaya çıkmış ve bu kökenlerin neden olduğu enfeksiyonlar giderek yaygınlaşmıştır (43).

2.4. *Proteus* Cinsi Bakteriler

Proteus cinsi bakteriler, gram negatif, 1-3 x 0,4-0.6 mikron ebatlarında, kokobasil görünümünde veya daha uzun, kapsülsüz ve sporsuz bakterilerdir. Suda, dışkıda ve toprakta kontamine olmuş materyallerde bulunurlar (44). *Proteus* cinsi bakteriler içerisinde farklı türler bulunur. Bunlar; *P. mirabilis*, *P. myxofaciens*, *P. penneri*, *P. vulgaris*. Bu türler arasında bazı farklar bulunabilir (Tablo 3).

Test	<i>P.mirabilis</i>	<i>P.penneri</i>	<i>P.myxofaciens</i>	<i>P.vulgaris</i>
İndol	-	-	-	+
Ornitin dekarboksilaz	+	-	-	-
Salisin	-	-	-	-
Maltoz	+	+	+	+
Kloramfenikol	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Duyarlı
Kloramfenikol	+	+	-	+

Tablo 3: *Proteus* türleri arasındaki bazı farklar (45) (+ :var, -: yok)

2.4.1. *Proteus* spp Enfeksiyonları

Enterobacter suşları hastane enfeksiyon faktörlerinin başında yer alır. Üriner sistem, akciğer ve cerrahi yaralar başta olmak üzere insanda çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır (46,47). İnsan bağırsağın normal florasında bulunan *Proteus*, lağım sularında sıklıkla bulunmaktadır. Uygun koşullar oluşursa insanda enfeksiyonlara neden olmaktadır. Sepsis, menenjit ve organ apselerinden izole edilebilirler. Çoğunlukla insanda diğer bakterilerle beraber enfeksiyonlara neden olmaktadır (48).

2.4.2. *Proteus* spp. Enfeksiyonlarında Kullanılan Antibiyotikler

Proteus'ların neden olduğu üriner sistem infeksiyonları tedavisi güç bakteriyemiye neden olabilir. Böyle hastalarda ölüm oranı %15-88 arasında değişmekle birlikte, bu oran predispozan faktörlere bağlı olarak değişmektedir (49). Bu bakteriler ayrıca; yara infeksiyonları, menenjit, organ apseleri, özellikle yenidoğanlarda göbek kordonu infeksiyonları ve bu infeksiyonlardan kaynaklanan epidemiler halinde görülebilen sepsis ve menenjitlere neden olabilmektedirler (50). *Proteus* bakterilerinin de dahil olduğu Enterobacteriaceae familyasında yer alan bakterilerde geniş spektrumlu β -laktamlar, florokinolonlar ve aminoglikozidler kapsayan çoğu antimikrobiyale direnç gelişimi önemli bir problemdir (51). *Proteus* spp. enfeksiyonlarında kullanılan antibiyotikler şunlardır; Amikasin, Amoksisilin klavulanik asit, Ampisilin, Cefazolin, Ceftriakson, Ciproflaksin, Gentamisin, Trimetoprim-sulfametoksazol.

2.5. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları ve Direnç Genleri

Antibiyotik kullanıma başlaması ile o antibiyotiğe karşı direnç gelişimi zamanla yayılarak artmaktadır. Kalıtsal olmayan bir direnç mekanizması olan doğal direnç, organizmanın özelliğinden gelen dirençliliklerdir. Direnç; antibiyotik yaygın olarak kullanımını takiben mikroorganizma ile temasıyla başlamakta, mikroorganizmada oluşan mutasyonlarla gelişmektedir (52). Antibiyotiklere karşı gelişen direnç mekanizmaları;

- 1) Ribozomal koruma
- 2) Enzimatik inaktivasyon
- 3) Eflüks Pompası
- 4) Kromozomal (ekstrak) direnç

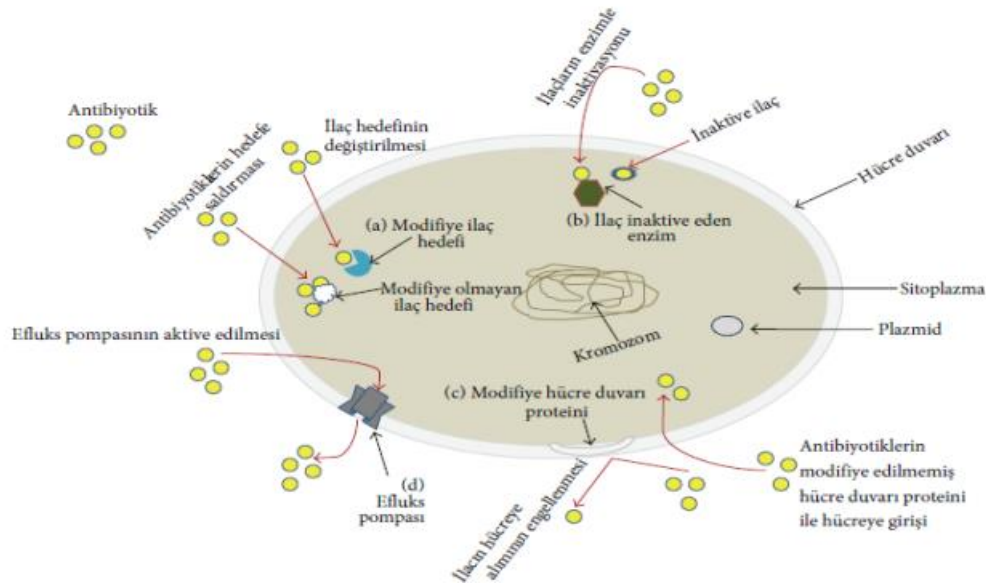
Ribozomal koruma proteinleri, antibiyotiklere karşı geliştirilmiş bir direnç tipidir. (Tetrasiklin antibiyotik gibi) Ribozomal koruma proteinleri; Tetrasiklin, Doksisiklin ve Minosiklin etkilerinden korunmaktadır (53,54). 11 farklı koruma proteini gram negatif bakterilerde bulunmaktadır. Ribozomal koruma proteinleri aminoasit sekanslarına göre sınıflandırıldığında;

Birinci grup Tet M, Tet O, Tet S, Tet W, Tet 32 ve Tet 36. İkinci grup Tet P, Otr A. Üçüncü grup olarak Tet Q and Tet T olarak sınıflandırılabilir (55,56).

Enzimatik inaktivasyon, bakterilerin bazıları antibiyotiklere karşı enzimatik direnç mekanizması geliştirmektedir. Enzimatik inaktivasyon mekanizması; grup transferi, enzimatik hidrolizasyon, yükseltgenme ve indirgenme tepkimeleriyle gerçekleşmektedir (57).

Eflüks pompası, doğal direnç mekanizmalarından bakterilerle karşılaşan en sık rastlanan mekanizmalar arasında olan birden fazla ilaca karşı aktif durumda direnç sağlamaktadır. Bu mekanizma, Tetrasiklin antibiyotığının ilgili bakteriyel dirençte en fazla karşılaşılan mekanizmasıdır (54,56).

Kromozomal direnç bakterilerde, kromozomal mutasyonlarla gerçekleşirler. Bu mutasyonlar, bakterilerin antibiyotik ile karşılaşması ve maruz kalması, çok veya tek aşamalı gibi farklı yollarla gerçekleşebilmektedir. (58,59)



Şekil 1: Bakteri hücrelerinde antibiyotik direnç mekanizmaları (60)

P. aeruginosa'daki antibiyotiklere karşı kullanılan mikrobiyal direnç; doğal direnç, adaptif direnç ve edinilmiş veya kazanılmış direnç şeklinde sınıflandırılabilir. *P. aeruginosa* için MDR; piperasilin-tazobaktam, seftazidim, florokinolonlar (siprofloksasin ve levofloksasin), aminoglikozidler (gentamisin, tobramisin) ve karbapenemler (imipenem ve meropenem) arasında üç veya daha çok antimikrobiyal grubun en az birine kombine direnç olarak tanımlanmaktadır (61).

P. aeruginosa'daki dışa atım pompaları temel olarak çoklu ilaç akış sistemleri olan dirençli nodülasyon bölümü (RND) ailesine aittirler. Çoğul ilaç akış sistemleri, dış zar kanalı, periplazmik iç zar taşıyıcıya ve adaptör proteini bölünmüştürler. Bu tür pompalar, *P. aeruginosa*'da proton bağımlı (temel olarak) antimikrobiyal ajanların ve diğer birden çok zararlı ajanın hücreden çıkarılması yoluyla hem adaptif hem de kazanılmış dirence katkıda bulunmaktadır. *P. aeruginosa*'da antibiyotik direncine katkıda bulunan klinik olarak dört RND dışa atım pompası tanımlanmış olup bunlar şu şekildedir; MexAB-Opr M, MexCD-Opr J, MexEF-Opr N ve MexXY-Opr M'dir. Bu dışa atım pompalarının aşırı ekspresyonu, beta-laktam, aminoglikozidler ve florokinolon direncindeki artışlarla ilişkilendirilmiştirlerdir (62,63,64).

S. aureus suşlarının birçoğu başta farklı beta laktam antibiyotikleri olmak üzere, aminoglikozitlere ve tetrasikline de dirençli olmaktadır. Beta laktam antibiyotikleri bakteri hücre duvarında bulunan penisilin bağlayıcı proteinleri (PBP) inhibe ederek etkilerini göstermektedirler. Metisiline dirençli ve duyarlı stafilokokların arasında önemli fark PBP'lerdedir. Metisilin direnci PBP 2 ya da 2a olarak söylenen proteinin varlığına bağlıdır. Bu protein duyarlı suşların tümünde bulunmamaktadır. Direncin sebebi olan 2a'yı kodlayan gen kromozomal DNA üzerinde 'mec' olarak ifade edilen bölgededir. PBP'lerde oluşan değişiklikle gelen metisilin direnci, beta laktamlara temel direncin ifadesidir. Bu nedenle metisiline dirençli stafilokoklarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde beta laktam antibiyotikler önerilmemektedir (65).

P. mirabilis'in en duyarlı olduğu antibiyotikler Amikasin, aztreonam, sefepim, seftazidim, seftriakson, meropenem ve beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar olarak ön plana çıkmaktadır. Doğal tetrasiklin direnci tetA, tetB ve tetC genleri tarafından kodlanan eflüks pompaları aracılığıyla meydana gelir (65). Polimiksin direnci ise, LPS'de meydana gelen modifikasyonlar ve proteaz aktivitesi nedeniyle oluşur. LPS tabakasının lipit A kısmındaki esterifiye fosfat grubunun yerini L-arabinoz-4-amin yapısının alması sonucunda, polimiksin B dış membrana bağlanamaz ve etkisiz hale gelir. Ayrıca, peptid yapıda olan antibiyotiğin ZapA gibi ekstraselüler proteazlar tarafından hidrolizasyonu da direnç gelişimini kolaylaştırır (66,67,68).

2.6. Actinobacteria Cinsleri

2.6.1. Actinomadura cinsi

Actinomadura cinsi, *Thermomonosporaceae* ailesi içerisinde mevcut Gram-pozitif *Actinocorallina*, *Spirillospora* ve *Thermomonospora* cinsleriyle birlikte dallanma gösteren hareketli olmayan türlerdir. *Actinomadura* cins üyeleri kimyasal, fizyolojik ve morfolojik özellikleriyle birlikte kullanılmasıyla birbirlerinden ayrılmakta ve 16S rRNA gen dizisine bağlı ayrı filetik yol oluşturmaktadır (69).

Yürürlükte ve güncel olarak tanımlanmış toplamda 118 tür ve 4 alttürü içermektedir. (URL-1) *Actinomadura* türleri, genel olarak bulundukları toprakta olasılıkla organik maddenin dönüşümünde rol oynamaktadır (70,71).

Actinomadura cinsinin genetiği ile ilgili yapılan çalışmalarda yaygın olarak cins üyeleri, *Thermomonosporaceae* ailesi için özgün olan 16S rRNA moleküllerini içermektedir (72).

2.6.2. Nonomuraea cinsi

Nonomuraea cinsi, *Streptosporangiaceae* familyasının üyesi olup, 1998 yılında Zhang vd. tarafından tanımlanmıştır (73,74,75). *Nonomuraea* cinsi üyeleri, Gram pozitif, aerobik, aşırı

dallanmış substrat ve hava miselyumuna sahip hareketsiz aktinbakterilerdir. 20-45 °C arası gelişim sıcaklıkları olup bazı suşlar 55 °C’de gelişim göstermektedir (76).

Nonomuraea cinsi üyelerinin çoğunun menşei topraktır. Bu ailenin üyelerinin topraktaki bitki materyallerinin ilk ayrışmasında rol aldığı muhtemeldir (77,78). Sekonder ve primer metabolitlerin sentezi açısından zengin olan *Streptosporangiaceae* familyasının üyeleri önemli bir enzim ve antibiyotik üreticisi olarak da değerlendirilmektedir. *N. roseoviolacea*, carminomicin (79), *N. pusilla*, actinotiocin (80), *N. spiralis*, pyralomicin (81) gibi antibiyotikleri sentezlemektedirler.

Yürürlükte ve güncel olarak tanımlanmış toplamda 73 türü ve 2 alt türü bulunmaktadır. (URL-2)

2.6.3. *Streptomyces* cinsi

Waksman ve Henrici tarafından 1943 yılında önerilen *Streptomyces* cinsinin tip türü *Streptomyces albus* ATCC 25426T’dir ve *Streptomyceaceae* familyasının tip cinsi olarak sunulmuştur. *Streptomyces* türlerinin birçoğu topraktan izole edilmelerine rağmen, bu cinsin üyeleri karasal ve sucul habitatlarda oldukça geniş dağılıma sahip olduğu düşünülmektedir (82,83). Günümüzde kullanılan antibiyotiklerin ticari ve tıbbi açıdan tarımsal bölgelerde çeşitli bileşiklerden elde edildiği bilinmektedir. Bu duruma ek olarak 1990 yılında keşfedilen ve tarımda kullanılan antibiyotiklerin yaklaşık %60 oranında bu cins tarafından sentezlenmektedir (84).

Güncel olarak tanımlanmış toplamda 1091 türü ve 69 alt türü bulunmaktadır. (URL-4)

2.6.4. *Rhodococcus* cinsi

Rhodococcus cinsi üyeleri, taksonomik olarak karmaşık ve uzun bir soy ağacına sahiptir (85,86). *Rhodococcus* cinsinin üyeleri serolojik ve kimyasal özelliklere göre iki gruba ayrılır, bu grup *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology* kitabının son baskısında ayrılmıştır (87). *Rhodococcus* cinsi üyeleri; katalaz-pozitif, aerobik, kısımca asitfast, büyüeyebilen (çubuk şeklinde); ancak geniş ölçüde dallanmış hiflere sahiptir. Seyrek hifleri veya dallanmış şekilde bazı suşlar üretebilmektedir (88).

Rhodococcus türleri, katabolik çok yönlülüğüne oldukça sahip organizmalardır. Bu nedenle ki ksenobiyotik ve organik bileşiği parçalayan enzimleri kodlayan gen dizilerine sahiptirler (89). *Rhodococcus rhodochrous* örneği gibi bazı türler akrilamid gibi ticari olarak kıymetli ürünleri sentezlediği tespit edilmiştir (90).

Güncel olarak tanımlanmış toplamda 79 türü bulunmaktadır. (URL-5)

2.6.5. *Actinobacteria*’ların Antimikrobiyal Potansiyelleri

Actinobacteria, tarımsal uygulama, tıbbi, endüstriyel ve biyoteknoloji alanında biyoaktif sekonder metabolit üreticisi olarak büyük değer sahibidirler (Tablo 4). Doğal oluşan antibiyotiklerin çoğunu *Actinobacteria* üyeleri tarafından üretilmektedir. 1940 yılında Waksman vd tarafından *Actinobacteria*’da ilk antibiyotik keşfedilmiş olup; bunlar *Streptomyces* kültüründen aktinomisin (91), 1942’de *Streptomyces lavendula*’dan

streptotrisin (92) ve 1944'te *Streptomyces griseus*'tan streptomisindir (93). *Streptomyces* özellikle klinik antibiyotik kaynağı olarak büyük ölçüde tüm aktinobakteriyel antibiyotiklerin %80'inden sorumludur (94)

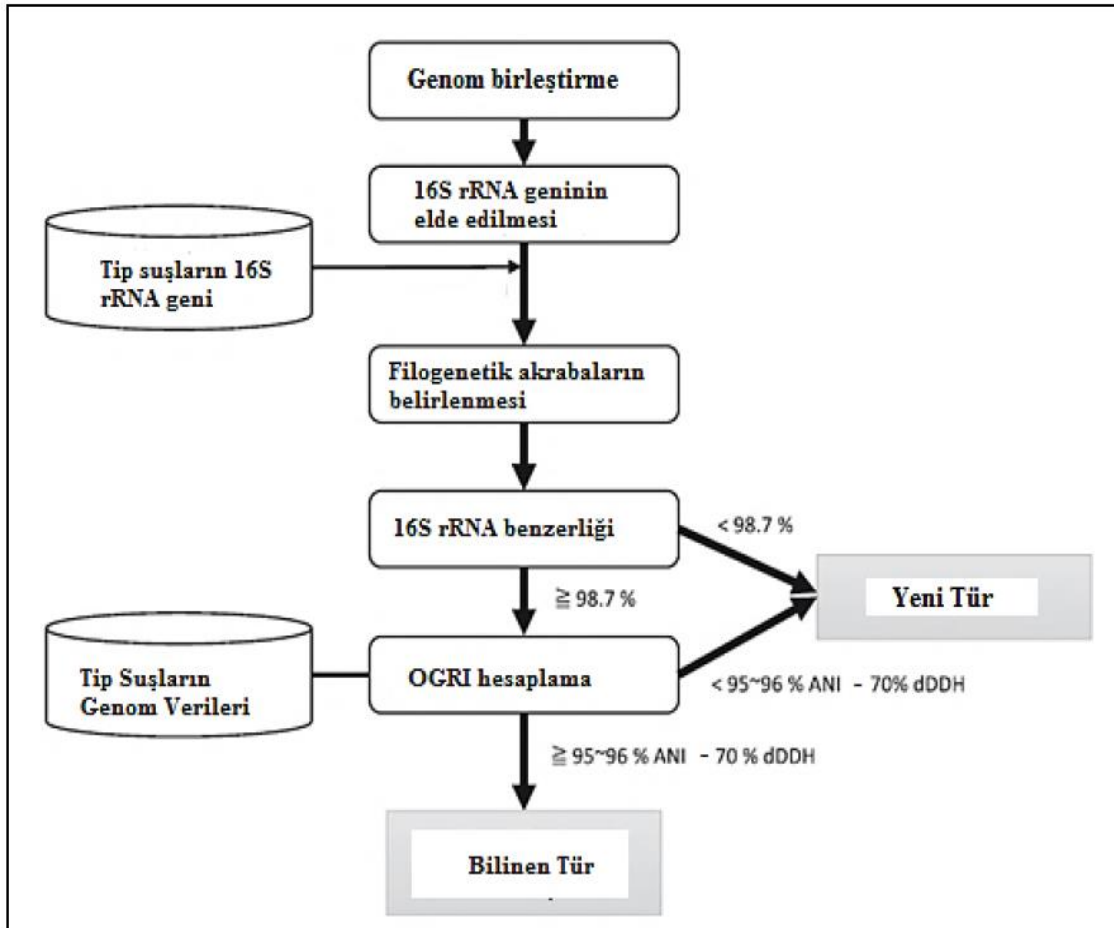
Bileşiğin tipi ve üretici tür Biyoaktif ajan		Bileşiğin tipi ve üretici tür Biyoaktif ajan	
Antibakteriyel ajan üreticileri		Antifungal ajan üreticileri	
<i>Verrucosipora</i> spp.	Abyssomycin	<i>Streptomyces nodosus</i>	Amphotericin B
<i>Streptomyces anulatus</i>	Actinomycins	<i>Streptomyces griseus</i>	Candididin
<i>Micromonospora</i> spp.	Anthracyclin	<i>Streptomyces violaceusniger</i>	YCED-9 Guanidylfungin
<i>Saccharopolyspora</i>	Erythromycin	<i>Streptomyces cacaoi</i>	Polyoxin B
<i>Erythraea</i>	Ilotycin	<i>Streptomyces canus</i>	Tetracenomycin
<i>Nocardia lurida</i>	Ristocetin	<i>Nocardia transvalensis</i>	Validamycin
<i>Amycolatopsis orientalis</i>	Vancomycin		

Tablo 4: *Actinobacteria* üyeleri tarafından üretilen bazı biyoaktif moleküllerin örnekleri ve etkinlikleri (95)

2.6.6.Tüm Genom Çalışmaları

Bir organizma genomundaki bütün DNA zincirlerinin dizilenmesi işlemine "tüm genom dizileme" adı verilir. Tüm genom dizilimi, bir organizmanın genetik varyasyonunun en kapsamlı koleksiyonunu sağlar. Dizileme teknolojisinin maliyetlerinin azalması ile birlikte, mikrodizi tabanlı genotipleme çalışmalarından tüm genom dizilimine doğru bir paradigma kayması öngörülmektedir (96).

Tüm genom sekans analizleri, taksonlar arasındaki ilişkinin belirlenmesine yardımcı olurken taksonların birbirinden ayırt edilmesi konusunda da genom tabanlı veriler sağlamaktadır. Son yıllarda tüm genom analizleri; dizileme teknolojisinin yaygınlaşması ile birlikte öncü pek çok komite tarafından prokaryot sistematığının olmazsa olmaz bir kriteri olarak kabul edilmiştir (97). Aktinobakteriyel türler arasında ilk kez 1998 yılında *M. tuberculosis* türünün genomu dizilenmiştir (98).



Şekil 2: Genom bazlı sınıflamanın tür düzeyinde iş akışı (97)

Ayrıca biyoteknolojik, ekolojik ve temel araştırmalarla ilgi alanlara yönlendirilmiş ve aktinobakterilerin ekolojik ve biyoteknolojik özelliklerinin belirlenmesi ve doğru şekilde sınıflandırılması için tasarlanmış bir çerçevenin geliştirilmesi zorunludur (99,100). Dizileme teknolojilerindeki hızlı ve gelişmeye devam eden ilerleme dikkate alındığında, tüm genom dizilerine ve ilgili biyoinformatik araçlara dayanan sınıflandırmalar milyonlarca karaktere dayanarak bu ihtiyaçlara cevap vermektedir (101)

2.5.Enfeksiyonlarda Kullanılan Antibiyotikler

Pasteur, Koch ve en önemlilerinde Paul Ehrlich'in, antibiyozise aydınlatan yayınlanmış çalışmaları bakteriyolojinin ilk yıllarında araştırmacıların, inhibe edici maddelerin organizmalar üzerindeki etkilerini gözlemledikleri anlaşılmaktadır. Özellikle Paul Ehrlich'in Konigliches Enstitüsü müdürü olarak enfeksiyon hastalıklarının tedavi etmek için yeni kimyasal ajanlar geliştirmeye odaklanan çalışmalarını vurgulamak gerekmektedir (102).

Karbapenemler, günümüzde imipenem ve meropenem kullanımda olan iki karbapenem türevi antibiyotiktir. Karbapenemler kimyasal, sentetik ya da yarı sentetik β -laktam türevi antibiyotikler olarak bilinmektedir. Penisilinlerden farklı olarak, C1 atomuna bir kükürt atomu buna da bir tiazolidin halkası bağlanmıştır. C2 ve C3 atomlarında doymamış bağların varlığı bilinmektedir. 6-transhidroksimetil grubunun varlığı çoğu β -laktamaz türüne karşı molekülün direncini sağlamaktadır. Karbapenemler, başta penisilin bağlayan protein (PBP) 2 olmak üzere PBP1A, PBP1B, PBP3, PBP4 ve PBP5'e bağlanarak hücre duvar sentezlerini engellediği bilinmektedir (103).

Sefalosporinler, *Cephalosporium* cinsi mantarlardan elde edildiği bilinen üç aktif fermentasyon ürününün biri olan sefalosporin-C türevi ilaçlar arasındadır. Birinci kuşak sefalosporinler Gram pozitif koklara karşı çok etkili olduğu bilinmektedir. İkinci kuşak sefalosporinler Gram negatif bakterilere, özellikle *Proteus* ve *Enterobacter* üzerine az daha fazla etkilidirler. Üçüncü kuşak sefalosporinler Enterobacter'lere ikinci kuşaktan az daha fazla etkili olduğu bilinir. Aminoglikozidler, *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinsi bakterilerden elde edilen doğal veya yarı sentetik bakterisidal etkili antibiyotiklerden olduğu bilinmektedir. Etkilerini mRNA'daki kodonların okunuşunu azaltarak ve tRNA antikodonlarındaki bilginin ribozomlarda doğru olmayan okunma ile proteinlerin doğru olmayan kodlanmasına yol açarak göstermektedirler. Be belirtilen etki sonrası bakteride protein sentezi tamamen durmaktadır. Protein sentezinin sonlanması için streptomisin ribozomun 30S alt birimine bağlanırken diğer aminoglikozidler hem 30S hem de 50S alt birimlerine bağlanmaktadır. Aminoglikozidler bakterilerin dış membranlarındaki porin kanallarından periplazmik aralığa difüzyonla girmektedir. Fakat bakteri sitoplazmik membranını geçişleri enerji ve oksijene bağımlı aktif transport mekanizması ile olmaktadır (105).

Tetrasiklinler, 1950'li yıllardan bu tarafa kullanılan tetrasiklinler çok geniş spektrumlu antibiyotiklerdendir. Tetrasiklinlerin antibakteriyel etkilerinin yanı sıra önemli antienflamatuvar aktivite gösterdikleri de bilinmektedir. Tetrasiklinlerin en yeni üyesi Tigesiklindir. Yeni semisentetik glisilsiklin olan bu antibiyotik çok önemli enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Gram pozitif, Gram negatif, anaerob ve atipik mikroorganizmalarla antibiyotik dirençli bakterilere etkili olduğu bilinmektedir. Diğer tetrasiklinlere eş antibakteriyel aktivitesine karşı tetrasikline dirençli organizmalara karşı

çok daha etkili olduğu bilinmektedir. Tigesiklin karmaşık deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, karmaşık intraabdominal enfeksiyonlar ve toplum kökenli pnömonilerde çoğu kez iyi tolere edilir, güvenli ve etkili olduğu belirtilmiştir (106)

Beta-laktam, antibiyotiklerini hidrolize edebilen ve inaktif hale getirebilen beta-laktamaz üretimi, başta Entero-bacteriaceae üyeleri olmak üzere çoğu bakteri türünün önemli direnç mekanizmalarından birisi olduğu bilinmektedir. Sayıları 350' ye kadar ulaşan beta-laktamazlardan yaklaşık olarak 150 tanesi genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (Extended Spectrum Beta Lactamases=ESBL) olabilir, plazmidik özellikleri nedeniyle bakteriler arasında aktarılabilir (107). Organizmaya dağılımları birinci ve ikinci kuşak sefalosporinlerden daha iyidir (104).



3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Materyal

3.1.1.Kullanılan Klinik İzolatlar

T.C. Sağlık Bakanlığı Bursa Ali Osman Sönmez Onkoloji Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na çeşitli servis ve polikliniklerden gelen numunelerden elde edilen mikroorganizmalardan çalışma için uygun olan *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp. ve *Proteus* spp. örnekleri kullanıldı.

3.1.2.İzolatların Toplanması

T.C. Sağlık Bakanlığı Bursa Ali Osman Sönmez Onkoloji Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na Ocak 2021-Haziran 2021 tarihleri arasında steril şartlarda alınan idrar kültürü, kan kültürü ve trakeal aspirat numuneleri çalışmaya dahil edildi. Bu numuneler öze yardımıyla biyogüvenlik kabin (Nüve) içerisinde hazır olarak tedarik edilen Mueller Hilton Agar (MHA) ortamına, seyreltme ekim yöntemi ile ekimi yapıldı. Aynı hastaya ait tekrarlanan numunelerden yalnızca bir tanesi çalışmaya dahil edildi.

3.1.3.İzolatların Tanımlanması

Ekimi yapılan numuneler, 36.5°C'de 24 saat etüvde (Nüve) bekletildikten sonra izolatların tanımlanması için *Pseudomonas* cinsi olduğu düşünülen bakteriler VITEK-2 (Biomerieux) cihazına uygun kartlar yerleştirilerek yüklendi. *Staphylococcus* ve *Proteus* cinsi olduğu düşünülen bakterilere ise API 10s (Biomerieux) stribi kullanılarak tanımlama işlemi gerçekleştirildi. Tanımlanan numuneler etiketlenip çalışmada kullanılmak üzere %30'luk gliserol stok içerisinde stoklandı.

3.1.4.İzolatların Stoklanması

Her izolat için numune bilgileri olan servis, poliklinik, tarih, yaş ve cinsiyet kaydedilip stok tüplerine inoküle edildi. Numuneler çalışma da kullanılmak üzere -20°C'de (Arçelik) stoklandı.



Şekil 3: Örneklerin Stoklanması

Stok Tüplerinin Hazırlanışı

2 ml steril BBL crystal tüplerine 1 ml %30 gliserol içeren ringer laktatlı stok tüpleri steril şekilde hazırlandı.

Stok canlandırma

-20°C’de (Arçelik) bulunan stoklar oda sıcaklığında çözündükten sonra çabuk bir şekilde hazır halde bulunan Mueller Hilton Agar (MHA) besi yerine seyreltme ekim yöntemi ile ekimi yapıp 24 saat boyunca 36.5°C’de etüve (Nüve) konulup inkübasyona bırakıldı.

3.1.5. *Actinobacteria* izolatları

Actinobacteria suşları Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı *Actinobacteria* kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

3.2. Mikrobiyolojik Yöntemler

3.2.1. Disk Difüzyon

Hazır olarak dökülmüş Mueller Hinton Agar (MHA) petrilere 0,5 McFarland bulanıklığı ayarlanmış suşların yayma plak yöntemi ile ekimi yapıldı. *Pseudomonas* klinik izolatları için Bioanalyse marka gentamisin, tigesiklin, amoksisilin klavulanik asit, ampisilin, ertapenem, sefepim, meronem ve seftazidim antibiyotik diskleri (Kirby Bauer yöntemi-Disk difüzyon) (108) çalışmaya dahil edildi. *Staphylococcus* klinik izolatları için Bioanalyse marka amoksisilin klavulanik asit, ampisilin, cefazolin, gentamisin, linezolid, teikoplanin, tetrasiklin ve vankomisin antibiyotik diskleri çalışmaya dahil edildi. Sonuçlar EUCAST duyarlılık sınır değer kriterleri göz önüne alınarak değerlendirildi.

3.2.2. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Difüzyon testleri, standart konsantrasyondaki bakteri agar yüzeyine yayma işlemi yapılır sonra antibiyotik emdirilmiş disk veya şeritler agarın üzerine yerleştirilerek 16-24 saat inkübe edilmektedir. Diskin veya şeridin etrafındaki inhibisyon çapı ölçülerek antimikrobiyal duyarlılık testleri (ADT) sonuçları değerlendirilmektedir (109).

Disk difüzyon yöntemi, ADT yönelik bilinen en eski yaklaşımlardan birisi olup rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında en yaygın olarak kullanılan ADT yöntemlerinden birisi olarak bilinmektedir. Maliyeti az ve uygulaması basit olan yöntem Kirby Bauer tarafından geliştirilmiş olup bu isimle de anılmaktadır. Zor üreyen bakteriler dahil olmak üzere bakteriyel patojenlerin birçoğunu test etmek için uygun olduğu için çok yönlü bir yöntem olarak bilinmektedir. Bu yöntemle genel olarak tüm antimikrobiyal ajanlar imkanları az olan laboratuvarlarda bile test edilebilir ve özel bir ekipman gerektirmemektedir. Tavsiyelere uygun olarak yapıldığında güvenilir bir yöntem olarak bilinir (110).

Tüm belgelerini ücretli bir şekilde karşı sunan Clinical Laboratory Standards Institute'nin (CLSI) belgeleri, ülkemizde çok uzun yıllar boyunca Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'nin bir çalışma grubu olan Antimikrobiyal Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu (ADTS) Çalışma Grubunca Türkçe'ye çevrilmişse de, çeviri için istenilen yüksek telif hakkı ücreti ve gerekli izinlerin alınması için süre gibi etmenler sebebiyle sorunlar oluşmuştur (111). Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) (EUCAST) aracılığıyla Avrupa minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) hudut değerlerinin dengeleştirilmesinin ardından komite, bu MİK hudut değerlerine göre kalibre edilmiş belirli bir değere göre bir disk difüzyon yönteminin geliştirilme sürecini başlattığı bilinmektedir. Başka disk difüzyon tekniklerinin birçoğunda olduğu gibi, EUCAST sistemi, Uluslararası Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Ortak Çalışması raporunda tanımlanan ilkelere ve tüm dünya çapındaki uzman grupların deneyimlerine dayanmaktadır (112).

EUCAST'ın bütün belgeleri web sitesinde özgür erişime açması, sınır değer tablolarını yılda bir sefer yenilemesi, değişiklik olan bölümlerin çok basit bir şekilde belirlenebilmesi gibi yararları sayesinde geçtiğimiz yıllar içerisinde çoğu Avrupa ülkesi CLSI'yı terk edip, EUCAST standartlarını benimsemektedir. Uluslararası düzeyde sürveyans çalışmalarında bütün katılımcılar tarafından aynı yöntemin kullanılması gerekliliği nedeniyle, CLSI'yı benimseyen Türkiye, Avrupa merkezli çalışmalara veri oluşturmakta zorlanır hale gelmiştir. CLSI'ya göre üstünlükleri ve Türkiye'nin yakın çevresi ile ortak çalışmalar yapabilmesi bir gereksinim haline gelmesi nedeniyle 2013 yılında Türkiye'de EUCAST standartlarının kullanılması kararı alınmıştır. EUCAST ve CLSI arasında; test edilen bakteriler, test koşulları, antibiyotik disk içerikleri, sınır değerler, sonuçların değerlendirilmesi ve kalite kontrol kökenlerinde bazı farklılıklar belirtilmiştir (113,114)

3.2.3. *Actinobacteria* Antimikrobiyal Aktivite Testleri

Antimikrobiyal aktivite testleri için Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi 'den edinilen 6 adet *Actinobacteria* suşu çalışmaya dahil edildi. Bunlar: *Nonomuraea zeae* DSM 100528^T,

Streptomyces YC537, *Rhodococcus* sp 14C212, *Rhodococcus aetherivorans* 10bc312^T, *Actinomadura geliboluensis* A8036^T, ve *Actinomadura soli* 14C53^T suşlarıdır. Bu suşların Nutrient Agar dökülmüş petrilere nokta ekim yöntemi ile ekimi yapıldı. Suşların gelişimi için petriler 28.5°C’de etüve (Nüve) konulup inkübasyona bırakıldı. Gelişen koloniler üzerine kolonileri örtecek şekilde kloroform dökülmüş ve kloroformun buharlaşması için petri plaklarının kapağı 35 dakika boyunca yarı açık bir şekilde tutulmuştur. Bu şekilde ölümü gerçekleşen numuneler üzerine MHA ortamında geliştirilen patojen organizmalar yayma plak yöntemi ile ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan plaklar 36.5 °C de 48 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon saati dolduktan sonra koloniler etrafında oluşan zon çapları ölçülmüştür.



Şekil 4: *Actinobacteria*’lar için hazırlanmış etüv (Nüve-EN 400)

Nutrient Agar hazırlanışı

Besi yeri hazırlanması için 1 litre distile suya hazır olarak edinilmiş nutrient agar hassas terazide 20 gram ölçülüp toz şeklinde ilave edilmiştir. Pamuk ve alüminyum folyo ile kapatılmış otoklavlanabilir çam şişe ile otoklavlanmıştır. Soğutulan besi yeri 90 mm çapındaki petrilere (Isolab) yaklaşık 18 ml -20 ml ve kalınlığı 3 mm olacak şekilde döküldü. Bu işlem aseptik koşullarda bek alevi eşliğinde steril kabin içerisinde yapıldı ve oda sıcaklığında donmaları için bekletildi.

3.3.Moleküler Yöntemler

3.3.1.Tüm Genom Verilerinin Analizi

Organizmaların tüm genom sekans dizileri genbanklardan temin edildi. Temin edilen suşların NCBI kodları şu şekildedir:

1-*Nonmuraea zae* DSM100528^T: VCKX000000000

2-*Streptomyces boluensis* YC537^T: JAAAH0000000000

3-*Rhodococcus* sp. 14C212: JAALEH0000000000

4-*Rhodococcus aetherivorans* DSM 44752^T: JAALEG0000000000

5-*Actinomadura geliboluensis* A8036^T: VCKZ000000000

6-*Actinomadura soli* 14C53^T: VCKW000000000

Suşların sentezlemiş oldukları biyosentetik gen kümeleri antiSMASH bacterial version uygulamasında (URL 6) (115) belirlenmiştir. Bu veriler antimikrobiyal aktivite test sonuçlarıyla karşılaştırmak için kullanıldı.

4.BULGULAR

4.1.Toplanacak Numunelerin Belirlenmesi

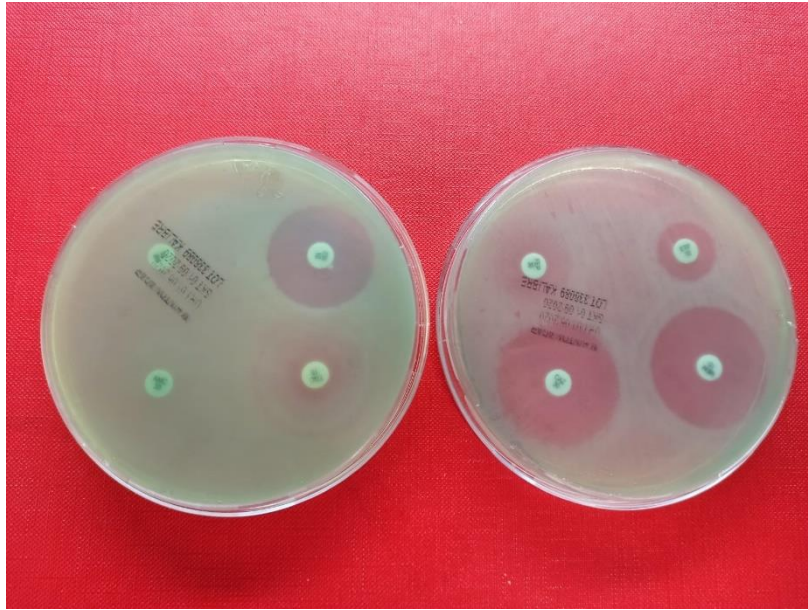
T.C. Sağlık Bakanlığı Bursa Ali Osman Sönmez Onkoloji Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda son yıllarda sıkça rastlanan bakteri türleri kullanılarak çalışmaya devam edildi.

4.2.İzolatların Tanımlanması

T.C. Sağlık Bakanlığı Bursa Ali Osman Sönmez Onkoloji Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na Ocak 2021-Haziran 2021 tarihleri arasında steril şartlarda alınan idrar kültürü, kan kültürü ve trakeal aspirat numuneleri Müller Hilton Agar (MHA), biyogüvenlik (NÜVE) kabin içerisinde seyreltme ekim yöntemi ile ekimi yapıldı. Bu numuneler 24 saat boyunca 36.5°C'de etüve (NÜVE) bekletildikten sonra üreyen bakteriler değerlendirildi. Şüphelenilen durumlarda gram boyama, oksidaz ve katalaz testleri yapıldı. Yapılan testlerden sonra *Pseudomonas* ve *Staphylococcus* olduğu düşünülen koloniler *Pseudomonas* için VİTEK-2 uygun kartlar yerleştirilerek, *Staphylococcus* ve *Proteus* içinse API 10S değerlendirmesi yapılmıştır.

4.3.Disk Difüzyon Sonuçları

Çalışmada bulunan suşlar, Müller Hilton Agar (MHA)'lı petrilere yayma plak yöntemi ile ekildi. Belirtilen suşlar ve uygulanacak antibiyotikler Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi uygun şekilde petrilere yerleştirildi. Petriler 36.5°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Zon çapları otomatik zon ölçer ile ölçüldü. Sonuçlar EUCAST verilerine göre değerlendirildi. Ölçüm yapılacak veriler Tablo 4'de verilen değerlere göre değerlendirildi. Şekil 4'de örnek verilen *Pseudomonas* spp MHA besiyeri üzerinde olduğu gibi uygulandı.



Şekil 5: *Pseudomonas* disk difüzyon zon çapları

4.4.İzolatların Direnç Profilleri

Yapılan disk difüzyon sonuçları Tablo 6, Tablo 7, Tablo 8, Tablo 9, Tablo 10 ve Tablo 11’de verilmiştir. Tablolarda verilen antibiyotiklerin kısaltmaları şu şekildedir: Gentamisin (CN), Tigesiklin (TGC), , Amoksisilin Klavulanik Asit (AMC), Ampisilin (AM), Ertapenem (ETP), Sefepim (FEB), Meronem (MEM), Seftazidim (CAZ), Sefazolin (CZ), Linezolid (LNZ), Tetrasiklin (TE), Vankomisin (VA), Teikoplanin (TEI), Siprofloksasin (CIP) ve Amikasin (AK).

Antibiyotikler	R(mm)	S(mm)
Gentamisin	≤14	≥17
Tigesiklin	≤15	≥18
Amoksisillin Clavulanik Asit	≤19	≥19
Ampisilin	≤14	≥14
Ertapenem	≤16	≥22
Sefepim	≤24	≥26
Meronem	≤18	≥24
Cefazolin	≤17	≥17
Linezolid	≤19	≥19
Seftazidim	≤17	≥17
Teikoplanin	≤12	≥12
Tetrasiklin	≤19	≥22
Vankomisin	≤12	≥12
Siprofloksasin	≤22	≥22

Tablo 5: Disk Difüzyon Sınır Değerleri (EUCAST)

Örnekler	CN	TGC	AMC	AM	ETP	FEB	MEM	CAZ
Pi01	18	14	0	0	17	10	25	20
Pi02	21	18	0	0	28	21	27	24
Pi03	19	9	0	0	12	10	24	22
Pi04	19	10	0	0	0	9	26	27
Pi05	16	20	0	0	18	17	22	20
Pi06	18	8	0	0	9	0	21	0
Pi07	18	14	0	0	14	14	32	34
Pi08	20	15	0	0	21	0	32	28
Pi09	19	15	0	0	25	14	23	25
Pi10	19	15	0	0	21	0	26	22
Pi11	20	22	0	0	15	14	20	19
Pi12	22	15	0	0	9	13	27	28
Pi13	18	20	0	0	16	18	27	22
Pi14	21	12	0	0	9	11	25	20
Pi15	18	9	0	0	10	11	24	22
Pi16	29	24	7	10	30	29	40	31
Pi17	18	19	0	0	9	10	27	18
Pi18	20	20	0	0	9	0	19	17
Pi19	19	12	0	0	0	12	24	21
PK20	12	13	0	0	0	0	16	17
Pi21	7	12	0	0	0	0	7	17
PT22	22	24	0	0	0	0	22	14
Pi23	19	15	0	0	19	0	33	19
PT24	27	15	0	0	0	0	10	22
Pi25	27	15	0	0	0	12	9	23

Tablo 6: *Pseudomonas* spp. disk difüzyon ölçüm sonuçları (P.:*Pseudomonas*, K.: Kan Kültüründen izole edilen, İ.:İdrar kültüründen izole edilen, T.: Trakeal aspirattan izole edilen)

Örnekler	CN	TGC	AMC	AM	ETP	FEB	MEM	CAZ
Pİ26	9	11	0	0	0	0	0	5
PK27	15	12	0	0	0	8	9	12
PT28	16	8	0	0	0	0	0	12
PK29	0	13	0	0	0	0	0	15
Pİ30	15	12	0	0	20	18	22	17
Pİ31	0	11	0	0	11	0	19	0
PT32	0	12	0	0	13	0	14	0
PK33	20	20	0	0	16	0	28	21
PT34	19	11	0	0	19	4	30	32
Pİ35	18	10	0	0	17	11	20	8
Pİ36	27	15	5	10	18	10	20	7
Pİ37	14	18	0	0	10	12	18	20
Pİ38	10	12	0	0	15	12	17	16
Pİ39	18	14	0	0	15	10	24	19
PT40	20	17	0	0	24	20	24	27
Pİ41	17	15	0	0	15	12	30	32
Pİ42	21	14	0	0	20	0	30	24
PK43	19	21	0	0	14	12	25	20
PT44	20	13	0	0	0	9	11	25
PK45	5	13	0	0	0	0	5	15
PK46	20	21	0	0	0	0	20	12
Pİ47	18	14	0	0	12	0	30	15
Pİ48	21	15	0	0	0	0	0	20
PK49	0	12	0	0	0	0	0	12
Pİ50	10	12	0	0	20	15	20	17

Tablo 6 (devam)

Örnekler	CN	TGC	AMC	AM	ETP	FEB	MEM	CAZ
PK51	18	14	0	0	14	14	20	24
PK52	15	0	0	0	0	20	32	28
PK53	20	14	0	0	0	9	13	15
PK54	22	15	0	0	0	20	27	17
Pİ55	18	12	0	0	9	18	12	20
PK56	20	18	0	0	0	20	25	18
PK57	29	8	0	0	0	0	20	14

Tablo 6 (devam)

Örnekler	AM	AMC	CZ	LNZ	TE	VA	TEI	CN
Si01	18	20	21	20	9	22	18	20
Si02	11	10	23	22	16	20	22	12
Si03	19	12	10	25	20	18	21	21
Si04	10	14	8	20	18	20	23	22
Si05	5	10	20	28	19	25	18	19
Si06	25	19	25	20	5	18	20	13
Si07	9	10	5	22	22	20	17	18
Si8	8	5	19	23	25	21	19	22
Si09	9	6	9	25	8	20	25	23
Si10	18	17	10	23	21	15	20	25
Si11	19	19	20	21	7	18	25	25
Si12	10	12	23	22	18	19	22	10
Si13	20	22	12	25	19	25	21	29
Si14	5	9	10	22	22	15	20	11
Si15	10	12	11	25	9	16	22	24
Si16	19	20	13	28	8	15	22	21
Si17	10	11	11	33	25	25	19	19
Si18	5	7	20	25	22	22	22	22
Si19	5	8	24	33	5	15	25	18
Si20	20	24	10	25	19	20	17	22
Si21	0	5	11	20	17	22	18	29
Si22	0	6	20	18	19	28	22	22
Si23	5	7	11	20	8	15	19	23
Si24	0	19	22	21	23	18	20	8
Si25	18	21	10	22	22	20	18	22

Tablo 7: *Staphylococcus* spp disk difüzyon ölçüm sonuçları (S.: *Staphylococcus*, İ.: İdrar kültüründen izole edilen)

Örnekler	AM	AMC	CZ	LNZ	TE	VA	TEI	CN
Si26	27	20	24	11	18	26	18	20
Si27	20	24	11	18	26	18	20	10
Si28	10	13	21	22	22	15	22	22
Si29	12	19	10	22	19	20	22	11
Si30	21	12	5	28	17	25	19	19
Si31	22	24	13	25	18	15	25	18
Si32	12	19	19	22	9	20	17	29
Si33	11	10	22	21	22	21	18	22
Si34	10	11	25	20	19	28	22	23
Si35	25	22	10	25	19	16	19	21
Si36	5	8	11	28	18	18	20	22
Si37	18	20	9	22	22	20	18	20
Si38	5	22	22	25	29	24	27	19
Si39	7	10	8	24	5	15	22	25
Si40	8	19	9	26	22	16	22	10
Si41	8	20	5	27	27	15	20	22
Si42	10	11	24	22	24	25	18	19
Si43	18	22	10	20	22	27	22	9
Si44	7	8	11	21	20	15	25	18
Si45	5	9	19	19	19	20	17	22
Si46	11	10	10	21	22	22	18	22
Si47	10	22	20	22	17	21	17	21
Si48	8	5	9	25	17	20	19	19
Si49	5	6	22	22	19	20	17	19
Si50	9	22	5	21	22	16	19	8

Tablo 7 (devam)

Örnekler	AK	AMC	AM	CZ	CN	CIP
Prİ01	10	14	12	10	13	14
Prİ02	9	10	11	18	18	22
Prİ03	12	8	11	12	12	21
Prİ04	15	9	7	17	19	13
Prİ05	18	15	12	14	10	12

Tablo 8: *Proteus* spp. disk difüzyon ölçüm sonuçları(Pr: *Proteus* spp, İ:İdrar kültüründen izole edilen)

Bu değerlendirme sonuçlarına göre *Pseudomonas* spp. için antibiyotik disk difüzyon sonuçları yüzdelik olarak direnç oranları Tablo-9 de verilmiştir.

Antibiyotik	CN	TGC	AMC	AM	ETP	FEB	MEM	CAZ
<i>Pseudomonas</i> spp.	17.5	75.5	100	100	93	98.25	54.5	30

Tablo 9: *Pseudomonas* spp. için direnç olan izolatların oranı (%)

Staphylococcus spp. için disk difüzyon sonuçları yüzdelik olarak direnç oranları verileri Tablo-10 da verilmiştir.

Antibiyotik	AM	AMC	CZ	LNZ	TE	VA	TEI	CN
<i>Staphylococcus</i> spp.	70	60	60	6	64	0	0	22

Tablo 10: *Staphylococcus* spp. için direnç olan izolatların oranı (%)

Proteus spp. için disk difüzyon sonuçları yüzdelik olarak direnç oranları verileri tablo-11 da verilmiştir.

Antibiyotik	AK	AMC	AM	CZ	CN	CIP
<i>Proteus</i> spp.	80	100	100	80	60	80

Tablo 11: *Proteus* spp. için direnç olan izolatların oranı (%)

4.5. Actinobacteria İzolatlarında Antimikrobiyal Aktivite Testleri Sonuçları

Aşağıda tablolarda *Actinobacteria* antimikrobiyal aktivite testleri için *Actinobacteria* 'lara verilen numaralar şu şekildedir:

- 1: *Nonomuraea zeae* DSM 100528^T
- 2: *Streptomyces boluensis* YC537^T
- 3: *Rhodococcus* sp 14C212
- 4: *Rhodococcus aetherivorans* 10bc312^T
- 5: *Actinomadura geliboluensis* A8036^T
- 6: *Actinomadura soli* 14C53^T

Örnekler	1	2	3	4	5	6
Pi01	0	0	0	0	15	0
Pi02	0	0	0	0	17	0
Pi03	0	0	0	0	18	0
Pi04	0	0	0	0	13	0
Pi05	0	0	0	0	10	0
Pi06	0	0	0	0	12	0
Pi07	0	0	0	0	10	0
Pi08	0	0	0	0	20	0
Pi09	0	0	0	0	8	0
Pi10	0	0	0	0	17	0
Pi11	0	0	0	0	11	0
Pi12	0	0	0	0	10	0
Pi13	0	0	0	0	12	0
Pi14	0	0	0	0	10	0
Pi15	0	0	0	0	12	0
Pi16	0	0	0	0	11	0
Pi17	0	0	0	0	10	0
Pi18	0	0	0	0	12	0
Pi19	0	0	0	0	17	0
PK20	0	0	0	0	0	0
Pi21	0	0	0	0	12	0
PT22	0	0	0	0	0	0
Pi23	0	0	0	0	10	0
PT24	0	0	0	0	0	0
Pi25	0	0	0	0	10	0

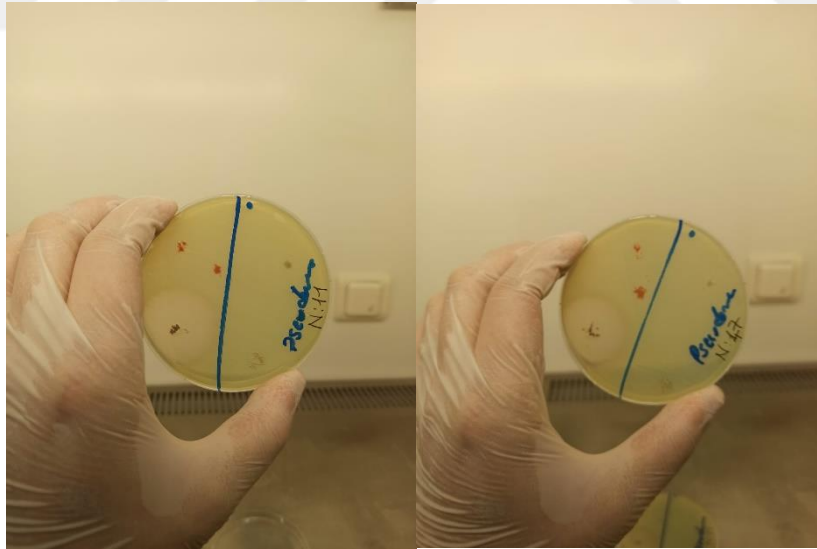
Tablo 12: *Pseudomonas* spp, *Actinobacteria* antimikrobiyal aktivite testleri(P:*Pseudomonas* spp., İ: İdrar kültürü, T:Trakeal aspirat, K: Kan kültüründen izole edilen)

Örnekler	1	2	3	4	5	6
PI26	0	0	0	0	11	0
PK27	0	0	0	0	0	0
PT28	0	0	0	0	0	0
PK29	0	0	0	0	0	0
PI30	0	0	0	0	20	0
PI31	0	0	0	0	10	0
PT32	0	0	0	0	0	0
PK33	0	0	0	0	0	0
PT34	0	0	0	0	0	0
PI35	0	0	0	0	16	0
PI36	0	0	0	0	10	0
PI37	0	0	0	0	0	0
PI38	0	0	0	0	10	0
PI39	0	0	0	0	16	0
PT40	0	0	0	0	0	0
PI41	0	0	0	0	10	0
PI42	0	0	0	0	18	0
PK43	0	0	0	0	0	0
PT44	0	0	0	0	0	0
PK45	0	0	0	0	0	0
PK46	0	0	0	0	0	0
PI47	0	0	0	0	10	0
PI48	0	0	0	0	10	0
PK49	0	0	0	0	0	0
PI50	0	0	0	0	12	0

Tablo 12 (devam)

Örnekler	1	2	3	4	5	6
PK51	0	0	0	0	0	0
PK52	0	0	0	0	0	0
PK53	0	0	0	0	0	0
PK54	0	0	0	0	0	0
PK55	0	0	0	0	12	0
PK56	0	0	0	0	0	0
PK57	0	0	0	0	0	0

Tablo 12 (devamı)



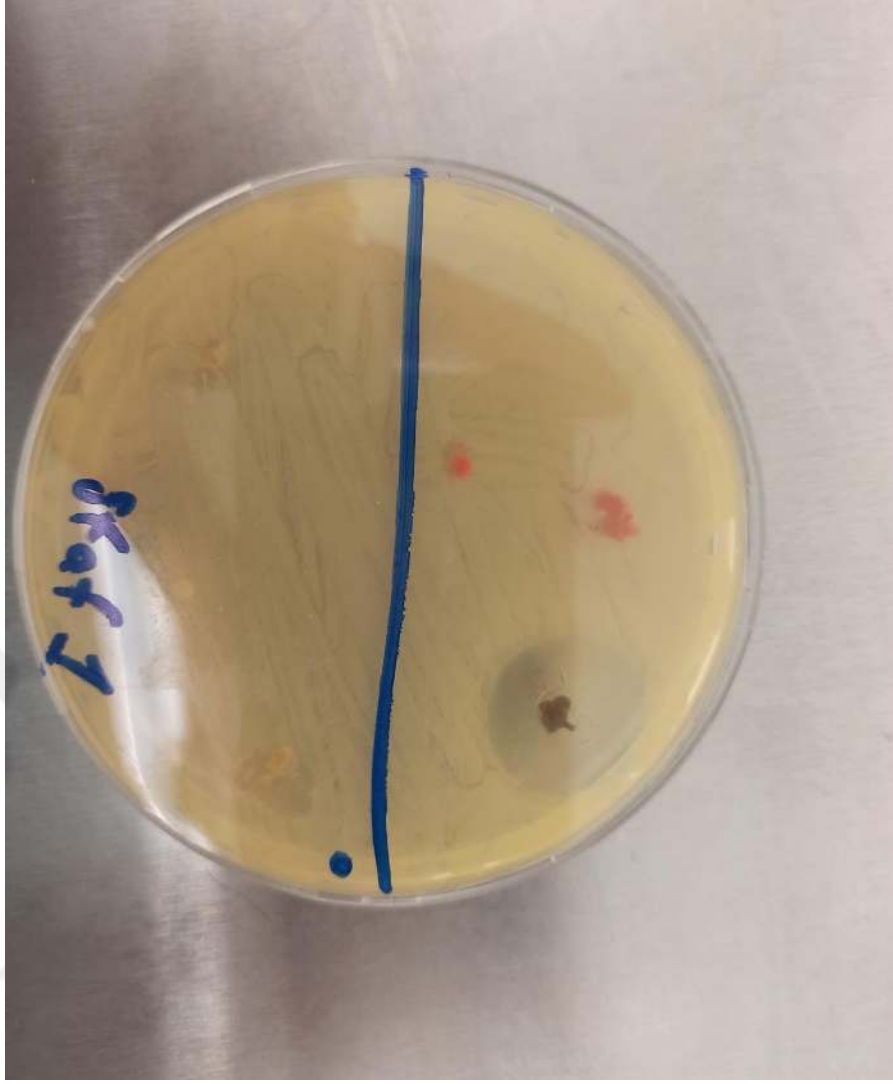
Şekil 6: *Pseudomonas* spp. için *Actinobacteria* antimikrobiyal aktivite testi örneği

Örnekler	1	2	3	4	5	6
Si01	5	0	0	0	0	0
Si02	7	0	0	0	0	0
Si03	5	0	0	0	0	0
Si04	6	0	0	0	0	0
Si05	0	0	0	0	0	0
Si06	0	0	0	0	0	0
Si07	5	0	0	0	0	0
Si08	0	0	0	0	0	0
Si09	0	0	0	0	0	0
Si10	5	0	0	0	0	0
Si11	7	0	0	0	0	0
Si12	6	0	0	0	0	0
Si13	0	0	0	0	0	0
Si14	6	0	0	0	0	0
Si15	6	0	0	0	0	0
Si16	7	0	0	0	0	0
Si17	5	0	0	0	0	0
Si18	7	0	0	0	0	0
Si19	6	0	0	0	0	0
Si20	0	0	0	0	0	0
Si21	0	0	0	0	0	0
Si22	0	0	0	0	0	0
Si23	7	0	0	0	0	0
Si24	0	0	0	0	0	0
Si25	5	0	0	0	0	0

Tablo 13: *Staphylococcus* spp, *Actinobacteria* antimikrobiyal aktivite testleri

Örnekler	1	2	3	4	5	6
Si26	0	0	0	0	0	0
Si27	0	0	0	0	0	0
Si28	7	0	0	0	0	0
Si29	0	0	0	0	0	0
Si30	0	0	0	0	0	0
Si31	0	0	0	0	0	0
Si32	7	0	0	0	0	0
Si33	5	0	0	0	0	0
Si34	6	0	0	0	0	0
Si35	0	0	0	0	0	0
Si36	0	0	0	0	0	0
Si37	0	0	0	0	0	0
Si38	5	0	0	0	0	0
Si39	5	0	0	0	0	0
Si40	0	0	0	0	0	0
Si41	0	0	0	0	0	0
Si42	0	0	0	0	0	0
Si43	7	0	0	0	0	0
Si44	5	0	0	0	0	0
Si45	0	0	0	0	0	0
Si46	0	0	0	0	0	0
Si47	0	0	0	0	0	0
Si48	0	0	0	0	0	0
Si49	5	0	0	0	0	0
Si50	0	0	0	0	0	0

Tablo 13 (devamı)



Şekil 7: *Staphylococcus* spp. için *Actinobacteria* antimikrobiyal aktivite testi örneği

Örnekler	1	2	3	4	5	6
Prİ1	0	0	0	0	0	0
Prİ2	0	0	0	0	0	0
Prİ3	0	0	0	0	0	0
Prİ4	0	0	0	0	0	0
Prİ5	0	0	0	0	0	0

Tablo 14: *Proteus* spp. için *Actinobacteria* antimikrobiyal aktivite testleri (Pr.: *Proteus*, İ.: İdrar kültüründen izole edilen)

Aşağıda verilen veriler numunelerin nereden izole edildiğini, kaç tane izole edildiğini ve actinobacteria antimikrobiyal aktive testinden sonuç veren izolatlar % oransal olarak verilmiştir.

<i>PSEUDOMONAS</i> spp.	KAÇ ADET NUMUNE	<i>ACTINOBACTERIA</i> ANTİMİKROBİYAL ZON ÇAPI ÖLÇÜLEN İZOLAT ORANI (%)
İDRAR	36	97
KAN KÜLTÜRÜ	15	0
TRAKEAL ASPİRAT	6	0

<i>STAPHYLOCOCCUS</i> spp.	KAÇ ADET NUMUNE	<i>ACTINOBACTERIA</i> ANTİMİKROBİYAL ZON ÇAPI ÖLÇÜLEN İZOLAT ORANI (%)
İDRAR	50	50

4.6 Actinobacteria Suşlarının Tüm Genom Analizleri

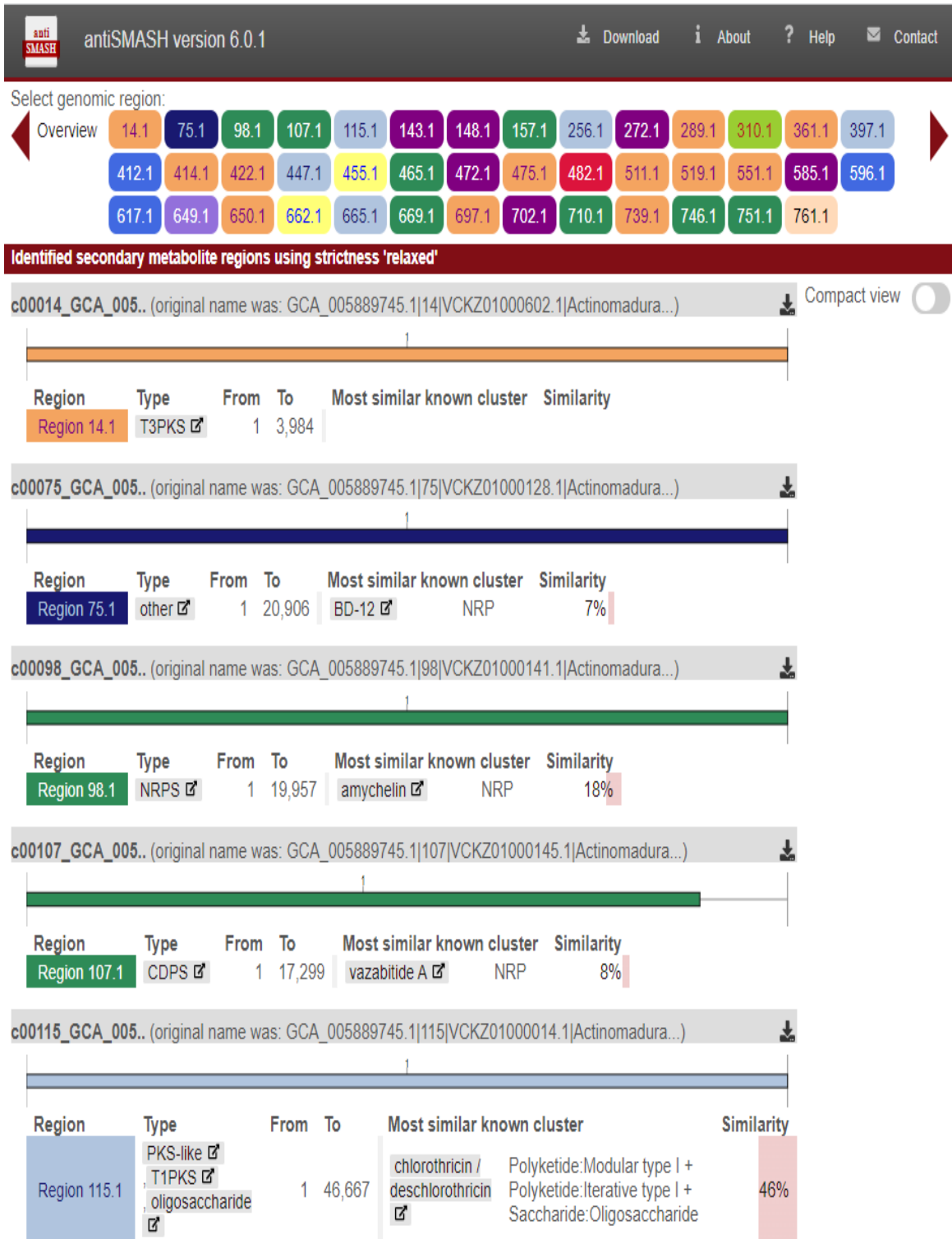
Actinobacteria suşlarının antiSMASH bacterial version uygulamasında (115) yapılan tüm genoma dayalı biyosentetik gen kümesi tarama çalışmalarında bu suşlara ait biyosentetik gen kümeleri belirlendi. Patojen test suşlarına karşı antimikrobiyal etkinlik göstermeyen *Streptomyces* YC537, *Rhodococcus* sp 14C212, *Rhodococcus aetherivorans* 10bc312^T ve *Actinomadura soli* 14C53^T suşlarının ambrutisin, kanamisin, maklamisin, nistatin, flavidin, stenotrisin, atratumisin, metilenomisin gibi antimikrobiyal aktivite sahip metabolitleri sentezleyen gen bölgelerine sahip oldukları tespit edildi.

Pseudomonas spp. suşlarında antimikrobiyal etkinlik gösteren *Actinomadura geliboluensis* A8036^T türünün antiSMASH bacterial version uygulamasında yapılan incelemesinde 41 sekonder metabolit gen kümesinde vazabtid A, clorotrisin, fengisin, zorbamisin,

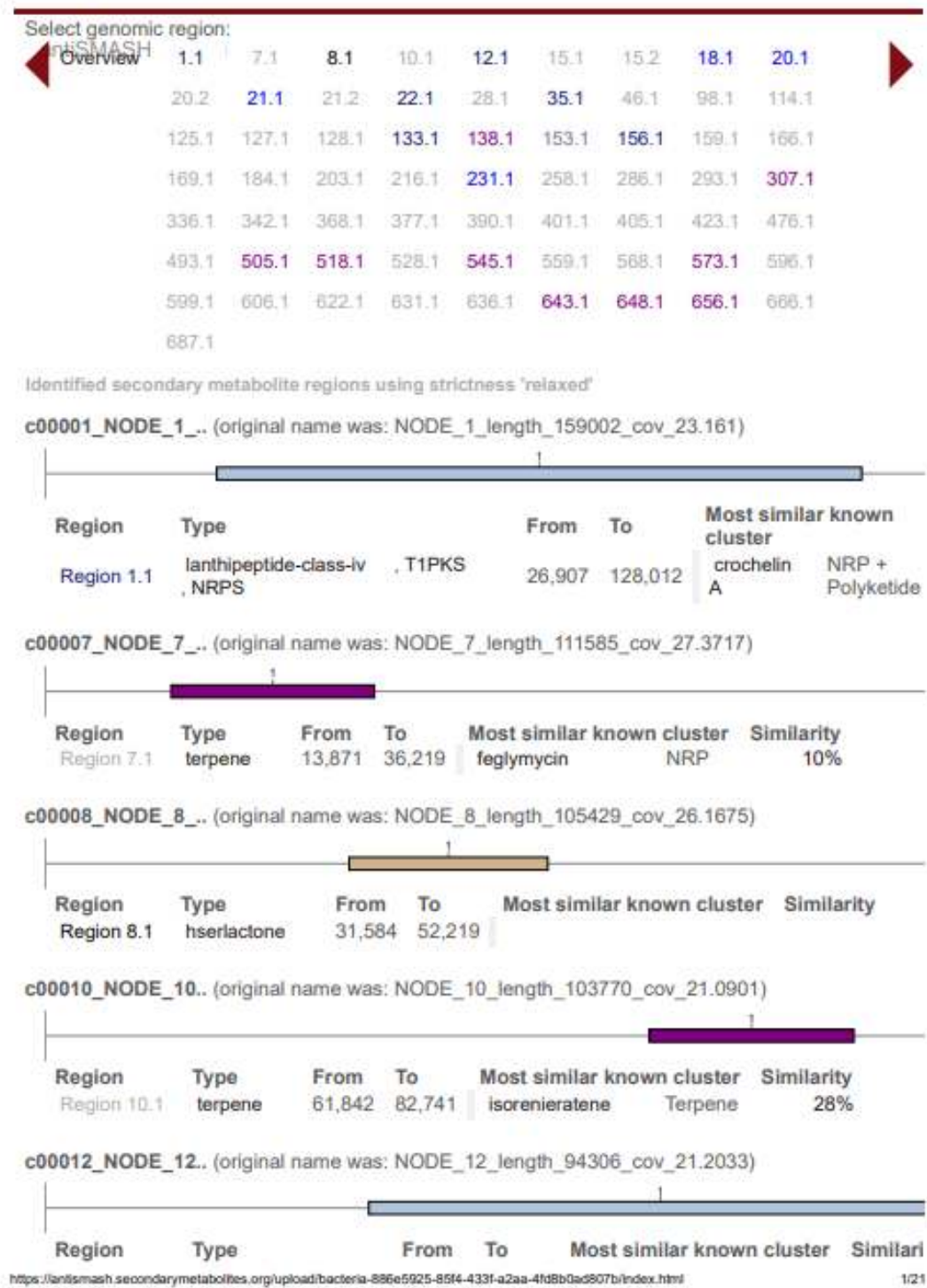
aurantimisin, katenulipeptin, mediyomisin, malasidin, macbesin, kadosid A gibi antimikrobiyal biyoaktif molek  leri sentez genlerinin varlığı belirlendi.

Patojen *Staphylacoccus aureus* suşları üzerinde antimikrobiyal etkinlik gösteren *Nonomuraea zeae* DSM 100528^T türünün sahip olduğu 64 sekonder metabolit gen kümesinin feglimisin, labirintopeptin, ralsolamisin, lizolipin I, indigoidin, maklamisin, lagunapiron A, tiyakumisin B, firulimisin A, stenotrisin, kremimisin, arilomisin, mediomisin, rizomid A gibi biyoaktif molek  leri sentezleyen gen kümesini i  erdii belirlendi.





Şekil 8: antiSMASH bacterial version uygulamasında *Actinomadura geliboluensis* suşuna ait biyoaktif gen kümelerinin görünümü



Şekil-9 antiSMASH bacterial version uygulamasında *Nonomuraea zeeae* suşuna ait biyoaktif gen kümelerinin görünümü

Nonomuraea zae DSM 100528^T (VCKX00000000) sekonder metabolit benzerlik oranları aşağıda verilmiştir.

METABOLİT	BENZERLİK ORANI (%)
geosmin	100
ralsolamycin	60
indigoidine	80
coelichelin	54
2-methylisoborneol	50
tiacumicin B	9
enduracidin	6
mediomycin A	28
catenulipectin	60
rhizomide A / rhizomide B / rhizomide C	100

Actinomadura geliboluensis A8036^T VCKZ000000000 sekonder metabolit benzerlik oranları aşağıda verilmiştir.

METABOLİT	BENZERLİK ORANI (%)
amyachelin	18
vazabotide	8
chlorothricin	46
Hopene	46
polyoxypeptin	16
fengycin	20
ectoine	100
catenulipectin	60
citrulessin D	80

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Tartışma ve Sonuç

Pseudomonas cinsi, 1894 yılında ilk kez Walter Migula tarafından sınıflandırılmıştır. Hareketli, çomak, fermentasyon yapmayan ve gram negatif bakterilerdir (116,117). *Pseudomonas cinsi*, oksijenin düşük olduğu ortamlarda, değişik organik bileşikler kolay bir şekilde karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilme ve 4 °C'den 43 °C'ye sıcaklık koşullarında hayatta kalabildiği için bir çok habitatta yaşayabilmektedir (118,119). Klinik olarak da önemli bir yere sahip olan *Pseudomonas cinsi* hastane enfeksiyonları arasında yer almaktadır. Birçok hastalığa sebep olan bu bakteri cinsi sistik fibröz ve yaralarda nozokomiyal enfeksiyonlara sebep olmaktadır (120). Çalışmayı yaptığımız hastanede ise *Pseudomonas spp.* enfeksiyonu 3. Sırada yer almaktadır.

Staphylococcus 53 tür ve 28 alt türü günümüzde tanımlanmıştır. *Staphylococcus* 1884 yılında Rosebach tarafından sınıflandırılmıştır (121). *Staphylococcus cinsi*, hastane kaynaklı ve toplumsal enfeksiyonların önemli nedenlerindendir. Son dönemlerde kuagülaz negatif *Staphylococcus*'ların sebep olduğu hastane enfeksiyon vakalarında bir artış olmuştur (122).

Proteus cinsi içerisinde *Proteus mirabilis* ve *Proteus vulgaris* klinik mikrobiyoloji laboratuvarında *Escherichia coli*'den sonra en sık izole edilen *Enterobacteriaceae* üyesidir. Üriner yol enfeksiyonları arasında komplikasyonsuz olanlarının %10'dan fazlası bu türden kaynaklıdır (123,124).

Nozokomiyal enfeksiyon terimi Latince'den gelmekte olup noso-hastalık komein-bakım nosocomium-hastane sözcüklerinden üremiştir (125). Çeşitli nedenlerle hastane hizmet alan bir hasta, hastaneye başvuru sırasında hastada varolmayan veya kuluçka döneminde olmayan ve hastaneye yatış sürecinde 48-72 saat içerisinde veya taburculuk sürecinden 10 gün sonraya kadar gelişen enfeksiyonlara hastane enfeksiyonu denir (126,127). Bu süreç: cerrahi bölgeler için 1 aya, daimi implant varlığın 1 yıla kadar sürebilmektedir (127,128). Hastane enfeksiyonları sadece hastalar için değil, mikroorganizmalarla temas eden hastane personeli, refakatçi, ziyaretçi ve sağlık çalışanlarını kapsamaktadır (127). Tablo 15 de hastane enfeksiyonlarına bağlı olarak ek yatış süreleri verilmiştir.

Çalışma	Ülke	Ek yatış (gün/hasta)
1974 (Westwood)	ABD	22.0
1980 (Haley)	ABD	13.4
1991 (French)	Hong Kong	23.4
1993 3 (Diaz-Monila)	İspanya	4.3
1995 (Erbaydar)	Türkiye	10.6
1997 (Yalçın)	Türkiye	20.3
1997 (Leroy)	Fransa	5.2
1998 (Orrett)	Trinidad	33.5
1998 (Andersen)	Norveç	4.0
1999 (Navarette)*	Meksika	9.6
1999 (Munoz)*	Meksika	7.4
2001 (Plowman)	İngiltere	11.0
2005 (Chen)	Tayvan	18.2

Tablo 15: Hastane enfeksiyonlarının neden olduğu ek yatış süreleri *Pediatrik Hasta Grubu (129)

Çalışmanın yapıldığı, T.C. Sağlık Bakanlığı Bursa Ali Osman Sönmez Onkoloji Hastanesi Merkez Laboratuvarınca Ocak 2021-Haziran 2021 tarihleri arasında saptanan *Pseudomonas*, *Staphylococcus* ve *Proteus* üremeleri olan numuneler: *Pseudomonas* için numunelerin %82.45 oranında idrar kültüründen, %14.05 oranında TAS kültüründen ve %3,5 oranında kan kültüründen elde edilmiştir. *Staphylococcus* için numunelerin %100'ü idrar kültüründen izole edilmiştir. *Proteus* %100 oranında idrar kültüründen izole edilmiştir. *Pseudomonas* izolatları tanımlanması için VİTEK-2, *Staphylococcus* ve *Proteus* izolatları tanımlanması için API 10S testi kullanılmıştır. VİTEK-2 laboratuvarın öncelikli test sistemi olarak işlev gören bu cihaz, direnç tespitlerinde ve aynı gün içerisinde identifikasyon imkanı sağlamaktadır. API 10S piyasa çıkmasıyla beraber bakteriyoloji alanında standartlaştırılmış ve küçültülmüş biyokimyasal test kitlerinin kullanım kolaylığı ile bakteri tanımlamada kolay hızlı ve güvenilirdir.

Mikroorganizmaların en az üç farklı antibiyotik grubuna dirençli olmaları çoklu antibiyotik direnci olarak tanımlanmaktadır (130). Çalışmada kullanılan izolatların geneli çoklu antibiyotik direncine sahip olduğu görülmüştür. Uygunsuz ve yoğun şekilde antibiyotik

kullanımının bu problemin hızlı bir şekilde artmasına sebep olduğu düşünülmektedir. Bunun yanı sıra hastane ortamında dirençli suşlar ile duyarlı suşlar arasında oluşabilecek direnç genlerinin aktarımının da antibiyotik dirençliliğini artırdığını düşündürmektedir.

Örneğin *P.aeruginosa* türlü türlü beta-laktam antibiyotiklere intrinsek dirençli olmasının yanı sıra diğer birçok mekanizmaya (örn. azalmış dış membran geçirgenliği; penisilin bağlayan proteinlerin modifikasyonları; GSBL, MBL veya diğer enzimlerin üretimi; efluks sistemleri; azalmış porin ekspresyonu) ile de antibiyotiklere direnç kazanırlar. *P.aeruginosa*'da bulunabilecek GSBL'lerden ülkemiz için en önemli olanları PER-1 ve OXA tipi enzimlerdir. PER ve OXA tipi beta-laktamaz genlerinin çoğu plazmid, transpozon veya integron kontrolündedir. PER-1 enzimi klavulanik asit ve tazobaktama duyarlıdır. AmpC tipi beta enzimler ise beta-laktamaz inhibitörlerine dirençlidir. Ülkemizde PER ve OXA türü GSBL'ler diğer ülkelere göre daha yüksek oranlarda bildirilmektedir. PER-2 tipi GSBL Güney Amerika ülkelerinden yaygın olarak bildirilmektedir (131,132)

Patojenlerin antibiyotik dirençlerinin ciddi sonuçları ve etkin doğası sebebiyle yeni biyoaktif yapılara ihtiyaç büyük ölçüde vurgulanmaktadır (133). *Actinobacteria* üyeleri antibiyotiklerin haricinde antifungaller, herbisit, immünsüpresan veya antitümör ilaçlar ve antelmintik ajanlar gibi etkinlikleri olan çok çeşitli sekonder metabolitleri üretmektedir (133,134)

Bu çalışmada kullanılan *Actinobacteria* üyesi *Streptomyces boluensis* YC537^T, *Rhodococcus* sp 14C212, *Rhodococcus aetherivorans* 10bc312^T ve *Actinomadura soli* 14C53^T suşlarının antiSMASH bacterial version uygulamasında (108) yapılan taramada biyosentetik gen kümelerine sahip olmalarına rağmen patojen test suşları üzerinde antimikrobiyal etkinliği tespit edilmemiştir. Bu durum *Actinobacteria* suşlarının ilgili antimikrobiyalleri henüz sentezlemediğini düşündüreceği gibi bu patojenler üzerinde etkili antimikrobiyal ajanları sentezleyemediği şeklinde de yorumlanabilir.

Antimikrobiyal aktivite testleri sonucunda *Pseudomonas* spp. suşları için sadece *Actinomadura geliboluensis* A8036^T türünde zon çapı görülmüştür. 57 adet izolatta %60'a yakınında 8-20 mm arasında zon çapı ölçülmüştür. *Pseudomonas* spp. suşları zon çapı ölçülen numunelerin %100 idrar kültüründen, zon çapı ölçülmemiş numunelerin TAS kültürü ve kan kültüründen izole edildiği ise saptanmıştır. Pİ08 ve Pİ30 numunelerinde zon çapları 20 mm ölçülmüştür. Bu ölçüm izolatlar arasından en fazla ölçülen zon çapıdır ve bu numuneler çoklu antibiyotik direncine sahiptirler. *A. geliboluensis* A8036^T türünün antiSMASH bacterial version uygulamasında (108) gerçekleştirilen tüm genoma dayalı biyoinformatik analizlerinde biyosentetik gen kümesi belirlenen catenulipectin (catenulipectin) hem Gram pozitif hem de gram negatif bakteriler üzerinde etkili bir sekonder metabolittir. Bu türün aynı zamanda makbesin (macbecin) ve kadosid A (cadoside A) gibi antibiyotikleri de sentezleme kabiliyetinde olduğu da tespit edilmiştir.

Staphylococcus spp. için sadece *Nonomuraea zeae* DSM 100528^T türünde zon çapı belirlenmiştir. 50 adet izolatta %50'sinde 5-7 mm arasında zon çapı ölçülmüştür. antiSMASH bacterial version uygulamasında (88) gerçekleştirilen tüm genoma dayalı biyoinformatik analizlerde *N. zeae* DSM 100528^T türünün lizolipin (lysolipin), maklamisin (maklamicin) gibi Garm pozitif bakteriler üzerinde etkili antimikrobiyal ajanları sentezleyen gen kümesine sahip olmasının yanında feglimisin (feglymycin), ralsolamisin (ralsolamycin),

indigoidin (indigoidine), lagunapiron A (lagunapyrone A), stenotrisin (stenothricin), cremimisin (cremimiycin), rizmid A (rhisomide A) ve arilomisin (arylomycin) gibi antibakteriyalleri de sentezleme kabiliyetinin olduğu belirlendi.

Proteus için yapılan antimikrobiyal aktivite testlerinde herhangi bir zon çapı ölçülmemiştir.

5.2.Öneriler

Antimikrobiyal aktivite testleri ile varlığı belirlenen yeni biyoaktif bileşiklerin saflaştırılması, tanımlanması, etkin doz testlerinin yapılması ve ticari potansiyelinin belirlenmesi gerekmektedir. Ayrıca patojen *Pseudomonas* spp. ve *Staphylococcus* spp. suşlarının kendi aralarında antibiyotik dirençliliğinin gelişim süreçlerinin fiziksel ve moleküler temellerinin ortaya konulması bu durum ile mücadele edebilme açısından önemlidir.



KAYNAKLAR

1. Brachman PS. Nosocomial infection control: an overview. *Rev Infect Dis* 1981; 3:640-648.
2. Haley RW, Culver DH, White JW, Morgan WM, Emori TG. The nationwide nosocomial infection rate: a new need for vital statistics. *Am J Epidemiol* 1985; 121:159-167.
3. H. (2010). Hasta Ziyaretleri için Hastaneye Gelen Kişilerin Ziyaret Öncesi ve Sonrası El Floralarının Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum
4. Pittet D, Tarara D, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients. Excess length of stay, extra costs, and attributable mortality. *JAMA* 1994; 271:1598- 1601.
5. Pollock E, Ford-Jones EL, Corey M, et al. Use of the Pediatric Risk of Mortality Score to predict nosocomial infection in a pediatric intensive care unit. *Crit Care Med* 1991; 19: 160-165.
6. Yılmaz GR, Çevik MA, Fiardan YÇ. Hastane infeksiyonlarının süreyansı ve Amerika Ulusal Nozokomiyal İnfeksiyon Süveyans Sistemi: 1. Hastane İnfeks Derg 2002; 6:55-71.
7. Ayliffe GAJ, Babb JR, Taylor LJ. HospitalAcquired Infection. Principles and Prevention. 3rd ed. Oxford: Butterworth Heinemann, 1999.
8. Stamm WE, Norrby SR. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *J Infect Dis.* 2001;183 Suppl 1:S1-4.
9. Foxman B. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. *Infect Dis Clin North Am.* 2014;28(1):1-13.
10. Schappert SM, Rechtsteiner EA. Ambulatory medical care utilization estimates for 2007. *Vital Health Stat* 13. 2011(169):1-38.
11. Foxman B. The epidemiology of urinary tract infection. *Nat Rev Urol.* 2010;7(12):653-60.
12. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, Beldavs ZG, Dumyati G, Kainer MA, et al. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *N Engl J Med.* 2014;370(13):1198-208.

13. Chatterjee M, Anjua CP, Biswas L, Kumar VA, Mohana CG, Biswas R. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. International Journal of Medical Microbiology. 2016;306:48–58.
14. Salomoni R, Léo P, Montemor AF, Rinaldi BG, Rodrigues MFA. Antibacterial effect of silver nanoparticles in *Pseudomonas aeruginosa*. Nanotechnology, Science and Applications. 2017;10:115–121.
15. Ünal S. Stafilokoklarda metisilin ve enterokoklarda vankomisin direncinin belirlenmesi. ANKEM Derg. 2007; 21: 166-70.
16. Prokulske-Fox A. Bacterial Structure. In Murray PR, Tenover FC, Tenover MC, Rosenthal KS. Medical Microbiology, 2nd Ed., St.Louis, Missouri, Mosby-Year Book, Inc.;1994:6.
17. Rubin RJ, Harrington CA, Poon A, Dietrich K, Greene JA, Moiduddin A. The economic impact of *Staphylococcus aureus* infection in New York City hospitals. Emerg Infect Dis 1999; 5: 9-17.
18. Spelman DW. Hospital-acquired infections. MJA Practice Essentials. 2002;176:286-291.
19. Harbarth S. What can we learn from each other in infection control? Experience in Europe compared with the USA Lowbury lecture 2012.
20. Didier Pittet Infection control and quality health care in the new millenium
21. Anton Y. Peleg, M.B. B.S., M.P.H. and David C. Hooper, M.D. Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria Division of Infectious Diseases, Massachusetts General Hospital, the Division of Infectious Disease, Beth Israel Deaconess Medical Center , and Harvard Medical School — all in Boston; and the Department of Infectious Diseases, Alfred Hospital both in Melbourne, Australia. 2008.
22. Sayıştay Raporu (2007). Hastane Enfeksiyonları ile Mücadele. Performans Denetim Raporu, T.C. Sayıştay Başkanlığı, Ankara
23. Özyurt M, Haznedaroğlu T, Dalyan O, Hoşbul T, Ardıç N, Bektöre B. Yatan hastalardan izole edilen *Pseudomonas* izolatlarında antibiyotik direnci Ankem Derg 2010; 24: 124-129.
24. Murray RP, Rosenthal KS, Faller MA. *Pseudomonas* and related bacteria. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Jawetz, Melnick, &

- Adelberg's Medical Microbiology Lange Basic Science. Mosby Elsevier. McGrawHill, 2010: 333-34
25. Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii* species and *Pseudomonas aeruginosa*. CID 2006; 43: 49-56
26. *Pseudomonas*. In Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller. Editörler, Manual of clinical microbiology. 9th ed. Washington, D.C: ASM press, 2007 : 734-748.
27. Winn WC, Koneman EW, Allen S, Janda W, Procop G, Woods G. ve ark. The Nonfermentative Gram-Negative Bacilli. 5th edition Baltimore, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006: 303-353.
28. Brooks GF., Carroll KC., Butel JS., Morse SA. ve Mietzner TA. Bacteriology (Bölüm III). In: Medical Microbiology. Jawetz, Melnick and Adelbergs, 26th Ed, McGraw-Hill Companies, New York, 2013, s.149-405.
29. Vahaboğlu H. ve Akhan S. *P. aeruginosa* ve diğer *Pseudomonas* türleri. In: Topçu A.W., Söyletir G., Doğanay M. (Eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2008, s. 2175-2186.
30. Topçu AW: Antibiyotiklerin uygun kullanımı ve antibiyotik kullanım politikaları, İçinde. Doğanay M, Ünal S. Editörler. Hastane Enfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2003: 455-472.
31. *Pseudomonas*. In Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller. Editörler, Manual of clinical microbiology. 9th ed. Washington, D.C: ASM press, 2007 : 734-748.
32. Akalın H. Çoklu İlaç Direncinde Tedavi Yaklaşımı ve İlaç Politikaları, Aknem Derg 2007; 21: 186-191.
33. Akalın H. Çoğul dirençli Gram negatif bakteriler. İçinde. Doğanay M., Ünal S. Editörler. Hastane enfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2003: 269-287.
34. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manual of Clinical Microbiology. Başustaoglu A (Çeviren) 9.baskı, Nobel Yayınevi, Ankara 2009; 734- 737.
35. Albayrak GT. Hastane enfeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinde çift disk sinerji testi ve kombine çift disk sinerji ile metallo-

- betalaktamaz varlığının araştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Şefliği 2008.
36. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol* 2008; 8(6): 747-63.
37. Çiftci İ.H., ve ark., Klinik Örneklerden İzole Edilen *Stafilokoklarda mecA* Varlığının Araştırılması, *Kocatepe Tıp Dergisi* 2009; 10: 17-20.
38. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al. *Medical Bacteriology: Taxonomy, Morphology, Physiology, and Virulence. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* 6th ed. Philadelphia: Lippincott 2006:167-210.
39. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. *Stafilokoklar ve Benzer Bakteriler*. İzmir: Asya Mikrobiyoloji 2005:72-81.
40. Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*. Fakülteler Kitabevi, İzmir;2000: 239-268.
41. Başustaoğlu, A.C. (Çev.Ed). Murray, P.R., Rosenthal, K.S ve Pfaller, M.A. *Klinik Mikrobiyoloji*. (6th ed). Ankara: Atlas Kitapçılık; 2010; 209-225.
42. Monson LS. *Staphylococci*. In: Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G eds. *Textbook of diagnostic microbiology*. Fourth Edition. WB Saunders Company, 2011:316-29.
43. Stock, I. and Gruger, T. 2001. Natural antibiotic susceptibility of strains of the *Enterobacter cloacae* complex. *Antimic Agents*, 18, 537
44. Bilgehan, H. 1996. *Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*, 9. Baskı, s. 70-75, Fakülteler Kitabevi, İzmir.
45. Madigan, M.T. and Martinko, J.M. 2010. *Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi*. Palme Yayıncılık, 992, Ankara.
46. Sanders, W.E., Sanders, C.C. 1997. *Enterobacter spp.: Pathogens poised to flourish at the turn of the century*. *Clin Microbiol Rev*, 10, 220.
47. Ulusoy S: *Çoğul dirençli Gram pozitif bakteriler*, “Doğanay M, Ünal S (eds): *Hastane Enfeksiyonları*” kitabında s.247-67, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2003).
48. Durak, Y., Kır, M., Özkalp, B. and Aladağ, M.O. 2005. *Çeşitli Klinik Materyallerden İzole Edilen Gram Negatif ve Gram Pozitif Bakterilerin*

- Ofloxacin'e Karşı Duyarlılıklarının Araştırılması. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi, 63(1), 17-14.
49. Lewis J, Fekety F.R.: Proteus bacteremia. John Hopkins Med J 124:151-156, 1969
50. Sanders CC, Sanders WE: Beta-lactam resistance in Gram negative bacteria: global trends and clinical impact, Clin Infect Dis 15: 824, 1992.
51. Aktaş Z, Poirel L, Salcioğlu M, et al. PER-1 and OXA-10-like beta-lactamases in ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from intensive care unit patients in Istanbul; Turkey. Clin Microbiol Infect 2005; 11(3): 193-8.
52. Davies, J. Davies, D.,2010. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. Microbiology And Molecular Biology Reviews. 417–433
53. Chopra, I. Roberts, M. 2001. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. Microbio. Molec. Bio. Reviews 65(2), 232–260.
54. Roberts, M.C.,2005. Update on acquired tetracycline resistance genes. FEMS Microbiology Letters 245, 195–203.
55. Taylor, D. E., Chau, A. 1996. Tetracycline resistance mediated by ribosomal protection. Antimicrob Agents Chemother. 40(1): 1–5.
56. Chao, Cm. Lai, Cc. Tang, Hj, Ko. Wc, Hsueh Pr. 2013. Biliary tract infections caused by Aeromonas species. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 32.245- 251.
57. Shah, P. M., R. D. Isaacs.2 004. Ertapenem, the first of a new group of carbapenems. J. Antimicrob Chemother. 52:538-542.
58. Carattoli, A. 2009.Resistance plasmid families in Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother. 53. 2227-2238.
59. Sajjad, A., M. P. Holley, M. Labbate, H. W. Stokes, M. R. Gillings. 2011. Preclinical class 1 integron with a complete Tn402-like transposition module. Appl Environ Microbiol. 77:335-337.
60. Kumar, S., Mukherjee, M. M. and Varela, M. F. (2013). Modulation of bacterial multidrug resistance efflux pumps of the major facilitator superfamily. International Journal of Bacteriology, 2013(1), 1-15.
61. World Health Organization. Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance, Annual Report 2019.)

62. Daury L., Orange F., Taveau JC., Verchère A., Monlezun L. ve ark. Tripartite assembly of RND multidrug efflux pumps. *Nature communications*, 2016, 7(1):1-8.
63. Li H., Luo YF., Williams BJ., Blackwell TS. ve Xie CM. Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: from antibiotic resistance to novel therapies. *Int J Med Microbiol.*, 2012, 302: 63–68
64. Chalhoub H., Sáenz Y., Rodríguez-Villalobos H., Denis O., Kahl BC. ve ark. High-level resistance to meropenem in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in the absence of carbapenemases: role of active efflux and porin alterations. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2016, 48(6):740–743
65. Witte W. Antibiotic resistance in Gram-positive bacteria: epidemiological aspects. *J Antimicrob Chemother* 1999;44:1-9.)
66. Trujillo, M. E. 2012. Genus III. *Actinomadura* Lechevalier and Lechevalier 1970, 400AL emend. Kroppenstedt, Stackebrandt and Goodfellow 1990, 156. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 5, 1940-1959.
67. Rozalskii A, Sidorczyk Z, Kotelko K. Potential virulence factors of *Proteus* bacilli. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1997;61(1):65–89.
68. Çelikkilek N, Gözalan A, Özdem B, Kirca F, Açıkgöz ZC. Ayaktan başvuran hastaların idrar kültürlerinde üretilen *Enterobacteriaceae* izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi: Yedi yıllık izlem sonuçları. *Mikrobiyol Bul.* 2015;49(2):259–65.
69. Schaffer JN, Melanie MP. *Proteus mirabilis* and urinary tract infections. *Microbiol Spectr.* 2015;3(5):1–66
70. Gerber, N. N. 1971. Prodigiosin-like pigments from *Actinomadura* (*Nocardia*) *pelletieri*. *The Journal of Antibiotics*, 24(9), 636-640.
71. Lechevalier, H. A., Lechevalier, M. P. and Gerber, N. N. 1971. Chemical composition as a criterion in the classification of actinomycetes. *Advance Applied Microbiology*, 14, 47- 72.
72. Stackebrandt, E., Rainey, F. A. and Ward-Rainey, N. L. 1997. Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(2), 479-491.

73. Fischer, A., Kroppenstedt, R. M. and Stackebrandt, E. 1983. Molecular-genetic and chemotaxonomic studies on *Actinomadura* and *Nocardiosis*. *Microbiology*, 129(11), 3433-3446.
74. Goodfellow M., Stackebrandt E. & Kroppenstedt R. M. 1988. Chemotaxonomy and actinomycete systematics. In: Y. Okami, T. Beppu, and H. Ogawara (Eds.) *Biology of Actinomycetes*, Japan Scientific Societies Press. Tokyo, Japan. 233–238.
75. Kroppenstedt, R. M., Stackebrandt, E. and Goodfellow, M. 1990. Taxonomic revision of the actinomycete genera *Actinomadura* and *Microtetraspora*. *Systematic and Applied Microbiology*, 13(2), 148-160.
76. Lechevalier, M. P., De Bievre, C. and Lechevalier, H. 1977. Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes: phospholipid composition. *Biochemical Systematics and Ecology*, 5(4), 249-260.
77. Nonomura, H. and Ohara, Y. 1971. Distribution of actinomycetes in soil. XI. Some new species of. *Journal of Fermentation Technology*. 49, 904-912.
78. Galatenko O. A., Terekhova L. P. ve Preobrazhenskaya T. P. 1981. New *Actinomadura* species isolated from Turkmen soil samples and their antagonistic properties [in Russian], *Antibiotiki* 26:803–807
79. Nakagawa, M., Hayakawa, Y., Imamura, K., Seto, H. and Otake, N. 1989. Microbial conversion of anthracyclines to carminomycins by a blocked mutant of *Actinomadura roseoviolacea*. *The Journal of Antibiotics*, 42(11), 1698-1703.
80. Tamura, A., Furuta, R., Naruto, S. and Ishii, H. 1973. Actinotiocin, a new sulfur-containing peptide antibiotic from *Actinomadura pusilla*. *The Journal of Antibiotics*, 26(6), 343- 350.
81. Fleck, W. F., Strauss, D. G., Meyer, J. and Porstendorfer, G. 1978. Fermentation, isolation, and biological activity of maduramycin: a new antibiotic from *Actinomadura rubra*. *Zeitschrift Für Allgemeine Mikrobiologie*, 18(6), 389-398
82. Williams, S. T. 1989. Genus *Streptomyces* waksman and henrici 1943. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 4, 2452-2492
83. Korn-Wendisch, F. and Kutzner, H. J. 1992. The family Streptomycetaceae. *The Prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications*, Chapter 41.

84. Tanaka, Y. and Omura, S. 1993. Agroactive compounds of microbial origin. *Annual Reviews in Microbiology*, 47(1), 57-87.
85. Goodfellow, M., Mordarski, M. and Williams, S. T. 1984. *Biology of the actinomycetes*. Academic Press.
86. Goodfellow, M. 1989. Search and discovery of industrially significant actinomycetes. *Microbial Products: New Approaches*.
87. Goodfellow, M., Stach, J. E., Brown, R., Bonda, A. N. V., Jones, A. L., Mexson, J. And Bull, A. T. 2012. *Verrucosispora maris* sp. nov., a novel deep-sea actinomycete isolated from a marine sediment which produces abyssomicins. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 101(1), 185-193.
88. Goodfellow, M., Alderson, G. and Chun, J. 1992. Rhodococcal systematics: problems and developments. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 74(1-3), 3-20
89. Larkin, M. J., Kulakov, L. A. and Allen, C. C. 2005. Biodegradation and *Rhodococcus*— masters of catabolic versatility. *Current opinion in Biotechnology*, 16(3), 282-290.
90. Bell, K. S., Philp, J. C., Aw, D. W. J. and Christofi, N. 1998. The genus *Rhodococcus*. *Journal of Applied Microbiology*, 85(2), 195-210
91. Waksman, S. A. and Woodruff, H. B. 1940. Bacteriostatic and bactericidal substances produced by a soil Actinomyces. *Proceedings of the society for Experimental Biology and Medicine*, 45(2), 609-614
92. Waksman, S. A. and Woodruff, H. B. 1942. Selective antibiotic action of various substances of microbial origin. *Journal of Bacteriology*, 44(3), 373
93. Schatz, A. and Waksman, S. A. 1944. Effect of Streptomycin and Other Antibiotic Substances upon *Mycobacterium tuberculosis* and Related Organisms. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 57(2), 244-248.
94. Ilic, S. B., Konstantinovic, S. S., Todorovic, Z. B., Lazic, M. L., Veljkovic, V. B., Jokovic, N. and Radovanovic, B. C. 2007. Characterization and antimicrobial activity of the bioactive metabolites in streptomycete isolates. *Microbiology*, 76(4), 421-428

95. Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., and van Wezel, G. P. 2016. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1-43.
96. Ng, P. C., & Kirkness, E. F. (2010). Whole genome sequencing. *Genetic variation*, 215-226.
97. Chun, J., Oren, A., Ventosa, A., Christensen, H., Arahal, D. R., da Costa, M. S. and Trujillo, M. E. 2018. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68:1, 461-466.
98. Cole, S., Brosch, R., Parkhill, J., Garnier, T., Churcher, C., Harris, D., Gordon, S., Eiglmeier, K., Gas, S. and Barry, C. R. 1998. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*, 393:6685, 537-544.
99. Bull, A. T., Asenjo, J. A., Goodfellow, M. and Gomez-Silva, B. 2016. The Atacama Desert: technical resources and the growing importance of novel microbial diversity. *Annual Review of Microbiology*, 70, 215-234.
100. Wink, J., Mohammadipanah, F. and Panahi, H. K. S. 2017. Practical Aspects of Working with *Actinobacteria*. In *Biology and Biotechnology of Actinobacteria* (pp. 329-376). Springer, Cham.
101. Meier-Kolthoff, J. P., Auch, A. F., Klenk, H. P. and Göker, M. 2014. Highly parallelized inference of large genome-based phylogenies. *Concurrency and Computation: Practice and Experience*, 26(10), 1715-1729.
102. Zeki Tolgay (1946). Yeni antibiyotik ve antibakteriyel maddeler hakkında. Türk Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi. 16(10) 84/89. MK Yer No 1960 SA 105-Nureddin Onur (1949); Streptomycine'e karşı tali mukavemet ve tüberküloz kliniği. İstanbul, 1949 (Kader Matbaası) Milli Kütüphane Yer No 1949 AD 1880
103. Chambers HF. (2000). Other beta-lactam antibiotics. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds.). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and practice of infectious diseases*. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone
104. Dökmeci, İ. (1992). Kemoterapötik ilaçlar. *Farmakoloji ilaç uygulamalarında temel kavramlar*. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri
105. Willke Topçu, A., Söyletir, G. ve Doğanay, M. (2002). Aminoglikozitler. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 214-23.)
106. Taşova, Y. (2010). Tetrasiklinden Tigesikline. *Ankem Dergisi*, 24(Ek 2), 36-44

107. Bradford PA. Extended spectrum beta-lactamases in the 21st century. Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001; 14(4): 933-51
108. Bauer A. W., Kirby W. M. M., Sherris J. C., & Turck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American journal of clinical pathology, 45(4-ts), 493-496
109. Murray Patric R. RKS, Pfaller Michael A. Tıbbi Mikrobiyoloji. 7 ed: Pelikan Yayıncılık; 2015. 161-3 p.)
110. Matuschek E, Brown DF, Kahlmeter G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2014;20(4):O255-66
111. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. 2014;Cilt-2
112. Kahlmeter G, Brown DF, Goldstein FW, MacGowan AP, Mouton JW, Osterlund A, et al. European harmonization of MIC breakpoints for antimicrobial susceptibility testing of bacteria. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2003;52(2):145-8 Ericsson HM, Sherris JC
113. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. Acta pathologica et microbiologica Scandinavica Section B: Microbiology and immunology. 1971;217:Suppl 217:1+.
114. Weber, T., Blin, K., Duddela, S., Krug, D., Kim, H. U., Brucoleri, R. and Breitling, R. 2015. antiSMASH 3.0—a comprehensive resource for the genome mining of biosynthetic gene clusters. Nucleic Acids Research, 43(W1), W237-W243.
115. Palleroni N. J., 2003. Prokaryote taxonomy of the 20th century and the impact of studies on the genus Pseudomonas: a personal view. Microbiology 149:1– 7.
116. Rani A., Goel R. 2009. Strategies for crop improvement in contaminated soils using metal-tolerant bioinoculants. In: Khan MS, Zaidi A, Musarrat J, (Eds.) Microbial strategies for crop improvement, Springer, Berlin p. 105– 132.

117. Igbinosa I. H., Nwodo U. U., Sosa A., Tom A., Okoh A. I., 2012. Commensal *Pseudomonas* Species Isolated from Wastewater and Freshwater Milieus in the Eastern Cape Province, South Africa, as Reservoir of Antibiotic Resistant Determinants. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 9(7), 2537- 2549.
118. Line L, Alhede M, Kolpen M, Kühl M, Ciofu O, Bjarnsholt T, Moser C, Toyofuku M, Nomura N, Høiby N, Jensen Pø. 2014. Physiological levels of nitrate support anoxic growth by denitrification of *Pseudomonas aeruginosa* at growth rates reported in cystic fibrosis lungs and sputum. *Front Microbiol.* 5:554.
119. Gerald P. B., Bolivar R., Fainstein V., Jadeja L. 1983. Infections Caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin. Infect. Dis.* 5 (2): 279-313.
120. Rosenbach, A. J. F. (1884). Mikro-organismen bei den Wund-infections-krankheiten des Menschen. JF Bergmann, 187-196.
121. Abulreesh, H. H. (2011). Multidrug-resistant staphylococci in the environment. *International Conference on Biotechnology and Environment Management*, 21, 179- 184
122. Ustaçelebi Ş (Ed). (1999) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi. Ankara
123. Çopur Çiçek A., Karagöz A., Köksal E., Ertürk A., Özgümüş O.B., Köksal Z.S., Durmaz R. (2013) A single clone *Acinetobacter baumannii* outbreak in a state hospital in Turkey. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 66: 245-248.
124. Kadanalı A, Özkurt Z, Erol S, Aktaş AE, Altıparlak Ü, Fehmi Çelebi F. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanelerinde 2003 Yılı Hastane Enfeksiyonları. *Ankem Dergisi* 2004;18(3):149-152.
125. Hastane Enfeksiyonları İle Mücadele. Performans Denetim Raporu. T.C. Sayıştay Başkanlığı. Ankara 2007
126. Öztürk R. Hastane Enfeksiyonları: Sorunlar, Yeni Hedefler ve Hukuki Sorumluluk, Hastane Enfeksiyonları. Korunma ve Kontrol Sempozyum Dizisi Ocak 2008;60:23-29
127. Türkiye Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Rehberi, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans ve Kontrol Birimi, Ankara, 2010

128. AN. YALÇIN, Enfeksiyon Kontrolünde Maliyet Analizi. Hastane Enfeksiyonları 2013. Editörler; M. DOĞANAY; S. ÜNAL; Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2013: 113-121.
129. Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G. and Paterson, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical microbiology and infection*, 18(3), 268- 281.
130. Deplano A, Denis O, Poirel L, et al. Molecular characterization of an epidemic clone of panantibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 2005; 43(3): 1198-204.
131. Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R, et al. Characterization of beta-lactamase gene *bla_{PER-2}*, which encodes an extended-spectrum class A beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40(3): 616-20.
132. Thumar, J. T., Dhulia, K. and Singh, S. P. 2010. Isolation and partial purification of an antimicrobial agent from halotolerant alkaliphilic *Streptomyces aburaviensis* strain Kut8. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(11), 2081-2087.
133. Béhal, V. 2000. Bioactive products from *Streptomyces*. *Advances in Applied Microbiology* 47:113–157.
134. Tindall, B. J., Kämpfer, P., Euzéby, J. P. and Oren, A. 2006. Valid publication of names of prokaryotes according to the rules of nomenclature: past history and current practice. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(11), 2715-2720.
1. **URL-1.** LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature [İnternet] 2021. [10 Kasım 2021] <https://lpsn.dsmz.de/search?word=Actinomadura> - Kasım 2021
2. **URL-2.** LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature [İnternet] 2021 [11 Kasım 2021] <https://lpsn.dsmz.de/search?word=nonomuraea> - Kasım-2021
3. **URL-3.** National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine [İnternet] [10 Kasım 2021] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/13508>

4. **URL-4.** LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature [İnternet] 2021 [11 Kasım 2021] <https://lpsn.dsmz.de/search?word=streptomyces>
5. **URL-5.** LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature [İnternet] 2021 [11 Kasım 2021] <https://lpsn.dsmz.de/search?word=Rhodococcus>
6. **URL-6.** antiSMASH bacterial version [İnternet] 2021 [10 Kasım 2021] <https://antismash.secondarymetabolites.org/#!/start;>



EKLER



T.C.
BURSA VALİLİĞİ
İl Sağlık Müdürlüğü

BURSA İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ - BURSA İSTATİSTİK,
ANALİZ VE RAPORLAMA BİRİMİ
26.01.2021 10:37 - E.47506481 - 799 - 77



00132975288

**BURSA İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
KAMU HASTANELERİ HİZMETLERİ BAŞKANLIĞI
BİLİMSEL ARAŞTIRMA TALEPLERİ DEĞERLENDİRME KOMİSYONU
TOPLANTI TUTANAĞI**

Başkanlığımız Bilimsel Araştırma Talepleri Değerlendirme Komisyonu, sunulan dosyanın uygunluğunu değerlendirmek üzere 15.01.2021 tarihinde toplanmıştır.

Ali Osman Sönmez Onkoloji Hastanesinin ekli yazısında Hastanede Hemşire olarak görev yapan Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı öğrencisi Muhammet Fatih TORU'nun "Pseudomonas, Proteus ve Staphylococcus Türlerinin Antibiyotik Dirençleri ve Direnç Genleri" başlıklı yüksek lisans tez çalışmasını Müdürlüğümüze bağlı Ali Osman Sönmez Onkoloji Hastanesinde uygulama isteğine ilişkin belgeleri incelenmiştir.

Komisyon tarafından yapılan değerlendirme neticesinde, söz konusu çalışmanın adı geçen hastanede yapılan hizmetleri aksatmayacak şekilde, hasta hakları, kişisel sağlık verilerinin işlenmesi ve mahremiyetinin sağlanması hakkındaki yönetmeliklere uyulması kaydı ile yapılması uygun bulunmuş olup, çalışmanın tamamlanması akabinde hazırlanan sonuç raporunun bir nüshasının Başkanlığımıza gönderilmesine;

Oy birliği ile karar verilmiştir.

e-imzalıdır.

Uzm.Dr.Hande OCAKOĞLU
Halk Sağlığı Uzmanı (Üye)

e-imzalıdır.

Uzm.Dr.Hasret YÜCEL ÖZBÖLÜK
Tıbbi Farmakoloji Uzmanı (Üye)

e-imzalıdır.

Belma ÇIRAKOĞLU
Uzman (Üye)

e-imzalıdır.

Hasan ARSLAN
Uzman (Üye)

15 / 01 / 2021

e-imzalıdır.

Uzm.Dr. Salih METİN
Kamu Hast. Hiz. Bşk. Yrd.
(Komisyon Başkanı)

Ek: Muhammet Fatih TORU Başvuru Belgeleri

Bursa Kamu Hastaneleri Hizmetleri Başkanlığı İstatistik, Analiz ve Raporlama Birimi
Telefon: Faks No: Dahili: 1016
e-Posta: mehmetali.altun@saglik.gov.tr İnternet Adresi: bursa.saglik.gov.tr

Bilgi için: Mehmet Ali ALTUN
Tıbbi Sekreter
Telefon No: (0 224) 600 33 00

Evrakın elektronik imzalı suretine <http://e-belge.saglik.gov.tr> adresinden 4dad4cfe-3360-4d35-bd69-a7bc3bb45813 kodu ile erişebilirsiniz.
Bu belge 5070 sayılı elektronik imza kanuna göre güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Ek-1 Çalışma onay Bursa İl Sağlık Müdürlüğü

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		“Pseudomonas, Proteus ve Stafilokok Örneklerinin Antibiyotik Duyarlılığı ve Direnç Genlerinin Araştırılması ”			
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU					
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu			
	AÇIK ADRESİ:	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Bağbaşı Yerleşkesi Merkez/KIRŞEHİR			
	TELEFON	0386 280 3924			
	FAKS	0386 280 5007			
	E-POSTA	tipetikkurul@ahievran.edu.tr			
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Mikrobiyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Kırşehir			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
		İlaç dışı klinik araştırma	☐		
Diğer ise belirtiniz: Girişimsel Olmayan Klinik Araştırma					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐	

Ek-4 Etik kurul kararı

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Muhammet Fatih TORU
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	
E-Posta Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Fakülte	Sağlık Yüksek Okulu
Bölümü	Hemşirelik
Mezuniyet Yılı	2019

Bildiriler
Toru M.F., Sarıcaoğlu S., Kariptaş E. İnsan Patojeni Pseudomonas aeruginosa Suşlarının Antibiyotik Dirençliliğinin ve Bazı Actinobacteria Üyelerinin Bu Patojen Suşlar Üzerinde Antimikrobiyal Etkinliğinin Belirlenmesi. The 4th International Congress of Agriculture, Environment and Health, 20-22 May 2021, Aydı
Toru M.F., Sarıcaoğlu S., Kariptaş E. İdrar Kültüründen İzole Edilen S. aureus'ların Antibiyotik Dirençliliği ve Bazı Aktinobakteri Türlerinin S. aureus Suşları Üzerinde Antimikrobiyal Etkinliğinin Araştırılması. The 4th International Congress of Agriculture, Environment and Health, 20-22 May 2021, Aydı