



T.C
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

NOZOKOMİYAL *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
İZOLATLARINDA ÇOKLU İLAÇ DİRENCİNİN VE METALLO BETA
LAKTAMAZ AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Sulhiye ASLAN

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Gülgün YENİŞEHİRLİ

TOKAT –2021



T.C
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

NOZOKOMİYAL *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
İZOLATLARINDA ÇOKLU İLAÇ DİRENCİNİN VE METALLO BETA
LAKTAMAZ AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Sulhiye ASLAN

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Gülgün YENİŞEHİRLİ

Bu tez, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 2020/43 nolu proje olarak desteklenmiştir.

TOKAT – 2021

ETİK SÖZLEŞME

T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile, bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

(.../.../200...)

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Sulhiye Aslan

İmzası

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımnda bilgi birikimiyle beni yönlendiren, destek olan, güler yüzlülüğünü, cana yakınlığını eksik etmeyen, hoşgörülü oluşunu, çalışkanlığını, güçlü duruşunu her zaman örnek alacağım, ailemden biri olarak gördüğüm çok kıymetli danışmanım Sayın Prof. Dr. Gülgün YENİŞEHİRLİ'ye,

Anabilim dalındaki eğitimim boyunca bilgi birikimi ve tecrübelerinden çokça faydalandığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Yunus BULUT'a,

Tezimin istatistik analizine katkıda bulunan Sayın Doç. Dr. Aydan YENİŞEHİRLİ hocama,

Çalışmalarımdayher zaman yardımcı olan Dr. Bahise Çağla TAŞKIN DALGIÇ'a, Dr. Ayşe ALICI'ya ve Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına,

Varlıklarıyla bana güç veren, her zaman karşılıksız sevgilerini, desteklerini ve dualarını çok yürekten hissettiğim canım babama ve canım anneme,

Akademik olarak ilerlemem için beni yüreklendiren, destekleyen ve tezimin biçimlendirilmesinde yardımcı olan sevgili eşime,

Zamanından en çok çaldığım evimizin neşesi güzel kızım Duru'ma,

sonsuz sevgi ve saygılarımı sunuyor, çok teşekkür ediyorum.

ÖZET

Pseudomonas aeruginosa özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde çeşitli infeksiyonlara neden olan fırsatçı patojenlerden biridir. Bu çalışmada Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden ozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında çoklu ilaç direnci ve metallo beta-laktamaz (MBL) aktivitesinin araştırılması amaçlandı. *Pseudomonas aeruginosa* hastane infeksiyonlarının en başta gelen etkenlerinden biri olup antimikrobiyal direnç sıklığının artmasıyla tedavi seçenekleri giderek azalmaktadır. *P. aeruginosa* izolatlarında çoklu ilaç direncinin ve metallo beta laktamaz aktivitesinin belirlenmesi, tedavide kullanılacak antimikrobiyal seçimi ve gelecekte oluşabilecek direnç gelişimini engellemek açısından önemlidir.

Çalışmaya çeşitli servislerden izole edilen 178 *P. aeruginosa* izolatı dahil edildi. İzolatların çoklu ilaç direncini saptamak için 2020-The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)'nin önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi kullanıldı. Metallo beta-laktamaz aktivitesinin belirlenmesi için karbapenem dirençli izolatlarda çift disk sinerji testi, kombine disk difüzyon testi ve modifiye hodge testi kullanıldı.

Çalışma sonucunda 2020-EUCAST kriterlerine göre çoklu ilaç direnci %100 bulundu. İzole edilen suşlar için en etkili antibiyotığın seftazidim-avibaktam (%96,1), amikasin (%90,4), seftolozan-tazobaktam (%86,5) olduğu saptandı. MBL pozitifliği kombine disk difüzyon testi ile %36,4, çift disk sinerji testi ile %32,7 ve modifiye hodge testi ile %30,9 olarak tespit edildi.

Anahtar kelimeler: *Pseudomonas aeruginosa*, Çoklu İlaç Direnci, Metallo Beta-Laktamaz

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa is one of the opportunistic pathogens that causes various infections, especially in people hospitalized in intensive care units and whose immune system is suppressed. In this study, it was aimed to investigate multidrug resistance and metallo beta-lactamase (MBL) activity in nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Tokat Gaziosmanpaşa University Training and Research Hospital. *Pseudomonas aeruginosa* is one of the leading causes of nosocomial infections, and treatment options are gradually decreasing as the frequency of antimicrobial resistance increases. Determination of multi-drug resistance and metallo beta-lactamase activity in *P. aeruginosa* isolates is important in terms of choosing antimicrobials to be used in treatment and preventing future resistance development.

178 *P. aeruginosa* isolates from various units were included in the study. Disc diffusion method was used in line with the recommendations of 2020-The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) to detect multidrug resistance of isolates. Double disc synergy test, combined disc diffusion test and modified Hodge test were used for determination of metallo beta-lactamase activity in carbapenem resistant isolates.

As a result of the study, multi-drug resistance was found to be 100% according to 2020-EUCAST criteria. Ceftazidime-avibactam (96.1%), amikacin (90.4%), and ceftolozane-tazobactam (86.5%) were found to be the most effective antibiotics for the isolates. MBL positivity was found to be 36.4% with the combined disc diffusion test, 32.7% with the double disc synergy test and 30.9% with the modified Hodge test.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Multi-Drug Resistance, Metallo Beta-Lactamase

İÇİNDEKİLER

ETİK SÖZLEŞME.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiii
1 GİRİŞ.....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4
2.1.1 Mikroskopik Özellikleri	4
2.1.2 Kültür Özellikleri	5
2.1.3 Biyokimyasal Özellikleri.....	7
2.1.4 Epidemiyoloji ve Patogenez.....	7
2.1.5 Virülans Faktörleri	8
2.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'nın Yaptığı Hastalıklar.....	13
2.2.1 Solunum Yolu İnfeksiyonları	13
2.2.2 Birincil Deri ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları	14

2.2.3	Üriner Sistem İnfeksiyonları	14
2.2.4	Gastrointestinal İnfeksiyonlar	15
2.2.5	Kulak İnfeksiyonları.....	15
2.2.6	Göz İnfeksiyonları.....	15
2.2.7	Endokardit ve Bakteriemi.....	16
2.2.8	Santral Sinir Sistemi İnfeksiyonları	16
2.2.9	Kemik ve Eklem İnfeksiyonları	17
2.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> İnfeksiyonlarının Tedavisi	17
2.4	Beta-Laktam Antibiyotikler	18
2.4.1	Penisilinler.....	18
2.4.2	Sefalosporinler.....	19
2.4.3	Karbapenemler	20
2.4.4	Monobaktamlar	22
2.4.5	Aminoglikozidler.....	22
2.4.6	Kinolonlar.....	23
2.4.7	Kolistin	23
2.5	Antimikrobiyal Direnç	24
2.6	Beta-Laktamazların Sınıflandırılması	26
2.6.1	Bush-Jacoby-Mederios Sınıflandırması	28
2.7	Beta-Laktamazların Tayini İçin Testler	32
2.7.1	Beta-Laktamaz Aktivitesi İçin Direkt Testler	32

2.7.2	Beta-Laktamaz Aktivitesi İçin İndirekt Testler.....	35
2.8	Metallo Beta-Laktamazlar (MBL)	37
2.9	Metallo Beta-Laktamazların Tespit Edildiği Yöntemler.....	41
2.9.1	Kombine Disk Difüzyon Testi	41
2.9.2	Çift Disk Sinerji Testi.....	42
2.9.3	Modifiye Hodge Testi	42
2.9.4	E-Test Yöntemi	43
2.9.5	Mikrodilüsyon Yöntemi (MDT).....	43
2.9.6	Moleküler Yöntemler	43
3	MATERYAL VE METOD	45
3.1	Çalışmada Kullanılan Bakterilerin Tanımı	45
3.2	Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	45
3.2.1	Mueller-Hinton Agar Besiyeri (MHA).....	46
3.2.2	Eosin Metilen Blue Agar (EMB).....	46
3.2.3	Antibiyotik Diskleri.....	46
3.2.4	Disk Difüzyon Yöntemi	47
3.3	Metallo Beta-Laktamaz (MBL) Aktivitesinin Araştırılması.....	48
3.3.1	Çift Disk Sinerji Testi.....	48
3.3.2	Kombine Disk Difüzyon Testi	48
3.3.3	Modifiye Hodge Testi	49
4	BULGULAR	50

4.1	Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları.....	53
4.2	Metallo Beta-Laktamaz Testi sonuçları	55
5	TARTIŞMA.....	59
6	SONUÇ VE ÖNERİLER	71
	KAYNAKLAR	72
	ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: <i>Pseudomonas</i> 'ların rRNA Homolojilerine Göre Gruplandırılması.....	5
Tablo 2.2: Beta-laktamazların Sınıflandırılması.....	34
Tablo 2.3: MBL Tespit Etme Yöntemleri.....	44
Tablo 3.1: Araştırmada Kullanılan Antibiyotik Diskleri	47
Tablo 4.1: <i>P. aeruginosa</i> suşlarının izole edildiği klinik örneklerle ve birimlere göre dağılımı	50
Tablo 4.2: Klinik örneklerin yoğun bakım üniteleri (YBÜ) ve servislere göre dağılımı	51
Tablo 4.3: <i>P. aeruginosa</i> suşlarının antibiyotik direnç profilleri (2020-EUCAST).....	53
Tablo 4.4: MBL Test Sonuçları	55

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: MHA besiyerinde <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
Şekil 4.1: <i>P. aeruginosa</i> suşlarının izole edildiği birimlere göre dağılımı	51
Şekil 4.2: Klinik örneklerin yoğun bakım üniteleri (YBÜ) ve servislere göre dağılımı	52
Şekil 4.3: <i>P. aeruginosa</i> suşlarının izole edildiği klinik örneklerle göre dağılımı.....	52
Şekil 4.4: <i>P. aeruginosa</i> suşlarının antibiyotik direnç profilleri (2020-EUCAST)	54
Şekil 4.5: MBL Test Sonuçları.....	56
Şekil 4.6: Çift Disk Sinerji Testi Örneği	56
Şekil 4.7: Kombine Disk Difüzyon Testi Örneği.....	57
Şekil 4.8:Modifiye Hodge Testi Örneği	58

KISALTMALAR LİSTESİ

ADP: Adenozin difosfat

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

EDTA: Etilendiamin Tetraasetik Asit

EMB: Eosin Metilen Blue

EUCAST: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

GSBL: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz

IL-8: İnterlökin-8

KF: Kistik Fibroz

LPS: Lipopolisakkarit

MBL: Metallo Beta-Laktamaz

MDR: Multi-Drug Resistant “Çoklu İlaç Direnci”

MDT: Mikrodilüsyon Testi

MHA: Mueller-Hinton Agar

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu

MPA: 2-Merkaptopropionik Asit

SVS: Steril Vücut Sıvısı

P. aeruginosa: *Pseudomonas aeruginosa*

PBP: Penisilin Bağlayıcı Protein

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyon

rRNA: Ribozomal Ribonükleik Asit

TLR: Toll Benzeri Reseptörler

YBÜ: Yoğun Bakım Ünitesi

1 GİRİŞ

Pseudomonas aeruginosa, klinik ve çevresel açıdan önemli ve geniş bir cins grubu olup doğada yaygın olarak bulunan *Pseudomonadaceae* familyasına aittir (Silby ve ark. 2011).

Bitki, hayvan ve insanlar için fırsatçı patojen olan *Pseudomonas* cinsi, büyük ve heterojen non-fermentatif bakteri topluluğudur (Murray ve ark. 2014:333).

Pseudomonas'lar, düz veya hafif kıvrımlı, yuvarlak uçlu, yaklaşık 0,5-1,0 x 1,5-4,0µm boyutlarında gram negatif çomaklardır. Birçoğu uçlarında bulunan bir veya birkaç kirpikten dolayı hareketlidirler. Sporsuz, aerop, katalaz ve genellikle oksidaz pozitif bakterilerdir (Bilgehan, 2000:177).

Basit ortam ve besin gereksinimleri nedeniyle kolay üreyebilen *Pseudomonas* türleri hastane ortamından önemli yerlerde, yiyeceklerde, lavabolarda, temizlik bezlerinde, çiçeklerde, solunum cihazları ve diyaliz ekipmanlarında, toprak, bitki, su gibi ortamlarda ve hatta bazı kökenler eser elementleri kullanarak distile suda bile üreyebilirler (Murray ve ark., 2014:333).

Pseudomonas'ların birçok yapısal faktör, enzim ve toksinleri vardır. Toksinleri virülanstan ve sık kullanılan antibiyotiklere dirençten sorumludur. *Pseudomonas* enfeksiyonları bağışıklık sistemi ve normal barsak florası baskılanmış kişiler, geniş spektrumlu antibiyotik kullanan hastalar ile sınırlı olan primer fırsatçı enfeksiyonlardır (Murray ve ark., 2014:333).

Pseudomonas'ın 200'den fazla türü olmasına rağmen en önemli ve en patojen türü *Pseudomonas aeruginosa*'dır (Murray ve ark., 2014). *Pseudomonas aeruginosa* insanda normal flora üyesidir. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda solunum sistemi,

üriner sistem, yanık, dış kulak yolu, göz ve yara infeksiyonlarından sorumlu fırsatçı patojendir (Tümer ve ark., 2015).

Dünya çapında nozokomiyal infeksiyonların %10-15'inden *Pseudomonas aeruginosa* sorumludur (Akduman Alaşehir ve ark., 2013). Bu türün neden olduğu hastane infeksiyonları sıklıkla yaşamı tehdit eder ve tedavisi zordur (Jung ve ark., 2004). Çoğu antibiyotiğe direnç göstermesiyle birlikte tedavi sırasında da direnç gelişmesinden dolayı tedavide problem yaratmaktadır. *P. aeruginosa*'da çoklu ilaç direnci önemlidir ve ülkemizde yoğun bakım ünitelerinde çoklu ilaç direnci %50'ye yaklaşmaktadır (Akduman Alaşehir ve ark., 2013).

Özellikle nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının kromozomal ve kazanılmış çok yönlü direnç mekanizmalarına sahip olması çoklu ilaç direnci gelişmesine neden olmaktadır. *P. aeruginosa*'da antibiyotik direnci porin proteinlerindeki değişiklikler nedeniyle membran geçirgenliğinin azalması, aktif effluks pompalama sistemi ile antibiyotiğin dışarı atılması ve enzimatik inaktivasyon ile kazanılır (Üsküdar Güçlü ve ark., 2013).

Beta laktamaz enzimleri *Pseudomonas* infeksiyonlarında en sık dirence neden olan etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu enzim, beta laktam grubu antibiyotiklerde bulunan beta laktam halkasının amid bağlarını parçalayarak etki eder. Metallo beta laktamazlar (MBL), plazmidler aracılığıyla taşınarak diğer bakterilere aktarılabilmesinden dolayı klinik açıdan önemli beta laktamaz enzimleri içerisinde (Yaman ve ark., 2014).

İlk olarak 1991'de Japonya'da MBL üreten *Pseudomonas aeruginosa* bildirilmesiyle metallo beta laktamazlar tanımlanmıştır. Daha sonra başta Japonya olmak üzere çeşitli Asya ve Avrupa ülkelerinden gram negatif çomaklarda özellikle *P.*

aeruginosa izolatlarında yeni MBL tespit edilmiş ve son yıllarda da hızlı bir şekilde artış göstererek dünya çapında yayılmaya başlamıştır (Bulut ve Çağlar, 2013). Epidemiyolojik çalışmalar yönünden ve tedavi yöntemlerini belirlemek için hastanelerin kendi izolatlarını takip etmesi ve antibiyotik direncini belirlemesi çok önemlidir (Akduman Alaşehir ve ark., 2013).

Bu çalışmada, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarında çoklu ilaç direncinin ve metallo beta laktamaz aktivitesinin belirlenmesiyle tedavide kullanılacak antimikrobiyal seçimi açısından klinisyenlere yol gösterici olmasının yanı sıra hastanemizde izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarında direnç gelişiminin takibi ve gelecekte oluşabilecek direnç gelişimini engellemek amacıyla gerekli tedbirlerin alınması sağlanacaktır.

2 GENEL BİLGİLER

Pseudomonas ve ilişkili non-fermentatif çomaklar, *Pseudomonadaceae* familyası içerisinde bulunur. Bitki, hayvan ve insanlar için fırsatçı patojenlerdir. Çok sayıda cinsi olmasına rağmen *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Acinetobacter*, *Moraxella* ve *Stenotrophomonas* bu familya için klinik açıdan önemli cinslerdir (Murray ve ark., 2014:333). Tablo 2.1’de *Pseudomonas*’ların gruplandırılması verilmiştir.

2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Daha önceki tarihlerde bazı yaralarda ve özellikle cerrahi operasyon sonrasında ameliyat yerinde ve gaz bezlerinde yeşil mavimsi bir irin olarak dikkat çekmiş ve 1882’de Gessard tarafından mavi irin etkeni olarak tanımlanmıştır (Bilgehan, 2000:177).

Doğada yaygın bir şekilde bulunan *Pseudomonas aeruginosa*, genellikle hastanelerde nemli ortamlarda bulunur. Bazen saprofit olarak insanlarda kolonize olabilir. Özellikle savunma sistemi bozulmuş insanlarda hastalığa neden olur (Brooks ve ark., 2007:263).

2.1.1 Mikroskopik Özellikleri

Pseudomonas aeruginosa genellikle 1,5-3,0 µm uzunluğunda ve 0,5 µm genişliğinde olan gram negatif çomaktır. Çift çift veya kısa zincirler halinde bulunabilir. Sporsuz ve kapsülsüzdür. Uç kısımlarında bulunan bir veya birden fazla kirpik ile hareketlidir (Bilgehan, 2000:177). Zorunlu aëropturlar ; fakat elektron alıcısı olarak

nitrat veya arjinini kullandıkları durumda anaerob olarak da üreyebilirler (Murray ve ark., 2014:333). *Pseudomonas*'lar rRNA homolojilerine göre beş gruba ayrılmıştır (Tablo 2.1).

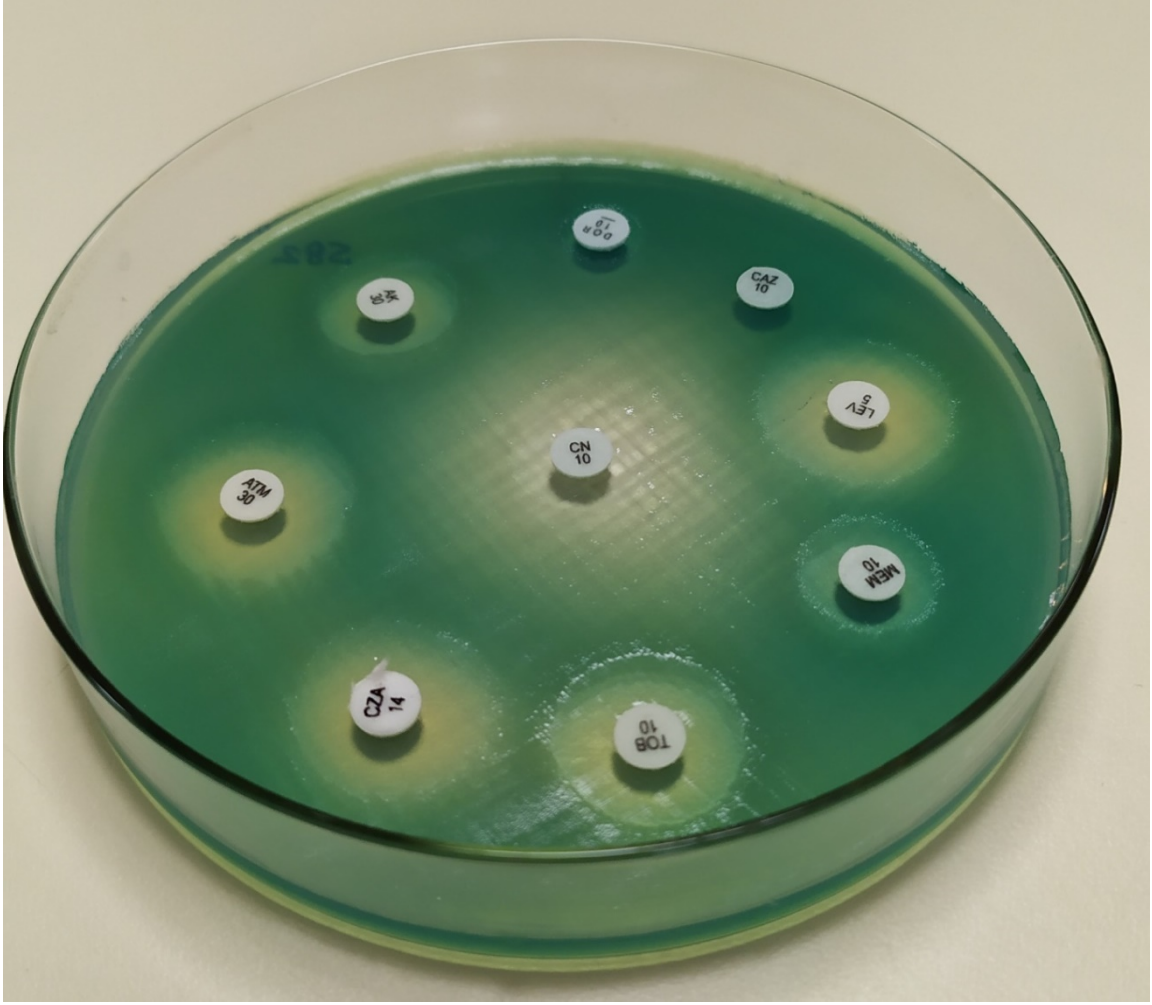
Tablo 2.1: *Pseudomonas*'ların rRNA Homolojilerine Göre Gruplandırılması

rRNA Homoloji Grubu ve Alt Grubu		Cins ve Tür
Grup 1	Fluoresan Grup	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas putida</i>
	Nonfluoresan Grup	<i>Pseudomonas stutzeri</i> <i>Pseudomonas mendocina</i>
Grup 2		<i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>Burkholderia mallei</i> <i>Burkholderia cepacia</i> <i>Ralstonia pickettii</i>
		<i>Comamonas species</i>
		<i>Acidovorax species</i>
		<i>Brevundimonas species</i>
Grup 3		
Grup 4		
Grup 5		<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>

Kaynak: Brooks ve ark., 2007.

2.1.2 Kültür Özellikleri

Optimal üreme sıcaklığı 30-37 °C'dir; fakat 41 °C'de üreyebilme özelliğine sahiptir (Bilgehan, 2000:177). Genel kullanım besiyerleri olan MacConkey agar ve kanlı agarda kolaylıkla ürer (Murray ve ark., 2014:337). MacConkey ve EMB'de renksiz koloniler oluşturur. TSI'da ürediğinde ise metalik yansı vermektedir (Levinson, 2008:150). Düz, yaygın koloni oluşturur ve kanlı agarda β-hemoliz yapar. Pyosiyanin üretimi ile yeşil pigmentasyon, pyoverdin üretimi ile sarı-yeşil pigmentasyon yapar (Murray ve ark., 2014:337). Bu bakteriye '*aeruginosa*'adı verilmesinin sebebi pigmentin alkali pH'ta mavi veya yeşilimsi renk oluşturduğu içindir (Sırıken ve Öz, 2017). Bu tez çalışması kapsamında laboratuvarında izole edilen *Pseudomonas aeruginosa*'nın Muller-Hinton Agar besiyerindeki çekilen görüntüsü Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 2.1: MHA besiyerinde *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa kökenlerinin büyük bir kısmı pyosiyanın üretmektedir; fakat bu pigmentin oluşması üreme ortamına bağlı olduğu için laboratuvar stoklarında bu özelliklerini kaybedebilirler. Ayrıca bazı suşlar pyorubin üreterek kırmızı, pyomelanin üreterek kahverengi-siyah renk yapabilir (Bilgehan, 2000:179-180).

Kistik fibrozlu hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa*, aljinatın aşırı üretiminden dolayı mukoid koloni oluşturur (Brooks ve ark., 2007:263).

2.1.3 Biyokimyasal Özellikleri

Pseudomonas aeruginosa oksidaz ve katalaz pozitifdir. Glikoz ve bazı karbonhidratları oksidasyon yolu ile parçalayarak asit yaparlar. Laktoz ve Sakkarozu etkisizdirler. İndol ve hidrojen sülfür (H₂S) yapmazlar. Nitratı nitrite çevirebilirler. Metil kırmızısı ve Voges-Proskauer testleri olumsuzdur. Lizin dekarboksilaz ve ornitin dekarboksilaz negatif iken L-arjinin dihidrolaz pozitifdir. KCN'ye dirençlidirler. *Pseudomonas aeruginosa* metilen mavisi ve prontosilin rengini yok etmesi ile *Pseudomonas fluorescens*'ten ayrılır. DNA'daki G+C oranı %67 mol'dur (Bilgehan, 2000:179).

2.1.4 Epidemiyoloji ve Patogenez

Pseudomonas aeruginosa insanın normal florasında bulunmasına rağmen esas olarak su ve toprakta bulunur. Nemli cilt bölgelerinde bulunur ve hastanede yatan hastaların solunum yollarında koloni oluşturabilir. Kolay üreyebildiği için solunum tedavisinde ve anestezide kullanılan aygıtlarda, intravenöz sıvılarda ve hatta arı su içerisinde bile üreyebilir (Levinson, 2010:138).

Pseudomonas aeruginosa tüm nozokomiyal infeksiyonların %11-13.8'ini oluşturmaktadır. Yoğun bakım ünitelerinde bu oran %13.2-26.6 gibi yüksek bir yüzdeye sahiptir (Driscoll ve ark., 2007).

Pseudomonas aeruginosa bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde, mukoz membranları ve deride doku harabiyeti olan geniş yanıklı hastalarda, intravenöz veya üriner kataterler kullanılan ve kistik fibroz gibi kronik solunum hastalığı bulunan kişilerde, kanser kemoterapisindeki nötropeni varlığında patojen olmaktadır (Brooks ve

ark. 2015:246, Levinson, 2008:149). Çoğu hastanede nozokomiyal pnömoniye neden olan bir bakteridir (Levinson, 2008:149).

Pseudomonas aeruginosa mukoza zarlarına ve deriye tutunarak kolonize olur, bölgede yayılır ve sistemik hastalık oluşturur. (Brooks ve ark., 2015:246). Patogenez, enzimler, endotoksin ve ekzotoksin gibi birçok virülans etkenine bağlıdır. *Pseudomonas aeruginosa*'nın endotoksini sepsis ve septik şok belirtilerine sebep olmaktadır. Ekzotoksinlerinden en iyi bilinen ekzotoksin A ise doku nekrozuna yol açmaktadır. Ayrıca elastaz ve organizmanın kana geçmesini kolaylaştıran ve histotoksik olan proteazlar gibi enzimlere de sahiptir. Piyosiyanin ile mukoza hücrelerine ve solunum yolundaki siliumlara zarar verir. ‘‘Tip 3 salgı sistemi’’ne sahip olan *P. aeruginosa* suşları daha virülandır. Çünkü bu salgı sistemi bakterideki ekzotoksinin direkt insan hücresine aktarılmasını sağlar ve toksin, nötralize edici antikorlardan korunmuş olur (Levinson, 2008:149).

2.1.5 Virülans Faktörleri

Pseudomonas aeruginosa özellikle son yıllarda görülme sıklığının artması, çeşitli virülans faktörleri üretmesi, antibiyotik direncinin sürekli artması, mortalite ve morbiditesinin yüksek olması ve bunlara bağlı olarak tedavisi zor infeksiyonların etkeni olması sebebiyle önemli bir bakteridir (Karatuna ve Yağcı,2008). *Pseudomonas aeruginosa* infeksiyonlarının patogeneğinde konağa ve bakteriye ait birçok faktör rol oynar (Maçın ve ark., 2017). Bakteri ilk olarak kolonizasyon yapar ve konak savunma sistemi bozulduğunda, bağışık yanıtın yetersiz kaldığı durumlarda kolonizasyon infeksiyona ilerler. Hastalık yapmada etkili olan faktörler; hücre yüzeyinde bulunan

virülans faktörleri ve hücre dışına salgılanan virülans faktörleri olmak üzere iki grupta incelenir (Karatuna ve Yağcı, 2008).

2.1.5.1 Hücre Yüzeyinde Bulunan Virülans Faktörleri

İnfeksiyon oluştururken konak hücreye yapışmak önemlidir. *Pseudomonas aeruginosa*'nın yüzeyinde bulunan kirpik, pili, lipopolisakkarit ve aljinat bakterinin konak yüzeyine yapışmasını kolaylaştıran dört yapısal bileşendir (Murray ve ark., 2014:335).

Kirpik (Flagella)

Kirpik (flagella), *Pseudomonas aeruginosa*'nın yüzeyinde bulunur ve yüzme şeklindeki hareketinden sorumludur. Epitel hücresi membranında bulunan asiola-GM1'e bağlanarak bakterinin adhezyonunu gerçekleştirir. Kirpik, Toll Benzeri Reseptörlere (TLR2 Ve TLR5) bağlanarak influmatuvar yanıtı tetikler ve IL-8 sentezinin başlatılmasını sağlar (Karatuna ve Yağcı, 2008).

Pili (Fimbriae=Pilus)

Bakterinin en önemli tutunma faktörü olan Piluslar, hücre yüzeyinden çıkarak konak epitel hücrelerine yapışmayı sağlar (Brooks ve ark., 2015:245).Pili, *P. aeruginosa*'da twitching adı verilen seğirme şeklindeki hareketten sorumludur. Hava yollarında hızla yayılmaya ve kolonizasyona neden olur. Epitel hücre membranındaki asilo-GM1'e bağlanır ve adezyonda görev alır (Karatuna ve Yağcı, 2008).

Lipopolisakkarit (LPS)

Önemli bir virülans faktörü olan LPS, *Pseudomonas aeruginosa*'nın hücre yüzeyinde bulunur. Lipopolisakkarit; Lipit A, kor polisakkarit ve O-özgül polisakkarit olmak üzere üç kısımdan oluşur (King ve ark., 2009). Lipit-A endotoksik özellikten

sorumludur (Murray ve ark., 2014:335). O-özgül polisakkarit *P. aeruginosa*'nın serotiplerinin tanımlanmasında önemlidir. KF hastalarında *Pseudomonas aeruginosa*'nın çeşitli lipid-A mutantları bulunur ve bakterinin konağa karşı direncinin artmasını sağlar (Karatuna ve Yağcı, 2008).

Aljinat

Aljinat, bakteri hücre yüzeyindeki mannuronik ve glukuronik asidin tekrarlayan polimerlerinden oluşan ve mukoid yapıda olan bir ekzopolisakkarittir. Bakterinin adezyonunda görev alır. Aljinat sayesinde bakteri kolonize olduğu solunum yolu epiteli üzerine sabitlenir (Karatuna ve Yağcı, 2008). Aljinat, bakteriyi fagositozdan ve antibiyotik tedavisinden korur. Aljinat üretimini kontrol eden genler, mukoid yapıdaki *P. aeruginosa* kökenlerinin bulunduğu kistik fibrozisli veya diğer kronik solunum yolu hastalıkları olan kişilerde etkin olmaktadır (Murray ve ark., 2014:335).

2.1.5.2 Hücre Dışına Salgılanan Virülans Faktörleri

Pseudomonas aeruginosa çeşitli genler sayesinde hücre dışı proteinler ile ilişkili virülans faktörleri salgılar. Adezinler, hemolizinler, elastaz, pyosiyenin, piyoverdin, ekzotoksin, ekzoenzim S, proteazlar *P. aeruginosa* için tanımlanmış virülans faktörlerdir (Maçın ve ark., 2017).

Elastaz

Elastin, akciğerdeki proteinlerin %30'unu oluşturan ve akciğerlerin genişleyip daralmasını sağlayan bir proteindir. Elastini sinerjistik etki göstererek parçalayan iki enzim LasA (serin proteaz) ve LasB (çinko metalloproteaz)'dır. Hücre dışına tip 2 salgı sistemi ile salgılanan elastaz, infeksiyon başladığı zaman akciğerde hasara yol açar. Kompleman bileşenlerini, serum α 1-proteinaz inhibitörlerini indirger. Nötrofil

kemotaksis ve fonksiyonlarını inhibe ederek akut infeksiyonlarda doku hasarı ve yayılıma sebep olarak patogeneizde önemli bir rol oynar. Kronik *Pseudomonas* infeksiyonları enfekte dokuda immün kompleks birikmesi ile birlikte, LasA ve LasB'ye karşı antikor oluşumu ile karakterizedir (Murray ve ark., 2014:335, Karatuna ve Yağcı, 2008).

Alkali Proteaz

Pseudomonas aeruginosa'nın fibrinoliz etkisi gösteren metalloproteazıdır ve alkali pH değerlerinde optimal etki gösterir. Akut akciğer hasarlarında alveoller içerisindeki fibrini eriterek infeksiyonun yayılımına neden olur. Kornea infeksiyonlarının patogenezinde ve konak bağışık yanıtında etkisi vardır (Murray ve ark., 2014:335, Karatuna ve Yağcı, 2008).

Piyosyanin

Pseudomonas'lar içerisinde sadece *P. aeruginosa* tarafından üretilen, bakteriye mavi-yeşil renk veren bir virülans faktörüdür. Solunum yolundaki epitelyal hücrelerde siliyal fonksiyonları inhibe ettiği gösterilmiştir (Maçın ve ark., 2017). Hidrojen peroksit ve süperoksidin üretimini katalize eder. Nötrofil aktivasyonunun artmasını sağlayan interlökin-8 (IL-8) salınımını uyarır (Murray ve ark., 2014:335).

Piyoverdin (Fluorescein)

Bakterinin agara yeşilimsi renk vermesini sağlayan floresan bir pigmenttir (Brooks ve ark., 2015:245). *Pseudomonas aeruginosa*'nın metabolizması için çevredeki demiri bağlayarak bakteriye demir sağlayan bir siderofordur. Ayrıca Eksotoksin A üretimini ve diğer virülans faktörlerinin salınımını düzenleyerek patogeneizde rol oynar (Murray ve ark., 2014:335, Karatuna ve Yağcı, 2008).

Proteaz IV

Pseudomonas aeruginosa patogeneğinde etkili olduğu, son çalışmalarda ise A, D ve B surfaktan proteinlerini yıktığı ve akciğer infeksiyonlarında rol oynadığı belirtilmiştir (Karatuna ve Yağcı, 2008).

Fosfolipaz C

Isıya duyarlı bir hemolizindir. Lipid ve lesitin bağlarını kırarak doku hasarına yol açar (Murray ve ark., 2014:335). Hemolitik fosfolipaz C ve hemolitik olmayan fosfolipaz C olmak üzere iki çeşidi vardır. Hemolitik fosfolipaz C, fosfatidilkolini ve sfingomyelini parçalar. Hemolitik olmayan fosfolipaz C ise fosfatidilkolin ve fosfatidilserini parçalar. Fosfolipaz C, tip 2 salgı sistemi ile hücre dışına salınır. Akut akciğer hasarı patogeneğinde ve konağın nötrofil oksidatif yanıtını baskılamada görev alır (Karatuna ve Yağcı, 2008).

Ramnlipid

Hemolitik etkili bir hemolizindir. Yapısında ramnoz bulunan glikolipitten dolayı biyosurfaktan etki gösterir. Deterjana benzeyen etkisiyle akciğer slfaktanı fosfolipitlerini çözer ve fosfolipaz C'nin etki etmesini sağlar. Solunum yollarındaki mukosiliyer taşınımını ve silya fonksiyonlarını inhibe eder (Karatuna ve Yağcı, 2008).

Ekzotoksin A (ExoA)

Deney hayvanları için öldürücü ve nekrotik etkisi olan, protein yapısında, ısıya dayanıksız bir ekzotoksindir (Bilgehan, 2000:182). Patojen *P. aeruginosa* kökenlerinin ürettiği en önemli virülans faktörüdür ve bağışıklık sistemini baskılar. Bu toksin ökaryotik hücrelerde peptit zincirlerinin uzamasına engel olarak protein sentezinin

durdurulmasında rol oynar. Yanık yaralarındaki dermatonekroz, korneal ve doku hasarına sebep olur (Murray ve ark., 2014:335).

Ekzoenzim S ve T

Adenozin difosfat (ADP) ribozil transferaz aktivitesini gösteren ve *P. aeruginosa* tarafından üretilen hücre dışı enzimlerdir. Tip III salgı sistemi proteinler ökaryot hücrelere sunulduğu zaman bakterilerin yayılmasını sağlayan epitel hücrelerinde hasar, doku invazyonu ve nekrozu meydana gelmektedir (Murray ve ark., 2015:335).

III salgı sistemi

2.2 *Pseudomonas aeruginosa*'nın Yaptığı Hastalıklar

P. aeruginosa genellikle sağlıklı kişilerin doğal savunma mekanizmasından dolayı enfeksiyon oluşturmaz; fakat bağışıklığı sistemi baskılanmış ve hastanede yatan kişilerde mortalitenin önemli bir etkenidir (Yaman ve ark., 2014). *P. aeruginosa* özellikle kistik fibrozlu hastalarda pulmoner hastalıklara, nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonlarına, bakteriyemiye, deri ve yara enfeksiyonlarına, endokardit ve menenjit gibi hayatı tehdit eden birçok hastalığa neden olmaktadır (Aktaş ve ark., 2012).

2.2.1 *Solunum Yolu Enfeksiyonları*

Klinikte hastaya uygulanan entübasyon, bronskopi ve solunum aygıtlarının takılmasından sonra solunum yolu enfeksiyonları görülmektedir (Bilgehan, 2000:185). Asemptomatik kolonizasyon, trakeobronşite ve nekrotizan bronkopnomoniye neden olmaktadır. Özellikle kistik fibrozlu hastalar, başka kronik akciğer enfeksiyonu bulunan hastalar ve nötropenili hastalarda kolonizasyon yapmaktadır. Kistik fibrozlu

hastalardan izole edilen mukoid kökenler birçok antibiyotiğe dirençli olduğu için yok edilmesi zordur (Murray ve ark., 2014:336).

2.2.2 Birincil Deri ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları

P. aeruginosa yanık yaralarında deri infeksiyonlarına neden olan bir bakteridir. Ciddi yanığı bulunan kişilerde, yaraya kolonize olduktan sonra doku nekrozu, lokalize damar hasarı ve bakteriyemiye sebep olmaktadır. Yanık yerinin nemli olması ve yaraya nötrofillerin girişinin yetersiz olması hastaların bu infeksiyonlara yakalanma riskini artırmaktadır.

Folikülitler; sıcak su muslukları, yüzme havuzları, jakuziler gibi sulara *Pseudomonas* bulaşması sonrası bu sular ile teması olan kişilerde görülen bir infeksiyondur.

Özellikle aknesi bulunan, depilasyon ve manikür yaptıran kişilerde infeksiyonlara neden olmaktadır. *P. aeruginosa*, tırnak üzerine bası gibi hasarlardan sonra gelişen osteokondritin (kemik ve kıkırdak enflamasyonu)'nin de etkenidir (Murray ve ark., 2014:336).

2.2.3 Üriner Sistem İnfeksiyonları

Pseudomonas aeruginosa sonda, sistoskop veya üriner katater uygulanan kişilerin idrar kesesinde infeksiyona neden olabilir. Sistit ve bakterilerin yukarı doğru ilerlemesi ile piyelit, piyelonefrit görülür (Bilgehan, 2000:184, Murray ve ark., 2014:337).

2.2.4 *Gastrointestinal İnfeksiyonlar*

P. aeruginosa'nın neden olduğu gastrointestinal infeksiyonlar genellikle yenidoğanlarda ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde görülür. Oropharinksten rektuma kadar tüm gastrointestinal sistemde infeksiyon yapabilir. *Pseudomonas* sepsisi için gastrointestinal sistem önemli bir giriş yeridir. Kansere hastalarının uzun süre hastane ortamında bulunmaları, geniş spektrumlu antibiyotik kullanmaları ve kemoterapi sonrası nötroopenik olmaları nedeniyle infeksiyon riskleri daha yüksektir (Vahaboğlu ve Akhan, 2008:2183).

2.2.5 *Kulak İnfeksiyonları*

Çocuklarda orta kulak iltihabına neden olur (Bilgehan, 2000:185). Eksternal otitin etkeni olan *P. aeruginosa* yüzücülerde önemli bir risk faktörüdür ve ‘‘yüzücü kulağı’’adı verilen hastalığa yol açar. Kurutucu ürünler ve topikal antibiyotikler ile risk azaltılabilir. Ayrıca kronik otitis mediaya ve diyabetli, yaşlı kişilerde malign eksternal otite neden olur (Murray ve ark., 2014:337).

2.2.6 *Göz İnfeksiyonları*

Pseudomonas aeruginosa ile kontamine olmuş suyla temas sonucu ve korneaya travma nedeniyle göz infeksiyonları gelişmektedir. Tedavisinde geç kalınırsa korneal ülser görülür (Murray ve ark., 2014:337). *P. aeruginosa* mikrobiyal keratitin etkenidir ve hızla ilerleyip kornea delinmesine ve erimesine yol açarak görme kaybına neden olabilir. Kontakt lens kullanan kişiler özellikle *P.aeruginosa* keratitin gelişimine duyarlıdır (Oka ve ark., 2015).

2.2.7 Endokardit ve Bakteriyemi

P. aeruginosa sürekli ilaç kullanan kişilerde doğal kalp kapağına ve prostetik kalp kapağına yerleşerek infektif endokardite neden olur. Amerika Birleşik Devletleri'nde *Pseudomonas*'ın neden olduğu endokarditli hastaların %90'ının ilaç bağımlısı olduğu bildirilmiştir. En çok triküspid kapakta enfeksiyona neden olmasına rağmen pulmoner, aortik veya mitral kapak enfeksiyonlarına da rastlanmaktadır (Vahaboğlu ve Akhan, 2008:2177).

Pseudomonas bakteriyemisinin klinik bulgu ve belirtileri diğer Gram-negatif bakterilerin neden olduğu bakteriyemi ile hemen hemen aynıdır; fakat *P. aeruginosa*'ın bağışıklık sistemi zayıf kişilerde hastalığa neden olması ve virülansından dolayı mortalitesi daha yüksektir. Bakteriyemi nötropenili, geniş yanığı bulunan kişiler, diyabetli ve hematolojik malignansilerde çok daha fazla görülür. Deri ve yumuşak dokular enfeksiyonları, alt solunum yolu enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları bakteriyemiye neden olur. Bakteriyemi hastalarının bazılarında deri lezyonları görülebilir. Lezyonlar mikroskopik olarak incelendiğinde bol miktarda organizma ve nötrofil azlığı görülür (Vahabgolu ve Akhan, 2008:2179, Murray ve ark., 2014:337).

2.2.8 Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları

P. aeruginosa, kafa travması, cerrahi girişimler, kulak veya paranasal sinüs gibi kaynaklar, üriner sistem, endokart veya akciğerlerdeki bakteriyemi sırasında menenjit ve beyin apseline neden olur. *P. aeruginosa* kanser hastalarında menenjitte neden olan etkenler arasında ikinci sıradır. İlk sırada *Listeria monocytogenes* vardır. Beyin apsesi etkeni olarak ise *Escherichia coli*'den sonra en sık karşılaşılan etkindir. Menenjitte ateş, baş ağrısı ve zihin bulanıklığı görülür (Vahaboğlu ve Akhan, 2008: 2179).

2.2.9 Kemik ve Eklem İnfeksiyonları

Pseudomonas'ın neden olduğu kemik ve eklem enfeksiyonu yaşlılarda, çocuklarda, kronik veya altta yatan hastalığı bulunan kişilerde görülür. Çoğunlukla İV ilaç bağımlılarında üriner sistem, pelvik enfeksiyonları, cerrahi girişim, travma veya yumuşak doku enfeksiyonlarından sonra gelişir. Özellikle çocuklarda görülen ayakta ufak delici yaralardan sonra gelişen osteokondritin de etkeni *P.aeruginosa*'dır (Vahaboğlu ve Akhan, 2008:2181-2182).

2.3 *Pseudomonas aeruginosa* İnfeksiyonlarının Tedavisi

Pseudomonas aeruginosa'nın birçok antibiyotiğe dirençli olması ve hastaların bağışıklık sistemlerinin baskılanmasından dolayı antibiyotik etkinliği düşerek tedavisi zorlaşır. Tedavi esnasında duyarlı organizmalar dahi direnç geliştirebilir. Antibiyotikleri inaktivite eden enzimlerin indüklenmesi (örn:β-laktamaz), dirençli organizmanın duyarlı organizmaya plazmid aracılı direnç iletimi ya da dış membran proteinlerini kodlayan genlerde mutasyon olması ile direnç gelişir. Bu yüzden etkili bir tedavi için antibiyotiklerin kombinasyonu yapılarak tedavi edilmelidir. Tek ilaç kullanıldığında bakteri kolayca direnç geliştirir (Murray ve ark., 2014:338, Brooks ve ark., 2007:247).

P. aeruginosa tedavisinin etkili olması için piperasilin gibi geniş spektrumlu bir penisilin ile tobramisin gibi bir aminoglikozid kombine edilir. *P. aeruginosa* tedavisinde kullanılan diğer etkili ilaçlar; meropenem, imipenem gibi karbapenemler, aztreonam, siprofloksasin de dahil florokinolonlardır. Seftazidim, sefepim, sefoperazon gibi sefalosporin grubu antibiyotikler de etkilidir. Nötropeni olan hastalarda seftazidim ve aminoglikozid birlikte kullanılır. İlaçlara duyarlılık bölgeler arasında farklılık gösterebilir. Bu yüzden duyarlılık testleri yapılarak antimikrobik tedavi

seçimine karar verilmelidir. Kromozomal β -laktamazlar, geniş spektrumlu β -laktamazlar, atım pompası ve porin kanallarında oluşan mutasyonlar nedeniyle *P. aeruginosa*'da çoklu ilaç direncinin gelişmesi tedavide önemli bir sorun haline gelmiştir (Brooks ve ark., 2007:248).

2.4 Beta-Laktam Antibiyotikler

Beta-laktam antibiyotikler, bakteri hücre duvarını inhibe edip bakterisid etkiye sahip antibakteriyel kemoteraptiklerdir. Son yıllarda infeksiyon etkenlerinin direnç mekanizmaları güçlenmesine rağmen pek çok hastalığın tedavisinde beta laktam antibiyotikler başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Ayaz, 2015:266).

Beta-laktam antibiyotiklerin yapısında bir azot ve üç karbon olmak üzere doymuş bir beta-laktam halkası bulunur. Bunlardan monolaktamlarda beta-laktam halkası tek başına bulunur; fakat diğer gruplarda beta-laktam halkası beş ya da altı üyeli başka bir halka ile birleşmiş durumdadır. Beta-laktam antibiyotikler grubunda penisilinler, sefalosporinler, monolaktamlar ve karbapenemler bulunur. Beta-laktam halkasını parçalayıp penisilinlere karşı direnç gelişmesinde önemli bir rolü olan beta-laktamaz enzimlerini inhibe eden klavulanik asit, tazobaktam ve sulbaktamın yapısında da beta-laktam halkası bulunur (şadan, 2003).

2.4.1 Penisilinler

1928 yılında Sir Aleksander Fleming, araştırma yaparken besiyeri kontamine olmuş ve *Penicillium notatum* mantarının etrafında bakteri üremediğini grmuştr ve bunu sağlayan maddeye, sentezlendiği yeşil renkli kf mantarının isminden dolayı ‘‘penisilin’’adını vermiştir. Daha sonra 1939 yılından itibaren Florey, Chain ve

Abraham penisilin üzerinde çalışarak farmakolojik özelliklerini tanımlamışlardır (Ayaz, 2008:267).

Penisilinler, yan etkilerinin az olması ve bakterisid özelliklerinden dolayı günümüzde en çok tercih edilen antibiyotik grubudur. Tarihte ilk penisilin kullanılmaya başlamasından sonra başka antimikrobik ajanlar üretilmesine rağmen hala çok geniş kullanıma sahiptir ve yeni türevleri geliştirilmeye devam etmektedir. Penisilin yapısında 6-aminopenisilanik asit (6-APA) çekirdeği bulunur. Bu çekirdek tiazolidin halkası ile ona yan zincirle bağlanan beta-laktam halkasından oluşur (Yıldırım Baştemur, 2019).

Karboksipenisilinler (karbenisilin, tikarsili) ve üreidopenisilinler (piperasilin, azlosilin, mezlosilin) *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde etkili penisilinlerdir (Ayaz, 2008:271).

2.4.2 Sefalosporinler

Sefalosporinler, ilk defa 1948'de İtalyan bilim insanı Giuseppe Brotzu tarafından *Cephalosporium acremonium* adı verilen küf mantarından izole edilmiştir ve tifo etkeni *S. typhi* üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir (Sakarya, 2008:278).

Sefalosporinler, beta-laktam antimikrobiyal ajanların büyük bir grubudur. Düşük toksisite oranları, nispeten geniş spektrumlu olmaları ve uygulama kolaylığı sefalosporinlerin olumlu özelliğidir (Marshall ve ark., 1999).

Temel yapısı, beta-laktam halkasının sülfür bulunan dihidrotyazin halkasıyla birleşmesi sonucu meydana gelen sefam çekirdeğinden oluşmaktadır. Temel sefam halkasının 1,3, ve 7. pozisyonlarında meydana gelen değişiklikler ile antibakteriyel ve

farmakolojik özellikleri farklılık gösterir. Diğer beta-laktam antibiyotiklerde olduğu gibi hücre duvar sentezini bozarak etkili olurlar (Sakarya, 2008:280).

Sefalosporinler mikrobiyal spektruma göre sınıflandırılır ve dört kuşakta incelenir. Birinci kuşak sefalosporinler; enterokoklar ve MRSA dışındaki gram pozitif koklar üzerinde etkilidir. *E. coli*, *Proteus* ve *Klebsiella* gibi gram negatif çökmaklara da orta düzeyde etkilidir. İkinci kuşak sefalosporinler; gram negatif basiller üzerinde etkilidir; fakat değişken miktarda gram pozitifler üzerinde de etkili olan heterojen bir gruptur. *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkili değildir. *Haemophilus influenza* ve *Bacteroides fragilis* üzerinde etkilidir. Üçüncü kuşak sefalosporinler; gram negatif etkinlikleri çok güçlü; fakat gram pozitif etkinlikleri zayıftır. Nozokomiyal gram negatif bakteriyemilerin tedavisinde üçüncü kuşak sefalosporinler büyük oranda faydalıdır. Bu grupta bulunan seftazidim, *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde çok güçlü bir etkiye sahiptir. Şiddetli olan melioidioz (*Burkkolderia pseudomallei* infeksiyonu) tedavisinde de seftazidim hayat kurtarıcı olarak tercih edilir. Dördüncü kuşak sefalosporinler; en son tanımlanan gruptur. *P. aeruginosa* da dahil pek çok gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerinde etkilidir. Diğer sefalosporin kuşaklarından farkı ise, indüklenabilir beta-laktamaz ve bazı genişlemiş spektrumlu beta laktamaz salgılayan bakterilerde etkin olmasıdır. MRSA ve enterokok'lara etkisizdir. Anti psödomonal etkisi güçlüdür; ama *B. fragilis* üzerinde etkisizdir (Brooks ve ark., 2007:392, Sakarya, 2008:280-283).

2.4.3 Karbapenemler

Karbapenemler, günümüzde kullanılan antibiyotikler arasında en geniş antibakteriyel etki spektrumuna sahip olan gruptur. GSBL (Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz) ve kromozomal Amp C beta-laktamaz enzimlerine dirençlidir.

Karbapenem grubunun ilk ilacı olan imipenem; birçok gram negatif basile, gram pozitif mikroorganizmalara ve anaeroplara etkilidir. Türkiye’de imipenem ve meropenem kullanılmaktadır. Ertapenem, Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri’nde, karbapenemin diğer üyesi olan faropenem ise Japonya’da kullanılmaktadır (Şenol, 2008:288, Brooks ve ark.,2007:393). Karbapenem grubu antibiyotikler, bakteri hücre duvar sentezini Penisilin Bağlayan Proteinlere (PBP) bağlanıp inhibe ederler. Karbapenemlere direnç gelişme potansiyeli, diğer beta-laktam antibiyotiklere göre daha azdır; fakat porin değişiklikleri, efluks pompa sistemi ve karbapenemaz enzimleri sebebiyle karbapenemlere de direnç gelişebilir (Öncül, 2017).

İmipenem BOS, vücut doku ve sıvılarına kolay geçer. Diğer ilaçlara dirençli bakteri infeksiyonlarında imipenem kullanılabilir; fakat *Pseudomonas* türleri imipeneme hızlı bir şekilde direnç geliştirebilir. O yüzden bir aminoglikozid ile beraber kullanımı önerilir. Meropenem, dipeptidazlarla inaktive olmayan ve konvulsiyon komplikasyonu görülme olasılığı az olan bir ilaçtır. Ertapenem, günde bir doz kullanımı ile seftriaksonun kullanıldığı alanlarda önerilen bir ilaçtır. Deri ve yumuşak doku infeksiyonları, karın içi infeksiyonlar, akut pelvik infeksiyonları, üriner sistem infeksiyonları ve toplumsal kökenli pnömonide kullanılmaktadır. Doripenem, son karbapenemdir. Gram negatif basillere karşı etkilidir. Doripenemin türe özgül PBP'lere etkili bir afiniteye sahip olduğu belirtilmiştir. Örneğin, doripenem *Pseudomonas aeruginosa*'nın PBP-3'üne afinite göstermektedir. *P. aeruginosa* için doripenem imipenemden daha etkilidir. Karbapenemler, *Stenotrophomonas maltophilia* için etkili değildir (Brooks ve ark., 2007:393-394, Şenol, 2008:292).

2.4.4 Monobaktamlar

Doğal monosiklik beta-laktam antibiyotik grubudur. Temel yapısında sadece beta-laktam halka vardır. Sadece gram negatif bakterilere etkilidir. Bu yüzden ciddi hastalıklarda tek başına kullanımı önerilmez. PBP'lere zayıf bağlandıkları için gram pozitif ve anaerob mikroorganizmalara etki etmezler (Şenol, 2008:293).

Monobaktam grubunun ilk üyesi aztreonamdır. *Pseudomonas aeruginosa* dahil birçok aerobik gram negatif basillere karşı etkilidir. Aztreonam, nefrotoksik değildir. İntramüsküler veya intravenöz yolla uygulanabilir. Aztreonamın böbrek fonksiyonu normal olan hastalar için önerilen doz aralığı 8 saatte birdir. Böbrek yetmezliği olan hastalar için doz aralığı ayarlanmalıdır. Aminoglikozidlere alternatif bir ilaçtır (Hellinger ve Brewer, 1999).

2.4.5 Aminoglikozidler

Aminoglikozidler, dar spektrumlu antibiyotik grubudur. Grupta streptomisin, kanamisin, amikasin, gentamisin, tobramisin, neomisin, sisomisin, netilmisin bulunur. En sık kullanılan antibiyotikler amikasin, gentamisin ve tobramisinidir. Amikasin en etkili ilaçtır. Gentamisin ve tobramisine dirençli gram olumsuz bakteri infeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Aminoglikozidler, bakteri ribozomunun 30S alt birimine tutunup işlevini önler ve protein sentezini durdurur. Aminoglikozidlere direnç; ribozoma bağlanma bölgesinde mutasyon gerçekleşmesi, antibiyotiğin hücre dışına atılmasının kolaylaşması, antibiyotiğin enzimatik modifikasyonu ve antibiyotiğin bakteri hücrelerine girmesinin zorlaşması ile kazanılır. En çok gram olumsuz bakteri infeksiyonları ve sepsis tedavisinde kullanılmaktadır. Bazı durumlarda hücre içine girişi

kolaylaştırmak için penisilinlerle birlikte kullanılmaktadır (Murray ve ark., 2014:204-205, Brooks ve ark., 2007:398).

2.4.6 Kinolonlar

Kinolonlar, infeksiyonların tedavisinde sık kullanılan önemli bir antibiyotik grubudur. Gram negatif bakterilerin çoğunda etkilidir. Bakteride DNA topoizomeraaz tip II (giraz) ya da topoizomeraaz tip IV enzimlerini inhibe eder. Kinolonların temel halkasına yan zincir eklenerek yeni kinolonlar oluşur. Yeni oluşan kinolonların, gram olumsuz bakteriler üzerinde etkisi artarken, gram olumlu ve anaerobik bakterilerin neden olduğu infeksiyonların tedavisinde de etkili olurlar.. Kinolonlar, üriner sistem infeksiyoları, cilt ve yumuşak doku infeksiyonları, solunum ve sindirim sistemi infeksiyonları, kemik infeksiyonları ve cinsel yolla bulaşan infeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (Yılmaz, 2017, Murray ve ark., 2014:207).

2.4.7 Kolistin

Kolistin, bakterilerin sitoplazmik membranının yapısını bozar ve bakterinin ölümüne neden olur. Dar spektrumlu antibiyotik olmasına rağmen tüm antibiyotiklere dirençli *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* ve karbapenemaz üreten bakterilerin tedavisinde tek seçenek olarak bilinmektedir. Tedaviden maksimum fayda sağlanması ve direnç gelişme riskinin minimum olması için ilacın kullanım dozu ve saat aralığı dikkatli bir şekilde ayarlanmalıdır (Köksal ve ark., 2012).

2.5 Antimikrobiyal Direnç

Antimikrobiyal ilaçlar, ilk defa Pasteur ve Jaubert tarafından şarbon basillerinin steril idrarda üreyip, başka bakteriler ile kirlenmiş idrarda üremediğinin tespit edilmesiyle keşfedilmiştir. İlk antimikrobiyal ilaç olan penisilin Sir Alexander Fleming tarafından bulunmuştur. Alexander Fleming, bakterilerin antimikrobiyal ilaçlara belirli bir süre maruz kaldığı zaman direnç geliştirebileceğini söylemiştir. Bir mikroorganizmanın antimikrobiyal ilaçların etkisine karşı koyabilme durumuna direnç denir. Hastanelerin yoğun bakım ünitelerinde yatan ve bağışıklık sistemi baskılanmış hasta sayılarında artış olması, antimikrobiyal ilaçların sık ve düzensiz kullanılması gibi nedenler antimikrobiyal ilaçlara direnci gün geçtikçe artırmıştır (Kayaş, 2019).

Bakterilerde ilaçlara direnç, dört ana mekanizma ile olmaktadır. Hücrelerdeki antibiyotik miktarının azaltılması (dış membran geçirgenliğinin azaltılması, iç membran geçirgenliğinin durdurulması veya aktif atım pompası ile), ilacın hedefinde değişiklik oluşturulması (mutasyon veya enzimatik değişiklikler ile), sentezlenen enzim ile ilacın inaktif duruma getirilmesi ve antimikrobik ilaçtan etkilenmeyen farklı bir metabolik yol kullanılması mekanizmaları ile direnç gelişmektedir (Gür, 2017).

Mikroorganizmalar, antimikrobiyal ilaçlara karşı farklı şekilde direnç geliştirebilir. Bir mikroorganizmanın aynı ilaca birden fazla direnç mekanizması geliştirmesine “çapraz direnç” denir. Mikroorganizmanın yapı ve etki mekanizması farklı pek çok antimikrobiyal ilaca direnç geliştirmesine “çoklu ilaç direnci” denir (Kayaş, 2019). *Pseudomonas aeruginosa*, birden fazla antibiyotiğe karşı yüksek bir dirence sahiptir (Hall ve ark., 2018).

Pseudomonas aeruginosa için çoklu ilaç direnci; piperasilin-tazobaktam, seftazidim, siprofloksasin-levofloksasin, gentamisin-tobramisin, imipenem-meropenem

arasında üç veya daha fazla antimikrobiyal gruba direnç olarak tanımlanır (WHO, 2018).

Pseudomonas aeruginosa'nın birçok antibiyotiğe karşı doğal dirence sahip olmasının yanında kullanılan antibiyotiklere karşı hızlı bir şekilde direnç geliştirmesi tedavinin zorlaşmasına neden olmaktadır. Klinik örneklerden izole edilen suşların antibiyotiklere direnç durumlarının tespit edilmesi uygun tedavi açısından önemlidir (Durmaz ve Toka Özer, 2015).

Antimikrobiyal ilaçlara direnç; doğal direnç, kazanılmış direnç, çevre ve koşullara bağlı direnç şeklinde sınıflandırılır.

Doğal Direnç: Bazı antimikrobiyal ilaçlar bakterinin genetik özelliğinden dolayı bakteriyi etkilemez. Bu özelliğe bakterinin doğal direnci denir.

Kazanılmış Direnç: Transpozon ya da plazmid DNA'sında mutasyon ile bakterinin genetik özelliğinde değişiklikler olabilir. Dirençli bakteri tarafından konjugasyon, transformasyon veya transdüksiyon aktarılması ile meydana gelen dirence kazanılmış direnç denir.

Çevre ve Koşullara Bağlı Direnç: Dokuda pH değişikliği olması, oksijen basıncındaki değişiklikler veya ilacın infeksiyon bölgesine ulaşamaması gibi sebeplerle ilaçlar in-vivo ortamda yanıt vermeyebilir (Kayaş, 2019).

Biyofilm oluşturma özelliğine sahip farklı *Pseudomonas aeruginosa* suşları, çeşitli çevresel faktörler altında direnci daha da artırır ve antimikrobiyal ajanlara karşı hayatta kalmalarını sağlar. Hastalara karşı düşük dozda birden fazla ilacın kullanılması, *P. aeruginosa* suşlarını çok çeşitli antibiyotiklere karşı daha dirençli hale getirmektedir (Mohanty ve ark., 2020).

2.6 Beta-Laktamazların Sınıflandırılması

Uzun süre önce penisilinin kullanılmasına başlanarak beta-laktamlar en önemli antibiyotik sınıfı olma özelliğini sürdürmektedir. Gram negatif bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere karşı direncinin en büyük nedeni bakteriler tarafından beta-laktamaz üretilmesidir. Özellikle gram negatif basiller tarafından üretilen beta-laktamazlar beta-laktam halkasını hidrolize ederek ilacı etkisiz duruma getirirler ve tedaviden sonuç alınamaz (Bülüş ve ark., 2003).

Bakteri kromozomunda ya da plazmid, transpozon, integron gibi hareketli genetik elemanlarda beta-laktamaz genleri bulunabilir. Bu enzimler gram negatif bakterilerde periplazmik aralıkta bulunur; fakat gram pozitif bakterilerde doğrudan dış ortama salınır. Substrat profili, moleküler yapı, inhibitörlere duyarlı olma ve hidrolitik etkinlikler gibi özellikler açısından farklı 350 civarında beta-laktam enzimi tanımlanmıştır (Gülay ve ark., 2001).

Beta-laktamazlar, substrata göre (örn : OXA, İMP, CARB), biyokimyasal özelliklerine göre (örn: SHV; sulfhydryl variant), genlerine göre (örn: AmpC), direnç fenotipine göre (örn: ARI: *Acinetobacter* to imipenem), izole edildikleri bakterilere göre (örn: PSE), suşlara göre (örn: P99), hasta adlarına göre (örn: TEM, ROB), hastaneye göre (örn: MIR), izole edildikleri bölgeye göre (örn: OHIO, GES), bulan kişiye göre (örn:HMS) isimlendirilebilmektedir (Gülay ve ark., 2001).

Beta- laktamazlar ile ilgili ilk sınıflandırma 1940 yılında Abraham ve Chain tarafından yapılmıştır. 1968'de Sawai ve arkadaşları sınıflandırmıştır (Gür, 1996). 1970 yılında ise Jack ve Richmond tarafından bir sınıflandırma yapılmıştır. 1973 yılında ise Richmond ve Skyes sınıflandırmayı geliştirmiştir. Daha sonra 1995 yılında Bush tarafından yeniden sınıflandırılma önerilmiştir ve 1995'te güncellenmiştir. Bush, beta-

laktamazları, penisilin, oksasilin, karbenisilin, sefaloridin, genişlemiş sprektrumlu sefalosporinler ve imipenem arasındaki substrat tercihlerine ve klavulanat tarafından inhibisyona duyarlılıklarına göre sınıflandırılmıştır (Livermore, 1995).

Moleküler yapılarına göre beta-laktamazlar, aktif bölgelerinde serin aminoasit veya çinko (Zn^{+2}) bulundurmalarına göre iki büyük gruba ayrılmaktadır. Bu iki büyük grubun üyeleri Ambler sınıflandırmasına göre dört moleküler sınıfta yer alır. Class A; serin penisilinazlar, Class B; metalloenzimler, Class C; serin sefalosporinazlar, Class D; oksasilini hızlı bir şekilde hidrolize eden serin beta-laktamazları içermektedir. Moleküler yapıya göre yapılan sınıflandırma sabittir ve mutasyon ile değişikliğe uğramamaktadır (Gür, 1996, Gülay ve ark., 2001).

Class A beta-laktamazlar, aktif bölgelerinde bir serin aminoasiti bulundurmaktadır. Temel substratları penisilinler olan beta-laktamazlardır. A sınıfı enzimler genellikle plazmidler ile taşınmaktadır. Class B beta-laktamazlar, aktif bölgelerinde çinko (Zn^{+2}) bağımlı bir thiol grubu bulunan metalloenzimlerdir ve bu enzimlerin birçoğu karbapenemaz aktivitesi taşımaktadır. Class C beta-laktamazlar, aktif bölgelerinde serin aminoasiti taşımaktadır. Genel olarak sefalosporinaz niteliğindedir. Kromozomal Amp C geni tarafından kodlandığı için AmpC tipi enzimler olarak da isimlendirilebilir. *Salmonella* spp. Dışında bütün gram negatif çomaklarda bulunmaktadır. C sınıfı beta-laktamazlar yapı olarak PBP'lere benzedikleri için, PBP'lerden köken aldıkları düşünülmektedir. Class D beta-laktamazlar, serin proteazlardır. Oksasilini hızlı bir şekilde hidrolize edebilme yeteneğindedir. 1995'te Bush, Jacoby ve Mederios, beta-laktamazların yapısal özelliklerine ilave olarak substrat profilleri, inhibitörlere duyarlılık gibi işlevsel özelliklerinin de değerlendirildiği bir

sınıflandırma yapmışlardır. Günümüzde en yaygın olarak bu sınıflandırma kullanılmaktadır (Gülay ve ark., 2001).

2.6.1 Bush-Jacoby-Mederios Sınıflandırması

Beta-laktamazların en yeni ve en yaygın kullanılan sınıflandırma şeması Bush-Jacoby-Mederios sınıflandırmasıdır. Karen Bush'un 1989 yılında yaptığı sınıflandırmada Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4 olmak üzere dört grup bulunmaktadır; fakat bu yeni sınıflandırmada 2be, 2br ve 2f olarak üç grup daha eklenmiştir (Gür, 1996). Aşağıda açıklanan bu sınıflandırma Tablo 2.2'de verilmiştir.

A- Bush Grup 1 Kromozomal Enzimler (AmpC Beta-Laktamazlar)

Bu grupta klavulanik asit ile inhibe olmayan sefalosporinazlar bulunmaktadır (Bush ve ark., 1995). Kromozomal beta-laktamazlardır. Klavulanik asit ve sulbaktamdan etkilenmezler. Sefaloridin ve sefalotini penisiline göre daha hızlı bir şekilde inhibe etmektedirler (Gür, 1996). Kloksasilin, aztreonam ve oksasilin tarafından inhibe edilmektedirler (Drawz ve Bonomo, 2010). Moleküler yapı olarak Class C'dedirler. İzoelektrik noktaları 7'den yüksektir. Kromozomal AmpC enzimleri ve ilave olarak plazmid kontrolündeki FOX-1, LAT-1, MIR-1, MOX-1, BIL-1 beta-laktamazları da Grup 1 içerisinde yer almaktadır (Gür, 1996).

Grup 1 enzimleri indüklenebilir özelliktedir. Beta-laktam varlığında salınırlar. Normal indüksiyon etkisi kalıcı olmayıp indükleyicinin etkisi geçince tekrar bazal düzeye dönmektedirler. İndüksiyona gerek olmaksızın yüksek oranda beta-laktamaz üreten (dereprese) mutantların bulunması endişe vermektedir. Örneğin 14 günlük seftazidim tedavisinden sonra bir *Pseudomonas aeruginosa* suşu 1 g/ml'den 32 g/ml'ye yükseltilmiş MIC'lerle seçilmiştir (Drawz ve Bonomo, 2010).

Karbapenem üzerine etkileri son derece azdır; fakat bu enzimlerin aşırı üretimi dış membran porin değişiklikleri gibi başka bir mekanizma ile birleştiğinde karbapenem direncine neden olabilmektedir (Gülay ve ark., 2001).

B- Grup 2 Beta-Laktamazlar

Substrat profillerindeki farklılık sebebiyle bu grup birkaç alt gruba ayrılmıştır. Hepsi de moleküler sınıf olarak Class A'da bulunmaktadır.

Grup 2a: Klavulanik aside duyarlı, penisilini hidroliz eden enzimler bu alt grupta bulunmaktadır. Gram pozitif bakterilerin penisilazlarının çoğu bu gruptadır. *Staphylococcus aureus*'un enzimleri, *Bacillus cereus*'un kromozomal beta-laktamazları, *Citrobacter amalonaticus*, *Eikenella corrodens* ve *Fusobacterium nucleatum*'un enzimleri bu grupta bulunmaktadır. Grup 2a enzimleri, penisilini sefalosporinlerden daha hızlı bir şekilde hidrolize etmektedir. Kloksasilin, bu enzimler için etkili bir inhibitör değildir (Bush, 1989, Gür, 1996).

Grup 2b: Bu grupta yer alan enzimler penisilini ve sefalosporinleri (geniş spektrumlu) hidrolize eder. Klavulanik asit ile inhibe olurlar. TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri ile OHIO-1 ve *Haemophilus influenzae*'da bulunan ROB-1 enzimleri bu grupta bulunmaktadır (Gür, 1996). TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi enzimler plazmid kaynaklı beta-laktamazlardır ve *Enterobacteriaceae* üyeleri arasında yaygın bulunup plazmidler aracılığıyla diğer bakterilere aktarılırlar (Dağlar ve Öngüt, 2012).Yeni kuşak sefalosporinler, aztreonam ve imipeneme düşük düzeyde hidrolitik aktivite göstermektedirler. Moleküler yapı olarak Class A'da bulunmaktadır (Gür, 1996). Grup 2b TEM-1 beta-laktamazı *E. coli* suşlarında penisilin ve dar spektrumlu sefalosporin direncine neden olan mekanizmalar arasında en sık karşılaşılanıdır. TEM-1

Enterobacteriaceae üyelerinin dışında *Haemophilus*, *Vibrio*, *Neisseria* suşlarında da bulunmaktadır (Gülay ve ark., 2001).

Gram olumsuz bakterilerde saptanan ilk plazmidle kodlanan enzim TEM-1'dir. SHV-1'de plazmidle kodlanan diğer önemli bir enzimdir. TEM-2 bir aminoasidin değişmesi ile ortaya çıkmıştır ve etki spektrumu TEM-1'e benzemektedir. TEM-2 ve SHV-1'de meydana gelen aminoasit değişiklikleri geniş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) olarak tanınan enzimlerin ortaya çıkmasını sağlamaktadır. Bu yapısal değişiklik 3. kuşak sefalosporinler (seftazidim, sefotaksim, seftriakson gibi) ve 4. kuşak sefalosporinleri (sefepim, sefpirom gibi) etkisiz hale getirmektedir (Bülüç ve ark., 2003).

Grup 2be: Bu gruptaki enzimlere "Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL)" denir. Daha önceki sınıflandırmada 2b'de yer alan; fakat genişlemiş spektrumlu β -laktamazları (seftazidim, sefotaksim, aztreonam) hidroliz edip klavulanik asit ile inhibe olan enzimler bu grupta yer almaktadır. TEM-3, TEM-26, SHV-2 ve aztreonamı hidrolize eden kromozomal K1 enzimleri bu gruptadır. İlk kez Türk izolatlarında saptanan PER-1 enzimi de bu grupta yer alan enzimler içerisinde (Gür, 1996).

GSBL'lerin en önemli özellikleri çoğunlukla klavulanik asit ve daha az oranda tazobaktam veya sulbaktam gibi inhibitörlere duyarlı olmalarıdır (Dağlar ve Öngüt, 2012).

Grup 2br: Klavulanik asittin etki etmediği geniş spektrumlu β -laktamazlar bu grupta bulunmaktadır. TEM-30'dan TEM-36'ya kadar tüm TEM enzimleri ve TRC-1 enzimi grup 2br'de yer almaktadır (Gür, 1996).

Grup 2c: Karbenisilini hidroliz eden ve klavulanik aside duyarlı enzimleri içermektedir. PSE-1, PSE-3, PSE-4 enzimleri, AER-1 enzimi (*Aeromonas hydrophila*'da bulunan), BRO-1 ve BRO-2 (*Moraxella catarrhalis*'de bulunan) enzimleri, SAR-1 (*Vibrio cholerae*'da bulunan) enzimi bu grupta yer almaktadır (Gür,1996).

Grup 2d: Kloksasilini hızlı bir şekilde hidroliz eden β -laktamaz enzimleri bu grupta bulunmaktadır. OXA enzimleri (OXA-12'den OXA-14'e kadar) bu gruptadır. OXA-11 Türkiye'de izole edilen bir suşta tanımlanmıştır. Bu enzimler klavulanik asit ve sulbaktama dirençlidir (Gür, 1996).

Sayıları 31'e bulan OXA tipi enzimlerden özellikle iki alt sınıf güncel önem taşımaktadır. Bunlardan birincisi özellikle *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında rastladığımız genişlemiş spektrumlu türevler, ikincisi ise karbapenemi hidrolize eden türevlerdir. OXA tipi enzimler kökenlerine göre 3'e ayrılır (Gülay ve ark., 2001).

- 1) OXA-2 türevi OXA-15
- 2) OXA-10 türevleri (OXA-11,12,13,14,16,17,19,28)
- 3) OXA-18

Grup 2e: Klavulanik asit ile inhibe olan sefalosporinazları içermektedir. *Bakteroides uniformis* ve *B. vulgatus*'da bulunan kromozomal CbIA ve CfxA enzimleri, *E. coli*'nin FEC-1, *Stenotrophomonas maltophilia*'nın L2, *Yersinia enterocolitica*'nın Blal enzimleri ve *Proteus vulgaris*'in indüklenebilen sefalosporinazı bu grupta bulunan enzimlerdir (Gür, 1996).

Grup 2f: Klavulanik asit ile inhibe olan ve karbapenem antibiyotikleri hidroliz eden enzimler bu grupta bulunmaktadır. Moleküler yapılarına göre Class A'da bulunmaktadırlar. *Enterobacter cloacae*'nin NMC-A ve IMI-1'i, *Serratia marcescens*'in Sme-1'i grup 2f'te bulunan enzimlerdir (Öcal, 2012, Gür, 1996).

C- Grup 3 Beta- Laktamazlar

Klavulanik asit ile inhibe olmayan metalloenzimlerin bulunduğu gruptur. Aktive olmak için Zn^{+} iyonuna ihtiyaç duymaktadırlar. Bundan dolayı bu grubun enzimleri klavulanat, tazobaktam, sulbaktam gibi klasik beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmezler. EDTA ile inhibe olan enzimlerdir. Moleküler yapı olarak Class B ‘ de bulunmaktadır. Bu grubun en önemli enzimleri *S. maltophilia*’nın L1 enzimi, *Aeromonas hydrophila*’nın kromozomal enzimleri ve *Bacteroides fragilis*’in CcrA’dır (Gülay ve ark., 2001, Gür, 1996).

D- Grup 4 Beta-Laktamazlar

Klavulanik asit ile inhibe olmayan penisilinazlar bu grupta bulunmaktadır. Molekül sınıfları henüz belirlenmemiştir. *Alcaligenes faecalis*, *B. fragilis*, *Campylobacter jejuni*’den izole edilen enzimler, *Clostridium butyricum*’un indüklenebilen enzimi, *E. coli*’nin plazmid kontrolündeki SAR-2 enzimleri grup 4 beta-laktamazlar için örnek enzimlerdir (Gür, 1996).

2.7 Beta-Laktamazların Tayini İçin Testler

2.7.1 Beta-Laktamaz Aktivitesi İçin Direkt Testler

Çoğu hastane *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ve *Neisseria spp.* için direkt testler kullanmaktadır. Daha çok kromojenik sefalosporinler, iyodin ve pH indikatörleri ile penisilin hidrolizi arasında renk değişimine bağlı bir ilişki kuran testler kullanılmaktadır (Livermore ve Brown, 2001).

A-Kromojenik Testler:Nitrosefin Testi: Kromojenik sefalosporin testidir. Hidrolize bağılı olarak sarıdan kırmızıya renk değişimi olmaktadır (Livermore ve Brown, 2001).

B-İyodometrik Testler: Penisiloyik asit penisilinin hidroliz ürünüdür. İyodini indirger ve böylelikle nişasta-iyodin kompleksi renksizleşir. Bu reaksiyon tüplerde veya kağıt striplerde beta-laktamaz aktivitesini belirlemek için kullanılmaktadır. Bu testler özellikle stafilokokal penisilinaz için duyarlıdır. Gram negatif bakterilerden beta-laktamazların çoğu için nitrosefinden daha az duyarlıdır(Livermore ve Brown, 2001) .

C-Asidimetrik Testler: Beta-laktam halkasının hidrolizi karboksil grubunu ortaya çıkarmaktadır. *Haemophilus influenzae* ve *Neisseria gonorrhoeae* için faydalı testlerdir. Tüp metodu ve kağıt strip metodu ile gösterilebilir (Livermore ve Brown, 2001).

Tablo 2.2: Beta-laktamazların Sınıflandırılması

Bush-Jacoby-Medeiros sınıflaması	Molekül Sınıfı	Tercih Edilen Substrat	Klavulanik asit	EDTA	Enzimler
Grup 1	C	Sefalosporinler	-	-	Gram negatif bakterilerin AmpC; MIR-1
Grup 2a	A	Penisilinler	+	-	Gram pozitif bakterilerin penisilinazları
2b	A	Penisilinler, Sefalosporinler	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Penisilinler, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	+	-	TEM-3 ile TEM-26, SHV-2 ile SHV-6, <i>Klebsiella oxytoca</i> K1.
2br	A	Penisilinler	±	-	TEM-30 ile TEM-36, TRC-1
2c	A	Penisilinler, Karbenisilin	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	D	Penisilinler, Kloksasilin	±	-	OXA-1 ile OXA-11, PSE-2 (OXA-10)
2e	A	Sefalosporinler	+	-	<i>Proteus vulgaris</i> 'in indüklenebilir sefalosporinazları
2f	A	Penisilinler, Sefalosporinler, Karbapenemler	+	-	<i>Enterobacter cloacae</i> 'nin NMC-A 'sı, <i>Serratia marcescens</i> 'in Sme-1'i.
Grup 3	B	Birçok β-laktam, Karbapenemler dahil.	-	+	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 'nın L-1'i, <i>Bacteroides fragilis</i> 'in Ccra'sı.
Grup 4	Belirlenmemiş	Penisilinler	-	?	<i>Pseudomonas cepacia</i> 'nın penisilinazı

Kaynak: Gür, 1996: 83.

2.7.2 Beta-Laktamaz Aktivitesi İçin İndirekt Testler

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) testleri, indüklenebilir beta-laktamaz testleri (İBL) ve metallo beta-laktamaz (MBL) testleri ile beta-laktamaz aktivitesi belirlenebilmektedir.

2.7.2.1 Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz(GSBL) Testleri

Enterobacteriaceae içinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bakteriler ilk olarak 1982 yılında İngiltere ve Arjantin’de izole edilmiştir (Sanders ve Sanders, 1992).

GSBL’nin saptanması için ilk aşama rutin olarak uygulanan antibiyogramlardaki seftazidim veya aztreonam direnci ve sefoksitin duyarlılığına bakılmalıdır. İkinci aşama ise GSBL’nin belirlenmesi ve doğrulanması için GSBL’lerin klavulanik asit ile inhibe olma özelliğine bakılmalıdır (Yanık, 2003). Bunlar;

1. Çift Disk Sinerji Testi
2. Klavulanik Asitle Kombinasyonlu MİK Deneyi
3. E-test
4. Otomatize Sistemler

2.7.2.2 İndüklenebilir Beta-Laktamaz Testleri

İndüklenebilir Beta-Laktamaz testleri; disk indüksiyon yöntemi ve indükleyici ajanın besiyerine eklenmesi olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır.

Disk İndüksiyon Yöntemi

0.5 McFarland bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton Agar besiyerine yayma ekimi yapılır. Antibiyogramda sefoksitin veya imipenem gibi güçlü bir beta-laktamaz indükleyicisinin yanına merkezden 15-20 mm uzaklıkta olacak şekilde aztreonam veya 3. kuşak sefalosporin (özellikle sefotaksim, sefutoksim gibi zayıf indükleyici) diski yerleştirilir. 35°C’de 18-24 saatlik inkübasyon sonrasında zayıf indükleyici disk zon çaplarının güçlü indükleyiciye bakan tarafında belirgin şekilde zon çapı daralmasının görülmesi (en az 4mm ve daha fazla daralmış olması) indüklenabilir beta-laktamaz üretimini gösterir (Öcal, 2012).

İndükleyici Ajanın Besiyerine Eklenmesi

0.5 McFarland bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton Agar besiyeri yüzeyine yayılır. Sonrasında aztreonam veya diğer zayıf indükleyici 3. kuşak sefalosporin diskleri standart miktarda imipenem içeren ve içermeyen besiyerlerine yerleştirilir. Plaklar 37°C’de bir gece inkübasyona bırakılır. İmipenem içeren besiyerindeki inhibisyon çapının imipenem içermeyene göre 3 mm veya daha dar olması indüklenabilir beta-laktamaz üretiminin pozitif olduğunu gösterir (Livermore ve Brown, 2001, Livermore, 1995, Sanders ve Sanders, 1992).

2.7.2.3 Metallo Beta-Laktamaz Testleri

MBL varlığını belirlemek için standardize edilmiş herhangi bir fenotipik yöntem yoktur; fakat önerilen birtakım testler vardır. Önerilen bu testlerin duyarlılık ve özgüllükleri bakteriye ve belirlenecek enzimlere göre farklılık göstermektedir. Bu konudaki çalışmalar devam etmektedir (Livermore, 2002).

MBL tayini için kullanılan testler;

- a. EDTA veya diğer enzim inhibitörü şelatörleri ile CAZ veya IMP arasındaki sinerji testleri
- b. Kombine E- Testler
- c. Modifiye Hodge Testleri

2.8 Metallo Beta-Laktamazlar (MBL)

MBL'ler Ambler sınıflamasına göre Sınıf B'de, Bush sınıflamasına göre Grup 3'te yer almaktadır. Metallo beta-laktamaz üreten gram negatif bakterilerin en önemli nozokomiyal patojenler arasında olduğu kabul edilmektedir. Bu bakterilerin kliniklerde çoğalması ciddi bir küresel sorun olmaktadır (Shibata ve ark., 2003). Metallo beta-laktamazlar genellikle grup 1 sefalosporinazlar ile kombine halinde üretilir. 1960 yılında ilk metallo beta-laktamaz enzimi *Bacillus cereus*'ta çinkoya bağımlı enzim olarak tanımlanmıştır (Bush, 1998).

MBL'ler aktif bölgelerinde bir Zn^{+2} iyonu bulunan enzimlerdir ve tanımlanmalarında bu çinko iyonuna bağlanarak enzimi inaktive eden EDTA, 2-merkaptopropionik asit gibi bileşiklerden yararlanılmaktadır (Gülay ve ark., 2001).

MBL'ler fonksiyonel olarak 3a, 3b ve 3c alt gruplarına ayrılırlar.

Grup 3a'da bulunan enzimler genellikle penisilinleri imipenemden daha hızlı hidrolize eden enzimlerin bulunduğu gruptur. *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *Shigella flexneri*, *K. pneumoniae* gibi değişik türlerde saptanan IMP 1-8 ve *P. aeruginosa*'da saptanan VIM 1-3 enzimleri bu grup içerisinde yer almaktadır.

Grup 3b enzimleri *Aeromonas* türlerinin metallo enzimlerini kapsar ve gerçek karbapenemazlardır. Karbapenemleri hidrolize etmek için yüksek özgülüğe sahiptir;

fakat karbapenem dışındaki beta-laktamlara etkileri nitrosefin hidrolizine dayanan testlerle gösterilemez çünkü varlıkları çok azdır.

Grup 3c *Legionella gormanii* metallo beta-laktamazlarını içerir. Yüksek sefalosporinaz aktivitesine sahiptir (Bush, 1998).

IMP (Imipenemase), VIM (Verona Imipenemase), SPM-1 (Sao Paulo Imipenemase), GIM-1 (German Imipenemase) ve SIM-1 (Seul Imipenemase) olmak üzere beş ayrı metallo beta-laktamaz türü vardır. IMP ve VIM türleri en sık rastlanan ve dünya çapında yaygın olan metallo beta-laktamazlardır. SPM Brezilya'da , GIM Almanya'da *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında tespit edilmiştir. Kore'de hem IMP-1 hem de VIM-2 türleri rapor edilmiştir (Lee ve ark., 2005).

IMP Tipi MBL'lar: *Pseudomonas aeruginosa*'da kanıtlanmış ilk karbapenemaz IMP-1'dir. Japonya'da 1992-1994 yılları arasında karbapeneme dirençli klinik *P. aeruginosa* izolatlarında bulunmuştur. İncelenen suşların %11'inde *blaIMP-1* saptanmıştır. Bu genin plazmid ve integrona yerleşik olduğu tespit edilmiştir. Singapur'daki iki hastaneden izole edilen karbapeneme dirençli *P. aeruginosa* suşlarında da IMP-1 metallo beta-laktamaz rapor edilmiştir. 2000'den 2001'e kadar dünya çapında çeşitli gram negatif bakterilerde MBL'lerin diğer IMP varyantları bulunmuştur (Strateva ve Yordanov, 2009).

IMP-1 enzimini kodlayan *blaIMP-1* geni pozitif olan *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında *blaIMP-1* geni negatif *P. aeruginosa* izolatlarına göre çoklu ilaç direncinin ve enfeksiyona neden olma eğiliminin daha fazla olduğu görülmüştür. Yapılan bir çalışmada *blaIMP-1* geni taşıyan *P. aeruginosa*'nın neden olduğu enfeksiyonlarda ölüm oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Hirakata ve ark., 2003).

VIM Tipi MBL'lar: VIM tipi enzimler transfer edilebilen MBL'ların ikinci temel grubudur. VIM enzimi ilk defa 1997 yılında İtalya'nın Verona kentinde *Pseudomonas aeruginosa* izolatında saptandığı ve imipeneme dirençli olduğu için VIM-1 adı verilmiştir. *blaVIM* geni sınıf 1 integron içindeki bir gen kasetindedir ve bu integron integraz genini taşımaktadır. *blaVIM* gen kasedine ek olarak aminoglikozid direncini kodlayan bir *aacA4* gen kasedini de taşımaktadır. *blaVIM* kasetindeki G+C içeriği %56'dır ve *blaIMP* (%40) kasetininkinden oldukça yüksektir (Lauretti ve ark., 1999).

VIM benzeri enzimlerden biri olan VIM-2 enzimi ilk kez 1996 yılında Fransa'nın güneyindenötropenik bir hastanın kan kültüründen izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* izolatında saptanmıştır. Bu izolat seftazidim, sefepim ve imipenemin de içinde bulunduğu çoğu beta-laktam ajana dirençliyen aztreonama duyarlı bulunmuştur. VIM-1 ve VIM-2 arasında %90 aminoasit ortalığı vardır. Dizi heterojenliği VIM-1 ve VIM-2'nin genellikle NH₂ ve karboksi terminal bölgelerinde görülmektedir. Daha sonra Fransa'nın Paris kentinde aynı *blaVIM-2* gen kasetini taşıyan 2 adet *Pseudomonas aeruginosa* izolatı tanımlanmıştır. VIM-2 üreten *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının İtalya ve Yunanistan'daki iki üniversite hastanesinde salgına neden olduğu bulunmuştur. Japonya, Güney Kore, Portekiz, İspanya, Polonya, Hırvatistan, Şili, Venezuela, Arjantin, Belçika en son ABD'de VIM-2 üreten *P. aeruginosa* izolatları bildirilmiştir. Son zamanlarda Tayvan'da VIM-3, VIM-2 ve VIM serisinin yeni varyantları *P. aeruginosa* izolatlarında tanımlanmıştır. VIM-3'ün aminoasit dizisi 2 aminoasit değişimi ile VIM-2'den farklıdır. VIM-4 Yunanistan'ın Larissa kentinde bir *Pseudomonas aeruginosa* izolatında bildirilmiştir. 2001'de imipenem kullanılmış bir hastadan elde edilmiştir. Bu suş bütün

beta-laktamlara dirençliyen aztreonama karşı aktivitesini korumaktaydı (MIK 16 mg/ml).VIM-4; VIM-1, VIM-2 ve VIM-3 ‘ ten tek bir amino asit değişikliği ile farklıdır (Ser175Arg). VIM-5, VIM-1’den beş amino asit değişikliği ile farklıdır.VIM-5 *Klebsiella pneumoniae*’de de tanımlanmıştır. VIM-5 enzimi taşıyan *P. aeruginosa* ülkemizde Ankara şehrinde izole edilmiştir. BlaVIM-5’e sahip *P. aeruginosa* aztreonam da dahil bütün beta-laktamlara dirençlidir.VIM-6 beta-laktamaz Singapur’da iki *P. putida* izolatında tanımlanmıştır. Bu izolatlar beta-laktamlara oldukça yüksek dirençliydi (imipenem ve meropenem için MIK >32µg/ml, seftazidim için MIK>256µg/ml, aztreonam için MIK>128µg/ml). VIM-6, VIM-2 den iki amino asit değişikliği ve VIM-3 ‘ ten sadece bir amino asit değişikliği ile farklıdır. VIM-7, Texas’ta karbapenem dirençli *P. aeruginosa*’da tanımlanmıştır. VIM-1 ile %77, VIM-2 ile %74 benzerlik göstermiştir ve böylece beta-laktam tipleri arasında 3. bir grup meydana gelmiştir. VIM-7, aztreonam dahil tüm beta-laktamlara ve polimiksin B hariç diğer tüm mevcut antibiyotiklere dirençli bir klinik izolattan tanımlanmıştır.Birkaç *blaVIM* gen dizisi de tanımlanmıştır; fakat resmi olarak yayımlanmamıştır. Bunlardan ilki Güney Amerika ve Kolombiya’da *P. aeruginosa*’dan izole edilen VIM-8’dir. Diğer ikisi sadece iki amino asit değişikliği gösteren ve Birleşik Krallık’tan izole edilen VIM-9 ve VIM-10’dur. Arjantin ve İtalya’da *P. aeruginosa*’dan izole edilmiş iki VIM-11 metallo beta-laktam tipleri de bildirilmiştir (Walsh ve ark., 2005).

SPM-1 Tipi MBL’lar: Brezilya’da *Pseudomonas aeruginosa* (suş 48-1997A) izolatından tanımlanan yeni bir metallo beta-laktamazdır. Enzimi taşıyan izolatın Gram-negatif bakterilerde meydana gelen infeksiyonların tedavisinde kullanılan kolistin dışında pek çok antimikrobiyal ajanlara dirençli olduğu bulunmuştur. SIM-1, aztreonam veya klavulanik asidi hidrolize etmemektedir. (Murphy ve ark., 2003). SIM-1 geni hem

E. coli hem de *P. aeruginosa*'da seftazidime dirençli hale getirebilen bir plazmid üzerinde taşınmaktadır (Toleman ve ark., 2002).

GIM-1 Tipi MBL'lar:2002 yılında Almanya'da beş çoklu ilaca dirençli *Pseudomonas aeruginosa*'da metallo beta-laktamaz tespit edilmiştir. Farklı hastalardan tespit edilen bu izolatlarda GIM-1 genine rastlanmıştır. İzolatların antimikrobiyal ajanlara yüksek dirençli olduğu sadece Polimiksin B'ye duyarlı olduğu tespit edilmiştir. GIM-1 'in amino asit sekanslarının IMP varyantlarından IMP-6, IMP-1 ve IMP-4'e, VIM varyantlarından VIM-7, VIM-1, VIM-4 ve VIM-5'e ve SPM-1'e belirli oranlarda benzerlik gösterdiği bulunmuştur (Castanheria ve ark., 2004).

2.9 Metallo Beta-Laktamazların Tespit Edildiği Yöntemler

2.9.1 Kombine Disk Difüzyon Testi

Metallo beta-laktamaz üreten gram negatif bakterilerin yayılmalarını önlemek için hızlı tespit edilmeleri önemlidir. Kombine disk testinin uygulanmasının ve yorumlanmasının kolay olması bu test için avantajdır (Yong ve ark., 2002).

Karbapenem dirençli *Pseudomonas aeruginosa*'da metallo beta-laktamaz varlığını tespit etmek için kullanılan bu yöntemde; test edilecek bakteriler standart disk difüzyon yöntemiyle Muller-Hinton Agar'a inoküle edilir ve iki imipenem (10µg) diski yerleştirilir. İmipenem disklerinden birisine pH: 8 olan 0.5 M EDTA solüsyonundan 10µl eklenir ve 35 °C'de bir gecelik inkübasyon sonrasında zon çapları incelenir. İmipenem diski ile imipenem-EDTA'lı diskin zon çaplarında 7 mm veya daha fazla fark olması MBL pozitifliği olarak yorumlanır (Yan ve ark., 2004).

2.9.2 Çift Disk Sinerji Testi

Bu test için imipenem dirençli suşlar 0.5 McFarland bulanıklığında hazırlanarak Muller-Hinton Agar yüzeyine ekim yapılır. Plak yüzeyi kuruduktan sonra imipenem (10µg) diski yerleştirilir. İmipenem diskinin 15-20 mm uzağına 0.5 M EDTA solüsyonu emdirilmiş boş disk yerleştirilir. Bir gecelik inkübasyon sonrasında inhibisyon zonunda düzensizleşme olması MBL pozitif olarak değerlendirilir (Öcal, 2012).

Arakava ve arkadaşları seftazidim dirençli suşlarda seftazidim-MPA (2-merkaptopropionik asit), seftazidim-SMA (Sodyum merkaptasetik asit), imipenem-EDTA, imipenem-SMA diskleriyle bu testi uygulanmışlardır ve bu iki disk arasında inhibisyon zonunun artmasını pozitif olarak yorumlamışlardır (Lee ve ark., 2003).

2.9.3 Modifiye Hodge Testi

Bu test Hodge ve arkadaşları tarafından penisilinaz üreten *Neisseria gonorrhoeae* ve başka bakterin tespitinde kullanılan Hodge testinin modifiye edilmesiyle oluşturulmuştur. Hodge testinde kullanılan penisilin duyarlı *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) yerine *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve penisilin diski yerine imipenem (10µg) kullanılarak yapılmaktadır (Lee ve ark., 2001).

İmipenem duyarlı *E.coli* ATCC 25922 suşunun McFarland 0.5'in 1/10 bulanıklığındaki süspansiyonu hazırlanarak MHA plağının yüzeyine disk difüzyon yönteminde olduğu gibi ekilir. Plağın merkezine ertapenem (10 µg) ya da meropenem (10 µg) diski yerleştirilir. Test edilecek suşlar, bu diskin dört bir kenarından periferde doğru çizgi ekimi şeklinde öze ile ekilir. 35°C'de 16-18 saatlik inkübasyondan sonra diskin etrafındaki inhibisyon zonunda çarpıklık görülmesi veya yonca görünümü pozitif olarak kabul edilir (Öcal, 2012).

2.9.4 E-Test Yöntemi

İmipenem veya seftazidime EDTA veya MPA eklenerek E-test stripleri geliştirilmiştir. Test edilecek bakteri MHA plaklara ekilir. Plaklar kuruduktan sonra E-test stripleri yerleştirilir. 35° C’de inkübasyona bırakılır. İmipenem/imipenem-EDTA MİK oranlarının 8 kat azalması veya fantom zonunun görülmesi MBL pozitif olarak değerlendirilir (Yan ve ark., 2004).

2.9.5 Mikrodilüsyon Yöntemi (MDT)

Mikrodilüsyon testi, *Pseudomonas aeruginosa*’da MBL üretiminin taranması için kullanılan basit, spesifik ve hassas bir yöntemdir. Test edilecek suşun imipenem MİK değeri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenir ve sonra metal şelatörlerden EDTA ile tekrar MİK değerlerine bakılır. MİK değerleri arasında sekiz kat azalma var ise MBL pozitif olarak değerlendirilir (Migliavacca ve ark., 2002).

2.9.6 Moleküler Yöntemler

Metallo beta-laktamaz üreten izolatların tespit edilmesinde moleküler yöntemler de kullanılmaktadır ve duyarlılığı fenotipik yöntemlere göre daha fazladır. MBL enzimi subtipleri sayılarının artmış olması moleküler yöntemler için bir dezavantajdır (Fluit ve ark., 2001).

MBL tespitinde kullanılan moleküler yöntemler (Walsh ve ark., 2005);

1. PCR
2. DNA Prob Yöntemi
3. Klonlama ve Sekanslama Yöntemi.

Tablo 2.3:MBL Tespit Etme Yöntemleri

Teknoloji	Test	Substrat-inhibitör Kombinasyonu	Avantajlar	Dezavantajlar
Klinik Mikrobiyoloji	Disk Yaklaşımı	Seftazidim ve 2-Merkaptopropiyonik asit	Kullanımı kolay	Disk ve disk yerleştirme mesafesi standartlandırılmamıştır ve yorumlanması her zaman kolay değildir.
	Disk Difüzyon	İmipenem ve EDTA	Kullanımı kolay ve yorumlanması da nispeten kolaydır.	Disk standartlaştırılmamıştır ve MBL üreten bakterie imipeneme duyarlı olabilir.
	Mikrodilüsyon Testi	İmipenem ve EDTA ve 1,10-fenantrolin	MİK'lerdeki azalmaya dayalı olması ve yorumlanması nın kolay olması	MBL üreten bakteriler imipenem duyarlı olabilir.
	E-Test	İmipenem ve EDTA	Kullanımı kolay ve yorumlanması da nispeten kolaydır.	MBL üreten bakteriler imipeneme duyarlı olabilir ve sınırda kalan vakalar gözden kaçabilir.
	Karbapenem Hidrolizi	Meropenem ve EDTA	Çok hassastır ve altın standart olarak kabul edilir.	Yorumlanması kolay değildir.
Moleküler Yöntemler	PCR		Gen ailesine özel ve gerçekleştirme si kolaydır.	Kişiye özel DNA primerleri gerektirir ve yeni varyantları algılamayabilir.
	DNA Prob Yöntemi		Özgül bir yöntemdir.	Her gen ailesi için proba ihtiyaç duyulması ve varyantlar arasında ayırım yapamaması
	Klonlama ve Sekanslama		Altın standarttır.	Verilerin yorumlanması deneyim gerektirir.

Kaynak: Walsh ve ark., 2005:318.

3 MATERYAL VE METOD

3.1 Çalışmada Kullanılan Bakterilerin Tanımı

Çalışmamıza Ekim 2019- Mart 2021 tarihleri arasında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda izole edilen nozokomiyal 178 *Pseudomonas aeruginosa* izolatu dahil edildi. Her hastadan bir örnek eklendi.

Laboratuvara gönderilen kan, beyin omurilik sıvısı (BOS), idrar, balgam, steril vücut sıvısı, yara yeri sürüntüsü gibi örnekler%5 koyun kanlı agar ve eozin metilen blue (EMB) agar besiyerine ekildikten sonra $36\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 18-24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. Aerob koşullarda üreyen Gram negatif, oksidaz pozitif ve karakteristik aromatik bir kokuya sahip bakteriler *Pseudomonas* ön tanısıyla tür ve cins belirlenmesi için otomatize tanımlama yöntemlerine alındı. İzolatların tür düzeyinde tanımlanması Vitek 2 ID/AST (bioMerieux, Fransa) otomatize bakteri tanımlama sistemi ile yapıldı. Tanımlanması yapılan suşlar, tüm testler çalışılana dek süt besiyeri (Conda, İspanya) içerisinde -80°C 'de muhafaza edildi.

3.2 Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Antibiyotik duyarlılık testleri EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) standartlarına göre Disk Difüzyon Yöntemi kullanılarak yapıldı.Kontrol suşu olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanıldı.

3.2.1 *Mueller-Hinton Agar Besiyeri (MHA)*

Muller-Hinton Agar besiyeri hazırlamak için toz halindeki ticari besiyerinden 28.5 gr MHA ve 10 gr Agar agar tartılarak 750 mL'lik distile su içerisinde çözündürüldü. 121°C'de 15 dakika süre ile otoklavlanarak steril edildi. Besiyerinin ısısı 45° C'ye düşünce 100 mm çaplı steril cam petrilere 4 mm kalınlığında olacak şekilde döküldü. Plaklar oda ısısında soğutulup kullanılabileceği kadar 4 °C'de buzdolabında saklandı.

3.2.2 *Eosin Metilen Blue Agar (EMB)*

Eosin Metilen Blue Agar besiyeri hazırlamak için toz halindeki ticari besiyerinden 28gr EMB ve 8 gr Agar agar tartılarak 750 mL'lik distile su içerisinde çözündürüldü. 121°C'de 15 dakika süre ile otoklavlanarak steril edildi. Besiyerinin ısısı 45° C'ye düşünce 100 mm çaplı steril cam petrilere 4 mm kalınlığında olacak şekilde döküldü. Plaklar oda ısısında soğutulup kullanılabileceği kadar 4 °C'de buzdolabında saklandı.

3.2.3 *Antibiyotik Diskleri*

Bu çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1:Araştırmada Kullanılan Antibiyotik Diskleri

Antibiyotik	Disk İçeriği	Marka, Menş
Piperasilin (PRL)	30 µg	Bioanalyses, Türkiye
Piperasilin-Tazobaktam (TPZ)	30-6 µg	Bioanalyses, Türkiye
Tikarsilin (TIC)	75 µg	Bioanalyses, Türkiye
Tikarsilin-Klavulanik asit (TIM)	75-10 µg	Bioanalyses, Türkiye
Sefepim (FEP)	30 µg	Bioanalyses, Türkiye
Seftazidim (CAZ)	10 µg	Bioanalyses, Türkiye
Seftazidim-Avibaktam (CZA)	10-4 µg	Liofilchem, İtalya
Seftolozan-Tazobaktam (C/T)	30-10 µg	Bioanalyses, Türkiye
İmipenem (IMP)	10 µg	Bioanalyses, Türkiye
Meropenem (MEM)	10µg	Bioanalyses, Türkiye
Aztreonam (ATM)	30µg	Bioanalyses, Türkiye
Siprofloksasin (CIP)	5 µg	Bioanalyses, Türkiye
Levofloksasin (LEV)	5 µg	Bioanalyses, Türkiye
Amikasin (AK)	30 µg	Bioanalyses, Türkiye
Tobramisin (TOB)	10 µg	Bioanalyses, Türkiye
Gentamisi (CN)	10 µg	Bioanalyses, Türkiye
Netilmisin (NET)	10 µg	Bioanalyses, Türkiye

3.2.4 Disk Difüzyon Yöntemi

Çalışmaya dahil edilen izolatlara ait stok bakteriler $36\pm1^{\circ}\text{C}$ 'lik etüvde 2 saat bekletilerek çözümleri sağlandı. Daha sonra eosin metilen blue (EMB) besiyerine ekilerek etüvde bir gece $36\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübasyona bırakıldı. 18-24 saat inkübasyon sonrasında saf olarak üremiş olan *P.aeruginosa* kolonilerinden 0,5 McFarland'a göre bakteri süspansiyonları hazırlanarak, MHA plaklarına ekim yapıldı. 15 dakikalık süre içerisinde antibiyotik diskleri 20 mm aralıklarla plaklara yerleştirildi. Plaklar $36\pm1^{\circ}\text{C}$ 'lik etüvde 18-20 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında plaklar EUCAST standartlarına göre değerlendirildi. Tam inhibisyonun gözlemlendiği alanın çapı cetvel kullanılarak petri kabının tersinden ölçüldü. EUCAST'ın önerdiği sınırlara göre ölçülen zon çapları duyarlı (S), orta düzey dirençli (I) ve dirençli (R) olarak saptandı. Antibiyotik gruplarından 3 veya daha fazla gruba dirençli veya orta düzey dirençli olanlar "çoklu ilaç direnci (MDR)" olarak kabul edildi.

3.3 Metallo Beta-Laktamaz (MBL) Aktivitesinin Araştırılması

Karbapenem dirençli suşlarda imipenem ve meropenemi parçalayan beta-laktamaz enzimlerinden biri olan MBL üretimi, çift disk sinerji testi, kombine disk difüzyon testi ve modifiye hodge testi kullanılarak araştırıldı. EUCAST önerilerine göre disk difüzyon yöntemi ile İmipenem (10µg) veya Meropenem (10µg) diskleri etrafındaki inhibisyon zon çapları imipenem için < 20 mm ise, meropenem için < 18 mm ise dirençli kabul edildi.

3.3.1 Çift Disk Sinerji Testi

Taze kültürden alınan bakteri kolonileri steril serum fizyolojik içerisinde 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlanarak Mueller-Hinton Agar besiyeri yüzeyine plağın her tarafına eşit olacak şekilde ekim yapıldı. Birer adet imipenem (10 µg) ve boş disk (blank) aralarında 15 mm olacak şekilde besiyerine yerleştirildi. Daha sonra boş disk üzerine 10 µL 0,5 M EDTA eklendi. 36±1°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında imipenem diskinden boş diske doğru inhibisyon zonunda düzensizleşme var ise MBL pozitif kabul edildi.

3.3.2 Kombine Disk Difüzyon Testi

Taze kültürden alınan bakteri kolonileri steril serum fizyolojik içerisinde 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlanarak Mueller-Hinton Agar besiyeri yüzeyine plağın her tarafına eşit olacak şekilde ekim yapıldıktan sonra iki adet imipenem (10 µg) diski yerleştirildi. Disklerin bir tanesine 0,5 M EDTA solüsyonundan 10 µL pipetle damlatıldı. 36 ±1° C’de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. EDTA damlatılan imipenem

diskinin çevresindeki zon çapı, EDTA'sız imipenem diskinin zon çapından en az 7 mm daha büyük ise MBL pozitif kabul edildi.

3.3.3 Modifiye Hodge Testi

Taze kültürden alınan *E. coli* ATCC 25922 suşunun 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyonu hazırlandı. Steril plastik tüp içerisinde 100 µl bakteri süspansiyonu ve 900 µl SF olacak şekilde 1/10 bulanıklığında yeni bir süspansiyon hazırlandı ve hazırlanan bu süspansiyon Mueller-Hinton Agar besiyeri yüzeyine her tarafta eşit olacak şekilde yayıldı. Plağın ortasına imipenem (10µg) diski yerleştirildi. Test suşları bu diskin dört bir kenarından periferik doğru çizgi ekimi şeklinde öze ile ekildi. 36±1° C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında diskin etrafındaki zon çapı yonca yaprağı görünümünde ise MBL pozitif olarak değerlendirildi.

4 BULGULAR

Çalışmaya belirtilen süre içerisinde toplanan ve belirtilen koşullara uygun olan 178 *Pseudomonas aeruginosa* suşu dahil edildi. *P. aeruginosa* suşlarının izole edildiği klinik örneklerle ve servislere göre dağılımı Tablo 4.1’de gösterildi.

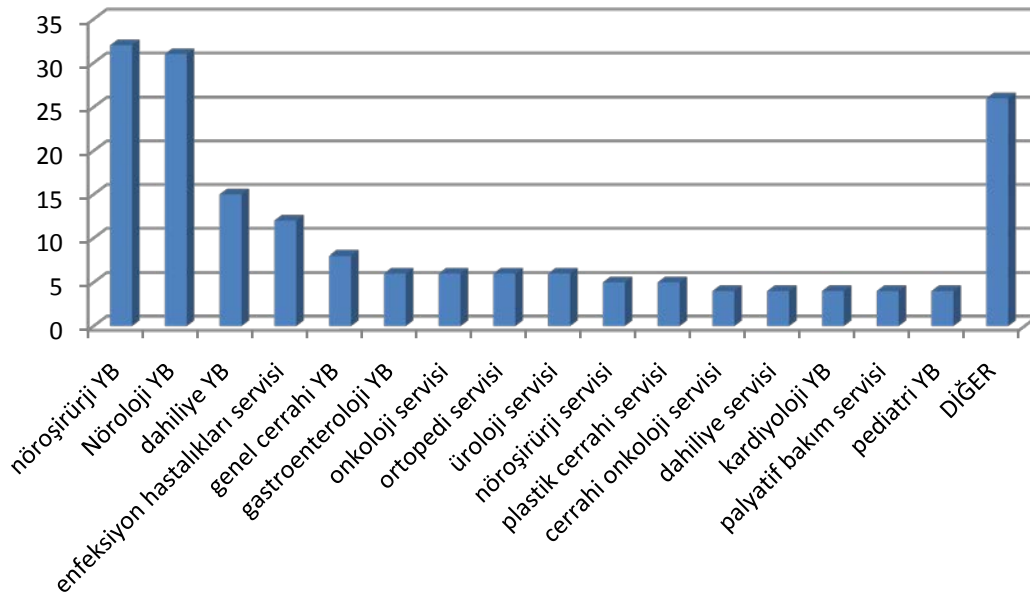
Tablo 4.1: *P. aeruginosa* suşlarının izole edildiği klinik örneklerle ve birimlere göre dağılımı

BİRİM	KLİNİK ÖRNEK TÜRÜ						TOPLAM	YÜZDE (%)
	Balgam	Beyin Omurilik Sıvısı	İdrar	Kan	Steril Vücut Sıvısı	Yara		
Nöroşirürji YB	25	-	3	1	-	3	32	18,0%
Nöroloji YB	17	1	9	4	-	-	31	17,4%
Dahiliye YB	7	-	7	1	-	-	15	8,4%
Enfeksiyon Hast. Servisi	-	-	3	2	-	7	12	6,7%
Genel Cerrahi YB	4	-	1	1	2	-	8	4,5%
Gastroenteroloji YB	4	-	-	2	-	-	6	3,4%
Onkoloji Servisi	1	-	-	5	-	-	6	3,4%
Ortopedi Servisi	-	-	-	-	-	6	6	3,4%
Üroloji Servisi	-	-	4	2	-	-	6	3,4%
Nöroşirürji Servisi	1	-	2	1	-	1	5	2,8%
Plastik Cerrahi Servisi	1	-	-	-	-	4	5	2,8%
Cerrahi Onkoloji Servisi	-	-	1	1	-	2	4	2,2%
Dahiliye Servisi	-	-	-	3	-	1	4	2,2%
Kardiyoloji YB	3	-	1	-	-	-	4	2,2%
Palyatif Bakım Servisi	-	-	2	1	-	1	4	2,2%
Pediyatri YB	2	-	2	-	-	-	4	2,2%
DİĞER*	7	-	5	5	-	9	26	14,6%
TOPLAM	72	1	40	29	2	34	178	100,0%
YÜZDE (%)	40,4%	0,6%	22,5%	16,3%	1,1%	19,1%	100,0%	

*Diğer: Anestezi YB, Enfeksiyon hastalıkları YB, Fizyoterapi Servisi, Gastroenteroloji Servisi, Genel Cerrahi Servisi, Göğüs Cerrahisi YB, Göğüs Cerrahisi Servisi, Göğüs Hastalıkları YB, Kadın Doğum Servisi, Kulak Burun Boğaz Servisi, Nefroloji Servisi, Onkoloji YB, Ortopedi YB, Palyatif Bakım YB, Pediyatri Servisi.

Çalışmaya aldığımız *Pseudomonas aeruginosa* suşları en fazla nöroşirürji yoğun bakımdan (32 suş, %18) ve ikinci sıklıkla da nöroloji yoğun bakımdan (31 suş, %17,4) gelen örneklerden izole edildi.

İzole edildikleri klinik örnek türlerine göre değerlendirildiğinde en fazla balgam (72 örnek, %40,4) ve ikinci sıklıkla da idrar (40 örnek, %22,5) kültüründen izole edildiği görüldü. Tablomuzda klinik örnek sayısı 3 veya daha az olan birimler diğer grubu içerisinde değerlendirildi.

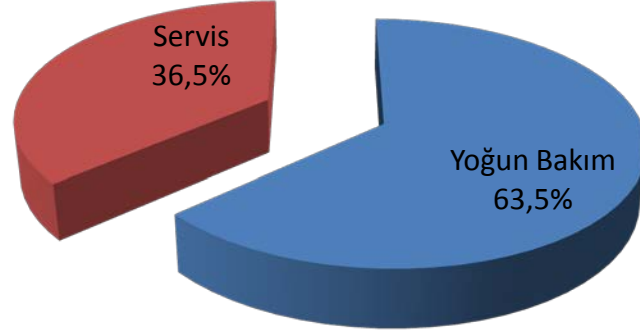


Şekil 4.1: *P. aeruginosa* suşlarının izole edildiği birimlere göre dağılımı

Şekil 4.1’de görüldüğü gibi laboratuvara en çok nöroşirürji yoğun bakım ve nöroloji yoğun bakımdan klinik örnekler gönderilmiştir.

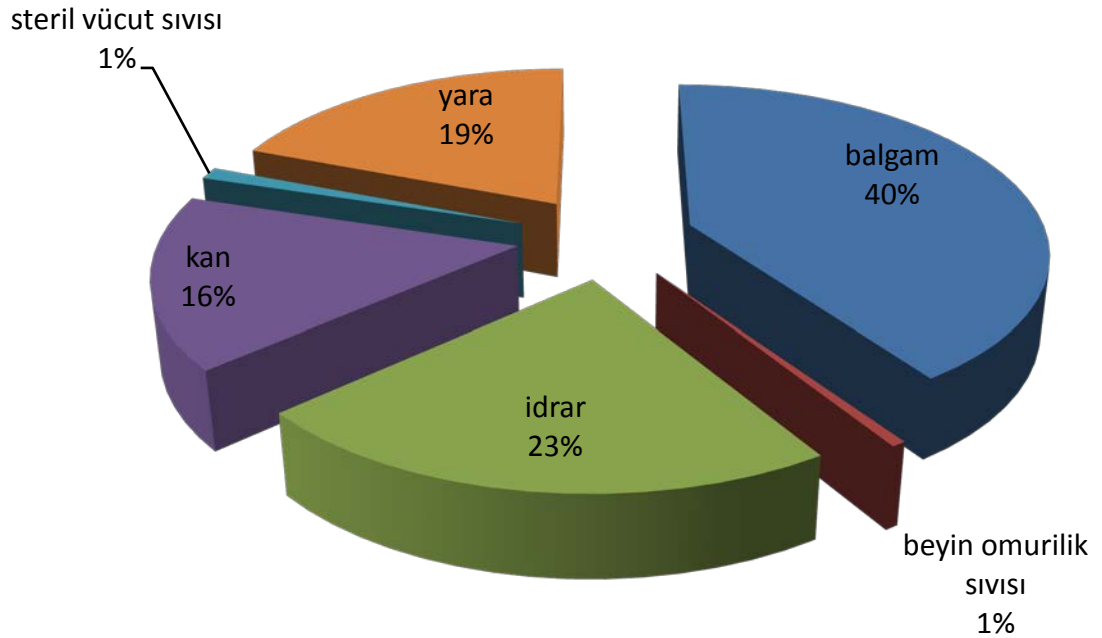
Tablo 4.2: Klinik örneklerin yoğun bakım üniteleri (YBÜ) ve servislere göre dağılımı

	Sayı	Yüzde (%)
Yoğun Bakım	113	63,5%
Servis	65	36,5%



Şekil 4.2:Klinik örneklerin yoğun bakım üniteleri (YBÜ) ve servislere göre dağılımı

Bu çalışmadaki klinik örneklerin 113'ü (%63,5) yoğun bakım ünitelerinden, 65'i (%36,5) servislerden izole edildi (Tablo 4.2 ve Şekil 4.2).



Şekil 4.3:*P. aeruginosa* suşlarının izole edildiği klinik örneklere göre dağılımı

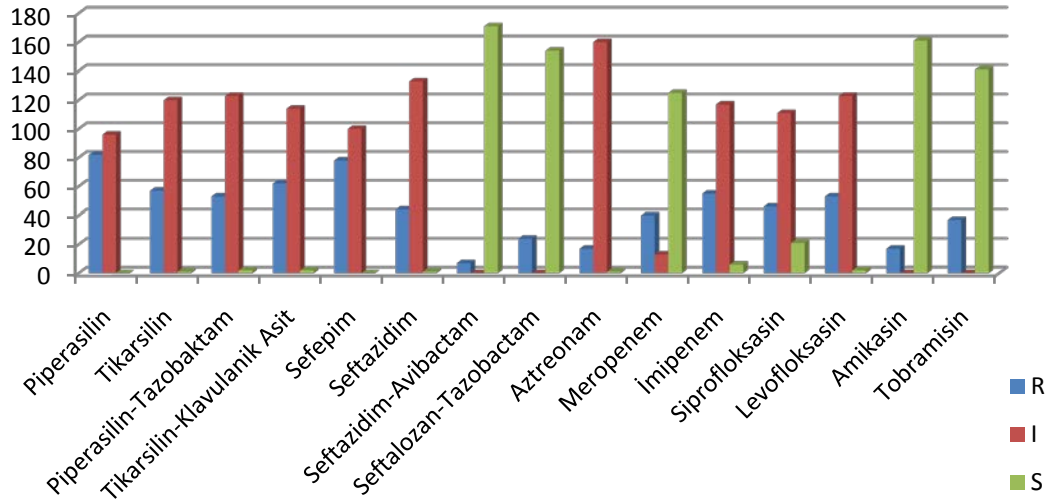
Şekil 4.3’te görüldüğü gibi *Pseudomonas aeruginosa* suşları en fazla balgam ve idrardan, en az ise steril vücut sıvısı ve beyin omurilik sıvısından izole edildi.

4.1 Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları

Çalışmaya alınan 178 *Pseudomonas aeruginosa* suşunda 2020-EUCAST kriterlerine göre antibiyotik direnç profilleri Tablo 4.3’te gösterildi.

Tablo 4.3: *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç profilleri (2020-EUCAST)

Antibiyotik Grubu	Antibiyotik	Sayı			Yüzde (%)		
		Dirençli (R)	Orta Düzey Dirençli (I)	Duyarlı (S)	Dirençli (R)	Orta Düzey Dirençli (I)	Duyarlı (S)
Penisilinler	Piperasilin	82	96	0	46,1%	53,9%	0,0%
	Tikarsilin	57	120	1	32,0%	67,4%	0,6%
	Piperasilin-Tazobaktam	53	123	2	29,8%	69,1%	1,1%
	Tikarsilin-Klavulanik Asit	62	114	2	34,8%	64,0%	1,1%
Sefalosporinler	Sefepim	78	100	0	43,8%	56,2%	0,0%
	Seftazidim	44	133	1	24,7%	74,7%	0,6%
	Seftazidim-Avibactam	7	0	171	3,9%	0,0%	96,1%
	Seftolozan-Tazobactam	24	0	154	13,5%	0,0%	86,5%
Monolaktamlar	Aztreonam	17	160	1	9,6%	89,9%	0,6%
Karbapenemler	Meropenem	40	13	125	22,5%	7,3%	70,2%
	İmipenem	55	117	6	30,9%	65,7%	3,4%
Florokinolonlar	Siprofloksasin	46	111	21	25,8%	62,4%	11,8%
	Levofloksasin	53	123	2	29,8%	69,1%	1,1%
Aminoglikozitler	Amikasin	17	0	161	9,6%	0,0%	90,4%
	Tobramisin	37	0	141	20,8%	0,0%	79,2%



Şekil 4.4: *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç profilleri (2020-EUCAST)

2020-EUCAST kriterlerine göre test edilen izolatların sonuçlarına bakıldığında piperasilin (%46,1) ve sefepim (%43,8) direncinin daha yüksek olduğu görüldü. İzolatların en duyarlı olduğu antibiyotikler ise seftazidim-avibaktam (%96,1) ve amikasin (%90,4) olmuştur. İzolatların penisilin, sefalosporin, monolaktam, karbapenem, florokinolon ve aminoglikozid grubu antibiyotiklerden en az üç veya daha fazla grup antibiyotiğe orta düzey dirençli veya dirençli olması “çoklu ilaç direnci (MDR)” olarak kabul edildi. 2020-EUCAST kriterlerine göre çoklu ilaç direnci %100 bulundu.

Şekil 4.4’te görüldüğü gibi *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında penisilin grubu antibiyotiklere duyarlılık oranı düşük olarak belirlendi. Sefalosporin grubu antibiyotiklerden duyarlılık oranları seftazidim-avibaktam için %96,1 ve seftolozan-tazobaktam için %86,5 olarak bulundu. Monolaktam grubundan aztreonam orta düzey direnç oranının (%89,9) yüksek olduğu gözlemlendi. Çalışmamızda imipenem direnci (%30,9), meropenem direncinden (%22,5) daha yüksek bulundu. Florokinolon grubunda

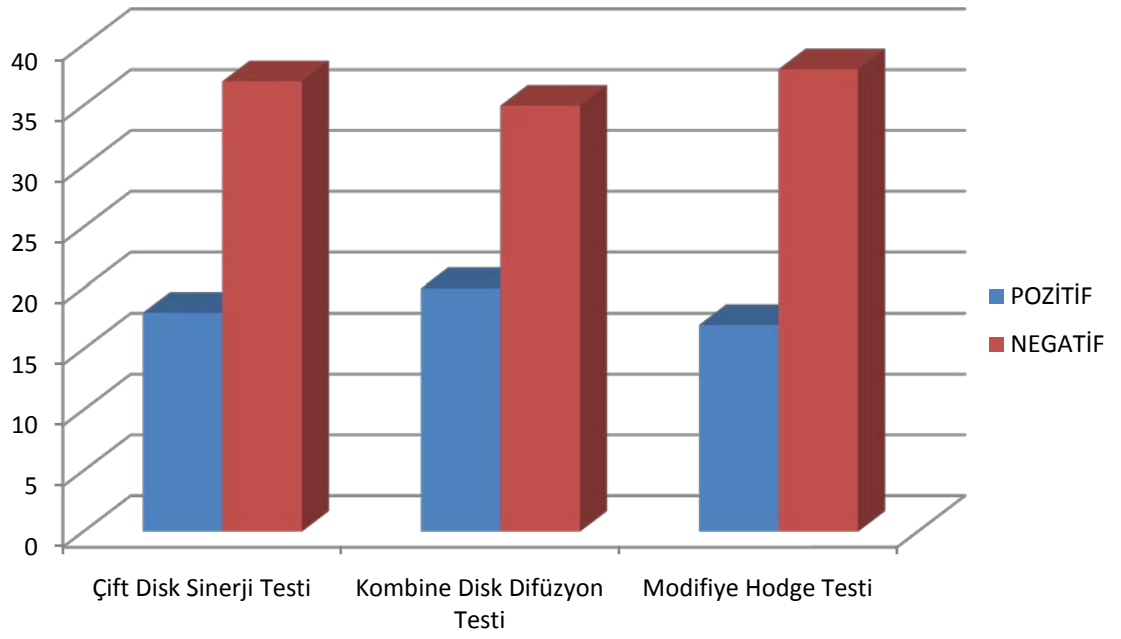
suşların siprofloksasine %62,4 orta düzey dirençli, %11,8 duyarlı olarak belirlendi. Levofloksasine %69,1 orta düzey dirençli, %1,1 duyarlı olarak belirlendi. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında amikasin direnci %9,6, tobramisin direnci %20,8 bulundu.

4.2 Metallo Beta-Laktamaz Testi sonuçları

Karbapenem dirençli olarak bulunan 55 *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının çift disk sinerji testine göre 18'i (%32,7), kombine disk difüzyon testine göre 20'si (%36,4), modifiye hodge testine göre 17'si (%30,9) MBL pozitif olarak saptandı. En fazla pozitiflik oranı kombine disk difüzyon testi (%36,4) ile bulunurken, en az pozitiflik oranı modifiye hodge testi (%30,9) ile bulundu (Tablo 4.4 ve Şekil 4.5).

Tablo 4.4: MBL Test Sonuçları

	Sayı			Yüzde (%)		
	POZİTİF	NEGATİF	TOPLAM	POZİTİF %	NEGATİF %	TOPLAM
Çift Disk Sinerji Testi	18	37	55	32,7%	67,3%	100%
Kombine Disk Difüzyon Testi	20	35	55	36,4%	63,6%	100%
Modifiye Hodge Testi	17	38	55	30,9%	69,1%	100%

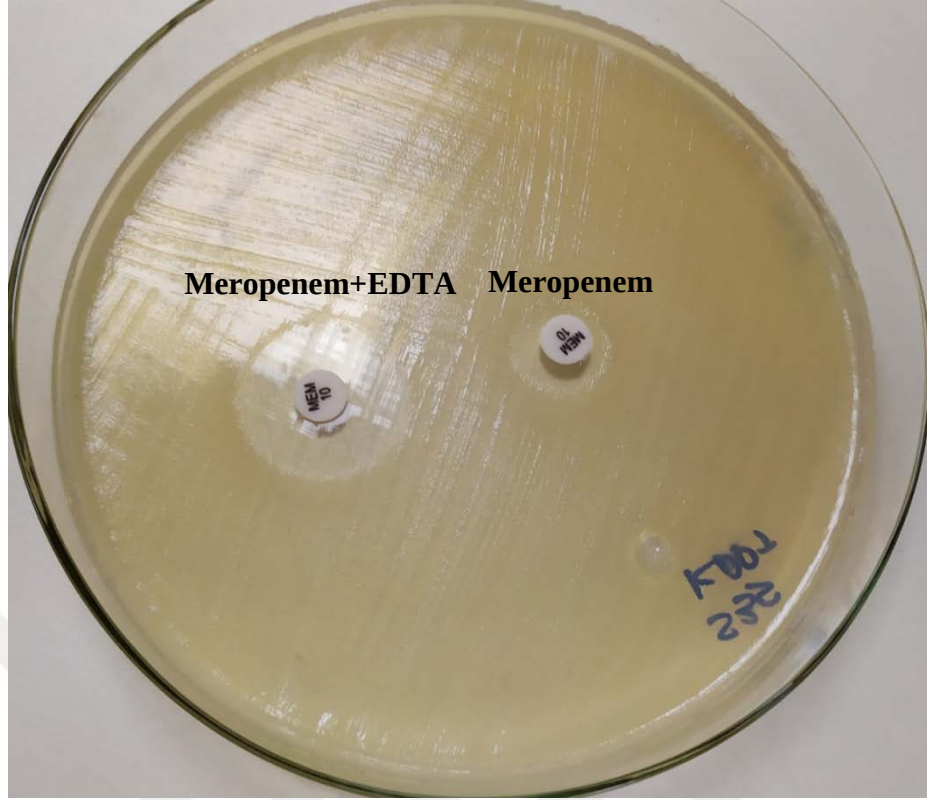


Şekil 4.5: MBL Test Sonuçları

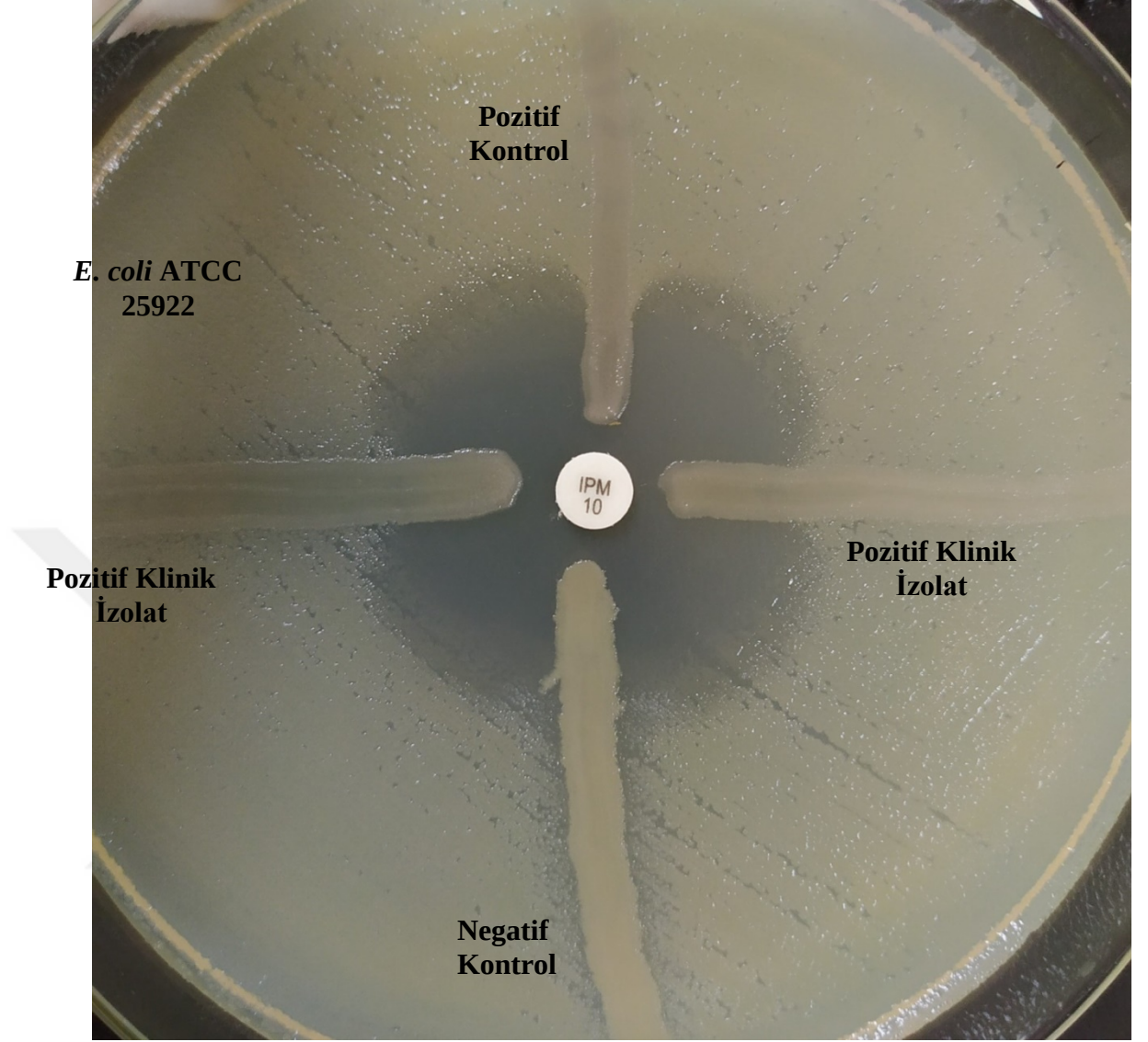
Şekil 4.6, 4.7 ve 4.8’de çift disk sinerji testi, kombine disk difüzyon testi ve modifiye hodge testi örnekleri gösterildi.



Şekil 4.6: Çift Disk Sinerji Testi Örneği



Şekil 4.7: Kombine Disk Difüzyon Testi Örneği



Şekil 4.8:Modifiye Hodge Testi Örneği

5 TARTIŞMA

Hastane infeksiyonları tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir mortalite ve morbidite sebebidir. 1940'lara kadar hastane infeksiyonlarının en başta gelen etkeni Streptokoklardır. Daha sonra antibiyotiklerin kullanım alanına girmesiyle hastane infeksiyonu etkeni olarak Stafilokoklar ön plana çıkmıştır. 1960-1970'li yıllarda penisilinlere dirençli Stafilokoklara etkili olan antibiyotiklerin kullanımının artmasıyla Enterobacteriaceae ailesindeki *E.coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter* cinsleri ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram-olumsuz basiller ön plana çıkmıştır (Dağlı ve Namıdurı, 2018).

Zor koşullar altında kalabilen ve fırsatçı bir patojen olan *P. aeruginosa*; kistik fibrozis, yanık infeksiyonları ve HIV pozitif hastalar gibi immün sistemi baskılanmış hastalarda ciddi ve tedavisi zor infeksiyonlara sebep olabilmektedir. Nozokomiyal enfeksiyonların %10-25'inden, hastane kaynaklı pnömonilerin %37,5'inden sorumlu tutulan *P. aeruginosa* suşları karbapenemler dahil birçok antibiyotiğe karşı hızla geliştirdikleri çoklu ilaç direncinin yanı sıra dezenfektanlar içerisinde de dahi yaşayabilmeleri nedeniyle güncel bir sorun olarak önemini korumaktadır (Aktepe ve ark., 2010).

Yoğun bakım üniteleri nozokomiyal infeksiyonların en çok görüldüğü kliniklerdir. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalar altta yatan hastalıkları veya maruz kaldıkları terapötik ve diagnostik girişimler nedeniyle infeksiyon riski yüksek hastalardır. *P. aeruginosa* ülkemizde YBÜ'lerinde en sık rastlanan infeksiyon etkenlerinden biridir (Aktepe ve ark., 2010).

2021 yılında Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde 504 *P. aeruginosa* suşunda yapılan bir çalışmada izolatların %35,9'nun yoğun bakım ünitesinden gönderilen örneklerden elde edildiği bildirilmiştir (Baddal ve ark., 2021).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda; Duman ve ark., (2012) yoğun bakım ünitelerinden %34,5, dahiliye servislerinden %20,5, pediatri servislerinden %18,9, göğüs hastalıkları servisinden %17,9, cerrahi bölümlerden %9,4 oranında *Pseudomonas aeruginosa* izole etmişlerdir.

Özer ve ark.'nın (2016) Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi'nde yaptıkları çalışmada 5 yılda izole edilen 772 *P. aeruginosa* suşlarının %23,1'inin yoğun bakım ünitelerinden izole edildiği bildirilmiştir.

Pasa ve ark.'nın (2016) yaptıkları çalışmada *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının %30'unun yoğun bakım ünitelerinden, %14'ünün ortopedi ve travmatoloji servisinden, %10'unun enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji servisinden, %8'inin plastik ve rekonstrüktif cerrahi servisinden ve %8'inin göğüs hastalıkları servisinden izole edildiği bildirilmiştir.

Varışlı ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada 408 *P. aeruginosa* suşlarının %56'sını yoğun bakım ünitesinden, %23'ünü yanık ünitesinden ve %21 ini ise çeşitli servislerden izole etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda hastanemizin çeşitli klinik birimlerinde yatmakta olan hastalardan tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen örneklerin en fazla yoğun bakım ünitesinden (%63,5) izole edildiği görüldü.

Pseudomonas aeruginosa'nın etken olduğu klinik aralığı, geniş olduğu için çeşitli örneklerden izole edilebilmektedir. 2021 yılında KKTC'deki bir çalışmada izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının %37,3'nin idrardan, %17,9'unun derin trakeal

aspirattan, %17,9'nun apse/yara materyali örneklerinden izole edildiği görülmüştür (Baddal ve ark., 2021).

Erdoğan ve ark.'nın (2021) çalışmalarına dahil edilen 468 *P. aeruginosa* suşunun %51,7'si solunum yolu örneklerinden, %31,2'si idrardan, %9'u abse ve yara örneklerinden, %9,1'i vajina, katater ve BOS'tan izole edildiği bildirilmiştir.

2019 yılında Kal Çakmalıoğulları ve Kuru'nun yapmış oldukları çalışmada izole edilen 631 *P. aeruginosa* suşunun %42'sinin balgam, bronkoalveolar lavaj, endotrekeal aspirattan, %18'inin idrardan, %18'inin apse/yaradan, %22'sinin kandan izole edildiği bildirilmiştir.

Özer ve ark. (2016) izole ettikleri *P. aeruginosa* suşlarının %37,9'unun yaradan, %21,5'inin idrardan, %20'sinin balgamdan, %7,8'inin trakeal aspirattan ve %4,6'sının kandan izole edildiğini bildirmiştir.

Bizim çalışmamızda ise suşların çoğunluğu balgam (%40) olmak üzere idrar (%23), yara sürüntüsü (%19), kan (%16), beyin omurilik sıvısı (BOS) (%1) ve steril vücut sıvısı (SVS) (%1) gibi örneklerden izole edildi.

Son yıllarda hastane infeksiyonlarından soyutlanan *Pseudomonas* suşlarında artan, çoğunlukla başta beta-laktam antibiyotiklere olmak üzere çok ilaca direnç saptanması, etken olduğu infeksiyonların tedavisinde güçlükler yol açabilmektedir. *Pseudomonas* suşlarında antimikrobiyallere karşı direnç, özgül enzimlerin (beta-laktamazlar, aminoglikozid modifiye eden enzimler) oluşturulması, hücre duvarı geçirgenliğinde değişiklikler ve aktif dışarı atım sistemleri gibi birçok mekanizmayla gelişebilmektedir. Gram olumsuz bakterilerde olduğu gibi *Pseudomonas* suşlarında izlenen beta-laktam antibiyotiklere karşı gelişen direncin en yaygın mekanizması olan beta-laktamazlar, kromozomal, plazmid veya transpozonlar aracılığıyla sentez edilen ve

beta-laktam antibiyotiklerdeki amid bağlarını parçalayan enzimlerdir (Özyurt ve ark., 2010).

Baddal ve ark.'nın 2021 yılında Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde yaptıkları bir çalışmada çeşitli kliniklerden toplanan 504 *P. aeruginosa* izolatında antibiyotik direnci araştırılmıştır. Çalışmada aztreonam direnci %47,7, sefepim direnci %32, seftazidim direnci %26,3, imipenem direnci %26,4, siprofloksasin direnci %25,6, meropenem direnci %24,6, piperasilin-tazobaktam direnci %19,7, gentamisin direnci %13,5 ve amikasin direnci %5,3 olarak tespit edilmiştir. Çoklu ilaç direnç oranı %19,2 bulunmuştur.

Er ve ark.'nın (2015) çalışmalarında 195 *Pseudomonas aeruginosa* izolatının seftazidime %100, gentamisine %11,8, tobramisine %6,2, piperasiline %44,1, amikasin %8,7, aztreonam %60,5, sefepime %50,2, siprofloksasine %26,2, levofloksasine %31,3, imipenem %48,2, meropenem %47,2, piperasilin-tazobaktam %90,8 dirençli olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada suşların %25,1'inin çoklu ilaca dirençli olduğu saptanmıştır.

Raja ve Singh'nin 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada, çeşitli klinik örneklerden üreyen 505 *P. aeruginosa* suşunda disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik dirençlilik oranları araştırılmıştır. Amikasin %6,73, gentamisine %12,9, netilmisine %10,1, seftazidime %10,9, siprofloksasine %11,3, imipenem %9,9, piperasiline %10,8, piperasilin-tazobaktam %9,4 direnç saptanmıştır. Yapılan bu çalışmada 505 izolatın %5,74'ünün çoklu ilaca dirençli olduğu belirlenmiştir (Raja ve Singh, 2007).

Farrell ve ark.'nın 2011-2012 yıllarında 32 tıp merkezinden izole ettikleri 1.971 *P. aeruginosa* izolatında çoklu ilaç direnci %15,7 olarak tespit edilmiştir.

Çin’de yapılan bir çalışmada *P. aeruginosa* infeksiyonu olan hastalarda çok ilaca dirençlilik oranı %54 olduğu bildirilmiştir (Bassetti ve ark., 2018).

Jung ve ark. (2004) beş yıllık çalışma süreçlerinde 176 *P. aeruginosa* izolatında imipenem direnç oranını %26, seftazidim %21, sefepim %27, piperasilin-tazobaktam %16, piperasilin %19, tikarsilin klavulanik asit %22, aztreonam %31, amikasin %13, tobramisin %29, gentamisin %28, siprofloksasin %40, levofloksasin %57 olarak saptamışlardır. Bu çalışmada çoklu ilaç direnci %32 bulunmuştur.

Goossens 2003’te yaptığı bir çalışmada birçok ülkede *P.aeruginosa* suşlarında çoklu ilaç direncini araştırmıştır. Türkiye’ de 181 *P.aeruginosa* izolatının 91’inde (%50) çoklu ilaç direnci tespit etmiştir. İtalya’ da %25, Çek Cumhuriyeti ve Rusya’ da %22, Belçika’ da %14 olarak çoklu ilaç direnci saptamıştır.

Tanrıverdi Çaycı ve ark.’nın (2021) çalışmalarında izole edilen 445 *P. aeruginosa* izolatında direnç oranları piperasilin %25,6, piperasilin-tazobaktam %20,2, sefepim %13,3, seftazidim %13,3, imipenem %17,8, meropenem %9,2, siprofloksasin %16, levofloksasin %20,7, amikasin %2,5, gentamisin %5,8 olarak bildirilmiştir.

2021 yılındaki bir çalışmada izole edilen 468 *P. aeruginosa* izolatında dirençlilik oranları amikasin %23,5, aztreonam %91,9, gentamisin %25,6, imipenem %37,8, levofloksasin %42,5, meropenem %38,6, netilmisin %42,6, piperasilin-tazobaktam %51,3, piperasilin %64,3, sefepim %42,3, seftazidim %37,3, siprofloksasin %34, tobramisin %19,1 olarak saptanmıştır (Erdoğan ve ark., 2021).

Karapınar ve ark.’nın 2020 yılında yapmış oldukları çalışmada 378 *P. aeruginosa* suşu izole edilmiştir. Antibiyotik direnç oranları meropenem için %25, imipenem için %33, amikasin için %12, gentamisin için %18, tobramisin için %12,

piperasilin için %13, piperasilin-tazobaktam için %10, seftazidim için %13, sefepim için %8, siprfloksasin için %11 olarak saptanmıştır.

2020 yılında yapılan bir çalışmada izole edilen 27 *P. aeruginosa* suşunda antibiyotik direnç oranları siprofloksasin ve levofloksasin'e %30, sefepim ve seftazidim'e %26, imipenem'e %19, meropenem ve gentamisin'e %15, piperasilin/tazobaktam'a %11 ve amikasin'e %7 olarak saptanmıştır (Behçet ve ark., 2020).

Kamit ve Şener (2020) çalışmalarında çok ilaca dirençli 16 *Pseudomonas aeruginosa* izolatında antibiyotik direnç oranlarını meropenem için %69, seftazidim için %87,5, sefepim için %87,5, amikasin için %31 ve piperasilin-tazobaktam için %87,5 olarak tespit etmişlerdir.

Pasa ve ark.'nın (2016) yaptıkları çalışmada imipenem direnci %11, amikasin direnci %13, meropenem direnci %14, gentamisin direnci %16, siprofloksasin direnci %16, piperasilin direnci %21, seftazidim direnci %25, levofloksasin direnci %26, sefepim direnci %21, piperasilin-tazobaktam direnci %35 olarak saptanmıştır.

Durmaz ve Toka Özer'in (2015) çalışmalarında izole edilen 137 *P. aeruginosa* izolatında antibiyotik direnci amikasin'e %43, gentamisin'e %38, seftazidim'e %42, sefepim'e %40, sefoperazon-sulbaktam'a %44, siprofloksasin'e %47, levofloksasin'e %47, piperasiline %72, piperasilin-tazobaktam'a %71, imipenem'e %37, meropenem'e %37, doripenem'e %41, netilmisin'e %28 olarak saptanmıştır.

Erciyes üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılan bir çalışmada klinik örneklerden izole edilen 98 *P. aeruginosa* suşunun 92 (%94)'sinin birden fazla antibiyotiğe dirençli olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan 98 suşun sefepim direnci %13,3, piperasilin-tazobaktam %15,4, seftazidim %19,4, amikasin %5,1, siprofloksasin %17,3, imipenem

%53,1, ertapenem %94, sefoperazon-sulbaktam %98, netilmisin %16,3, meropenem %32,7 oranında dirençlilik saptanmıştır (Ekincioğlu ve Perçin, 2013).

Berktaş ve ark. (2011) tarafından izole edilen 75 *P. aeruginosa* izolatlarında direnç oranları piperasiline %79, gentamisine %75, imipeneme %60, aztreonama %55, levofloksasine %44, seftazidime %40, siprofloksasine %32 ve amikasin %9 olarak bulunmuştur.

Van Eldere (2003) Belçika ve Lüksemburg'daki 40 farklı hastaneden nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak izole edilmiş 716 *Pseudomonas aeruginosa* suşunda mikrodilüsyon yöntemiyle antimikrobiyal ilaç direncini araştırmıştır. Çalışmada meropenem direnci %9,5, gentamisin %23,5, tobramisin %19,5, amikasin %10,5, levofloksasin %27,5, siprofloksasin %24, piperasilin %24, piperasilin-tazobaktam %17,5, tikarsilin-klavulanik asit %37, aztreonam %55,5, seftazidim %28,5, sefepim %29,5 olarak saptanmıştır.

Japonya'da 2004 yılında 100 merkezin katıldığı bir çalışmada 996 *P. aeruginosa* suşunda imipeneme %19,3, piperasiline %15,5, seftazidime %9,9, sefepime %11,2, sefpirome %19,3, sefoperazon-sulbaktama %14,9 oranında direnç bulunmuştur (İshii ve ark., 2006).

Güven ve ark., (2005) 161 *Pseudomonas aeruginosa* suşları üzerine yaptıkları çalışmada amikasin direnci %34, aztreonam %38, sefepim %35, siprofloksasin %39, imipenem %34, piperasilin-tazobaktam %38, seftazidim %35, gentamisin %54, piperasilin %44 olarak saptanmıştır.

Paköz ve ark. (2011) tarafından izole edilen 154 *P. aeruginosa* suşlarının dirençlilik oranı piperasilin-tazobaktam için %97, aztreonam %40, imipenem %36,

seftazidim %32, gentamisin %23, levofloksasin %37, amikasin %13 olarak bulunmuştur.

Dağı ve ark.'nın 2011 yılında yapmış oldukları çalışmada 92 *P. aeruginosa* suşunda antibiyotik direnci araştırılmıştır. Amikasine %18, piperasilin/tazobaktama %18, piperasiline %25, siprofloksasine %28, imipeneme %30, seftazidime %32, gentamisine %35, sefepime %41 ve sefotaksime %91 olarak saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda 178 *P.aeruginosa* izolatında 2020-EUCAST kriterlerine göre piperasilin direnç oranı %46,1, tikarsilin %32, piperasilin-tazobaktam %29,8, tikarsilin-klavulanik asit %34,8, sefepim %43,8, seftazidim %24,7, seftazidim-avibaktam %3,9, seftolozan-tazobaktam %13,5, aztreonam %9,6, meropenem %22,5, imipenem %30,9, siprofloksasin %25,8, levofloksasin %30,9, amikasin %9,6, tobramisin %20,8 olarak saptandı. Çoklu ilaç direnci %100 olarak tespit edildi.

Diğer çalışmalara göre, çoklu direnç oranımızın %100 çıkmasının sebebi 2020-EUCAST kriterlerinde antibiyotik diski zon çapı aralıklarının genişletilmesinden ($S \geq 50$) kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda en yüksek duyarlılık seftazidim-avibaktam (%96,1), amikasin (%90,4), seftalozan-tazobaktam (%86,5), tobramisin (%79,2) ve meropenem (%70,2) olarak tespit edildi.

Çalışmamızda piperasilin (%53,9), tikarsilin (%67,4), piperasilin-tazobaktam (%69,1), tikarsilin-klavulanik asit (%64), sefepim (%56,2), seftazidim (%74,7), aztreonam (%89,9), imipenem (%65,7), siprofloksasin (%62,4) ve levofloksasin (%69,1) antibiyotiklerin orta düzey dirençlilik oranları yüksek olarak saptandı. Bu durumda bu ilaçların yanlış ve bilinçsiz kullanımı sonucunda orta düzey

dirençli olan suşlar tamamen direnç geliştirebilir. Bu nedenle antibiyotik direncinin giderek artması geleceğe yönelik endişe verebilir.

Çalışmamızda seftazidim-avibaktam, seftalozon-tazobaktam ve amikasinin etkinliğinin yüksek olduğu saptandı.

Farrell ve ark.'nın (2013) çalışmalarında çok ilaca dirençli (MDR) ve ilaçların çoğunluğuna dirençli (XDR) *P. aeruginosa* suşlarına karşı seftolozan-tazobaktamın geniş spektrumlu ve yüksek derecede aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Çalışmamız 2019-EUCAST kriterlerine göre değerlendirildiğinde ise dirençlilik oranları piperasilin %46,1, tikarsilin %32, piperasilin-tazobaktam %29,8, tikarsilin-klavulanik asit %34,8, sefepim %43,8, seftazidim %24,7, seftazidim-avibaktam %3,9, seftolozon-tazobaktam %13,5, aztreonam %9,6, meropenem %22,5, imipenem %30,9, siprofloksasin %25,8, levofloksasin %29,8, amikasin %9,6, tobramisin %14,6, gentamisin %34,3, netilmisin %35,4 olarak bulundu. Çoklu ilaç direnci %42,1 olarak saptandı.

2015 yılında Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezleri, *P. aeruginosa* izolatlarının %13,7'sinin en az üç antimikrobiyal gruba ve %5,5'inin sürveyans altındaki beş antimikrobiyal grubun tümüne dirençli olduğunu belirtmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nden alınan verilere göre, çoklu ilaca dirençli *P. aeruginosa*, ciddi infeksiyon hastalıklarına neden olan etkenlerin %13'ünü oluşturmaktadır (Horcajada ve ark., 2019).

Pseudomonas aeruginosa'nın neden olduğu infeksiyonları tedavi etmek için karbapenem grubu antibiyotikler etkili olmuştur; fakat İspanya'da 2010 yılında yapılan

bir çalışmada karbapenem dirençli *P. aeruginosa* suşlarında endişe verici bir şekilde artış olduğu bildirilmiştir (Suarez ve ark., 2010).

Karbapenem grubu antibiyotiklere karşı gelişen dirençten birçok mekanizma sorumludur (MexAB-OprM akış sistemindeki değişiklik, mutasyonlar, zar geçirgenliğindeki değişiklikler, kromozomal AmpC β -laktamaz ekspresyonunu gibi). Bir diğer mekanizma ise karbapenemler dahil pek çok beta-laktamları hidroliz eden metallo beta-laktamazlardır (MBL) (Luzzaro ve ark., 2004).

Metallo beta-laktamaz üreten *Pseudomonas* spp. ilk kez 1991'de Japonya'da tespit edilmiştir ve o zamandan beri dünya çapında metallo beta-laktamaz üreten *Pseudomonas* sayısında önemli derecede artış olmuştur (Falodun ve Musa, 2020).

Brezilya'da yapılan bir çalışmada metallo beta-laktamaz pozitif suşlar ile enfekte 142 hasta ile metallo beta-laktamaz negatif suşlar ile enfekte 26 hasta karşılaştırılmıştır. Analiz sonucunda yoğun bakım ünitesinde kalmanın ve idrar yolu infeksiyonunun MBL için önemli kriterler olduğu saptanmıştır. Ayrıca karbapenem dirençli *Pseudomonas* infeksiyonlarında, karbapenem duyarlı *Pseudomonas* infeksiyonlarına göre hastalık başlangıç hızının ve mortalitenin (%33 - %71) arttığı gözlemlenmiştir (Bassetti ve ark., 2018).

Metallo beta-laktamaz üreten bakterilerin erken tanısı ve yayılmasının kontrol altına alınması önemlidir. Bunun için mikrobiyoloji laboratuvarlarında uygulanan basit birçok fenotipik yöntem vardır. IMP-EDTA çift disk sinerji testi, IMP-EDTA kombine disk testi, modifiye hodge testi, E-Test metallo beta-laktamaz saptanmasında kullanılan tarama testleridir (Mansur ve ark., 2013).

Demirdağ ve ark. (2011) çoğul dirençli 43 *P. aeruginosa* suşunda MBL araştırmak amacıyla IMP-EDTA kombine disk testi ve modifiye hodge testi

uygulamışlardır. IMP-EDTA disk testinde 43 suşun 34'ünde (%79), modifiye hodge testinde 43 suşun 16'sında (%37) MBL pozitif olduğu bildirilmiştir.

Aksoy ve Tuğrul'un (2020) çalışmasında 35 *Pseudomonas aeruginosa* izolatında çift disk sinerji testi ile %42,8, kombine disk difüzyon testi ile %94,2, E-Test ile %54,2 oranında MBL pozitiflik saptanmıştır. Modifiye hodge testi ve genotipik yöntem ile MBL direnci saptanmamıştır.

2019 yılında yapılan bir çalışmada karbapenem dirençli 40 *P. aeruginosa* suşunda MBL aktivitesi iki farklı fenotipik yöntem ile incelenmiştir. Modifiye hodge testi ile %12,5'i, IMP-EDTA disk testi ile %52,5'i ve meropenem-EDTA disk testi ile %57,5'i pozitiflik vermiştir (Çınar, 2019).

Ülkemizde 2020 yılında yapılan bir başka çalışmada karbapenem dirençli 57 *P. aeruginosa* suşunda kombine disk difüzyon testi ile %63,7, E-Test ile %27 MBL pozitifliği bildirilmiştir (Vural ve ark., 2020).

Bizim çalışmamızda disk difüzyon yöntemiyle karbapenem direnci tespit edilen 55 *Pseudomonas aeruginosa* izolatında çift disk sinerji testi ile %32,7, kombine disk difüzyon testi ile %36,4 ve modifiye hodge testi ile %30,9 oranında MBL pozitiflik tespit edildi. Çalışmamızın istatistiksel analizi Ki-Kare(Chi-square) Testiyle yapıldı ve yöntemler arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Bizim verilerimizde karbapenem direncinden sorumlu mekanizmanın bir kısmının MBL enzimleri olduğu görüldü. Bu bakteriler birçok başka direnç mekanizmasına sahiptir. Bu mekanizmaların çoğunluğu kazanılmış genetik faktörlerin kontrolünde olabilmektedir.

Pseudomonas aeruginosa, klinikte kullanılmakta olan antibiyotiklere karşı yüksek oranda direnç geliştirmekte olup direnç profili ve duyarlılık oranları hastaneden hastaneye zamanla farklılık göstermektedir. Bu nedenle riskli ünitelerde düzenli

sürveyans çalışmaları yapılmasının, sık karşılaşılan etkenler ve antibiyotik dirençlerinin takip edilmesinin klinisyenlerin ampirik tedavilerinin başarısında önemli bir yeri vardır (Köse ve ark., 2014).

Hastanemizde enfeksiyona neden olan etkenler arasında *P.aeruginosa* sık olarak izole edilmektedir. Kuşkusuz ki antibiyotik kullanımının doğru bir şekilde olması bakterideki direnç mekanizmalarını yönetmek açısından oldukça önemlidir. Klinisyenler tarafından tedavide kullanılacak olan antibiyotiğin, hastanenin bilinen direnç profiline uygun olması gerektiği düşünülmektedir.



6 SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda çoklu ilaç direnci %100 olarak bulundu. Bu nedenle klinisyenler tarafından hastanemizin antibiyotik direnç profillerinin izlenmesi ve doğru antibiyotik kullanım politikalarının oluşturulması gerekmektedir.

Çalışmamızda izole edilen 178 *P.aeruginosa* suşlarının büyük bir kısmı yoğun bakım ünitelerinden (%63) gelen klinik örneklerden izole edildi. Yoğun bakım üniteleri antibiyotiklerin en yaygın kullanıldığı birimler olduğu için antibiyotik direncinin ortaya çıkmasında büyük paya sahiptir. Özellikle YBÜ'lerinde doğru antibiyotik kullanım politikalarının belirlenmesi ve uygulanması gerekmektedir.

Çalışmamızda klinik örnekler en fazla balgam (%40) olmak üzere idrar (%23), yara (%19), kan (%16). BOS (%1) ve SVS (%1) kültürlerinden izole edildi.

Çalışmamızda izole edilen suşların en duyarlı olduğu antibiyotikler; sefalosporin grubundan seftazidim-avibaktam (%96,1), seftalozon-tazobaktam (%86,5), aminoglikozid grubundan amikasin (%90,4) ve tobramisin (%79,2)'dir. Bu antimikrobiyal ajanlara zamanla direncin artmasını önlemek için tedavi sırasında bilinçli bir şekilde kullanılmalıdır.

Çalışmamızda karbapenem dirençli 55 *P. aeruginosa* suşunda MBL aktivitesini araştırmak için 3 fenotipik test kullanıldı. Kombine disk difüzyon testinde %36,4, çift disk sinerji testinde %32,7 ve modifiye hodge testinde %30,9 MBL pozitiflik bulundu. Metallo beta-laktamaz üreten izolatlar monolaktam grubundan aztreonam dışındaki bütün beta-laktam antibiyotikleri hidroliz etmektedir. Laboratuvarlarda hızlı, güvenilir ve maliyeti düşük testler ile MBL üreten suşlar tespit edilmeli ve yayılması önlenmelidir.

KAYNAKLAR

- Akduman, E. A., Karadeniz, A., Balıkçı, A., & Topkaya, A. E. (2013). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. *Maltepe Tıp Dergisi*, 5(3), 12-16.
- Aktaş, Z., Şatana, D., Kayacan, Z. Ç., Can, B., Gönüllü, N., Küçükbasmacı, Ö. (2012). *Pseudomonas Aeruginosa* Suşlarında Antibiyotik Duyarlılık Oranları Ve Beta-Laktam Direnç Mekanizmalarının Tiplendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 46(3), 386-397.
- Aksoy, M.D., Tuğrul, H.M. (2020). Karbapenemlere Dirençli *Pseudomonas Aeruginosa* Kökenlerinde Metallo-Beta-Laktamaz Enzimlerinin Fenotipik Ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. *FLORA*, 25(3), 301-307.
- Aktepe, O. C., Aşık, G., Çetinkaya, Z., Çiftçi, İ. H., & Altındış, M. (2010). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa* Suşlarında Antibiyotik Direnci. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 40(4), 225-231.
- Ayaz, C. (2008). Beta Laktamların Genel Özellikleri ve Penisilinler. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi 1*. (266-278). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.
- Baddal, B., Güler, E., & Süer, K. (2021). Hastane Ve Toplum Kökenli Enfeksiyonlardan İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa* Suşlarında Antibiyotik Direnci: Kuzey Kıbrıs’Ta Güncel Durum. *Klinik Dergisi*, 34(1), 31-6.
- Bassetti, M., Vena, A., Croxatto, A., Righi, E., & Guery, B. (2018). How To Manage *Pseudomonas Aeruginosa* Infections. *Drugs In Context*, 7.
- Behçet, M., Avcıoğlu, F., Özsarı, E., Tuncer, T. U. Ğ., & Kurtuluş, M. G. (2020). Koah Akut Atak Nedeniyle Yatan Hastalarda Bakteriyel Enfeksiyon Etkenleri,

- Antibiyotik Direnci Ve Komorbiditenin Araştırılması. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(1), 6-11.
- Berktaş, M., Çıkman, A., Parlak, M., Yaman, G., & Güdücüoğlu, H. (2011). Nozokomiyal Kökenli *Pseudomonas Aeruginosa* İzolatlarında Antibiyotiklere Direnç. *Van Tıp Dergisi*, 18(4), 192-196.
- Bilgehan, H. (2000). *Klinik mikrobiyoloji: Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*, 10. Baskı, İzmir: Barış Yayınları.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. (2015). *Jawetz, Melnick ve Adelberg Tıbbi Mikrobiyoloji*. Çev. Ed. Yenen, O.Ş., Nobel: İstanbul.
- Bulut, Y., & Çağlar, H. (2013). Gram Negatif Non-Fermantatif Bakterilerde Metallo-Beta-Laktamaz Enziminin Farklı Yöntemlerle Gösterilmesi. *FÜ Sağ Bil Tıp Derg*, 27(3), 135-40.
- Bush, K. (1998). Metallo-B-Lactamases: A Class Apart. *Clinical Infectious Diseases*, 27(Supplement_1), S48-S53.
- Bush, K. (1989). Classification of beta-lactamases: groups 1, 2a, 2b, and 2b'. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33(3), 264.
- Bülüç, M., Gürol, Y., & Bal, Ç. (2003). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranları: 2000-2002. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 33, 31-4.
- Castanheira, M., Toleman, M. A., Jones, R. N., Schmidt, F. J., & Walsh, T. R. (2004). Molecular Characterization Of A B-Lactamase Gene, Blagim-1, Encoding A New Subclass Of Metallo-B-Lactamase. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 48(12), 4654.

- Çınar, H. (2019). *Pseudomonas Aeruginosa Ve Acinetobacter Baumannii İzolatlarında İmipenem-Edta/Meropenem-Edta Disk Yöntemi Ve Motifiye Hodge Testi İle Metallo Beta-Laktamaz Varlığının Araştırılması* (Master's Thesis, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Akademik Arşiv Sistemi).
- Dağı, H. T., Arslan, U., Fındık, D., & Tuncer, İ. (2011). Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa* Suşlarının Antibiyotiklere Direnç Oranları. *Ankem Derg*, 25(2), 107-110.
- Dağlar, D., & Öngüt, G. (2012). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) ve tanı yöntemleri.
- Dağlı, O., & Namıduru, M. Geçmişten Bir Analiz; Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Yoğun Bakım Ünitelerinde Nozokomiyal Enfeksiyonların İrdelenmesi Ve Enfeksiyon Risk Faktörlerinin Belirlenmesi. *Sağlık Akademisi Kastamonu*, 3(3), 185-209.
- Demirdağ, K., Çabalak, M., & Özgüler, M. (2011). Yoğun Bakımda İzole Edilen *Pseudomonas Spp.* Suşlarında Metallo-Beta-Laktamaz Sıklığının Araştırılması. *Ankem Dergisi*, 25(3), 150-156.
- Drawz, S. M., & Bonomo, R. A. (2010). Three decades of β -lactamase inhibitors. *Clinical microbiology reviews*, 23(1), 160-201.
- Driscoll, J. A., Brody, S. L., & Kollef, M. H. (2007). The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs*, 67(3), 351-368.
- Duman, Y., Kuzucu, Ç., Kaysadu, H., & Tekerekoğlu, M. S. (2012). Bir Yıllık Sürede İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılığının Araştırılması: Kesitsel Bir Çalışma.

- Durmaz, S., & Özer, T. T. (2015). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Antibiyotik Direnci. *Abant Tıp Dergisi*, 4(3), 239-242.
- Ekincioglu, P., & Perçin, D. (2013). Klinik *Pseudomonas Aeruginosa* İzolatlarının Antibiyotiklere Duyarlılık Durumu. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 22(2), 141-149.
- Er, H., ALTINDIŞ, M., AŞIK, G., & Demir, C. (2015). Seftazidime Dirençli *Pseudomonas Aeruginosa* İzolatlarında Beta-Laktamazların Moleküler Epidemiyolojisi. *Mikrobiyol Bul*, 49(2), 156-165.
- Erdoğan, M. M., Delen, L. A. D., & Erdoğan, E. (2021). Antibiotic Susceptibility Of *Pseudomonas Aeruginosa* Strains Isolated From Intensive Care Units. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, 9(1), 230-237.
- Falodun, O. I., & Musa, I. B. (2020). *Pseudomonas* Species From Cattle Dung Producing Extended Spectrum And Metallo Beta-Lactamases. *European Journal Of Biological Research*, 10(1), 1-10.
- Farrell, D. J., Flamm, R. K., Sader, H. S., & Jones, R. N. (2013). Antimicrobial Activity Of Ceftolozane-Tazobactam Tested Against Enterobacteriaceae And *Pseudomonas Aeruginosa* With Various Resistance Patterns Isolated In US Hospitals (2011-2012). *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 57(12), 6305-6310.
- Fluit, A. C., Visser, M. R., & Schmitz, F. J. (2001). Molecular Detection Of Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 836.
- Goossens, H. (2003). Susceptibility of multi drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units: results from the European MYSTIC study group. *Clinical microbiology and infection*, 9(9), 980-983.
- Gülay, Z., Taşkiran, İ., Kaplan, O., & Saylak, M. Ö. (2001). Beta-Laktamazlar.

- Gür, D. (1996). β -Laktamazların Sınıflandırılması. *Flora*, 2, 80-86.
- Gür, D. (2017). Bakterilerde Antimikrobiyal İlaçlara Karşı Direnç. *Türkiye Klinikleri Enfeksiyon Hastalıkları-Özel Konular*, 10(1), 20-25.
- Güven, Ö., Ünver, D., Özdemir, S., Gönüllü, N., Küçükbasmac, Ö., & Altafl, K. (1993). Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa* Kökenlerinin Antibiyotiklere Duyarlılıkları Ve Beta-Laktam Direnç Fenotipleri.
- Hall, C. W., Hinz, A. J., Gagnon, L. B. P., Zhang, L., Nadeau, J. P., Copeland, S., ... & Mah, T. F. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* biofilm antibiotic resistance gene ndvB expression requires the RpoS stationary-phase sigma factor. *Applied and environmental microbiology*, 84(7).
- Hellinger, W. C., & Brewer, N. S. (1999, April). Carbapenems and monobactams: imipenem, meropenem, and aztreonam. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 74, No. 4, pp. 420-434). Elsevier.
- Hirakata, Y., Yamaguchi, T., Nakano, M., Izumikawa, K., Mine, M., Aoki, S., ... & Kohno, S. (2003). Clinical And Bacteriological Characteristics Of IMP-Type Metallo-B-Lactamase-Producing *Pseudomonas Aeruginosa*. *Clinical Infectious Diseases*, 37(1) 26-32.
- Horcajada, J. P., Montero, M., Oliver, A., Sorlí, L., Luque, S., Gómez-Zorrilla, S., ... & Grau, S. (2019). Epidemiology And Treatment Of Multidrug-Resistant And Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* Infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(4).
- Ishii, Y., Alba, J., Kimura, S., & Yamaguchi, K. (2006). Evaluation Of Antimicrobial Activity Of B-Lactam Antibiotics By Etest Against Clinical Isolates From 100

- Medical Centers In Japan (2004). *Diagnostic Microbiology And Infectious Disease*, 55(2), 143-148.
- Jung, R., Fish, D. N., Obritsch, M. D., & MacLaren, R. (2004). Surveillance of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an urban tertiary-care teaching hospital. *Journal of Hospital Infection*, 57(2), 105-111.
- Kal Çakmaklıoğulları, E. L. Ç. İ. N., & Kuru, C. (2019). *Pseudomonas Aeruginosa* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları: Farklı Örnek Türlerinde Değerlendirme. *Ankem Dergisi*, 33(2), 37-42.
- Kamit, F., & Şener, D. (2020). Bir Devlet Hastanesi Üçüncü Basamak Çocuk Yoğun Bakım Ünitesinde Çoklu İlaç Dirençli Gram Negatif Enfeksiyonların Değerlendirilmesi. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 13(3), 547-554.
- Karapınar, B. A., Yeşiloğlu, C., Durmuş, M. A., Tosun, O., Gürler, N., & Kayacan, Ç. (2020). Alt Solunum Yolu Örneklerinden İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa* Direnç Profilinin İncelenmesi Investigation Of Resistance Profile Of *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated From Lower Respiratory Tract Samples. *Bozok Tıp Dergisi*, 10(3), 48-52.
- Karatuna, O., & Yağcı, A. (2008). *Pseudomonas aeruginosa*'da virülans faktörleri ve quorum sensing. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg*, 38(1), 42-51.
- Kayış, U. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları. *Aydın Sağlık Dergisi*, 5(1), 1-12.
- Köksal, İ., Öncül, O., Korten, V., Ulusoy, S., & Ünal, S. (2012). Güncel Bilgiler Işığında Kolistin. *FLORA*, 17(4), 156-160.
- Köse, Ş., Atalay, S., Ödemiş, İ., & Adar, P. (2014). Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. *Ankem Dergisi*, 28(3), 100-104.

- Lauretti, L., Riccio, M. L., Mazzariol, A., Cornaglia, G., Amicosante, G., Fontana, R., & Rossolini, G. M. (1999). Cloning And Characterization Of Blavim, A New İntegron-Borne Metallo-B-Lactamase Gene From A Pseudomonas Aeruginosa Clinical İsolate. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 43(7), 1584.
- Lee, K., Lim, Y. S., Yong, D., Yum, J. H., & Chong, Y. (2003). Evaluation Of The Hodge Test And The İmipenem-EDTA Double-Disk Synergy Test For Differentiating Metallo-B-Lactamase-Producing İsolates Of Pseudomonas Spp. And Acinetobacter Spp. *Journal Of Clinical Microbiology*, 41(10), 4623.
- Lee, K., Chong, Y., Shin, H. B., & Kim, Y. A. (2001). Modified Hodge And EDTA-Disk Synergy Tests To Screen Metallo-(Beta)-Lactamase-Producing Strains Of Pseudomonas And Acinetobacter Species. *Clinical Microbiology And Infection*, 7(2), 88.
- Lee, K., Yum, J. H., Yong, D., Lee, H. M., Kim, H. D., Docquier, J. D., ... & Chong, Y. (2005). Novel Acquired Metallo-B-Lactamase Gene, Blasim-1, İn A Class 1 İntegron From Acinetobacter Baumannii Clinical İsolates From Korea. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 49(11), 4485.
- Levinson, W. (2008). *Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji*, Çev. Ed.: Özgünen, T., Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri.
- Livermore, D. M. (1995). beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical microbiology reviews*, 8(4), 557-584.
- Livermore, D. M., & Brown, D. F. (2001). Detection Of B-Lactamase-Mediated Resistance. *Journal Of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(Suppl_1), 59-64.

- Livermore, D. M. (2002). Multiple Mechanisms Of Antimicrobial Resistance İn *Pseudomonas Aeruginosa*: Our Worst Nightmare?. *Clinical Infectious Diseases*, 34(5), 634-640.
- Luzzaro, F., Endimiani, A., Docquier, J. D., Mugnaioli, C., Bonsignori, M., Amicosante, G., ... & Toniolo, A. (2004). Prevalence And Characterization Of Metallo-B-Lactamases İn Clinical İsolates Of *Pseudomonas Aeruginosa*☆. *Diagnostic Microbiology And Infectious Disease*, 48(2), 131-135.
- Mansur, A., Ay, S., Otlı, B., Güçlüer, N., & Ersoy, Y. (2013). Karbapenem Dirençli *Pseudomonas Aeruginosa* İzolatlarında Metallo Beta Laktamaz Üretimini Araştırılması. *Journal Of Turgut Ozal Medical Center*, 20(3).
- Marshall, W. F., & Blair, J. E. (1999, February). The cephalosporins. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 74, No. 2, pp. 187-195). Elsevier.
- Migliavacca, R., Docquier, J. D., Mugnaioli, C., Amicosante, G., Daturi, R., Lee, K., ... & Pagani, L. (2002). Simple Microdilution Test For Detection Of Metallo-B-Lactamase Production İn *Pseudomonas Aeruginosa*. *Journal Of Clinical Microbiology*, 40(11), 4388.
- Mohanty, S., Baliyarsingh, B., & Nayak, S. K. (2020). Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: A Concise Review. In *Antimicrobial Resistance*. IntechOpen.
- Murphy, T. A., Simm, A. M., Toleman, M. A., Jones, R. N., & Walsh, T. R. (2003). Biochemical Characterization Of The Acquired Metallo-B-Lactamase SPM-1 From *Pseudomonas Aeruginosa*. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 47(2), 582.

- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., Pfaller, M. A.(2014), *Tıbbi mikrobiyoloji*. Çev. Ed. Başustaoğlu, A. C., Ankara: Atlas Kitapçılık.
- Öcal, D. (2012). Gram negatif bakterilerde antibakteriyal direncin fenotipik yöntemler ile tayin ve bildirimi. *Ankem Derg*, 26(3), 154-164.
- Öncül, O. (2017). Karbapenemler ve Monobaktamlar. *Türkiye Klinikleri Enfeksiyon Hastalıkları-Özel Konular*, 10(1), 50-59.
- Özer, B., Inci, M., Duran, N., Kurtgoz, S., Alagoz, G., Pasa, O., & Kılınç, C. (2016). Comparison Of Antibiotic Resistance Of Acinetobacter And Pseudomonas Aeruginosa Strains Isolated From Intensive Care Units With Other Clinics. *Acta Med Mediterr*, 32(1), 117-122.
- Özyurt, M., Haznedaroğlu, T., Baylan, O., Hoşbul, T., Ardiç, N., & Bektöre, B. (2010). Yatan Hastalardan İzole Edilen Pseudomonas İzolatlarında Antibiyotik Direnci. *Ankem Dergisi*, 24(3), 124-129.
- Paköz, N. İ. E., Doğan Şeriban, S., & Aral, M. (2011). Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Pseudomonas Aeruginosa Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Ankem Dergisi*, 25(2), 73-78.
- Pasa, O., Ozer, B., Duran, N., Inci, M., & Yula, E. (2016). Beta-Lactamase Enzymes Of Clinical Pseudomonas Aeruginosa Strains. *West Indian Med. J*, 65(1), 40-5.
- Raja, N. S., & Singh, N. N. (2007). Antimicrobial Susceptibility Pattern Of Clinical Isolates Of Pseudomonas Aeruginosa In A Tertiary Care Hospital. *Journal Of Microbiology, Immunology, And Infection*, 40(1), 45-49.
- Sanders, C. C., & Sanders Jr, W. E. (1992). B-Lactam Resistance In Gram-Negative Bacteria: Global Trends And Clinical Impact. *Clinical Infectious Diseases*, 15(5), 824-839.

- Shibata, N., Doi, Y., Yamane, K., Yagi, T., Kurokawa, H., Shibayama, K., ... & Arakawa, Y. (2003). PCR Typing Of Genetic Determinants For Metallo-B-Lactamases And Integrases Carried By Gram-Negative Bacteria Isolated In Japan, With Focus On The Class 3 Integron. *Journal Of Clinical Microbiology*, 41(12), 5407.
- Sırıken, B., & Öz, V., (2017)., *Pseudomonas aeruginosa*: Özellikleri ve Quorum Sensing Mekanizması. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (18), 42-52.
- Silby, M. W., Winstanley, C., Godfrey, S. A., Levy, S. B., & Jackson, R. W. (2011). *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. *FEMS microbiology reviews*, 35(4), 652-680.
- Strateva, T., & Yordanov, D. (2009). *Pseudomonas Aeruginosa*—A Phenomenon Of Bacterial Resistance. *Journal Of Medical Microbiology*, 58(9), 1133-1148.
- Tanrıverdi Çaycı, Y., Torun, E. G., Bilgin, K., & Birinci, A. (2021) Yara Yeri Örneklerinden İzole Edilen Etkenler Ve Antibiyotik Direnç Profilleri. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11(2), 123-128.
- Toleman, M. A., Simm, A. M., Murphy, T. A., Gales, A. C., Biedenbach, D. J., Jones, R. N., & Walsh, T. R. (2002). Molecular Characterization Of SPM-1, A Novel Metallo-B-Lactamase Isolated In Latin America: Report From The SENTRY Antimicrobial Surveillance Programme. *Journal Of Antimicrobial Chemotherapy*, 50(5), 673-679.
- Tümer, S., Kirişçi, Ö., Özkaya, E., & Çalışkan, A. (2015). Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. *Ankem Dergisi*, 29(3), 99-104.

- Üsküdar Güçlü, A., Kılıç, A., Bedir, O., Yılmaz, S., & Güney, M. (2013). Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen Karbapenemaz Aktivitesi Gösteren Çoklu İlaç Dirençli *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarında Metallo-Beta-Laktamaz Üretiminin Araştırılması. *Gülhane Tıp Dergisi*, 55(3), 176-180.
- Vahaboğlu, H., Akhan, S. (2008). *Pseudomonas Aeruginosa* ve Diğer *Pseudomonas* Türleri. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi 2*. (2175-2186). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.
- Varışlı, A. N., Aksoy, A., Baran, I., & Aksu, N. (2017). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa* Suşlarının Yıllara Göre Antibiyotik Direnci. *Türk Hijyen Ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 74(3), 229-236.
- World Health Organization. (2018). Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance: Annual report 2018.
- Yaman, G., Çıkman, A., Parlak, M., Güdücüoğlu, H., Berktaş, M., Van Dalı, T. M. A., ... & Laboratuvarı, M. (2014). Nozokomiyal Kökenli *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarında Metallo-Beta-Laktamaz Sıklığı. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 44(4), 139-143.
- Yan, J. J., Wu, J. J., Tsai, S. H., & Chuang, C. L. (2004). Comparison Of The Double-Disk, Combined Disk, And Etest Methods For Detecting Metallo-B-Lactamases In Gram-Negative Bacilli. *Diagnostic Microbiology And Infectious Disease*, 49(1), 5-11.
- Yanık, S. (2003). Klinik Örneklerden İzole Edilen Gram Negatif Çomaklarda B-Laktamaz Aktivitesi Ve Antibiyotiklere Direnç Durumları İÜ CTF Mikrobiyoloji Ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D. Uzmanlık Tezi.

- Yılmaz, E. (2017). Kinolonlar. *Türkiye Klinikleri Enfeksiyon Hastalıkları-Özel Konular*, 10(1), 99-105.
- Yong, D., Lee, K., Yum, J. H., Shin, H. B., Rossolini, G. M., & Chong, Y. (2002). Imipenem-EDTA Disk Method For Differentiation Of Metallo-B-Lactamase-Producing Clinical Isolates Of Pseudomonas Spp. And Acinetobacter Spp. *Journal Of Clinical Microbiology*, 40(10), 3798.
- Van Eldere, J. (2003). Multicentre Surveillance Of Pseudomonas Aeruginosa Susceptibility Patterns In Nosocomial Infections. *Journal Of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(2), 347-352.
- Vural, E., Delialioğlu, N., Tezcan Ulger, S., Emekdas, G., & Serin, M. S. (2020). Phenotypic And Molecular Detection Of The Metallo-Beta-Lactamases In Carbapenem-Resistant Pseudomonas Aeruginosa Isolates From Clinical Samples. *Jundishapur Journal Of Microbiology*, 13(2).

