

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI



YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN İZOLE EDİLEN
Pseudomonas aeruginosa İZOLATLARININ VİRULANS
FAKTÖRLERİNİN VE QUARUM SENSİNG GENLERİNİN
BELİRLENMESİ VE BAİCALİN MADDESİNİN BİYOFİLM
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Doktora Tezi

İlknur BIYIK

Danışman

Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1904.21.011 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

İlknur BIYIK tarafından, Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI danışmanlığında hazırlanan “YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN İZOLE EDİLEN *Pseudomonas aeruginosa* İZOLATLARININ VİRULANS FAKTÖRLERİNİN VE QUARUM SENSİNG GENLERİNİN BELİRLENMESİ VE BAİCALİN MADDESİNİN BİYOFİLM ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 22.8.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Aynur ATİLLA Ondokuz Mayıs Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Hacer Özlem KALAYCI Ordu Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Emel ÇALIŞKAN Düzce Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☒ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☐

22/06/2023
İlknur BIYIK

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN İZOLE EDİLEN *Pseudomonas aeruginosa* İZOLATLARININ VİRULANS FAKTÖRLERİNİN VE QUARUM SENSİNG GENLERİNİN BELİRLENMESİ VE BAİCALİN MADDESİNİN BİYOFİLM ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 22.06.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 12

Tek kaynak oranı : % 3 çıkmıştır.

22/06/2023
Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI

ÖZET

YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN İZOLE EDİLEN *Pseudomonas aeruginosa* İZOLATLARININ VİRÜLANS FAKTÖRLERİNİN VE QUARUM SENSİNG GENLERİNİN BELİRLENMESİ VE BAİCALİN MADDESİNİN BİYOFİLM ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

İlknur BIYIK

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı

Doktora, Ağustos/2023

Danışman: Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI

Amaç: Yoğun bakım hastalarının farklı örneklerinden izole edilen *P. aeruginosa* (n:136) izolatının biyofilm oluşumunun belirlenip filogenetik yakınlıklarının değerlendirilerek, virülans faktörlerinin üretiminde düzenleyici rolü olan *toxA*, *algD*, *plcN*, *plcH*, *lasB*, *lasI*, *lasR*, *rhlI*, *rhlR* varlığının araştırılmasıdır. Ayrıca güçlü biyofilm üreten bakterilerin (3+) seftazidim, kolistin kombinasyonunun sinerjik etkinliğinin ve baicalinin biyofilm oluşumunu engelleyici etkisinin belirlenmesidir.

Materyal ve Metot: Biyofilm oluşumunun belirlenmesinde fenotipik yöntemlerden olan mikropakta absorpsiyon ölçümüne dayalı olarak biyofilm derecelendirilmesi yapıldı. Filogenetik ilişkinin ERIC-2 primerleri kullanılarak RAPD-PZR yöntemiyle araştırıldı. Gen bölgelerinin varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile saptandı. Biyofilm testi sonucunda 3 + olan suşlara kolistin ve seftazidim kombinasyonunun invitro sinerjik etkinliği checkerboard yöntemi ile değerlendirildi. Ayrıca baicalinin biyofilm önleyici etkisi sub-MİK ile belirlendi.

Bulgular: Biyofilm mikropak yöntemine göre derecelendirme (0,1,2,3) oranları sırası ile %37,5, %44,85, %12,5, %5,15 olduğu belirlenmiştir. Mikropak yöntemine göre güçlü (3+) biyofilm üretme derecesine sahip olan suşların baicalin sub-MİK değerinin 512 µg/ml olduğu belirlenmiştir. Seftazidim, kolistin kombinasyonunda sinerji oluşumu gözlemlenmemiştir. Gen pozitifliklerinin sırasıyla (*toxA*, *plcH*, *algD*, *lasB*, *plcN*; intakt ve internal quorum sensing (*lasI*, *lasR*, *rhlI* ve *rhlR*)) %87,50, %99,26, %100, %100, %100, %93,38, %83,08, %98,52, %93,38; %95,58, %97,05, %100, %98,52. Filogenetik yakınlıklarının belirlenmesi için RAPD-PZR yapılarak dendograma çizilmiş; 10-113, 109-39, 50-53, 35-78, 40-74, 45-95-97, 103-49, 133-66, 23-34, 14-28, 1-19, 22-6, 83-86, 105-32, 125-30, 108-82, 117-88 suşlarının kökenlerinin aynı olabileceği belirlenmiştir.

Sonuç: Yoğun bakımdan izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının biyofilm üretim, belirlenen virülans gen pozitiflik ve çoklu antibiyotik direnç oranının yüksek olduğu, fakat filogenetik yakınlıklarının %80 eşik değerinde benzerliklerin olduğu belirlenmiştir. Yüksek biyofilm üreten suşlarda seftazidim, kolistin antibiyotiklerinin sinerjik etki gözlemlenmemiş olup, biyofilme baicalinin belli konsantrasyonunun etkili olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Pseudomonas aeruginosa*, Virülans genler, Quorum sensing, ERIC-2, Biyofilm, Baicalin

ABSTRACT

DETERMINATION OF VIRULANCE FACTORS AND QUORUM SENSING GENES OF *Pseudomonas aeruginosa* ISOLATES FROM INTENSIVE CARE UNIT PATIENTS AND INVESTIGATION OF THE EFFECT OF BAICALIN ON BIOFILM

İlknur BIYIK

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Medical Microbiology

Ph.D., August/2023

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI

Objective: To determine the biofilm formation of *P. aeruginosa* (n:136) isolates isolated from different samples of intensive care patients, to evaluate their phylogenetic affinities and to investigate the presence of *toxA*, *algD*, *plcN*, *plcH*, *lasB*, *lasI*, *lasR*, *rhII*, *rhIR* which have a regulatory role in the production of virulence factors. In addition, to determine the synergistic efficacy of ceftazidime, colistin combination and the inhibitory effect of baicalin on biofilm formation in strong biofilm producing bacteria (3+).

Materials and Methods: Biofilm grading was performed based on absorbance measurement in microplate, which is one of the phenotypic methods for determining biofilm formation. Phylogenetic relationship was investigated by RAPD-PZR method using ERIC-2 primers. The presence of gene regions was determined by polymerase chain reaction (PCR). The in vitro synergistic efficacy of colistin and ceftazidime combination on strains with 3+ biofilm test results was evaluated by checkerboard method. In addition, the anti-biofilm effect of baicalin was determined by sub-MIC.

Results: According to the biofilm microplate method, the rates of grading (0,1,2,3) were 37.5%, 44.85%, 12.5%, 5.15%, respectively. According to the microplate method, the baicalin sub-MIC value of the strains with strong (3+) biofilm production was determined to be 512 µg/ml. No synergy was observed in the combination of ceftazidime and colistin. Gene positivity rates (*toxA*, *plcH*, *algD*, *lasB*, *plcN*; intact and internal quorum sensing (*lasI*, *lasR*, *rhII* and *rhIR*)) were 87.50%, 99.26%, 100%, 100%, 100%, 100%, 93.38%, 83.08%, 98.52%, 93.38%; 95.58%, 97.05%, 100%, 98.52%, respectively. RAPD-PZR was performed to determine their phylogenetic affinities and dendograms were drawn; it was determined that the strains 10-113, 109-39, 50-53, 35-78, 40-74, 45-95-97, 103-49, 133-66, 23-34, 14-28, 1-19, 22-6, 83-86, 105-32, 125-30, 108-82, 117-88 may have the same origin.

Conclusion: Biofilm production, virulence gene positivity and multiple antibiotic resistance rates of *P. aeruginosa* strains isolated from intensive care unit were found to be high, but phylogenetic similarities were determined at 80% threshold. No synergistic effect of ceftazidime, colistin antibiotics was observed in high biofilm producing strains, and it was determined that certain concentration of baicalin was effective on biofilm.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Virulence genes, Quorum sensing, ERIC-2, Biofilm, Baicalin

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca benden destek ve ilgisini esirgemeyen bilgi ve tecrübeleriyle tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarımızın planlanıp yürütülmesindeki her konuda pratik çözüm odaklı bakış açısı ile değerli vaktini ayırarak yardımcı olan çok saygıdeğer danışmanım Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI hocama en içten dileklerimle sonsuz teşekkür ederim. Lisansüstü eğitimim sırasında bilgi ve deneyimleri ile bize yol gösteren, her türlü sorumuzda bizi dinleyen, yardımcı olmaya çalışan başta Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanı çok saygıdeğer hocam Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ'ye olmak üzere, Dr. Öğr. Üyesi Demet GÜR VURAL'a ve tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyip vaktini ayıran çok değerli hocam Doç. Dr. Kemal BİLGİN'e çok teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan ve tanışmaktan mutluluk duyduğum bana her konuda destek olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalının asistanlarına, doktora öğrencilerine, yüksek lisans öğrencilerine ve laboratuvar personeline teşekkürü borç bilirim. Ayrıca tez dönemimde yanımda olan bana güç veren her fırsatta yardımına koşan, hayatımda oldukları için çok şanslı hissettiğim değerli arkadaşlarım Uzm. Dr. Canberk ÇINAR'a, Uzm. Dr. Gülşah KARACAN'a, Gülsüm NALBANT'a, Dr. Sare Kaya DAŞTAN'a, Dr. Muhammed Samet Emre DAŞTAN'a ve Dr. Esra TÜRKEN'e teşekkür ederim.

Çalışmamızda kullanılmak üzere bize gönderilen primer ve pozitif kontrol için Prof. Dr. Alper ÇİFTÇİ'ye, Dr. Öğr. Üyesi Ceren BAŞKAN'a ve çalışmalarda özverili davranıp elinden gelen desteği veren Bio. Çağrı ÇAVDAR'a teşekkür ederim. Ayrıca çalışma sonuçlarının istatistiksel analizlerinin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Hasan Bulut'a çok teşekkür ederim.

Hayattaki en büyük şanslarımdan biri olan; hayatımın her anında dağ gibi arkamda olan ve her türlü fedakarlıkta bulunan, beni yetiştiren, bugünlere gelmemi sağlayan, sevgilerini, desteklerini hiç eksik etmeyen canım annem ve babama; çok değerli canım kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma PYO.TIP.1904.21.011 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

İlknur BIYIK

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. Sınıflandırma	3
2.1.3. Morfoloji ve boyanma özellikleri	4
2.1.4. Kültür Özellikleri	4
2.1.5. Biyokimyasal Özellikler	4
2.1.6. Epidemiyoloji ve Bulaş	5
2.1.7. Virülans Özellikleri ve Patogenezi	6
2.1.8. Biyofilm Oluşumu ve Bakteriyel İletişim Quorum Sensing Mekanizması	11
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1. Bakterilerin seçilmesi, tanımlanması ve duyarlılık testleri	21
3.2. <i>P. aeruginosa</i> 'da belirlenen fenotipik testlerin çalışılması	21
3.2.1. Biyofilm Üretiminin Mikrotitrasyon plağı yöntemi ile Saptanması	21
3.2.2. Baicalin, Seftazidim ve Kolistinin minimum inhibitör konsantrasyon Değerlerinin Belirlenmesi	23
3.2.3. Baicalinin sub minimum inhibitör konsantrasyonu (Sub-MİK)	23
3.2.4. Sinerji Testi	24
3.3. Moleküler Analizler	27
3.3.1. DNA ekstraksiyonu	27
3.3.2. Belirlenen virülans genlerinin PZR ile saptanması	27
3.3.3. Quorum sensing genlerinin PZR ile saptanması	28
3.3.4. ERIC-2 Primerleri ile RADP-PZR	31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	37
4.1. <i>P. aeruginosa</i> izolatlarının klinik örneklerle göre dağılımı	37
4.2. <i>P. aeruginosa</i> izolatlarının antibiyotik direnç dağılımı	38
4.3. Fenotipik Analizler	39
4.3.1. Biyofilm Oluşumu	39
4.3.2. Baicalin, Seftazidim ve Kolistin MİK	42
4.3.3. Baicalin Sub-MİK	42
4.3.4. Sinerji Testi (Checkerboard Yöntemi, Dama Tahtası)	43
4.4. Moleküler Analizler	53
4.4.1. Virülans Genleri	53
4.4.2. Quorum Sensing Genleri	56
4.4.3. ERIC-2 Primerleri ile RADP-PZR	62
5. SONUÇLAR	75
KAYNAKLAR	76
EKLER	87
Ek-1. Etik Kurul İzni	87
ÖZ GEÇMİŞ	88

SİMGELER VE KISALTMALAR

AHL	: N-açıl homoserin lakton
algD	: Alginat
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CFTR	: Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
ÇA	: Çoğunluğu algılama
EMB	: Eozin Metilen Mavisi
EPS	: Ekzopolisakarit
ERIC	: Enterobacterial repetitive intergenic consensus
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters
FİK	: Fraksiyonel inhibitör konsantrasyon
HHQ	: 2-heptil-4-hidroksikinolon
KF	: Kistik Fibrozis
KOD	: Kontrol Optik Dansitesi
lasB	: Elastaz
MBOD	: Mikroorganizma Biyofilmi Optik Dansitesi
MHA	: Mueller Hinton agar
OD	: Optik dansite
plc	: Fosfolipaz
PQS	: 2-heptil-3-hidroksi-4-kinolon
QS	: Quorum Sensing
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA
toxA	: Toksin A
TSB	: Triptik soy buyyon
TSI	: Triple Sugar Iron
UPGMA	: Unweighted pair group method with mathematical averaging

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Gram negatiflerde Quorum Sensing sisteminin düzenlenmesi (Van Delden and Iglewski, 1998)	15
Şekil 2.2. <i>P. aeruginosa</i> 'da QS sinyal iletim yolağının şematik gösterimi (Hurley et al., 2012).....	16
Şekil 4.1. Örnek türü dağılımı.....	37
Şekil 4.2. İzolatların antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	38
Şekil 4.3. Çalışma izolatlarının biyofilm mikropalak derecelerinin (0,1,2,3) dağılımı	41
Şekil 4.4. Mikrotitrasyon plak dizaynı (pozitif kontrol suşu: <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15692, negatif kontrol suşu: steril serum fizyolojik).....	42
Şekil 4.5. Baicalin sub-MİK plağı	43
Şekil 4.6. ATCC 15692 <i>P. aeruginosa</i> numaralı suşun sinerji çalışma plağı (CAZ: Seftazidim, CT:Kolistin, +K: Pozitif Kontrol, -K: Negatif Kontrol)	44
Şekil 4.7. ToxA geninin jel görüntüsü. M: marker (100 bp), 1: Pozitif kontrol, 2-19: Klinik suşlar.....	53
Şekil 4.8. AlgD, lasB, plcN, plcH genlerinin jel görüntüsü. M: Marker, 1: Pozitif kontrol, 2-8: Klinik suşlar	54
Şekil 4.9. İnternal jel görüntüsü 1. set (lasI, rhIR) (solda), 2. set (lasR, rhII) (sağda). M: Marker, 1: Pozitif kontrol, 2-19: Klinik suşlar	57
Şekil 4.10. İntakt jel görüntüsü 1. set (lasR, rhII) (solda), 2. set (lasI, rhIR) (sağda). M: Marker, 1: Pozitif kontrol, 2-19: Klinik suşlar	57
Şekil 4.11. İzolatların RAPD-PCR sonucu görüntülenen bantları.....	63

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. <i>P. aeruginosa</i> virölans faktörleri ve rolleri (Al-Wrafy et al., 2017; Domingo-Calap et al., 2016).....	6
Tablo 3.1. Biyofilm formasyon aktivitelerinin belirlenmesi (Chusri et al., 2012).....	22
Tablo 3.2. Kombinasyon etkisi denenen seftazidim ve kolistin plaktaki kombinasyon dilasyonları ve örnek plak planlaması (µg/ml).....	26
Tablo 3.3. QS (İntakt ve internal primer dizileri), <i>toxA</i> , <i>algD</i> , <i>lasB</i> , <i>plcN</i> , <i>plcH</i> primer dizileri ve gen bölgeleri	28
Tablo 3.4. <i>ToxA</i> geninin master mix değerleri	29
Tablo 3.5. <i>ToxA</i> geninin amplifikasyon programı	29
Tablo 3.6. <i>AlgD</i> , <i>plcN</i> , <i>lasB</i> , <i>plcH</i> genlerinin master mix değerleri.....	29
Tablo 3.7. <i>AlgD</i> , <i>plcN</i> , <i>lasB</i> , <i>plcH</i> 'nin multipleks PZR'si	30
Tablo 3.8.İntakt genlerinin 1. setinde <i>lasR</i> , <i>rhII</i> ; 2. setinde <i>lasI</i> , <i>rhIR</i> genlerinin master mix değerleri.....	30
Tablo 3.9.İntakt (<i>lasI</i> , <i>lasR</i> , <i>rhII</i> ve <i>rhIR</i>) genlerinin amplifikasyon programı	30
Tablo 3.10. İnternal genlerinin 1. setinde <i>lasR</i> , <i>rhII</i> ; 2. setinde <i>lasI</i> , <i>rhIR</i> genlerinin master mix değerleri.....	31
Tablo 3.11. İnternal (<i>lasI</i> , <i>lasR</i> , <i>rhII</i> ve <i>rhIR</i>) genlerinin amplifikasyon programı	31
Tablo 3.12. ERIC-2 master mix değerleri.....	32
Tablo 3.13. ERIC-2 amplifikasyon programı	32
Tablo 3.14. Nanodrop ölçüm sonuçları (İzole edilen DNA saflık oranı).....	33
Tablo 4.1. Örnek türleri ile biyofilm dereceleri arasındaki ilişkinin incelenmesi.....	39
Tablo 4.2. Antibiyotik direnç oranlarıyla biyofilm derecelerinin karşılaştırılması.....	40
Tablo 4.3. Biyofilm mikropak 3 derecede (n=7) olan baicalin, seftazidim, kolistin MİK ve baicalin sub-MİK değerleri.....	42
Tablo 4.4. ATCC 15692 <i>P. aeruginosa</i> numaralı suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları	45
Tablo 4.5. 73 numaralı <i>P. aeruginosa</i> suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları	46
Tablo 4.6. 99 numaralı <i>P. aeruginosa</i> suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları	47
Tablo 4.7. 105 numaralı <i>P. aeruginosa</i> suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları	48
Tablo 4.8. 107 numaralı <i>P. aeruginosa</i> suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları	49
Tablo 4.9. 111 numaralı <i>P. aeruginosa</i> suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları	50
Tablo 4.10. 113 numaralı <i>P. aeruginosa</i> suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları	51
Tablo 4.11. 135 numaralı <i>P. aeruginosa</i> suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları	52
Tablo 4.12. <i>toxA</i> , <i>algD</i> , <i>lasB</i> , <i>plcN</i> , <i>plcH</i> genlerinin PZR sonuçları.....	53
Tablo 4.13. Örnek türleri ile virölans genler arasındaki ilişkinin incelenmesi	54
Tablo 4.14. Antibiyotik direnç oranlarıyla virölans genlerin karşılaştırılması	55
Tablo 4.15. Biyofilm derecesiyle virölans genlerin karşılaştırılması.....	56
Tablo 4.16. İntakt ve İnternal (<i>lasI</i> , <i>lasR</i> , <i>rhII</i> ve <i>rhIR</i>) genlerinin PZR sonuçları.....	57

Tablo 4.17. Örnek türleri ile quorum sensing genleri arasındaki ilişkinin incelenmesi.....	58
Tablo 4.18. Antibiyotik direnç oranlarıyla quorum sensing genlerin karşılaştırılması.....	59
Tablo 4.19. Biyofilm derecesiyle quorum sensing genlerin karşılaştırılması	61
Tablo 4.20. Tez çalışmaları kapsamında elde edilen bulguların toplu sunumu	64



1. GİRİŞ

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*); aerobik, spor oluşturmeyen ve hareketli Gram negatif bir basildir. Lavabolardan, sebzelerden, nehir sularından ve hatta antiseptik solüsyonlardan hidrofilik olduğu için kolaylıkla izole edilebilmektedir (Speert et al., 1993). Gram-negatif bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlar içerisinde *P. aeruginosa*, bağışıklık sistemi zayıflamış insanlar arasında enfeksiyonlara neden olan, normal bağışıklık yanıtını geliştiremeyen hastalarda çok sayıda nozokomiyal enfeksiyonu tetikleyen fırsatçı patojenlerden biridir (Bassetti et al., 2018). Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl *P. aeruginosa* ile ilişkili çok sayıda enfeksiyon rapor edilmektedir. Bunların yaklaşık %13'ünün (6000) çoklu ilaca dirençli olduğu ve 400 ölüme neden olduğu bilinmektedir (Lambert, 2002). Bu izolatlar yoğun bakım ünitelerinde sıklıkla idrar yolu, cerrahi yara ve solunum yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Landman et al., 2007).

Virülans faktörleri, bakterilerin hastalık yapma kapasitesini gösterir; örneğin *P. aeruginosa* izolatlarının yapısal bileşenleri, toksinleri ve enzimleri gibi birçok virülans faktörüne sahiptir (Murray et al., 2007). *P. aeruginosa*'nın virülansında hücre dışı faktörler görev almaktadır. Konak hücre yüzeyine, özellikle pili, flagella ve lipopolisakkarit gibi yüzey bileşenleri ile bağlanır ve bir konakçı immün tepkisi ortaya çıkarır. Yapılan pek çok *P. aeruginosa* virülansı ile ilgili hayvan modeli çalışmalarında toksinler (ekzotoksin A ve ekzoenzim S), proteazlar (elastaz, lasA proteaz, alkali proteaz ve proteaz 4) ve hemolizinlerin (ramnolipid ve fosfolipaz) rol aldığı belirlenmiştir. Quorum Sensing (QS) sistemi, birçok mikroorganizma için önemli virülans faktörü olan biyofilm yapısını da etkileyebilmektedir (Wang et al., 2007).

Biyofilm, bakterilerin biraraya gelmesiyle oluşturduğu rastgele bir olay değildir. Bakterilerin biyofilm oluşturmak için farklı kimyasal sinyal mekanizmalarını kullandıkları gösterilmiştir (Wagner and Iglewski, 2008). Popülasyon yoğunluğunu ölçmeye yönelik kimyasal sürece QS denmektedir (March and Bentley, 2004).

P. aeruginosa'da çoğu hücre dışı virülans faktörlerinin üretimi, bakteri hücre yoğunluğunu izleyen ve bakteriler arasında iletişime izin veren bir mekanizma tarafından kontrol edilir (Rutherford and Bassler, 2012). Bakteriler bu bilgiyi işleyerek çevresel koşulları algılayabilir ve uygun şekilde yanıt verebilir. Hücreden hücreye iletişim veya QS olarak isimlendirilen bu mekanizma, Gram negatif ve Gram pozitif

bakterilerin çoğunda tespit edilmiştir (Kleerebezem et al., 1997). *P. aeruginosa*'da iki ana QS sistemi tanımlanmıştır; Kendi aralarında hiyerarşik ilişkilere sahip olan sistemler las ve rhl sistemleridir (Karatuna, 2008). Çalışmalar, bu sistemlerin diğer virülans faktörlerinin üretimini düzenlediğini göstermiştir (Murray et al., 2007).

Baicalin (*Scutellaria baicalensis*'in köklerinin önemli bir bileşeni); ateş, bronşit ve üst solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde klinik olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Baicalin ayrıca; *Candida albicans*'a karşı antifungal aktivite, Enterovirüslere karşı antiviral aktivite ve metisiline dirençli *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite göstermektedir. *Burkholderia cenocepacia*'da asil homoserin lakton (AHL) bazlı QS ile düzenlenen gen ekspresyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Du et al., 2019).

Doğal veya kimyasal maddelerden yapılan inhibitör etkiye sahip antibiyotikler; diğer canlı mikroorganizmaların çoğalmasını engeller. Tüm antibiyotiklerin makromoleküler hedefleri, diğer birçok hücresel elementle işlevsel olarak etkileşime girer. Sub-MİK değerlerde, birçok antibiyotik, çeşitli bakterilerde çok sayıda transkript oluşumunu artırır veya azaltır. Stres tepkilerinin yüksek antibiyotik konsantrasyonlarında meydana geldiği ve sub-MİK konsantrasyonlarında farklı tepkiler gösterilmiştir (Davies et al., 2006).

Çalışmaya dahil edilen yoğun bakımdan izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında virülans faktörlerinden olan biyofilmin fenotipik yöntemlerden olan mikropakta absorbans ölçümüne dayalı olarak belirlenmiştir Ayrıca moleküler yöntemlerle, virülans faktörlerinin üretiminde düzenleyici rolü olan toksin A (tox A), alginat (algD), fosfolipaz (plcN, plcH), elastaz (lasB) genleri ve QS genlerinin (lasI, lasR, rhII, rhIR) polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır. *P.aeruginosa* suşlarının mikropak biyofilm testi sonucunda güçlü (3+) biyofilm oluşturan suşlara baicalin, kolistin ve seftazidim inhibitör etkisi araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca yoğun bakım servisinden izole edilen *P. aeruginosa* izolatları arasındaki ilişkinin ERIC-2 (enterobacterial repetitive intergenic consensus/tekrarlayan enterobakteriyel intergenik konsensus) primerleri kullanılarak RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) PZR yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.1. Tarihçe

P. aeruginosa, ilk defa Sédillot tarafından 1850 yılında cerrahi yaraların pansumanlarının mavi yeşil renkte akıntı olması ile fark edilmiştir (Mahmoudi et al., 2021). Bu renkli pigment salgılanması ile oluşan akıntı ilk olarak *Bacillus pyocyaneus* (pyo=pus, cyaneus=mavi) ve daha sonra *Pseudomonas pyocyanea* olarak isimlendirilmiştir (Moradali et al., 2017). Luke ise 1862 yılında irinlerden akan mavi yeşil akıntılardan örnekler alıp mikroskopik incelemeler yapması sonucunda basil şeklinde canlıların olduğunu belirtmiştir (Divya, 2013).

P. aeruginosa, 1882 yılında ilk kez saf kültür olarak izolasyon yapan Carle Gessard tarafından, 1897’de Hitschman ve Kreibich ve 1925’te de Osler tarafından patojenik bir bakteri olarak tanımlanmıştır (Brooks et al., 2010). *P. aeruginosa* yüzyıldan uzun süredir bilinmesine karşın, ilk kez 1960’lı yıllarda insanlarda enfeksiyon etkeni olarak tanımlanmaya başlamıştır (Weinstein et al., 2005).

2.1.2. Sınıflandırma

P. aeruginosa’nın tanımlanmasından bu zamana kadar çeşitli adlarla (*Bacterium aeruginosum*, *Bacterium aerugineum*, *Micrococcus pyocianus*, *Pseudomonas pyocianea*, *Bacterium pyocianum*, *Pseudomonas polycolor*) anılmıştır (Bilgehan, 2000). 1990 yılında Migula Yunanca yalancı (pseudos) ve tekil (monas) anlamlarına gelen kelimelerin birleştirilmesi ile *Pseudomonas* olarak isimlendirilmiştir (Pitt and Simpson, 2006). Sınıflandırmadaki kullanılan yöntemlerin ilki morfolojik özelliklere göre olmuştur. İkinci olarak ise, DNA ve RNA arasındaki benzerliklere dayanmaktadır (Al-Qasi, 2012). Bergey’in metodolojik bakteriyolojisine göre *P. aeruginosa*’nın bilimsel sınıflandırması aşağıdaki gibidir (Bergey et al., 1939).

Kingdom: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Gamma Proteobacteria

Order: Pseudomonadales

Family: Pseudomonadaceae

Genus: *Pseudomonas*

Species: *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas'ların büyük bir kısmı *Pseudomonas* cinsi içinde sınıflandırılmasına rağmen, her beş rRNA grubunun taksonomik olarak farklı genetik grupları temsil ettiği anlaşılmış ve sonuçta her rRNA grubu grup 1 üyeleri *Pseudomonas* cins isimlendirmesini korur (Procop et al., 2020).

Floresan gruptaki türlerin hepsi, uzun dalga boylu (400 nm) ultraviyole ışık altında beyaz ve mavi yeşil renkler arasında floresans veren suda çözünür piyoverdin pigment üretmektedir. Floresan pigment üretimi, yüksek fosfat konsantrasyonu ile zenginleştirilmiş ortamda belirgin olarak artmaktadır. Bu grubun bazı üyeleri piyoverdin üretmesine rağmen; *P. aeruginosa* türüne özgü suda çözünür piyosiyanın (mavi-yeşil) pigmenti üretir (Procop et al., 2020; Wiedmann et al., 2000).

2.1.3. Morfoloji ve boyanma özellikleri

Küçük, bazen çift, bazen zincir benzeri, fakat genellikle tek, sporsuz, uçlarında bir, nadiren 2-3 flagella bulunan çok hareketli, Gram negatif basillerdir (Bilgehan, 2000).

2.1.4. Kültür Özellikleri

Koyun kanlı agarda geniş gri koloniler piyosiyanın pigmentine bağlı olarak tipik yeşil metalik parlaklık oluşturarak timsah derisi görünümünde; beta hemoliz yaparak karakteristik bir görünüm oluştururlar (Procop et al., 2020; Ustaçelebi, 1999). Ayrıca oluşan bu kültürlerdeki tatlımsı, aromatik meyve, olgun üzüm ya da trimetilamin (triptofan 2- aminoasetofenondan) kokusuna benzer bir özel karakteristik koku oluştururlar (Bilgehan, 2000; Scott-Thomas et al., 2010). Bu tipik meyve kokusunun laboratuvarında ve hasta yatağı başında olması enfeksiyon etkeninin *Pseudomonas* olabileceğini akla getirmelidir (Harvey et al., 2006). Özetle *P. aeruginosa*'nın hızlı tanımlanmasında; kültürde ki tipik koloni morfolojisi, oksidaz pozitifliği, meyvemsi kokusu ve yayılan pigment üretimi ile yapılabilir (Procop et al., 2020).

P. aeruginosa'lar zorunlu aeroptur ve en iyi üreyebildikleri sıcaklık 37 °C olmakla birlikte 42 °C'de üremeleri ile diğer floresan grubundaki diğer *Pseudomonas* türlerinden ayırt etmede yardımcı; fakat 4 °C'de üremezler (Ustaçelebi, 1999).

2.1.5. Biyokimyasal Özellikler

P. aeruginosa izolatları; kanlı agarda β -hemoliz yapabilmekte, genellikle mukoid veya tırtıklı, agarlı besiyerinin yüzeyinde metalik parlaklık veren koloniler üretmesi, Mueller Hinton agarda (MHA) yeşil pigmentasyon fenotipik olarak

tanımlanmasında önemli biyokimyasal özelliklerdendir. *Pseudomonas* türleri son elektron alıcısı O_2 olması nedeni ile zorunlu aerob ve katalaz pozitif bakterilerdir. Ancak oksijen yokluğunda, NO_3 ortamda elektron alıcı bulunuyorsa anaerob koşullarda yaşamını sürdürebilir. Ayrıca *Pseudomonas*ların en önemli özellikleri glukozu fermente etmemesi ve demir içeren bir hemoprotein olan sitokrom oksidaz enzimine sahip olması nedeniyle NADH ile oksijene elektron taşınmasını kataliz etmesi sonucunda oksidaz pozitif olmaları ile *Enterobacteriales* ailesinden ayırt edilir. Bazı monosakkaritleri (glukoz, fruktoz ve ksiloz) oksidasyon yolu ile parçalarken, disakkaritleri (laktoz ve sükroz) okside edemez. Bu disakkaritleri fermente edemediği için Eozin Metilen Mavis (EMB) agarda, açık pembe koloniler meydana getirirler. Bazı gram negatif bakterilerde olduğu gibi, *Pseudomonas* türleride glukozu Entner-Doudorof metabolik yolu aracılığı ile aktive eder. Tanımlamada kullanılan fenotipik testlerden TSI (Triple Sugar Iron) Agar, metil red, indol, voges proskauer, lizin dekarboksilaz ve ornitin dekarboksilaz testleri negatif; sitrat ve L-arjinin dihidrolaz testleri pozitifdir. *P. aeruginosa* türlerinin üreme sıcaklıkları 37-42 °C’de olmakla birlikte; floresan grubundaki *Pseudomonas*lardan 42 °C’de üremeleri ayırt etmede yardımcı kriterdir (Madigan et al., 2010; Şirin et al., 2015; Wiedmann et al., 2000; Yavuz, 2018).

2.1.6. Epidemiyoloji ve Bulaş

Pseudomonas tüm dünyada ki gelişmekte olan ülkelerde yıllık 56 milyon ölümün %30’unu enfeksiyon hastalıkları oluşturması ciddi halk sağlığı problemidir (Madigan et al., 2010). Sağlıklı kişileri *P. aeruginosa* nadiren kolonize edebilir ve bu kolonizasyon invaziv enfeksiyon meydana getirebilir (Shannon and French, 2004). *P. aeruginosa*’nın taşıyıcılığı; sağlıklı bireylerde %7 oranında lateks, deri, nazal ve mukozada; %24 oranında dışkıda; %50 oranında ise risk altındaki hastalarda bulunduğu belirlenmiştir (Morrison Jr and Wenzel, 1984). Etken olduğu belirlenmiş nozokomiyal enfeksiyonlarda %11-13.8’inde *P. aeruginosa* elde edilmiştir (Evans, 2022). *P. aeruginosa* KF hastalarının solunum yollarında veya yüzücülerin dış kulak kanallarında bulunan en yaygın saptanan patojendir (Blondell-Hill et al., 2007). CDC raporunda, *P. aeruginosa* suşlarının tedavi sırasında da direnç kazanma yeteneğine sahip olması ve çoklu direnç meydana getirebilmesi nedeni ile ciddi tehdit oluşturduğu bildirilmiştir (Patel et al., 2016).

Her yerde bulunabilen ve büyüme gereksinimlerindeki kolaylıklardan dolayı *P. aeruginosa*'ya maruz kalmayı önlemek zordur (Moore et al., 2011). Bazı araştırmalara göre kuru filtre kağıdında 150 gün, suda 300 günden fazla, kuru balgamda en az on beş gün yaşayabildiği tespit edilmiştir; bakteriler ayrıca beş hafta sonra kapalı hastane hasta odalarındaki kuru zeminlerden ve sekiz hafta sonra yanık skar materyalinden izole edilebildi (Hanberger et al., 1999). *P. aeruginosa* hidrofilik olması nedeniyle insanlarda koltuk altı, kulak gibi vücut bölgelerinde bulunabilirken; vücut dışında toprakta, suda, bitkilerde, yataklar, küvetler, temizlik solüsyonları, dezenfektanlar, çarşaflar, paspaslar, ilaçlar ve lavabolardan izole edilebilirler. Ayrıca çiğ sebzelerde kolonize olabilmektedir (Remington and Schimpff, 1981).

2.1.7. Virülans Özellikleri ve Patogenezi

P. aeruginosa izolatları sağlıklı kişilerde hastalığa neden olmamakla birlikte; zayıflamış konak savunması koşulları altında enzimler, toksinler ve bir patojenin virülans üreten yapısal bileşenler gibi birçok faktöre sahiptir (Madigan and Martinko, 2010; Vahaboğlu and Akhan, 2002). Virülans faktörleri, logaritmik fazda; üremenin olduğu, hücre yoğunluğunun fazlaştığında salınır (Bandara et al., 2006). *P. aeruginosa* enfeksiyonunun meydana gelmesi için üç basamak gereklidir. Bunlar; bakterinin adezyonu ve kolonizasyonu, lokal invazyon, sistemik yayılım ve sistemik enfeksiyondur (Tablo 2.1) (Bandara et al., 2006; D'Agata, 2015).

Tablo 2.1. *P. aeruginosa* virülans faktörleri ve rolleri (Al-Wrafy et al., 2017; Domingo- Calap et al., 2016)

Virülans Faktör	Görevi
Flagellum	Motilite, kemotaksi, başlangıç yüzey etkileşimlerine aracılık
Pilli	Hücre yüzeyine yapışma, seğirme motilitesi, biyofilm oluşumu ve konakçı bağışıklık sistemi ve antibiyotiklerden kaçınmayı sağlar.

Tablo 2.1. Devamı

T2SS	
Ekzotoksin A	Ökaryotik protein sentezini inhibe eder.
LasA	Stafilolizin, elastaz ve stafilolitik aktivite ile çinko metaloproteaz.
LasB	Elastaz, kolajen ve kolajen olmayan konakçı proteinleri bozumu, fiziksel engelleri barındırma, opsonize edici akciğer yüzey aktif madde proteinleri A ve D'yi bozma ve monosit kemotaksisini inhibe eder.
Tip IV Proteaz	İmmünoglobulinleri, komplemanı, A ve D yüzey aktif proteinlerini, fibrinojen, plazminojen ve antibakteriyel peptitleri bozar.
Alkaline Proteaz	Kompleman aktivasyonunu, nötrofil fagositozunu ve fibronektini inhibe eder.
Proteaz IV	Transferin, elastin, laktoferrin, decorin ve kazeini ayırır.
Fosfolipaze H	Sürfaktan lipidlerini ve fosfolipidleri, hemolize eritrositleri yok eder.
T3SS	
ExoS	Apoptoz, nekroz, konakçı bağışıklık hücrelerinin öldürülmesi, hücre iskeletinin bozulması ve DNA sentezinin inhibisyona yol açar.
ExoT	
ExoU	Apoptoz, hücre bölünmesinin durdurulması, aktin hücre iskeletini değiştirir, fagositozu engeller, hücre göçünü, yapışmayı ve proliferasyonu engeller.
ExoY	Nekroz ve fagositlerin yanı sıra epitel bariyerlerin ortadan kaldırılmasını sağlar.
	Aktin hücre iskeletinin bozulmasını ve endotel geçirgenliğinin artırılmasına yol açar.
T5SS	Hedef ökaryotik hücreler, biyofilm oluşumu, hücrel ve antibakteriyel fonksiyonları etkileme
Lectinler (LecA ve LecB)	Konakçı hücrelere yapışma, akciğer hasarı ve biyofilm oluşumu
Sideroforlar	Demir noksan ortamlardan demir alımı

Tablo 2.1. Devamı

Piyosyanin	Solunum sistemindeki siliyer disfonksiyon, konakçı hücelere zarar veren proenflamatuar ve oksidatif etkiler uygular.
Quorum sensing	Biyofilm oluşumu, çeşitli virülans faktörlerinin regülasyon eksresyonu, değişen mikrobiyal popülasyon yoğunluğuna yanıt
Lipopolisakkaritler	
Lipid A	Endotoksik şok
O-spesifik polisakkarit	Antikor üretimini sağlamaktan sorumlu
Biyofilm	
Alginate	CF akciğerlerdeki ve bağışıklık savunmasındaki ortamlardan koruyucu faktör, yapısal stabilite ile biyofilmlerin korunması ve antibiyotik direnci.
Psl	Bağışıklık direnci, antibiyotik direnci, olgun biyofilmlerde yapısal iskelet ve bakterilere yapısal destek vermek için eDNA-Psl liflerinin oluşumu.
Pel	Biyofilm oluşumu, antibiyotik direnci ve adezinler için birincil yapı iskelesi.
eDNA	Antibiyotik direnci

2.1.7.1. Ekzotoksin A

En önemli virülans faktörlerinden biri olup çok düşük dozu bile deney hayvanlarında ölüme neden olur. Ekzotoksin A, ADP (adenozindifosfatın)-ribozil transferaz özelliğindedir. Tip II sekresyon sistemi aracılığı ile hücre dışına salınan ve ökaryot hücrelerde protein sentezlenmesinde görev alan elongasyon faktör 2 'yi (EF-2) inhibe ederek ve protein sentezini durdurarak hücre ölümüne yol açmaktadır. Özellikle yanık skarları ve kronik akciğer enfeksiyonları doku hasarı meydana gelmesine neden olmaktadır (Lederberg, 1992; Ogura et al., 2020; Vidal et al., 1993; Wick et al., 1990).

2.1.7.2. Alginat

P. aeruginosa tarafından üretilen alginat (polisakkarit kapsül), ekzopolisakkarit mukoid yapılıdır. β -1,4-glukosidik bağlarla bağlanan glukuronik ve mannuronik asitlerin tekrar eden polimerlerinden oluşur. Bakterinin etrafında viskoz bir jel olan aljinat, LPS gibi bakteriyel bir adeziv fonksiyona sahiptir ve *P. aeruginosa*'nın hava yolu epiteline yapışmasını ve kolonize olmasını sağlar (Hentzer et al., 2001; Salyers et al., 1994). Alginatın aşırı üretimi, *P. aeruginosa*'yı fagositozdan, antibiyotikler, dehidratasyondan ve kazanılmış konak tepkisinden korur (Wozniak et al., 2003). Örneğin alginat, *P. aeruginosa*'nın neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan aminoglikozidlerin bakterisidal etkisini önleyebilir (Denton and Wilcox, 1997). Ortamdaki yüksek ozmolarite ve nitrojen miktarının azalması alginat üretimini tetikler (Salyers et al., 1994).

2.1.7.3. Fosfolipaz C

P. aeruginosa, fosfolipaz C'yi bir tip II salgılama sistemi yoluyla hücre dışı boşluğa salgılar (Lewenza et al., 2017). Fosfolipaz C hemolizin olarak bilinir; hemolitik özelliklerine göre ikiye ayrılır. PLC-H (hemolitik fosfolipaz C); fosfatidilkolin, ısıya duyarlı ve sifingomyelini hidrolize eder. PLC-N (nonhemolitik fosfolipaz C), fosfatidilkolin ve sifingomyelini hidrolize eder (Bleves et al., 2010). Her iki hemolizde lipidler ve lesitin zarar görür, bu da bakterilerin dokulara penetrasyonunu kolaylaştırır (Fiester et al., 2016). Ökaryotik hücre zarlarının bileşenleri olan fosfolipitleri hedef alarak enflamasyonun ve akut akciğer hasarının patogeneğinde rol oynar (Romero et al., 1998; Wiener-Kronish et al., 1993). Fosfat tutucu sisteminin bir parçası olarak işlev görür ve aynı zamanda konakçı fosfolipitler tarafından üretilen fosfolipitleri parçalayarak inorganik fosfatları serbest bırakan alkalen fosfatazlar olarak işlev görür (Kishore et al., 2015). Konağın nötrofillerinin oksidatif tepkisini baskılar ve sürfaktanı etkisiz hale getirerek patojenik etkisini göstermektedir (Kipnis et al., 2006).

2.1.7.4. Elastaz

Elastin akciğerlerin daralıp, genişlemesine olanak sağlayan proteinlerdir ve akciğerlerde ki proteinin %30'unu oluşturur (Lederberg, 2000). Elastaz ise tip 2 sekresyon sistemi tarafından salgıladığı; kollajeni, IgG ve IgA'yı, komplemanı parçalayan metalloproteaz olup elastine karşı litik etkisinden *las A* (serin

metalloproteaz) proteaz ve *lasB* (çinko metalloproteaz) elastaz sorumludur (O’Callaghan et al., 2019). Bu enzimler elastini parçalamak için sinerjik olarak çalışır. LasA tek başına elastini yıpratmakla beraber elastini parçalamada başarısız olur, ancak *lasB* elastazın litik etkisini artırır. *LasB*’nin proteolitik özelliği, tripsin’in 4 katı ve alkalın proteazın 10 katıdır. *P. aeruginosa*’nın neden olduğu solunum yolu enfeksiyonlarında hücreler arası bağlantıların bozulması ve hava yolu epitel hücrelerinin parçalanmasında rol oynar (Karatuna and Yağcı, 2008; Salyers and Whitt, 2002; Salyers et al., 1994). Epitel dokularının hücreleri arasındaki sıkı bağlantıları keserek epitelin parçalayarak epitel geçirgenliğini artırır. IL-8 üretimini uyarır, proinflatuvar bir etki yapar (Alcorn and Wright, 2004).

2.1.7.5. Biyofilm

Bakterilerin canlı veya cansız çeşitli yüzeylere ve birbirlerine tutunmasını sağlayan, büyüme hızlarına ve genetik faktörlere bağlı olarak farklı fenotipe sahip olabilen, bakteriler tarafından üretilen bir polisakkarit matrikstir. Bakteri türleri arasında matriks yoğunluğu değişir. Biyofilm oluşumu sırasında bakteri, planktonik formdan daha sonra mukoid agregatların içinde gelişimlerini sürdürebilen hücre topluluklarının oluşturduğu sesil forma geçer. Biyofilmde üreyen bakteriler, planktoniklere göre 1000 kat daha dirençlidir. Biyofilm gelişimi çevresel besinler, oksijen, ph ve ozmolarite ile ilgilidir. Biyofilm tabakası, bakterileri fagositoza, opsonizasyona ve kompleman sistemine; yani konak savunmasından korunmasını sağlar. Biyofilm, QS sisteminin kontrolündedir (Bjarnsholt, 2013; Çevik Tepeli, 2009; Düzgün, 2009; Sadovskaya et al., 2010).

2.1.7.6. Quorum Sensing (Salt Yoğunluk Algılama)

P. aeruginosa’nın kolonize olduğu bölgede açıl homoserin lakton molekülleri (AHLs) üretir. Artan AHLs miktarları, yeterli konsantrasyonlara ulaşıldığında transkripsiyonel düzenleyicileri indükler.

QS sistemi, bakteri popülasyonu arttıkça ortamdaki AHL molekülleri de artar ve bu moleküllerin yoğunluğu belirli bir eşik değeri geçtiğinde ortam bakterileri tarafından tespit edilir. AHLs molekülleri, kistik fibrozlu hastaların akciğer dokularında da tespit edilmiştir (Chopra and Abrol, 2016; Miller and Bassler, 2001; Pitt and Simpson, 2006).

2.1.8. Biyofilm Oluşumu ve Bakteriyel İletişim Quorum Sensing Mekanizması

2.1.8.1. Biyofilmin Tarihi, Yapısı ve Oluşumu

Biyofilm kavramı ilk olarak 1680'lerde Van Leeuwenhoek tarafından dişlerinde mikroskopik plak birikintilerini gözlemlediğinde ortaya atılmıştır (Xin et al., 2016). Jones ve ark. (1969) spesifik polisakkarit boya ile toplu halde bakterileri çevreleyen matriksi göstererek, biyofilm yapısına yönelik çalışmaların yapılmasına yol açmışlardır (Jones et al., 1969; Lappin- Scott and Costerton, 1989).

Bir biyofilmin gelişmesi için mikroorganizmalar, bir mukus tabakası ve bir yüzeye ihtiyaç duyarlar. Bir biyofilmin yapısı; %97'si su, geri kalanı ise mikroorganizmalar, polisakkaritler, proteinler, DNA ve iyonlardan oluşur. Farklı türlerin oluşturduğu biyofilmlerde her tür kendi mikrokolonisini oluşturur. Ancak mikrokoloniler birbirinden su kanalları ile ayrılır. Buradaki su akışı ile besinlerin ve oksijenin difüzyonu sağlanır (Altun and Şener, 2008).

Bakteriyel mikroorganizmalarda biyofilm oluşum aşamaları beş şekilde açıklanmaktadır.

1. Geri dönüşümlü tutunma,
2. Geri dönüşümsüz tutunma,
3. Koloni oluşumu,
4. Olgun biyofilm oluşumu,
5. Biyofilm hücrelerinde kopma ve ayrılma (KÖREMEZLİ et al., 2022; Ma et al., 2009; Türetgen, 2005).

Bakteriyel mikroorganizmalar tarafından biyofilmin oluşum aşamasının başlatılması, uygun çevre koşulları ile doğrudan ilişkilidir. Biyofilm oluşum ve gelişim aşamaları, besinlerin mevcudiyeti, gerekli pH seviyesi ve uygun sıcaklık gibi çevresel faktörlere bağlı olarak devam eder. Ancak, biyofilm oluşturan mikroorganizmalar uygun şartlar sağlanmazsa yüzeyleri terk eder ve plankton yaşamlarına geri döner. Biyofilm oluşumunun ilk aşaması tutunmadır. Ancak bundan önce mikroorganizmanın tutunacağı yüzey hazırlanmalıdır. Tutunma başlamadan suda bulunan partikülleri, elementleri, organik ve inorganik maddeleri yüzeylere yapışması sonucu ince bir film tabakası oluşur. Ancak hem yüzey biyofilm oluşumuna hazır hale gelir hem de mikroorganizmaların tutunması kolaylaşır (Çalı et al., 2018).

a. Geri dönüşümlü tutunma

Biyofilm oluşumu, mikroorganizmaların bir yüzeye tutunması ile başlayan bir süreçtir. Bağlanmanın bir sonucu olarakta biyofilm fenotipinin oluşumuna neden olan genetik süreç tetiklenir. Mikroorganizmaların bir yüzeye bağlanabilmesi için yüzey ile temas ettiklerini anlamaları gerekir. Bu uyarıları bakteriyel mikroorganizmalar, fenotipik farklılıklara dönüştürmede bir alıcı ve bir vericiden oluşan sisteme sahiptir. Bağlandıktan sonra biyofilm oluşumu başlaması, QS olarak adlandırılan başka iletişim sistemi ile gelen sinyallere bağlıdır. Bakteriyel mikroorganizmalar bu sistemi kullanarak ortamda bulunan bakterilerin yoğunluğunu belirler. Bulunduğu yüzeye yapışan herhangi bir bakteri, ortama sinyal moleküllerini gönderir ve "ben buradayım" mesajını iletir. Ortamdaki yüzey bakteri sayısı arttıkça bölgesel sinyal gücü de artar. Sinyal moleküllerinin arttığında, biyofilm oluşumu süreci başlar. Bu biyofilmdeki bakteriler, hücre içi düşük moleküler ağırlıklı haberciler aracılığıyla iletişim kurarak biyofilmin gelişiminde etkin bir rol oynar (Sezgin, 2012). Bu aşamada ki bakteriyel mikroorganizmalarda ekzopolisakarit (EPS) miktarı çok düşüktür. Biyofilm oluşumu tamamlanmadığı için bağımsız olarak hareket edebilirler (Akyüz, 2019). Bu aşamada, yüzey ile bakteri arasındaki mesafede oluşan zayıf elektriksel etkileşimlerden biri olan Van der Waals bağları gibi etkileşimleri gerçekleşir (Whiteley et al., 2001).

b. Geri dönüşümsüz tutunma

EPS gelişimini gösteren bakteriyel mikroorganizmaların ayrılmayacak şekilde yüzeylere tutunmalarıdır (Stoodley et al., 2002). Bu aşamada yüzey ve bakteriyel mikroorganizmalar elektrostatik bir etkileşim oluşturur. Bu etkileşimler, yüzeye yakın uyguladıkları hidrofobik, dipol-dipol, iyon-dipol, iyonik ve kovalent bağlar ve hidrojen bağı etkileşimleridir. Bu etkileşimler sayesinde bakteriyel mikroorganizmalar sayesinde geri dönüşümsüz olarak yüzeylere bağlanır. Başka bir deyişle, birinci aşamadaki bakteriyel mikroorganizmalar tarafından EPS oluşumundan kaynaklandığı ve elektrostatik etkileşimlerin ve bağların oluşumunun kalıcı, geri dönüşümsüz tutunmaya yol açtığı sonucuna varılabilir. Bakteriyel mikroorganizmalar EPS oluşumunda geri dönüşümsüz tutunma sağlayabilirler ancak geri dönüşümsüz tutunmanın bir başka yolu da onların organelleri olan flagella (flagella) ve pili (tüy) aracılığıyla gerçekleşir. Bakteriler yüzeye tutunarak büyüyerek mikro koloniler oluştururlar (Akyüz, 2019).

c. Koloni oluşumu

Yüzeylere kalıcı tutunan bakteriyel mikroorganizmalar EPS oluşumuna işaret ederek, gelişim sağlar. EPS'yi oluşturan bakteriyel mikroorganizmaları, EPS yardımıyla serbest olan bakterilerin mikro koloniye kolaylıkla tutunmasını sağlar. Bir bakteri bir yüzeyi kolonize ettiğinde, örneğin ilk koloni oluştuktan sonra birçok farklı bakteri aynı yüzey üzerinde koloniler oluşturabilir yani diğer bakterilerde ikincil koloniler oluşturabilirler. Koloni oluşumu, serbest yaşayan bakteriler ortaya çıkan mikro kolonilere katıldığında meydana gelir. EPS, koloniyi çevresel streslerden korumanın yanı sıra yüzeyi ve alt birimleri ile bağlanmayı da kolaylaştırır (Akyüz, 2019; Çalı et al., 2018).

d. Olgun biyofilm oluşumu

Gelişen ve çoğalan mikro koloniler, çeşitli boyutlarda büyük, karmaşık, mantarimsıkanalları sayesinde metabolik atıkların, besin maddelerinin ve oksijenin ortamdan uzaklaştırılması gibi ihtiyaçlarını karşılarlar (Danese et al., 2000; Watnick and Kolter, 1999).

e. Biyofilm hücrelerinde kopma ve ayrılma

Biyofilm hücrelerinin koparak planktonik formlarındaki yaşamlarına geri dönüşümüdür. Bu ayrılmanın nedeni iç ve dış kaynaklı olabilir, yani dış stres etkeni olabileceği gibi, beslenme yetersizliği, enzimatik bozunma ve yüzey tutunmasına neden olan bağlayıcı proteinlerin salınması gibi çok faktörlü de olabilir. Biyofilmelerin parçalanması, dış etkenlerden ve hücrelerin veya birkaç hücrenin ayrılmasından kaynaklanabilir (Poulsen, 1999).

2.1.8.2. Bakteriyel İletişim Quorum Sensing Mekanizması

QS olarak tanımlanan mekanizma; bakterilerin salgıladığı kimyasallar aracılığı ile ortamdaki hücrelerin yoğunluğunu algılayıp iletişim kurmasını sağlar (Bosgelmez-Tinaz, 2013; Lazar, 2011; Sakuragi and Kolter, 2007). Söz olarak quorum; yeterli çoğunluk, sensing; hissetmek anlamına gelir; modern literatürde ise QS terimi Türkçe'ye çoğunluğu algılama (ÇA) olarak çevrilir (Düzgün, 2009). Bakteriler arasındaki bu iletişimin temeli, oto-uyarıcılar adı verilen hücre dışı sinyal moleküllerini tek tek veya grup halinde sentezleyerek çevrelerindeki diğer bakterilerin yoğunluğunu algılamalarına dayanır (Alkatheri et al., 2022). Çevrede bu bakteri popülasyonun yoğunluğunun artması ile oto-uyarıcılar birikir (Bettenworth et al., 2019). Bu birikim ortamdaki bakterinin oto-uyarıcı miktarının algılamasını ve diğer

bakterilerin miktarını öğrenmesini sağlar (Alkatheri et al., 2022). Bakteriler, farklı yoğunluklarda gen ekspresyonunun genel modelini toplu olarak değiştirerek hücre sayısındaki değişikliği takip eder, bu da her bir bakteri hücresinin topluluktaki diğerleriyle koordineli bir davranışıyla sonuçlanır (Li and Tian, 2012; Papenfort and Bassler, 2016). QS, sinyal molekülleri oto-uyarıcı olarak ifade edilmesinin nedeni, üretildiği hücre metabolizmasının düzenleyici bir etkiye sahip olmalarıdır (De Kievit and Iglewski, 2000; Kisii and Blank, 2017; Önal, 2005).

QS, bakterilerde hareketliliğin düzenlenmesi, antibiyotiklerin biyosentezi, biyofilmin meydana gelmesi, bakteriyel plazmitlerin konjugasyonu ve diğer virülans faktörlerinin üretimi gibi fizyolojik olayın düzenlenmesini etkiler (Van Houdt and Michiels, 2005). Bu düzenleme bakterilerin ortama uyum sağlama, çevresel etkenlere karşı korunma, konağın savunma sistemine karşı savaşma ve ortamdaki diğer bakterilerle rekabet etme gibi işlevleri daha kolay gerçekleştirmesini sağlar (Sakuragi and Kolter, 2007).

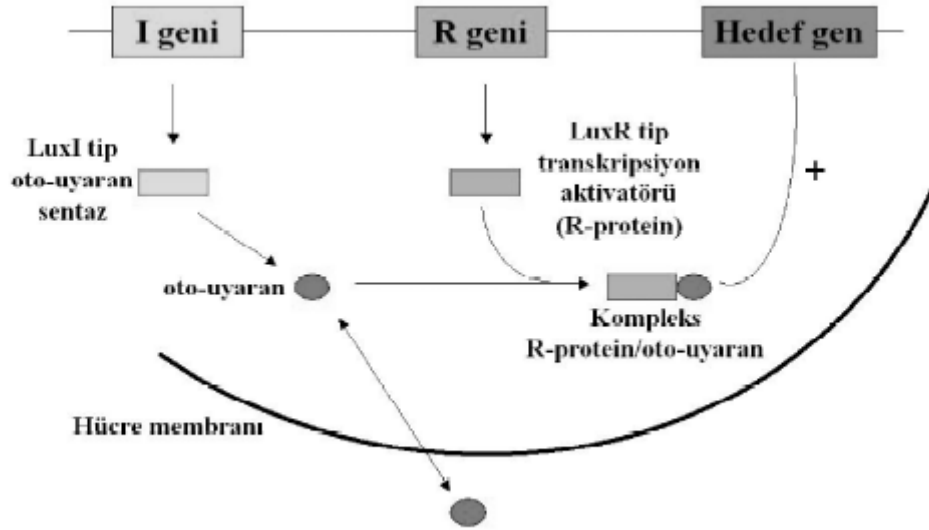
QS, Gram-negatif ve Gram-pozitif birçok bakteride tanımlanmıştır (Diggle et al., 2007). Farklı mikroorganizma türleri arasında iletişim kurmada farklı sinyal moleküllerini kullanılır (Yajima, 2014). Gram-negatif bakterilerin QS sisteminin sinyal molekülü, N-açıl homoserin laktonlar (AHL'ler), Gram-pozitif bakterilerin en yaygın oto-uyarıcı oligopeptid (oligopeptit sistemi) sınıfıdır (Acet et al., 2021; Ziemichód and Skotarczak, 2017). Çekirdek, AHL halkası ve modifikasyonlar içeren 4-18 karbonlu açıl zincirini içerir (Galloway et al., 2011; Wang et al., 2020).Yüzlerce bakteri türü, bu AHL'leri üreten LuxI tipi sentaz içerir (Papenfort and Bassler, 2016). Açıl zincirinin uzunluğu direnci etkiler (Chbib, 2020; Galloway et al., 2011). Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin arasındaki iletişim, otouyarıcı-2 adı verilen furanosil borat diester molekülleri (hibrit sistem) tarafından sağlanır (Yu et al., 2012).

Sentezlenen sinyal moleküllerinin hücreden salgılanması ile birikir. Atım pompaları, hücre zarını pasif difüzyon veya özgül taşıyıcılarla geçer. Ortamda yeterli yoğunlukta sinyal molekülü biriktiğinde, karşılık gelen genler uyarılır ve cevap olan ürünler üretilir. Hücre dışı birikimin özellikleri, spesifik reseptörlerin tanınması, sinyal molekülünün yeterli yoğunluğunun bir sonucu olarak planlı bir tepkinin indüklenmesi vb. hücresel metabolitlerin quorum sensing sisteminin moleküllerini ayırt eden temel özelliklerdir (Önem, 2013; Yong and Zhong, 2013).

Bakteriyel iletişim sisteminin ilk gözlemleri, 1970'lerde Gram-negatif deniz bakterisi *Vibrio fischeri* üzerinde yapılan çalışmalarda kuruldu ve bakterilerde

kimyasal süreçlerin nasıl çalıştığına dair model sağlamıştır (Welch et al., 2005). Tanımlanan bu sistem, tüm Gram negatif bakterilerinde LuxI/LuxR sistemi olarak isimlendirilmiştir (Galloway et al., 2011). Bu bakterilerin, mürekkep balıklarının ve diğerlerinin, bazı deniz hayvanlarının ışık oluşturan (biyoluminesan) organlarına yerleşerek yüksek yoğunlukta çoğaldıklarında, hepsinin aynı anda lusiferaz enzimi sentezi yolu ile ışık ürettikleri gözlemlenmiştir (Jaafar et al., 2022; Yount et al., 2022).

V. fischeri'de gözlemlenen QS sisteminde LuxI operonu, ışık üretirken LuxI genini takip eden 6 geni (LuxI CDABEG) içerir. Bakteri yoğunluğu belirli eşik değere ulaştığında, LuxI tarafından kodlanan sinyal molekülü, LuxR ile kompleks oluşturarak LuxI CDABEG operonunun transkripsiyonunu desteklemektedir (Şekil 2.1) (Egland and Greenberg, 1999; Fuqua and Greenberg, 2002; Önem, 2013; Van Delden and Iglewski, 1998; Zhang et al., 2021). Bu genler tarafından kodlanan lusiferaz enziminin üretimi uyarılır ve bu da ışıma meydana gelmesi ile sonuçlanır (Widder, 2010). Bu enzimin aktivitesi düşük konsantrasyonlarda baskılandığından, sadece belirli popülasyon yoğunluklarında ışık üretimi gözlenmiştir (Grote et al., 2015; Kaper and Sperandio, 2005). Bu bakterilerin deniz suyuunda 10^2 bakteri/ml yoğunluğunda tespit edilmekle birlikte ışık organlarında 10^{10} - 10^{11} bakteri/ml yoğunluğunda bulunurlar (Fendrich, 1988; Akova, 2005).

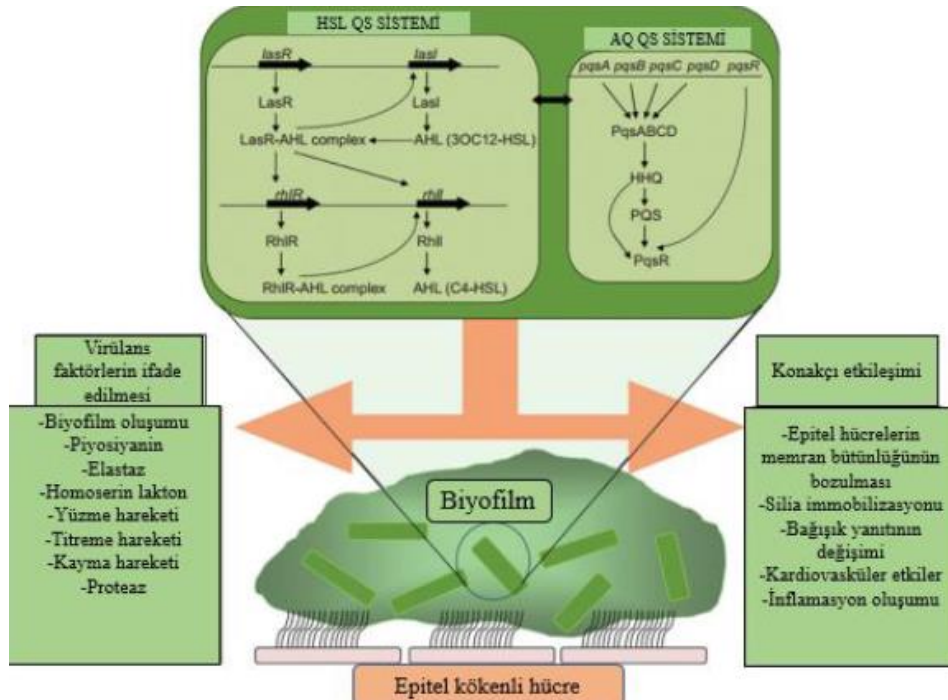


Şekil 2.1. Gram negatiflerde QS sisteminin düzenlenmesi (Van Delden and Iglewski, 1998)

2.1.8.3. *Pseudomonas aeruginosa* ve Quorum Sensing Mekanizmaları

"N-Açılhomoserin laktonlar (AHLs-N-acylated homoserin lactone)", *P. aeruginosa* ve diğer Gram-negatif bakteriler tarafından üretilen ve özel olarak kullanılan AI'nin (oto-uyarıcı-autoinducer- sinyal molekülü) ana sınıfını oluşturur. AHL'ler, 4-18 karbon (C) uzunluğunda açıl zincirleri olan homoserin lakton (HL) halkalarından oluşur (Fuqua et al., 2001; Huang et al., 2003; Sunder et al., 2017). Bu yan zincirlerde C3 pozisyonundaki veya doymamış çift bağlarda nadiren değişiklikler görülür (Ruby, 1996).

P. aeruginosa'da 3 ana sistem QS'yi kontrol eder. Bunlar; LasI-LasR, RhlI-RhlR, PQS. Bu sistemler, biyofilm oluşumunun ve virülans faktörünün üretimi için gen ekspresyonunu düzenler (Waters and Goldberg, 2019). *P. aeruginosa* QS sistemi genlerinin işlevleri, tek başına değil, birlikte çalışır. Yani rhl genlerinin ekspresyonunu, las genlerinin kontrolü altındadır (Girard and Bloemberg, 2008). Genlerinin yaklaşık olarak %10'unu QS sistemleri aracılığıyla düzenlediği düşünülmektedir (Bjarnsholt and Givskov, 2007). *P. aeruginosa*, istenen popülasyon yoğunluğuna ulaşıldığında birçok virülans geninin ekspresyonunu ve biyofilm oluşumunu tetiklemek için AHL ve QS sinyal sistemini kullanır (Şekil 2.2) (Singh et al., 2017).



Şekil 2.2. *P. aeruginosa*'da QS sinyal iletim yolağının şematik gösterimi (Hurley et al., 2012)

1) LasI-LasR

P. aeruginosa'da tanımlanan ilk QS sistemi ile LasB elastaz ekspresyonunu düzenleyen sistem açıklığa kavuşturulduğu için las QS sistemi olarak adlandırılmıştır (Dekimpe and Deziel, 2009). Las sistemi, LasI ve LasR olmak üzere iki düzenleyici proteinden oluşur (Kalaiarasan et al., 2017). N-3-oksododekanoilhomoserin lakton (3-okso-C12-HSL), LasI sentaz tarafından üretilen ve transkripsiyon düzenleyici LasR tarafından tanınan bir sinyal molekülüdür (Nadal Jimenez et al., 2012). LasR-3-okso-C12-HSL kompleksi, elastaz, ekzotoksin A ve proteaz gibi virülans faktörleri dahil olmak üzere hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder. Ayrıca LasR-3-okso-C12-HSL kompleksi, LasI ve Rhl/R gen bölgelerini kontrol ettiği bilinmektedir (Wang et al., 2020).

2) RhlI-RhlR

Rhamnolipid sentezini kontrol ettiği için rhl olarak isimlendirilen bu ikinci QS sistemi, oto-uyarıcı sentaz geni rhlI'i, sinyal molekülü N-bütiril-L-homoserin lakton (C4-HSL) ve transkripsiyonel aktivatör proteinini kodlayan rhlR genini içerir (Wang et al., 2022). Bu sistem, piyosianin, elastazlar, rhamnolipitler gibi virülans faktörlerini kodlayanlar da dahil olmak üzere çok çeşitli gen düzenlemesini kontrol eder ve ayrıca bakteriyotoksik proteinlerin konakçı hücre sitoplazmasına difüzyonunda yer alan proteinlerin ekspresyonunu düzenlemekten sorumludur (Mukherjee et al., 2017).

3) PQS (Pseudomonas kinolon sinyal sistemi)

P. aeruginosa pqs sistemi, sinyal molekülleri olarak 2-heptil-3-hidroksi-4-kinolon (PQS) ve onun öncüsü 2-heptil-4-hidroksikinolon (HHQ) içerir. HHQ ve PQS, PqsR regülatörüne bağlanır ve onu etkinleştirir. PqsR/PQS ve PqsR/HHQ kompleksleri, PpqsA promotör bölgesine bağlanır ve HHQ ifadesi için gerekli enzimleri kodlayan pqsABCDE-phnAB operonunun transkripsiyonunu başlatır. HHQ daha sonra PqsH tarafından PQS'ye oksitlenir. HHQ yalnızca pqsABCDE-phnAB operonunun ifadesine izin verse de, PQS'nin ek işlevleri vardır. PQS, dış zar veziküllerinin oluşumunda yer alır (D'Angelo et al., 2018). Ek olarak PQS, C4-HSL sinyalinin üretimini ve rhamnolipidler, elastaz ve piyosianin gibi virülans faktörlerini düzenler (Rasamiravaka and El Jaziri, 2016).

2.1.8.4. *P. aeruginosa* Enfeksiyonları

1. Solunum yolu enfeksiyonları

P. aeruginosa, lokal solunum veya sistemik konak savunma sistemleri zayıflamış kişiler yaşamı tehdit eden akut bakteriyel veya bakteriyel olmayan pnömoniye neden olabilmektedir (Barnes, 2008; Blondell-Hill et al., 2007). Primer pnömoni, kronik akciğer hastalığı veya konjestif kalp yetmezliği veya her ikisi birden olan kişiler, özellikle yoğun bakım ünitesindeyse ve ventilatör ve antibiyotik kullanıyorsa, bir hastane ortamına girdiğinde ortaya çıkar (Vahaboğlu and Akhan, 2002). Hastane ilişkili pnömonilerin en yaygın nedenlerinden biri olarak kabul edilir ve bu vakalardaki mortalite %13 ila %50 arasında değiştiği için dikkate alınmalıdır (Curran et al., 2018).

Kistik fibroz, epitelyal klorür transferinden sorumlu olan kistik fibroz transmembran iletkenlik düzenleyici (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator, CFTR) protein üretimindeki eksiklik ile karakterize bir hastalıktır. Bu hastalıkta, akciğerlerdeki mukosiliyer motilitenin bozulması ve yetersiz fagositoz, opsonizasyon ve bakterisidal mekanizmalar nedeniyle hastalar enfeksiyonlara, özellikle *P. aeruginosa*'nın mukoid suşlarıyla enfeksiyona elverişli hale gelir (Mutlu and Eren Topkaya, 2017).

2. Bakteriyemi

P. aeruginosa, primer veya sekonder olabilen hastane kaynaklı bakteriyeminin en yaygın nedenlerinden biridir (Andiç, 2015). Birçok bakteriyemiye idrar yolu enfeksiyonları, alt solunum yolu enfeksiyonları ve deri ve yumuşak doku enfeksiyonları (özellikle yanık enfeksiyonları) neden olur (Blondell-Hill et al., 2007). *P. aeruginosa* bakteriyemisinden ölüm oranı, hastanın yaşına ve enfeksiyonla ilişkili faktörlere bağlı olarak % 20-70 arasında değişmektedir (Uncu, 2014).

3. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları

P. aeruginosa farklı cilt enfeksiyonlarına yol açsa da özellikle yanıklarda cilt bütünlüğünün bozulması nedeniyle enfeksiyona neden olur (Morin et al., 2021). Sıcak su muslukları ve yüzme havuzları gibi yerlerde kirli sulara maruz kaldıktan sonra gelişen enfeksiyonlardan biri follikülitlerdir (Blondell-Hill et al., 2007).

4. Üriner sistem enfeksiyonları

P. aeruginosa'nın neden olduğu idrar yolu enfeksiyonları, hastane kökenli olduğu için çoğunlukla kateter, sonda ya da cerrahi işlemler sonucunda edinilebilir (Barnes, 2008; Vahaboğlu and Akhan, 2002).

5. Santral sinir sistemi enfeksiyonları

P. aeruginosa'nın merkezi sinir sistemi tutulumu genellikle menenjit ve beyin apsesi olarak kendini gösterir (Huang et al., 2007). Santral sinir sistemine sinüzit veya malign otitis gibi lokal bir bölgeden, doğrudan kafa travması ve cerrahi sırasında doğrudan aşılama yoluyla veya endokardit gibi uzak bir bölgeden hematogen olarak girebilir (Vahaboğlu and Akhan, 2002).

6. Göz enfeksiyonları

Bakteriyel keratitin en yaygın nedenlerinden biri *P. aeruginosa* (24-48 saat içinde keratite); korneanın en önemli patojenidir. Ayrıca korneal ülser ve endoftalmite de neden olur (Vahaboğlu H, 2008).

7. Kulak enfeksiyonları

P. aeruginosa normal kulakta nadiren bulunur. Ancak yaralanma, ıslanma, iltihaplanma ve nem olduğunda sıklıkla dış kulak yoluna iner (El-Sawy, 2003; Vahaboğlu H, 2008). Uzun süre yüzen insanlar, sağlıklı bir konakçıda kendi kendini sınırlayan ve topikal antimikrobiyallere yanıt veren otitis eksterna (yüzücü kulağı) geliştirme riski altındadır (Blondell-Hill et al., 2007).

8. Endokardit

P. aeruginosa bağlı enfektif endokardit ender olarak görülür ve hastaların %90'ında intravasküler ilaç kullanımı görülür (Murray et al., 2013).

9. Gastrointestinal enfeksiyonlar

Gastrointestinal sistem, *P. aeruginosa* sepsis için önemli bir geçittir. Enfeksiyon en sık yenidoğanlarda ve hematolojik maligniteler için kemoterapiye sekonder nötropeni gelişen hastalarda görülür (Vahaboğlu H, 2008). Nötropenik kanserli hastalar gibi sık antibiyotik tedavisi alan kişiler, gastrointestinal sistemde *P. aeruginosa* ile kolonizasyon riski altındadır ve bu, *P. aeruginosa* septisemisinin kaynağıdır (Blondell-Hill et al., 2007).

10. Kemik ve eklem enfeksiyonları

Enfeksiyon doğrudan kemiklerde ve eklemlerde başlar veya kan yolu ile yayılır. Uyuşturucu bağımlıları arasında kan enfeksiyonları yaygındır. *P. aeruginosa* kemik

ve eklem enfeksiyonları, idrar yolu ve pelvik enfeksiyonlar, penetran travma, cerrahi ve yumuşak doku enfeksiyonları sonucu gelişir (Blickman et al., 2004).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bakterilerin seçilmesi, tanımlanması ve duyarlılık testleri

Çalışmamızda, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hastanesi yoğun bakım servisinde yatan hastaların Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerinden izole edilen *P. aeruginosa* izolatları (n: 136) kullanılmıştır. Hasta kaynaklı izolatların kullanılması sebebiyle çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu'ndan B.30.2.ODM.0.20.08/177 sayısı ile onay alınmıştır.

Çalışmaya dahil edilen klinik örnekler %5 koyun kanlı agara ve Eozin Metilen Blue agara ekilip 35°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Bakterilerin tür düzeyinde tanımlamasında, Vitek MS (BioMeriux, Fransa) otomatize sistemi veya konvansiyonel yöntemler yapılmıştır. Mikroskobik morfolojisi gram negatif basil olan ve kültürde karakteristik koloni morfolojisine sahip, laktoz negatif, oksidaz pozitif, mavi-yeşil pigment oluşturan mikroorganizmalar *P. aeruginosa* olarak tanımlanmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları Vitek 2 (BioMeriex, Fransa) otomatize sistemi veya Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ile European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önerilerine göre yapılarak ve yorumlanmıştır (Eucast, "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters," 2022).

3.2. *P. aeruginosa*'da belirlenen fenotipik testlerin çalışılması

Biyofilm üretimini saptamak için saflaştırılmış bakteri içeren saklama besiyerlerinden kanlı agara pasajlanarak 37°C'de 24 saat etüvde inkübe edilen saf *P. aeruginosa* kolonileri çalışmaya alınmıştır.

- Biyofilm Üretiminin Mikrotitrasyon plağı yöntemi ile Saptanması
- Baicalin, Seftazidim ve Kolistinin minimum inhibitör konsantrasyon Değerlerinin Belirlenmesi
- Baicalinin sub minimum inhibitör konsantrasyonu (sub-MİK)
- Sinerji testi

3.2.1. Biyofilm Üretiminin Mikrotitrasyon plağı yöntemi ile Saptanması

İnkübasyon sonunda saf olduğundan emin olunan kolonilerden %0,1 steril serum fizyolojik 0,5 McFarland ($\sim 10^8$ CFU/mL) inokülüm yoğunluğuna eş değer şekilde ayarlanmıştır. Sonrasında, tüplere (12x75 mm) 9 mL %3 glukozlu triptik soy buyyon

(TSB) (Biolife, İtalya) besiyeri koyularak üzerine önceden bulanıklık derecesi ayarlanmış olan her bakteri süspansiyonundan 1 mL alınıp inoküle edilmiştir. Hazırlanmış bakteri süspansiyonlarından 200'er µL alınıp 96 kuyucuklu düz tabanlı polistren mikrotitrasyon plağı kuyucuklarına koyularak, 37 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Örnekler üç tekrarlı çalışılmıştır. İnkübasyondan sonra oluşan biyofilme zarar vermeden sıvı besiyeri aspire edilerek, plaklar dikkatlice steril serum fizyolojikle yıkanarak kurutma kağıdının üzerine ters çevrilerek kurumaya bırakılmıştır. Böylelikle yüzeye yapışmayan bakteriler uzaklaşması sağlanmıştır. Kuyularda ki biyofilm tabakasının fiksasyonunu sağlamak için %99'luk metanol koyularak 1 dk bekletilmiştir. Daha sonra kuyucuklarda ki metanol pipetle boşaltılıp plağın kuruması sağlanıp, 200 µL %1 kristal viyole ilave edilip 5 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Bu aşamadan sonra biyofilm oluşturmış hücrelerin boyanması sağlanmıştır. İnkübasyon sonucunda kuyucuklardaki boya, yine biyofilm tabakasına zarar vermeden boşaltılıp üç kez steril serum fizyolojik ile yıkanıp kurutma kağıdına ters çevrilerek oda ısısında 30 dk kurutulmuştur. Son olarak kuyucuklara 200 µL % 96'lık etanol koyularak 15 dakika bekletilmiş ve boyanan biyofilm tabakasının çözülmesi sağlanmıştır. Dalga boyu 492 nm olan ELISA optik okuyucu cihazında (Chromate Awareness Technology, ABD) plaklar okutulmuştur. Belirlenen optik dansite (OD) değerleri yorumlanmak için kaydedilmiştir. Çalışmamızda her plakta pozitif kontrol olarak *P. aeruginosa* ATCC 15692, negatif kontrol suşu olarakta steril serum fizyolojik kullanılmıştır (Christensen et al., 1985; Schaber et al., 2004).

Sonuçlar Christensen ve ark.; Chusri ve ark.'nın çalışmalarında tanımladıkları biyofilm formasyon aktivite değerlendirme ölçeği kullanılarak değerlendirilmiştir (Tablo 3.1) (Christensen et al., 1985; Chusri et al., 2012).

Tablo 3.1. Biyofilm formasyon aktivitelerinin belirlenmesi (Chusri et al., 2012)

Optik Dansite	Yapışma	Skor
KOD > MBOD	Yapışma olmayan	0
KOD < MBOD < 2 KOD	Zayıf yapışma	1
2KOD < MBOD < 4 KOD	Orta derece yapışma	2
4KOD < MBOD	Güçlü derecede yapışma	3
KOD: Kontrol Optik Dansitesi		
MBOD: Mikroorganizma Biyofilmi Optik Dansitesi		

3.2.2. Baicalin, Seftazidim ve Kolistinin minimum inhibitör konsantrasyon Değerlerinin Belirlenmesi

Baicalin, dimetil sülfoksit içinde çözülerek 4096 µg/ml'lık konsantrasyon aşağıdaki formüle göre hazırlanmıştır. Ardından belirlenen suşlar için ilk kuyucuk konsantrasyonu katyon ayarlı Mueller-Hinton buyyon (KAMHB) besiyeri ile plaktaki son konsantrasyon 1024 µg/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Çalışmada, 96 kuyucuklu U tabanlı mikropakta yatay olarak 2 µg/ml'ye kadar seyreltme yapılmıştır.

Seftazidim ve kolistin konsantrasyonları aralıkları sırası ile 512-1 µg/ml; 512-0,25 µg/ml'lık konsantrasyon aşağıdaki formüle göre hazırlanmıştır.

$$\text{Hacim (ml)} = [\text{Ağırlık (mg)} \times \text{Potens (µg/mg)}] / \text{Konsantrasyon (µg/ml)}$$

Suşların üremesinde sorun olup olmadığının belirlenmesi için pozitif kontrol ve besiyerinde kontaminasyonu belirlemek için negatif kontrol kullanılmıştır. Saf olduğundan emin olunan kolonilerden %0,1 steril serum fizyolojik ile inokülüm yoğunluğu 0,5 McFarland ($\sim 10^8$ CFU/mL) bulanıklığa eşdeğer şekilde ayarlanarak KAMHB ile 1/10 oranında dilüe edilerek, 5 µl, negatif kontrol dışında ki tüm kuyucuklara ilave edilmiştir. Her plakta pozitif kontrol ve negatif kontrol eklenmiştir.

3.2.3. Baicalinin sub minimum inhibitör konsantrasyonu (Sub-MİK)

Çalışma suşlarının mikropak biyofilm derecesi sonuçlarına göre skoru 3 pozitif olan suşlara sub-MİK testi yapılmadan önce baicalin MİK değerleri belirlenmiştir. Her suş için 96 kuyucuklu düz tabanlı polistren mikrotitrasyon plağına baicalinsiz ve belirlenen MİK değerlerinin 3 alt değerinin, 3 tekrarlı çalışılmıştır. Belirlenen baicalin stokları TSB ile hazırlanmıştır. Her suş için 3 kuyuya 180 µl koyulmuştur. Üzerine 0,5 McFarland ($\sim 10^8$ CFU/mL) ayarlanmış bakteri süspansiyonundan 20 µl kuyucuğa ilave edilip, 37 °C' de 24 saat olacak şekilde inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra sıvı besiyeri oluşan biyofilme hasar vermemeye çalışarak aspire edilip, plaklar nazik bir şekilde steril serum fizyolojik ile yıkanarak kurutma kağıdı üzerine ters çevrilerek kurumaya bırakılmıştır. Yüzeye yapışmayan bakterilerin uzaklaşması sağlanmıştır. Biyofilm tabakasının fiksasyonunu sağlamak amacı ile için %99'luk metanol ilave edilip 1 dk bekletilmiştir. Kuyucuklardan metanol pipetle boşaltılıp plak kurumaya bırakıldıktan sonra, 200 µL %1 kristal viyole eklenerek 5 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Böylelikle biyofilm oluşturmuş hücrelerin boyanması sağlanmıştır. İnkübasyon sonucunda kuyulardaki biyofilm tabakasına zarar vermeden boşaltılıp üç kez steril SF ile yıkanıp kurutma kağıdına ters çevrilerek oda ısısında 30 dk

kurutulmuştur. Sonra kuyucuklara 200 µL % 96'lık etanol ilave edilerek 15 dk bekletilip, boyanan biyofilm tabakasının çözülmesi sağlanmıştır. Plaklar dalga boyu 492 nm ELISA - optik okuyucu (Chromate Awareness Technology, ABD) cihazında okutulmuştur. Optik dansite (OD) değerleri yorumlanmak üzere kaydedilmiştir. Sonuçlar pozitif kontrol olarak *P. aeruginosa* ATCC 15692, negatif kontrol suşu olarakta steril serum fizyolojik arasındaki optik dansite (OD) değerleri farkları alınarak bu farkın belirlenen OD değerine göre küçük olması kullanılan baicalin dozunun etkili olduğunu, büyük olmasının ise kullanılan dozun etkisiz olduğu şeklinde değerlendirilerek sonuçlar not edilmiştir (Luo et al., 2017).

3.2.4. Sinerji Testi

Çalışmaya dahil edilen 136 suştan biyofilm derecesi skor 3 pozitif olanlar; seftazidim, kolistin kombinasyonun in vitro sinerjik etkinliği dama tahtası (checkerboard) yöntemi ile değerlendirildi.

Dama Tahtası Yöntemi (Checkerboard Yöntemi)

Çalışma suşlarının mikropalak biyofilm derecesi sonuçlarına göre güçlü (+3) biyofilm üreten suşlara dama tahtası yapılmadan önce seftazidim ve kolistin MİK değerleri belirlenmiştir. Yaklaşık olarak belirlenen MİK değerinin 2 kat konsantrasyondan başlanarak MİK değerinin 4 dilüsyon altına kadar seri dilüsyonlar yapılmıştır. Hazırlanan çözeltiler 96 kuyucuklu U tabanlı mikropalakta bir antibiyotik için sağdan sola diğeri için yukarıdan aşağıya uygulanarak iki antibiyotiğin kombinasyon halinde farklı konsantrasyonları elde edilmiştir. Saf olduğundan emin olunan kolonilerden %0,1 steril serum fizyolojik ile inokülüm yoğunluğu 0,5 McFarland (~10⁸ CFU/mL) bulanıklığa eşdeğer şekilde ayarlanarak KAMHB ile 1/10 oranında dilüe edilerek, 5 µl, negatif kontrol dışında ki tüm kuyucuklara ilave edilmiştir. Plak 37°C'de 18-20 saat inkübe edilmiştir. Her plakta bir suş çalışılarak; seftazidim MİK, kolistin MİK, pozitif kontrol ve negatif kontrol eklenmiştir. İnkübasyon tamamlandığında üreme olmayan kuyulardaki antibiyotik konsantrasyonları belirlendi ve fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) değerleri hesaplanarak belirlenmiştir. Kombinasyonların etkinliğini belirlemek için FİK indeksi aşağıdaki formüle göre uygulanmıştır (Tablo 3.2) (ALADA et al., 2017).

A: Kombinasyonda kullanılan 1. antibiyotik

B: Kombinasyonda kullanılan 2. antibiyotik

FİK indeksinin hesaplanması:

$$FİK A = \frac{B'nin\ varlığında\ A'nın\ MİK\ sayısal\ değeri}{Tek\ başına\ A'nın\ MİK\ sayısal\ değeri}$$

$$FİK B = \frac{A'nın\ varlığında\ B'nin\ MİK\ sayısal\ değeri}{Tek\ başına\ B'nin\ MİK\ sayısal\ değeri}$$

$$\Sigma FİK\ indeksi = FİK A + FİK B$$

Kombinasyonların etkinliği;

- $\Sigma FİK \leq 0.5$ sinerji,
- $0.5 < \Sigma FİK < 1$ kısmi sinerji
- $\Sigma FİK = 1$ aditif
- $1 < \Sigma FİK < 4$ etkisiz
- $\Sigma FİK \geq 4$ ise antagonizma olarak değerlendirilmiştir.

Bu çalışmaya alınan n:7 *P. aeruginosa* izolatında iki antibiyotik kombinasyonu için FİK değerleri hesaplanıp etkileşimler sinerji, kısmi sinerji, aditif, etkisiz ve antagonizma olarak kaydedilmiştir.

Tablo 3.2. Kombinasyon etkisi denenilen seftazidim ve kolistin plaktaki kombinasyon dilusyonları ve örnek plak planlaması (µg/ml)

Azalan konsantrasyonu (K)	Azalan seftazidim (S) konsantrasyonu								SM*	KM*	P*	N*
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S128+K128	S64+K128	S32+K128	S16+K128	S8+K128	S4+K128	S2+K128	S1+K128	S128	K128	ÜK*	SK*
B	S128+K64	S64+K64	S32+K64	S16+K64	S8+K64	S4+K64	S2+K64	S1+K64	S64	K64	ÜK*	SK*
C	S128+K32	S64+K32	S32+K32	S16+K32	S8+K32	S4+K32	S2+K32	S1+K32	S32	K32	ÜK*	SK*
D	S128+K16	S64+K16	S32+K16	S16+K16	S8+K16	S4+K16	S2+K16	S1+K16	S16	K16	ÜK*	SK*
E	S128+K8	S64+K8	S32+K8	S16+K8	S8+K8	S4+K8	S2+K8	S1+K8	S8	K8	ÜK*	SK*
F	S128+K4	S64+K4	S32+K4	S16+K4	S8+K4	S4+K4	S2+K4	S1+K4	S4	K4	ÜK*	SK*
G	S128+K2	S64+K2	S32+K2	S16+K2	S8+K2	S4+K2	S2+K2	S1+K2	S2	K2	ÜK*	SK*
H	S128+K1	S64+K1	S32+K1	S16+K1	S8+K1	S4+K1	S2+K1	S1+K1	S1	K1	ÜK*	SK*

*SM: Seftazidim MİK değerinin belirlenmesi, KM: Kolistin MİK değerinin belirlenmesi, P: Pozitif kontrol, N: Negatif kontrol, SK: Sterilite kontrol, ÜK: Üreme kontrol

3.3. Moleküler Analizler

3.3.1. DNA ekstraksiyonu

P. aeruginosa bakterisinden kaynatma yolu ile DNA ekstraksiyonu yapılmıştır.

1. Mueller- Hinton agar besiyerine bakteriler pasajlanarak 35°C’de 20-22 saat inkübasyona bırakılmıştır.
2. İnkübasyondan sonra üreyen bakteriler (24 saatlik taze kültürlerinden) bir öze dolusu alınarak, 500 µl steril distile su konulan mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.
3. Homojenizasyon sağlanamayan tüplerde vorteks işlemi uygulanmıştır.
4. Homojenizasyon sağlandıktan sonra, mikrosantrifüj tüpleri 15 dk süresince 100°C’ye ayarlanarak kuru bloğa yerleştirilmiştir.
5. Süre tamamlandığında tüpler soğutmalı mikrosantrifüj cihazına yerleştirilerek 15000x g ve 4°C sıcaklıkta 20 dk santrifüj işlemine tabi tutulmuştur.
6. Santrifüjden sonra üste kalan kısım PZR işleminde kullanılacak olan template DNA steril DNase ve RNase içermeyen mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır.
7. Aktarılan DNA’lar kullanılıncaya kadar -20°C’de saklanmıştır.

3.3.2. Belirlenen virülans genlerinin PZR ile saptanması

DNA ekstraksiyonundan sonra PZR’lar unipleks (toxA) ve multipleks PZR’lar (algD, lasB, plcN, plcH) amplifikasyonunda DNA bantlarının daha iyi görüntülenebilmesinde dNTP, MgCl₂ ve bağlanma sıcaklığının optimizasyonunun yapılarak, toplam 25 mL’lik hacimde gerçekleştirilmiştir (Tablo 3, Tablo 4, Tablo 5, Tablo 6, Tablo 7) (Faraji et al., 2016). Pozitif kontrol olarak *P. aeruginosa* ATCC 15692 suşu kullanılmıştır.

3.3.3. Quorum sensing genlerinin PZR ile saptanması

P. aeruginosa izolatları, QS mekanizmasını kontrol eden dört intakt gen (*lasI*, *lasR*, *rhlI* ve *rhlR*) ve dört internal genin (*lasI*, *lasR*, *rhlI* ve *rhlR*) pozitiflikleri PZR yöntemiyle belirlenmiştir.

Kromozomal DNA izole edildikten sonra, intakt ve internal genlerinin amplifikasyonu DNA bantlarının daha iyi görüntülenebilmesinde dNTP, MgCl₂ ve bağlanma sıcaklığının optimizasyonunun yapılarak; uygun oligonükleotit primerlerle farklı sıcaklık dereceleri ve siklularda PZR işlemi uygulanmıştır. Schaber vd.'nin (2004), seçmiş oldukları primer dizilerinin *P. aeruginosa*'ya spesifik olduğunu kontrol etmek için National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) veri tabanında BLAST analizi yapılmıştır (Tablo 3.3, Tablo 3.8, Tablo 3.9, Tablo 3.10, Tablo 3.11) (Schaber et al., 2004).

Tablo 3.3. QS (İntakt ve internal primer dizileri), *tox A*, *alg D*, *las B*, *plc N*, *plc H* primer dizileri ve gen bölgeleri

	Forward Primer	Reverse Primer	
İntakt QS genler			
<i>lasI</i>	5'- ATGATCGTACAAATTGGTCGGC-3'	5'- GTCATGAAACCGCCAGTCG-3'	605
<i>lasR</i>	5'- ATGGCCTTGTTGACGGTT-3'	5'- GCAAGATCAGAGAGTAATAAGACCCA- 3'	725
<i>rhlI</i>	5'-CTTGGTCATGATCGAATTGCTC-3'	5'-ACGGCTGACGACCTCACAC-3'	625
<i>rhlR</i>	5'-CAATGAGGAATGACGGAGGC-3'	5'-GCTTCAGATGAGGCCAGC-3'	730
İnternal QS genler			
<i>lasI</i>	5'-TCGACGAGATGGAAATCGATG-3'	5'- GCTCGATGCCGATCTTCAG-3'	363
<i>lasR</i>	5'-TGCCGATTTTCTGGGAACC-3'	5'-CCGCCGAATATTTCCCATATG-3'	362
<i>rhlI</i>	5'-CGAATTGCTCTCTGAATCGCT-3'	5'-GGCTCATGGCGACGATGTA-3'	143
<i>rhlR</i>	5'-TCGATTACTACGCCTATGGCG-3'	5'-TTCCAGAGCATCCGGCTCT-3'	207
<i>alg D</i>	5'-CGTCTGCCGCGAGATCGGCT-3'	5'-GACCTCGACGGTCTTGCGGA-3'	313
<i>las B</i>	5'- GGAATGAACGAACGAAGCGTTCTCCGAC- 3'	5'-TTGGCGTCGACGAACACCTCG-3'	284
<i>tox A</i>	5'-CTGCGCGGTCTATGTGCC-3'	5'-GATGCTGGACGGGTCGAG-3'	270
<i>plc H</i>	5'-GCACGTGGTCATCCTGATGC-3'	5'-TCCGTAGGCGTCGACGTAC-3'	608
<i>plc N</i>	5'-TCCGTTATCGCAACCAGCCCTACG-3'	5'-TCGCTGTCGAGCAGGTCGAAC-3'	481
ERIC-2	5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3'	5'-AAGTAAGTACTGGGGTGAGCG-3'	

Tablo 3.4. ToxA geninin master mix değerleri

Bileşenin adı	Miktarı (µL)
Taq tamponu	2,5
MgCl ₂	2
dNTP	1
ToxA Forward	1
ToxA Reverse	1
Taq DNA polimeraz	0,5
Kalıp DNA	2
dH ₂ O	15
Toplam	25

Tablo 3.5. ToxA geninin amplifikasyon programı

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Ön denatürasyon	94 °C	3 dakika	1
Denatürasyon	94 °C	1 dakika	
Bağlanma	63 °C	1,5 dakika	30
Uzama	72 °C	1 dakika	
Son uzama	72 °C	5 dakika	1

Tablo 3.6. AlgD, plcN, lasB, plcH genlerinin master mix değerleri

Bileşenin adı	Miktarı (µL)
Taq tamponu	2,5
MgCl ₂	2
dNTP	1
algD Forward	1
algD Reverse	1
plcN Forward	1
plcN Reverse	1
lasB Forward	1
lasB Reverse	1
plcH Forward	1
plcH Reverse	1
Taq DNA polimeraz	0,5
Kalıp DNA	2
dH ₂ O	9
Toplam	25

Tablo 3.7. AlgD, plcN, lasB, plcH'nin multipleks PZR'si

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Ön denatürasyon	94 °C	3 dakika	1
Denatürasyon	94 °C	1 dakika	
Bağlanma	60 °C	1,5 dakika	30
Uzama	72 °C	1 dakika	
Son uzama	72 °C	5 dakika	1

Tablo 3.8.İntakt genlerinin 1. setinde lasR, rhII; 2. setinde lasI, rhIR genlerinin master mix değerleri

Bileşenin adı	Miktarı (µL)
Taq tamponu	2,5
MgCl ₂	1,5
Dntp	0,2
lasR / lasI Forward	0,5
lasR / lasI Reverse	0,5
rhII / rhIR Forward	0,5
rhII / rhIR Reverse	0,5
Taq DNA polimeraz	0,25
Kalıp DNA	1
dH ₂ O	17,55
Toplam	25

Tablo 3.9.İntakt (lasI, lasR, rhII ve rhIR) genlerinin amplifikasyon programı

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Ön denatürasyon	95 °C	5 dakika	1
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	
Bağlanma	60 °C	30 saniye	34
Uzama	72 °C	2 dakika	
Son uzama	72 °C	10 dakika	1

Tablo 3.10. İnternal genlerinin 1. setinde lasR, rhII; 2. setinde lasI, rhIR genlerinin master mix değerleri

Bileşenin adı	Miktarı (µL)
Taq tamponu	2,5
MgCl ₂	2,5
dNTP	0,2
lasR / lasI Forward	0,5
lasR / lasI Reverse	0,5
rhII / rhIR Forward	0,5
rhII / rhIR Reverse	0,5
Taq DNA polimeraz	0,25
Kalıp DNA	1
dH ₂ O	16,55
Toplam	25

Tablo 3.11. İnternal (lasI, lasR, rhII ve rhIR) genlerinin amplifikasyon programı

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Ön denatürasyon	95 °C	5 dakika	1
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	
Bağlanma	59 °C	30 saniye	32
Uzama	72 °C	2 dakika	
Son uzama	72 °C	10 dakika	1

Amplikonların görüntülenmesi amacı ile 1X TBE bufferda %1,5'luk agaroz içeren jel hazırlanmıştır. Hazırlanan jelin elektroforezi 120 V 45 dk yürütülmüştür. Agaroz jel elektroforezden sonra UV transilluminatörle görüntülenmiştir.

3.3.4. ERIC-2 Primerleri ile RADP-PZR

Çalışmaya dahil edilen *P. aeruginosa* izolatlarının filogenetik yakınlıklarının belirlenmesi için ERIC-2 primerinin kullanıldığı RADP-PCR gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.12, Tablo 3.13) (Janam et al., 2011; Qader, 2018). DNA ekstraksiyonu sonucunda nanodrop ile 3 ölçüm alınarak sonuçların ortalaması alınmıştır (Tablo 3.14).

Tablo 3.12. ERIC-2 master mix değerleri

Bileşenin adı	Miktarı (µL)
Taq tamponu	2,5
MgCl ₂	2,5
dNTP	0,5
ERIC-2 Forward	0,5
ERIC-2 Reverse	0,5
Taq DNA polimeraz	0,5
Kalıp DNA	2
dH ₂ O	16
Toplam	25

Tablo 3.13. ERIC-2 amplifikasyon programı

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Ön denatürasyon	94 °C	7 dakika	1
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	
Bağlanma	38 °C	1 dakika	34
Uzama	72 °C	5 dakika	
Son uzama	72 °C	15 dakika	1

Tablo 3.14. Nanodrop ölçüm sonuçları (İzole edilen DNA saflık oranı)

Suş numarası	İlk ölçüm	1. ölçüm	2. ölçüm	3.ölçüm	Ortalama
ATCC P.aeruginosa (15692)	401,1	69,2	61,9	50,4	60,50
1	204	69,5	94	69,7	77,73
2	286,5	66,8	66,9	64,6	66,10
3	1594,3	62,6	47	49,3	52,97
4	1678,6	67	46,2	79,3	64,17
5	123,7	92,3	96,8	95,3	94,80
6	308,1	78,8	77,4	76,5	77,57
7	211,7	54,3	64,6	87,3	68,73
8	267,7	52,8	49	51,6	51,13
9	294,3	99,1	91,5	90,6	93,73
10	891,3	97,9	88,1	56,7	80,90
11	1853,8	76,3	72,9	71	73,40
12	1636,4	48	44,8	44,7	45,83
13	1182,3	58,3	66,2	70,4	64,97
14	1932,8	74,3	67,9	70,3	70,83
15	931,3	47,9	44,3	42,5	44,90
16	2434	98,7	82,6	83,6	88,30
17	2007,1	44,2	49,6	40,6	44,80
18	3011,2	47,2	48,8	46,5	47,50
19	2162,2	66,7	76,2	70,9	71,27
20	315,1	90,1	87	81,5	86,20
21	2321,9	64,4	77,7	46	62,70
22	2268,6	65,9	59,8	66,5	64,07
23	2679	81,7	79,3	84	81,67
24	1792	94,3	74,2	66,6	78,37
25	1095,7	86,1	67,7	82,5	78,77
26	1473,2	44,8	44,1	42,1	43,67
27	2490,1	43,7	47,3	45,6	45,53
28	3205,5	40,2	48,4	48,9	45,83
29	1553,6	64,2	47,7	43,3	51,73
30	1842,7	46,9	46,7	47,4	47,00
31	1562,9	40,2	47,8	42,4	43,47
32	1582,1	84,5	86,6	85,4	85,50
33	2331	92,5	76,3	77,7	82,17
34	1266	65,5	56,9	42,4	54,93
35	452,1	45,9	42,2	48,2	45,43
36	1728,7	40,6	46,6	44,1	43,77
37	1991,7	76,6	71,2	76,3	74,70
38	993,6	42,7	43,5	40,6	42,27
39	663,6	52,9	47,9	43,6	48,13
40	1040,1	44	40,3	40,2	41,50
41	1286,9	92,4	51,4	96,8	80,20
42	672,9	47,1	55,2	54,6	52,30

Tablo 3.14. Devamı

43	1384,4	75	79,1	80,3	78,13
44	2796,7	44,5	65	47,9	52,47
45	1943,8	43,8	42,2	49,5	45,17
46	1287,3	46,1	39,5	44,7	43,43
47	588,8	40,5	46	49,3	45,27
48	2045,2	76,9	95,2	70,1	80,73
49	1390,6	93,4	64,3	66,6	74,77
50	1199,1	45,2	44	42,5	43,90
51	840,7	46,3	48,3	45,4	46,67
52	825,9	40,1	41,6	42	41,23
53	2181,7	62,9	65,8	60,3	63,00
54	1589,4	41,8	47,2	49,7	46,23
55	2368,1	54,6	43,8	41,1	46,50
56	1963,1	66,3	66,9	57,7	63,63
57	1837,5	80,4	70,7	69,3	73,47
58	1429,9	40,5	45,7	42,2	42,80
59	1677,6	47,3	48,2	48,5	48,00
60	2437,9	53	43,4	46,1	47,50
61	2270,5	92,4	85,5	63,4	80,43
62	2020,5	97,8	81,7	57,5	79,00
63	841,5	85,1	85,3	88,4	86,27
64	768,2	67	59,2	43	56,40
65	2806,4	87	86,7	68	80,57
66	1171,9	68,5	63,2	64,3	65,33
67	954,3	41,6	48,6	64,6	51,60
68	2428,5	64,7	42,3	40,4	49,13
69	799,9	84,7	86,4	83,2	84,77
70	712,3	67,2	64,9	68,9	67,00
71	1891,4	52,5	60,6	61,1	58,07
72	1588,2	55,5	58,8	52,2	55,50
73	2430,5	58,8	87,8	48,2	64,93
74	506,9	47,4	45,3	45,8	46,17
75	2056,4	41,4	40,9	43	41,77
76	1133,2	44,4	46,5	60,1	50,33
77	1838,5	72,3	47,7	59,4	59,80
78	907,3	43,9	46,9	48,1	46,30
79	2123,7	42,7	40,8	41,7	41,73
80	2892	46,4	46,5	46,9	46,60
81	3283,5	49,7	46,7	47,7	48,03
82	1426,6	88,7	52,8	40	60,50
83	2897	65,9	68,1	60,8	64,93
84	2168,2	43,4	41,3	48,7	44,47
85	2284,6	75,5	42,7	43,4	53,87

Tablo 3.14. Devamı

86	2245,7	46,2	47	43,5	45,57
87	2337,3	42,3	41,3	42,6	42,07
88	1349,2	44,2	66,2	45	51,80
89	1358,8	46,1	42,1	40,8	43,00
90	2553,1	82,7	82	83	82,57
91	2749,5	57,2	57,6	60,6	58,47
92	1928,3	46	44,8	50,7	47,17
93	1750,2	94,9	46,5	93,9	78,43
94	1902,3	43	55	90,8	62,93
95	2896,5	58,9	43,5	42,5	48,30
96	993,4	58,4	51,7	53,6	54,57
97	1658,9	60,1	62,7	63,2	62,00
98	1504,9	45,6	41,2	40,7	42,50
99	1719,4	79,6	62,4	47	63,00
100	853,6	45,2	43,4	43,2	43,93
101	1701,4	80,1	87,2	87,8	85,03
102	1613,2	63,3	47,1	44,1	51,50
103	1033,4	73,6	60,3	62,7	65,53
104	2936,6	90,4	63,1	55,8	69,77
105	2255,1	55,2	58,7	55,6	56,50
106	1957,5	95,6	91,2	90,6	92,47
107	2704	77,5	53,9	56,8	62,73
108	2801,1	80,2	44,3	43,6	56,03
109	691,8	87,9	56,6	47,6	64,03
110	2091,2	42,8	59,6	62,8	55,07
111	2165,8	50,8	52,4	50,8	51,33
112	571,9	57,3	42,2	43	47,50
113	2128,3	89,4	91,1	97,8	92,77
114	582,3	40,3	64,4	62,9	55,87
115	2162,8	58	51,4	51,8	53,73
116	1508,9	73,2	54,6	47,7	58,50
117	1872,4	81,1	49,4	53,4	61,30
118	3014,7	69,7	47,2	48,8	55,23
119	3330,4	99,8	60,1	56,8	72,23
120	1266,7	58	56,7	57,2	57,30
121	3212,1	44,3	44,6	55,2	48,03
122	960,9	64,3	64	61,6	63,30
123	1931,1	99,8	79,1	55,6	78,17
124	1350,5	76,1	87,8	88,8	84,23
125	1301,7	97,8	76,9	60,9	78,53
126	4044	80,2	70,7	86,4	79,10
127	421,8	48,4	57,9	41,9	49,40
128	1985,8	99,2	67	50,7	72,30
129	649,3	74,8	50,7	53,3	59,60

Tablo 3.14. Devamı

130	2171,5	63,3	83,7	94,9	80,63
131	2929	56,4	65,2	66,1	62,57
132	1474,8	77,2	89,8	77,9	81,63
133	378,3	81,4	43,1	42,5	55,67
134	362,9	53,5	59,4	70,3	61,07
135	273,7	87,9	65,6	64,6	72,70
136	993,8	78	72,6	46,4	65,67

Amplikonların görüntülenmesi amacıyla 1X TBE buffer içerisinde %1,5'luk agaroz içeren jel hazırlanmıştır. Hazırlanan jelin elektroforezi 100 V 60 dakikada yürütülmüştür. Agaroz jel elektroforezi sonrasında UV transilluminatör ile görüntülenmiştir. Görüntüleme sonrasında oluşan bantlar kaydedilmiştir. Oluşan bantların bant profil analizi BioNumerics yazılım sistemi kullanılarak yapılmıştır. Dendogramlar —Unweighted pair group method with mathematical averaging (UPGMA) yöntemi ile çizilmiştir.

3.4. İstatistiksel Analiz

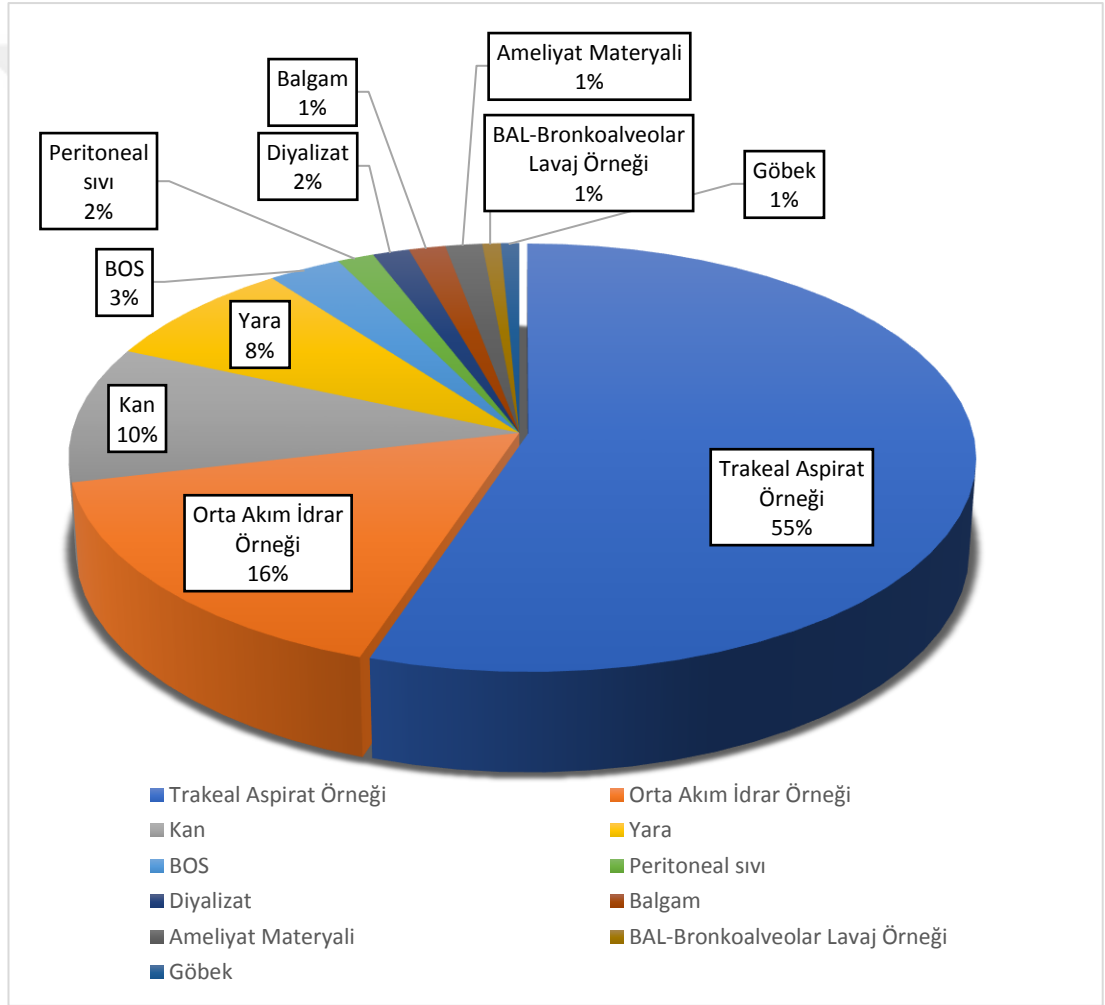
Tanımlayıcı istatistik olarak kategorik değişkenler için sayı ve yüzde değerleri verilmiştir. Kategorik değişkenler için gruplar arası farklılık Pearson Ki kare testi ile incelenmiştir. Çalışmada P değeri 0,05'den küçük olduğunda istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir. Tüm analizler, IBM SPSS (Statistical Package for Social Science) Statistics 22.0 programından yararlanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada kullanılan 21 Ekim 2019- 23 Kasım 2020 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen yoğun bakım örneklerinden izole edilen *P. aeruginosa* (n: 136) izolatları çeşitli klinik örneklerden izole edilmiştir.

4.1. *P. aeruginosa* izolatlarının klinik örneklerle göre dağılımı

İzolatlar izole edildiği servis dağılımı incelendiğinde; en yüksek 3 örnek dağılımın sırası ile n:75 (%55,14) trakeal aspirat, n:22 (%16,17) idrar ve n:14 (%10,29) ile kan örneklerinden elde edilmiştir (Şekil 4.1).



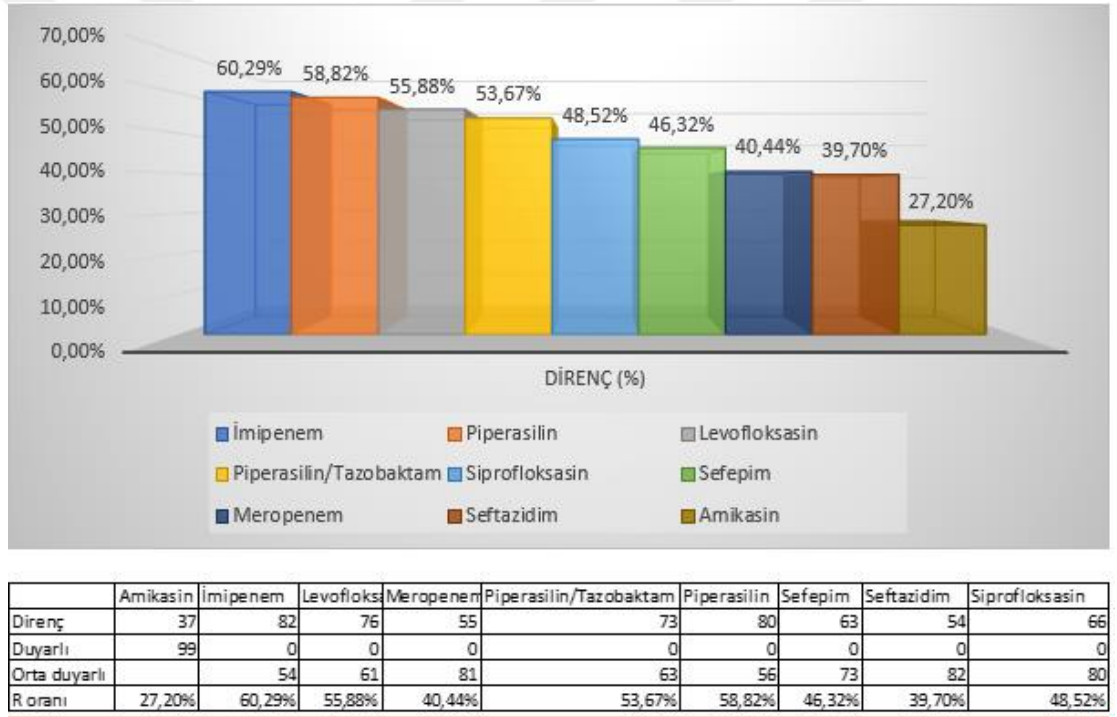
Şekil 4.1. Örnek türü dağılımı

Şirin ve ark. (2015), 722 *P. aeruginosa* izolatının yoğun bakım örneklerinden en sık elde edildiği oran %52,8 trakeal aspirat, %20,6 idrar, %9 kan örneği olduğu belirlenmiştir (Şirin et al., 2015). Çeken ve ark. (2021)'nin yoğun bakım hastalarından

izole edilen 688 *P. aeruginosa* izolatının örnek türü dağılımına göre en yüksek dağılımın %53,3'ünün endotrakeal aspirat, %27 idrar ve %8,1 kan örneğinden izole edildiğini bildirmişlerdir (Çeken et al., 2021). Yoğun bakım ünitelerinde yatan 468 hastadan izole edilen *P. aeruginosa* izolatı ile yapılan bir çalışmada da %51,7'si solunum ve %31,2 idrar örnekleri izlediğini tespit etmişlerdir (Erdoğan et al., 2021).

4.2. *P. aeruginosa* izolatlarının antibiyotik direnç dağılımı

İzolatların amikasin, gentamisin, imipenem, levofloksasin, meropenem, piperasilin/tazobaktam, piperasilin, sefepim, seftazidim, siprofloksasin antibiyotik direnç oranları sırasıyla n:37 (%27,20), n:44 (%32,35), n:82 (%60,29), n:76 (%55,88), n:55 (%40,44), n:73 (%53,67), n:80 (%58,82), n:63 (%46,32), n:54 (%39,70), n:66 (%48,52) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. İzolatların antibiyotik duyarlılık sonuçları

Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi (UAMDSS) 2016 yılı raporunda, 1466 tane *P. aeruginosa* izolatı ülke genelinde değerlendirilmiştir. Antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre elde edilen duyarlılık invaziv izolatlarda; sefepim direnci %30,5, piperasilin/tazobaktam direnci %30,1, seftazidim direnci %23,5 olarak saptanmıştır. Aminoglikozitlerden gentamisin/tobramisin direnci %26,1, amikasin direnci ise %23,2 olarak belirlenmiştir. İmipenem/meropenem direnci %46,1, siprofloksasin/levofloksasin direnci %37,7 olarak saptanmıştır (Sistemi, 2016). Yoğun bakımda yatan hastalardan

izole edilen *P. aeruginosa* izolatların antibiyotik direnç oranları en yüksek olanlar sırasıyla: 2003'te GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi'nde kan kültüründen izole edilmiş örneklerin %66'sının aztreonam, %50'sinin seftazidim, %40'ının karbapenem (Erdemoğlu et al., 2003); 2015'te n=722 izolatla yapılan çalışmada (Şirin et al., 2015) piperasilin-tazobaktam (%64,0), meropenem (%51,9) ve imipenem (%50,2); 2021'de n=688 izolatla yapılan çalışmada (Çeken et al., 2021) siprofloksasin (%34,7), seftazidime %29,4 ve sefepime %28,1 dirençlerine sahip olduğu rapor edilmiştir.

4.3. Fenotipik Analizler

4.3.1. Biyofilm Oluşumu

Biyofilm mikropalak yöntemine göre n=51 (%37,5)'inin biyofilm üretmediği, n=85 (%62,5)'inin biyofilm ürettiği görülmüştür. Biyofilm oluşturan izolatların ise mikropalak yöntemine göre derecelendirme (1,2,3) oranları sırası ile n=61(%44,85)'inin zayıf, n=17 (%12,5)'sinin orta ve n=7 (%5,15)'sinin güçlü biyofilm ürettiği belirlenmiştir (Şekil 4.3). Çalışmada kullanılan biyofilm plağı taslağı şekil 4.4'da verilmiştir.

Örnek türüyle biyofilm dereceleri arasındaki ilişkiler kikare analiziyle incelenmiş ve sonuç Tablo 4.1'da verilmiştir. Tablo 4.1'ya göre örnek türü ile biyofilm derecesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (p değeri>0.05).

Tablo 4.1. Örnek türleri ile biyofilm dereceleri arasındaki ilişkinin incelenmesi

Örnek Türü	0	1	2	3
Trakeal Aspirat Örneği	29 (38,7)	31 (41,3)	12 (16)	3 (4)
Orta Akım İdrar Örneği	11 (50)	8 (36,4)	1 (4,5)	2 (9,1)
Yara Sürüntüsü	1 (16,7)	4 (66,7)	0 (0)	1 (16,7)
Kateter hub'ından kan	1 (16,7)	3 (50)	1 (16,7)	1 (16,7)
Kulak sürüntüsü	0 (0)	4 (80)	1 (20)	0 (0)
Kan	1 (25)	2 (50)	1 (25)	0 (0)
BOS	1 (25)	3 (75)	0 (0)	0 (0)
Periferik venden kan	3 (75)	1 (25)	0 (0)	0 (0)
Balgam	1 (50)	1 (50)	0 (0)	0 (0)
Diyalizat	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
Peritoneal sıvı	1 (50)	1 (50)	0 (0)	0 (0)
BAL-Bronkoalveolar Lavaj Örneği	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Kateter ucu	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
Ameliyat Materyali	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Göbek	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)
Toplam	51	61	17	7
P Değeri	0,806			

Antibiyotik direnç oranlarıyla biyofilm derecelerinin karşılaştırılmış ve sonuçlar Tablo 3.10’de verilmiştir. Tablo 3.10’e göre biyofilm derecesi 0 olanların %23,5’i (12), 1 olanların %29,5’i (18), 2 olanların %29,4’ü (5) ve 3 olanların %28,6’sı (2) amikasin antibiyotiğine karşı direnç göstermiştir. Ancak yapılan inceleme sonucunda biyofilm derecesiyle amikasin antibiyotiğine karşı direnç gösterme durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (p değeri=0,906>0,05). Diğer antibiyotiklerle biyofilm ilişkilerinde anlamlı bir ilişki tespit edilememiş olup yüzde oranları ve p değerleri tabloda belirtilmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Antibiyotik direnç oranlarıyla biyofilm derecelerinin karşılaştırılması

Antibiyotikler	0	1	2	3	P Değeri
Amikasin	12 (%23,5)	18 (%29,5)	5 (%29,4)	2 (%28,6)	0,906
Imipenem	29 (%56,9)	37 (%60,7)	11 (%64,7)	5 (%71,4)	0,86
Levofloksasin	26 (%51)	36 (%59)	9 (%52,9)	5 (%71,4)	0,686
Meropenem	18 (%35,3)	26 (%42,6)	7 (%41,2)	4 (%57,1)	0,663
Piperasilin/Tazobaktam	24 (%47,1)	34 (%55,7)	10 (%58,8)	5 (%71,4)	0,558
Piperasilin	25 (%49)	38 (%62,3)	11 (%64,7)	6 (%85,7)	0,198
Sefepim	21 (%41,2)	30 (%49,2)	8 (%47,1)	4 (%57,1)	0,783
Seftazidim	19 (%37,3)	26 (%42,6)	5 (%29,4)	4 (%57,1)	0,575
Siprofloksasin	23 (%45,1)	30 (%49,2)	8 (%47,1)	5 (%71,4)	0,629

Sebit ve ark., çalışmalarında kullandıkları 50 *P. aeruginosa* izolatının %40 (n=20)’ının; çoklu ilaca dirençli (MDR) olan 21 izolatın ise %42,8 (n=9)’unun biyofilm pozitif olduğu bildirilmiştir (Sebit et al., 2016).

Perez ve ark.’nın, Amerika’da yaptıkları çalışmada hastanenin farklı klinik ünitelerden izole edilen çoklu ilaca dirençli 50 *P. aeruginosa* izolatının mikrotitrasyon yöntemi ile tüm izolatların biyofilm oluşturduğu bildirilmiştir (Perez et al., 2016).

Yavuz’un, 100 seftazidim dirençli *P. aeruginosa* izolatının %76 (n=76)’sının biyofilm pozitif olduğunu analiz etmişlerdir (Yavuz, 2018).

Tepeli, 2009 yılında 100 *P. aeruginosa* izolatı ile yaptığı çalışmaya göre biyofilm düzeyleri incelenmiş %16 güçlü, %46 orta ve %38 zayıf biyofilm oluşturduğunu tespit edilmiştir (Tepeli, 2009).

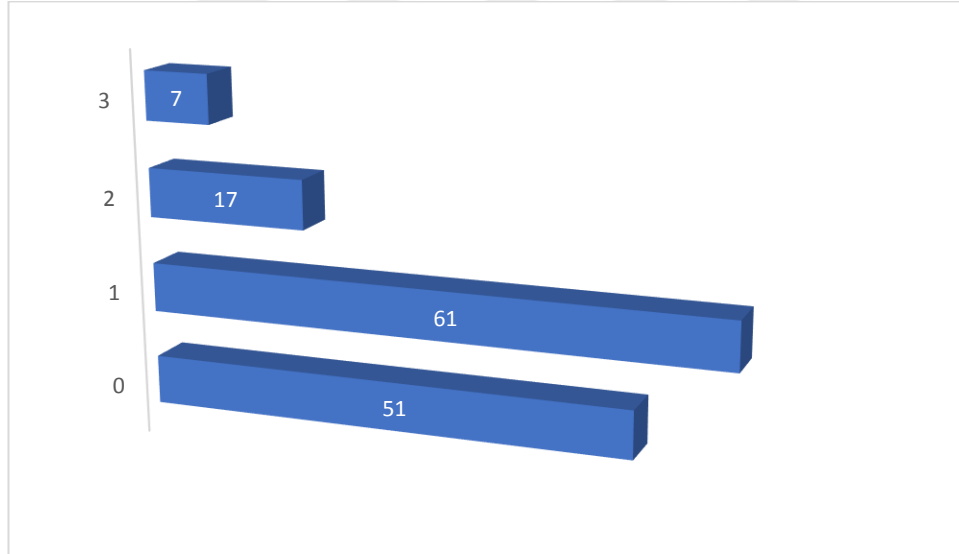
Çalı ve ark. inceledikleri 100 (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. albicans*) mikroorganizmanın 25 *P. aeruginosa* izolatının biyofilm formasyon derecelerinin %72 (n=18) güçlü, %12 (n=3) orta, %4 (n=1) zayıf biyofilm üretti; %12 (n=3) izolatın ise biyofilm oluşturmadığı bildirilmiştir (Çalı et al., 2018).

Uzunbayır-Akel ve ark. çalışmalarında farklı kliniklerinden izole edilen 83 *P. aeruginosa* izolatının ERIC-PZR sonuçlarına göre 19 ilişkisiz her bir klon içerisinde temsil eden seçilen izolatların %47,36 (n=9) güçlü, %31,57 (n=6) orta, %15,78 (n=3) zayıf biyofilm ürettiği ve %5,26 (n=1) izolatın ise biyofilm oluşturmadığı belirlenmiştir (Uzunbayır-Akel et al., 2019).

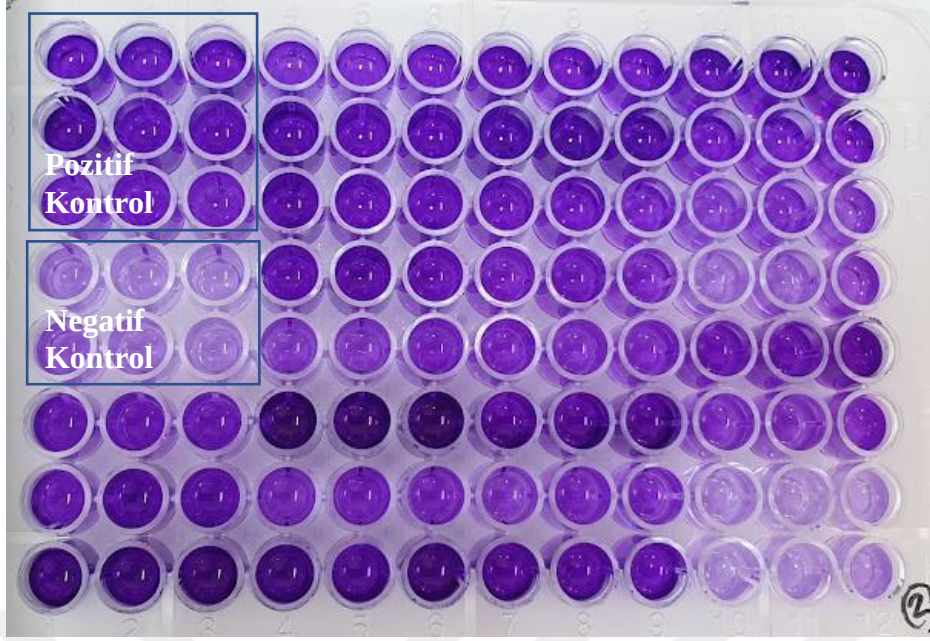
İlgar, 36 kronik bası yarası örneğinden toplam 67 suş izole etmişler; bunlardan 18 (%26,86)'ının *P. aeruginosa* izolatının mikropalak yöntemi sonuçlarına göre %4.5'i orta ve %95.5'i güçlü biyofilm üreticileri olarak tanımlamışlardır (İlgar, 2019).

Biyofilm meydana getiren izolatların antibiyotiklere karşı binlerce kat daha dirençli olduğunu gösteren farklı çalışmalar bulunmaktadır (Perez et al., 2016; Sabaeifard et al., 2017).

Çiftçi ve ark.'nın (2009) yaptığı bir çalışma, biyofilm oluşumunun antibiyotik direnci üzerine etkisi olmadığı gösterilmiş olup; biyofilm pozitif izolatların biyofilm negatif izolatlara kıyasla antibiyotiklere karşı daha duyarlı olduklarını belirlemişlerdir (İlgar, 2019).



Şekil 4.3. Çalışma izolatlarının biyofilm mikropalak derecelerinin (0,1,2,3) dağılımı



Şekil 4.4. Mikrotitrasyon plak dizaynı (pozitif kontrol suşu: *P. aeruginosa* ATCC 15692, negatif kontrol suşu: steril serum fizyolojik)

4.3.2. Baicalin, Seftazidim ve Kolistin MİK

Mikrotitrasyon plak yöntemine göre 3 biyofilm derecesine sahip olan 7 suşun (73, 99, 105, 107, 111, 113, 135) baicalin MİK değerlerinin $>1024 \mu\text{g/ml}$ olduğu, seftazidim ve kolistin MİK değerleri ise tablo 4.3’de verilmiştir.

Luo ve ark. baicalin ile yaptıkları çalışmada hem MBC hem de MİK $>1024 \mu\text{g/mL}$ olan planktonik *P. aeruginosa* PAO1 hücreleri üzerinde doğrudan bakterisidal etki ve tamamen bakteriyostatik etki göstermemiştir (Luo et al., 2017).

4.3.3. Baicalin Sub-MİK

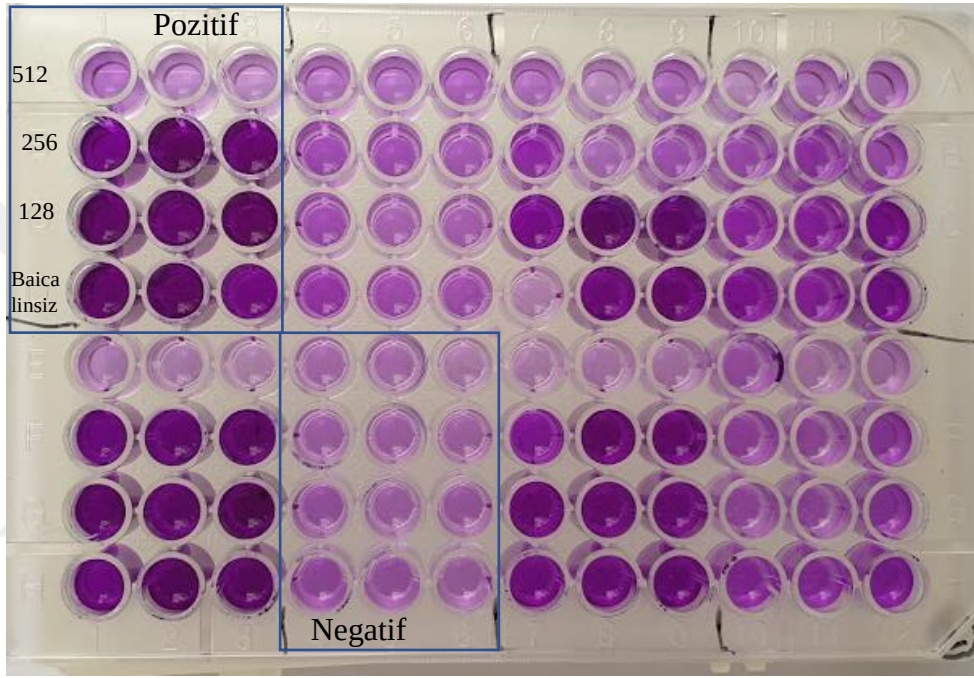
Mikroplak yöntemine göre 3 biyofilm derecesine sahip olan 7 suşun (73, 99, 105, 107, 111, 113, 135), sub-MİK değerlerinin $512 \mu\text{g/ml}$ olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.3). Çalışmada kullanılan sub-MİK plağı taslağı şekil 4.5’de verilmiştir.

Tablo 4.3. Biyofilm mikroplak 3 derecede (n=7) olan baicalin, seftazidim, kolistin MİK ve baicalin sub-MİK değerleri

Tez suş numarası	Baicalin MİK	Sub-MİK	Seftazidim MİK	Kolistin MİK
73	>1024	512	8	0,5
99	>1024	512	4	1

Tablo 4.3. Devamı

105	>1024	512	4	0,5
107	>1024	512	4	0,5
111	>1024	512	2	0,5
113	>1024	512	64	1
135	>1024	512	8	0,5



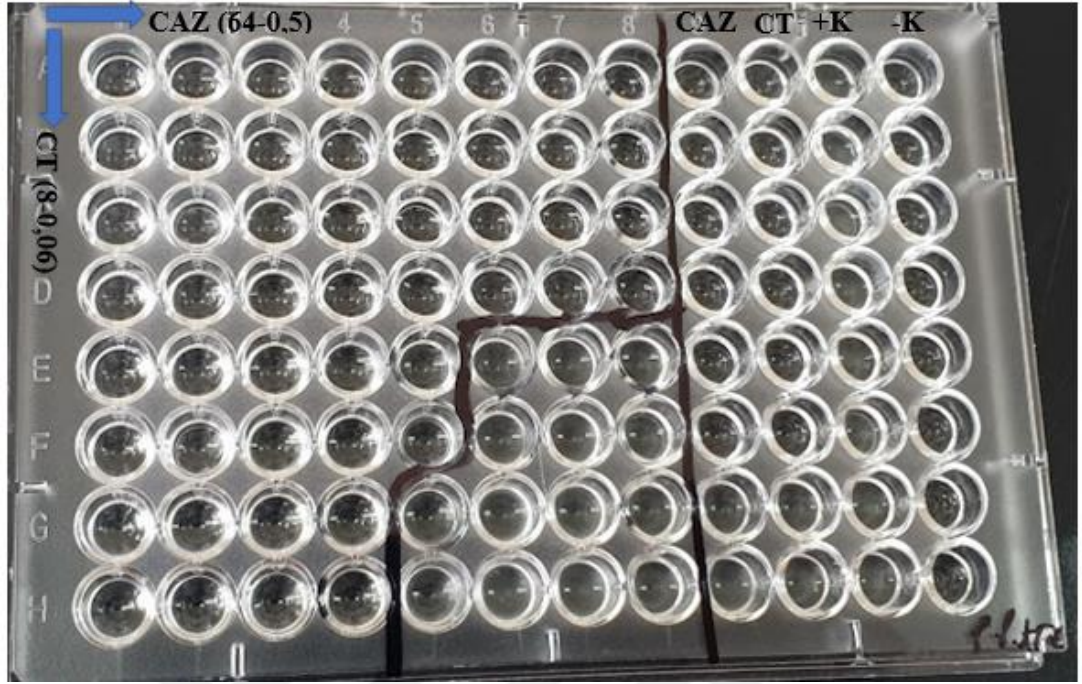
Şekil 4.5. Baicalin sub-MİK plağı

Baicalinin potansiyel anti-biyofilm aktivitesini değerlendirmek için, ilk olarak baicalinin sub-MİK'lerde (16, 32, 64, 128, 256 $\mu\text{g/mL}$) *P. aeruginosa* PAO1 biyofilmlerini inhibe edip etmediği test edilmiştir. Baicalin sub-MİK 256 $\mu\text{g/mL}$ bulunarak hücre tutunmasını ve biyofilm biyokütle gelişimini doza bağlı bir şekilde önemli ölçüde biyofilm oluşumunu azalttığı saptanmıştır (Badr, 2022; Luo et al., 2017).

4.3.4. Sinerji Testi (Checkerboard Yöntemi, Dama Tahtası)

Biyofilm derecesi 3 olan suşların (n=7) seftazidim ve kolistin MİK değerleri belirlenerek, MİK değerlerine göre sinerji plakları planlanarak çalışılmıştır (Şekil 4.6). Plak değerlendirmeleri sonucunda seftazidim, kolistin kombinasyon değerlerinde

sinerji oluşumu gözlemlenmemiş olup plak değerlendirme sonuçları tablo 4.4, tablo 4.5, tablo 4.6, tablo 4.7, tablo 4.8, tablo 4.9, tablo 4.10, tablo 4.11’de belirtilmiştir.



Şekil 4.6. ATCC 15692 *P. aeruginosa* numaralı suşun sinerji çalışma plağı (CAZ: Seftazidim, CT:Kolistin, +K: Pozitif Kontrol, -K: Negatif Kontrol)

Tablo 4.4. ATCC 15692 *P. aeruginosa* numaralı suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları

Seftazidim 64- 0,5/Kolistin 8-0,062	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A											ÜK*	SK*
B											ÜK*	SK*
C											ÜK*	SK*
D						ANT (4)	IND (3)	IND (2,5)			ÜK*	SK*
E					ANT (5)					Kolistin Mik (0,5)	ÜK*	SK*
					ANT (4,5)						ÜK*	SK*
G				ANT (8,25)					Seftazidim Mik (1)		ÜK*	SK*
H				ANT (8,125)							ÜK*	SK*

Tablo 4.5. 73 numaralı *P. aeruginosa* suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları

Seftazidim 64- 0,5/Kolistin 8-0,062	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A											ÜK*	SK*
B									Seftazidim Mik (32)		ÜK*	SK*
C		ANT (5)	ANT (4,5)	ANT (4,25)	ANT (4,125)	ANT (4,062)	ANT (4,031)	ANT (4,015)			ÜK*	SK*
D	ANT (4)										ÜK*	SK*
E	IND (3)									Kolistin Mik (0,5)	ÜK*	SK*
F	IND (2,5)										ÜK*	SK*
G	IND (2,25)										ÜK*	SK*
H	IND (2,125)										ÜK*	SK*

Tablo 4.6. 99 numaralı *P. aeruginosa* suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları

Seftazidim 64- 0,5/Kolistin 8-0,062	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A											ÜK*	SK*
B											ÜK*	SK*
C			ANT (5)	ANT (4,5)	ANT (4,25)	ANT (4,125)	ANT (4,062)	ANT (4,031)	Seftazidim Mik (16)		ÜK*	SK*
D		ANT (4)									ÜK*	SK*
E		IND (3)									ÜK*	SK*
F		IND (2,5)									ÜK*	SK*
G		IND (2,25)									ÜK*	SK*
H		IND (2,125)									ÜK*	SK*

Tablo 4.7. 105 numaralı *P. aeruginosa* suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları

Seftazidim 64- 0,5/Kolistin 8-0,062	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A											ÜK*	SK*
B											ÜK*	SK*
C						ANT (8,5)	ANT (8,25)	ANT (8,125)			ÜK*	SK*
D					ANT (5)						ÜK*	SK*
E					IND (3)				Seftazidim Mik (4)		ÜK*	SK*
F					IND (2)					Kolistin Mik (0,25)	ÜK*	SK*
G					IND (1,5)						ÜK*	SK*
H					IND (1,25)						ÜK*	SK*

Tablo 4.8. 107 numaralı *P. aeruginosa* suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları

Seftazidim 64- 0,5/Kolistin 8-0,062	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A											ÜK*	SK*
B											ÜK*	SK*
C						ANT (4,5)	ANT (4,25)	ANT (4,125)			ÜK*	SK*
D					IND (3)						ÜK*	SK*
E					IND (2)				Seftazidim Mik (4)	Kolistin Mik (0,5)	ÜK*	SK*
F					IND (1,5)						ÜK*	SK*
G					IND (1,25)						ÜK*	SK*
H				IND (2,125)							ÜK*	SK*

Tablo 4.9. 111 numaralı *P. aeruginosa* suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları

Seftazidim 16- 0,125/Kolistin in 8-0,062	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A											ÜK*	SK*
B											ÜK*	SK*
C							ANT (4,25)	ANT (4,125)			ÜK*	SK*
D					IND (1,5)	IND (2,5)					ÜK*	SK*
E				IND (3)					Seftazidim Mik (1)	Kolistin Mik (0,5)	ÜK*	SK*
F				IND (2,5)							ÜK*	SK*
G				IND (2,25)							ÜK*	SK*
H				IND (2,125)							ÜK*	SK*

Tablo 4.10. 113 numaralı *P. aeruginosa* suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları

Seftazidim 512- 4/Kolistin 8- 0,062	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A											ÜK*	SK*
B											ÜK*	SK*
C							ANT (4,25)	ANT (4,125)			ÜK*	SK*
D						IND (2,5)					ÜK*	SK*
E					IND (2)				Seftazidim Mik (32)	Kolistin Mik (0,5)	ÜK*	SK*
F				IND (2,5)							ÜK*	SK*
G				IND (2,25)							ÜK*	SK*
H				IND (2,125)							ÜK*	SK*

Tablo 4.11. 135 numaralı *P. aeruginosa* suşunun sinerji plak değerlendirme sonuçları

Seftazidim 64- 0,5/Kolistin 8-0,062	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A											ÜK*	SK*
B											ÜK*	SK*
C											ÜK*	SK*
D						ANT (5)	ANT (4,5)	ANT (4,25)			ÜK*	SK*
E					IND (4)						ÜK*	SK*
F					IND (3)				Seftazidim Mik (2)	Kolistin Mik (0,25)	ÜK*	SK*
G					IND (2,5)						ÜK*	SK*
H					IND (2,25)						ÜK*	SK*

P. aeruginosa susları (n=11) ile yapılan çalışmada seftazidim-kolistin kombinasyonlarının invitro sinerjik etkinliği checkerboard yöntemi sonuçlarına göre %12.5 sinerjik, %87.5 indiferan olduğu saptanmıştır (Aydın and Yıldırım, 2011).

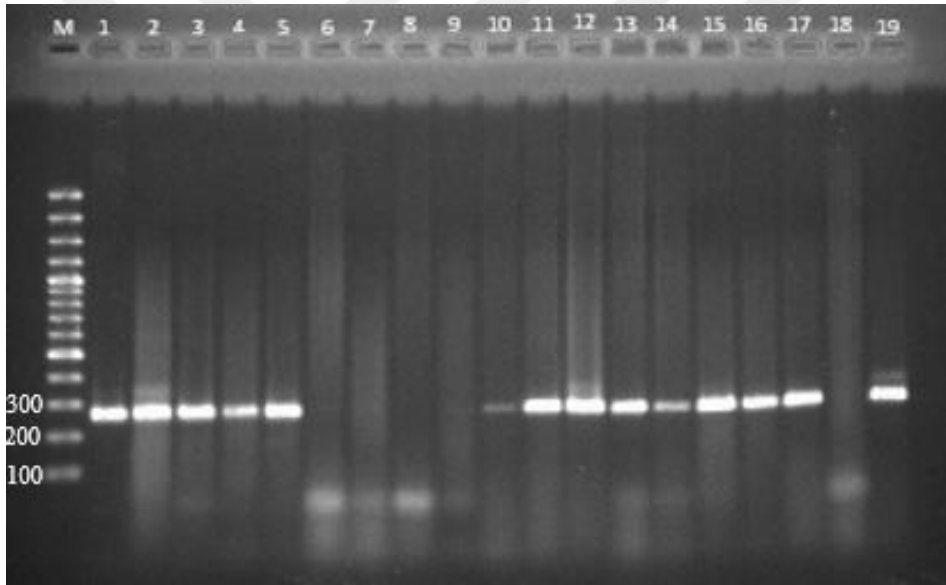
4.4. Moleküler Analizler

4.4.1. Virölans Genleri

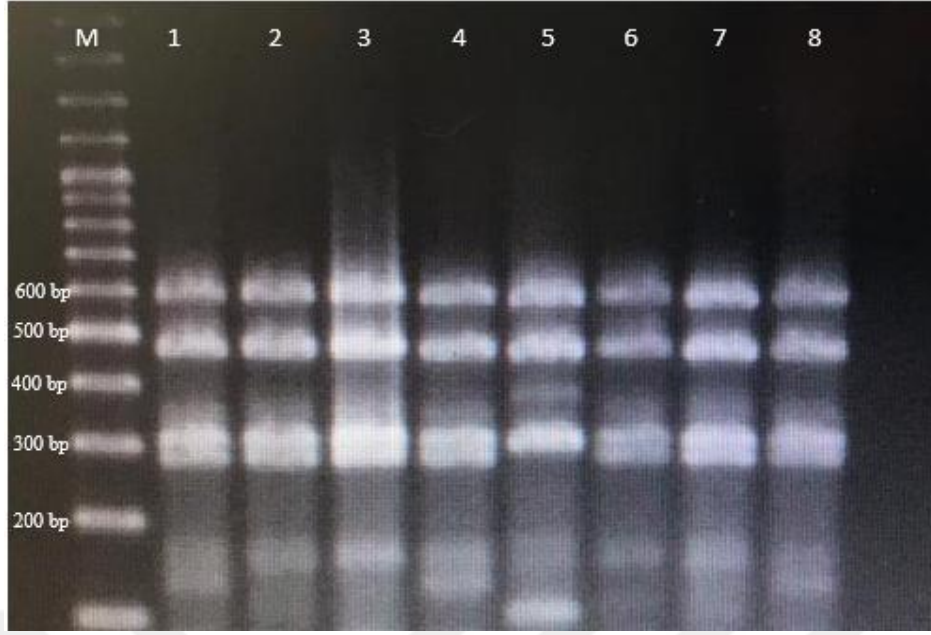
Çalışmaya dahil edilen suşların n:119 (%87,50)'unda toxA, n:135 (%99,26)'inde plcH, n:136 (%100)'sında algD, lasB ve plcN pozitif olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.13). Şekil 4.7 ve şekil 4.8'da örnek jel görüntüleri verilmiştir.

Tablo 4.12. toxA, algD, lasB, plcN, plcH genlerinin PZR sonuçları

Virölans gen bölgeleri	toxA (270)	algD (313)	lasB (284)	plcN (481)	plcH (608)
Pozitif	119 (%87,5)	136 (%100)	136 (%100)	136 (%100)	135 (%99,26)
Negatif	17	0	0	0	1
	136	136	136	136	136



Şekil 4.7. ToxA geninin jel görüntüsü. M: marker (100 bp), 1: Pozitif kontrol, 2-19: Klinik suşlar



Şekil 4.8. AlgD, lasB, plcN, plcH genlerinin jel görüntüsü. M: Marker, 1: Pozitif kontrol, 2-8: Klinik suşlar

Örnek türüyle virülans genler arasındaki ilişkiler kıkare analiziyle incelenmiş ve sonuçlar tablo 4.14’da verilmiştir. Tablo 4.14’a göre örnek türü ile *toxA* ve *algD* virülans genler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (p değeri >0.05). Öte yandan *lasB*, *plcH* ve *plcN* genlerinde tüm örnekler pozitif değeri aldığından kıkare analizleri sonucunda p değerleri elde edilememiş ve örnek türü değiştiğinde ilgili genin pozitif ya da negatif olma durumları arasında ilişki olup-olmadığı belirlenememiştir.

Tablo 4.13. Örnek türleri ile virülans genler arasındaki ilişkinin incelenmesi

Örnek türü	<i>toxA</i>	<i>lasB</i>	<i>plcH</i>	<i>plcN</i>	<i>algD</i>
Trakeal Aspirat Örneği	63 (84)	75 (100)	75 (100)	75 (100)	74 (98,7)
Orta Akım İdrar Örneği	22 (100)	22 (100)	22 (100)	22 (100)	22 (100)
Yara Sürüntüsü	5 (83,3)	6 (100)	6 (100)	6 (100)	6 (100)
Kateter hub'ından kan	6 (100)	6 (100)	6 (100)	6 (100)	6 (100)
Kulak sürüntüsü	5 (100)	5 (100)	5 (100)	5 (100)	5 (100)
Kan	3 (75)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)
BOS	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)
Periferik venden kan	2 (50)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)
Balgam	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)
Diyalizat	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)
Peritoneal sıvı	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)

Tablo 4.13. Devamı

BAL-Bronkoalveolar Lavaj Örneği	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Kateter ucu	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Ameliyat Materyali	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Göbek	0 (0)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Toplam	119	136	136	136	135
P Değeri	0,123	***	***	***	p>0,05

*** Tüm durumlarda **Pozitif** durumuyla karşılaştırıldığı için ilgili p değeri hesaplanamamıştır.

Antibiyotik direnç oranlarıyla virülans genler karşılaştırılmış ve sonuçlar Tablo 4.15’de özetlenmiştir. Tablo 4.15’a göre *toxA* geni saptanan örneklerde amikasin antibiyotiğine direnç gösterenlerin oranı %26,9 (32)’dur. Diğer antibiyotiklerle virülans genler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiş olup yüzde oranları ve p değerleri tabloda belirtilmiştir (Tablo 4.15).

Tablo 4.15’a göre virülans gen ile antibiyotik dirençleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (p değeri>0,05). Tablo 4.14’da * ile gösterilen p değerleri ilgili genin görünmediği (negatif olduğu) herhangi bir örnek mevcut olmadığından hesaplanamamıştır.

Tablo 4.14. Antibiyotik direnç oranlarıyla virülans genlerin karşılaştırılması

Antibiyotikler	<i>toxA</i>	<i>algD</i>	<i>lasB</i>	<i>plcN</i>	<i>plcH</i>
Amikasin	32 (%26,9) p=0,827	37 (%22,2) p=*	37 (%22,2) p=*	37 (%22,2) p=*	37 (%27,4) p=0,539
Imipenem	72 (%60,5) p=0,895	82 (%60,3) p=*	82 (%60,3) p=*	82 (%60,3) p=*	82 (%60,7) p=0,216
Levofloksasin	66 (%55,5) p=0,794	76 (%55,9) p=*	76 (%55,9) p=*	76 (%55,9) p=*	76 (%56,3) p=0,259
Meropenem	47 (%39,5) p=0,552	55 (%40,4) p=*	55 (%40,4) p=*	55 (%40,4) p=*	55 (%40,7) p=0,408
Piperasilin/Tazobaktam	62 (%52,1) p=0,330	73 (%53,7) p=*	73 (%53,7) p=*	73 (%53,7) p=*	73 (%54,1) p=0,280
Piperasilin	67 (%56,3) p=0,114	80 (%58,8) p=*	80 (%58,8) p=*	80 (%58,8) p=*	80 (%59,3) p=0,230
Sefepim	54 (%45,4) p=0,559	63 (%46,3) p=*	63 (%46,3) p=*	63 (%46,3) p=*	63 (%46,7) p=0,351
Seftazidim	47 (%39,5) p=0,895	54 (%39,7) p=*	54 (%39,7) p=*	54 (%39,7) p=*	54 (%40) p=0,415
Siprofloksasin	56 (%47,1) p=0,364	66 (%48,5) p=*	66 (%48,5) p=*	66 (%48,5) p=*	66 (%48,9) p=0,330

Biyofilm derecesiyle virülans genler karşılaştırılmış ve sonuçlar tablo 4.16’de özetlenmiştir. Tablo 4.16’e göre biyofilm derecesi 0 olanların %86,3’ü (44), 1

olanların %88,5'i (54), 2 olanların %88,2'si (15) ve 3 olanların %85,7'si (6) *toxA* geni bakımından pozitifdir. Ancak yapılan inceleme sonucunda biyofilm derecesiyle *toxA* geni bakımından pozitif olma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (p değeri=0,984>0,05). Benzer şekilde Biyofilm derecesi 0 olanların %98'i (50) *plcH* geni bakımından pozitif değer almıştır. Geri kalan tüm biyofilm derecelerinde *algD*, *lasB*, *plcN* ve *plcH* genleri bakımından ilgili örnekler pozitif değer almışlardır. Yapılan inceleme sonucunda biyofilm derecesiyle *plcH* geni bakımından pozitif olma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (p değeri=0,642>0,05). *AlgD*, *lasB* ve *plcN* genleri bakımından negatif değer alan örnek bulunmadığı için ilgili genler bakımından p değerleri hesaplanamamıştır.

Tablo 4.15. Biyofilm derecesiyle virülans genlerin karşılaştırılması

Virülans Genler	0	1	2	3	P Değeri
toxA	44 (%86,3)	54 (%88,5)	15 (%88,2)	6 (%85,7)	0,984
algD	51 (%100)	61 (%100)	17 (%100)	7 (%100)	*
lasB	51 (%100)	61 (%100)	17 (%100)	7 (%100)	*
plcN	51 (%100)	61 (%100)	17 (%100)	7 (%100)	*
plcH	50 (%98)	61 (%100)	17 (%100)	7 (%100)	0,642

Lanotte ve ark. (2004), 81' i KF hastalarına ait toplam 162 *P. aeruginosa* izolatu ile yaptıkları çalışmada izolatların tamamında *algD*, *lasB*, *toxA*, *plcH*, *plcN* genlerini tespit etmişlerdir (Lanotte et al., 2004).

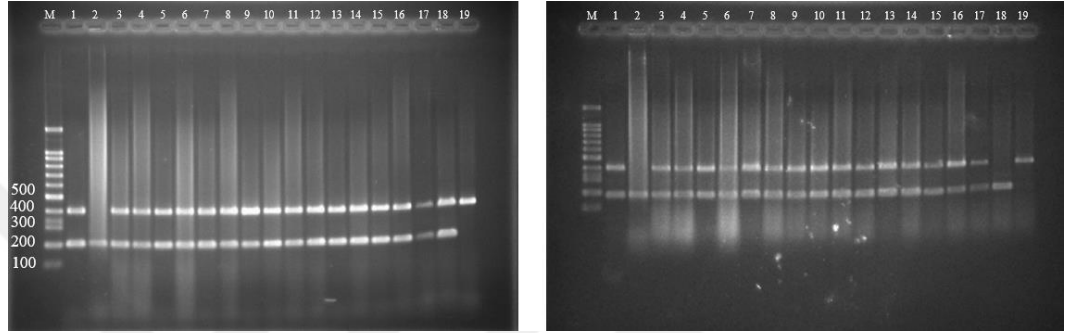
Badamchi ve ark. (2017), 150 adet *P. aeruginosa* suşu ile yaptıkları çalışmada virülans genlerini sırasıyla *lasB* (%92,9), *toxA* (%69,4), *algD* (%60), *plcH* (%38,8) ve *plcN* (%38,8) olarak tespit etmişlerdir (Badamchi et al., 2017).

4.4.2. Quorum Sensing Genleri

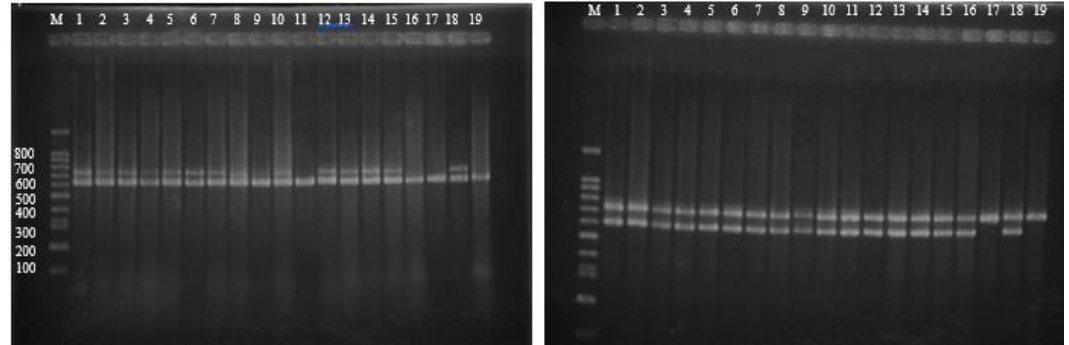
İntakt ve internal quorum sensing (*lasI*, *lasR*, *rhII* ve *rhIR*) gen bölgelerinin pozitif oranları sırasıyla n:127 (%93,38), n:113 (%83,08), n:134 (%98,52), n:127 (%93,38); n:130 (%95,58), n:132 (%97,05), n:136 (%100), n:134 (%98,52) olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.17). Şekil 4.9 ve şekil 4.10'de örnek jel görüntüleri verilmiştir.

Tablo 4.16. İntakt ve İnternal (*lasI*, *lasR*, *rhII* ve *rhIR*) genlerinin PZR sonuçları

	<i>lasI</i> (İntakt QS genler)	<i>lasR</i> (İntakt QS genler)	<i>rhII</i> (İntakt QS genler)	<i>rhIR</i> (İntakt QS genler)	<i>lasI</i> (İnternal QS genler)	<i>lasR</i> (İnternal QS genler)	<i>rhII</i> (İnternal QS genler)	<i>rhIR</i> (İnternal QS genler)
Pozitif	127 (%93,38)	113 (%83,08)	134 (%98,52)	127 (%93,38)	130 (%95,58)	132 (%97,05)	136 (%100)	134 (%98,52)
Negatif	9	23	2	9	6	4	0	2
	136	136	136	136	136	136	136	136



Şekil 4.9. İnternal jel görüntüsü 1. set (*lasI*, *rhIR*) (solda), 2. set (*lasR*, *rhII*) (sağda). M: Marker, 1: Pozitif kontrol, 2-19: Klinik suşlar



Şekil 4.10. İntakt jel görüntüsü 1. set (*lasR*, *rhII*) (solda), 2. set (*lasI*, *rhIR*) (sağda). M: Marker, 1: Pozitif kontrol, 2-19: Klinik suşlar

Örnek türüyle *quorum* genleri arasındaki ilişkiler kıkare analiziyle incelenmiş ve sonuçlar tablo 4.18'de verilmiştir. Tablo 4.18'e göre örnek türü ile *rhII* (intakt) ve *rhIR* (internal) virülans genler arasında %95 güvenle istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (p değeri <0.05). Diğer genler ile örnek türü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (p değeri >0.05).

Tablo 4.17. Örnek türleri ile quorum sensing genleri arasındaki ilişkinin incelenmesi

Örnek Türü	lasI (İntakt)	lasR (İntakt)	rhlI (İntakt)	rhlR (İntakt)	lasI (İnternal)	lasR (İnternal)	rhlI (İnternal)	rhlR (İnternal)
Trakeal Aspirat Örneği	71 (94,7)	59 (78,7)	75 (100)	70 (93,3)	72 (96)	74 (98,7)	75 (100)	74 (98,7)
Orta Akım İdrar Örneği	20 (90,9)	19 (86,4)	22 (100)	22 (100)	20 (90,9)	20 (90,9)	22 (100)	22 (100)
Yara Sürüntüsü	6 (100)	5 (83,3)	6 (100)	6 (100)	6 (100)	6 (100)	6 (100)	6 (100)
Kateter hub'ından kan	4 (66,7)	5 (83,3)	6 (100)	5 (83,3)	5 (83,3)	6 (100)	6 (100)	6 (100)
Kulak sürüntüsü	5 (100)	4 (80)	4 (80)	4 (80)	5 (100)	5 (100)	5 (100)	5 (100)
Kan	3 (75)	4 (100)	4 (100)	3 (75)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)
BOS	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	3 (75)	4 (100)	4 (100)
Periferik venden kan	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)
Balgam	2 (100)	1 (50)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)
Diyalizat	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)
Peritoneal sıvı	2 (100)	2 (100)	1 (50)	1 (50)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	1 (50)
BAL-Bronkoalveolar Lavaj Örneği	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Kateter ucu	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Ameliyat Materyali	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Göbek	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)
Toplam	127	113	134	127	130	132	136	134
P Değeri	0,639	0,939	<i>0,000<0,05</i>	0,463	0,988	0,649	***	<i>0,003<0,05</i>

Antibiyotik direnç oranlarıyla quorum sensing genler karşılaştırılmış ve sonuçlar tablo 4.19’de özetlenmiştir. Tablo 34’e göre lasL (intakt) olan örneklerde amikasin antibiyotiğine direnç gösterenlerin oranı %27,6 (35)’dir. Yapılan incelemelerde lasL (intakt) ve rhlR (intakt) genlerinin görünmesiyle piperasilin/tazobaktam antibiyotiğine karşı oluşan direnç arasında %95 güvenle istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (p değerleri=0,028<0,05). Diğer antibiyotiklerle quorum sensing genleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiş olup yüzde oranları ve p değerleri tabloda belirtilmiştir (p değeri>0,05) (Tablo 4.19). Tablo 4.19’de * ile gösterilen p değerleri ilgili genin görünmediği (negatif olduğu) herhangi bir örnek mevcut olmadığından hesaplanamamıştır.

Tablo 4.18. Antibiyotik direnç oranlarıyla quorum sensing genlerin karşılaştırılması

Antibiyotikler	lasL (İntakt)	lasR (İntakt)	rhlL (İntakt)	rhlR (İntakt)	lasL (İnternal)	lasR (İnternal)	rhlL (İnternal)	rhlR (İnternal)
Amikasin	35 (%27,6) p=0,728	27 (%23,9) p=0,054	36 (%26,9) p=0,466	36 (%28,3) p=0,262	35 (%26,9) p=0,730	35 (%26,5) p=0,298	37 (%27,2) p=*	37 (%27,6) p=0,384
Imipenem	77 (%60,6) p=0,764	68 (%60,2) p=0,951	81 (%60,4) p=0,764	77 (%60,6) p=0,764	78 (%60) p=0,744	79 (%59,8) p=0,542	82 (%60,3) p=*	81 (%60,4) p=0,764
Levofloksasin	69 (%54,3) p=0,171	61 (%54) p=0,323	75 (%56) p=0,866	70 (%55,1) p=0,500	71 (%54,6) p=0,166	74 (%56,2) p=0,810	76 (%55,9) p=*	75 (%56) p=0,866
Meropenem	50 (%39,4) p=0,339	42 (%37,2) p=0,085	54 (%40,3) p=0,781	51 (%40,2) p=0,800	52 (%40) p=0,626	53 (%40,2) p=0,693	55 (%40,4) p=*	54 (%40,3) p=0,781
Piperasilin /Tazobaktam	65 (%51,2) p=0,028	58 (%51,3) p=0,223	72 (%53,7) p=0,916	65 (%51,2) p=0,028	69 (%53,1) p=0,514	70 (%53) p=0,385	73 (%53,7) p=*	72 (%53,7) p=0,916
Piperasilin	72 (%56,7) p=0,058	65 (%57,5) p=0,494	79 (%59) p=0,798	72 (%56,7) p=0,058	76 (%58,5) p=0,690	77 (%58,3) p=0,505	80 (%58,8) p=*	79 (%59) p=0,798

Tablo 4.18. Devamı

Sefepim	56 (%44,1) p=0,051	49 (%43,4) p=0,125	62 (%46,3) p=0,916	56 (%44,1) p=0,051	59 (%45,4) p=0,307	60 (%45,5) p=0,243	63 (%46,3) p=*	62 (%46,3) p=0,916
Seftazidim	49 (%38,6) p=0,315	41 (%36,3) p=0,071	53 (%39,6) p=0,764	48 (%37,8) p=0,087	51 (%39,2) p=0,598	51 (%38,6) p=0,143	54 (%39,7) p=*	54 (%40,3) p=0,248
Siprofloksasin	62 (%48,8) p=0,800	56 (%49,6) p=0,595	66 (%49,3) p=0,167	64 (%50,4) p=0,102	62 (%47,7) p=0,363	64 (%48,5) p=0,952	66 (%48,5) p=*	65 (%48,5) p=0,967

Biyofilm derecesiyle quarum sensing genler karşılaştırılmış ve sonuçlar tablo 4.20’de özetlenmiştir. Tablo 4.20’e göre biyofilm derecesi 0 olanların %90,2’si (46), 1 olanların %95,1’i (58), 2 olanların %94,1’i (16) ve 3 olanların %100’ü (7) intakt LasL geni bakımından pozitifdir. Ancak yapılan inceleme sonucunda biyofilm derecesiyle LasL geni bakımından pozitif olma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (p değeri=0,652>0,05). Diğer biyofilm derecesi ile quarum sensing genleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiş olup yüzde oranları ve p değerleri tabloda belirtilmiştir. İnternal RhIL geni bakımından negatif değer alan örnek bulunmadığı için, Tablo 4.20’de ilgili gen için p değeri hesaplanamamıştır.

Tablo 4.19. Biyofilm derecesiyle quorum sensing genlerin karşılaştırılması

Quorum Sensing Genler	0	1	2	3	P Değeri
lasL (İntakt)	46 (%90,2)	58 (%95,1)	16 (%94,1)	7 (%100)	0,652
lasR (İntakt)	42 (%82,4)	50 (%82)	14 (%82,4)	7 (%100)	0,681
rhIL (İntakt)	50 (%98)	60 (%98,4)	17 (%100)	7 (%100)	0,929
rhIR (İntakt)	46 (%90,2)	58 (%95,1)	16 (%94,1)	7 (%100)	0,652
lasL (İnternal)	48 (%94,1)	59 (%96,7)	16 (%94,1)	7 (%100)	0,836
lasR (İnternal)	48 (%94,1)	60 (%98,4)	17 (%100)	7 (%100)	0,451
rhIL (İnternal)	51 (%100)	61 (%100)	17 (%100)	7 (%100)	*
rhIR (İnternal)	50 (%98)	61 (%100)	16 (%94,1)	7 (%100)	0,336

Primer Express (Applied Biosystems) tarafından lasI, lasR, rhII ve rhIR genleri içindeki farklı bölgelere karşılık gelen iki farklı oligonükleotid primer seti (bir set intakt gen ve ikincisi internal fragman amplikonları) tasarlanarak sentezlenmiştir. *P. aeruginosa*'nın önemli özelliği olan genomik çeşitliliği nedeni ile genom üzerindeki internal fragmanların farklı bölgelerde yerleşebileceğini ve bazı suşlarda intakt gen bulunurken bazılarında internal genlerin bulunabileceğini bildirilmiştir (Integrated DNA Technologies) (Entegre DNA Teknolojileri). Bu çalışmaya göre 5 *P. aeruginosa* izolatının 2'sinde intakt rhIR genine rastlanırken 3 izolatta belirlenmemiştir. İnternal fragmentte ise tam tersi sonuçlar elde edilmiş, yani 3 izolatta bulunurken 2 izolatta tespit edilememiştir (Schaber et al., 2004).

Öz (2009), yaptığı çalışmada quorum sensing gen bölgelerinin moleküler taraması 30 *P. aeruginosa* izolatlarının internal fragman ve intakt gen pozitiflikleri (lasI, lasR, rhIR, rhII) sırasıyla %0 (n=0), %0 (n=0), %36,66 (n=11), %23,33 (n=7); %73,33 (n=22), %50 (n=15), %93,33 (n=28), %100 (n=30) olduğu belirlenmiştir (Öz, 2019).

İnat (2021), 50 *P. aeruginosa* suşunun quorum sensing sonuçlarına göre rhII, rhIR, lasI, lasR intakt gen bölgesi pozitiflik oranları sırası ile %28, %20, %24, %14; internal gen bölgesi sonuçları ise %32, %64, %66, %50 olduğu belirlenmiştir (İnat et al., 2021).

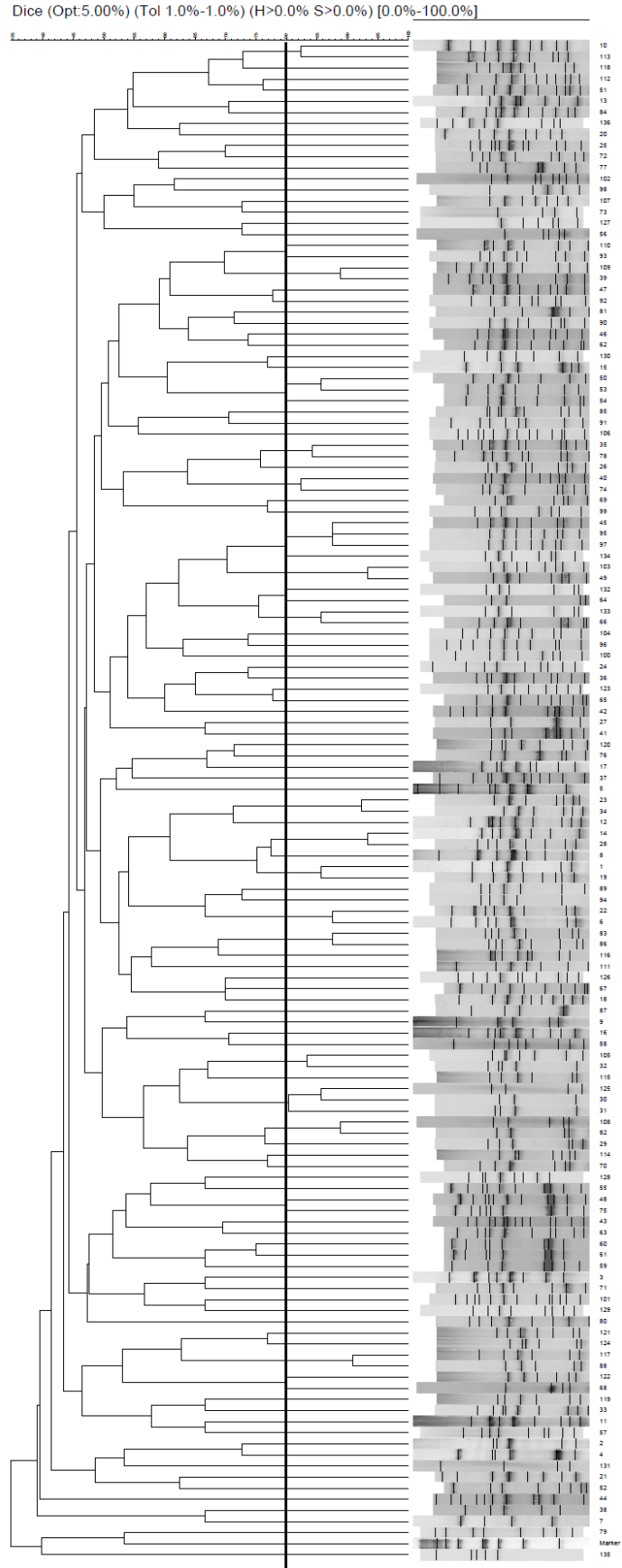
Başkan (2023), 100 *P. aeruginosa* suşuyla yaptığı çalışmadaki quorum sensing sonuçlarına göre rhII, rhIR, lasI, lasR intakt gen bölgesi pozitiflik oranları sırası ile %91, %80, %96, %91; internal gen bölgesi sonuçları ise %90, %90, %95, %95 olduğu belirlenmiştir (Başkan et al., 2023).

4.4.3. ERIC-2 Primerleri ile RADP-PZR

Çalışmaya dahil edilen suşların filogenetik yakınlıklarının belirlenmesi için ERIC-2 primerinin kullanıldığı RADP-PZR gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bant profillerine göre dendograma çizilmiştir. Buna göre suşların %40-%95 arasında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.11). %80 eşik değeri göz önüne alınarak yapılan değerlendirme sonucunda 10-113, 109-39, 50-53, 35-78, 40-74, 45-95-97, 103-49, 133-66, 23-34, 14-28, 1-19, 22-6, 83-86, 105-32, 125-30, 108-82, 117-88 suşlarının kökenlerinin aynı olabileceği belirlenmiştir (Rui et al., 2018).

Uzunbayır-Akel ve ark. çalışmalarında farklı kliniklerinden izole edilen 83 *P. aeruginosa* izolatının ERIC-PZR sonuçlarına göre 19 ilişkisiz klon içerisinde yer aldıkları saptanmıştır (Uzunbayır-Akel et al., 2019).

Biyofilm pozitif 24 suşla çizilen ERIC-PZR dendogram sonucuna göre %80 eşik değerine göre 6 suş çiftinin benzer olabileceği gözlemlenmiştir (Ekselli, 2019).



Şekil 4.11. İzolatların RAPD-PCR sonucu görüntülenen bantları

Tablo 4.20. Tez çalışmaları kapsamında elde edilen bulguların toplu sunumu

Çalışma numarası	Biyofilm Mikroplak derecesi	PZR													
		toxA (270)	algD (313)	lasB (284)	plcN (481)	plcH (608)	lasI (<i>inta kt QS genl er</i>)	lasR (<i>inta kt QS genl er</i>)	rhII (<i>inta kt QS genl er</i>)	rhIR (<i>inta kt QS genl er</i>)	lasI (<i>inter nal QS genler)</i>	lasR (<i>inter nal QS genler)</i>	rhII (<i>inter nal QS genler)</i>	rhIR (<i>inter nal QS genler)</i>	
1	0	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	
2	0	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	
3	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	
4	1	Nega tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Nega tif	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	
5	0	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	
6	0	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	
7	0	Nega tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	
8	0	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	
9	0	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Nega tif	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Negati f	Pozitif	Pozitif	
10	0	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	

Tablo 4.20. Devamı

11	0	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
12	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
13	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
14	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
15	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
16	2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
17	2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
18	0	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
19	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
20	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
21	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
22	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
23	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif

Tablo 4.20. Devamı

24	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
25	2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
26	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
27	1	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
28	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
29	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
30	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
31	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
32	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
33	2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
34	0	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
35	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif
36	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif

Tablo 4.20. Devamı

37	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
38	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif
39	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
40	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
41	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
42	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
43	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
44	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
45	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif
46	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
47	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif
48	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
49	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif

Tablo 4.20. Devamı

50	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
51	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
52	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
53	1	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
54	1	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
55	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
56	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
57	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
58	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
59	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
60	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
61	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
62	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif

Tablo 4.20. Devamı

63	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
64	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
65	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
66	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
67	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
68	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Nega tif	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
69	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
70	0	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
71	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
72	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
73	3	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
74	0	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Nega tif	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
75	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif

Tablo 4.20. Devamı

76	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
77	2	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
78	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
79	0	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
80	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
81	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
82	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
83	0	Nega tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
84	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
85	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
86	0	Nega tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
87	2	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozit if	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
88	1	Pozit if	Pozi tif	Pozi tif	Pozi tif	Pozit if	Nega tif	Pozit if	Pozit if	Nega tif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif

Tablo 4.20. Devamı

89	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
90	2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
91	2	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
92	2	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
93	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
94	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
95	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
96	1	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
97	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
98	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
99	3	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
100	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
101	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif

Tablo 4.20. Devamı

102	2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
103	1	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
104	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
105	3	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
106	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
107	3	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
108	0	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
109	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
110	2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
111	3	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
112	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
113	3	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
114	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif

Tablo 4.20. Devamı

115	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
116	2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
117	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
118	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
119	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
120	1	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
121	2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Negatif
122	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
123	2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
124	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
125	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
126	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
127	2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif

Tablo 4.20. Devamı

128	2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
129	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
130	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
131	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
132	2	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
133	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
134	0	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
135	3	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
136	1	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
Toplam Pozitif		119	136	136	136	135	127	113	134	127	130	132	136	134

5. SONUÇLAR

- Yoğun bakımda yatan hastalardan izole edilen *P. aeruginosa* (n: 136) izolatlarının en sık izole edildiği örnek türünün %55,14 trakeal aspirat örneği olduğu saptanmıştır.
- En yüksek antibiyotik direnç oranlarının %60,29’unda imipenem olduğu tespit edilmiştir.
- Biyofilm mikropalak yöntemine göre derecelendirme (0,1,2,3) oranları sırası ile %37,5, %44,85, %12,5, %5,15 olduğu belirlenmiştir.
- Mikropalak yöntemine göre güçlü (3+) biyofilm üreten suşların baicalin MİK değeri >1024 µg/ml, sub-MİK değerinin 512 µg/ml olduğu belirlenmiştir.
- Seftazidim, kolistin kombinasyonu dama tahtası yöntemi ile çalışarak değerlendirilmiş olup sinerji oluşumu gözlemlenmemiştir.
- Çalışmaya dahil edilen suşların %87,50’sinde *toxA*, %99,26’sında *plcH*, %100’ünde *algD*, *lasB* ve *plcN* pozitif olduğu belirlenmiştir. Ayrıca intakt ve internal quorum sensing (*lasI*, *lasR*, *rhlI* ve *rhlR*) gen bölgelerinin pozitif oranları sırasıyla %93,38, %83,08, %98,52, %93,38; %95,58, %97,05, %100, %98,52 olduğu saptanmıştır.
- ERIC-PZR yöntemi sonucuna göre 10-113, 109-39, 50-53, 35-78, 40-74, 45-95-97, 103-49, 133-66, 23-34, 14-28, 1-19, 22-6, 83-86, 105-32, 125-30, 108-82, 117-88 suşlarının kökenlerinin aynı olabileceği belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Acet, Ö., Erdönmez, D., Acet, B. Ö., and Odabaşı, M. (2021). N-acyl homoserine lactone molecules assisted quorum sensing: effects consequences and monitoring of bacteria talking in real life. *Archives of Microbiology*, 203, 3739-3749.
- Akova, M. (2005). *Umut Vadeden Yeni Bir Antibakteriyel Tedavi Yaklaşımı*. Ankem Derg, 19, 126-128.
- Akyüz, A. (2019). *Bazı mikroorganizmaların biyofilm oluşturma yeteneği üzerine dezenfektanların etkisinin araştırılması*. Basılmamış Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Alada, D. M., Altoparlak, Ü., and Coşkun, M. V. (2017). *Çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının Acinetobacter suşları üzerine in vitro etkinliğinin araştırılması*. Ankem Derg, 31, 23-31.
- Alcorn, J. F., and Wright, J. R. (2004). Degradation of pulmonary surfactant protein D by *Pseudomonas aeruginosa* elastase abrogates innate immune function. *Journal of Biological Chemistry*, 279, 30871-30879.
- Alkatheri, A. H., Yap, P. S. X., Abushelaibi, A., Lai, K. S., Cheng, W. H., and Lim, S. H. E. (2022). Host–Bacterial Interactions: Outcomes of Antimicrobial Peptide Applications. *Membranes*, 12, 715.
- Al-Qasi, L. (2012). *Purification, characterization and genetic evaluation of Phenazine produced by Pseudomonas aeruginosa local isolates*. Basılmamış Doktora Tezi. Bağdat Üniversitesi Fen Fakültesi, Irak.
- Altun, H., and Şener, B. (2008). *Biyofilm infeksiyonları ve antibiyotik direnci*. Hacettepe Tıp Dergisi, 39, 82-88.
- Al-Wrafy, F., Brzozowska, E., Górska, S., and Gamian, A. (2017). Pathogenic factors of *Pseudomonas aeruginosa*—the role of biofilm in pathogenicity and as a target for phage therapy. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*, 71, 78-91.
- Andiç, Ş. (2015). *Hastane kökenli Pseudomonas aeruginosa ve Acinetobacter baumannii suşlarında karbapenem direncine neden olan beta laktamazların fenotipik ve genotipik yöntemlerle belirlenmesi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Aydın, D. M. D., and Yıldırım, E. E. (2011). *Çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının çoğul dirençli Acinetobacter spp. ve Pseudomonas spp. bakterilere in-vitro etkileri*. Basılmamış Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Badamchi, A., Masoumi, H., Javadinia, S., Asgarian, R., and Tabatabaee, A. (2017). Molecular detection of six virulence genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolates detected in children with urinary tract infection. *Microbial pathogenesis*, 107, 44-47.
- Badr, S. S. (2022). *Klebsiella pneumoniae izolatlarında ve seftriakson sub-minimal inhibitör konsantrasyonlarının biyofilm oluşumuna etkisinin araştırılması* (Master's thesis, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü).
- Bandara, M. B., Zhu, H., Sankaridurg, P. R., and Willcox, M. D. (2006). Salicylic acid reduces the production of several potential virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* associated with microbial keratitis. *Investigative ophthalmology & visual science*, 47, 4453-4460.

- Barnes, R. J. (2008). *Study of host pathogen interactions using a model of Pseudomonas aeruginosa infection of lung epithelial cells/by Rebecca Barnes*. Basılmamış Doktora Tezi. Lakehead Üniversitesi Biyoloji Lakehead Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Kanada.
- Başkan, C., Yıldırım, T., Bilgin, M., and Sivas, H. (2023). Determination of biofilm formation, antibiotic susceptibility profiles and quorum sensing mediated virulence factors in ceftazidime resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Biologia*, 1-13.
- Bassetti, M., Vena, A., Croxatto, A., Righi, E., and Guery, B. (2018). How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs in context*, 7.
- Bergey, D. H., Breed, R. S., Murray, E. G. D., and Hitchens, A. P. (1939). Manual of determinative bacteriology. *Manual of determinative bacteriology Fifth Edn*, 2, 128-135.
- Bettenworth, V., Steinfeld, B., Duin, H., Petersen, K., Streit, W. R., Bischofs, I., and Becker, A. (2019). Phenotypic heterogeneity in bacterial quorum sensing systems. *Journal of molecular biology*, 431, 4530-4546.
- Bilgehan, H. (2000). *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları*. 10'uncu Baskı. Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi, İzmir, Türkiye.
- Bjarnsholt, T. (2013). The role of bacterial biofilms in chronic infections. *Apmis*, 121, 1-58.
- Bjarnsholt, T., and Givskov, M. (2007). The role of quorum sensing in the pathogenicity of the cunning aggressor *Pseudomonas aeruginosa*. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 387, 409-414.
- Bleves, S., Viarre, V., Salacha, R., Michel, G. P., Filloux, A., and Voulhoux, R. (2010). Protein secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa*: a wealth of pathogenic weapons. *International Journal of Medical Microbiology*, 300, 534-543.
- Blickman, J., Van Die, C., and De Rooy, J. (2004). Current imaging concepts in pediatric osteomyelitis. *European Radiology Supplements*, 14, L55-L64.
- Blondell-Hill, E., Henry, D., and Speert, D. (2007). *Pseudomonas*. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds). Manual of Clinical Microbiology. ASM Press, Washington, DC 9, 734-748.
- Bosgelmez-Tinaz, G. (2013). Disruption of bacterial cell-to-cell communication (quorum sensing): a promising novel way to combat bacteria-mediated diseases. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 3, 159.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., Mietzner, T. A., Jawetz, Melnick, Adelberg. (2010). Pseudomonads, Acinetobacters & uncommon gramnegative bacteria. *Medical Microbiology*, 16.
- Çalı, A., Çelik, C., Tutar, U., and Bakıcı, M.Z. (2018). *Hastanede yatan hastalardan izole edilen mikroorganizmaların biyofilm formasyon aktiviteleri*. Kocaeli Tıp Dergisi, 7, 82-88.
- Çeken, N., Duran, H., and Bülent, A. (2021). Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının 4 yıllık direnç profili. *Pamukkale Medical Journal*, 14, 306-311.
- Çevik Tepeli, E. (2009). *Pseudomonas aeruginosa suşlarında biyofilm yapımının ve Quarum Sensing'de rol alan genlerin araştırılması*. Basılmamış Uzmanlık tezi. TC Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.
- Chbib, C. (2020). Impact of the structure-activity relationship of AHL analogues on quorum sensing in Gram-negative bacteria. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 28, 115282.

- Chopra, N., and Abrol, S. (2016). Quorum sensing: Bacterial chit chat. *Universal Research Journal of Dentistry*, 6, 93-93.
- Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J., Baddour, L., Barrett, F., Melton, D., and Beachey, E. (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of clinical microbiology*, 22, 996-1006.
- Chusri, S., Phatthalung, P. N., and Voravuthikunchai, S. (2012) Anti- biofilm activity of *Quercus infectoria* G. Olivier against methicillin- resistant *Staphylococcus aureus*. *Letters in applied Microbiology*, 54, 511-517.
- Curran, C. S., Bolig, T., and Torabi-Parizi, P. (2018). Mechanisms and targeted therapies for *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 197, 708-727.
- D'Agata, E. (2015). *Pseudomonas aeruginosa* and other *Pseudomonas* species, in *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*, Elsevier, e2513, 2518-2531.
- Danese, P. N., Pratt, L.A., and Kolter, R. (2000). Exopolysaccharide production is required for development of *Escherichia coli* K-12 biofilm architecture. *Journal of bacteriology*, 182, 3593-3596.
- D'Angelo, F., Baldelli, V., Halliday, N., Pantalone, P., Polticelli, F., Fiscarelli, E., Williams, P., Visca, P., Leoni, L., and Rampioni, G. (2018). Identification of FDA-approved drugs as antivirulence agents targeting the pqs quorum-sensing system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62, e01296-01218.
- Davies, J., Spiegelman, G. B., and Yim, G. (2006). The world of subinhibitory antibiotic concentrations. *Current opinion in microbiology*, 9, 445-453.
- De Kievit, T. R., and Iglewski, B. H. (2000). Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infection and immunity*, 68, 4839-4849.
- Dekimpe, V., and Deziel, E. (2009). Revisiting the quorum-sensing hierarchy in *Pseudomonas aeruginosa*: the transcriptional regulator RhlR regulates LasR-specific factors. *Microbiology*, 155, 712-723.
- Denton, M., and Wilcox, M. (1997). Antimicrobial treatment of pulmonary colonization and infection by *pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 40, 468-474.
- Diggle, S.P., Crusz, S. A., and Cámara, M. (2007). Quorum sensing. *Current Biology*, 17, 907-910.
- Divya, B. (2013). *A Study on Detection and Characterisation of Metallo Beta Lactamase Producing Pseudomonas aeruginosa*. Basılmamış Doktora Tezi. Madurai Tıp Fakültesi, Hindistan.
- Domingo- Calap, P., Georgel, P., and Bahram, S. (2016). Back to the future: bacteriophages as promising therapeutic tools. *Hla*, 87, 133-140.
- Du, Z., Huang, Y., Chen, Y., and Chen, Y. (2019). Combination effects of baicalin with levofloxacin against biofilm-related infections. *American Journal of Translational Research*, 11, 1270.
- Düzgün, D. (2009). *Değişik kaynaklardan izole edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarının virulans faktörleri, biyofilm formasyonu ve quorum sensing yönünden değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa.

- Egland, K. A., and Greenberg, E. (1999). Quorum sensing in *Vibrio fischeri*: elements of the luxI promoter. *Molecular microbiology*, 31, 1197-1204.
- Ekselli, S. (2019). *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında biyofilm üretimi ile antibiyotik dirençlilik ilişkisinin karşılaştırılmalı değerlendirilmesi. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- El-Sawy, A. H. F. (2003). *The application of laser Doppler flowmetry in non-invasive measurement of microcirculation perfusion in the human external auditory canal and tympanic membrane*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Leicester Üniversitesi, İngiltere.
- Erdemoğlu, A., Ardiç, N., and Özyurt, M. (2003). *Kan kültürlerinden üretilen Pseudomonas aeruginosa izolatlarında antibiyotik direnci*. *Ankem Derg*, 17, 397-399.
- Erdoğan, M. M., Delen, L. A., and Erdoğan, E. (2021). *Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları*. İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi, 9, 230-237.
- Evans, C. (2022). *Isolation, characterization, and potential clinical application of the M1-Pseudomonas aeruginosa pyocin*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Texas Tech Üniversitesi Lisansüstü Fakültesi, Amerika Birleşik Devletleri.
- Faraji, F., Mahzounieh, M., Ebrahimi, A., Fallah, F., Teymournejad, O., and Lajevardi, B. (2016). Molecular detection of virulence genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from children with Cystic Fibrosis and burn wounds in Iran. *Microbial pathogenesis*, 99, 1-4.
- Fendrich, C. (1988). *Halovibrio variabilis* gen. nov. sp. nov., *Pseudomonas halophila* sp. nov. and a new halophilic aerobic coccoid Eubacterium from Great Salt Lake, Utah, USA. *Systematic and applied microbiology*, 11, 36-43.
- Fiester, S. E., Arivett, B. A., Schmidt, R. E., Beckett, A. C., Ticak, T., Carrier, M. V., Ghosh, R., Ohneck, E.J., Metz, M.L., and Sellin Jeffries, M. K. (2016) Iron-regulated phospholipase C activity contributes to the cytolytic activity and virulence of *Acinetobacter baumannii*. *PloS one*, 11, e0167068.
- Fuqua, C., and Greenberg, E. P. (2002). Listening in on bacteria: acyl-homoserine lactone signalling. *Nature reviews Molecular cell biology*, 3, 685-695.
- Fuqua, C., Parsek, M. R., and Greenberg, E. P. (2001). Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum sensing. *Annual review of genetics*, 35, 439-468.
- Galloway, W.R., Hodgkinson, J. T., Bowden, S. D., Welch, M., and Spring, D. R. (2011). Quorum sensing in Gram-negative bacteria: small-molecule modulation of AHL and AI-2 quorum sensing pathways. *Chemical reviews*, 111, 28-67.
- Girard, G., and Bloemberg, G. V. (2008). Central role of quorum sensing in regulating the production of pathogenicity factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *Future Microbiology*, 3.
- Grote, J., Krysciak, D., and Streit, W. R. (2015). Phenotypic heterogeneity, a phenomenon that may explain why quorum sensing does not always result in truly homogenous cell behavior. *Applied and environmental microbiology*, 81, 5280-5289.
- Hanberger, H., Garcia-Rodriguez, J. A., Gobernado, M., Goossens, H., Nilsson, L. E., and Struelens, M. J. (1999). Antibiotic susceptibility among aerobic gram-negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. *Jama*, 281, 67-71.
- Harvey, R., CHAMPE, P., and Fisher, B. (2006). *Lippincott Illustrated Reviews, Mikrobiyoloji*. Çeviri Editörü: Anđ Ö, Nobel Tıp Kitabevleri Ltdi Şti, İstanbul, 175-179.

- Hentzer, M., Teitzel, G. M., Balzer, G. J., Heydorn, A., Molin, S., Givskov, M., and Parsek, M. R. (2001). Alginate overproduction affects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm structure and function. *Journal of bacteriology*, 183, 5395-5401.
- Huang, C., Lu, C., Chuang, Y., Tsai, N., Chang, C., Chen, S., Wang, H., Chien, C., and Chang, W. (2007). Adult *Pseudomonas aeruginosa* meningitis: high incidence of underlying medical and/or postneurosurgical conditions and high mortality rate. *Japanese journal of infectious diseases*, 60, 397.
- Huang, J. J., Han, J. I., Zhang, L. H., and Leadbetter, J. R. (2003). Utilization of acyl-homoserine lactone quorum signals for growth by a soil pseudomonad and *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Applied and environmental microbiology*, 69, 5941-5949.
- Hurley, M. N., Cámara, M., and Smyth, A. R. (2012). Novel approaches to the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. *European Respiratory Journal*, 40, 1014-1023.
- İlgar, E. (2019). *Yatağa bağımlı kronik bası yaralı hastalarda bası yarasından izole edilen etken mikroorganizmalarda biyofilm oluşumunun incelenmesi ve direnç gelişimiyle ilişkisinin değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- İnat, G., Sırıken, B., Başkan, C., Erol, İ., Yıldırım, T., Çiftçi, A. (2021). Quorum sensing systems and related virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from chicken meat and ground beef. *Scientific Reports*, 11, 15639.
- Jaafar, F. N., Al-Bayati, M., Musafer, H. K., Azeez, M. A., and Raheem, Z. K. (2022). Quorum Sensing and its Correlation with Virulence Factors. *South Asian Res J Pharm Sci*, 4, 60-69.
- Janam, R., Gulati, A. K., and Nath, G. (2011). Antibigram and genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from human, animal, plant, water and soil sources in north India. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 42, 1477.
- Jones, H., Roth, I., and Sanders, III W. (1969). Electron microscopic study of a slime layer. *Journal of bacteriology*, 99, 316-325.
- Kalaïarasan, E., Thirumalaswamy, K., Harish, B. N., Gnanasambandam, V., Sali, V. K., and John, J. (2017). Inhibition of quorum sensing-controlled biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* by quorum-sensing inhibitors. *Microbial pathogenesis*, 111, 99-107.
- Kaper, J. B., and Sperandio, V. (2005). Bacterial cell-to-cell signaling in the gastrointestinal tract. *Infection and immunity*, 73, 3197-3209.
- Karatuna, O. (2008). *Solunum Sistemi Enfeksiyonlarında İzole Edilen Pseudomonas aeruginosa Suşlarının Virülans Faktörlerinin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Belirlenmesi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Marmara Üniversitesi, İstanbul.
- Karatuna, O., and Yağcı, A. (2008). *Pseudomonas aeruginosa'da virülans faktörleri ve quorum sensing*. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 38, 42-51.
- Kipnis, E., Sawa, T., and Wiener-Kronish, J. (2006). Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Medecine et maladies infectieuses*, 36, 78-91.
- Kishore, N., Pindi, P. K., and Ram Reddy, S. (2015) Phosphate-solubilizing microorganisms: a critical review. *Plant Biology and Biotechnology: Volume I: Plant Diversity, Organization, Function and Improvement*, 307-333.

- Kisii, K., and Blank, UD. ILM., (2017). Carbon source driven virulence factors generation by *Pseudomonas aeruginosa*, implications for application in bioelectrochemical systems.
- Kleerebezem, M., Quadri, L. E., Kuipers, O. P., and De Vos, W. M. (1997). Quorum sensing by peptide pheromones and two- component signal- transduction systems in Gram-positive bacteria. *Molecular microbiology*, 24, 895-904.
- Köremezli, A., Kariptaş, E., and Erdem, B. (2022). Bakteriyel mikroorganizmalarda bir savunma sistemi:“Biyofilm”. *Black Sea Journal of Health Science*, 5, 153-161.
- Lambert, P. (2002). Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of the royal society of medicine*, 95, 22.
- Landman, D., Bratu, S., Kochar, S., Panwar, M., Trehan, M., Doymaz, M., and Quale, J. (2007). Evolution of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 60, 78-82.
- Lanotte, P., Watt, S., Mereghetti, L., Dartiguelongue, N., Rastegar-Lari, A., Goudeau, A., and Quentin, R. (2004). Genetic features of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients compared with those of isolates from other origins. *Journal of medical microbiology*, 53, 73-81.
- Lappin- Scott, H. M., and Costerton, J. W. (1989). Bacterial biofilms and surface fouling. *Biofouling*, 1, 323-342.
- Lazar, V. (2011). Quorum sensing in biofilms–how to destroy the bacterial citadels or their cohesion/power? *Anaerobe*, 17, 280-285.
- Lederberg, J. (1992). *Encyclopedia of microbiology*, Academic Press.
- Lederberg, J. (2000). *Encyclopedia of microbiology, four-volume set*, Academic Press.
- Lewenza, S., Charron-Mazenod, L., Afroj, S., and van Tilburg Bernardes, E. (2017). Hyperbiofilm phenotype of *Pseudomonas aeruginosa* defective for the PlcB and PlcN secreted phospholipases. *Canadian Journal of Microbiology*, 63, 780-787.
- Li, Y. H., and Tian, X. (2012). Quorum sensing and bacterial social interactions in biofilms. *Sensors*, 12, 2519-2538.
- Luo, J., Dong, B., Wang, K., Cai, S., Liu, T., Cheng, X., Lei, D., Chen, Y., Li, Y., and Kong, J. (2017). Baicalin inhibits biofilm formation, attenuates the quorum sensing-controlled virulence and enhances *Pseudomonas aeruginosa* clearance in a mouse peritoneal implant infection model. *PloS one*, 12, e0176883.
- Ma, L., Conover, M., Lu, H., Parsek, M. R., Bayles, K., and Wozniak, D. J. (2009). Assembly and development of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix. *PLoS pathogens*, 5, e1000354.
- Madigan, M., and Martinko, J. (2010). Brock Mikroorganizmaların, Biyolojisi, Palme Yayıncılık, Ankara, Türkiye.
- Madigan, M., Martinko, J., and Brock, M. (2010). Mikroorganizmaların biyolojisi (Çeviri editörü: Cumhur Çökmüş). *Palme yayınları*, 532, 647-655.
- Mahmoudi, M., Ghafourian, S., and Badakhsh, B. (2021). *Toxin-Antitoxin Systems in Pseudomonas aeruginosa*, Bentham Science Publishers.
- March, J. C., and Bentley, W. E. (2004). Quorum sensing and bacterial cross-talk in biotechnology. *Current opinion in biotechnology*, 15, 495-502.

- Miller, M. B., and Bassler, B. L. (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annual review of microbiology*, 55, 165-199.
- Moore, B., Nicholas, M., and Maribeth, L. (2011). Introduction: *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Laboratory Science.
- Moradali, M.F., Ghods, S., and Rehm, B. H. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: a paradigm for adaptation, survival, and persistence. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 39.
- Morin, C. D., Déziel, E., Gauthier, J., Levesque, R. C., and Lau, G. W. (2021). An organ system-based synopsis of *Pseudomonas aeruginosa* virulence. *Virulence*, 12, 1469-1507.
- Morrison, Jr. AJ., and Wenzel, RP. (1984). Epidemiology of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Reviews of infectious diseases*, 6, S627-S642.
- Mukherjee, S., Moustafa, D., Smith, C. D., Goldberg, J. B., and Bassler, B. L. (2017). The RhlR quorum-sensing receptor controls *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis and biofilm development independently of its canonical homoserine lactone autoinducer. *PLoS pathogens*, 13, e1006504.
- Murray, P., Rosenthal, K., and Pfaller, M. (2013). Francisella and brucella. *Medical Microbiology Philadelphia: Elsevier Saunders*, 310-316.
- Murray, T. S., Egan, M., and Kazmierczak, B. I. (2007). *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonization in cystic fibrosis patients. *Current opinion in pediatrics*, 19, 83-88.
- Mutlu, R., and Eren Topkaya, A. (2017). *The Effect of Curcumin to the Several Virulence Factors of Pseudomonas aeruginosa Isolates Which Obtained From Respiratory Tract Samples of Cystic Fibrosis Patients*. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 47, 106-113.
- Nadal Jimenez, P., Koch, G., Thompson, J. A., Xavier, K. B., Cool, R. H., and Quax, W. J. (2012). The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76, 46-65.
- O'Callaghan, R., Caballero, A., Tang, A., and Bierdeman, M. (2019). *Pseudomonas aeruginosa* keratitis: protease IV and PASP as corneal virulence mediators. *Microorganisms*, 7, 281.
- Ogura, K., Yahiro, K., and Moss, J. (2020). Cell death signaling pathway induced by cholix toxin, a cytotoxin and eEF2 ADP-ribosyltransferase produced by vibrio cholerae. *Toxins*, 13, 12.
- Önal, S. (2005). *Değişik klinik örneklerden izole edilen pseudomonas aeruginosa suşlarında virülans faktörleri ve bu faktörlerin sentezleşmesinde rol oynayan bakteriyel iletişim "Quorum sensing" sistemindeki sinyal moleküllerinin hastalık patogenezindeki rolü*. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta.
- Önem, E. (2013). *Çevreyi algılama (quorum sensing) inhibitörü olarak tasarlanan moleküllerin etkileri üzerine çalışmalar*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Öz, V. (2019). *Balıklardan izole edilen Pseudomonas aeruginosa izolatlarının quorum sensing yönünden değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Papenfort, K., and Bassler, B. L. (2016). Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 14, 576-588.

- Patel, K., Kram, J. J., and Baumgardner, D. J. (2016). Path to resistance: risk factors associated with carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Patient Cent Res Rev*, 3, 236-240.
- Perez, A. L. V., Schmidt-Malan, S. M., Kohner, P. C., Karau, M. J., Greenwood-Quaintance, K. E., and Patel, R. (2016). In vitro activity of ceftolozane/tazobactam against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in the planktonic and biofilm states. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 85, 356-359.
- Pitt, T. L., and Simpson, A. J. (2006). *Pseudomonas* and *Burkholderia* spp. *Principles and practice of clinical bacteriology*, 2, 427-435.
- Poulsen, L. V. (1999). Microbial biofilm in food processing. *LWT-Food Science and Technology*, 32, 321-326.
- Procop, G. W., Church, D. L., Hall, G. S., and Janda, W. M. (2020). *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, Jones & Bartlett Publishers.
- Qader, M. K. (2018). Epidemiological study of *Pseudomonas aeruginosa* using different molecular typing methods. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Rasamiravaka, T., and El Jaziri, M. (2016). Quorum-sensing mechanisms and bacterial response to antibiotics in *P. aeruginosa*. *Current microbiology*, 73, 747-753.
- Remington, J. S., and Schimpff, S. C. (1981). Please don't eat the salads. *Mass Medical Soc.*, 433-435.
- Romero, M., Cazau, M., Giorgieri, S., and Arambarri, A. (1998). Phenanthrene degradation by microorganisms isolated from a contaminated stream. *Environmental Pollution*, 101, 355-359.
- Ruby, E. G. (1996). Lessons from a cooperative, bacterial-animal association: the *Vibrio fischeri*-*Euprymna scolopes* light organ symbiosis. *Annual review of microbiology*, 50, 591-624.
- Rui, Y., Lu, W., Li, S., Cheng, C., Sun, J., and Yang, Q. (2018). Detection of common mobile genetic elements and genotyping of multidrug-resistant Gram-negative bacilli in blood specimens from septicemia patients in southern China. *Infection and Drug Resistance*, 11, 1741.
- Rutherford, S. T., and Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2, a012427.
- Sabaeifard, P., Abdi-Ali, A., Gamazo, C., Irache, J. M., and Soudi, M. R. (2017). Improved effect of amikacin-loaded poly (D, L-lactide-co-glycolide) nanoparticles against planktonic and biofilm cells of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Medical Microbiology*, 66, 137-148.
- Sadovskaya, I., Vinogradov, E., Li, J., Hachani, A., Kowalska, K., and Filloux, A. (2010). High-level antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: the ndvB gene is involved in the production of highly glycerol-phosphorylated β -(1 $\rightarrow$ 3)-glucans, which bind aminoglycosides. *Glycobiology*, 20, 895-904.
- Sakuragi, Y., and Kolter, R. (2007). Quorum-sensing regulation of the biofilm matrix genes (pel) of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of bacteriology*, 189, 5383-5386.
- Salyers, A. A., Whitt, D. D., and Whitt, D. D. (1994). *Bacterial pathogenesis: a molecular approach*, ASM press Washington, DC.

- Salyers, A., and Whitt, D. (2002). *Vibrio cholerae*, the Cause of cholera. *Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach*(2nd ed) ASM Press, Washington DC, 363-380.
- Schaber, J. A., Carty, N. L., McDonald, N. A., Graham, E. D., Cheluvappa, R., Griswold, J. A., and Hamood, A. N. (2004). Analysis of quorum sensing-deficient clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of medical microbiology*, 53, 841-853.
- Scott-Thomas, A. J., Syhre, M., Pattemore, P. K., Epton, M., Laing, R., Pearson, J., and Chambers, S. T. (2010). 2-Aminoacetophenone as a potential breath biomarker for *Pseudomonas aeruginosa* in the cystic fibrosis lung. *BMC pulmonary medicine*, 10, 1-10.
- Sebit, B., Aksu, B., and Karahasan Yagci, A. (2016). Biofilm production and biocidal efficacy in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolates. *Int J Antisept Disinfect Steril*, 1, 7-12.
- Sezgin, F. M. (2012). *Acinetobacter baumannii* izolatlarında biyofilm üretimi ve kolistin duyarlılıklarının biyofilm formasyonunda araştırılması. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Samsun.
- Shannon, K. P., and French, G. L. (2004). Increasing resistance to antimicrobial agents of Gram-negative organisms isolated at a London teaching hospital, 1995–2000. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53, 818-825.
- Singh, B. R., Shueb, M., Sharma, S., Naqvi, A., Gupta, V. K., and Singh, B. N. (2017). Scaffold of selenium nanovectors and honey phytochemicals for inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing and biofilm formation. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 93.
- Şirin, M. C., Neval, A., Yılmaz, N., Derici, Y., Hancı, S., Bayram, A., and Şamlıoğlu, P. (2015). Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibiyotik direnç profillerinin yıllar içindeki değişimi. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6, 279-285.
- Sistemi, UADSr. (2016). *Yıllık Raporu*, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Ankara.
- Speert, D. P., Campbell, M. E., Davidson, A. G. F., and Wong, L. T. (1993). *Pseudomonas aeruginosa* colonization of the gastrointestinal tract in patients with cystic fibrosis. *Journal of Infectious Diseases*, 167, 226-229.
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., and Costerton, J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Reviews in Microbiology*, 56, 187-209.
- Sunder, A. V., Utari, P. D., Ramasamy, S., van Merkerk, R., Quax, W., and Pundle, A. (2017). Penicillin V acylases from gram-negative bacteria degrade N-acylhomoserine lactones and attenuate virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied microbiology and biotechnology*, 101, 2383-2395.
- Tepeli, E. Ç. (2009). *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında biyofilm yapısının ve Quorum Sensing'de rol alan genlerin araştırılması. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pamukkale.
- Türetgen, İ. (2005). *Su sistemlerinde mikrobiyal biyofilm oluşumunun incelenmesi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Uncu, E. (2014). *Yatan hastalardan izole edilen pseudomonas aeruginosa suşlarında antibiyotik direnci, indüklenbilir beta laktamaz, metallo beta laktamaz oranları ve bazı antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkinliğinin araştırılması*. Yayınlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gaziantep.

- Ustaçelebi, Œ. (1999). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, GneŒ kitabevi.
- Uzunbayır-Akel, N., TekintaŒ, Y., Yılmaz, F. F., ztrk, İ., keer, M., Aydemir, S. Œ., illi, F. F., and HoŒgr-Limoncu, M. (2019). Klinik *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının virlans özellikleri ve epidemiyolojik iliŒkisi. *Türk Hijyen ve Deneyisel Biyoloji Dergisi*, 76, 395-404.
- Vahaboğlu, H. ASTAW, Söyletir, G., Dođanay, M. (2008). *Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi kitabı*, Nobel Tıp Kitabevi.
- Vahaboğlu, H., and Akhan, S. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* ve diğer *Pseudomonas* türleri. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, 2, 1608-1608.
- Van Delden, C., and Iglewski, B. H. (1998). Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerging infectious diseases*, 4, 551.
- Van Houdt, R., and Michiels, C. W. (2005). Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation. *Research in microbiology*, 156, 626-633.
- Vidal, D. R., Garrone, P., and Banchereau, J. (1993). Immunosuppressive effects of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A on human B-lymphocytes. *Toxicon*, 31, 27-34.
- Wagner, V. E., and Iglewski, B. H. (2008). *P. aeruginosa* biofilms in CF infection. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 35, 124-134.
- Wang, M., Zhu, P., Jiang, J., Zhu, H., Tan, S., and Li, R. (2020). Signaling molecules of quorum sensing in bacteria. *Rev Biotechnol Biochem*, 1, 002.
- Wang, Y., Bian, Z., and Wang, Y. (2022). Biofilm formation and inhibition mediated by bacterial quorum sensing. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106, 6365-6381.
- Wang, Y., Dai, Y., Zhang, Y., Hu, Y., Yang, B., and Chen, S. (2007). Effects of quorum sensing autoinducer degradation gene on virulence and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Science in China Series C: Life Sciences*, 50, 385-391.
- Waters, C. M., and Goldberg, J. B. (2019). *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: A chronic cheater. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116, 6525-6527.
- Watnick, P. I., and Kolter, R. (1999). Steps in the development of a *Vibrio cholerae* El Tor biofilm. *Molecular microbiology*, 34, 586-595.
- Weinstein, R. A., Gaynes, R., Edwards, J. R., and System, NNIS. (2005). Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clinical infectious diseases*, 41, 848-854.
- Welch, M., Mikkelsen, H., Swatton, J. E., Smith, D., Thomas, G. L., Glansdorp, F. G., and Spring, D. R. (2005). Cell-cell communication in Gram-negative bacteria. *Molecular BioSystems*, 1, 196-202.
- Whiteley, M., Bangera, M. G., Bumgarner, R. E., Parsek, M. R., Teitzel, G. M., Lory, S., and Greenberg, E. (2001). Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nature*, 413, 860-864.
- Wick, M., Hamood, A., and Iglewski, B. (1990). Analysis of the structure- function relationship of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A. *Molecular microbiology*, 4, 527-535.
- Widder, E. A. (2010). Bioluminescence in the ocean: origins of biological, chemical, and ecological diversity. *Science*, 328, 704-708.
- Wiedmann, M., Weilmeier, D., Dineen, S. S., Ralyea, R., and Boor, K. J. (2000). Molecular and phenotypic characterization of *Pseudomonas spp.* isolated from milk. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 2085-2095.

- Wiener-Kronish, J. P., Sakuma, T., Kudoh, I., Pittet, J. F., Frank, D., Dobbs, L., Vasil, M. L., and Matthay, M. A. (1993). Alveolar epithelial injury and pleural empyema in acute *P. aeruginosa* pneumonia in anesthetized rabbits. *Journal of applied physiology*, 75, 1661-1669.
- Wozniak, D. J., Wyckoff, T. J., Starkey, M., Keyser, R., Azadi, P., O'Toole, G. A., and Parsek, M. R. (2003). Alginate is not a significant component of the extracellular polysaccharide matrix of PA14 and PAO1 *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 7907-7912.
- Xin, X., Yuan, Z., Wenyan, S., Yaling, L., and Xuedong, Z. (2016). Biofilm and dental caries. *Dental Caries: Principles and Management*, 27-58.
- Yajima, A. (2014). Recent progress in the chemistry and chemical biology of microbial signaling molecules: quorum-sensing pheromones and microbial hormones. *Tetrahedron Letters*, 55, 2773-2780.
- Yavuz, C. (2018). *Hastane kökenli Pseudomonas aeruginosa suşlarının virülans faktörlerinin quorum sensing yönünden değerlendirilmesi ve epitel hücrelerindeki etkileri*. Yayınlanmamış Doktora Tezi. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Yong, Y. C., and Zhong, J. J. (2013). Impacts of quorum sensing on microbial metabolism and human health. *Future Trends in Biotechnology*, 25-61.
- Yount, T. A., Murtha, A. N., Cecere, A. G., and Miyashiro, T. I. (2022). Quorum Sensing Facilitates Interpopulation Signaling by *Vibrio fischeri* within the Light Organ of *Euprymna scolopes*. *Israel Journal of Chemistry*, e202200061.
- Yu, D., Zhao, L., Xue, T., and Sun, B. (2012). *Staphylococcus aureus* autoinducer-2 quorum sensing decreases biofilm formation in an icaR-dependent manner. *BMC microbiology*, 12, 1-12.
- Zhang, M., Li, S., Zhao, Y., Wang, Y., Zhang, W., Wu, S., Zhang, J., Hu, Z., Ding, M., and Meng, Q. (2021). Stringent starvation protein A and LuxI/LuxR-type quorum sensing system constitute a mutual positive regulation loop in *Pseudoalteromonas*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 534, 885-890.
- Ziemichód, A., and Skotarczak, B. (2017). QS-systems communication of gram-positive bacterial cells. *Acta Biologica*, 51-56.

EKLER

Ek-1. Etik Kurul İzni



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: B.30.2.ODM.0.20.08/177-882-768 05.12.2022

Sayın Doç. Dr. Yeliz Tanrıverdi ÇAYCI

Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz Yoğun bakım hastalarından izole edilen **Pseudomonas aeruginosa** izolatlarının virulans faktörlerinin ve quorum sensing genlerinin belirlenmesi ve baicalin maddesinin biyofilm üzerine etkisinin araştırılması başlıklı OMÜ KAEK 2020/127 Karar nolu Mikrobiyoloji çalışması nitelikli araştırma projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları açısından Klinik Araştırmalar Etik Kurulu yönergesine göre incelenmiş ve etik açıdan bir sakınca olmadığına, çalışmanın süresi 6 ayı geçerse 6 aylık bildirimlerinin yapılmasına, çalışma tamamlandıktan sonra sonucunun tarafımıza en geç üç(3) ay içerisinde bildirilmesine 27.03.2020 tarihli Etik kurulumuzda oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz/rica ederim.

Prof. Dr. Ramis ÇOLAK
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Tel: (0362) 1219192/782 -4370007 Onmesek@gmail.com
Etik Değerlendirme Fakültesi 2 Kat Ankara SAMSUN

ÖZ GEÇMİŞ

İlknur BIYIK, Yeni Samsun Lisesi'ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi Bölümü/Biyoloji Öğretmenliği bölümünden 10.06.2013 tarihinde mezun oldu. Anadolu Üniversitesi/İktisat Fakültesi/Siyaset Bilimi ve Kamu Yönetimi Bölümü/Kamu Yönetimi bölümünden 25.05.2015 tarihinde mezun oldu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji (YL) (Tezli) bölümünden 10.02.2016 tarihinde mezun oldu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Tıbbi Mikrobiyoloji (YL) (Tezli) bölümünden 20.01.2017 tarihinde mezun oldu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi/Tıbbi Mikrobiyoloji doktora programına 29.01.2018 tarihinde girdi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi/Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda 19.09.2019 tarihinden itibaren araştırma görevli olarak görev yapmaktadır. Orta derecede İngilizce bilmektedir. "Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası"'na sahiptir.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-3247-883X

Yayınlar:

1. Yeliz Tanrıverdi Çaycı, İlknur Bıyık, Asuman Birinci. (2015). Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen Nonfermentatif Gram Negatif Bakterilerin Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 45(4):170-174.
2. Bıyık, İ., Çaycı, Y. T., Birinci, A. (2020). Investigation of KPC genes by PCR and evaluation of carbapenem inactivation method in carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Acta medica mediterranea*, 36(4), 2331-2335.
3. Çaycı, Y. T., Korkmaz, F., Bıyık, İ., Bilgin, K., Birinci, A. (2020). Investigation of OqxAB and QEP A the quinolone resistance determinants in carbapenem resistant enterobacteriaceae isolates. *Acta medica mediterranea*, 36(6), 3409-3413.
4. Çaycı, Y. T., Bıyık, İ., Çınar, C., Birinci, A. (2020). Karbapeneme Dirençli Enterobacteriaceae İzolatlarının 2015-2018 Yılları Arasındaki Antibiyotik Direnci. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg*, 50, 134-40.

5. Çaycı, Y. T., Bıyık, İ., Birinci, A. (2020). Comparison of culture, Xpert MTB/RIF and EZN staining method to identify Mycobacterium tuberculosis from pulmonary and extra pulmonary specimens. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 37(4), 105-109.
6. Bilgin, K., Tanrıverdi Çaycı, Y., Bıyık, İ., Gür Vural, D., Gülsüm Torun, E., Birinci, A. (2021). Pulmoner ve ekstrapulmoner örneklerden üretilen *S. maltophilia* izolatlarının biyofilm oluşturma özelliklerinin karşılaştırılması. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 78(2), 147-152.
7. Çaycı, Y. T., Bıyık, İ., Yılmaz, G., Bilgin, K., Birinci, A. (2021). Investigation of in vitro activity of colistin and tygecyclin against *Stenotrophomonas maltophilia* isolates. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 38(4), 529-532.
8. Çaycı, Y. T., Bıyık, İ., Birinci, A. (2021). First Investigation of OqxAB and Plasmid mediated Quinolone Resistance Determinant Qnr Genes in *Stenotrophomonas maltophilia* Isolates. *Mediterranean Journal of Infection Microbes and Antimicrobials*, 10(52), 1-5.
9. Gür Vural, D., Tanrıverdi Çaycı, Y., Bıyık, İ., Bilgin, K., Birinci, A. (2021). Anti nükleer antikorların pozitif saptandığı hastalarda immunoblotting test sonuçlarının değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 78(4), 443-450.
10. Cayci, Y. T., Bıyık, İ., Korkmaz, F., Birinci, A. (2021). Investigation of NDM, VIM, KPC and OXA-48 genes, blue-carba and CIM in carbapenem resistant Enterobacterales isolates. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 15(05), 696-703.
11. Çaycı, Y. T., Bıyık, İ., Birinci, A. (2022). Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance genes in carbapenem resistant Enterobacterales. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 39(2), 429-433.
12. Bıyık, İ., Çaycı, Y. T., Atıgan, E. B., Birinci, A. (2022). Identification of virulence resistance genes in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from blood samples. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 6(1), 64-69.
13. Çaycı, Y. T., Bıyık, İ., Birinci, A. (2022). VIM, NDM, IMP, GES, SPM, GIM, SIM Metallobetalactamases in Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from a Turkish University Hospital. *Journal of Archives in Military Medicine*, (In Press).

14. Tanrıverdi Çaycı, Y., Cirit, O. S., Bıyık, İ., Çınar, C., Gür Vural, D., Bilgin, K., Birinci, A. (2022). Aminoglycoside-modifying Enzymes in Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates. *Mediterranean Journal of Infection, Microbes & Antimicrobials*, 11.
15. Vural, D. G., Torun, E. G., Bıyık, İ., Çaycı, Y. T., Bilgin, K., Birinci, A. (2022). Akut Gastroenteritli Olgularda Rotavirüs ve Adenovirüs Sıklığının Araştırılması. *Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 24(2), 289-294.
16. Vural, D. G., Bıyık, İ., Torun, E. G., Çaycı, Y. T., Bilgin, K., Birinci, A. (2023). *Staphylococcus aureus* İzolatlarının Biyofilm Oluşturma Özelliklerinin Karşılaştırılması. *Sağlık Bilimlerinde Değer*, 13(2), 245-249.

Sonuçlandırılmış Projeler

1. PYO.TIP.1904.16.004 proje numaralı “Karbapenem Dirençli *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) geninin araştırılması”

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. "Poster Bildirisi ikincilik ödülü": 6. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Hibrid Kongresi, Yoğun bakım örneklerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında karabepenem direcinin araştırılması ve klonal ilişkilerinin MALDI-TOF MS (Mass Spectrometry) yöntemi ile belirlenmesi, 2021.
2. "Poster Bildirisi ikincilik ödülü": 23. Klimik kongresi, Yoğun bakım hastalarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının seftazidim-kolistin kombinasyonunun in vitro etkisi ve baicalinin biyofilm oluşumu üzerine etkisinin araştırılması, 2023.