



T.C.

MERSİN ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK ENFEKSİYON HASTALIKLARI BİLİM DALI

HASTANE ENFEKSİYONLARINDA PSEUDOMONAS
AERUGINOSA EPİDEMİYOLOJİSİNİN REP-PZR İLE
ARAŞTIRILMASI

DR. ÖZGÜR CEYLAN
YAN DAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. NECDET KUYUCU

MERSİN - 2014



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK ENFEKSİYON HASTALIKLARI BİLİM DALI

HASTANE ENFEKSİYONLARINDA PSEUDOMONAS
AERUGINOSA EPİDEMİYOLOJİSİNİN REP-PZR İLE
ARAŞTIRILMASI

DR. ÖZGÜR CEYLAN
YAN DAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. NECDET KUYUCU

Bu tez, 'Hastane enfeksiyonu etkeni olan mikroorganizmaların Hızlı moleküler Epidemiyolojik Tanısı' adlı, BAP-TF TTF (GA) 2010-4 GP kodlu proje olarak Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

MERSİN – 2014

TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım hocam Sayın Prof. Dr. Necdet KUYUCU' ya,

Tezimin hazırlanmasında maddi manevi katkıları bulunan, desteğini esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Gönül ASLAN'a, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda görevli araştırma görevlisi Dr. Harun GÜLBUDAK ve Dr. Elif VURAL TAŐDEMİR'e,

Bu süreç içinde yanımda olmasalar da sevgileriyle bana güç veren aileme,

Çocuk sağlığına önem vermiş, eğitimimde, bugünlere gelmemde katkısı bulunan Ankara, İzmir ve Kayseri'deki hocalarıma,

Koruyucu hekimliği birincil görev olarak benimsemiş ve aşılarla milyonlarca çocuğun yaşamasına imkan vererek adlarını tarihe yazdırmış olan tüm bilim insanlarına,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Özgür CEYLAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ	
İÇİNDEKİLER	
ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	6-7
1. GİRİŞ	8-10
2. GENEL BİLGİLER	11-29
2.1 Pseudomonas Cinsi	11-12
2.2 Epidemiyoloji	12-13
2.3 Patogenez	13-17
2.4 Klinik Belirti ve Bulgular	17-29
2.4.1 Yanık ve Yara Yeri Enfeksiyonları	20-21
2.4.2 Kemik ve Eklem Enfeksiyonları	21
2.4.3 Kistik Fibrozis	21-23
2.4.4 Malignite	23-24
2.4.5 İmmun Supresyon	24
2.4.6 Hastane Enfeksiyonları	24-27
2.4.7 Tanı ve Ayırıcı Tanı	27-29
3. GEREÇ YÖNTEM	30-31
3.1 Örneklerin toplanması	30
3.2 Moleküler tiplendirme	30-31
3.3 REP-PZR Diversilab yöntemi	31
3.4 Suşların REP-PZR parmak izi ilişkileri	31
4. BULGULAR	32-42
4.1 Örneklerin Değerlendirilmesi	32-39
4.2 REP-PZR Sonuçları	39-42
5. TARTIŞMA	43-46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
7. KAYNAKLAR	48-51
8. KISALTMALAR DİZİNİ	52
9. ŞEKİLLER DİZİNİ	53
10. TABLOLAR DİZİNİ	54

ÖZET

Pseudomonas aeruginosa toplum kaynaklı enfeksiyonlara nadiren yol açar. Yoğun bakımda tedavi gören hastalarda sepsis, ventilatör ilişkili pnömoni, menenjit, gastroenterit, santral venöz kateter, üriner sistem, cilt ve yumuşak doku, cerrahi yara yeri enfeksiyonu gibi çok çeşitli klinik tablolara yol açabilir.

P. aeruginosa çoğu hastanede endemik düzeyde bir hastane enfeksiyonu ajanı olarak görülür. Bazen epidemik düzeye çıkabilir ve salgınlara yol açabilir.

Özellikle hastane enfeksiyonuna neden olan bakterilerin çoğul antibiyotiklere dirençli olmaları, tedavilerinin zor olması, mortalite ve morbiditeyi arttırmaları nedeniyle *Pseudomonas* ve diğer fırsatçı bakterilerin cins, tür, izolat düzeyinde ayırımının yapılması hastane salgınlarına yol açan bakterilerin hastane içindeki epidemiyolojisinin belirlenmesi ve salgınlarının önlenmesi için son derece önemlidir. Bu çalışmada moleküler yöntemlerden Repetitive Element Palindromik Polimeraz Zincir Reaksiyonu (REP-PZR) kullanılarak hastanemizdeki *Pseudomonas aeruginosa* epidemiyolojisinin belirlenmesi amaçlandı.

Çalışmamızda Diversilab yöntemi ile tiplendirilen 49 *Pseudomonas* izolatında 31 farklı klon bulunmuştur. %95'in üzerinde benzerlik 11 suştan oluşan bir ana klonda (A klonu), 3 tane suş içeren 2 ayrı klonda (B ve C klonları), 2'li suş içeren 4 ayrı klonda gözlenmiş (D,E,F,G klonları), 24 tane ise tekli klon tespit edilmiştir. Ana klona ait suşlar yenidoğan yoğun bakım ünitesi (n=2), çocuk yoğun bakım ünitesi (n=2), çocuk enfeksiyon hastalıkları (n=1), dahiliye yoğun bakım (n=4) ve erişkin hematoloji-onkoloji (n=2) servislerinde izole edildi.

Sonuç olarak bu çalışma ile hastanemizde, 11 benzer *Pseudomonas* suşundan oluşan ana klonunun servisler arasında klonal yayılım gösterdiği ortaya konmuştur. REP-PZR yönteminin epidemiyolojik çalışmalarda ve enfeksiyon kontrolünde kullanılabilecek yararlı bir yöntem olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: *Pseudomonas aeruginosa*, klonal ilişki, REP-PZR, genotiplendirme

İNGİLİZCE ÖZET

Epidemiological Investigation of Nosocomial *Pseudomonas Aeruginosa* Infection with REP-PCR

Pseudomonas aeruginosa rarely cause community acquired infections. *P. aeruginosa* is often responsible for health care associated infections. *P. aeruginosa* can lead to a variety of clinical statements such as sepsis, ventilator associated pneumonia, meningitis, gastroenteritis, central venous catheter, urinary tract, skin and soft tissue, surgical wound infections in patients treated in intensive unit.

P.aeruginosa are seen as an hospital infection agent in endemic level in most of the hospitals. It can sometimes reach to the epidemic level and may cause outbreaks.

It is extremely important to discriminate *Pseudomonas* and the other opportunist bacteria at the level of species, genus and isolates because the bacteria that causes the hospital infections are resistant to multiple antibiotics. They also increase the mortality and the morbidity and the infections caused by them are difficult to treat. That discrimination is also important for the determination of the in-hospital epidemiology of the bacteria which causes hospital outbreaks and also for the prevention of the epidemics.

In this study, it is aimed to determine the epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in our hospital by using the molecular method of Repetitive Elements Palindromic Polymerase Chain Reaction(REP-PCR) .

In our study, 31 different clones have been detected in 49 *Pseudomonas* isolates which were typed by using Diversilab method. Over %95 similarity was monitored in the main clone which contains 11 strains, in 2 different clones each of which contains 3 strains and in 4 different clones each of which contains 2 strains. Moreover, 24 single-strained clones were identified. The strains belong to the main clone have been isolated in neonatal intensive care unit (n = 2), pediatric intensive care unit (n = 2), the service of pediatric infectious diseases (n = 1), the service of medical intensive care (n = 4) and the service of adult hematology-oncology (n = 2) .

In conclusion, major clone which was created by homologous 11 *Pseudomonas* strains showed clonal dissemination in our hospital. REP-PCR can be useful method for molecular epidemiological purposes and aid to infection control measures.

Key Words: *Pseudomonas aeruginosa*, clonal relationship, REP-PCR, genotyping.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Pseudomonas ve benzer cinsler, aerob, hareketli, spor oluşturmeyen toprakta, suda ve bitkilerde yaşayan non-fermantatif gram negatif basillerdir. Bu cinse ait türler doğada yaygın olarak bulunurlar (1).

Isı gibi fiziksel koşullara dayanıklı olması ve nutrisyonel gereksinimini minimuma indirebilme yeteneği *pseudomonas* türlerinin doğada bu kadar yaygın bulunmasına ve fırsatçı patojen olarak karşımıza çıkmasına neden olmaktadır.

Sağlıklı bir bireyde de hastalık oluşturabilmelerine rağmen sıklıkla fırsatçı bir patojen olarak kistik fibrozis, yanık, malignite, immun yetmezlik, immun supresif tedavi alanlar ve malnutrisyonu bulunan hastalarda hastalıklara yol açarlar. Fıratçı enfeksiyonlara en sık yol açan *pseudomonas* türü *Pseudomonas aeruginosa*'dır (1).

Pseudomonas aeruginosa toplum kaynaklı enfeksiyonlara nadiren yol açar. Daha çok sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonlardan sorumludur. Yoğun bakım hastalarında sepsis, ventilatör ilişkili pnömoni, menenjit, gastroenterit, santral venöz kateter, üriner sistem, cilt ve yumuşak doku, cerrahi yara yeri enfeksiyonu gibi çok çeşitli klinik tablolara yol açabilir. Sıklıkla yoğun bakımda solunum sistemi, üriner sistem ve yara yeri enfeksiyonu şeklinde karşımıza çıkar. Bakteriyemi ve septik şok ise primer olarak immun yetmezlikli hastalarda görülür. Amerika Hastalık Kontrol Merkezi (CDC)'nin verilerine göre etken olarak nazokomiyal pnömonilerde ikinci, üriner sistem enfeksiyonlarında üçüncü ve bakteriyemide yedinci sırada yer almaktadır (2).

P. aeruginosa nemli ortamda bulunmayı sever. İnsanda perine, aksilla, kulak gibi nemli ortamlarda rahatlıkla kolonize olur. Nemli ortam aynı zamanda *P. aeruginosa*'nın hastane rezervuarları için önemli bir faktördür. Solunum cihazları, solüsyonlar, ilaçlar, dezenfektanlar, lavabolar, paspaslar rezervuar görevi görürler.

Sağlıklı kişilerde kolonizasyon oranları düşüktür. Hastanede yatış ve geniş spekturumlu antibiyotik kullanımı ile kolonizasyon oranları artış gösterir. Mekanik ventilatöre bağlanan hastaların solunum yollarında, kemoterapi alan hastaların bağırsak sisteminde, yanık hastalarının ciltlerinde *pseudomonas* kolonizasyonuna sık rastlanır. Kolonizasyon için risk faktörleri olarak; hastanede

yatış süresi, antibiyotik kullanımı, cerrahi girişim ve diğer girişimsel işlemler sayılabilir. İnvaziv hastalık için risk faktörleri olarak; ağır nötropeni, diyabet, ağır yanıklar, steroid tedavisi, cerrahi girişimler, invaziv cihaz kullanımı sayılabilir (2).

P. aeruginosa çoğu hastanede endemik düzeyde bir hastane enfeksiyonu ajanı olarak bulunmasına rağmen bazen epidemik düzeye çıkarak salgınlara yol açabilir (3). Bu salgınlar genellikle aynı hastane içerisinde, servislerden servislere yayılım şeklinde olmaktadır (4). Fakat son yıllarda çoklu ilaç direnci bulunan suşlar sadece hastane ve şehirlerarasında değil, aynı zamanda ülkeler arasında yayılarak tüm dünyayı tehdit eder hale gelmiştir (5,6).

Gram negatif bakterilerin hastane ortamında genetik madde aktarımı ve / veya antibiyotiklerin seçici baskısı ile çoğul direnç özelliği kazanması sorun oluşturmaktadır.

Pseudomonas ve diğer fırsatçı bakterilerin cins, tür, izolat düzeyinde ayırımı özellikle hastane enfeksiyonuna neden olan türlerin çoğul antibiyotiklere dirençli olmaları, tedavilerinin zor olması, mortalite ve morbiditeyi arttırmaları, aynı zamanda hastane salgınlarının önlenmesi için alınması gereken tedbirlerin hızlıca uygulamaya koyulması için son derece önemlidir. Ek olarak salgın suşlarının epidemiyolojik olarak ilişkisiz olan diğer suşlarla tür altı düzeyde karşılaştırılması gerekir. Bu amaçla kullanılan 2 farklı sistem vardır:

- a) Fenotipik tiplendirme: fenotipik tiplendirme sistemleri biyokimyasal özelliklere, antibiyotik duyarlılık paternlerine, serolojik reaksiyonlara, faj tiplendirmesine ve protein profiline dayanır.
- b) Genotipik tiplendirme: genotipik tiplendirme sistemleri plazmid profilleme, ribotipleme, jel elektroforezi, DNA amplifikasyonu, Repetitive Element Palindromik Polimeraz Zincir Reaksiyonu (REP-PZR) gibi yöntemleri içerir.

Genel olarak uygulanan antimikrobiyal duyarlılık testleri hem uygun tedaviyi belirler hem de bakteri ırklarını tanımlamada yardımcı olur. Ancak yüksek dirençlilik veya duyarlılık özelliği olan patojenlerde bu tip testlerin hassasiyeti sınırlıdır. Faj tiplemesinde olduğu gibi oldukça spesifik fenotipik belirlemeler geliştirilmesine karşın, bu testlerde kullanılan besi yeri bileşenleri her zaman ticari olarak elde edilemeyebilir. Biyokimyasal testler için harcanan sürenin uzun olması, sonuçların zaman zaman yanıltıcı olması ve diğer

dezavantajlar fenotipe dayalı testlerin standart hale getirilmesinde engel oluşturmuştur.

Moleküler yöntemler ise hastane enfeksiyonuna sebep olan etkeni kısa sürede gösterir, tanımlar, belirli antibiyotiklere karşı direnç profillerini belirleyebilir ve patogeneze sorumlu genlerin araştırılmasında kullanılabilir.

Moleküler tiplendirmenin enfeksiyon hastalıklarında en fazla gerekli olduğu alan, hastane enfeksiyonlarının irdelenmesidir. Moleküler tiplendirme yöntemleriyle salgınların kaynağı ve yayılma yolları araştırılabilir. Salgının özellikleri belirlenerek, kimin nerede, ne zaman, ne ile ve nasıl etkilendiği, bulaş yolları, potansiyel kaynak ve vektörlerin tanımı yapılabilir. Endojen ve ekzojen kaynaklı enfeksiyonlar ayırt edilebilir. Moleküler tiplendirme yöntemleriyle patojen bakterilerin hastane ortamında yaygınlık dereceleri ve kalış süreleri araştırılabilir.

Bu çalışmadaki amacımız, hastanemizdeki *P. aeruginosa* epidemiyolojisinin REP-PZR ile belirlenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Pseudomonas* Cinsi

DNA-rRNA hibridizasyonu, DNA-DNA hibridizasyonu ve 16S rRNA sekanslama tekniklerinin kullanımıyla orijinal sınıflandırmada *Pseudomonas* cinsi bakteriler temelde beş rRNA grubuna ayrılmışlardır. Her rRNA grubu içinde de DNA homolojilerine göre alt gruplar oluşturulmuştur (Tablo 1).

Tablo 1. İnsanlarda hastalığa neden olan 5 *Pseudomonas* homoloji grubunda yeni taksonomik değişiklikler ve yeniden sınıflandırma

Homoloji grubu	Önceki belirlenen	Mevcut belirlenen
I		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		<i>Pseudomonas fluorescens</i>
		<i>Pseudomonas putida</i>
	<i>Chryseomonas luteola</i>	<i>Pseudomonas luteola</i>
	<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>
II	<i>Pseudomonas cepacia</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
	<i>Pseudomonas mallei</i>	<i>Burkholderia mallei</i>
III	<i>Pseudomonas acidovarens</i>	<i>Delftia acidovarens</i>
IV	<i>Pseudomonas vesicularis</i>	<i>Brevundimonas vesicularis</i>
V	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>

Pseudomonadaceae familyasında yer alan *pseudomonas* cinsi bakteriler toprakta, suda, bitkilerde ve hayvanlarda yaşayan aerob, hareketli, spor oluşturmeyen, non-fermantatif, gram negatif basillerdir. Genellikle zorunlu aerob olmalarına karşın, nitrat ve arjinin varlığında anaerob bakteriler gibi çoğalabilirler. Fosfoenol piruvat-hekzofosfotransferaz sistemine sahip olmadıklarından, karbonhidratları Entner-Doudoroff yoluyla katabolize ederler.

Çok çeşitli karbon kaynaklarını (basit ve kompleks karbonhidratlar, alkol, aminoasit) kullanabildiklerinden, minimum miktarda organik bileşiğe sahip herhangi bir yerde yaşayıp çoğalabilirler (7).

Pseudomonas cinsinin klinik olarak en önemli türü *P. aeruginosa*'dır. Boyutu 0,5-0,8 µm'den 1,5-3 µm'ye kadar değişen, oksidaz pozitif gram negatif çomaktır. Çoğu suş tek veya çift kamçı, pili, fimbriyaya sahiptir ve hareketlidir. *P. aeruginosa* hazır laboratuvar kültürlerinde kolayca ürer. Optimal üreme 37 derecede görülür. *Pseudomonas* izolatları (*Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas oryzihabitans* hariç) oksidaz pozitif ve katalaz pozitifdir. MacConkey ağarda laktoz fermente etmeyen olarak tanımlanır. Karbonhidratları fermente etmemesine rağmen glukoz ve ksiloz gibi monosakkaritleri okside eder. Bazı türler kanlı ağarda beta hemoliz yapabilir. *P. aeruginosa* türü mikroorganizmaların %90'ı mavi-yeşil fenazin pigmenti, sarı-yeşil florasan pigmenti üretirler. Ayrıca nadirde olsa koyu kırmızı veya siyah pigment de üretebilirler. Bu pigmentler kültür vasatının içine doğru yayılır, kolonilerin çevresinde kültürü renklendirirler. *P. aeruginosa* suşları epidemiyolojik çalışmalar için serolojik tiplendirme, faj tiplendirme, ribotiplendirme, pyocin tiplendirme ile birbirlerinden ayırt edilebilirler (7).

2.2. Epidemiyoloji

P. aeruginosa çiğ sebze ve meyvelerin yüzeyinde, bitki örtüsünde, su ve toprakta bulunabilen eşsiz bir çevresel mikroorganizmadır. İlk defa Gessard tarafından yeşil cerahat içerisinde tespit edildiğinde patojen olarak tanımlanmıştır. Minimal beslenme gereksinimi ve çok farklı fiziksel koşullarda çoğalabilmesi organizmanın farklı ekolojik ortamlara uyum sağlama yeteneğini arttırmıştır. Sağlıklı insanların normal florasında nadiren bulunur. Gastrointestinal sistem insanlardaki kolonizasyonun en sık yeridir. Sağlıklı insanlarda %5-30 gibi yüksek kolonizasyon oranlarına ulaşabilse de nadiren baskın mikroorganizma olur (7). Yemek yendikten sonra en sık geçici kolonizasyonun olduğu bölge kalın bağırsaktır. Uzun süredir hastane yatan, entübasyon tüpü veya trakeostomi gibi yabancı cisim ile takip edilen, mukosilyer klirensi bozuk olan, kemoterapi veya geniş spektrumlu antibiyotik almış olan hastaların nemli vücut bölgeleri (solunum yolları, boğaz, nazal

mukoza, aksilla ve perine) *P. aeruginosa* ile kolonize olabilir. Genel olarak fırsatçı bir patojendir, sağlıklı insanlarda enfeksiyona nadiren neden olur. Cilt ve mukozada kolonize olma yeteneği bulunmasına rağmen nadiren devamlı kolonizasyona yol açar. Konak dokusuna zarar verecek spesifik toksik maddeler üretmez. Normal cilt ve mukozaya invazyon yeteneği yoktur. *P. aeruginosa* normal konak savunma sisteminin bozuk olduğu; kistik fibrozis (mukosilyer klirens bozukluğu), kemoterapiye bağlı nötropeni, yanığa bağlı bozulmuş cilt bariyeri gibi durumlarda patojen hale gelir (1, 7).

P.aeruginosa hastane ortamına sıklıkla hastaların veya hastane personelinin ciltleri, solunum yolları, giysileri ve ayakkabıları ile girer ve çoğu nemli bölge *P. aeruginosa* ile kolonize olur. Hastanede distile sularda, göz damlalarında, antiseptik solüsyonlarda, mutfakta, yer paspaslarında, çamaşırhanede, duş başlıklarında, diyaliz ekipmanlarında, nebülizatörlerde ve diğer solunum cihazlarında tespit edilebilirler. *P. aeruginosa*'nın hastadan hastaya veya hastane personelinden hastaya geçişi varsayılabilir fakat bu nadiren gerçekleşir. Hastanede yatan hastalarda kolonizasyon ihtimali yatış süresinin uzamasıyla artar.

Kolonizasyon sonrası enfeksiyonun geliştiği hastane dışı *P. aeruginosa* kaynakları olarak yüzme havuzları, sıcak küvet, su kaydırağı, kontak lens solüsyonları, kozmetikler, yasadışı enjekte edilebilir ilaçlar, ayakkabı iç tabanı sayılabilir. Çiğ sebze ve meyvelerin yüzeyinde yaygın olarak bulunur. Bu yiyeceklerin tüketilmesi ağır immun yetmezliği olan çocuklarda ilk önce kolonizasyon, ardından invaziv enfeksiyon ile sonuçlanabilir.

2.3. Patogenez

Pseudomonas enfeksiyonlarının patogenezinde birçok faktör rol oynar. Nadir görülmeyen bir insan saprofiti olmasına rağmen genellikle fırsatçı olarak hastalıklara neden olur. *P. aeruginosa* immun sistemi sağlam kişilerde enfeksiyonların önemli bir nedenidir. *P. aeruginosa*'nın farklı çevre koşullarına adaptasyon yeteneği, asgari beslenme gereksinimi ve antibiyotiklere direnç geliştirme eğilimi immun sistemi sağlam kişilerde yaşamasına imkân verir. Endotoksin, enterotoksin, pili, flajella ve hücre dışı toksinler gibi birçok virulans

faktörüne sahiptir. Endotoksini diğer gram negatif bakterilerin ki kadar güçlü değildir. Fakat endotoksin bakteriyi komplemanın etkilerinden korur ayrıca sitokin yolağını uyararak sepsis ve septik şoka neden olur. Ayrıca endotoksin diyare sendromuna yol açabilir. *Pseudomonas* enterotoksini de tarif edilmiştir fakat insanlarda oluşturduğu ishal tablosu net değildir.

Lesitinaz, kollejenaz, lipaz, elastaz, kazeinaz, jelatinaz, fibrinolizin, hemolizin, alkalin proteaz, fosfolipaz C, ekzoenzim S, ekzoenzim U, ekzotoksin A *P. aeruginosa*'nın ekstraselüler salgıladığı enzimlerdir. Deri veya akciğerin lokalize nekrozundan, korneal ülserasyondan sorumlu enzimler proteolitik enzimler olabilir. Ekzotoksin A difteri toksinine benzer mekanizma ile ökaryot hücre protein sentezini inhibe eder. Spesifik ekzotoksin A taşımayan *P. aeruginosa* suşları fare ve sıçan akciğerlerinde enfeksiyon oluşturmada düşük virulansa sahiptirler. Ayrıca ekzotoksin A konak fagositik hücre fonksiyonlarını bozar. Ekzotoksin A'ya karşı geliştirilen aktif veya pasif immünizasyon, deneysel olarak, ekzotoksin üreten suşlarla gelişen enfeksiyonlara karşı korur. Fosfolipaz C ökaryot hücre membranında bol miktarda bulunan, prokaryot hücre membranında bulunmayan fosfolipidleri parçalar. Isıya dayanıklı bir parçasıyla veya ısıya dayanıklı fosfolipaz C ile hemoliz meydana getirebilir. Ekzoenzim S diğer bir virülans faktörüdür.

Yanık hastalarında, yanık bölgesinde üreyen *P. aeruginosa* ekzoenzim S üretirken sağlam deride bu enzimi üretmez. Sepsis gelişen yanık hastalarının kanında bakteri tespit edilmeden önce bu enzim tespit edilebilir. Ekzoenzim S üretemeyen *P. aeruginosa* suşları daha az invaziv enfeksiyon yeteneğine sahiptir.

Çeşitli proteazlar kompleman ve koagülasyon proteinlerini parçalayabilirler. *P. aeruginosa*'nın lektini (surfaktan) suda çözünür hale getirebilme ve destrükte edebilme yeteneği, akciğer enfeksiyonlarında meydana getirdiği atelektazilerin nedeni olabilir. Kapsül yapısında yer aldığı düşünülen bir lokosidin tanımlanmıştır. Saf haldeki çamur tabaka ve oluşturduğu pigmentler toksik değildir.

P.aeruginosa'da fimbria ve pili gibi yüzey yapıları mukozal epitelyal hücre yüzeylerine tutunmakta görevlidir. Hayvan modellerinde flajella taşımayan suşların daha az dissemine oldukları, daha az bakteriyemi ve pnömoniye neden oldukları görülmüştür. Bazı *Enterobacteriaceae* üyelerinin tersine *P. aeruginosa* normal solunum yolu musinine bağlanmayı daha fazla tercih eder. Fibronektin epitelyal hücreleri bakteriyel bağlanmadan korur. Ancak kistik fibrozisli hastaların solunum yollarında bulunan yüksek proteaz seviyesi ayrıca entubasyon ve alt solunum yollarının viral enfeksiyonu (özellikle influenza) sonrası oluşan hücresel hasar fibronektinin bu yeteneğinde azalma ile sonuçlanır. Glikokaliks (ekstraselüler çamur tabakası) konağın fagositik fonksiyonlarından, antikor ve antibiyotiklerin etkilerinden mikroorganizmayı koruyarak, *P. aeruginosa*'ya mikrokoloniler oluşturma fırsatı verir.

P. aeruginosa'nın patojenitesindeki diğer önemli noktalardan bir tanesi de fagositoya olan direncidir. Fick ve Reynold kistik fibrozisli hastalarda IgG molekülündeki Fc kısmının değişmesine bağlı IgG'nin opsonik aktivitesinin azaldığını belirtmişlerdir. Bu değişiklik özellikle akciğerlerde daha belirgindir. Çünkü bakteriyel proteazlar akciğerlerde daha yoğunlardır ve IgG'yi parçalama ve dahası opsonik fonksiyonlarını bozma yetenekleri vardır. Kistik fibrozis hastalarının akciğerlerinde *P. aeruginosa*'nın persistan bulunmasının nedeni balgamlarında bulunan bir ya da iki faktöre bağlı olabilir. Bu faktörler *P. aeruginosa*'ya karşı oluşmuş taze insan serumuna etki ederler. Örnek olarak IgG antikorlarının insan serumundaki bakterisidal IgM antikorlarını bloke ettiği gösterilmiştir.

Kistik fibrozis hastalarındaki IgG subgrup konsantrasyonları yaşa göre sağlıklı çocuk ve adölesan değerleri ile karşılaştırılmıştır. Presler ve arkadaşları kistik fibrozis hastalarında 4 subgruptan en az bir tanesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca artmış IgG2 değeri ile azalmış zorlu ekspiratuvar volum (FEV) arasında önemli bir ilişki saptamışlardır (8). Moss ve arkadaşları ise Tip spesifik lipopolisakkaritlere yani opsonik immünodeterminantlara karşı oluşan IgG seviyesinde önemli miktarda artış ve IgG3 şifti gözlemişlerdir. Kistik fibrozisli hastalarda opsonik aktivite azalmıştır fakat kompleman bağımlı nötrofil fagositozu korunmuştur. IgG4

konstrasyonu ile opsonik aktivite ters orantılıdır. Pulmoner makrofajlar *P. aeruginosa*'nın pulmoner klirensinden sorumludur. Literatür ışığında Moss, opsonik immunodeterminantlara karşı oluşmuş yüksek IgG4 seviyesinin makrofaj fonksiyonlarını ve pulmoner *P. aeruginosa* klirensini bozduğunu iddia etmiştir (9).

P. aeruginosa iki elastolitik enzim (LasA ve LasB) üretir. Enfeksiyon esnasında bu enzimler virülans faktörleridir. İki enzim muhtemelen akciğer dokusuna (akciğer proteinlerinin %30'u elastindir) direkt hasar verir. *P.aeruginosa*'nın akciğerden immun klirensini etkilerler. Araştırmacılar C3b reseptörlerinin proteolitik enzimler tarafından bozulduğunu göstermişlerdir. Bu bozulma, *P. aeruginosa* klirensindeki başarısızlığın nedenlerinden bir tanesi olarak öne sürülmüştür. Çünkü birçok hücre tipi; makrofaj, monosit, B lenfosit, bazı T lenfositler C3b reseptörleri taşır. Proteolitik aktivite bu hücrelerin yüzeyindeki C3b reseptörlerini yok eder. Sonuç olarak monosit ve makrofajların fagositik aktiviteleri bozulur.

Kistik fibrozis hastalarının akciğerlerinden izole edilen *P. aeruginosa*'nın mukoid suşları yüksek miktarda aljinat üretirler. Bu polisakkarit polimer, *P. aeruginosa* suşlarına besi yerinde mukoid görünüm aynı zamanda akciğerde antifagositik aktivite sağlar. Ek olarak *P. aeruginosa*'ya bağlı kronik akciğer enfeksiyonunda ciddi bir immun cevap oluşmasını uyararak akciğer hasarına katkıda bulunur. Doğal visköz yapısı nedeniyle kistik fibrozisli çocuk hastaların akciğerlerinde kalın bir bronşiyal sekresyon oluşmasına katkıda bulunur. Bu sekresyon küçük hava yollarını tıkar, mukosilier klirensi ve fagositik hücrelerin hareketini bozar. Aljinat üretimi regüle edilebilir ve indüklenebilir. Laboratuarda seri kültürlerde mukoid suşlar mukoid özelliklerini kaybederler. Fare modelinde non mukoid suşlar mukoid fenotipi dönüşebilirler.

P. aeruginosa'nın virulansında lipopolisakkaritlerin rolü de araştırılmıştır. Yanık oluşturulmuş fare modellerinde lipopolisakkarit bütünlüğünün direkt virulansla ilişkili olduğu gözlenmiştir. Lipopolisakkarit O zincirindeki eksiklik önemli oranda virulansı azaltır.

2.4. Klinik Belirti ve Bulgular

P. aeruginosa sağlıklı, immun yetmezliği olmayan çocuklarda hastalık yapabilir. Genellikle daha önce sağlıklı olduğu bilinen bir çocukta hastalık meydana geldiğinde, organizma su, toprak veya bitki ile kontamine olmuş yarıdan vücuda giriş yapar. Kontaminasyonu, yeşil veya mavi renkte akıntılı apse formasyonuna ilerleyen lokal bir selülit takip eder. İster direkt inokülasyonla, ister sepsise sekonder oluşmuş olsun, cilt lezyonları ilk önce pembe bir makül şeklinde başlar. Daha sonra bu makül küçük bir kutanöz hemorajik nodüle dönüşür. Daha sonra bu nodül, ektima gangrenozum olarak bilinen ortası nekrotik, eskar dokusu bulunan lezyona dönüşür. Cilt lezyonları dışında sağlıklı çocuklarda sepsis, endokardit, mastit, menenjit, korneal enfeksiyon, otitis eksterna, dakriyosistit, mastoidit, pnömoni, diyare, nekrotizan fasiyit, peritonit ve idrar yolu enfeksiyonu gibi lokalize ve sistemik enfeksiyonlara neden olabilir. *Pseudomonas* osteokondriti veya osteomyeliti delici yaralanma sonrası özellikle ayakta gelişir. Sağlıklı çocuklarda sistemik *P. aeruginosa* enfeksiyonları ölümcül olabilir, %55 gibi yüksek mortalite oranları rapor edilmiştir. Çin'de yapılan bir çalışmada, özellikle daha önce sağlıklı olduğu belirtilen ve sepsis bulgularıyla başvuran hastalarda, başvuru esnasında çok ağır hastalık bulguları, nöbet, ciddi gastrointestinal hastalık, hipotansiyon, lökopeni var ise *P. aeruginosa* bakteriyemisinden şüphe edilmesi gerektiği belirtilmiştir (10).

Ortak yüzme havuzu, aile içi küvet, jākuzi ve su kaydıraklarının kullanımından sonra sağlıklı çocuklarda *P.aeruginosa*'ya bağlı dermatit (follikülit), plantar nodül, otitis eksterna, mastit ve üriner sistem enfeksiyon salgınları bildirilmiştir (11,12). Bu gibi yerlerle temastan ortalama 48 saat sonra (saatler-5 gün) kaşıntılı veya ağrılı cilt lezyonları gelişir. Cilt lezyonları eritematöz, maküler veya püstüler olabilir. Bazı vakalarda çok hassas nodüller görülebilir. Lezyonlar birkaç adet dağınık lezyondan trunkal tutulumu kadar gidebilir. Bazı çocuklarda görülen halsizlik, ateş, otalji, kusma, boğaz ağrısı, konjonktivit, rinit, piyüri, abdominal kramp dermal lezyonlarla ilişkili olabilir.

P. aeruginosa'nın birçok serotipi bu salgınlarla ilişkilidir. Jakuzi cildin hiperhidrasyonuna ve deskuamasyonuna neden olur. Jakuzilerde su ısısı çoğu

zaman 37,8 derecenin üzerindedir ve genellikle su filtre edilmez. Yukarıdaki sebepler *P. aeruginosa*'nın çoğalması ve teması için önemli faktörlerdir.

P. aeruginosa ile enfekte yüzme havuzlarında düzenli yüzen kişilerde *P. aeruginosa*'ya bağlı akut otitis eksterna bildirilmiştir (13). Bu organizmaya bağlı gelişen malign otitis eksterna kliniğinde yüksek ateş, dış kulak yapılarında nekroz, 7. sinir paralizi, mastoidit, temporal kemik osteomyeliti vardır. Bu enfeksiyonun ilerlemesiyle nadiren menenjit gelişir. Malign eksternal otit genellikle malnütrisyon, lökopeni (nötrofil disfonksiyonu), malignite veya diyabet ile ilişkilidir. Bu durumun etkin tedavisi agresif cerrahi debridman ve uygun sistemik antibiyotiktir.

P.aeruginosa kronik süpüratif otitis media (kolestatomlu veya kolestatomsuz), akut veya kronik mastoiditte sık görülen bir ajan olarak karşımıza çıkar. Kronik süpüratif otitis media iyi tedavi edilmemiş akut otitis medianın komplikasyonudur ve persistan otoreye eşlik eden perfore timpanik membranla kendini gösterir. Yetersiz tedavi edilmiş otitis mediada, cerrahi olarak perfore edilerek takılan timpanostomi tüplü hastalarda da gelişebilir. Sağlam timpanik membranı olan çocuklarda görülen akut otitis media etkenleri ile timpanostomili çocuklarda görülen etkenler farklıdır. Timpanostomi tüpü olan akut otitis medialis çocukların %12'sinde *P. aeruginosa* tespit edilmiştir. Timpanostomi tüpü *P. aeruginosa* ile kolonize olduğunda, organizmanın biyofilm oluşturması nedeniyle eradikasyon komplike hale gelebilir. Biyofilm sistemik ve topikal antibiyoterapinin etkinliğini azaltır. Ayaktan tedavi çoğu zaman başarısız olur. Timpanostomi tüpünden akıntısı olan akut otitis medialis çocuklarda deksametazonla birlikte veya deksametazonsuz başlanan topikal siprofloksasilin tedavisinin oral başlanan amoksisilin-klavulanik asit tedavisinden daha efektif ve üstün olduğu gösterilmiştir (14).

Orta kulak sıvısının aspirasyonu ile izole edilen bakterilere yönelik verilen sistemik antibiyotik tedavi, kronik süpüratif otitis mediada kür sağlamak için gerekli olabilir. Bu tedavi ilerde gerekli olabilecek timpanomastoid cerrahi ihtiyacını önleyebilir.

Ticari olarak satılan, Piercing olarak bilinen kulak takılarının kulağa takıldıktan sonra *P. aeruginosa*'ya bağlı gelişen kulak kartilaj enfeksiyonları bildirilmiştir. Tek kullanımlık olan bu takıların tekrar kullanımları enfeksiyon riskini artırmaktadır.

Göz enfeksiyonları genellikle *P. aeruginosa*'nın trávma veya cerrahi operasyon esnasında inoküle edilmesiyle gelişir. Katarakt ameliyatı sonrası gelişen salgınlar bildirilmiştir (15). Bazen de topikal ajanlarla oluşabilir. Nadiren hematojen yolla gerçekleşir. Kontamine kontak lens solúsyonlarının kullanımı, kontak lens bakımı için musluk suyu kullanılması, gözler korunmadan endotrakeyal aspirasyon yapılması da göz enfeksiyonlarına neden olabilir. Korneada úlserasyon ve daha sonra endoftalmit gelişebilir. Uygun tedavi hızlı bir şekilde başlanmaz ise görme kaybı gelişebilir.

P. aeruginosa yenidoğan döneminde ciddi enfeksiyonlara yol açabilir. Yaşamın en erken saatlerinde sepsis rapor edilmiştir ve mortalite ve morbiditesi çok yüksektir. İntraamniyotik enfeksiyon, neonatal sepsis ve ölümlle sonuçlanan intrauterin kazanılan enfeksiyonlar bildirilmiştir. Klinik bulgular, yenidoğanda görülen diğer gram negatif bakteriyel enfeksiyonlarla benzerdir. Hipotansiyon, solunum sıkıntısı, cilt lezyonları ana bulgulardır. Mortalite oranları %80 gibi yüksek değerlere ulaşabilir. Geç neonatal *P. aeruginosa* enfeksiyonları çoğunlukla nasokomiyal (bakteriyemi, úriner sistem enfeksiyonları, pnömoni) enfeksiyonlardır ve hastanede yatan hastalarda yabancı cisim (úriner veya vaskúler kateter uygulamaları, endotrakeyal túb) ile ilişkilidir. Doęum esnasında gevşetme amacıyla kullanılan sıcak kúvetler yenidoğanı *pseudomonas* için riskli gruba sokabilir.

Implante edilebilir cihazların giderek artan kullanımı sağlık bakımı ile ilişkili yeni *pseudomonas* enfeksiyonlarına zemin hazırlamıştır. Spastiteyi çözmek için kullanılan intratekal baklofen pompaları *P. aeruginosa*'nın neden olduğu menenjit ve yara yeri enfeksiyonları ile ilişkilidir. Kohlear implantı bulunan hastalarda geç önemde *P. aeruginosa* enfeksiyonları bildirilmiştir. Bu tür cihazlarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde cihazın çıkartılması enfeksiyonun başarılı bir şekilde tedavi edilebilmesi için şarttır.

Diğer pseudomonadlar (*B. Pseudomallei* dışında) sağlıklı kişilerde nadiren enfeksiyonlara yol açarlar. Raporlar genellikle sağlıklı çocuklar içerisinde yoğun bakımda yatanlarda görülür. *B. cepacia*'ya bağlı pnömoni, keratit, apse, *Shewenalla putrefaciens*' e bağlı otitis media, *P. flourescens*'e bağlı apse, *P. stutzeri*'ye bağlı otitis media, osteomyelit, pnömoni, *Sphingomonas paucimobilis*'e bağlı post travmatik bacak ülserleri, beyin apsesi, *S. matophilia*'ya bağlı selülit, pnömoni, sepsis, endokardit, peritonit, menenjit gelişebilir.

2.4.1 Yanık ve Yara Yeri Enfeksiyonları

Yanık ve yara yüzeyleri sıklıkla pseudomonadlar ve diğer gram negatif basillerle kolonize olurlar. Kolonizasyon mutlaka enfeksiyon olacağı anlamına gelmez. Fakat kolonizasyon invaziv enfeksiyon oluşumu için ön aşamadır. Yanık hastalarında *P. aeruginosa*'ya bağlı sepsis ana problemdir ve mortalitesi yüksektir. Sistemik tutulum, *P. aeruginosa*'nın cansız dokuda çoğalması ile ilişkili olabilir. Ayrıca uzun süredir takılı olan intravasküler veya üriner kateterler de invaziv enfeksiyona neden olabilirler. Antibiyotikler normal florayı baskılayarak çok daha dirençli *P. aeruginosa* suşlarının seçilmesine ve gelişmesine yol açar. Ek olarak yanık bölgesine uygulanan hidroterapide yanık alanlarının ve diğer alanların kolonizasyonuna yol açar. Sonuç olarak hastane ortamında dirençli *P. aeruginosa* suşlarıyla kolonize olan hastalarda gelişen hastalıklarda görülen mortalite oranı duyarlı suşlarla gelişenlere göre daha yüksektir (16).

Hayvan çalışmalarıyla, ısı yaralanmasının gastrointestinal sistemde kolonize olmuş endojen veya ekzojen flora elemanlarının translokasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Isı hasarına maruz kalan bireylerde gastrointestinal sistem florası sepsis için potansiyel kaynaktır (17).

Yanık hastalarında kemik iliği baskılanır, aynı zamanda nötrofil fonksiyonları (kemotaksi ve hücre içi öldürme) bozulur. Nötrofillerin *pseudomonasları* öldürmesi bozulmuştur. Yanık hasarı antijenlere anormal yanıt, graftın geç rejeksiyonu, anormal vasküler yanıt, bozulmuş geç hipersensivite yanıtı, artmış antimikrobiyal farmokokinetik ile ilişkilidir. Yüksek

bakteri konsantrasyonu ile gelişen kolonizasyon yara yerinin iyileşmesini engeller. *P. aeruginosa* yara yerinin iyileşmesini sağlayan birçok mekanizmayı inhibe eden maddeler yapar ve salgılar. Yara yerinin iyileşmesinde etkin olan, kontraksiyonu sağlayan fibrini parçalayan ekzojen plasminojen aktivatör salgılar ve kontraksiyonu durdurur. Ekzotoksin A yara iyileşmesini geciktiren potent bir protein sentez inhibitörüdür.

2.4.2 Kemik ve Eklem Enfeksiyonları

Delici yaralanma sonrası ayakta gelişen osteomyelitlerin %90'dan fazlasında etken *P. aeruginosa*'dır. En sık etkilenen kemikler kalkaneus ve metatarsal kemiklerdir. Teşhis koymadan önce semptomların süresi 2 ile 40 gün arasında (ortalama 9 gün) değişir. Ağrı ve şişlik en sık semptomlardır. Akıntı ve ateş nadiren bildirilir. Çoğu hastada lokositoz ve yüksek sedimentasyon değeri vardır. Tedavinin ve değerlendirmenin herhangi bir evresinde osteomyelitin radyolojik bulgularına genellikle rastlanır. Kemik sintigrafisi her zaman anormaldir ve sıklıkla direkt grafilerden önce bulgu verir. Ayakkabı iç tabanlığı çoğu zaman *P. aeruginosa*'nın kaynağıdır. Çocuk yalınayak olsa da veya ayakkabı dışında başka bir giyecek giyse de eğer delici bir yaralanma ile enfeksiyon meydana geldi ise etken çoğunlukla *P. aeruginosa*'dır.

Diğer kemik ve eklemlerin *P. aeruginosa* enfeksiyonları çocuklarda nadirdir. İV ilaç bağımlılarında ayak dışı eklem ve kemiklerde *P. aeruginosa*'ya bağlı enfeksiyonlar görülebilir. Başka bölgelerin kemik ve eklemlerinde enfeksiyona yol açtıklarında yayılımları çoğu zaman hematojen yolla ve kaynak pelvik veya üriner sistem enfeksiyonlarıdır. *S. aureus* nedeniyle oluşan kemik ve eklem enfeksiyonlarına göre kliniği daha sessizdir. Penetran travma, cerrahi, dekübit ülser ve yumuşak doku enfeksiyonu sonrası komşuluk yoluyla kemiklerde enfeksiyona yol açabilir.

2.4.3 Kistik Fibrozis

Kistik fibrozis çocuklarda en sık ölüme yol açan kalıtsal hastalıktır (1,7). Kistik fibrozis transmembran regülör geninde (CFTR) oluşan mutasyon sonucu, ekzokrin bezler etkilenir, su ve tuz transportunda bozukluk meydana

gelir. Hastalığın gidişatı ve prognozu oportunistik bakterilerin meydana getirdiği hava yolu hastalığı tarafından belirlenir. Ölüm genellikle kronik obstruktif pulmoner hastalık sonucu oluşur. *P. aeruginosa* çoğu kistik fibrozis hastasından izole edilebilir. Pankreas enzim desteğine ihtiyacı olan çocuklarda daha fazla oranda *P. aeruginosa* kolonizasyonu görülür. Kistik fibrozis hastası bir çocuğun balgamında *P. aeruginosa* üremesi, bu mikroorganizmaya bağlı enfeksiyon veya destrüktif pnömoni oluştuğunu tam olarak yansıtmaz. Mukosilier klirens kistik fibrozis hastalarında bozulmuştur ve bunun sonucu olarak bakteriler gibi inhale partiküller bronkopulmoner epitel yüzeyinden temizlenemez. Akciğerlerdeki CFTR gen bozukluğuna bağlı gelişen asidik ortam *P. aeruginosa*'nın epitel hücre yüzeyine bağlanmasını artırır. Sürekli geniş spektrumlu antibiyotik kullanmak, sağlık ile ilişkili kurumlarda *P. aeruginosa* ile temas etmek, kistik fibrozis hasta kamplarına katılmak, buhar çadırı veya inhalasyon tedavileri kullanmak kolonizasyon riskini artırır. Solunum yollarının mukoid suşlarla kolonizasyonu hastanın yaşı, pulmoner fonksiyonlar, klinik skor, immunglobulin düzeyleri, akciğer grafisinde ciddi değişiklikler ile koreledir. Bir kez *P. aeruginosa* solunum yolunda görülürse, antibiyotiklerle nadiren eradike edilebilir.

Kistik fibrozis hastaları hemen hemen her zaman olağan dışı bir mukoid suşa ev sahipliği yaparlar. Ve bu suşlar çok yüksek miktarda kapsüler çamur tabakası üretirler. Kistik fibrozis hastalarının %70-80'i bu mikroorganizma ile kronik kolonizedir (7). Kistik fibrozis olmayan hastalarda ise bu oran % 0,5-1,7 arasında değişir. Kistik fibrozis hastalarındaki kronik akciğer enfeksiyonuna *P. aeruginosa* genetik adaptasyon gösterir. Kronik, persistan enfeksiyon akut enfeksiyonun başlangıcı için gerekli virülans özellikleri sağlayan genlerin kaybına yol açar. İmmun sistemin efektif immun cevap oluşturabilmesi için bu virülans faktörlerini tanıması gerekir. Bu virülans faktörlerinin kaybı hava yollarından *P. aeruginosa*'nın eradike edilmesi için gerekli olan immun sistemi inhibe eder (7).

Solunum yollarında *P. aeruginosa*'nın persistan olarak kalması, aljinat yapısındaki biyofilm içinde çoğalarak mikrokoloniler oluşturmasına bağlıdır. Biyofilm mikroorganizmanın ihtiyaç duyduğu besinlerin geçişine izin verirken,

mikroorganizmayı da vücut savunma sisteminden, antikorlardan ve antibiyotiklerden korur.

Kistik fibrozis hastalarında görülen *P. aeruginosa* serotiplerinde bir kümeleşme görülür. Hastaların %50-93'ünde Homma tipi 8 suş görülür (7).

Kistik fibrozis hastalarında görülen bakteriyel enfeksiyonlar her zaman solunum yollarıyla sınırlı kalır. En çok pulmoner alevlenme ile giden endobronşiyal hastalık görülür. Pulmoner parankim nadiren tutulur. Aksine epitelyum ve submukozal tabaka ödemlidir ve kronik inflamatuvar hücre infiltrasyonu vardır. Pulmoner alevlenme belirtileri olarak prodüktif öksürük sıklığında artış, balgam miktarında artış veya balgam karakterinde değişme, iştahta azalma, solunum sayısında artma, solunum sıkıntısında artma, egzersiz intoleransı sayılabilir. Ateş ve lökositoz az sayıda hastada görülür. Bunların olması kötü pulmoner fonksiyonlar ve kötüye giden prognostik skor ile ilişkilidir. Pulmoner alevlenme esnasında balgamdaki *P. aeruginosa* konsantrasyonu, DNA seviyesi, protein miktarı artar. Uygun antimikrobiyal tedavi ile bunların düzeyi önemli ölçüde azalır. Pulmoner enfeksiyon kroniktir. Bronşit, bronşiolit, bronşektazi gelişebilir. Sonunda immun supresif hastalarda görülen generalize nekrotizan pnömoni yerine lokâl nekrotizan pnömoni gelişir. Sepsis nadirdir fakat santral venöz kateter takılanlarda görülebilir.

2.4.4 Malignite

Lösemili çocuklar, özellikle immun supresif tedavi alanlar ve nötropenik olanlar *P. aeruginosa* ve diğer pseudomonasların neden olduğu sepsise oldukça duyarlıdırlar. *Pseudomonas putida* gibi bir çok pseudomonadın maligniteli çocuklarda sepsis nedeni olduğu belirtilmiştir. Genellikle enfeksiyon bağırsak sisteminde kolonize olmuş olan mikroorganizmanın kan dolaşım yoluna invazyonu ile gerçekleşir. İştahsızlık, halsizlik, bulantı, kusma, ateş görülebilir. Generalize vaskülit gelişir, tüm organlarda hemorajik nekrotik lezyonlar oluşur. Ciltte gangrenöz lezyona dönüşen palpable nodül ve ekimotik alanlar oluşur. İmmun supresif tedavi alan çocuk hastalarda görülen *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında hemorajik gangrenöz perirektal selülit veya apse, tiftitis, preseptal selülit ve nekrotizan fasiyit bildirilmiştir.

Malignite nedeniyle kemoterapi alan çocuklar bakteriyel enfeksiyona oldukça duyarlıdır. Kemoterapi ve radyoterapi mukozal bariyerlere zarar verebilir, orta-ciddi immunsupresyona yol açabilir. Bir araştırmada kanser hastaları içerisinde *P. aeruginosa* bakterimi hızının en yüksek lösemi hastalarında olduğu bildirilmiştir. Çoğu vaka, hastalarda mutlak nötrofil sayısı $100/\text{mm}^3$ 'ün altına indiğinde görülür. *P. aeruginosa* sepsisine bağlı mortalite relaps döneminden ziyade solid tümörlü hastalarda, mutlak nötrofil sayısı $100/\text{mm}^3$ 'ün altında olanlarda, perineal cilt lezyonu olanlarda, remisyonda iken bakteriyemi gelişenlerde ve indüksiyon tedavisi alanlarda görülür (7).

Kanser hastası çocuklarda enfeksiyon gelişimini kolaylaştıran en önemli faktör granülositopenidir. Lösemi ve farklı kanser hastalığı olan çocukların bakterisidal kapasiteleri bozulmuş olabilir. *P. aeruginosa* için spesifik olan ısıya dayanıklı opsoninler yoğun kombine kemoterapi alan lösemi hastalarında azalmış olabilir. *P. aeruginosa*'ya bağlı fetal enfeksiyonlar bu spesifik opsoninlerdeki eksiklikten kaynaklanıyor olabilir (7).

2.4.5 İmmun Supresyon

Kanser hastalıkları, transplantasyon ve kollajen doku hastalıklarının tedavisi için immün süresif ajanlar kullanılabilir. Enfeksiyonun lokalizasyonu ve enfeksiyon ajanının tipi altta yatan hastalığa bir şekilde bağlıdır. *P. aeruginosa*'ya bağlı gelişen sepsis ve pnömoni sağlıklı popülasyondan ziyade immunsüpresif tedavi alan çocuklarda görülür.

2.4.6 Hastane Enfeksiyonları

Hastane enfeksiyonları (HE), hastaneye yattığında enfeksiyon hastalığının inkübasyon döneminde olmayan veya enfeksiyon belirti ve bulguları izlenmeyen hastada, hastaneye yatıştan sonra gelişen enfeksiyonlar olarak tanımlanır. Yenidoğan için doğumdan 48 saat sonra, çocuklarda hastaneye yatıştan 48-72 saat sonra başlayan, her iki grup için taburculuk sonrası ilk 10 gün içinde gelişen enfeksiyonlar hastane kökenli enfeksiyon olarak kabul edilir (18).

Florence Nightingale ve William Farr hastanelerde mortalite oranlarının yüksek olduğunu saptamışlar ve hastane şartlarının ve hijyenin düzeltilmesi için çalışmalar yapmışlardır. 19. yüzyılın sonlarına doğru çocuk hastalarda meydana gelen hastane enfeksiyonlarının etkileri ile ilgili bilgiler toplanmaya başlanmıştır. 1934 yılında Stockholm şehrinde yapılan 'Çocuk Hastalarda Nasokomiyal Enfeksiyonlar' adlı kongrede bu konu ile ilgili bir rapor hazırlanmış, nasokomiyal enfeksiyonların çocuklarda artmış mortalite ve morbiditeye neden oldukları kanıtlarla gösterilmiştir (19).

Çocuklardaki HE tıptaki ilerlemeler ile yakından ilişkilidir. Eskiden erken ölüme sebep olan hastalıklara karşı geliştirilen yeni tedavi yöntemleri ile daha uzun bir yaşam sağlanırken, bu tedaviler immunsupresif çocuk sayısında ve edinilen hastane enfeksiyonu sayısında artış meydana getirmiştir. Geniş spekturumlu ilaçların yaygın kullanımının oluşturduğu seçici baskı daha önce bilinmeyen antimikrobiyal direnç mekanizmalarının ortaya çıkmasına neden olmuştur.

Modern hastanelerdeki invaziv girişimler HE için en önemli risk faktörleridir. Çocuklarda HE riski hastanın yaşı, yatırıldığı servis, esas hastalığı ve hastalığın ciddiyeti, immünesi, uygulanan invazif işlemler gibi bazı faktörlere bağlı olarak büyük ölçüde değişir. Çocuklarda HE yaş ile ters orantılıdır, yaş azaldıkça enfeksiyon riski artar. HE hastane servisleri içerisinde en sık yoğun bakım ünitelerinde görülür. Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde veya çocuk yoğun bakım ünitesinde yatan, kritik hastalığı bulunan, bağışıklık sistemi baskılanmış olan, invaziv alet kullanılan (santral venöz kateter, üriner kateter, mekanik ventilasyon), parenteral yolla beslenen, cerrahi işlem uygulanan hastalarda HE riski önemli ölçüde artmaktadır (20).

Yenidoğan ve çocuk yoğun bakım ünitelerinde HE etkeni olan bakteriler sıklıkla deri ve bağırsak sisteminden köken alırlar. Koagülaz negatif stafilkoklar ve *Staphylococcus aureus* deri, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, Enterokok ve Enterobacter türleri bağırsak sistemi kökenli mikroorganizmalardır. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* gibi bakteriler, intravenöz sıvı ve ilaçlarda, sıvı sabunlarda, antiseptik ve dezenfektanların içinde varlığını sürdürebilen ağır enfeksiyonlara yol açan mikroorganizmalardır.

Hastane enfeksiyonlarından sorumlu mikroorganizmalar her ülkede ve hastanede farklı olabilmektedir. Avrupa ülkelerini kapsayan bir çalışmada, 20 pediatri ünitesinde HE'dan sorumlu ajanların %68'inin (gram negatif basiller %37, gram pozitif koklar %31) bakteriler olduğu tespit edilmiştir. Alt solunum yollarında en sık (%44) *P. aeruginosa*, bakteriyemide en sık koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) (%50), cerrahi yara yeri enfeksiyonlarında en sık (%35) *Staphylococcus aureus*, üriner sistem enfeksiyonlarında (%27-%27) kandida ve *P. aeruginosa* izole edilmiştir (21). Brezilya'da çocuk hastalarda saptanan hastane kaynaklı kan dolaşım yolu enfeksiyonlarında gram negatif organizmalar %49, gram pozitif organizmalar %42,6 ve mantarlar %8,4 oranlarında patojen olarak saptanmıştır. En sık saptanan etkenler koagülaz negatif stafilokoklar (%21,3) ve *klebsiella spp* (%15,7) olmuştur (22). İsviçrede en sık neden *Enterobacteriaceae* ve KNS'lar iken Çin Halk Cumhuriyeti'nde en sık neden *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* gibi gram negatif basillerdir (20).

Amerika Birleşik Devletleri'nde çocuk yoğun bakım ünitelerinde (ÇYBÜ) bakteriyemiye KNS, pnömonilere *P. aeruginosa*, üriner sistem enfeksiyonlarına *E. coli* en sık neden olmaktadır (23).

Gram negatif basillere bağlı gelişen bakteriyemide mortalite için risk faktörlerinin tespit edildiği bir çalışmada *P. aeruginosa* en sık görülen 2. patojen bulunmuş, mortaliteyi en çok arttıran risk faktörlerin yoğun bakım ünitesinde yatış ve ventilatör desteği olduğu belirlenmiştir. Bakteriyemi kaynakları olarak pnömoni, kateter ilişkili kan dolaşım yolu enfeksiyonu ve üriner sistem enfeksiyonları belirtilmiştir (24).

Cerrahi alan enfeksiyonlarının araştırıldığı bir çalışmada en sık patojenler *E.coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* saptanmış, tespit edilen risk fakörleri ise uzun ameliyat (>2 saat) ve dren yerleştirilmesi olarak belirtilmiştir (25).

Kateter ilişkili enfeksiyonlarda *P. aeruginosa*'nın virulans faktörlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada suşlar biyofilm üretimi, hateketlilik ve ekstraselüler protein salınımı yönünden incelenmiş ve %70'den fazla suşun LasB elastaz, pyoverdin, hemolizin ürettiği saptanmıştır. Aynı çalışmada izolatların %80'ninin biyofilm ürettiği gözlenmiş, tüm suşların hareketli olduğu bulunmuştur (26).

Biyofilmin bakteriye besin geçişine izin vermesi, konak savunma sisteminden koruması ve bakteriyi öldürebilecek düzeyde antibiyotik geçişine engel olması kateterin çekilmeden sadece antibiyotik tedavisi ile düzelmesini imkânsız hale getirmektedir.

Çoklu ilaca dirençli *P. aeruginosa* (MDR-PAN) izolatlarının alındığı bir çalışmada MDR-PAN gelişiminin daha çok nasokomiyal olduğu, uzun süre hastanede yatış, üriner kateter uygulaması, steroid ve uygunsuz antibiyotik başlanmasıyla ilişkili olduğu öne sürülmüştür (27). Fransa'da yapılan bir çalışmada, imipenem ve siprofloksasilin kullanımının hastanelerde dirençli *P. aeruginosa* suşlarının ortaya çıkmasına neden olduğu iddia edilmiştir (28). İtalya'da yapılan bir çalışmada, çoklu ilaç dirençli *P. aeruginosa* suşlarının neden olduğu kan dolaşım yolu enfeksiyonları için tespit edilen risk faktörleri olarak; santral venöz kateter varlığı, daha önce antibiyotik kullanımı, steroid tedavisi sayılmıştır (29).

Sonuç olarak hastanede yatış süresi, antibiyotik kullanımı, cerrahi girişim, invaziv işlemler kolonizasyon için risk faktörleridir. Altta yatan ciddi hastalık olması, hastanede yatma, invaziv cerrahi işlemler, immun yanıtın zayıflaması, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ise enfeksiyon gelişmesi için risk faktörleridir.

2.4.7 Tanı ve Ayırıcı Tanı

Pseudomonas enfeksiyonu tanısı organizmanın kan, beyin omurilik sıvısı, kontaminasyonun engellendiği ve uygun koşullarda alınmış idrar (infantlarda suprapubik aspirasyon ve üriner kateterizasyon ile), eklem sıvısı, periton diyaliz sıvısı ve selülit veya subkutan abseden aspirasyonla elde edilen pürülan sıvıda gösterilmesiyle konur. Organizmanın cilt yüzeyinde, boğazda ve trakeal aspirasyon sıvısında gösterilmesi mutlak enfeksiyon olduğu anlamına gelmez, kolonizasyonu da gösterebilir.

Bir kültür pozitifliği saptandığında onun doğruluğu kültürün alındığı anda o mikroorganizma için tipik klinik, radyolojik ve laboratuvar bulgular var ise artar (örnek: tipik yüzme havuzu kaynaklı follikülit gelişmiş cilt lezyonunda *P.*

aeruginosa'nın gösterilmesi veya immun yetmezlikli bir hastada gelişen ektima gangrenozum lezyonunda *P. aeruginosa*'nın gösterilmesi). Entübe bir şekilde mekanik ventilatörde takip edilen hastaların endotrakeyal aspirasyon sıvılarında *P. aeruginosa*'nın gösterilmesi alışılmadık bir durum değildir. Bu durum kolonizasyondan ayrılmalıdır. Kültürün alındığı dönemde çekilmiş 2 seri akciğer grafisinde yeni veya ilerleyici infiltrasyon/konsolidasyon (radyolojik bulgular) var ise, aynı dönemde hastada ateş, lökositöz veya lökopeni saptanmış ise, balgam veya öksürükte değişiklik meydana geldi ise veya gaz değişiminde kötüleşme (klinik bulgular) oluştu ise ve endotrakeyal aspirasyonla veya bronkoalveolar lavaj ile alınmış solunum sekresyonlarının gram değerlendirmesinde örnekte hücre içi bakteri (>%5), nötrofil (her alanda >25) hakimiyeti, az epitel hücresi görüldü ise bu kültür anlamlı olarak kabul edilmeli ve tedavi başlanmalıdır. Fakat radyolojik ve klinik bulgular yok ise, alınan trakeal aspirasyon sıvısının gram boyamasında gram negatif basiller görülmemiş ise, nötrofil hakimiyeti yerine epitel hücre hakimiyeti var ise üreme kontaminasyon veya kolonizasyon olarak değerlendirilmelidir.

Mavimtırak cilt lezyonları ve ortası ekimotik, kangrenöz ülserler çoğu zaman *P. aeruginosa* enfeksiyonları için patognomik kabul edilmektedir. Nadiren bu cilt lezyonları *Aeromonas hydrophilia* sepsisinde görülen lezyonlarla ayırt edilemeyebilir. İmmun yetmezlikli kişilerde görülen kutanöz veya dissemine *Aspergillus* ve *Fusarium* enfeksiyonlarında ciltte ektima gangrenozum benzeri lezyonlara yol açabilir.

Çoğu *Pseudomonas spp.* standart laboratuvar kültüründe (%5 lik koyun kanlı agar ve çikolata agar) kolaylıkla üretilebilir. Karışık flora elemanlarının görüldüğü durumlarda seçici besi yerleri (MacKonkey agar) kullanılabilir.

Kültürlerde karakteristik koloni morfolojisi, eğer oluşmuşsa yayılan pigment ve kokusu *P. aeruginosa*'yı düşündürür. Koloniler genellikle düzdür ve yayılırlar. Genellikle metalik bir parlaklığa sahiptirler. Fakat kistik fibrozis hastalarında genellikle mukoid koloni morfolojisi görülür. *P. aeruginosa* pozitif oksidaz testi, 42 dercede üreme, Müller-Hinton agarda yayılan, açık mavi veya mavi-yeşil pigment üretimiyle belirlenebilir. Birçok laboratuvar *P. aeruginosa*'nın belirlenmesinde ticari sistemlere güvenmektedir. Bu sistemlerin pigmentli *P.*

aeruginosa'nın belirlenmesindeki doğruluğu ortalama %90'nın üzerindedir. Pigment oluşturmayan *P. aeruginosa*'nın belirlenmesindeki doğrulukları ise daha azdır (7).

3. GEREÇ-YÖNTEM

3.1 Örneklerin Toplanması

Bu çalışma Mersin Üniversitesi Dekanlığı, Etik Kurul Başkanlığının etik kurul onayı alınarak yapıldı.

Çalışma için toplanan örnekler Şubat 2013-Ocak 2014 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi poliklinik, servis ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen, çeşitli klinik örneklerde üreyen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Pseudomonas spp.* izolatları REP-PZR çalışılincaya kadar -30 derecede saklandı. Çocuk hasta grubunda 25 örnek, erişkin hasta grubunda 24 örnek çalışmaya alındı. Retrospektif olarak hasta dosyalarından hastaların yaşları, yattıkları servisler, tanıları, altta yatan hastalıkları, alınan kültür örnekleri, kültürlerinin alınma tarihleri, kültür örneklerinin alınma tarihindeki C-reaktif protein, beyaz küre, prokalsitonin değerleri, kültür antibiyogramları kaydedildi. Hastalarda tespit edilen üremeler klinik, laboratuvar ve radyolojik bulgularla birleştirilerek kolonizasyon, enfeksiyon ayırımı yapıldı. Antibiyogram sonuçlarına göre direnç oranları tespit edildi. Hastalardaki üremeler CDC kriterlerine göre tanımlandırıldı.

3.2 Moleküler Tiplendirme

Çalışmaya dahil edilen hasta örneklerinden izole edilen 49 *Pseudomonas* suşu arasındaki klonal ilişki REP-PZR Diversilab sistemi ile araştırıldı. Rep-PZR ile amplifiye edilen *Pseudomonas* DNA'ları Diversilab labchip kitine (BioMerieux Sa-Fransa) yüklenerek Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, A.B.D.) ile mikroakışkan elektroforez uygulandı. Labchip elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra elde edilen ham grafikler internet tabanlı Diversilab yorumlama ve yazılım programı (DiversiLab, version 3.4, BioMerieux, Fransa) ile değerlendirildi.

3.2.1 REP-PZR Diversilab Yöntemi ile Moleküler Tiplendirme

REP (Repetitive Extragenic Palindromic Element) PZR yönteminde, epidemiyolojisi araştırılan mikroorganizmaların kromozomları üzerinde bulunan, kısa, tekrarlayan ve konservatif yapıları hedef alan kısa primerler kullanılır. Bu bölgelerin birbirlerine yakınlığına bağlı olarak iki ekstragenik bölge arasında kalan kısım amplifiye edilir ve elde edilen PZR ürünleri agaroz jel elektroforezde değerlendirilir. Diversilab sistemine bağlı REP-PZR uygulaması aşamaları; koloniden DNA ekstraksiyonu, DNA miktarının ölçülmesi, diversilab parmak izi kitleri ile REP-PZR; diversilab çipleri ile mikro akışkan elektroforez ve internet tabanlı yazılım programı ile sonuçların değerlendirilmesini takip eder.

3.3.3 Suşların REP-PZR Parmak İzi İlişkilerinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada REP-PZR parmak izi profil benzerliklerinin yorumlanması Diversilab rehberinde verilen kriterler referans alınarak yapıldı.

- a) Ayırt Edilemez: Örneklerin benzerlik yüzdeleri (benzerlik >%97) yüksektir. Bu grupta yer alan örnekler genellikle %97'nin üzerinde benzerlik gösterirler ve bant farklılığı yoktur. Çalışmada bu grupta yer alan örnekler ana klonun alt tipi (alt klon) olarak değerlendirildi.
- b) Benzer: Örneklerin benzerlik oranları (benzerlik %95-97 arasında, 1-2 bant farkı) biraz düşüktür. Genellikle %95'in üzerinde benzerlik gösterirler ve 1-2 bant farklılığı vardır. Çalışmada bu özelliğe sahip örnekler ana klon olarak değerlendirildi.
- c) Farklı: Örnekler düşük benzerlik oranına (<%95 ve >2 bant farkı) sahiptirler. Benzerlik oranı genellikle %95'in altındadır ve bant farklılığı fazladır. Bu grupta yer alan örnekler çalışmada farklı klon olarak değerlendirildi.

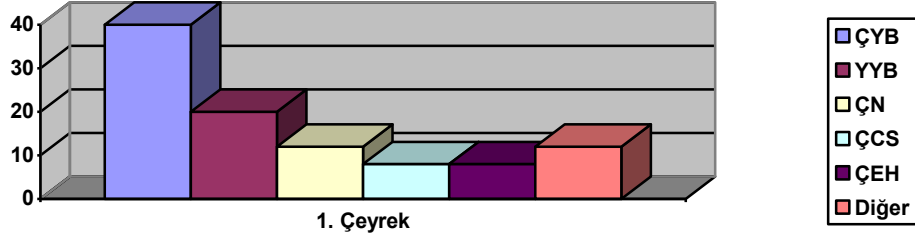
4. BULGULAR

4.1 Örneklerin değerlendirilmesi

Çalışmaya kültürlerinde *Pseudomonas aeruginosa* ve *Pseudomonas spp.* üreyen 25 çocuk hasta ve 24 erişkin hasta alındı. Çocuk hastalarda medyan yaş 8 (17 gün-15 yaş) aydı. Erişkin hastalarda medyan yaş 61 (18-78 yaş) yaştı. Çocuk hasta grubunda 15 kız, 10 erkek hasta, erişkin hasta grubunda ise 19 erkek, 5 bayan hasta mevcuttu.

Çocuk hasta grubundaki üremelerden 5 (%20) hastadaki üreme kolonizasyon, 20 (%80) hastadaki üreme ise enfeksiyon olarak değerlendirildi. Çocuk hasta grubundaki üremelerin %60'ı çocuk yoğun bakım (n=10) ve yenidoğan (n=5) yoğun bakım ünitelerinde görüldü. Üremelerin görüldüğü diğer servis ve poliklinikler çocuk nefroloji (n=3), çocuk cerrahisi (n=2) çocuk enfeksiyon (n=2), çocuk hematolojisi (n=1), ortopedi (n=1), plastik cerrahi (n=1 hasta) servisleriydi (Şekil1).

Çocuk hasta grubunda 6 hastada idrar kültüründe, 6 hastada kateter ucu kültüründe, 6 hastada trakeal aspirat kültüründe, 2 hastada doku kültüründe, 2 hastada yara sürüntü kültüründe, 2 hastada kan kültüründe, 1 hastada ise balgam kültüründe *Pseudomonas* üremesi saptandı. Kolonizasyon olarak değerlendirilmeyen, laboratuvar ve klinik olarak enfeksiyon kabul edilen çocuk hastalardan 5 hasta ventilatör ilişkili pnömoni, 3 hasta idrar yolu enfeksiyonu, 1 hasta sağlık bakımı ile ilişkili pnömoni, 1 hasta ventilatör ilişkili pnömoniye sekonder kan dolaşım yolu enfeksiyonu, 1 hasta primer kan dolaşım yolu enfeksiyonu, 2 hasta yüzeysel cerrahi alan enfeksiyonu, 1 hasta derin cerrahi alan enfeksiyonu, 3 santral venöz kateter enfeksiyonu, 1 hasta osteomyelit, 1 hasta yumuşak doku enfeksiyonu, kistik fibrozis tanısıyla izlenen 1 hasta ise pulmoner alevlenme tanısı aldı (Tablo 2).



Şekil 1 Çocuk hasta grubunda *Pseudomonas* saptanan servisler ve yüzdeleri

ÇYB: Çocuk yoğun bakım, YYB: Yenidoğan yoğun bakım, ÇN: Çocuk nefroloji ÇCS: Çocuk cerrahisi servisi, ÇEH: Çocuk enfeksiyon hastalıkları

Tablo 2. Çocuk hasta grubunda bulunan hastaların aldığı tanılar

Tanımlar	Sayı/yüzde
Kolonizasyon	5 / %20
Enfeksiyon	20 / %80
Ventilatör ilişkili pnömoni	5/ %25
İdrar yolu enfeksiyonu	3/ %15
Santral venöz kateter enfeksiyonu	3/ %15
SBİİP	1/ %5
VİPSKDYE	1/ %5
PKDYE	1/ %5
Yüzeyel cerrahi alan enfeksiyonu	2/ %10
Derin cerrahi alan enfeksiyonu	1/ %5
Osteomyelit	1/ %5
Yumuşak doku enfeksiyonu	1/ %5
Pulmoner alevlenme	1/ %5

SBİİP: Sağlık bakımı ile ilişkili pnömoni, VİPSKDYE: ventilatör ilişkili pnömoniye sekonder kan dolaşım yolu enfeksiyonu PKDYE: primer kan dolaşım yolu enfeksiyonu

Çocuk hasta grubunda hastaneye yatıktan sonra enfeksiyonun ortaya çıkma süresi medyan 10 (4-200) gün olarak bulundu. Hastalık gelişen çocuk hastalarda en sık bulgular ateş (n=12), yara yeri akıntısı (n=4), takipne (n=4), sekresyon artışı (n=4), oksijen saturasyonunda düşme (n=3), idrar yaparken ağrı (n=2), kateter giriş yerinde akıntı, kızarıklık (n=1), öksürük ve balgam miktarında artma ve veya balgam karakterinde değişiklik (n=2) olarak bulundu. Enfeksiyon gelişen çocuk hasta grubunda enfeksiyonun saptandığı gün (kültürde üremenin olduğu gün) bakılan medyan beyaz küre sayısı 15560 (4850-38660) /mm³, medyan prokalsitonin değeri 1,3 (0,06-13,5) ng/ml, medyan CRP değeri 91(0,2-241) mg/dl bulundu (Tablo 3).

Tablo 3. Enfeksiyon gelişen 20 çocuk hastada klinik ve laboratuvar bulgular

Klinik bulgular	Sayı / yüzde
Ateş	12/ %60
Yara yeri akıntısı	4/ %20
Sekresyonlarda artma	4/ %20
Oksijen saturasyonunda düşme	3/ %15
İdrar yaparken ağrı	2/ %10
Kateter giriş yerinde kızarıklık, akıntı	1/ %5
Öksürük, balgam miktarında artış	2/ 10
Laboratuvar bulguları	
Medyan beyaz küre sayısı/mm ³	15560 (4850-38660) /mm ³
Medyan prokalsitonin değeri (ng/ml)	1,3 (0,06-13,5) ng/ml
Medyan CRP değeri (mg/dl)	91 (0,2-241) mg/dl

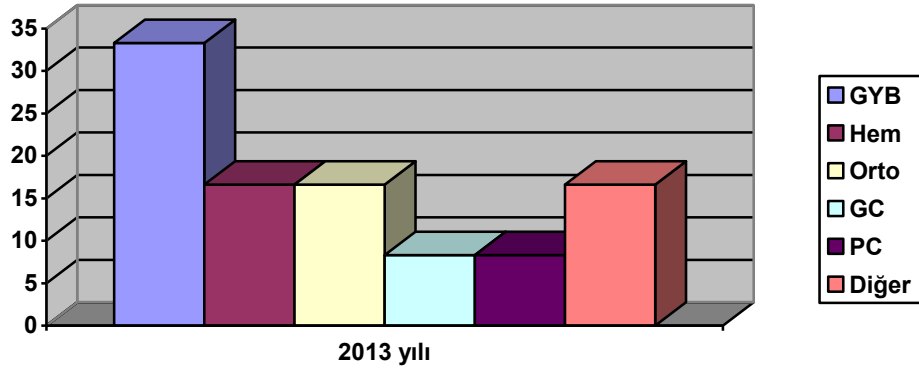
Çocuk hasta grubunda 11 kültürde saptanan *Pseudomonas* türlerinin tüm antipseudomonal antibiyotiklere duyarlı olduğu görülürken, 15 kültürde antibiyotik direnci saptandı. En sık direnç seftazidime (5 kültür) karşı görülürken piperasilin direnci 4 kültürde, imipenem, gentamisin ve siprofloksasin direnci 3 kültürde, sefepim ve meropenem direnci 2 kültürde, kolistin direnci ise 1 kültürde tespit edildi (Tablo 4).

Tablo 4. Çocuk ve erişkin hasta gruplarında saptanan antibiyotik direnç oranları

İlaç	Çocuk hastalar	Erişkin hastalar
	Direnç oranı (sayı/yüzde)	Direnç oranı (sayı/yüzde)
Amikasin	2/ %7,69	3/ %12,5
Gentamisin	3/ %11,53	6/ %25
Seftazidim	5/ %19,2	4/ %16,66
Sefepim	3/ %11,53	3/ %12,5
Piperasilin	4/ %15,38	4/ %16,66
Siprofloksasin	3/ %11,53	9/ %37,5
İmipenem	3/ %11,53	5/ %20,83
Meropenem	2/ %7,69	4/ %16,66
Kolistin	1/ %3,84	1/ %4,16

Erişkin hasta grubundaki üremelerden 5 (%20,8) hastadaki üreme kolonizasyon, 19 (%79,2) hastadaki üreme ise enfeksiyon olarak değerlendirildi. Erişkin hasta grubundaki üremelerin (n=8) %33,3'ü genel yoğun bakımda görüldü. Üremelerin görüldüğü diğer servisler onkoloji-hematoloji (n=4), ortopedi (n=4), göğüs cerrahisi (n=2), plastik cerrahisi (n=2), üroloji (n=1), nefroloji (n=1), kulak burun boğaz (n=1), göğüs hastalıkları (n=1) servisleriydi

(şekil 2). Erişkin hasta grubunda 2 hastada idrar kültüründe, 9 hastada trakeal aspirat kültüründe, 8 hastada yara sürüntü kültüründe, 3 hastada kan kültüründe, 2 hastada ise balgam kültüründe *Pseudomas* üremesi saptandı. Kolonizasyon olarak değerlendirilmeyen, laboratuvar ve klinik olarak enfeksiyon kabul edilen erişkin hastalardan 9 hasta ventilatör ilişkili pnömoni, 1 hasta kateter ile ilişkili idrar yolu enfeksiyonu, 1 hasta sağlık bakımı ile ilişkili pnömoni, 1 hasta ventilatör ilişkili pnömoniye sekonder kan dolaşım yolu enfeksiyonu, 2 hasta primer kan dolaşım yolu enfeksiyonu, 1 hasta derin cerrahi alan enfeksiyonu, 2 hasta diyabetik ayak enfeksiyonu, 1 hasta osteomyelit, 1 hasta yumuşak doku enfeksiyonu tanısı aldı (Tablo 5).



GYB:Genel yoğun bakım, Hem:Erişkin hematoloji-onkoloji, Orto:Ortopedi, GC:Göğüs cerrahisi, PC: Plastik cerrahi

Şekil 2. Erişkin hasta grubunda *Pseudomonas* saptanan servisler ve yüzdeleri

Tablo 5. Erişkin hasta grubunda bulunan hastaların aldığı tanılar

Tanılar	Sayı/yüzde
Kolonizasyon	5 / %20,84
Enfeksiyon	19 / %79,16
Ventilatör ilişkili pnömoni	9 / %45
Kateter ilişkili İdrar yolu enfeksiyonu	1 / %5
SBİİP	1 / %5
VİPSKDYE	1 / %5
PKDYE	2 / %10
Derin cerrahi alan enfeksiyonu	1 / %5
Diyabetik ayak	2 / %10
Yumuşak doku enfeksiyonu	1 / %5
Osteomyelit	1 / %5

SBİİP: Sağlık bakımı ile ilişkili pnömoni, VİPSKDYE: ventilatör ilişkili pnömoniye sekonder kan dolaşım yolu enfeksiyonu, PKDYE:Primer kan dolaşım yolu enfeksiyonu

Erişkin hasta grubunda hastaneye yatıştan sonra enfeksiyonun ortaya çıkma süresi medyan 11 (5-20) gün olarak bulundu. Enfeksiyon gelişen erişkin hastalarda en sık bulgular ateş (n=12), yara yeri akıntısı (n=4), takipne (n=7), sekresyon artışı (n=4), oksijen saturasyonunda düşme (n=6), öksürük ve balgam miktarında artma ve veya balgam karakterinde değişikliği (n=5). Enfeksiyon gelişen erişkin hasta grubunda enfeksiyonun saptandığı gün (kültürde üremenin olduğu gün) bakılan medyan beyaz küre sayısı 11320 (610-

81700) /mm³, medyan prokalsitonin değeri 2,2 (0,01-48) ng/ml, medyan CRP değeri 82(4,89-179) mg/dl bulundu (Tablo 6).

Tablo 6. Enfeksiyon gelişen 19 erişkin hastada klinik ve laboratuvar bulgular

Klinik bulgular	Sayı / yzde
Ateş	12/ %50
Yara yeri akıntısı	4/ %33,3
Yara yerinde kızarıklık, ağrı	4/ %33,3
Sekresyonlarda artma	4/ %33,3
Oksijen saturasyonunda dűřme	6/ %25
Öksürük, balgam karakterinde değişiklik	5/ %20,8
Laboratuvar bulguları	
Medyan beyaz küre sayısı/mm ³	11320 (610-81700) /mm ³
Medyan prokalsitonin değeri (ng/ml)	2,2 (0,06-13,5) ng/ml
Medyan CRP değeri (mg/dl)	82(4,89 -179) mg/dl

Eriřkin hasta grubunda 7 kűltürde üreyen *Pseudomonas türlerinin* tüm antipseudomonal antibiyotiklere duyarlı olduęu görűlürken, 17 kűltürde antibiyotik direnci saptandı. Eriřkin grupta en sık direnç siprofloksasin (9 kűltür) ve gentamisine (6 kűltür) karřı görűldű. Piperasilin, seftazidim ve meropenem direnci 4 kűltürde, imipenem direnci 5 kűltürde, sefepim ve amikasin direnci 3

kültürde, kolistin direnci 1 kültürde tespit edildi (Tablo 4). Yaygın ilaç direnci çocuk hasta grubunda 1 hastada, erişkin hasta grubunda ise 3 hastada görüldü.

4.2 REP-PZR sonuçları

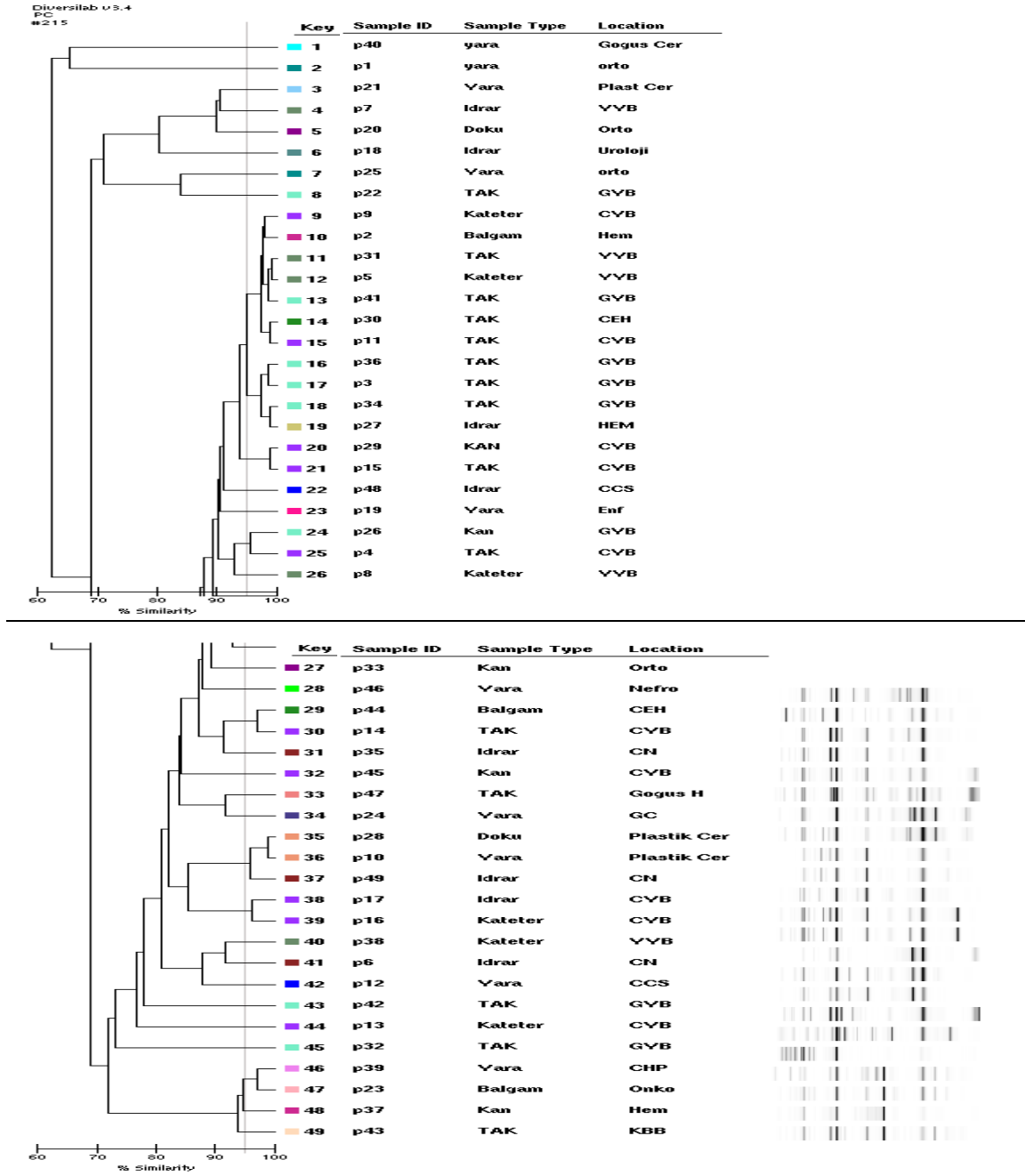
Çalışmada Rep-PZR Diversilab yöntemi ile tiplendirilen 49 *Pseudomonas* izolatında 31 farklı klon bulundu. %95'in üzerinde benzerlik 11 suştan oluşan bir ana klonda (A klonu), 3 tane suş içeren 2 ayrı klonda, 2'li suş içeren 4 ayrı klonda (B,C,D,E klonları) gözlemlendi (Şekil 3 ve Şekil 4). 24 tane ise tekli klon tespit edildi (Şekil 3 ve Şekil 4).

Diversilab sistemi ile ana klonu oluşturan *Pseudomonas* türünün *Pseudomonas aeruginosa* olduğu tespit edildi. Ana klona ait suşlar yenidoğan yoğun bakım ünitesi (n=2), çocuk yoğun bakım ünitesi (n=2), çocuk enfeksiyon hastalıkları (n=1), dahiliye yoğun bakım (n=4), erişkin hematoloji-onkoloji (n=2) servislerinde izole edildi (Şekil 3). Ana klona ait ilk suş 27.1.2013 tarihinde genel yoğun bakım ünitesinde kronik akciğer hastalığı ve koroner arter hastalığı tanılarıyla mekanik ventilatörde izlenen hastanın trakeal aspirat kültüründe tespit edildi. Benzer suş 11.02.2013 tarihinde çocuk yoğun bakımda opere laringosel ve boyun apsesi tanılarıyla izlenen ve cerrahi alan enfeksiyonu gelişen hastanın kateter kültüründen izole edildi. 14.02.2013 tarihinde ana klona ait benzer suş erişkin hematoloji-onkoloji servisinde akut myeloid lösemi tanısıyla izlenen pnömonili bir hastanın balgam kültüründen izole edildi. Takip eden aylarda ana klona ait benzer suşlar nisan ayı içerisinde ilk önce yenidoğan yoğun bakım ünitesinde, daha sonra genel yoğun bakım servisinde ve son olarak erişkin hematoloji-onkoloji servisinde izole edildi. Mayıs ayında aynı suş çocuk enfeksiyon hastalıkları servisinde ilk kez izole edildi, aynı ayda tekrar yenidoğan servisinde başka bir hastada görüldü. 3 ay sonra 17.08.2013 tarihinde çocuk yoğun bakım ünitesinde lizozomal depo hastalığı tanısıyla mekanik ventilatörde izlenen hastanın kan kültüründe izole edildi. Ana klona ait suş son olarak çocuk yoğun bakımda bronkopulmoner displazi, konjenital kalp hastalığı, opere ösafagus atrezisi, tanılarıyla izlenen hastanın trakeal aspirat kültüründe izole edildi. Ana klon suşu 27.01.2013 tarihinden başlayarak 05.09.2013 tarihine kadar servisler içinde yayılarak 8 ay boyunca hastanemizde varlığını sürdürdü.

Üçlü şuştan oluşan bir klonu, *Pseudomonas stutzeri* şuşları oluştururken diğerini *Pseudomonas oryzihabitans* şuşları oluşturdu. *Pseudomonas stutzeri* şuşlarının dağılımı erişkin hematoloji-onkoloji (n=2), çocuk hematoloji (n=1) şeklindeydi. Kanser hastalarının balgam, kan ve yara kültürlerinden izole edildi. Bu şuşa ilk defa 19.5.2013 tarihinde kulak burun boğaz bölümde larinks kanseri nedeniyle opere edilen bir hastada son olarak ise 20.09.2013 tarihinde pankreas kanseri nedeniyle erişkin hematoloji onkoloji servisinde izlenen bir hastanın balgam kültüründe rastlandı. *Pseudomonas oryzihabitans* şuşlarının dağılımı ise plastik cerrahi (n=2) ve çocuk hematoloji-onkoloji (n=1) şeklindeydi.

İkili şuştan oluşan 4 farklı klonun Diversilab sistemi le *P. aeruginosa* türüne ait olduğu belirlendi. Birinci 2'li klonunun (B klonu) hastanemizdeki dağılımı çocuk enfeksiyon ve çocuk yoğun bakım şeklindeydi. Çocuk enfeksiyon servisinde kistik fibrozis tanısı ile izlenen bir hastanın balgam kültüründe 31.02.2013 tarihinde, çocuk yoğun bakımda ise 12.07.2013 tarihinde ventilatör ilişkili pnömoni tanısıyla izlenen bir hastanın trakeal aspirat kültüründe tespit edildi. İkinci 2'li klon (C klonu) genel yoğun bakım ve çocuk yoğun bakım servislerinde görüldü. Üçüncü (D klonu) ve dördüncü (E klonu) 2'li klonlar ise çocuk yoğun bakımda saptandı.

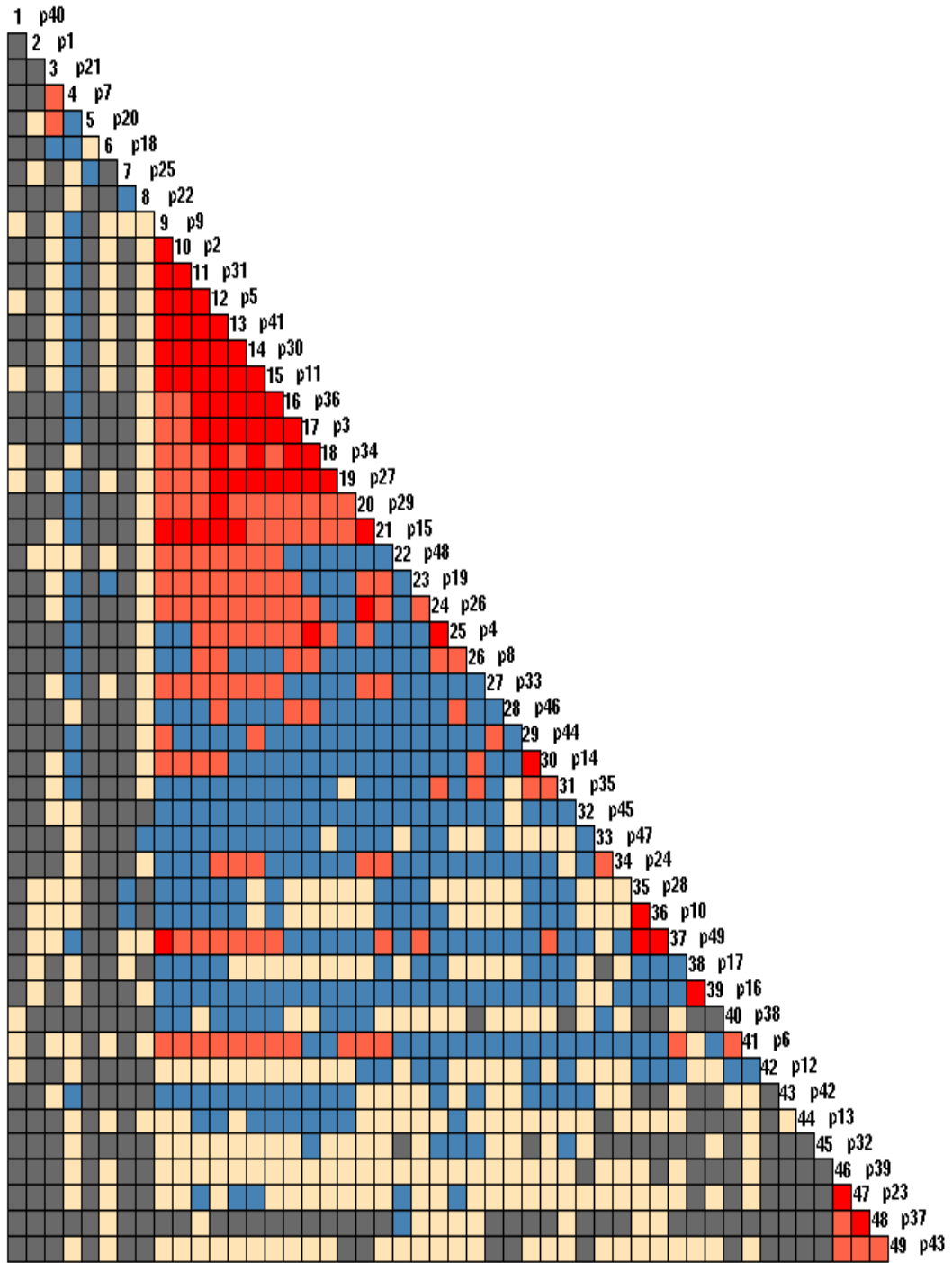
Geleneksel yöntemlerle *Pseudomonas aeruginosa* ve *Pseudomonas spp.* olarak bildirilen 49 üremenin, Diversilab kütüphanesine bakıldığında 32'sinin *P. aeruginosa*, 5'nin *Pseudomonas stutzeri*, 6'sının *Pseudomonas oryzihabitans*, 3 üremenin *Pseudomonas luteola*, 2 üremenin *Pseudomonas putida*, 1 üremenin ise *Pseudomonas alcaligenes* üremesi olduğu tespit edildi.



Gogus cer, GC: Göğüs cerrahisi, Orto: Ortopedi, Plast cer: Plastik cerrahi, GYB:Genel yoğun bakım, Hem/Onko: Erişkin hematoloji onkoloji, YYB: Yeni doğan yoğun bakım, CCS: Çocuk cerrahisi, CVB: Çocuk yoğun bakım, CN:Çocuk nefrolojisi, CHP: Çocuk hematoloji poliklinik, KBB:Kulak burun boğaz, CEH: Çocuk enfeksiyon hastalıkları, Enf: Enfeksiyon hastalıkları

Şekil 3. Klonlara ait dendrogram

Diversilab v3.4
PC
#215



Şekil 4. Klonlara ait benzerlik matrisi

5.TARTIŞMA

Hastane enfeksiyonlarında moleküler yöntemlerin kullanılması ilk defa Amerika'da 1979 yılında çocuk yoğun bakımda çoğul ilaç direncine sahip *K. Pneumoniae*'nin meydana getirdiği bir salgın esnasında gerçekleşmiştir. Bu salgını bir sene sonra aynı tür ile gerçekleşen ikinci bir salgın izlemiştir. Moleküler yöntemlerle tespit edilen suşun erişkin hastalarda görülen suşla aynı olduğu ve bunun çocuk bakımda yatan bir çocuğun annesi aracılığıyla taşındığı saptanmıştır. İkinci salgından sonra üçüncü bir salgın gözlenmiş, moleküler yöntemlerle son salgının farklı bir çoğul ilaç direncine sahip *K. Pneumoniae* tarafından gerçekleştirildiği bulunmuştur. Bu hastane salgınlarından sonra çağdaş hastanelerde hastane enfeksiyonlarının epidemiyolojisinin belirlenmesinde moleküler tekniklerin kullanılması gerektiği belirtilmiştir (30).

Japonya'da 1990'lı yıllarda Pulsefield Jel Elektroforez (PFGE) yöntemi kullanılarak *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarının genomik DNA parmak izleri karşılaştırılmış, PFGE'nin MRSA'ya bağlı nazokomiyal enfeksiyonların kaynağını erken bulmada ve nasıl yayıldığını tespit etmede yararlı bir yöntem olduğu belirtilmiştir (31).

Widmer tarafından yazılan bir derlemede yoğun bakımlarda enfeksiyon kontrol programları içerisinde moleküler yöntemlerin klinik epidemiyolojistlerin epidemileri erken yakalamalarındaki önemi belirtilmiştir (32).

Ruckdeschel nasokomiyal pnömonilerin tanısında moleküler yöntemlerin patojenlerin antijenlerini kan ve idrarda saptayan direkt florasan gibi yöntemlere göre daha duyarlı ve özgül olduğunu belirtmiştir (33). Buna karşın Murdoch moleküler tekniklerin *mycoplasma pneumoniae*, *legionella* ve *chlamydia pneumoniae*'ya bağlı türlerin yol açtığı pnömonileri tanımlamada geleneksel testlere göre daha yararlı olduğunu belirtse de moleküler yöntemlerin kolonizasyonu ve gerçek hastalığı ayıramadığını bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğunu vurgulamıştır (34).

Yenidoğan hasta grubu HE gelişimi için diğer gruplara göre daha fazla riski barındıran bir gruptur. İmmun sistem maturasyonu bu grupta tamamlanmadığından hastane enfeksiyonlarının mortalitesi bu grupta yüksektir. Erken tanı ve tedavi diğer hastalarda olduğu gibi bu grupta da mortalite ve

morbiditeyi belirlemektedir. Tanı için rutin kullanılan kan kültürlerinde üreme oranı yenidoğanlarda %25 civarındadır ve kan kültür sonuçları hemen sonuçlanmamaktadır. Bu da erken tanıyı ve erken tedaviyi kısıtlamaktadır. Moleküler yöntemler bu grupta erken tanı açısından kullanılabilir. Kasper ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada preterm infantlarda neonatal sepsis erken tanısında kan kültürüne ek olarak multipleks PZR'ın kullanılabilirliği ve potansiyel yararı gösterilmiştir (35).

Pseudomonas dışındaki bakterilerin meydana getirdiği hastane enfeksiyonlarında REP-PZR'ın kullanılabileceği yukarıdaki çalışmalarla gösterilmiştir. Literatüre bakıldığında hastane enfeksiyonlarında *Pseudomonas aeruginosa* epidemiyolojisinin belirlenmesinde REP-PZR kullanımının güvenilir olduğu belirtilmektedir. Farklı epidemiyolojik koşullarda örnek olarak kistik fibrozis hastalarında, kümelenmiş vakaların bulunduğu hastane enfeksiyonlarında ve hastane odalarında *P. aeruginosa* suşlarının saptanmasında ve ayırımlarında REP-PZR'ın güvenilirliği Doleans ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gösterilmiştir (36).

Kistik fibrozis hasta grubu *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının sık görüldüğü, diğer gruplardan bazı yönleri ile ayrılan özel bir gruptur. *P. aeruginosa* kronik enfeksiyona yol açtığı kistik fibrozis tanılı hastalarda fenotipik olarak oldukça unstabildir. Kistik fibrozis hastaları çoğunlukla aynı suşla birkaç dekad boyunca enfekte olurlar. Fakat bir süre sonra bakteri fenotipik değişikliğe uğrar. Bu nedenle bu hasta grubunda fenotipik tiplendirme yöntemleri kullanışlı olmayabilir. Fakat moleküler teknikler akut enfeksiyonların epidemiyolojisini anlamada oldukça değerli bilgiler sağlar (37). Erişkin ve çocuk kistik fibrozis hastalarının alındığı diğer bir çalışmada her iki hasta grubunda *P. aeruginosa* izolatlarının tiplendirilerek sürveyans verilerinin ortaya konmasında PZR yönteminin yüksek düzeyde tanımlayıcı olduğu, farklı suşları ayırt edebildiği, hızlı ve doğru sonuç verdiği gösterilmiştir (38).

Farklı çocuk hasta gruplarında *P. aeruginosa* çeşitliliğini araştıran bir çalışmada 5 hasta grubu çalışmaya alınmış ve saptanan *Pseudomonas aeruginosa* suşları karşılaştırılmıştır. Birinci grubu ilk kez *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonu geçiren kistik fibrozisli hastalar, ikinci grubu kronik enfeksiyonu bulunan kistik fibrozisli hastalar, üçüncü grubu kronik süppüratif

otitli hastalar, dördüncü grubu yoğun bakım tedavisi alanlar veya immun yetmezliği olanlar, beşinci grubu idrar yolu enfeksiyonu bulunanlar oluşturmuştur. Moleküler yöntem ile kronik enfeksiyonu bulunan kistik fibrozisli hasta grubunda izole edilen suşların fenotipik ve genotipik çeşitliliği diğer gruplara göre daha az bulunmuş ve ilk kez *P. aeruginosa* enfeksiyonu geçiren grup ile *P. aeruginosa* ile kronik enfeksiyonu bulunan kistik fibrozisli hasta grubunda izole edilen suşların diğer gruplarda hastalığa yol açmadıkları tespit edilmiştir (39). Sonuç olarak belirli suşların belirli hasta gruplarında enfeksiyona yol açtıkları moleküler yöntemlerle saptanmıştır. İleride yapılacak daha fazla moleküler çalışma ile suş tiplerine, hasta gruplarına, risk faktörlerine göre hangi suşun kolonizasyona, hangi suşun hastalığa neden olduğu klinik bulgularla birleştirilerek anlaşılabilir.

Moleküler yöntemlerin dışında kalan sistemlerin pigmentli *P. aeruginosa*'nın belirlenmesindeki doğruluğunun ortalama %90'nın üzerinde olduğu belirtilmektedir. Fakat pigment üretmeyen *Pseudomonas* türlerini tanımlamada daha sınırlı etkilerinin olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda, geleneksel yöntemlerin belirleyemediği (üremelerin *Pseudomonas spp* olarak bildirilmesi) tür düzeyindeki tanımlamaları Diversilab sisteminin belirleyebildiği görüldü. Çalışmamızda, Diversilab sisteminin geleneksel yöntemlerin saptayamadığı türleri saptamış olması ve buna bağlı olarak farklı türlerin farklı klonlar şeklinde karşımıza çıkması çok fazla sayıda farklı klonun tespit edilmesinin nedeni olduğunu düşündürmektedir.

Diversilab PZR yöntemi ile ana klondaki *P. aeruginosa* suşlarının hem çocuk hemde erişkin servislerinde bulunduğu tespit edildi. Bu epidemiyolojik veri *P. aeruginosa*'nın belirli suşlarının hastane içerisinde yayıldığını, buna yönelik daha sıkı izolasyon ve temas önlemlerinin alınması gerektiğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda ana klona ait suşların yenidoğan yoğun bakım ünitesi (n=2), çocuk yoğun bakım ünitesi (n=2), çocuk enfeksiyon hastalıkları (n=1), dahiliye yoğun bakım (n=4), erişkin hematoloji-onkoloji (n=2) servislerinden izole edildiği görüldü. Ana klona ait ilk suş 27.1.2013 tarihinde genel yoğun bakım ünitesinde izlenen bir hastada görüldükten 15 gün sonra 11.02.2013 tarihinde çocuk yoğun bakımda opere laringosel ve boyun apsesi tanılılarıyla

izlenen ve cerrahi alan enfeksiyonu gelişen hastanın kateter kültüründen izole edildi. Ana klonu ait iki suşun farklı iki serviste farklı iki hastada saptanması ortak hizmet aldıkları bir başka bölümün kaynak olabileceğini düşündürdü. Çocuk hastanın öyküsünde operasyon olması ve kateterinde üreme saptanması ameliyathane ortamından kaynaklanan bir bulaş olabileceğini düşündürsede erişkin hastanın operasyon öyküsünün olmaması, ameliyathanede bulunmaması bu iddiadan uzaklaşılmasına sebep oldu. Hastaların ortak hizmet aldıkları kaynak olabilecek diğer bir yer ise radyoloji ünitesiydi. Kaynak olabilecek diğer bir faktör taşınabilir röntgen cihazlarıydı. Fakat çalışmayı kısıtlayan mali bütçe nedeniyle bu cihaz ve bölümlerden ortam kültürleri ve bu kültürlerden REP-PZR çalışılmadığı için bu kaynaklar araştırılmadı. Çalışmanın şubat ayında başlaması nedeniyle ana klon suşlarının bu tarihten öncede hem erişkin yoğun bakımda hem de çocuk yoğun bakımda var olduklarını düşündürdü.

Çalışmamızda ana klon suşlarının saptandığı servisler göz önüne alındığında, servisler arasındaki hasta nakillerinin (erişkin hematoloji onkoloji ile erişkin yoğun bakım arasındaki ve çocuk yoğun bakım ile çocuk enfeksiyon, çocuk enfeksiyon ile yenidoğan yoğun bakım servisi arasındaki) suşlarında transportuyla ilişkili olabileceğini düşündürdü.

Sonuç olarak ortaya çıkan veriler enfeksiyon kontrol önlemlerine sadece servislerde değil hastane içerisinde ortak hizmet verilen yerlerde sıkı bir şekilde uyulması gerektiğini göstermektedir. Buna yönelik tüm personel devamlı eğitim toplantılarıyla bilgilendirilmeli, önlemler sıkılaştırılmalıdır.

Şu an için Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi bakterilerden *Bacillus anthracis*, *Clostridium difficile*, *Coxiella burnettii*, *Chlamydia thachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Enterococcus*, *Eschericia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Francisella tularensis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Staphylococcus*, *Streptococci*, *Yersinia pestis* için moleküler testlerin kullanımını onaylamıştır (40).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda ana klona ait suşların ve diğer klonlara ait suşların servisler arasında klonal yayılım gösterdiği tespit edildi. En sık yayılımın ise yoğun bakımlarda olduğu görüldü.

Yoğun bakımlardan diğer servislere olan hasta naklinin klonal yayılımla ilişkili olabileceği düşünüldü.

Ayrıca ortaya çıkan veriler enfeksiyon kontrol önlemlerine sadece servislerde değil hastane içerisinde ortak hizmet verilen yerlerde de sıkı bir şekilde uyulması gerektiğini gösterdi.

Buna yönelik hem servis hem de hastanın diğer bölümlerinde (ameliyathane, radyoloji) çalışan personelin daha sık ve devamlı yapılacak eğitim toplantılarıyla enfeksiyon kontrol önlemleri hakkında bilgilendirilmelerinin gerektiği düşünüldü.

Sonuçta geleneksel kültür yöntemleri de, moleküler yöntemler de kolonizasyonu, enfeksiyondan ayırt ettirmemektedir. Elde edilen sonuçlar klinik, radyolojik ve diğer laboratuvar bulgularıyla birleştirilerek enfeksiyon veya kolonizasyon ayırımı yapılabilir. Fakat moleküler yöntemlerin avantajı erken sonuçlanmasından kaynaklanır. Erken sonuçlar özellikle yoğun bakım, yenidoğan ve immün yetmezliği bulunan hasta gruplarında sepsis mortalitesini belirleyen doğru tedavinin en hızlı bir şekilde başlanması için çok önemlidir. Bu hasta gruplarında moleküler yöntemler kullanılabilir.

Ayrıca geleneksel yöntemlerin yapamadığı tür düzeyindeki tanımlamaları moleküler yöntemler tanımlayabilir. Diğer bir avantajı spesifik patojenleri örnek olarak virüsleri, yavaş üreyen bakterileri, dış ortama çok hassas ve kültürde üretilmeyen bakterileri ve mantarları saptayabilir. Ayrıca sonuç kolonizasyon ile uyumlu olsa da eğer hastada dirençli bir bakteri (vankomisin dirençli enterokok, metisilin dirençli stafilokok, ESBL(+)*E. Coli/Klebsiella*, multiresistan diğer gram negatif basiller) saptandı ise, erken tanı enfeksiyon kontrol önlemlerinin hızla alınmasını, patojenin hastane içinde yayılımını ve epidemi oluşumunun önüne geçilmesini sağlayabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Baltimore RS. Pseudomonas, Burkholderia, and Stenotrophomonas. In: Kliegman MR, Jenson BH, Behrman RE, Stanton FB. Nelson Textbook of Pediatrics. 18th ed. John F. Kennedy, Philadelphia. 2009. P.1208-1214
2. Kiliç AU. Hastane enfeksiyonuna neden olan mikroorganizmaların epidemiyolojisi. In: Emine Alp. Enfeksiyon kontrol programı 2012. Kayseri: Erciyes;2012, p.15-24
3. Valeria Crivaro et al. *Pseudomonas aeruginosa* in a neonatal intensive care unit: molecular epidemiology and infection control measures. *BMC Infectious Diseases* 2009;9:70.
4. Kiddee A et al. Nosocomial spread of class 1 integron-carrying extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a Thai hospital. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;13:195-7
5. Edelstein MW et al. Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study. *Lancet Infect Dis*. 2013;8:1473-3099
6. Kim MJ et al. Dissemination of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* of sequence type 235 in Asian countries. *J. Antimicrob Chemother*. 2013;68:2820-4
7. Brady MT. *Pseudomonas* and Related Genera. In: Feigin RD, Demler-Harrison GJ, Cherry JD, Kaplan SL. Feigin & Cherry's Text Book of Pediatric Infectious Diseases. 6th ed. John F. Kennedy, Philadelphia. 2009. P. 1651-1669
8. Presler T, Mansa B, Jensen T., et al.: Increased IgG2 and IgG3 concentration is associated with advanced *Pseudomonas aeruginosa* infection and poor pulmonary function in cystic fibrosis. *Acta Paediatr. Scand*. 1988;77:576-582
9. Moss R. B, The role of the IgG subclass antibodies in chronic infection: The case of cystic fibrosis. *N. Engl. Reg. Allergy Proc* 1998;9:57-61

- 10.Zhang Q et al. A five-year review of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in children hospitalized at a single center in southern China. *Int J Infect Dis.* 2012;16:628-32
- 11.Malterud K, Thesen j. Whirlpool and pseudomonas infection; a local outbreak. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2007 Jun 28;127:1779-81
- 12.Evans MR, Wilkinson EJ, Jones R, Mathias K, Lenartowicz P. Presumed *Pseudomonas* folliculitis outbreak in children following an outdoor games event. *Commun Dis Public Health.* 2003;6:18-21
- 13.Reid TM, Porter IA. An outbreak of otitis externa in competitive swimmers due to *pseudomonas aeruginosa*. *J Hyg* 1981;3:357-62
- 14.Dohar j, Giles W, Roland p, Bikhazi N, et al. Topical ciprofloxacin/dexamethasone superior to oral amoxicillin/clavulanic acid in acute otitis media with otorrhea through tympanostomy tubes. *Pediatrics* 2006;3:561-9
- 15.Arsan AK, Adışen A, Duman S.,Aslan B., Koçak I., Acute endophthalmitis outbreak after cataract surgery. *J Cataract Refract Surg.* 1996;8:1116-20
- 16.Armour AD., Shankowsky HA., Swanson T., Lee J., Tredget EE. The impact of nosocomially acquired resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in a burn unit. *J Trauma* 2007;1;164-71
- 17.Maejima K., Deitch EA., Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of rats receiving thermal injury. *Infect Immun* 1984;1;6-10
- 18.Çiftçi E. Hastane Enfeksiyonlarını Tanımlama, Değerlendirme Parametreleri ve Çocuklardaki Farklılığı. Uygulamada Hastane Enfeksiyonları Kurs Kitabı, 2011, Antalya, 7. Ulusal Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, p:5-11
- 19.Töreci K. Hastane İnfeksiyon Kontrolünün Tarihçesi: Dünyadaki ve Türkiye'deki Durumu. In: Doğanay M, Ünal S. Hastane İnfeksiyonları 1. Baskı. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara. 2003. P. 17-33
- 20.Cengiz AB. Çocuklarda Hastane Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi. Uygulamada Hastane Enfeksiyonları Kurs Kitabı, 2011, Antalya, 7. Ulusal Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, p:13-23

21. Raymond J et al. Nosocomial infections in pediatric patients: a European, multicenter prospective study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000;21:260-3
22. Pereira CA, Marra AR, Camargo LF et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian pediatric patients: microbiology, epidemiology and clinical features. *PloS One* 2013;8:7e68144
23. Urrea M. Et al. Prospective incidence study of nosocomial infections in a pediatric intensive care unit. *Pediatric intensive care unit. Pediatr Infect Dis J* 2003;22:490-3
24. Karakoç et al. Risk factors for mortality in patients with gram negative rod bacteremia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013; 17: 951-7
25. Shahane et al. Surgical site infections: A one year prospective study in a tertiary day care center. *Int J Health Sci* 2012; 6: 79-84
26. Olejnízková K, Hla V. The comparison of selected virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* catheter isolates. *Epidemiol Mikrobiol Immunol.* 2012;61:21-8
27. Morata L. Et al. Influence of multidrug resistance and appropriate empirical therapy on the 30-day mortality rate of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:4833-7
28. Millani K. Et al. Imipenem and ciprofloxacin consumption as factors associated with high incidence rates of resistant *Pseudomonas aeruginosa* in hospitals in northern France. *J. Hosp. Inf.* 2011;77:343-7
29. Tumbarello et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: risk factors and mortality. *Epidemiol Infect.* 2011; 139: 1740-9
30. John JF Jr, McKee KT Jr, Twitty JA, Schaffner W. Molecular epidemiology of sequential nursery epidemics caused by multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *J. Pediatr.* 1983;102:825-30
31. Ichiyama S, Ohta M, Shimokata K, Kato N, Takeuchi J. Genomic DNA fingerprinting by pulsed-field gel electrophoresis as an epidemiological marker for study of nosocomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1991;29:2690-5

32. Widmer AF. Infection control and prevention strategies in the ICU. *Intensive Care Med.* 1994;20:7-14
33. Ruckdeschel G. Diagnosis of pathogens in nosocomial pneumoniae. *Pneumologie* 1994; 48:126-30
34. Murdoch DR. Nucleic acid amplification tests for the diagnosis of pneumonia. *Clin Infect Dis.* 2003; 36:1162-70
35. Kasper DC, Altrok I, Mecthler TP, et al. Molecular detection of late-onset neonatal sepsis in premature infants using small blood volumes: proof-of-concept. *Neonatology* 2013;103:268-73
36. Doleans-Jordheim A, Cournoyer B, Bergeron E, Croize J et al. Reliability of *Pseudomonas aeruginosa* semi-automated rep-PCR genotyping in various epidemiological situations. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009; 28:1105-11
37. Speert DP. Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Biosci* 2002;7:354-61
38. Sirmis MW, O'Carroll MR, Sloots TP, Coulter J et al. Rapid genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* isolates harboured by adult and paediatric patients with cystic fibrosis using repetitive-element-based PCR assays. *J Med Microbiol* 2004;53:1089-96
39. Tramper-Stranders GA, Van Der Ent CK, Wolfs TF, Kimpen JI, et al. *Pseudomonas aeruginosa* diversity in distinct paediatric patient groups. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:935-941
40. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfPMN/pmn.cfm?ID=K081309>

8. KISALTMALAR DİZİNİ

REP	Repetitive Element Palindromik
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PCR	Polymerase Chain Reaction
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	Ribonükleik Asit
rRNA	Ribozomal Ribonükleik Asit
CDC	Amerika Hastalık Kontrol Merkezi
µm	Mikrometre
IgG	Immunglobulin G
CFTR	Kistik Fibrozis Transmembran Regulator
HE	Hastane Enfeksiyonları

9. ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. (Çocuk hasta grubunda <i>Pseudomonas</i> saptanan servisler ve yüzdeleri)	33
Şekil 2. (Erişkin hasta grubunda <i>Pseudomonas</i> saptanan servisler ve yüzdeleri)	36
Şekil 3. (Klonlara ait dendrogram)	41
Şekil 4. (Klonlara ait benzerlik matrisi)	42

10. TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa no
Tablo 1. (İnsanlarda hastalığa neden olan 5 <i>Pseudomonas</i> homoloji grubunda yeni taksonomik değişiklikler ve yeniden sınıflandırma)	11
Tablo 2. (Çocuk hasta grubunda bulunan hastaların aldığı tanılar)	33
Tablo 3. (Enfeksiyon gelişen 20 çocuk hastada klinik ve laboratuvar bulgular)	34
Tablo 4. (Çocuk ve erişkin hasta gruplarında saptanan antibiyotik direnç oranları)	35
Tablo 5. (Erişkin hasta grubunda bulunan hastaların aldıkları tanılar)	37
Tablo 6. (Enfeksiyon gelişen 19 erişkin hastada klinik ve laboratuvar bulgular)	38

